

Міністерство освіти і науки України
Уманський національний університет садівництва
Кафедра мікробіології, біохімії і фізіології рослин

Заболотний О.І.

ЗАГАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ

Опорний конспект лекцій

УМАНЬ – 2016

Підготовлено:

к.с.-г.н., доцентом кафедри мікробіології, біохімії і фізіології рослин
О. І. Заболотним;

Розглянуто і рекомендовано до видання навчально-методичним семінаром кафедри мікробіології, біохімії і фізіології рослин Уманського НУС (протокол №1 від 10.10.2016 р).

Розглянуто і рекомендовано до видання кафедрою мікробіології, біохімії і фізіології рослин Уманського НУС (протокол №6 від 27.10.2016 р).

ЗМІСТ

	ВСТУП	4
Тема №1	Історія розвитку мікробіології	6
Тема №2	Морфологія та систематика мікроорганізмів	15
Тема №3	Анатомічна будова мікроорганізмів	25
Тема №4	Розмноження мікроорганізмів	32
Тема №5	Живлення мікроорганізмів	38
Тема №6	Мікроорганізми і навколишнє середовище	46
Тема №7	Взаємовідносини між мікроорганізмами	55
Тема №8	Перетворення мікроорганізмами сполук вуглецю	60
Тема №9	Перетворення мікроорганізмами сполук азоту	73
Тема №10	Перетворення мікроорганізмами сполук заліза, сірки і фосфору	85
Тема №11	Мікроорганізми зони кореня і поверхні рослин	92
Тема №12	Бактеріальні добрива	98
	Список рекомендованої літератури	104

ВСТУП

Навчальна дисципліна «Загальна мікробіологія» належить до програми фахової підготовки, перепідготовки і підвищення кваліфікації студентів Уманського державного аграрного університету освітньо-кваліфікаційного рівня бакалавра, спеціаліста та магістра денної й заочної форм навчання. «Загальна мікробіологія» як навчальна дисципліна дає студентам теоретичні знання та практичні навички із особливостей будови, систематики, розмноження та живлення мікроорганізмів, перетворення ними органічних і мінеральних форм різних елементів живлення, взаємовідносин між мікроорганізмами та іншими організмами, використання мікроорганізмів у різних галузях народного господарства.

Мета вивчення дисципліни — здобути глибокі теоретичні знання та набути практичних навичок з організації соціального страхування, управління діяльністю фондів соціального страхування, розробки умов здійснення різних видів соціального страхування з урахуванням їх специфіки на сучасному етапі розвитку економіки України.

Завдання дисципліни:

Завдання – формування в студентів теоретичних знань мікробіологічних процесів, які проходять в ґрунті для підвищення його родючості.

Предмет дисципліни — відносини, що виникають у процесі формування, розподілу та використання фондів соціального страхування.

Опорний конспект лекцій створено відповідно до програми та робочої програми курсу та призначено для самостійної роботи щодо вивчення навчального матеріалу, підготовки до поточного та підсумкового контролю, а також для візуального супроводження лекцій.

Опорний конспект лекцій висвітлює основні питання дисципліни «Загальна мікробіологія» за темами:

1. Історія розвитку мікробіології.
2. Морфологія та систематика мікроорганізмів.
3. Анатомічна будова мікроорганізмів.
4. Розмноження мікроорганізмів.
5. Живлення мікроорганізмів.
6. Мікроорганізми і навколишнє середовище.
7. Взаємовідносини між мікроорганізмами. Інфекція та імунітет.
8. Перетворення мікроорганізмами сполук вуглецю.
9. Перетворення мікроорганізмами сполук азоту.
10. Перетворення мікроорганізмами сполук заліза, сірки і фосфору.
11. Мікроорганізми зони кореня і поверхні рослин.
12. Бактеріальні добрива.

Кожна тема опорного конспекту лекцій включає в себе план лекції, рекомендовану літературу (подана в кінці), список ключових термінів та понять, що дозволяє наочно зобразити основні положення теми.

Під час використання опорного конспекту під час лекції на вільних сторінках, що залишені для записів, студенти мають можливість конспектувати лекційний матеріал та занотовувати коментарі та пояснення лектора з питань, які розглядаються. Для глибокого засвоєння навчальної дисципліни студенту потрібно, окрім опорного конспекту лекцій, використовувати інші початкові матеріали, подані у списку рекомендованої літератури.

ТЕМА №1. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МІКРОБІОЛОГІЇ.

План

1. Сільськогосподарська мікробіологія як біологічна наука, її значення для народного господарства. Предмет і завдання мікробіології.
2. Історія розвитку мікробіології
 - Морфологічний період
 - Фізіологічний період
 - Імунологічний період
 - Молекулярно-генетичний період
3. Розвиток сільськогосподарської мікробіології
4. Історія та перспективи розвитку мікробіології в Україні

Ключові терміни та поняття: морфологічний, фізіологічний, імунологічний, молекулярно-генетичний періоди розвитку мікробіології, розвиток ґрунтової мікробіології, українські вчені-мікробіологи.

1. Сільськогосподарська мікробіологія як біологічна наука, її значення для народного господарства. Предмет і завдання мікробіології.

Мікробіологія – наука про найменші (невидимі неозброєним оком) живі організми – мікроби. Звідсіля і назва науки, що вивчає особливості їх будови та життєдіяльності (грец. mikros — малий, bios — життя, logos — вчення).

До цієї групи організмів входять одноклітинні бактерії, що розмножуються простим поділом, фільтруючі віруси і бактеріофаги, а також деякі представники близьких до бактерій мікроорганізмів (актиноміцети та деякі гриби). Особливу увагу мікробіологічна наука приділяє дослідженню найчисленнішої групи мікроорганізмів – бактеріям, що є основним предметом її вивчення.

Роль мікроорганізмів у перетворенні різноманітних речовин у природі надзвичайна, оскільки в результаті їх життєдіяльності відбувається перетворення органічних і мінеральних речовин у ґрунті, що має важливе значення для розвитку зелених рослин. У ґрунті та природі в цілому на долю цих найменших живих організмів припадає переважна частина біохімічних перетворень. Всі процеси у ґрунті знаходяться у тісному зв'язку з ґрунтовою мікрофлорою.

У безупинному циклі перетворень: мінеральні речовини — зелені рослини — тварини — мікроорганізми — мінеральні речовини — вирішальна роль належить мікробам. Вони зумовлюють кругообіг речовин і енергії в природі. З життєдіяльністю мікроорганізмів пов'язане утворення деяких руд, кам'яного і бурого вугілля, торфу та інших корисних копалин.

Винятково важливе значення мають мікроорганізми, що їх використовують в різних галузях народного господарства, наприклад у таких необхідних для життя людини процесах, як випікання хліба, виробництво молочнокислих продуктів, ферментів, кормового білка, амінокислот, вітамінів, антибіотиків, гормонів, вакцин та інших лікарських препаратів, органічних кислот, стимуляторів росту,

бактеріальних добрив, засобів захисту рослин тощо. Мікробіологічні процеси лежать в основі виробництва спирту, вина, пива, силосування кормів для тварин та ін.

Важко уявити розвиток мікробіології без тісного зв'язку з генетикою. Мікроорганізми виявились чи не найкращими біологічними моделями для вивчення закономірностей спадковості й мінливості. Генетичний апарат мікробної клітини й механізм його функціонування у часі мають безперечно великі переваги для дослідження порівняно з вищими організмами. І немає нічого дивного в тому, що відкриття цілого ряду загальнобіологічних закономірностей (матрична теорія синтезу білка, розшифрування генетичного коду, штучний синтез гена тощо) пов'язане з вивченням генетики, фізіології та біохімії процесів життєдіяльності мікроорганізмів.

Застосування досягнень сучасної мікробіології в різних галузях народного господарства через перспективність, різноманітність і специфічність спричинило утворення низки самостійних дисциплін, а саме: загальної, сільськогосподарської, медичної й ветеринарної, технічної, або промислової, водної, геологічної і космічної мікробіології. Бурхливо розвивається як самостійна дисципліна загальна і спеціальна вірусологія.

1. Історія розвитку мікробіології

Мікробіологія, як і будь-яка інша наука, має свою історію. Багато тисячоліть налічує історія людської культури. Вже в творіннях стародавніх цивілізацій – єгипетської, вавілонської, грецької, римської, китайської – знаходимо зародки біологічних наук, початки найвних примітивних, але досить конкретних медичних знань. Отже, справедливо вважають, що медицина така ж стара, як і саме людство. Мікробіологія ж є порівняно молодшою наукою. Вона налічує трохи більше 100 років. Однак ще за довго до відкриття мікробного світу людям були відомі процеси, що викликали мікроорганізми. Тривалий час людина жила в оточенні невидимих істот, споживала продукти їх життєдіяльності (випечений хліб, кисле молоко, вино, пиво). Ці істоти спричинювали захворювання, але людина навіть не підозрювала про їх існування, бо вони мали надто малі розміри.

Навіть видатний лікар Древньої Греції Гіппократ вважав, що в повітрі під час епідемій містяться особливі хвороботворні "міазми" – випаровування, які можуть поширюватися на великі відстані. На думку Лукреція Кара, кожна інфекція має особливе "насіння". Лише під час страшної епідемії чуми в XIV ст. з'явилися перші уявлення про заразні хвороби. У 1374 р. у Венеції був виданий наказ про ізоляцію людей, товарів та кораблів на 40 днів (quarantina) з метою запобігання поширенню чуми, звідки і пішов термін – карантин.

• Морфологічний період

Думки про присутність в природі невидимих істот виникла у багатьох дослідників. Ще в VI віці до н. з. **Гіппократ**, в XVI віці н. з. **Джираламо Фракастрота** на початку XVII століття **Афанасій Кірхер** висловлювали припущення, що причиною заразних хвороб є невидимі живі істоти.

Розвиток мікробіології як науки тісно пов'язаний з мистецтвом шліфування скла й алмазів та виготовленням перших мікроскопів. У 1590 р. в Голландії в м. Міддельбурзі шліфувальники скла брати **Ганс і Захарій Янсени** сконструювали

прилад зі збільшувальних скелець, а в 1610 р. Г. Галілей виготовив перший мікроскоп.

Однак першою людиною, яка заглянула у таємничий невидимий світ живих істот, був голландський торговець полотном, сторож судової палати **Антоній Левенгук** (1632-1723). У вільний від роботи час він шліфував лінзи, виготовляв з них лупи, які давали збільшення в 300 разів. Годинами просиджуючи зі своїми лупами та розглядаючи все, що потрапляло під руки, Левенгук на 41 році життя почав робити дивовижні відкриття. Він вперше описав еритроцити, сперматозоїди, будову м'язів, замалював справжніх живих мікробів, їх основні форми. І досить швидко науковий світ з великим подивом дізнався про відкриття голландця. Свої спостереження Левенгук описував у спеціальних листах, які регулярно протягом 50 років відсилав до Лондонського наукового товариства, на чолі якого стояв тоді знаменитий **Роберт Гук**. Всього було відправлено 120 таких листів. Здивування, яке викликали листи Левенгука, було дійсно величезним. Вони відкривали новий, фантастичний, ніким не бачений і незнаний світ живих істот. Сам Левенгук називав їх “живими звірятами” і писав, що в роті людини їх більше, ніж людей у всьому англійському королівстві. Ці чудові відкриття неуча-природознавця послужили тим зародком, з якого пізніше виросла й сформувалася наука про бактерії. Саме з того часу і починається перший, морфологічний, період в історії розвитку мікробіології.

Більшу частину своїх спостережень він опублікував у 1695 р. у книжці «Таємниці природи, відкриті А. Левенгуком».

Відкриття А. Левенгука були настільки несподіваними і навіть фантастичними, що протягом майже 50 наступних років викликали загальний подив. Перебуваючи в Голландії в 1698 р., Петро I відвідав А. Левенгука і ознайомився з його дослідженнями. З цієї поїздки цар привіз у Росію подарований А. Левенгуком мікроскоп. У 1716 р. у майстернях при дворі Петра I виготовлено перші в Росії мікроскопи.

Однак, користуючись примітивними мікроскопами тих часів, важко було встановити різницю між окремими видами бактерій. Основоположник наукової систематики живих організмів Карл Лінней навіть взагалі відмовився їх класифікувати і дав їм загальну назву “хаос”.

У зв'язку з цим тривалий час (майже до середини XIX ст.) мікробіологія мала в основному описовий характер. Тому перший період розвитку цієї науки увійшов в історію під назвою *морфологічного періоду* і був початком нагромадження фактичного матеріалу.

- **Фізіологічний період**

Значний вклад у вивчення мікроорганізмів вніс **Мартин Тереховський** (1740-1796), який вперше застосував експериментальний метод для вивчення умов розмноження мікробів і впливу на них різноманітних факторів. Тереховський встановив, що для розвитку мікроорганізмів потрібен кисень, що мікроби перед поділом ростуть. Він робить висновок, що мікроби є справжніми живими істотами, і першим доводить неспроможність теорії про довільне зародження життя, встановив, що мікроорганізми, як і інші організми, мають обмін речовин і енергії, а їх анатомічна структура подібна до будови клітин інших живих істот. Серйозна спроба провести суто наукову систематику бактерій було зроблено в 1773 р

датським натуралістом **Отто Мюллером**. Він описав 379 видів інфузорій та мікробів. Ще більш чітку й повну класифікацію створив **Філіп Еренберг**, який вперше ввів такі терміни як “бактерія”, “спірила”, “спірохета”. В наш час всі мікробіологи світу користуються класифікацією Девіда Берлі.

II період розвитку мікробіології – фізіологічний, тісно пов'язаний з іменем **Л. Пастера** (1822—1895), який є основоположником наукової мікробіології. Він довів неможливість самозародження життя, запропонував методи стерилізації (повного знищення мікроорганізмів) та пастеризацію (більш м'яку стерилізацію), а також науково обґрунтував роль мікроорганізмів у виникненні захворювань. Л. Пастер довів, що бродіння та гниття спричинюють мікроорганізми, що дозволило іншим ученим, зокрема **Лістеру** та **Пирогову**, розробити методи асептики та антисептики. У 1857 р. він довів, що спиртова ферментація є результатом життєдіяльності дріжджів. У 1860 р. встановив, що мікроби поширені всюди, що з повітря вони можуть потрапляти до різних настоїв, на різні продукти і спричинювати їхнє гниття.

Л. Пастер відкрив анаероби, обґрунтував явище атенуації (ослаблення патологічних властивостей збудника), у 1881-1885 рр отримав вакцину проти сибірки та сказу, що відіграло величезну роль у боротьбі з цими тяжкими хворобами.

Майже водночас з відкриттям Л. Пастера з'явилися відомі праці видатного німецького мікробіолога **Роберта Коха** (1843—1910). Відкриття збудників сибірки, туберкульозу, холери належать саме йому.

Способи дезінфекції, запропоновані **Р. Кохом**, і тепер успішно використовуються в медичній практиці. Докази про патогенність того чи іншого мікроба дістали назву тріади Генле—Коха, а відкритий у 1882 р. збудник туберкульозу названо паличкою Коха. В 1905 р. Р. Коху присуджено Нобелівську премію за досягнення в розвитку медицини.

Всьому світові відоме ім'я **Д.Й. Івановського** (1864—1920), видатного природознавця, засновника сучасної вірусології. В 1892 р., вивчаючи мозаїчну хворобу тютюну, Д. Й. Івановський відкрив раніше не відомі субмікроскопічні істоти, які одержали назву вірусів. Тоді багато вчених вважали, що бактерії є найменшими і найпростішими організмами, і що саме вони стоять на межі живої і неживої природи. У 1887 р. за рекомендацією відомих вчених А. М. Бекетова і А.С. Фамінцина було відряджено талановитого студента Петербурзького університету Д. Й. Івановського на південь України для вивчення мозаїчної хвороби тютюну. Досліджуючи цю хворобу, яка завдавала величезних збитків тютюновим плантаціям, молодий вчений відкрив, що збудник цієї хвороби проходить крізь бактеріальні фільтри. Отже, було відкрито організм, у сотні й тисячі разів менший від відомих на той час найменших бактерій.

• **Імунологічний період**

Вивченням функціонування імунної системи, а також розробкою засобів і методів імунологічної діагностики, профілактики і лікування інфекційних і неінфекційних хвороб займається імунологія — наука про імунітет. Імунологія як наука сформувалася лише наприкінці XIX ст. Основоположниками її можна вважати

І.І. Мечникова, Л. Пастера і П. Ерліха. Власне із зародження науки імунології і пов'язаний імунологічний період в мікробіології.

І.І. Мечников (1845-1916). З його ім'ям пов'язана розробка теорії боротьби організму людини і тварини з хвороботворними мікробами, які потрапили до нього — теорія фагоцитарного імунітету. «Хвороба — битва в людському організмі між двома великими юрмами, — писав І.І.Мечников, — незліченною юрмою мікробів — збудників хвороби і такою ж юрмою рухливих клітин крові — лейкоцитів, що здатні захоплювати мікробів і перетравлювати їх. Від результатів цієї битви залежить перебіг хвороби, лікування й одужання організму». Своїми класичними працями І.І. Мечников зробив великий внесок у розробку вчення про антагонізм мікробів. Відкриття і теоретичне обґрунтування цього явища стало основою для промислового виробництва антибіотиків. І.І.Мечников є також автором відомої теорії боротьби з передчасним старінням людського організму. «Автоінтоксикація (самоотруєння) гнильними бактеріями, які паразитують у товстих кишках, безперечно, є однією з найважливіших причин затвердіння артерій і ранньої старості», — писав І.І.Мечников. Для боротьби з передчасним старінням він рекомендував вживати молочнокислі бактерії як антагоністи гнильних мікробів.

Водночас із І.І.Мечниковим проблемою несприйнятливості організму до інфекційних захворювань займався відомий німецький лікар, мікробіолог **П. Ерліх**. Він створив теорію гуморального імунітету, довкола якої точилася вперта і тривала боротьба думок, що поділила вчених на два табори — прихильників П. Ерліха та прихильників І.І. Мечникова. Завдяки широкій дискусії та численним дослідженням було встановлено, що несприйнятливість до інфекційних хвороб залежить як від клітинних, так і від гуморальних факторів. Обидві теорії виявились правильними. 1908 р. за розробку вчення про імунітет І.І.Мечникову і П. Ерліху було присуджено Нобелівську премію.

Учень Л. Пастера, найближчий співробітник і друг І.І. Мечникова, **М. Ф. Гамалія** (1859-1949) заснував у 1886 р. другу в світі пастерівську станцію в Одесі і першим на практиці почав застосовувати щеплення проти сказу. Він провів низку цінних досліджень з епідеміології чуми, бактеріології туберкульозу, розробив заходи щодо ліквідації віспи. В 1898 р. М. Ф. Гамалія вперше описав явище бактеріофагії у паличок сибірки.

Термін **бактеріофагія** (з грец. bakterion паличка + phagos пожирач) запропонував американський вчений-мікробіолог канадського походження **Фелікс Хуберт Д'Еррель** в 1917 р.

Загальну пошану здобув своїми працями видатний український мікробіолог, президент АН УРСР **Д. К. Заболотний** (1866-1929). Він організував першу в світі кафедру епідеміології при Одеському медичному інституті. Багато зусиль і праці віддав Д.К. Заболотний вивченню чуми, холери, дифтерії, черевного й висипного тифів тощо. Д. К. Заболотний — засновник Інституту мікробіології і епідеміології, нині Інститут мікробіології і вірусології НАН України, що носить його ім'я.

- **Молекулярно-генетичний період**

У дослідах на бактеріях та вірусах було доведено, що носієм генів є ДНК. Було встановлено її структуру. Мікробіологи відкрили плазмідні (нехромосомні носії

спадковості, що передають різні ознаки, зокрема резистентність до лікарських засобів). У другій половині ХХ ст. бурхливо розвивалися вірусологія та імунологія. У галузі вірусології були такі досягнення:

розшифровано молекулярно-генетичну організацію багатьох вірусів;

вивчено механізм взаємодії вірусів із клітиною, загальні механізми перетворення вірусами нормальної клітини на пухлинну (Л. О. Зільбер); У цей же період відбувалося становлення генної інженерії. Розпочалося промислове виробництво вакцин нового покоління – генно-інженерних.

Д. Келер та **І. Мільстайн** відкрили гібридоми, що дозволило отримати моноклональні антитіла заданої специфічності, які використовують з діагностичною метою.

3. Розвиток сільськогосподарської мікробіології

На сучасному етапі розвитку мікробіологія має вже стільки теоретичних та практичних досягнень, що наука в інтересах подальшого розвитку розділилася на кілька самостійних дисциплін, в тому числі самостійною наукою стала і сільськогосподарська мікробіологія.

В розвитку сільськогосподарської мікробіології величезне значення мали праці видатних вітчизняних вчених мікробіологів: С.М. Виноградський, В.Л. Омелянський, В.С. Буткевич, С.П. Костичев та інші.

В 1866 р. **М.С. Вороніним**були відкриті бульбочкові бактерії. Він вказував, що в бульбочках, які містяться на коренях люпину та вільхи, є мікроскопічні паличко видні тільця, що самостійно рухаються. Серед них є і роздуті, що галузяться.

У 1880 році **Ф.М. Каменський** виявив співіснування рослин з мікоризними грибами. При вивченні анатомічної будови безхлорофільних вищих рослин він помітив, що всі верхівки коренів покриті товстим шаром грибного міцелію, що має важливе значення і для рослин.

Крім мікоризних грибів, в період з 1882 по 1885 роки **П.А. Костичев** детально дослідив інші ґрунтові гриби.

Ці дослідження певною мірою підготували ґрунт для подальших досліджень **С. М. Виноградського**.

Роботи Виноградського створили нову епоху в розвитку ґрунтової мікробіології. Дослідження з *сіркобактеріями* (1887), а потім із *залізобактеріями* (1888), та з *нітрифікуючими* мікроорганізмами (1890) дали значні наукові результати. Йому вдалося отримати чисті культури нітрифікуючи мікроорганізмів і довести, що вони здатні рости на середовищах, що не мають органічних речовин і синтезувати складові частини свого тіла за рахунок вуглецю вугільної кислоти. Необхідну для цього процесу енергію отримують при окисленні аміаку до азотистої кислоти або при окисленні азотної кислоти в азотну (1 і 2 фази нітрифікації). Цей процес синтезу органічних речовин з вуглекислоти та води отримав назву *хемосинтезу*.

Інша група робіт С.М. Виноградського присвячена вільноживучим азот фіксуєчим мікроорганізмам. У 1894 р. виділений ним новий вид вільноживучих азотфіксуєчих бактерій було названо на честь Л.Пастера (*Clostridium pasteurianum*).

Через сім років після виділення цієї бактерії **Бейєрінку** вдалося виділити аеробний фіксатор атмосферного азоту – азотобактер. Присутність цих бактерій у ґрунті пояснило збільшення азоту у ґрунті, що спостерігалось агрономами.

Деяко пізніше були вивчені процеси перетворення органічних азотовмісних речовин у ґрунті.

Буткевич В.С. довів, що накопичення аміаку при розкладі органічних азотовмісних речовин тісно пов'язано з наявністю в середовищі вуглеводів. Він детально дослідив розклад відмерлих білкових решток у ґрунті в анаеробних умовах при дії мікроорганізмів до виділення аміаку – **амоніфікацію**.

В цей же період більш детально було вивчено перетворення клітковини у ґрунті. Ці дослідження були цікавими тим, що клітковина є досить стійкою речовиною. Л. Попову та В.Л. Омелянському вдалося довести, що в ґрунті є мікрофлора, що руйнує клітковину в анаеробних умовах. Крім целюлозоруйнівних мікроорганізмів Омелянський дослідив також фізіологію та поширення азот фіксуєчих мікроорганізмів. Видав книгу «Основи мікробіології»

В.Р. Вільямс (1863 – 1939) вивчав роль мікроорганізмів у створенні структури ґрунту.

4. Історія та перспективи розвитку мікробіології в Україні

Започаткування інтенсивного розвитку мікробіологічних досліджень в Україні належить всесвітньо відомому вченому-мікробіологу Д.К.Заболотному, який в 1928 р. у складі ВУАН заснував Інститут мікробіології і епідеміології. В Інституті тоді об'єдналися три різні школи мікробіологів України: київська (засновник В.К. Високович), одеська (засновник В.В. Підвисоцький) і харківська (засновник Л.С. Ценковський).

У 1930 р. в Інституті було тільки два відділи: медичної мікробіології та епідеміології, загальної і ґрунтової мікробіології. Через 36 років, незважаючи на важкі воєнні і повоєнні труднощі, Інститут розвивався і в 1966 р. у ньому вже функціонувало 16 відділів, організаторами і керівниками яких були відомі вчені Г. О. Ручко, В. Г. Дроботько, М. М. Підоплічко, Л. Й. Рубенчик, М. М. Сиротинін, Є. І. Квасников, В. Й. Білай, К. Г. Бельтюкова, Б. Ю. Айзенман, О. Я. Рашба, С. М. Московець та інші.

Тепер Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України є провідним науковим і координаційним центром мікробіологічної науки в Україні. В ньому, а також у НДІ епідеміології та інфекційних хвороб (Київ), НДІ мікробіології, вакцин і сироваток ім. І.І. Мечникова (Харків), Інститут молекулярної біології і генетики НАН України (Київ), Інститут сільськогосподарської мікробіології (Чернігів).

Українські мікробіологи продовжують успішно вивчати біологію, біохімію, фізіологію й генетику мікроорганізмів і вірусів, закономірності їх мінливості та спадковості з метою одержання високопродуктивних мікробів-продуцентів

біологічно активних речовин (антибіотиків, білків, ферментів, вітамінів, гормонів, стимуляторів тощо) та розробки теоретичних основ боротьби з бактеріальними, грибовими і вірусними інфекціями. Свої здобутки вони завжди намагалися впроваджувати в різні галузі народного господарства і охорону здоров'я.

Теоретичні дослідження мінливості мікроорганізмів і бактеріофагів (В. Г. Дроботько, Г. О. Ручко, К. Г. Бельтюкова, Г. М. Френкель та ін.) знайшли практичне застосування в профілактиці лікування дизентерії, стафілококових хвороб, в боротьбі з бактеріальною рябухою махорки, а також у селекції високопродуктивних культур оцтовокислих бактерій, необхідних для промислового виробництва оцту.

Особливо інтенсивного розвитку набули мікробіологічні дослідження в Україні у повоєнний період. Ґрунтовне вивчення мікробів-продуцентів біологічно активних речовин дозволило одержати глюкозооксидазу та інші важливі ферменти. З мікроорганізмів і вищих рослин було виділено мікроцид, аренарин, новоіманін, сальвін, фенілгептатрин, Ал-87, біоспорин та інші антибіотики, і рекомендовано для використання у медицині та народному господарстві.

У галузі медичної мікробіології тривають інтенсивні дослідження з фундаментальних питань онкології й ведуться пошуки речовин природного походження, що були б ефективними для лікування злоякісних пухлин (Д. Г. Затула, С. Р. Резнік та ін.), розробляються проблеми ешерихіозів (А. М. Касьяненко, Л. В. Григор'єва, А. Ю. Вершигора та ін.), вивчаються питання складу популяцій холерних вібріонів (А. Г. Сомова), систематики та ідентифікації бактерій роду *Pseudomonas* (О. А. Кіпріанова та ін.) тощо.

Слід відзначити також довготривалу і плідну роботу з вивчення вірусів рослин, тварин та мікроорганізмів. Вперше в Україні вивчено морфологічні та фізіологічні властивості низки вірусів, проведено їх ідентифікацію; з'ясовано антигенні властивості вірусів жовтухи цукрових буряків, зморшкуватої мозаїки і готики картоплі, мозаїки квасолі, кормових бобів, сої та інших культур; розроблено і рекомендовано для впровадження у виробництво заходи боротьби з ними (А. Д. Бобир, С. М. Московець, В. Г. Краєв та ін.). Успішно досліджуються також патогенні віруси людини (С. С. Дяченко, К. М. Синяк, Н. С. Дяченко та ін.). Ґрунтовні дослідження вірусів мікроорганізмів в Україні проводилися під керівництвом Я. Г. Кішка. Успішні дослідження стійкості рослин до бактеріальної інфекції проводяться під керівництвом І. Р. Гвоздяка.

Таким чином, сучасний період розвитку мікробіології в Україні, незважаючи на кризову ситуацію в економіці, характеризується помітним розширенням досліджень у царині технічної мікробіології, вірусології, генетики і генної інженерії, біотехнології та намаганням широко впроваджувати досягнення мікробіологічної науки в практику. Прикладом цього може бути виготовлення таких цінних харчових продуктів, як геролакт та нові антибіотики.

Для нотаток

ТЕМА №2.МОРФОЛОГІЯ ТА СИСТЕМАТИКА МІКРООРГАНІЗМІВ.

План

1. Положення мікроорганізмів у природі.
2. Морфологія бактерій. Основні форми бактерій.
3. Морфологічні особливості інших груп мікроорганізмів.
4. Систематика мікроорганізмів.

Ключові терміни та поняття: основні форми мікроорганізмів, мікст і мікобактерії, коринебактерії, нитчасті мікроорганізми, мікоплазми, актиномицети, мікроскопічні гриби та водорості, віруси, бактеріофаги, протозоа.

1. Положення мікроорганізмів у природі.

Мікроорганізми дуже поширені в природі. Вони є у ґрунті, воді, повітрі, на поверхні рослин і тварин, у кишечнику людей і тварин, на всіх предметах навколишнього середовища. Мікроорганізми є значною частиною живої речовини планети. Так, у 1 мл забрудненої води міститься кілька сотень мільйонів мікробів, у 1 г окультуреного ґрунту – кілька мільярдів.

За Е.Шаттоном (1937 р.), усі живі організми поділяються на прокаріоти (бактерії) та еукаріоти (найпростіші, гриби, мікроскопічні водорості, рослини та тварини). У 1979 р. В.Балч запропонував виділити архебактерії в окреме царство і тому живі організми належать до трьох царств: еукаріоти, архебактерії та еубактерії.

У кінці 90-х років ХХ століття було запропоновано ще одну класифікацію, за якою живі організми поділяються на три **надцарства**:

акаріоти (без'ядерні);

прокаріоти (доядерні);

еукаріоти (ядерні).

До надцарства акаріотів належить царство вірусів, до надцарства прокаріотів – царства архебактерій, ціанобактерій та еубактерій, до надцарства еукаріотів – царства рослин, тварин і грибів.

Елементарною фізичною одиницею живого є клітина – найменша життєздатна одиниця. За своїм хімічним складом усі живі істоти схожі. Основними компонентами будь-якої клітини є нуклеїнові кислоти – дезоксирибонуклеїнова та рибонуклеїнові кислоти, білки, ліпіди та вуглеводи. Проте вивчення будови деяких типів клітин дало змогу виявити помітні відмінності між ними. Ці відмінності настільки принципові, що клітини було поділено на дві групи – **прокаріоти** та **еукаріоти**. Причому прокаріоти розглядаються як реліктові форми, що збереглися з найдавніших часів біологічної еволюції, а поява еукаріотичних форм, що виникли із прокаріот – як дуже великий крок в історії життя.

Еукаріоти мають істинне ядро, у якому міститься переважна частина геному еукаріотичної клітини. Геном представлений набором хромосом, як в ході процесу, що називається мітозом, подвоюються і розподіляються між дочірніми клітинами. В еукаріотичній клітині є інші органели, які містять ДНК - мітохондрії і хлоропласти (у рослин), але в них міститься незначна частина клітинного геному, яка представлена кільцевими молекулами ДНК. Рибосоми в еукаріотичній клітині більші, ніж у прокариот (80S та 70S відповідно). АТФ-синтаза та дихальний ланцюг містяться в мітохондріях.

Прокариоти не мають ядра, відділеного ядерною оболонкою. ДНК у вигляді замкненої кільцевої молекули розміщена у цитоплазмі. Ця бактеріальна хромосома містить всю необхідну для розмноження клітини інформацію. Крім того, в протокаріотичній клітині можуть міститися невеликі позакромосомні кільцеві молекули ДНК – плазмід, але без них клітина може обійтися. Прокариотична клітина не містить органел. Рибосоми менші – 70S. АТФ-синтаза та дихальний ланцюг розміщені в цитоплазматичній мембрані.

Щодо морфології прокариоти є відносно мало диференційовані: це сферичні форми, прямі чи вигнуті палички. Але з такою зовнішньою одноманітністю різко контрастує надзвичайна різноманітність і пластичність метаболічних процесів. У той час як рослинам і тваринам необхідний молекулярний кисень, багато які групи прокариот можуть існувати без доступу повітря (в анаеробних умовах), одержуючи необхідну для росту енергію в результаті бродіння або анаеробного дихання. Інші групи прокариот можуть використовувати енергію світла і синтезують потрібні їм речовини з органічних сполук або з вуглекислоти (двоокису вуглецю).

Мікроорганізми – це одноклітинні організми – бактерії, актиноміцети, дріжджі, водорості, найпростіші (Protozoa); багатоклітинні – міцеліальні (нитчасті) гриби; неклітинні, або з неригідною клітинною оболонкою – мікоплазми, віруси.

2. Морфологія бактерій. Основні форми бактерій

Бактерії (від лат. *bacteria* — паличка) — це одноклітинні організми, що мають ригідну клітинну стінку, не містять хлорофілу і розмножуються прямим поділом. Більшість із них мають джгутики і здатні утворювати спори. За зовнішніми ознаками розрізняють три основні форми бактерій: кулясті, паличкоподібні, звивисті.

Найбільш прості за формою кулясті бактерії – коки (від грецького *kokkos* – зерно). Їх клітини мають форму правильної кулі. Однак, зустрічаються коки із плоскою, вигнутою, бобоподібною та загостреною формою клітини.

Залежно від розташування дочірніх клітин після ділення материнської клітини їх поділяють на:

монококи (мікрококи, *micrococcus*) – поділ клітини відбувається в одній або кількох площинах, клітини розміщуються поодинокі або утворюють нехарактерні угруповання. Це, як правило, сапрофітні форми — типові мешканці води, ґрунту, повітря;

диплококи (*diplococcus*) клітини діляться в одній площині, на препаратах для мікроскопії розміщуються парами;

стрептококи (*streptococcus*) – коки, які діляться в одній площині, але після ділення між клітинами зберігається зв'язок і вони розміщуються у вигляді ланцюжків;

тетракоки (*tetracoccus*) – коки, які діляться у двох взаємно перпендикулярних площинах і після ділення утворюють тетради;

сарцини (*sarcina*) – поділ клітин відбувається у трьох взаємно перпендикулярних площинах з наступним утворенням специфічних угруповань у вигляді пакетів із 8, 16, 32 і більшого числа клітин. Хвороботворних видів сарцин не виявлено;

стафілококи (*staphylococcus*) – клітини діляться нерівномірно, у кількох площинах, що супроводжується утворенням характерних скупчень, подібних до виноградних грон. Серед них трапляються вільноіснуючі сапрофіти та патогенні форми..

Паличкоподібні (циліндричні) бактерії (від грецького *bacteria* та латинського *bacillum* – паличка) становлять найчисленнішу і найрізноманітнішу групу бактерій, їх поділяють на власне бактерії, бацили і клостридії.

Бактерії — це паличкоподібні мікроорганізми, що не утворюють спор.

Бацили — це спороутворювальні бактерії.

За аналогією з кулястими формами бактерій розрізняють *диплобактерії* і *диплобацили* (сполучення двох паличок по довжині); *стрептобактерії* та *стрептобацили* (ланцюжки паличок).

Іноді зустрічаються дуже дрібні палички (0,2 мкм), які важко відрізнити від витягнутих коків. Їх називають *кокобактеріями*. Тетрад і пакетів паличкоподібні бактерії не утворюють, бо вони діляться в одній площині, перпендикулярно до повздовжньої осі.

Термін „бактерії” – збірний, під ним розуміють цілий клас мікробів, куди входять кулясті, паличкоподібні бактерії (спороутворюючі і ті, що спор не утворюють). До бактерій відносять також міксобактерії, що мають складні цикли розвитку. Серед паличкоподібних бактерій багато збудників хвороб – бруцельозу, сибірки, правця, кишкових захворювань та ін.

Клостридії — паличкоподібні спороутворювальні бактерії, що нагадують за формою веретено.

Діаметр спори бацил не перевищує товщину клітини, тоді як діаметр спори клостридій більший за товщину клітини. Паличкоподібні бактерії можуть бути короткими, довгими, тонкими, товстими. Кінці паличок можуть бути заокруглені, з обрізаними краями, загострені, потовщені.

Розміщуються палички поодинокі, по дві клітини (*Pseudomonas*), ланцюжками (*Bacillus mycoides* – типова ґрунтова бактерія). Деякі палички розміщені під кутом одна до одної, утворюючи фігури у вигляді X чи Y.

Звивисті форми бактерій. Залежно від їх будови, розміру, кількості та характеру завитків клітини поділяють на вібріони, спірили та спірохети.

Вібріони (від французького *vibrion*)— зігнуті палички розміром (0,3...1,3) (1,4...5,0) мкм, які складають 1/4 спіралі, мають вигляд коми.

Спірили (від латинського *spira*)— на відміну від вібріонів, їхні клітини товстіші, довгі (1,4...1,7) (14,0...60,0 мкм) та звивисті. Спірили можуть мати від 1 – 2 до 8 – 10 витків.

Спірохети (від латинського *spira* та грецького *chaite* – волосся)— дуже звивисті палички, мають понад 10 витків, розмір (0,1...0,3) (5,0...250,0) мкм. Вкриті тонкою зовнішньою мембраною.

Крім перелічених трапляються бактерії унікальної форми:

Тороїдальні – у вигляді замкнених чи незамкнених кілець.

Зіркоподібні – у вигляді шестипроменевих зірок.

Тубероїдні та ін.

Форма плоских квадратних пластинок і коробочкоподібних плоских клітин характерна для архебактерій.

Нитчасті форми. В більшості випадків це паличкоподібні клітини, з'єднані в довгі ланцюги і вкриті загальною оболонкою, слизом або чохлами, плазмодесмами або єдиною оболонкою. Вони прикріплюються до субстрату або вільно плавають. До цієї групи відносяться сіркобактерії та залізобактерії.

Міксобактерії складають особливу групу. Вони відрізняються від звичайних бактерій здатністю утворювати плодові тіла, в яких знаходяться спори, а також мають більш складний цикл розвитку. Крім того, міксобактерії можуть синтезувати різні пігменти (рожевий, жовтий, червоний та ін.).

Мікобактерії можуть бути виділені в окрему морфологічну групу— прямі або зігнуті палички розміром (0,2...0,7) (1,0...10,0) мкм, які можуть галузитися, утворювати нитки або міцелієподібні структури, легко розпадаються на палички чи коки. Представниками цієї групи є збудники туберкульозу та паратуберкульозу.

Корінебактерії є близькими до групи мікобактерій. Від перших вони відрізняються колбоподібними виростами. До корінебактерій відносять бактерії псевдотуберкульозу тварин і дифтерійну паличку, також збудник кореневої гнилі цукрових буряків.

3. Морфологічні особливості інших груп мікроорганізмів

Віруси. Неклітинна форма існування життя. Існують у вигляді молекул ДНК або РНК, що вкриті білковою оболонкою – капсоїдом. Віруси були відкриті відомим російським вченим Д.Й.Івановським в 1892 році під час вивчення мозаїчної хвороби листків тютюну. Він встановив, що цю хворобу викликають надзвичайно малі мікроби – фільтруючі віруси, які легко проходять через бактерійні фільтри. Віруси мають надзвичайно малі розміри та надзвичайну стійкість до чинників зовнішнього середовища. На льоду вони можуть зберігати свою активність близько двох років, при висушуванні не гинуть, а навпаки краще переносять несприятливі умови середовища. Живуть і розмножуються віруси лише всередині живих клітин.

За формою віруси ділять: паличкоподібні – мають вигляд прямого циліндра; нитчасті – являють собою еластичні нитки; сферичні – нагадують багатогранник; кубоподібні – мають вигляд паралелепіпеда із заокругленими кряями; булавоподібні – мають головку і відросток.

Рикетсії — це група мікроорганізмів, що займають проміжне положення між бактеріями й вірусами. Рикетсії — паличкоподібні організми завширшки 0,2 – 0,3 мкм і завдовжки 0,3 – 1,0 мкм. Вони не утворюють спор і капсул, нерухомі, грамнегативні, мають клітинну стінку, цитоплазматичну мембрану, рибосоми та нуклеоїд, не оточений оболонкою (прокаріоти), розмножуються прямим поділом. Рикетсії на відміну від бактерій не ростуть на звичайних живильних середовищах, але репродукуються в курячих ембріонах, що розвиваються, а також клітинах комах і кліщів.

Рикетсії є внутрішньоклітинними паразитами, що спричинюють низку захворювань. Збудники хвороб переносяться під час укусу кліщів, вошей, у клітинах яких вони розмножуються.

Мікоплазми. Мікоплазми — це бактерії, що не мають клітинної стінки. Вони оточені тришаровою цитоплазматичною мембраною, мають цитоплазму, рибосоми і нуклеоїд. Для їхнього росту необхідні холестерин, нативні білки і фактори росту, що містяться в дріжджах. Мікоплазми спричинюють низку захворювань людини й тварин (пневмонія, запалення суглобів, запалення статевих органів, молочної залози).

Бактеріофаги — віруси, що паразитують у бактеріях, найчастіше трапляються скрізь, де є мікроорганізми, — ґрунті, водоймах, виділеннях тварин, харчових продуктах і складаються з голівки та видовженого відростка. Розвиток бактеріофага в клітині бактерії відбувається аналогічно розвитку вірусу. Найчутливішими до бактеріофагів є бактерії, що перебувають на стадії поділу. Вперше явище, коли видимі в мікроскоп бактерії піддавалися лізису, спостерігав у 1898 році російський мікробіолог **Н.Ф. Гамалея**. Термін бактеріофагія запропонував вчений **Де'Еррель**. Віруси, які паразитують на бактеріях дістали назву — бактеріофагів, на актиноміцетах — актинофагів, на грибах — мікофагів, на ціанобактеріях — ціанофагів.

Актиноміцети(променеві грибки; лат. *actis* — промінь, *myces* — гриб) — це одноклітинні прокаріотні організми, що мають форму довгих розгалужених ниток, які нагадують міцелій грибів. Будова міцелію в різних представників актиноміцетів однотипна. За будовою та біохімічними властивостями актиноміцети аналогічні бактеріям, а за характером розмноження, здатністю утворювати гіфи і міцелій — грибам. Мікроорганізми, які займають проміжне місце між бактеріями і грибами. Більшість актиноміцетів синтезують пігменти червоного, зеленого, рожевого і чорного кольорів. Актиноміцети відіграють надзвичайно важливу роль в перетворенні речовин в природі. Такі види, як актиноміцет стрептоміцині (*Actinomyces streptomycinus*), використовують для отримання антибіотика стрептоміцину, актиноміцет ауреофацієнс (*Actinomyces aureofaciens*) — ауреоміцину, актиноміцет римозус (*Actinomyces rimosus*) — тераміцину, актиноміцет фрадїє (*Actinomyces fradiae*) — неоміцину.

Актиноміцети широко розповсюджені в природі, більшість з них — ґрунтові мікроорганізми (сапрофіти). Патогенні форми представлено обмеженою кількістю анаеробних видів (*Streptomyces bovis*, *S. israelii*) — збудників актиномікозів людини та тварин. Найчастіше ці захворювання пов'язані з пошкодженням зубів,

травмуванням слизової оболонки ротової порожнини. Деякі види актиноміцетів викликають хвороби рослин, наприклад паршу картоплі та цукрових буряків.

Гриби. Це еукаріоти, широко розповсюджена в природі група безхлорофільних організмів-гетеротрофів, що характеризуються широким діапазоном біохімічної активності.

В останні роки грибам присвоєно статус живих істот планети. За кількістю видів вони займають третє місце після рослин та тварин. Описано близько 100 тис. видів грибів. До них відносяться мікро- і макроскопічні форми. серед яких зустрічаються одноклітинні, нитчасті та міцеліальні форми.

Мікроскопічні міцеліальні гриби називаються також мікроміцетами, пліснявим грибами. Вегетативне тіло гриба (талом) складається з ниток завтовшки 5 мкм – **гіфів**. Сукупність гіфів грибного талома називається *міцелієм*. Міцелій буває субстратним, коли гіфи врастають у поживне середовище, повітряним – гіфи піднімаються на субстратом. Гіфи можуть не мати поперечних перегородок (утворюють несептований міцелій) і можуть бути розділені такими перегородками (септами) на клітини (утворюють септований міцелій). Проте у цьому разі цитоплазма однієї клітини сполучається з цитоплазмою сусідньої клітини через пору, яка міститься у центрі перегородки.

Розрізняють дві групи мікроорганізмів – дріжджі і плісені.

Дріжджі – належать до класу сумчастих грибів — аскоміцетів. Це одноклітинні безхлорофільні гриби різноманітної форми: яйцеподібна, еліптична, циліндрична, лимоноподібна, куляста. За розмірами клітини дріжджів набагато крупніші за клітини бактерій, нерухомі. Дріжджі широко розповсюджені в ґрунті особливо в ґрунтах садів і виноградників, а також на плодах і листках багатьох видів рослин. Вони легко розмножуються в субстратах, що містять розчинні джерела вуглеводів (цукри, спирти, органічні кислоти). Висока метаболічна активність дріжджів обумовила широке їх практичне використання в харчовій промисловості та при виготовленні заквасок у хлібопеченні, при одержанні кисломолочних продуктів, вин, сидрів, спирту (*Saccharomyces cerevisiae*). За допомогою дріжджів одержують ліпіди, білки, поліцукри, органічні кислоти, багатоатомні спирти, вітаміни та ін.

Плісневі гриби – безхлорофільні, багатоклітинні організми. На поверхні субстратів вони утворюють грибиницю, яка складається з великої кількості відростків – гіф. Плісені відіграють важливу роль у перетворенні органічних речовин в природі. В промисловості їх використовують для одержання ферментних препаратів, органічних кислот, антибіотиків та ін. Однак, багато плісней спричиняють псування харчових продуктів і товарів, а також зумовлюють хвороби рослин, тварин і людини.

Мікроскопічні водорості. За кількістю клітин водорості розділяють на одноклітинні і багатоклітинні. Клітина водоростей має чітко виражене ядро і містить хлорофіл, тому більшість водоростей здатні синтезувати вуглеводи. Ґрунтові водорості зустрічаються всюди, головним чином в ґрунтах, які багаті на вологу та органічні речовини. Водорості відіграють важливу роль в кругообігу речовин в природі, оскільки вони синтезують і накопичують органічну речовину.

Найбільш поширені в природі зелені, жовто-зелені, синьо-зелені і діатомові водорості.

Класифікація водоростей ґрунтується на таких ознаках: хімічний склад клітинної оболонки, характер фотосинтетичних пігментів, природа органічних речовин, які відкладаються про запас у клітині, будова і розміщення джгутиків у рухомих клітин тощо. На основі цих ознак водорості поділяють на кілька великих груп (відділів). Для мікробіології найбільший інтерес становлять одноклітинні рухомі форми, а це майже всі євгленові, більша частина, діатомових, окремі класи жовтозелених і зелених водоростей.

Детально вивченням водоростей займається наука альгологія.

Найпростіші (Protozoa). До найпростіших відносяться мікроскопічні тваринні організми. Розміри їх клітини коливаються від 15 до 20 мкм. Форма клітини може бути кулястою, овальною, сплюснутою і розгалуженою. Число найпростіших в ґрунтах може сягати 1 мільйона клітин в 1 г абсолютно сухого ґрунту. Більшість найпростіших живляться бактеріями. Так, наприклад, амеби, крім різноманітних бактерій живляться клітинами азотобактера, чим підтримують його чисельність в ґрунті на певному рівні.

Чимало видів найпростіших є паразитами тварин і рослин; переважна більшість мешканців ґрунту живляться бактеріями. За несприятливих умов вони можуть утворювати цисти. Найпростіші стимулюють ріст і розвиток вищих рослин, оскільки виділяють в ризосферу продукти обміну, які містять азотовмісні сполуки.

Протозоа відносять до трьох класів: джгутиконосії (типовий представник – євглена зелена) – організми, які займають проміжне місце між рослинами і тваринами; саркодові (представник амеба) – організми, які не мають постійної форми тіла; інфузорії (представник інфузорія туфелька) – організми які мають постійну форму тіла завдяки щільній оболонці рівномірно вкритій війками.

4. Систематика мікроорганізмів.

Мікроби – це найбільша за кількістю та дуже різноманітна за рівнем організації частина організмів, які населяють біосферу Землі. Об'єднують їх тільки малі розміри, тому систематизувати їх дуже складно. Збудники захворювань є серед неклітинних (віруси та пріони) і клітинних організмів. Останні поділяють на 2 великі групи: прокаріоти (доядерні) та еукаріоти (ядерні). Патогенні мікроорганізми зустрічаються серед бактерій (прокаріоти), грибів і найпростіших.

Перші спроби систематизувати мікроорганізми належать датському вченому О.Мюллеру, який розділив відомі на той час бактерії на 15 видів і виділив два роди – *Monas* і *Vibrio*. Однак перші класифікації бактерій були побудовані на морфологічних ознаках: мікроорганізми описувались і заносились до каталогів (принцип каталогізації). Здійснити систематику мікроорганізмів стало можливим лише після того як С.М.Виноградський і М.Бейеринк обґрунтували необхідність використовувати для класифікації бактерій поряд із морфологічними ознаками – фізіологічні. В останній час у зв'язку з розвитком молекулярної мікробіології для систематики мікроорганізмів використовують спадкові ознаки (дані про генотип). Це дає можливість якісно доповнити їх характеристику.

Систематика (таксономія) – це наука, яка займається питанням класифікації і ідентифікації мікроорганізмів. Завданням класифікації є об'єднання мікроорганізмів із спільними ознаками в певні групи (таксони).

Номенклатура – система найменувань, які використовуються для назви мікроорганізмів. Назву мікроорганізмам присвоюють у відповідності з правилами міжнародного кодексу номенклатури бактерій, який введений в дію з 1 січня 1980 року.

Згідно з новим кодексом номенклатури бактерій запроваджено такі міжнародні класифікаційні категорії: відділ, клас, порядок, родина, рід, вид.

Вид – це основна таксономічна одиниця. В мікробіології, для позначення виду користуються бінарною (подвійною) номенклатурою, яка запропонована К. Ліннеєм. Перше слово означає рід. Воно характеризує морфологічні, фізіологічні ознаки бактерій або прізвище вченого, який відкрив бактерію. Наприклад, назва *Escherichia coli* вказує, що мікроб відкрив Ешеріх. Друге слово означає видову назву мікроорганізма, яка утворюється залежно від джерела його відкриття, процесу або хвороби, які він викликає та ін. В даному випадку *coli* означає, що збудник виділений із кишківника.

В мікробіології існує два різних підходи до систематики, які обумовлюють два види класифікації. В основі першого лежить ідея створення природної (філогенетичної) класифікації, яка об'єктивно відображає зв'язок між окремими групами бактерій, їх історію та еволюційний розвиток. Інший підхід до систематики переслідує практичні цілі і використовується для ідентифікації виду. Це штучна класифікація бактерій, яка є традиційною. До таких класифікацій належить класифікація мікроорганізмів американського вченого-мікробіолога Д. Х. Бергі (1860—1937). Вона є загальновизнаною та найбільш поширеною.

Перше видання визначника бактерій Бергі вийшло в світ у 1923 р. Нове, дев'яте, видання систематики бактерій «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» (в 4-х томах), у підготовці якого брало участь Американське товариство мікробіологів спільно з найавторитетнішими вченими із 14 країн світу, було видано у 1984—1989 рр. У ньому більш детально і повно подано відомості про мікроорганізми, їх нумеричну таксономію, методи генетичного, серологічного і хемотаксономічного досліджень більшості різних видів бактерій. Викладено основи номенклатури бактерій та принципи ідентифікації їх, наведено екологічну характеристику прокаріотів тощо.

Визначник бактерій Бергі здобув міжнародне визнання. У ньому всі виявлені бактерії віднесено до царства *Procaruota*, яке поділено на 33 групи. У цій фундаментальній праці запропонована також схема поділу царства *Procaruota* на інші таксони — відділи, класи тощо.

Поділ на відділи ґрунтується з огляду на наявність і будову клітинної стінки прокаріотних організмів. Коротка характеристика поділу царства *Procaruota* на відділи і класи за визначником бактерій Д. Бергі має такий вигляд.

Згідно з визначником, виданим у 1993 р., бактерії поділяють за будовою клітинної стінки та забарвленням за Грамом на такі відділи: *Gracilicutes* – тонкошкірі (грамнегативні); *Firmicutes* – товстошкірі (грампозитивні), *Tenericutes* –

не мають клітинної стінки (мікоплазми), Mendisicutes – архебактерії (вони непатогенні).

Відділ I. Gracilicutes (грацилікути). Сюди належать грамнегативні прокаріоти різних форм. Вони бувають рухомими й нерухомими, ендоспор не утворюють, розмножуються шляхом поділу, а деякі — брунькуванням. Відділ поділений на три класи: скотобактерії (**Scotobacteria**), фотосинтезуючі організми (**Anoxyphotobacteria** та **Oxyphotobacteria**).

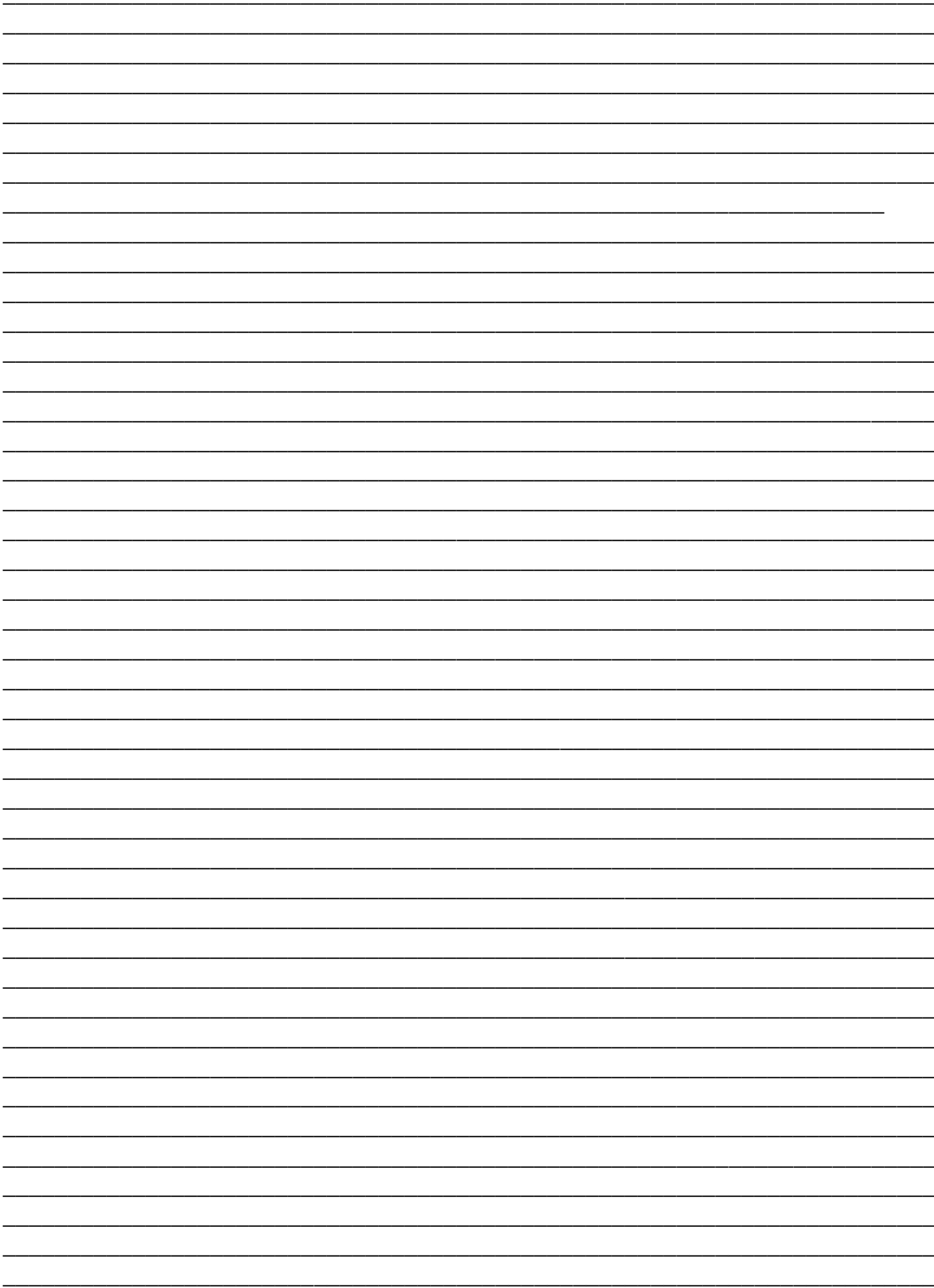
Відділ II. Firmicutes (фірмікутні грампозитивні прокаріоти). В цьому відділі об'єднано мікроби, які мають кулясту, паличкоподібну, нитчасту, розгалужену та інші форми. Серед них є рухомі і нерухомі, аеробні, анаеробні, спороносні і неспороносні організми. Переважна більшість з них розмножуються бінарним поділом, а деякі — спорами. З огляду на морфологію, ці прокаріоти запропоновано ділити на два класи: фірмібактерії (**Firmibacteria**) і таллобактерії, розгалужені форми (**Tallobacteria**).

Відділ III. Tenericutes (тенерікути). До цього відділу належать грамнегативні прокаріоти, які не мають клітинної оболонки і не синтезують пептидоглікану. Клітини їх оточені цитоплазматичною мембраною, а тому за формою вони є дуже плеоморфними. Тенерікути розмножуються бінарним поділом, брунькуванням та фрагментацією. Серед них є сапрофіти, паразити, патогенні організми — збудники захворювань рослин, тварин і людини. Відділ включає один клас — мікоплазми (**Mollicutes**).

Відділ IV. Mendosicutes (мендозікутні прокаріоти). Тут об'єднано різної форми прокаріотів, які за походженням вважаються старшими за представників I і II відділів. У більшості мендозікутів в клітинних стінках немає пептидоглікану. Вона може бути побудована тільки з білка або гетерополісахаридів. Серед них переважають облігатні анаероби, вони не утворюють ендоспор, забарвлюються за Грамом негативно і позитивно. Ці організми характеризуються різноманітністю метаболізму і здатністю жити в різних екстремальних умовах. Об'єднано їх в один клас **Archeobacteria**.

За визначником бактерій Бергі (9-те видання) усі прокаріоти поділено на групи, які не мають таксономічного статусу.

Для нотаток



ТЕМА №3. АНАТОМІЧНА БУДОВА МІКРООРГАНІЗМІВ.

План

1. Загальні уявлення про анатомічну будову мікроорганізмів.
2. Внутрішня структура бактеріальної клітини:
 - а) цитоплазма.
 - б) нуклеоїд.
 - в) рибосоми.
 - г) мезосоми.
 - д) хроматофори.
 - е) плазмід.
 - є) карбоксисоми.
 - ж) аеросоми.
 - з) спори та спороутворення.
3. Зовнішні утворення бактеріальної клітини:
 - а) клітинна стінка.
 - б) капсула.
 - в) цисти.
 - г) війки, або пілі.
 - д) джгутики.
4. Рух бактерій.
5. Анатомічна структура вірусів.
6. Анатомічна структура рикетсій.
7. Анатомічна структура мікроскопічних грибів.

Ключові терміни та поняття: Зовнішні та внутрішні утворення бактеріальної клітини, типи джгути кування, типи споро ношення, особливості анатомічної будови вірусів, бактеріофагів, грибів, водоростей.

1. Загальні уявлення про анатомічну будову мікроорганізмів.

Незважаючи на простий зовнішній вигляд, бактеріальна клітина є складним живим організмом, будова якої за багатьма ознаками нагадує будову клітин рослинного чи тваринного походження. Однак анатомічна будова бактерій довгий час залишалась маловивченою. Це пояснюється досить малими розмірами клітини та мінливістю бактерій залежно від умов живлення і середовища. Детальне вивчення анатомічної будови бактерій стало реальним після винайдення електронної мікроскопії, яка дала можливість ретельно дослідити поверхневу і внутрішню структуру клітини бактерій.

Бактеріальна клітина оточена щільною оболонкою — клітинною стінкою. У багатьох бактерій зовні від клітинної стінки розміщені капсула або слизові шари, пілі (ворсинки) та джгутики. Всередину від клітинної стінки розміщена цитоплазматична мембрана, яка оточує цитоплазму. В цитоплазмі містяться

бактеріальне ядро, рибосоми, запасні речовини та інші бактеріальні структури. У протоплазмі деяких бактерій утворюються форми спокою — спори (ендоспори).

Внутрішня структура бактеріальної клітини представлена цитоплазмою, в якій знаходяться: нуклеоїд, рибосоми та інші мембранні утворення.

До зовнішніх утворень бактеріальної клітини відносять оболонку, капсулу, джгутики і фімбрії.

2. Внутрішня структура бактеріальної клітини:

Цитоплазма. Цитоплазма бактерій — це внутрішній вміст клітини. Вона є середовищем, яке зв'язує всі внутрішньоклітинні структури в єдину систему, являє собою безбарвну, гомогенну колоїдну систему, яка складається із води, білків, жирів, вуглеводів і різних мінеральних сполук. Для цитоплазми характерний різко виражений поверхневий натяг. Шар цитоплазми, який знаходиться безпосередньо під оболонкою клітини є більш щільним і утворює цитоплазматичну мембрану. Внутрішню порожнину клітини заповнює цитозоль — напіврідка колоїдна маса, що складається на 70 – 85 % з води, РНК, білків (включаючи ферменти), продуктів і субстратів метаболічних процесів. У цитоплазмі знаходяться структури клітини (рибосоми, нуклеоїд та ін.), цитоплазматичні мембранні утвори (газові вакуолі, мезосоми, хроматофори, тилакоїди), включення, оточені білковою мембраною (хлоросоми, фікобілісоми, мегнетосоми та ін.), а також структури, позбавлені мембрани, які розглядають як запасні речовини. Також в ній міститься значна кількість ферментативних систем, які виконують надзвичайно важливі функції: регулюють надходження і виділення з клітини різних речовин, здійснюють синтез клітинної оболонки та інших компонентів бактеріальної клітини. Цитоплазматична мембрана є обов'язковим структурним елементом клітини. Порушення її цілісності призводить до втрати життєздатності клітини, її загибелі. Цитоплазма разом із органоїдами та цитоплазматичною мембраною становить протопласт. В протопласті проходять всі основні життєво важливі процеси клітини: дихання, синтез білків, нуклеїнових кислот, спорогенез.

Нуклеоїд — клітина бактерій не має диференційованого ядра, утворення, що зберігає і передає спадкову інформацію, знаходиться безпосередньо в цитоплазмі, тому ядерний апарат бактеріальної клітини дістав назву нуклеоїда. Це подвійна нитка ДНК з молекулярною масою $(2-3) \times 10^9$, не розділена між собою і цитоплазмою будь-якою оболонкою, має вигляд згорнутої в кільце нитки довжиною 1,1 – 1,4 мм, яку ще називають бактеріальною хромосоною. У нуклеоїді закладена генетична інформація, відповідальна за передавання спадкових ознак виду мікроорганізму.

Рибосоми кріпляться до цитоплазматичної мембрани. Це мембранні часточки розміром 16–18 нм, які складаються із РНК (60 – 65%) і білка (35 – 40%). У них міститься до 85% усієї бактеріальної РНК. У рибосомах відбувається синтез білків. Клітини в стані інтенсивного росту містять приблизно 15 000 рибосом. Рибосоми можуть об'єднуватись в полісоми – структури, які складаються з рибосом, молекул інформаційної і транспортної РНК. Загальна маса їх може становити 1/4 усієї маси

клітини. Кількість рибосом визначається швидкістю росту клітин. Основна функція рибосом – синтез білка.

Мезосоми — особливі органели, що утворюються цитоплазматичною мембраною в цитоплазмі. У мезосомах, які відіграють важливу роль під час поділу клітини, відбуваються окисно-відновні процеси, вони виконують видільну функцію і забезпечують синтез екзоферментів.

Хроматофори – мембранні утворення, які становлять від 40 до 50 % маси клітини. В них містяться фотосинтетичні пігменти – бактеріохлорофіл і каротиноїди.

Плазмід — дрібні кільцеподібні структури ДНК, регулюють синтез окремих біологічно активних речовин (токсинів, ферментів, антибіотикоподібних речовин — бактеріоцинів та ін.). Ці структури мають властивості генів (генетичні структури).

Карбоксисоми – виявлені в клітинах ціано- і сіркобактерій. Вони містять важливий фермент фіксації CO₂ в циклі Кальвіна – рибульозу фосфаткарбоксилазу. Функції карбоксисом повністю не з'ясовані.

Аеросоми – характерні для бактерій, що живуть у водоймах (пурпурні і зелені сіркобактерії). За формою вони нагадують вакуолі, заповнені пухирцями газів. Аеросоми виконують функцію регуляції плавучості бактерій і дають можливість бактеріям, які не мають джгутиків, здійснювати вертикальні рухи у воді та капілярах ґрунту.

У цитоплазмі багатьох видів бактерій містяться гранули волютину, ліпопротеїди, глікоген, пігменти, сірка, кальцій та інші речовини, що є запасним поживним матеріалом, який використовується бактеріями за несприятливих умов існування.

Спорита спороутворення– це внутрішньоклітинні утворення круглої або овальної форми. Спора може становити в середньому 1/10 частину об'єму клітини, але на неї приходить більша частина маси сухої речовини материнської клітини (вегетативна клітина).

Спори починають утворюватися при потраплянні бактерій в несприятливі умови зовнішнього середовища (підвищена температура, дефіцит вологи або поживних речовин, зміна рівня рН, накопичення шкідливих продуктів обміну та ін.). Тому, спори є пристосуванням організму бактерій до виживання.

Спороутворення (спорогенез) може тривати від 4 –8 до 72 годин.

Хімічний склад та будова спори обумовлюють її підвищену стійкість до несприятливих умов зовнішнього середовища. Наприклад, неспороносні форми бактерій гинуть при 80°C протягом 10 хвилин (пастеризація), а спороносні – гинуть в автоклаві під дією насиченої пари при температурі (115 – 125) °C, а також під впливом температури 150 – 170° у сухо-жаровій печі Пастера. Спори витримують кип'ятіння протягом кількох годин і вплив високих концентрацій дезінфікуючих речовин. Так, спора сінної палички може витримувати кип'ятіння впродовж 2 годин, у той час як вегетативна форма цієї бактерії гине при температурі 75°C уже через кілька хвилин.

В міру утворення спори, вегетативна клітина поступово відмирає. Але при потраплянні в сприятливі умови спори проростають і перетворюються знову у

вегетативні форми клітини. Спори при цьому набрякають, збільшуються їх розміри, підвищується активність ферментів, під впливом яких розчиняється оболонка і настає проростання спор.

Розрізняють полярне, екваторіальне і косе проростання спор. При полярному проростанні «проросток» виходить назовні через один із кінців спор, при екваторіальному – в середній частині спор. Косе проростання зустрічається досить рідко. Тривалість проростання спор — від 2 до 5 год.

Слід зауважити, що кожна бактеріальна клітина здатна утворювати тільки одну спору, з однієї спор утворюється тільки одна вегетативна клітина. Отже, процес спороутворення не є способом розмноження, а виконує тільки захисні функції клітини.

Типи спороутворення:

- 1. бацилярне** – спора локалізується в клітині центрально, ексцентрално чи термінально, при цьому клітина не змінює своєї форми. Прикладом є збудник сибірської виразки (*Bacillus anthracis*);
- 2. клостридіальне** – при формуванні спор клітина змінює свою форму, набуваючи вигляду веретена або човника. Такі клітини називаються клостридіями. Прикладом є збудник ботулізму (*Clostridium botulinum*);
- 3. плектридіальне** – спора локалізується термінально, у місці її розміщення клітина розширюється і набуває форми ракетки. Прикладом є целюлозоруйнівні бактерії. Клостридіальний і плектридіальний типи розміщення спор властиві в основному видам роду *Clostridium* і нерідко зустрічаються одночасно в культурі одного виду.

3. Зовнішні утворення бактеріальної клітини:

Клітинна стінка. Клітинна стінка належить до обов'язкових структур бактеріальної клітини. Завдяки їй бактерії мають певну форму. Винятком є мікоплазми та L-форми бактерій, які позбавлені цієї структури. Клітинна стінка захищає внутрішній вміст клітини від механічних і осмотичних впливів зовнішнього середовища, відіграє важливу роль у регуляції росту, поділу клітини та розподілі генетичного матеріалу, визначає здатність клітини фарбуватися за Грамом. Товщина клітинної стінки коливається від 10 до 80 нм, а її маса складає близько 20 % маси сухої речовини клітини бактерії.

Головним структурним компонентом оболонки більшості бактерій є муреїн (пептидоглікан). Вважають, що від будови клітинної оболонки залежить забарвлення мікроорганізмів за Грамом. Так, у грампозитивних бактерій оболонка складається з багатьох шарів муреїну, в який вплетені такі супутні компоненти, як білки, поліцукри та органічні кислоти. У грам негативних бактерій муреїн одношаровий. Вміст муреїну в клітинних оболонках коливається від 50 до 90 % у грампозитивних і від 1 до 10% – у грамнегативних.

Капсула. У більшості бактерій оболонка клітини зовні покрита слизом. Шар слизу може мати різну товщину і конфігурацію. Якщо товщина слизу досить велика і він має певну форму, то його називають капсулою. Розрізняють мікро-, макрокапсулу та слизовий шар.

Мікрокапсулу виявляють за допомогою електронної мікроскопії. Вона представлена мукополісахаридними фібрилами. Роль її остаточно не з'ясовано.

Макрокапсула - це стовщений слизовий шар, його мають не всі мікроорганізми. В утворенні капсули приймає участь цитоплазматична мембрана. За хімічним складом капсули ділять на два типи: до першого відносяться капсули, які складаються лише із поліцукрів, до другого – з ліпідів. Однак, зустрічаються капсули, які складаються із ліпідів та гетерополіцукрів (туберкульозні бактерії). Капсули містять до 98 % води, тому вони виконують функцію захисту клітини від висихання, механічних пошкоджень і допомагають переносити бактеріям несприятливі умови зовнішнього середовища.

Мікроорганізми, які утворюють велику кількість слизу можуть бути шкідливими для виробництва. Так, зокрема, на цукрових заводах, вони спричиняють ослизнення цукрового сиропу (*Leuconostocmesenteriodes*), на пивоварних – «тягучість» пива.

Інколи бактерії синтезують настільки багато слизу, що це призводить до злипання їх у групи. Такі слизисті групи називають зооглеями. Прикладом може бути *Streptococcusmutans*, який прикріплюючись клейкими речовинами капсули до поверхні зубів вивкликає розвиток карієсу.

У деяких видів мікроорганізмів (залізобактерії, сіркобактерії) відбувається затвердіння зовнішніх шарів оболонки клітини, що призводить до утворення чохла. У залізобактерій в чохлах відкладається гідроокис заліза, який надає їм особливої міцності.

Цисти. Деякі мікроорганізми в несприятливих умовах середовища утворюють клітини з міцними, щільними оболонками –, які не є спорами. Цисти стійкі до висушування, механічних подразнень і менш стійкі до температури. Цисти утворюють бактерії роду *Azotobacter* і *Bdellovibrio*.

Війки, або пілі, — це ниткоподібні короткі білкові трубочки на поверхні клітин. За допомогою їх бактерії прикріплюються до об'єкта (найчастіше до слизових оболонок).

Крім звичайних фімбрій на поверхні клітини можуть знаходитись **статеві фімбрії (пілі)**. Вони мають всередині канал, через який при статевому контакті (кон'югації) передається генетичний матеріал від однієї клітини до іншої.

Джгутики – тяжі білкової природи, за допомогою яких бактерії рухаються. Товщина джгутиків коливається від 0,02 до 0,06 мкм, довжина – від 6 до 9 мкм. Зважаючи на такі малі розміри, їх можна побачити тільки за допомогою електронного мікроскопа. Джгутики кріпляться до клітини за допомогою двох дисків: зовнішній диск міститься в клітинній стінці, внутрішній – у цитоплазматичній мембрані. Джгутики складаються з білкової речовини флагеліна, який міститься тільки у складі джгутиків.

В залежності від розташування джгутиків рухливі бактерії поділяють на наступні групи:

- а) **монотрихи** – мають один джгутик. Прикладом може бути холерний вібріон;
- б) **лофотрихи** – мають пучок джгутиків на одному із кінців клітини;

в) **амфітрихи** – мають один або пучок джгутиків на обох кінцях. Прикладом є спірили;

г) **перитрихи** – мають хаотично розташовані джгутики по всій поверхні клітини. Прикладом є *Escherihiacoli* та *Salmonela*.

Кількість і розміщення джгутиків визначають характер і швидкість рухів бактерій. За несприятливих умов бактерії можуть втрачати джгутики, а відповідно, і властиву їм рухливість.

4. Рух бактерій.

Рухомі бактерії поділяють на ковзаючі та плаваючі. Ковзання спостерігається у міксо – і сіркобактерій, які не мають джгутиків. Цей рух ще називають реактивним. Бактерії, у яких джгутики знаходяться на одному кінці клітини (лофотрихи, монотрихи) рухаються по прямій лінії, перитрихи – рухаються перевертанням клітини в різні сторони. Швидкість руху бактерій залежить від кількості та характеру розміщення джгутиків, від віку клітини і факторів зовнішнього середовища.

5. Анатомічна структура вірусів.

Віруси живуть безпосередньо в клітинах живих організмів. Позаклітинна форма існування вірусів – віріон. Віріон складається із нуклеїнової кислоти і білка. Нуклеїнова кислота, як правило, представлена однією молекулою ДНК або РНК.

Навколо молекули ДНК (РНК) розміщується білкова оболонка (капсид). Капсид складається з великої кількості субодиниць – капсомерів, які в свою чергу представлені однією або двома молекулами білка.

Фаги – складаються із відростка і головки. Головка фага вкрита оболонкою із капсомерів. В середині головки знаходяться одна або дві нитки ДНК.

Відросток являє собою білковий стрижень, який зверзу вкритий чохлом із капсомерів, здатних до скорочень. Відросток закінчується базальною пластинкою із 5-6 виростами. Від пластинки також відходять тонкі нитки – органи адсорбції. Через відросток ДНК із головки фага переходить в клітину ураженого організму.

6. Анатомічна структура рикетсій.

Рикетсії – мікроорганізми, які за патогенністю не поступаються вірусам і фагам, однак їх анатомічна будова є більш досконалою. Нуклеоїд рикетсій має ДНК і РНК. Крім того, на відміну від вірусів і фагів, рикетсії мають клітинну оболонку, яка надає їм певної форми.

7. Анатомічна структура мікроскопічних грибів

Гриби включають як багатоклітинні (плісняві), так і одноклітинні організми (дріжджі).

Особливістю анатомічної будови пліснявих грибів є наявність в складі клітинної оболонки хітину або близьких йому речовин. Внутрішня будова клітини представлена цитоплазмою, яка має зернисту структуру. Вважають, що це пов'язано з наявністю великої кількості рибосом, що містять РНК і є місцем синтезу білка. В

цитоплазмі пліснявих грибів є також мітохондрії, лізосоми, апарат Гольджі, та включення жирів і волютину. На відміну від бактерій, клітини грибів мають чітко виражене ядро і ядерце.

Дріжджі – одноклітинні мікроскопічні гриби. Клітина дріжджів має оболонку, цитоплазму і чітко диференційоване ядро. У деяких видів дріжджів клітинна оболонка ослизнюється і в рідкому середовищі дріжджі утворюють пластівці. Такі дріжджі використовують в пивоварінні, оскільки вони сприяють швидкому освітленню пива. В цитоплазмі дріжджів знаходяться 1 – 2 вакуолі, які відділені тонопластом, мітохондрії, рибосоми, апарат Гольджі, лізосоми а також різні включення (глікоген, волютин та ін.). Деякі види дріжджів містять до 30 – 50% жиру (*Endomycesvernalis*), Тому, їх використовують в промисловості для одержання мікробіологічним шляхом жирів.

Для нотаток

ТЕМА №4. РОЗМНОЖЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ.

План

1. *Поняття росту та розмноження у бактерій*
2. *Фази розмноження клітин мікроорганізмів*
3. *Розмноження сферичних форм мікроорганізмів*
4. *Розмноження паличковидних, витких та інших форм мікроорганізмів*
5. *Простий статевий тип розмноження мікроорганізмів*
6. *Швидкість розмноження мікроорганізмів*
7. *Розмноження грибів, водоростей та найпростіших тварин (протозоа)*
8. *Розмноження вірусів і фагів*

Ключові терміни та поняття: Основні фази розмноження клітин мікроорганізмів, особливості розмноження різних груп мікроорганізмів, клітини-донори та клітини-реципієнти, ізоморфний і гетероморфний типи розмноження.

1. Поняття росту та розмноження у бактерій

Основною відмінною рисою живих організмів від не живих є здатність їх рости і розмножуватись. **Ріст** – це фізіологічний процес, який проявляється в збільшенні розмірів і маси клітини.

Існує кілька визначень поняття "ріст", в саме:

1. Збільшення біомаси клітини. Проте не всяке збільшення біомаси клітини можна розглядати як ріст. Так, у азотобактера збільшення біомаси часто відбувається за рахунок ослизнення культури (виділення слизу);

2. Узгоджене збільшення кількості всіх хімічних компонентів, з яких складається клітина;

3. Незворотне збільшення кількості живої речовини, як правило, пов'язане з поділом клітин і збільшенням їх кількості. У багатоклітинних мікроорганізмів збільшуються розміри тіла, а в одноклітинних росте кількість клітин;

4. Координована реплікація всіх структур, органел і компонентів мікробної клітини, яка, як правило, закінчується її розмноженням.

Ріст бактеріальної клітини обмежений. Тому, досягнувши певних розмірів, клітина припиняє ріст і починає ділитись (розмножуватись).

Для бактерій характерний **індивідуальний ріст** і **ріст в популяції**. При індивідуальному рості мікроорганізмів відбувається збільшення розмірів клітини і її маси. Так, у коків ріст клітини проходить рівномірно в усіх напрямках. При цьому значно збільшується радіус клітини. Паличкові форми мікроорганізмів ростуть в довжину, тобто в напрямку довгої осі.

Розмноження – це збільшення числа клітин бактерій в популяції. Найчастіше бактерії розмножуються бінарним поділом, коли з однієї клітини утворюється дві, кожна з яких знову ділиться. Процесу поділу завжди передують подвоєння (реплікація) ДНК. Ділення клітини бінарним способом відбувається наступним чином: спочатку ділиться нуклеоїд, який містить спадкову генетичну інформацію; потім на стінках

клітини в середній частині з'являються вирости, які збільшуються і утворюють перегородку; новоутворена перегородка ділить клітину пополам і дочірні клітини відділяються одна від одної. Під час реплікації ДНК і утворення перегородки, клітина бактерії інтенсивно росте. В цей період здійснюється синтез пептидоглікана, утворюється цитоплазматична мембрана, рибосоми та інші органели.

2. Фази розмноження клітин мікроорганізмів

Розрізняють 4 фази розмноження:

1. **лаг-фаза** або фаза затримки росту. Вона триває дві години. Це відбувається тому що бактерії пристосовуються до умов, кількість клітин впродовж цієї фази не збільшується.
2. **фаза логарифмічного росту** – при цьому в геометричній прогресії збільшується кількість клітин. Вона ще називається експоненціальною і триває 5-6 годин.
3. **стаціонарна фаза** – це коли кількість нових клітин дорівнює кількості відмерлих клітин. Ця фаза триває 2 години.
4. **фаза відмирання** – в цій фазі кількість нових клітин менше ніж кількість відмерлих. У спороутворюючих мікроорганізмів йде процес утворення спор.

3. Розмноження сферичних форм мікроорганізмів

У сферичних бактерій при діленні клітини може утворюватись одна або кілька поперечних перегородок. Якщо, виникає одна перегородка, то клітина ділиться в одній площині. В такий спосіб розмножуються мікрококи, диплококи, стрептококи.

Монококи – якщо утворюється одна поперечна перетинка в одному просторовому напрямку, а після поділу материнська і дочірня клітини розходяться.

Диплококи – якщо утворюється одна поперечна перетинка в одному просторовому напрямку, а після поділу материнська і дочірня клітини не розходяться, залишаються у вигляді двійчаток.

Стрептококи – якщо утворюється одна поперечна перетинка в одному просторовому напрямку, а після поділу материнські і дочірні клітини не розходяться а створюють ланцюжки.

Тетракоки – якщо під час поділу утворюються дві поперечні перетинки у двох взаємно перпендикулярних напрямках (з однієї клітини утворюється чотири).

Сарцини – якщо під час поділу утворюються три поперечні перетинки в трьох взаємно перпендикулярних напрямках, утворюються скупчення клітин у вигляді пакетів по 8, 16, 32 і т.д. шт.

Стафілококи – якщо під час поділу утворюється багато поперечних перетинок у різних просторових напрямках, клітини після поділу не розходяться і розміщуються у вигляді виноградного грона.

4. Розмноження паличковидних, витких та інших форм мікроорганізмів

Паличковидні або циліндричні мікроорганізми теж розмножуються бінарним поділом. Спочатку відбувається ріст клітини в довжину. Через деякий час паличка посередині починає звужуватись і розпадається на дві дочірні клітини. Поділ з утворенням поперечної перетинки притаманний грам позитивним бактеріям.

Розрізняють ізоморфний і гетероморфний тип ділення паличкових бактерій.

Ізоморфний тип ділення – утворюються дві однакових за розмірами клітини.

Гетероморфний тип ділення – утворюються клітини різних розмірів.

У **звивистих форм** мікроорганізмів, наприклад, у спірохет, ділильна перегородка може розміщуватись не перпендикулярно клітині, а вздовж її довгої осі. При цьому відбувається «розгвинчування» клітини на дві дочірні.

Деякі види мікроорганізмів, наприклад, міксобактерії, розмножуються перешнуровуванням. При цьому клітина бактерії в місці ділення починає звужуватись і поступово витягується, оболонка клітини в звуженому місці з обох сторін вгинається і ділить клітину пополам.

Окремі мікроорганізми можуть розмножуватись брунькуванням, яке є різновидом бінарного ділення. Цей спосіб розмноження характерний для дріжджів і бактерій роду *Nitrobacter*. При брунькуванні на поверхні клітини з'являється випуклість, яка швидко збільшується в розмірах. На краях випуклості оболонка вгинається в середину клітини і дочірня клітина від'єднується від материнської. Брунькування завжди відбувається на одному і тому ж полюсі клітини. Материнська клітина шляхом брунькування може утворити 3 – 4 дочірніх, після чого вона старіє і відмирає.

5. Простий статевий тип розмноження мікроорганізмів

Простим статевий тип розмноження мікроорганізмів називається **кон'югацією**. Це процес, при якому клітини наближаються одна до одної, з'єднуються між собою за допомогою кон'югаційного містка (статеві фімбрії), і обмінюються генетичною інформацією (молекулами ДНК та РНК).

У процесі кон'югації приймають участь 2 типи клітин – донори і реципієнти. Донорами виступають клітини, які здатні віддавати генетичний матеріал. Їх називають F^+ клітинами (від англійського fertility – плодовитість). Реципієнти – це клітини, які приймають генетичний матеріал, їх позначають F^- .

На початку кон'югації клітини донора F^+ і реципієнта F^- з'єднуються між собою за допомогою пілі і утворюють кон'югаційний місток. Потім генетичний матеріал із клітини донора через місток переміщується в клітину– реципієнт. У результаті цього процесу утворюється організм з новим генетичним матеріалом, який може дати початок нащадкам з новими біологічними властивостями.

Процес кон'югації може бути порушений, якщо суспензію, де відбувається розмноження мікроорганізмів, піддати сильному струшуванню. Це призводить до руйнування кон'югаційного містка і припинення процесу кон'югації, однак, життєздатність клітин не порушується.

6. Швидкість розмноження мікроорганізмів.

Швидкість розмноження мікроорганізмів залежить від ряду умов і може коливатися в різних межах. Якщо в наявності усі необхідні умови для росту і розвитку, то розмноження може відбуватися дуже швидко. За наявності в середовищі необхідних поживних речовин, відповідної температури, оптимального

pH середовища, наявність кисню для аеробів і т.д. поділ кожної клітини може відбуватися через кожні 20-30 хв.

Якщо взяти для розрахунку, що поділ буде відбуватися кожні 20 хвилин, то з однієї клітини за короткий проміжок часу можна отримати величезну кількість мікроорганізмів:

За 24 години при діленні через кожні 20 хвилин можливо отримати 72 покоління бактерій і утворилося б $2^{72} = 472 \cdot 10^{19}$ клітин. Якщо прийняти, що 1 млрд клітин буде важити 1 мг, то $472 \cdot 10^{19}$ клітин будуть важити 4720 тонн.

Одна клітина протягом 136 днів розплодиться у популяцію вагою з Землю ($10 \cdot 13 \text{ г} \cdot 2136 = 8,7 \cdot 1024 \text{ кг}$), а ще за 18 днів — вагою із Сонце ($10 \cdot 13 \text{ г} \cdot 2154 = 2,3 \cdot 1030 \text{ кг}$).

Однак ці цифри слугують лише ілюстративним матеріалом, показуючи швидкість розмноження мікроорганізмів. У природі така швидкість розмноження не має місця, так як немає умов для безперешкодного розмноження бактерій протягом тривалого часу.

Значна швидкість розмноження має для бактерій велике біологічне значення. Вона сприяє збереженню цих видів на планеті. Відсутність захисних пристосувань могло б призвести до швидкого вимирання мікроорганізмів, однак надзвичайна швидкість їх розмноження зберігає їх від цього. За настання несприятливих умов мікроорганізми масово гинуть, але зберегтися кільком клітинам певної бактерії, як при настанні сприятливих умов вони повністю відновлюють популяцію.

7. Розмноження грибів, водоростей та найпростіших тварин (протозоа)

Розмноження грибів відбувається різними шляхами. Розрізняють вегетативне, безстатеве і статеве розмноження грибів.

Вегетативне розмноження полягає в тому, що міцелій грибів розпадається на окремі частинки. Потрапивши в сприятливі умови, така частинка починає рости, розвиватися і утворює міцелій нового організму. Вегетативне розмноження характерне для більшості пліснявих грибів, актиноміцетів і проактиноміцетів. У **дріжджів** вегетативне розмноження здійснюється шляхом брунькування та ділення клітини пополам.

Безстатеве розмноження грибів здійснюється за допомогою оідій, конідій і спорангіеспор.

Оідії – це спори, які утворюються у **вищих грибів** при розпаданні міцелія на окремі частинки.

Конідії і **спорангії** утворюються у **нижчих грибів** на спеціальних гіфах – спорангієносцях і конідієносцях. Спорангієносці містять на верхівках спорангіїв, які при дозріванні лопають і з них висівається безліч спор. Потрапляючи в сприятливе середовище, спори дають початок новим організмам. На відміну від спорангієносців, конідієносці не мають спеціальних утворень для спор, а тому спори вільно відшнуровуються від їх поверхні.

Безстатевим шляхом можуть розмножуватись дріжджі. Так, при нестачі поживних речовин клітина дріжджів утворює міцну сумку (аск), де дозрівають 2, 4,

6, 8 – 12 аскоспор. Після дозрівання аска лопає і їх спори виходять назовні, даючи початок новим колоніям.

Статеве розмноження грибів проходить при злитті 2–х клітин. При цьому утворюються спеціальні сумки або плодові тіла, де розвиваються спори.

Водорості розмножуються діленням клітини пополам, а також безстатевим і статевим шляхом. При безстатевому розмноженні утворюються нерухомі і рухомі спори. (авто – і зооспори). Статеве розмноження водоростей полягає в злитті ядер двох клітин і утворенні статевих спор.

Найпростіші розмножуються поділом клітини пополам. Однак, поділ може проходити нерівномірно, тому, використовуючи явище регенерації кожна із новоутворених клітин добудовує собі органоїди, яких їй не вистачає.

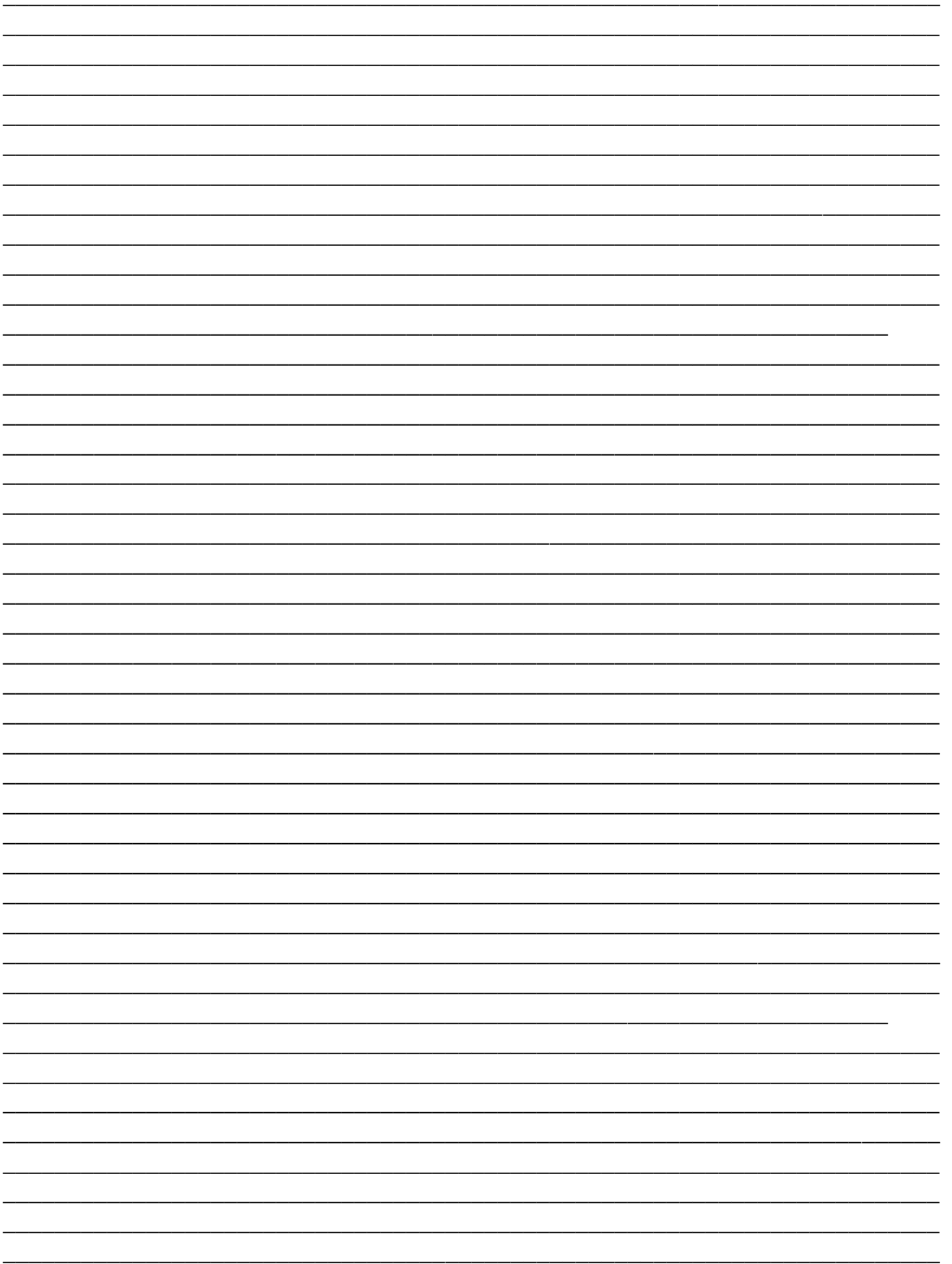
8. Розмноження вірусів і фагів

Репродукція вірусів відбувається тільки в клітинах живого організму. Тому, віруси є паразитами, які спричиняють інфекційні захворювання людини, тварин і рослин. Репродукція вірусів проходить інакше, ніж у бактерій. Спочатку віруси локалізуються разом з поживними речовинами навколо клітини, потім адсорбуються на її поверхні і проникають в середину. В клітині вірус звільняється від білкової оболонки і перебудовує обмін речовин клітини на свої потреби. При цьому за рахунок речовин клітини господаря відбувається синтез нуклеїнових кислот вірусів. Підраховано, що за кілька хвилин в одній клітині може утворитись 50 – 100 нових вірусів. Новоутворені віруси разом з продуктами обміну клітини видаляються в міжклітинний простір (якщо це багатоклітинний організм). Цикл повторюється.

Репродукція фагів відбувається подібно вірусам, але має свої особливості: Фаг адсорбується на бактеріальній клітині за допомогою пластинки із зубцями і нитками; ДНК із головки фага по каналу переходить в клітину. Відбувається «роздягання» фага. Далі відбувається перебудова обміну речовин клітини бактерії і утворення ДНК фагів. Після репродукції фагів відбувається лізис клітинної оболонки і клітина гине.

Бактеріофаги наносять велику шкоду в молочній промисловості при виробництві сирів, сметани, масла, а також маргарина. Вони знищують молочнокислих стрептококів, які використовуються в заквасках при виготовленні цих продуктів. Під впливом бактеріофагів клітини стрептококів розчиняються і гинуть. При виробництві антибіотиків актинофаги розчиняють промислову культуру актиноміцетів – продуцентів антибіотиків. В медицині бактеріофаги використовуються для лікування багатьох захворювань, зокрема дизентерії.

Для нотаток



ТЕМА №5. ЖИВЛЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ.

План

1. Хімічний склад клітини бактерій
2. Органогенні, мікро- і мікроелементи, їх значення для мікроорганізмів
3. Стан клітин мікроорганізмів залежно від концентрації речовин назовні і в середині клітини
4. Способи живлення організмів
5. Механізм надходження елементів живлення до клітин мікроорганізмів
6. Живлення мікроорганізмів вуглецем
7. Живлення мікроорганізмів вуглецем азотом

Ключові терміни та поняття: *вміст основних органічних сполук в клітині мікроорганізмів, тургор, плазмоліз, плазмоліс, пасивна і полегшена дифузія, активний транспорт, фототрофія, автотрофія, аміноавтотрофи, аміногетеротрофи, амінопаратрофи.*

1. Хімічний склад клітини бактерій

Основними компонентами мікробної клітини є: вода, мінеральні речовини та органічні сполуки – білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи та ліпіди. Для синтезу всіх клітинних компонентів мікроорганізмам потрібні поживні речовини – розчинні у воді сполуки, з яких мікроорганізми будують свою клітину та одержують енергію.

Мікробна клітина складається із таких же основних хімічних елементів, як і клітини вищих рослин і тварин. Залежно від того в якій кількості ці елементи знаходяться в клітині їх ділять на макро-, мікро- і ультрамікроелементи.

Загальновідомо, що близько 99 % маси рослин, тварин і людини становлять 10 хімічних елементів: вуглець, кисень, водень, азот, фосфор, калій, кальцій, магній, сірка і залізо. На інші хімічні елементи приходить близько 1%, тому їх називають мікро- або ультрамікроелементами. До них відносять молібден, мідь, бор, йод, кобальт та інші.

Основним складовим компонентом бактеріальної клітини є вода, яка становить близько 75 – 85% від загальної маси клітини. Частина води в бактеріальній клітині знаходиться у вільному стані, а частина – у зв'язаному. Зв'язана вода є основним структурним розчинником. Вільна вода забезпечує дисперсне середовище для колоїдів і служить розчинником для кристалічних речовин, джерелом водневих і гідроксильних іонів. Наприклад, гідролітичні процеси розщеплення білків, вуглеводів і ліпідів проходять в результаті приєднання до них води, шляхом відщеплення іонів води можуть синтезуватися нові складні молекули речовин. За допомогою води підтримується гідростатичний тиск – тургор клітини. Однак, в залежності від умов зовнішнього середовища вміст води в клітинах може змінюватись. Будь-яка втрата води клітиною спричиняє її висихання і порушення

процесів обміну речовин. При цьому змін зазнають основні клітинні структури, що з часом призводить до загибелі клітини.

Суша речовина мікроорганізмів складається в основному із органічних сполук – білків, вуглеводів, жирів та ін. Серед органічних речовин клітини на долю білків у бактерій приходить 50 – 80 % від маси сухих речовин, у дріжджів – 40 – 60% і у грибів – 15–40%. Білки відіграють найважливішу роль в житті мікроорганізмів. Вони мають таку ж будову як і білки вищих тварин і рослин.

Вміст білків в клітині постійно змінюється. Він залежить від віку і виду мікроорганізма, а також від складу поживного середовища. Чим більше в поживному середовищі азотних речовин, тим більше білка входить до складу протоплазми клітини.

Мікробна клітина містить прості (протеїни) і складні білки (протеїди). Особливе місце займають нуклеопротеїди, до складу яких крім білків входять ще й нуклеїнові кислоти. Вони відіграють важливу роль при розмноженні мікробів. Синтез білка в клітині здійснюється за допомогою рибонуклеїнової кислоти (РНК).

Із інших складних білків до складу мікроорганізмів входять глікопротеїди, ліпопротеїди, хромопротеїди і ферменти.

В клітині мікроорганізмів важливе значення відіграють вуглеводи. Вони використовуються для побудови клітинних стінок, капсул і служать джерелом енергетичного матеріалу. У клітинах бактерій вуглеводи зустрічаються у вигляді пентоз, гексоз і поліцукрів глікогена, гранульози, декстрина, клітковини та інших сполук.

Вміст ліпідів (жири і жироподібні речовини) у мікроорганізмів становить близько 3–7% від маси сухих речовин і лише у деяких видів дріжджів він становить 40 %. Головним чином ліпіди знаходяться в оболонці клітини та в поверхневих шарах цитоплазми. Вони в значній мірі впливають на проникність клітинної оболонки, обумовлюють токсичні й антигенні властивості хвороботворних мікробів і можуть накопичуватись в клітині як запасний поживний матеріал. Значна кількість ліпідів пов'язана з іншими речовинами клітини в складні комплекси, які відіграють важливу роль в житті бактеріальної клітини (наприклад, фосfolіпіди).

2. Органогенні, мікро- і мікроелементи, їх значення для мікроорганізмів

Провідну роль в житті мікроорганізмів відіграють органогени – кисень, водень, вуглець і азот. В процентному відношенні до сухої речовини бактерії вони становлять: вуглець – 45 – 55, азот – 8–15, кисень – 30, водень – 6–8%. Відповідно дріжджі містять (%): вуглецю – 49, азоту – 12, кисню – 31, водню – 6; мікроскопічні гриби (%): вуглецю – 47, азоту – 5, кисню – 40, водню – 6.

Крім органогенів до складу мікробної клітини входять загальні елементи – мінеральні речовини клітини. Вони виконують функцію стабілізаторів колоїдного стану цитоплазми і є активаторами ферментів. Їх присутність навіть в мізерно малих дозах (мікродозах) впливає на морфологію – культуральні властивості мікроорганізмів, на кількість і якість метаболітів.

S, P, K, Ca, Mg, Fe відносять до мікроелементів. Сірка необхідна для синтезу сірковмісних амінокислот і деяких коферментів. Вона використовується

мікроорганізмами у вигляді сульфатів і відновлюється в процесі метаболізму. Деякі мікроорганізми використовують відновлені сполуки сірки в енергетичних цілях (тіобацили і сіркобактерії).

Фосфор входить до складу нуклеїнових кислот, АТФ, коферментів, фосфоліпідів та ін. На відміну від інших елементів, фосфор в клітині мікроорганізмів зустрічається лише в окисленому стані – в формі H_3PO_4 . Найкращим джерелом фосфору для мікроорганізмів є солі ортофосфорної кислоти.

Калій потрібен для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів. Він відіграє важливу роль в перетворенні вуглеводів і синтезі клітинної речовини.

Кальцій входить до складу ендоспор бактерій у вигляді солей дипіколінової кислоти. Він необхідний для росту деяких видів мікроорганізмів (*Azotobacter*, *Clostridium pasteurianum*). Джерелом кальцію служать водорозчинні солі.

Магній входить до складу бактеріохлорофілу в зелених, пурпурних бактерій, сіркобактерій і ціанобактерій, а також виступає активатором багатьох ферментів.

Залізо відноситься до незамінних поживних елементів. Воно входить до складу простетичних груп деяких ферментів. Тому, при нестачі заліза порушується окислювальна активність у бактерій, у плісневих грибів порушується засвоєння мінеральних форм азоту.

Для нормального росту і розвитку мікроорганізмами крім мікроелементів потребують мікро– і ультрамікроелементи, до яких відносять Zn, Co, Mo, Cu, J, Br. При відсутності мікроелементів порушуються можливі життєві функції мікроорганізмів, оскільки вони входять до складу ферментів. Так, наприклад, цинк входить до складу ферментних білків, без нього нормальна фізіологічна активність протоплазми порушується. Молібден входить до складу фермента нітрогенази, який приймає участь в процесах фіксації азоту атмосфери.

Вміст мінеральних речовин, білків, вуглеводів і ліпідів змінюється в бактеріальній клітині залежно від виду мікроорганізмів і умов існування. Наприклад, залізобактерії більше, ніж інші види мікроорганізмів містять заліза, сіркобактерії – сірки. Тому, вирощуючи мікроорганізми, необхідно включати в поживні середовища комплекс поживних елементів відповідно до потреб клітини. Це має велике практичне значення при вирощуванні мікроорганізмів – продуцентів білків, жирів і біологічно активних речовин.

3. Стан клітин мікроорганізмів залежно від концентрації речовин назовні і в середині клітини

Мікроорганізмам, як і іншим живим істотам, для нормального росту і розвитку потрібні поживні речовини. Надходять поживні речовини в клітину бактерій із оточуючого середовища. Мікроорганізми поглинають поживні речовини і виділяють продукти обміну всією поверхнею тіла, тому, обмін між клітиною і зовнішнім середовищем здійснюється швидко й інтенсивно. Однак, інтенсивність надходження речовин в клітину залежить від концентрації клітинного соку і концентрації поживних речовин в оточуючому середовищі.

Встановлено, що концентрація в клітині бактерій значно вища за слабкі водні розчини, в яких живуть мікроорганізми. Осмотичний тиск в клітині бактерій коливається від 3 до 6 Ат, однак може бути і вищим – від 3,5 до 16,5 Ат (для мікроорганізмів засушливих районів).

Існують три типи станів клітини, які обумовлені співвідношенням концентрації речовин назовні і в середині клітини.

1-ий стан – нормальний стан клітини – тургор – коли клітина знаходиться в ізотонічному розчині (0,85% NaCl). В цьому випадку дифузія осмотично активних речовин в клітину формує внутрішньоклітинний осмотичний тиск. Він зветься тургор і коливається у великих діапазонах 1,5 МПа. Тургор забезпечує транспорт води у клітину. ЦПМ щільно прилягає до клітинної стінки і тиск в середині клітини трохи більший ніж тиск ззовні.

2-ий стан – плазмоліз – якщо клітина потрапляє в середовище з високим осмотичним тиском (гіпертонічний розчин), то ЦПМ віддає воду і вміст клітини зневоднюється, стискається. Клітина переходить спочатку у стан анабіозу, тобто зберігає життєздатність, а потім – до стану абіозу, гине. В технології консервування застосовують при солінні 25% NaCl і при виготовленні варіння 50% сахарозу. В такій концентрації вони виявляють бактеріостатичну дію, тобто бактерії не розмножуються але не гинуть і бактерицидну дію, коли настає загибель бактерій. Однак у різних видів мікроорганізмів плазмоліз проявляється по різному. Найбільш стійкі до плазмолізу – сінна паличка,стафілококи і сарцини, найбільш чутливі – кишкова паличка, холерний вібріон, паличка сибірської виразки. Явище плазмолізу широко використовується в харчовій промисловості для консервування розчинами цукру і солі плодоовочевої продукції. Але в природі зустрічаються мікроорганізми, які нормально розвиваються при високому осмотичному тиску. Такі види мікроорганізмів називають осмофільними.

3-ий стан – плазмоптіс – бактеріальна клітина потрапляє в гіпотонічний розчин, наприклад, це відбувається коли клітина потрапляє в дистильовану воду. При цьому в протоплазму клітини надходить значна кількість води, що спричиняє її деформацію і загибель.

Існують мікроорганізми, які виявляють резистентність до високої концентрації речовин в середовищі. Стійкі організми, що можуть жити, розвиватись, розмножуватися при високому осмотичному тиску називаються осмофільними. Відомі бактерії галофіли, які здатні розмножуватися в середовищі з високим вмістом NaCl, серед них бувають облігатні галофіли, які потребують обов'язково 12% NaCl і більше. Факультативні галофіти можуть розмножуватися і при 1-2%, і 10-12%.

4. Способи живлення організмів

Для всіх живих організмів характерні два способи живлення – **голозойний і голофітний**.

Голозойний тип живлення – характерний для тварин (від вищих до найпростіших), живий організм захоплює частинки їжі, яка потім перетравлюється в органах травлення.

Голофітний тип живлення властивий мікроорганізмам. Вони не мають органів травлення, а поживні речовини надходять у водному розчині різними механізмами. Особлива регуляторна роль в транспорті поживних речовин до середини клітини і виведенні метаболітів назовні належить цитоплазматичній мембрані. ЦПМ має пори малого діаметру, які характеризуються вибірковою напівпроникністю.

Більшість органічних сполук (поліцукри, білки та ін.) перед тим як потрапити в мікробну клітину повинні пройти процес розпаду на більш прості сполуки, для яких клітинна мембрана є проникною. Розщеплення полімерів відбувається за допомогою ферментів, які клітина виділяє в оточуюче середовище. Таке явище дістало назву позаклітинного перетравлювання і характерне воно лише для мікроорганізмів.

Надходження води і розчинених в ній поживних речовин із оточуючого середовища в середину клітини відбувається через клітинну оболонку, капсулу і слизові шари. Капсула і слизові шари є достатньо рихлими утвореннями, які не впливають суттєво на транспорт поживних речовин в клітину. Через клітинну стінку легко проникають низькомолекулярні сполуки й іони, не проникають – білки, поліцукри та ін. сполуки.

Основною перешкодою для транспорту (проникнення) речовин в клітину є цитоплазматична мембрана (ЦПМ), яка характеризується напівпроникністю (вода проходить через ЦПМ значно легше, ніж солі) і вибірковою проникністю, тобто не всі розчинені речовини можуть проходити через ЦПМ однаково. ЦПМ регулює не тільки надходження в клітину поживних речовин, але й вихід із неї води і різних продуктів обміну.

5. Механізм надходження елементів живлення до клітин мікроорганізмів

Розрізняють кілька механізмів надходження поживних речовин в клітину через ЦПМ: пасивну дифузію, полегшену дифузію, активний транспорт і перенесення груп.

Пасивна дифузія – надходження поживних речовин в клітину здійснюється за рахунок різних концентрацій по різні сторони ЦПМ – зовні і в середині клітини. Завдяки пасивній дифузії в клітину надходять молекули води і деяких газів (O_2 , H_2 , N_2). Пасивне перенесення речовин здійснюється до тих пір, поки концентрація речовин по обидві сторони ЦПМ не вирівняється.

Більшість поживних речовин можуть проникнути в середину клітини лише з допомогою спеціальних переносиків – специфічних білків (пермеаз), локалізованих на ЦПМ і циркулюючих між її зовнішніми і внутрішніми шарами. Вважають, що переносики вступають у взаємодію із речовиною на зовнішній стороні ЦПМ, після чого новоутворений комплекс проходить через мембрану на внутрішню сторону, де він розпадається і речовина переходить в цитоплазму. Вільні переносики захвачують продукти обміну і виводять їх назовні. Процес повторюється.

За допомогою переносиків здійснюється полегшена дифузія та активний транспорт.

Полегшена дифузія відбувається на основі різниці концентрації по обидві сторони ЦПМ, тобто, коли концентрація речовини вище внутріклітинної. Такий транспорт потребує витрат енергії і здійснюється за градієнтом концентрацій.

Активний транспорт поживних речовин в клітину здійснюється проти градієнта концентрації. Більшість речовин проникає в клітину мікроорганізма шляхом активного транспорту. Такий транспорт потребує витрат енергії (АТФ), яку одержують в результаті дихання або бродіння. Транспорт речовин проти градієнта концентрації використовується клітинами мікроорганізмів для одержання речовин концентрація яких в оточуючому середовищі досить мала.

6. Живлення мікроорганізмів вуглецем

У мікроорганізмів розрізняють вуглецеве і азотне живлення. По типу засвоєння вуглецевих сполук всі мікроорганізми ділять на автотрофи і гетеротрофи. Автотрофні мікроорганізми засвоюють вуглець із вуглекислоти атмосфери. Гетеротрофні мікроорганізми одержують вуглець із готових органічних сполук.

Залежно від того, яке джерело енергії мікроорганізми використовують для одержання вуглецевих сполук їх ділять на фототрофи і хемотрофи. Фототрофи як джерело енергетичного матеріалу використовують сонячне світло, хемотрофи – органічні і неорганічні речовини. Процеси засвоєння вуглецевих сполук залежно від джерел енергії називають відповідно фоторофією і хемотрофією.

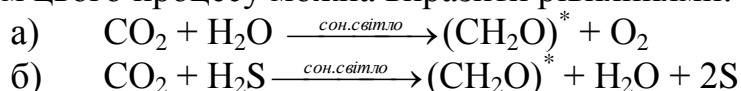
Фототрофія характерна для мікроорганізмів, які мають в протоплазмі своєї клітини пігменти типу хлорофіла. До таких бактерій відносять ціанобактерії, пурпурові і зелені сіркобактерії. В клітинах зелених сіркобактерій міститься хлорофіл, а в клітинах пурпурових бактерій – бактеріопурпурин (прохлорофіл). Хімічний хід процесу засвоєння вуглекислоти у даних мікроорганізмів відбувається аналогічно процесу фотосинтезу у вищих рослин. Однак, якщо у вищих рослин донором водню для синтезу вуглецевих сполук виступає лише вода, то у ціанобактерій, зелених і пурпурових сіркобактерій – вода і сірководень. Мікроорганізми, які в якості донорів водню використовують неорганічні сполуки називають літотрофами, а ті, що використовують органічні сполуки – органотрофами. Тому, всі фототрофні мікроорганізми ділять на групи.

- 1) Фотолітоавтотрофи;
- 2) Фотоорганіоавтотрофи;
- 3) Фотолітогетеротрофи;
- 4) Фотоорганіогетеротрофи.

Найбільш поширеним типом фототрофного живлення є:

1. Фотолітоавтотрофія.

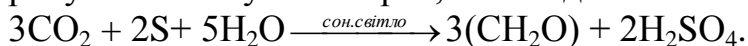
Хімізм цього процесу можна виразити рівняннями:



* (CH_2O) – сполука рівень відновлення якої відповідає вуглеводам.

За першим рівнянням відновлення CO_2 до органічної речовини за допомогою водню відбувається у ціанобактерій. Другий тип реакцій характерний для пурпурових і зелених сіркобактерій, які відновлюють CO_2 до органічних сполук за

допомогою водню, який входить до складу H_2S . При цьому в цитоплазмі клітин у вигляді гранул накопичується сірка, яка згодом окислюється до сірчаної кислоти:



2. Фотоорганогетеротрофія – тип живлення, характерний для мікроорганізмів, які для одержання енергії, крім фотосинтезу, можуть використовувати прості органічні сполуки. До цієї групи відносяться **пурпурові несірковмістні** бактерії. Вони не здатні окислювати сірководень і виділяти сірку в оточуюче середовище.

Хемотрофія характерна для мікроорганізмів, які не містять хлорофілу і в якості енергетичних джерел використовують – неорганічні (літотрофні) і органічні (органотрофні) сполуки. Хемотрофи ділять:

1. Хемолітоавтотрофи;
2. Хемоорганоавтотрофи;
3. Хемолітогетеротрофи;
4. Хемоорганогетеротрофи.

Найбільш поширеними типами хемотрофного живлення є:

1. Хемолітоавтотрофія – тип живлення в основі якого лежить процес хемосинтезу. Він характерний для мікроорганізмів, які одержують енергію шляхом окислення неорганічних сполук, таких як H_2 , NH_4^+ , NO_2^- , Fe^{2+} , H_2S та ін.

Хемосинтез був відкритий у 1888 році російським мікробіологом С.М.Виноградським у нітрифікуючих бактерій. Як показали його дослідження в клітинах мікроорганізмів відбувається два процеси: Окислення аміака в азотисту кислоту і відновлення вуглекислоти до органічних сполук.

1. $2\text{NH}_3 + 2\text{O}_2 = 2\text{HNO}_2 + 4\text{H} + \text{енергія}$
2. $\text{CO}_2 + 4\text{H} + \text{енергія} = \frac{1}{6}\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{H}_2\text{O}$

Аналогічним чином здійснюється процес хемосинтезу й іншими хемолітоавтотрофними бактеріями. Однак джерелом енергії для відновлення вуглекислоти в них служить окислення сірководню до сірчаної кислоти.

2. Хемоорганогетеротрофія – тип живлення, характерний для мікроорганізмів, які одержують необхідну енергію і вуглець із органічних сполук. До цієї групи відносять аеробні і анаеробні мікроорганізми, які живуть в ґрунтах та інших субстратах.

Серед хемоорганогетеротрофів виділяють сапрофітів – мікроорганізми, які живляться відмерлими тканинами рослин, тварин і паратрофів – мікроорганізми, які живляться живим білком і розмножуються в клітинах живих організмів. Це внутріклітинні паразити, до яких відносяться збудники хвороб людини, рослин і тварин. Серед паратрофів виділяють особливу групу мікроорганізмів, які називають коменсалами. Це мікроорганізми, які живуть і живляться за рахунок макроорганізма. Прикладом може бути сапрофітна мікрофлора верхніх дихальних шляхів людини, кишківника і шкіри. Ця мікрофлора є умовнопатогенною, оскільки при ослабленні імунітету, здатна викликати інфекцію.

7. Живлення мікроорганізмів вуглецем азотом

ТЕМА №6. МІКРООРГАНІЗМИ І НАВКОЛИШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ.

План

1. Фактори середовища, що мають вплив на мікроорганізми.
2. Фізичні фактори
3. Хімічні фактори
4. Біологічні фактори.

Ключові терміни та поняття: *гідрофіти, мезофіти, ксерофіти, ацидофіли, алкалофіли, нейтрофіли, барофільні і баротолерантні мікроорганізми, осмофільні і осмоотолерантні мікроорганізми, аероби, анаероби, мікроаерофіли.*

1. Фактори середовища, що мають вплив на мікроорганізми.

Умови довкілля мають велике значення для життєдіяльності мікроорганізмів. Чим сприятливіші вони, тим інтенсивніше розвиваються мікроби, і навпаки. Надлишок або брак вологи, низька або висока температура, освітлення, радіоактивне випромінювання, наявність поживних речовин тощо зумовлюють відповідний темп розвитку мікробної клітини. Розвиваючись у певних умовах довкілля прокаріоти пристосовуються до них. Цим і пояснюється той факт, що в південних широтах бактерії можуть добре розвиватися при підвищеній температурі, у північних — при пониженій, галофільні мікроорганізми — у водоймищах з високим вмістом солей.

Усі чинники зовнішнього середовища, які впливають на розвиток прокаріотів, можна розподілити на три основні групи: фізичні, хімічні і біологічні. До фізичних факторів належать: волога, температура, концентрація розчинених речовин, світло та інші форми променевої енергії, радіохвилі, ультразвук. Серед хімічних чинників розрізняють рН середовища, отруйні речовини, кисень тощо. До біологічних належать різного типу взаємозв'язки і взаємовідношення між бактеріями, а також між ними та іншими організмами довкілля (симбіоз, метабіоз, коменсалізм, синергізм, антагонізм, паразитизм тощо).

2. Фізичні фактори

Волога. Активна життєдіяльність бактерій можлива лише в умовах достатнього зволоження. Надходження поживних речовин у клітину та виділення продуктів обміну в зовнішнє середовище можливі тільки при достатньому вмісті води. Найменша кількість води, при якій ще можливий розвиток прокаріотів, становить 20-30 % загальної маси організму. Менш вимогливі до умов зволоження цвілеві гриби. Вони можуть розвиватися навіть тоді, коли вміст вологи в субстраті дорівнює 10-15 %.

За мінімальною потребою у волозі розрізняють:

гідрофіти – мікроорганізми, що розвиваються при відносній вологості середовища 96-98% (до них відноситься більшість бактерій);

мезофіти – мікроорганізми, які живуть при вологості середовища 92-94% (це більшість грибів і дріжджів);

ксерофіти – мікроорганізми, що потребують не більше 90% вологості (до них відносять деякі гриби).

Більшість мікробів витримують висушування непогано. Наприклад, туберкульозні палички після висушування зберігають свою життєздатність протягом кількох місяців, а спори сибірки — упродовж 10 років. Молочнокислі бактерії і дріжджові гриби зберігають життєздатність після висушування протягом кількох років. Ця властивість мікробів широко використовується, наприклад, для отримання сухих заквасок, які застосовуються при виготовленні різних молочнокислих продуктів тощо, а також для зберігання музейних мікробів. При цьому культури піддаються заморожуванню в умовах вакууму (ліофілізація).

Також здавна застосовується зберігання різних харчових продуктів у сухому вигляді. Сухі продукти не є стерильними і завжди містять різні мікроорганізми, серед яких можуть бути і патогенні форми. У висушеному стані багато мікроорганізмів зберігаються життєздатними протягом тривалого часу. Наприклад, черевнотифозні бактерії, більшість стафілококів і мікрококів, молочнокислі бактерії можуть зберігатися в сухому вигляді тижнями і місяцями, а оцтовокислі бактерії відмирають швидко. Стійкі до висушування дріжджі. Спори бактерій у висушеному стані зберігають здатність до проростання протягом десятків років. Зволоження сухих продуктів у період зберігання може спричиняти їх псування внаслідок розвитку збережених на них мікроорганізмів.

Температура. Мікроорганізми не регулюють температуру свого тіла, а тому існування їх визначається температурою оточуючого середовища. Розрізняють три основні температурні зони, які мають вирішальне значення для розвитку бактерій: мінімум, оптимум і максимум. Найменша температура, при якій можуть розвиватися дані мікроби, називається мінімальною. Найвища температура, при якій ці самі організми ще можуть жити, називається максимальною. Між двома крайніми точками є температура, при якій прокаріоти розвиваються найкраще. Така температура дістала назву оптимальної. Кардинальні температурні точки для деяких мікроорганізмів наведено в табл. 3. Ці точки, хоча і є характерними для кожного виду мікроба, але вони можуть змінюватися під впливом інших чинників зовнішнього середовища.

Щодо температурних умов, усі мікроорганізми прийнято поділяти на три групи: **психрофіли, мезофіли, термофіли.**

Психрофіли — холодолюбні мікроби. Мінімальні температури для них — у межах від -10 до 0 °С, оптимальні — від 10 до 15 °С і максимальні — близько 30 °С. Психрофіли живуть у ґрунтах полярних країн, холодних морях і океанах, льодах, на заморожених продуктах тощо.

Мезофіли — мікроорганізми, мінімальні температури для яких перебувають у межах від 0 до 10 °С, оптимальні — близько 25-35 °С, максимальні — 40-50 °С. До них належать більшість сапрофітних і патогенних мікроорганізмів, наприклад, кишкова паличка, протей, стафілокок та інші.

Термофіли — група теплолюбних мікробів, які можуть розвиватися при відносно високих температурах.

Природа термофілії досі ще не розкрита. Висловлюються припущення, що ліпіди відіграють певну роль у молекулярних механізмах термофілії, сприяючи термостабільності мембран, і що нижня температурна межа росту термофілів визначається температурою плавлення мембранних ліпідів. За іншою гіпотезою, визначальна роль у термофіла належить ферментним білкам, а саме: основні температурні точки термофілів залежать від конформації одного або декількох основних ферментів. Деякі вчені поділяють твердження, згідно з яким термофілія зумовлюється термостабільністю структурних компонентів клітин термофілів.

Зниження температури нижче оптимальної не так згубно впливає на прокариотів, як її підвищення понад максимальну. На явищі впливу високих температур ґрунтуються поширені способи знезараження продовольчих продуктів, поживних середовищ, посуду та інструментів. Вони дістали назву пастеризації і стерилізації.

Пастеризація -це нагрівання продукту до 90-100°C, тривалість процесу залежить від температури і звичайно складає 20-40 хв. При пастеризації гинуть не всі мікроорганізми. Деякі термостійкі бактерії, а також спори багатьох бактерій залишаються живими. У зв'язку з цим пастеризовані продукти варто охолоджувати до температури не вище 10°C і зберігати на холоді, щоб затримати проростання спор і розвиток збережених клітин. Пастеризують молоко, пиво, ікру, фруктові соки і деякі інші продукти.

Стерилізація -це нагрівання при температурах вище 100°C протягом певного часу, при якому відбувається загибель вегетативних клітин мікроорганізмів і їхніх спор. Стерилізації піддають різні банкові консерви, багато предметів і матеріалів, які використовуються в медичній і мікробіологічній практиці.

Низькі температури мікроби витримують порівняно легко. Наприклад, деякі види бактерій не втрачають життєздатності навіть при температурі рідкого водню (-253 °C). При дії низьких температур прокариоти можуть впадати в анабіотичний стан, зберігаючи тривалий час свою життєдіяльність. Низькі температури широко використовуються для зберігання різних продуктів, які швидко псуються. Використовують два способи зберігання продуктів на холоді: в охолодженому стані при температурі від 10 °C до -2 °C і в замороженому стані при температурі від -12 до -30 °C.

Термостійкість мікроорганізмів характеризує відношення до температур, що перевищують максимальну для їх розвитку. Загибель настає не миттєво, а протягом певного часу. Температури, які ненабагато перевищують максимальну, викликають явище «теплого шоку». При нетривалому перебуванні в такому стані клітини можуть ре-активуватися, при тривалому – настає їх відмирання. Більшість безспорних бактерій відмирають при нагріванні у вологому стані до 60-70°C протягом 15-30 хв, а при нагріванні до 80-100°C – від декількох секунд до 1-2 хв.

Холодостійкість мікроорганізмів характеризує їх відношення до впливу низьких температур. При температурі середовища нижче оптимальної зменшується швидкість розмноження мікроорганізмів та інтенсивність їх життєвих процесів. Механізм дії низької температури на мікробну клітину полягає у гальмуванні в ній процесів метаболізму, припиненні росту і розмноження та переході мікроба в стан

анабіозу. На цьому принципі засноване використання холодильників, льохів і льодовиків для зберігання харчових продуктів.

Випромінювання. Пряме сонячне світло шкідливо впливає на більшість видів бактерій. Тільки фототрофні мікроорганізми витримують вплив сонячної радіації порівняно легко. Вплив різних видів випромінювання на прокариотів залежить від довжини хвилі, а також інтенсивності і тривалості випромінювання. Променева енергія поширюється в просторі у вигляді електромагнітних хвиль. Це можуть бути радіохвилі, видимі, інфрачервоні й ультрафіолетові світлові промені, іонізуючі промені — рентгенівські і космічні промені, а також випромінювання, які виникають при ядерних реакціях.

Найбільшою довжиною характеризуються радіохвилі. Вони не викликають біологічного ефекту. Деяко меншу довжину хвилі мають інфрачервоні промені. При поглинанні живим організмом вони перетворюються на тепло. Видиме світло, з довжиною хвилі від 300 до 800 нм, поглинається фотосинтезуючими прокариотами і перетворюється на хімічну енергію. Цей вид випромінювання індукує такі процеси у прокариотів, як фотосинтез, фототаксис, фотореактивацію ДНК тощо.

Найбільш згубними для бактерій є короткохвильові промені, наприклад, ультрафіолетові (УФ) з довжиною хвилі 250-260 нм. Вони поглинаються ДНК, РНК і білками та зумовлюють зміни їхніх молекул, що призводить до пошкодження клітини. УФ-промені викликають також мутагенний ефект, спричиняючи спадкові зміни прокариотів, а тому їх часто використовують для одержання мутантів різних мікроорганізмів. Штучні джерела УФ-променів — бактерицидні лампи — широко використовують для дезинфекції повітря, холодильних камер, лікувальних і виробничих приміщень тощо.

Іонізуюче випромінювання на мікроорганізми може діяти згубно (бактерицидна дія) або викликати мутагенний ефект. Ефективність дії іонізуючої радіації залежить від виду, дози і об'єкту опромінення. Наприклад, прокариоти набагато витриваліші до дії ядерних випромінювань, ніж вищі організми. Тіонові бактерії, які живуть у покладах уранових руд, мають високу стійкість до радіації. Бактерії знаходили у воді атомних реакторів, де концентрація іонізуючої радіації перевищувала 20-30 тис. Гр (2—3 млн рад).

Щодо механізму дії радіації на живі організми, то вважають, що вона виявляє пряму і непряму дію. Пряма дія полягає в радіаційно-хімічних перетвореннях молекул у місці поглинання радіоактивних променів. Вплив останніх спричинює набуття молекулою збудженого стану, в результаті цього утворюються вільні радикали і перекси-ди, які реагують з ДНК, РНК і білками. При непрямій дії радіації відбувається пошкодження молекул мембран, органел, клітин цими ж продуктами радіолізу води.

Ультразвук. Ультразвукові хвилі мають частоту коливання понад 16 000 Гц. Вони виявляють згубну дію на різні мікроорганізми: зумовлюють розпад високомолекулярних сполук, коагуляцію білка, інактивують ферменти, токсини, спричинюють розрив клітинної стінки тощо. Досі ще не розкрито механізм дії ультразвукових хвиль. Його зв'язують з кавітацією, тобто утворенням у рідині

порожнин, при закриванні яких виникають гідравлічні удари, що руйнують клітини мікроорганізмів.

До дії ультразвуку чутливі (різною мірою) всі прокариоти. Наприклад, до дуже чутливих належать протей, сальмонели, сирна паличка та інші, до дуже стійких — туберкульозна паличка та багато інших прокариотів. Інтенсивні дослідження дії електрогідравлічного ефекту на живі об'єкти за допомогою спеціальних установок проводились І. О. Ситником (1982) та іншими дослідниками. Це відкрило широкі можливості для практичного використання електрогідравлічного ефекту при стерилізації молока, соків та інших харчових продуктів, виробництві вбитих вакцин, одержанні внутрішньоцитоплазматичного білка різних видів мікробів, а також для стерилізації питної і стічних вод.

Осмотичний тиск. Важливе значення для життя прокариотів має осмотичний тиск, величина якого визначається концентрацією розчинених речовин у середовищі. Цитоплазматична мембрана бактеріальної клітини регулює проникнення в клітину і вихід із неї води і розчинених речовин, зберігаючи при цьому осмотичну рівновагу. Надходження води з довкілля у клітину можливе лише в тому випадку, коли осмотичний тиск в клітині буде більшим, ніж тиск зовнішнього розчину. В природних умовах сумарний осмотичний тиск у зовнішньому середовищі звичайно дещо нижчий, ніж у мікробній клітині. Це забезпечує приплив води до клітини. Вода, що надходить до мікробної клітини, притискає цитоплазму та цитоплазматичну мембрану до клітинної стінки, створюючи внутрішній тиск або *тургор*, який перешкоджає подальшому проникненню води. В нормальному стані мікробна клітина має певний тургорний тиск, при якому вона проявляє найбільшу активність. Тургорний тиск може дорівнювати 3-8 атм або сягати кількох десятків чи навіть сотень атмосфер.

При високому осмотичному тиску в середовищі клітина втрачає здатність поглинати з нього воду, що згубно діє на неї. Тургор клітини порушується, протопласт зморщується та відходить від клітинної стінки. Це явище називається *плазмолізом* клітини.

Якщо осмотичний тиск у зовнішньому середовищі значно нижчий, ніж у клітині, відбувається *плазмоплиз* клітини – цитоплазма переповнюється водою, що може призвести до розриву клітинної оболонки. Як плазмоліз, так і плазмоплиз є шкідливими процесами, оскільки викликають незворотні процеси, що можуть призвести до загибелі мікробної клітини.

Нормальний осмотичний тиск у клітині визначається в межах від 3 до 7 атм.

Мікроорганізми, які добре розвиваються при нормальному тиску, дістали назву осмоотолерантних. Мікроби, що краще розвиваються при підвищеному осмотичному тиску, називаються осмофільними. Є бактерії, які потребують для свого росту і розвитку високої концентрації солей (CaCl₂). Вони краще ростуть при концентрації солі в середовищі в межах 20—30 %. Ці прокариоти дістали назву галофілів. Своєю чергою серед них розрізняють помірних і екстремальних галофілів. Галофіли потребують іонів Ca⁺ для стабільності клітинних мембран і активності ферментів.

Гідростатичний тиск. Прокаріоти по-різному реагують на дію гідростатичного тиску. Наприклад морські бактерії, що мешкають на глибині 1000—10 000 м, можуть витримувати тиск до 900 атм. Деякі бактерії, дріжджі, цвільові гриби витримують тиск до 3000 атм, а фітопатогенні віруси — до 5000 атм. Бактерії, які ростуть при звичайному та підвищеному тиску, називають баротолерантними.

Мікроорганізми, що краще розвиваються при високому тиску, належать до барофільних організмів. Під дією гідростатичного тиску змінюються активність ферментів і біохімічні властивості бактерій.

3. Хімічні фактори

Хімічний склад середовища істотно впливає на ріст і розвиток прокаріотів. Від нього залежить надходження поживних речовин, і він визначає реакцію середовища, її окислювально-відновний потенціал.

Реакція середовища (рН). Визначається концентрацією водневих (H^+) і гідроксильних (OH^-) іонів у водному розчині. Для кількісної характеристики реакції середовища вводять величину рН – водневий показник, який характеризує ступінь його кислотності (рН від 7 до 1) або лужності (рН від 7 до 14). Реакція середовища є одним з важливих факторів, який визначає розвиток бактерій.

Ступінь кислотності або лужності середовища справляє великий вплив на життя мікроорганізмів. Фізіологічне діючою основою в кислих і лужних субстратах є концентрація гідроксильних і водневих іонів (OH^- і H^+). До найбільш кислих природних середовищ належать гарячі кислі джерела і їхні ґрунти, рН у них іноді може сягати 1. З цих місць виділено бактерії, які водночас є ацидофілами і термофілами. У природі також трапляються такі лужні джерела і озера, рН яких може сягати 8—11. З них виділено бактерії, які можуть добре рости при рН = 8 . 10 (ціанобактерії та інші).

Від реакції середовища залежить активність ферментів, яка є основою біохімічної активності мікробів. Наприклад, відомо, що ті самі дріжджі у кислому середовищі утворюють при зброджуванні цукру багато етилового спирту і незначну кількість гліцерину. В лужному субстраті, натомість, вони утворюють із цукру велику кількість гліцерину і дуже мало етанолу.

Всі мікроорганізми за їх відношенням до кислотності середовища можуть бути розподілені на кілька груп.

Нейтрофіли, для яких діапазон оптимального значення рН складає 6,5-7,5. Серед цієї групи багато бактерій здатні виявляти кислото-толерантність чи луготолерантність і розвиватися в широкому діапазоні рН – від 4 до 9. До кислототолерантів відносяться бактерії, які накопичують органічні кислоти в процесі метаболізму клітини – молочнокислі, оцтовокислі, про-піоновокислі та інші. Прикладом луготолерантних мікроорганізмів є амоніфікуючі, нітрифікуючі бактерії, бактерії роду азобактер, ентеробактерії і тощо.

Ацидофіли, які розвиваються в кислому середовищі зі значенням рН 2-3. До помірних ацидофілів відносяться бактерії, які живуть у воді кислих боліт і озер, а також у кислих ґрунтах при рН 3-4. Крайні ацидофіли виділяються з териконів

вугільних шахт і гарячих кислих джерел. Прикладом крайніх ацидофілів є бактерії родів *Thiobacillus* і *Sulfomonas*, а також *Thermoplasma acidophila*.

Алкалофіли складають протилежну ацидофільним мікроорганізмам групу, для яких оптимальним діапазоном рН є лужне середовище від 9 і вище. До алкалофільних бактерій відносяться представники роду *Bacillus* і *Vibrio cholerae* (холерний вібріон), розмноження якого активізується при рН вище 9.

Більшість бактерій краще розвиваються в нейтральному або слаболужному середовищі. Добре витримують кислотність оцтової кислоти, молочнокислі та деякі інші види бактерій. Дуже чутливі до високої кислотності гнильні бактерії. Мікроорганізми, які добре розвиваються в лужному середовищі, дістали назву алкаліфільних. Наприклад холерний вібріон добре розмножується при рН = 9. Прокаріоти, які краще ростуть у кислому середовищі, називаються ацидофільними. На вивченні ставлення різних мікробів до рН середовища ґрунтується низка важливих практичних заходів щодо зберігання деяких харчових продуктів у квашеному й маринованому вигляді.

Хімічні речовини. Залежно від хімічного складу, концентрації, температури, тривалості дії, виду прокаріотів хімічні речовини можуть чинити на мікроорганізми стимулюючу, бактеріостатичну (пригнічуючу) і бактерицидну дію. Речовини, які діють на мікроби токсично, називають антисептиками, їх дуже широко використовують проти різних шкідливих мікроорганізмів.

За характером дії хімічні речовини поділяють на кілька груп:

а) поверхнево-активні речовини — жирні кислоти, мила, інші ПАВ; ці речовини найчастіше пошкоджують клітинну стінку;

б) етанол, крезол, фенол та їхні похідні не тільки пошкоджують оболонку, а й діють руйнівню на білки цитоплазми;

в) барвники — актифлавін, реванол та інші — діють на ДНК і РНК, порушують цитокінез;

г) формалін спричинює денатурацію білків, згубно діє на вегетативні клітини і спори;

д) солі важких металів (мідь, срібло, свинець, цинк, ртуть та інші).

Бактерицидна дія важких металів може бути проілюстрована на прикладі срібла. Концентрація солей срібла в розведенні 1:100000 згубно діє на різні види мікробів. У садівництві, наприклад, розчини солей міді, цинку й заліза застосовують для сприскування плодівих дерев при зараженні їх бактеріальними і грибовими хворобами.

Окислювачі (хлор, перексид водню, йод, перманганат калію та інші) широко використовують для дезинфекції питної води, в медицині, сільському господарстві тощо.

Кисень. Трапляється в природі як у вільному, так і в зв'язаному стані; є обов'язковим компонентом будь-якої клітини. Переважна більшість живих організмів використовують обидві форми кисню. За відношенням до молекулярного кисню серед мікроорганізмів розрізняють:

Облігатні аероби. У клітинах облігатних аеробів молекулярний кисень витрачається на процеси дихання як кінцевий акцептор водню, менша частина його включається в молекули різних сполук.

Облігатні анаероби. Дещо менша група прокаріотів, для життєдіяльності яких молекулярний кисень не потрібний. До них відносяться маслянокислі, метаноутворюючі, сульфатвідновлюючі і деякі інші бактерії. В клітинах облігатних анаеробів окислення субстрату відбувається без участі кисню. Серед бактерій цієї групи є мікроорганізми, нездатні жити навіть при незначній концентрації молекулярного кисню в середовищі. До них відносяться представники родів *Methanobacterium*, *Methanosarcina* тощо.

Факультативні анаероби або факультативні аероби. Здатні рости як в аеробних, так і в анаеробних умовах і переключати свій енергетичний метаболізм з одного способу одержання енергії на інший. Прикладом факультативних анаеробів є денітрифікуючі бактерії, більшість дріжджів, а також велика група ентеробактерій.

Мікроаерофіли. Для них молекулярний кисень необхідний у незначних кількостях – не більше 2%

4. Біологічні фактори

Антибіотики. Ці речовини належать до вторинних метаболітів, їх біосинтез не зв'язаний з ростом мікроорганізмів і вони не є життєво необхідними. Вони утворюються тільки при певних умовах для забезпечення їх продуцентів в умовах конкуренції. Деякі з них можуть виконувати низку фізіологічних функцій в організмі.

Фітонциди. Про лікувальні властивості вищих рослин було відомо ще в глибоку давнину, проте бактерицидну властивість рослинних виділень вперше було засвідчено Б.П.Токіним у 1928 р. Ці рослинні виділення було названо фітонцидами. Фітонциди — біологічно активні речовини, які виділяються рослинами і характеризуються бактерицидними, фунгіцидними і протистоцидними властивостями. Б. П. Токін вперше звернув увагу на те, що фітонциди володіють антибіотичними властивостями. Разом з В.Г.Дроботько, Б.Ю.Айзман та іншими дослідниками він науково обґрунтував доцільність використання фітонцидів у медицині та інших галузях народного господарства.

Практично майже кожній рослині притаманні фітонцидні властивості, але не однаковою мірою. Найактивнішою бактерицидною дією характеризуються цибуля, часник, гірчиця, хрін, алое, кропива, полин, черемха, горіх, евкаліпт, цитрусові тощо. До складу фітонцидів входять альдегіди, алкалоїди, глікозиди, синильна кислота, хінони і ефірні олії тощо. Серед названих сполук надзвичайно високою антимікробною активністю володіють алкалоїди (анабазин, нікотин, хінін та ін.).

Чимало антибіотичних препаратів рослинного походження широко використовуються в медицині, сільському господарстві та інших галузях: аліцин, добутий із часнику; аренарін, виділений із цмину піскового; берберин, який одержують з багатьох видів рослин з родини жовтецевих. Ці препарати виявляють бактерицидну дію на стрептококи, стафілококи, дифтерійну паличку, гонококи і сальмонели. Фітонциди іманін і новоіманін, виділені зі звіробою звичайного,

ТЕМА №7.ВЗАЄМОВІДНОСИНИ МІЖ МІКРООРГАНІЗМАМИ.

План

1. Взаємовідносини між мікроорганізмами.
2. Інфекція та імунітет

Ключові терміни та поняття: *гідрофіти, мезофіти, ксерофіти, ацидофіли, алкалофіли, нейтрофіли, барофільні і баротолерантні мікроорганізми, осмофільні і осмотолерантні мікроорганізми, аероби, анаероби, мікроаерофіли.*

1. Взаємовідносини між мікроорганізмами

Взаємовідносини різних організмів, які живуть в екосистемі, бувають найрізноманітнішими. Мікроби об'єднані в стійкі екологічні системи – мікробіоценози. Мікроорганізми в різних угрупованнях пов'язані між собою енергетичними ланцюгами і відчувають взаємний вплив. Взаємовідносини між організмами в цих угрупованнях складні й динамічні через постійні зміни екологічних умов і мінливість самих мікроорганізмів. Вивчення цих взаємовідношень має надзвичайно важливе значення для розуміння кругообігу речовин у природі, утворення ґрунтів, еволюції видів прокариотів.

Упродовж еволюції в живій природі виникли різноманітні взаємовідносини як між мікроорганізмами, так і між мікро- та макроорганізмами.

Симбіоз — взаємно корисне співіснування організмів різних видів. Розрізняють **ендосимбіоз** (мікроорганізм росте і розвивається у середині клітини-господаря) та **ектосимбіоз або екзосимбіоз** (мікроорганізм займає зовнішнє положення по відношенню до клітин господаря).

Прикладом симбіозу є співжиття молочнокислих бактерій і дріжджів. Бактерії утворюють молочну кислоту, яка підкислює середовище, створюючи сприятливі умови для росту дріжджів. Останні синтезують ростові речовини, необхідні для розвитку бактерій. Інші приклади симбіозу — лишайник (симбіоз водорості й гриба), бульбочкові бактерії та бобові рослини.

Симтрофізм – відношення мікроорганізмів, при яких спостерігається взаємне постачання необхідними поживними речовинами. Наприклад: гриб роду *Mucor* і дріжджі роду *Rhizotorula* потребують вітамін В1 (тіамін). Якщо ці мікроорганізми вирощувати в змішаній культурі, то перший вид буде виділяти пірідитовий, а другий тіазоловий компоненти і потреби обох будуть задоволені.

Мутуалізм — різновидність симбіозу, при якому також існує взаємосприятливий вплив обох партнерів, наприклад взаємовідносини між мікрофлорою рубця жуйних і організмом тварини. Бактерії розкладають клітковину в рубці до сполук, які засвоюються організмом хазяїна, а останній забезпечує бактерії поживними речовинами і захищає їх від несприятливих умов.

Коменсалізм — форма симбіозу, при якій має вигоду тільки один партнер, не завдаючи ані шкоди, ані користі іншому. Прикладом цього може бути симбіоз

організму людини з нормальною мікрофлорою її тіла (сапрофітна мікрофлора шкіри, травного каналу тощо).

Метабіоз — взаємовідносини між мікробами, при яких продукти метаболізму одного виду прокаріотів використовуються як пожива або енергетичний матеріал іншим видом мікробів. Наприклад, амоніфікатори розкладають білки з утворення КНЗ, який використовується нітрифікуючими бактеріями.

Синергізм. При цій формі взаємовідносин у симбіонтів взаємно посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості. Це явище можна спостерігати при співжитті оцтовокислих бактерій і дріжджів. Бактерії перетворюють цукри на кислоти, які використовуються дріжджами, а останні забезпечують бактерії вітамінами.

Самелізм – різновид асоціативних взаємин, який передбачає стимуляцію одного мікроорганізму іншим. Так, дріжджові гриби і сарцини, що продукують різні амінокислоти і вітаміни, дуже часто сприяють росту і розмноженню інших, більш вимогливих до живильного субстрату бактерій – молочнокислих або оцтовокислих.

Метабіоз – взаємини, при яких один мікроорганізм своєю життєдіяльністю створює умови для розвитку іншого, який, як правило, продовжує процес, початий першим. Наприклад, амоніфікуючі бактерії розкладають органічні азотвмісні сполуки з утворенням аміаку, створюючи тим самим субстрат для розвитку нітрифікаторів. Останні окислюють аміак на 1-й фазі до солей азотистої кислоти – нітритів і на 2-й фазі – до нітратів, які служать акцепторами електронів при нітратному диханні денітрифікуючих бактерій.

Целюлозолітичні бактерії, розкладаючи клітковину, накопичують у середовищі різні цукри і органічні кислоти, необхідні як джерела вуглецю для розвитку мікроорганізмів роду *Azotobacter*. Саме метабіотичні відносини мікроорганізмів лежать в основі кругообігу основних біогенних елементів у природі.

Антагонізм – тип співіснування, коли продукти життєдіяльності одного виду гальмують розвиток іншого або навіть визивають його загибель (наприклад: молочнокислі бактерії служать антагоністами гнилісниммікроорганізмам).

В багатьох випадках згубна дія мікробів–антагоністів зв'язана з виділенням ними в середовище антибіотиків (біологічно активні хімічні речовини, здатні навіть в малих кількостях подавляти ріст мікроорганізмів). Відомо вже більше 2000 антибіотиків. До синтезу антибіотиків здатні головним чином гриби (*Aspergillus*, *Penicillium*), актиноміцети (*Streptomyces*) та деякі бактерії. Як хіміотерапевтичний засіб застосовують біля п'ятидесяти (пеніцилін, стрептоміцин, граміцидин С, хлортетрациклін, грізеофульвін та ін.).

Відкриття явища антагонізму належить Л. Пастеру (1877), який дослідив загибель збудника сибірської виразки в спільній культурі його з синьогнійною паличкою. Ідею використання антагонізму мікробів в медицині вперше запропонував І. І. Мечніков. Він посилено пропагував використання молочнокислих бактерій (болгарської палички - *Lactobacillus bulgaricus*) для нормалізації мікрофлори кишечника і придушення гнильних мікробів.

Паразитизм – один мікроорганізм розвивається за рахунок іншого, призводячи до його загибелі, є крайнім проявом конкурентних взаємин мікроорганізмів.

Паразитизм без контакту з господарем в ґрунті зустрічається досить часто і проявляється в тому, що паразити виділяють ферменти, які здатні розчиняти атаковані клітини бактерій.

Паразитизм в контакті з господарем проявляється в нападі одних мікроорганізмів на інші: поїдання бактерій – найпростіших; бактерії роду *Vibrio* здатні вбивати і поїдати бактерії інших видів; окремі види грибів поїдають водорості або інші види грибів, особливо хижі гриби Chytridiales.

2. Інфекція та імунітет

Інфекція – це взаємодія патогенних мікробів (за сприятливих умов) з організмом людини, тварини або рослини, внаслідок чого виникають інфекційні захворювання.

Забруднення патогенними мікроорганізмами харчових продуктів призводить до таких небезпечних хвороб: червоного тифу, паратифу, холери, дизентерії, скарлатини, туберкульозу, сибірки тощо. Навіть невеликі дози цих збудників спричинюють захворювання, оскільки, потрапляючи в організм, вони починають активно розмножуватись. Хвороботворні мікроби можуть проникати в організм людини через повітря, воду, бацилоносії – хворих людей і тварин, комах, гризунів та іншими шляхами.

Характерні ознаки захворювання проявляються не відразу, а через деякий час після приймання їжі, який називається **інкубаційним періодом**. Саме тоді мікроби починають розмножуватись, і в організмі накопичуються сильнодіючі продукти їх життєдіяльності. При різних захворюваннях тривалість інкубаційного періоду становить від декількох годин до декількох тижнів і навіть місяців. Після його закінчення з'являються симптоми характерні для конкретного інфекційного захворювання.

Інфекції виникають тільки при наявності живих клітин патогенних мікроорганізмів, які мають певний інкубаційний період і свої ознаки.

Вірулентність (від лат. *Virulentus* — «отруйний»), ступінь хвороботворності (патогенності) даного інфекційного агента (вірусу, бактерії або іншого мікроба). Вірулентність залежить як від властивостей інфекційного агента, так і від чутливості інфікованого організму.

Вірулентність, або ступінь патогенності мікробів змінюється залежно від умов їхнього існування. Патогенні мікроби виробляють отруйні речовини – токсини. Вони бувають двох видів: екзотоксини і ендотоксини. Екзотоксини виділяються з клітин в навколишнє середовище в період життєдіяльності мікроорганізмів, а ендотоксини – лише після порушення цілісності клітинної стінки. Екзотоксини більш отруйні ніж ендотоксини.

Організм людини або тварин може не сприймати дію патогенних мікробів. Такий етап називається імунітетом. Інакше кажучи, організм здатний протистояти розмноженню мікроорганізмів і знезаражувати токсини (отрути).

ТЕМА №8. ПЕРЕТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ СПОЛУК ВУГЛЕЦЮ.

План

1. *Кругообіг вуглецю в природі*
2. *Гліколіз*
3. *Спиртове бродіння. Хімізм, збудники, значення*
4. *Молочнокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення*
5. *Маслянокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення*
6. *Розклад целюлози та пектинових речовин маслянокислими мікроорганізмами*
7. *Ацетонобутилове бродіння. Хімізм, збудники, значення*
8. *Пропіоновокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення*
9. *Окислення етилового спирту до оцтової кислоти.*

Ключові терміни та поняття: *піровиноградна кислота, АТФ, гліцерин, оцтовий альдегід, типове і нетипове молочнокисле бродіння, біфідобродіння, цукровий мінімум, масляна кислота, луб'яні культури, малюнок сиру, оцет.*

1. Кругообіг вуглецю в природі

Вуглець за поширеністю на Землі займає шістнадцяте місцесеред всіх елементів і становить приблизно 0,027% маси земної кори. Вуглець надходить до біосфери в результаті фіксації в процесі фотосинтезу. Кількість вуглецю, яка щорічно зв'язується рослинами, оцінюється в 46 млрд.т.

У незв'язаному стані він зустрічається у вигляді алмазів (найбільші родовища у Південній Африці та Бразилії) і графіту (найбільші родовища у ФРН, Шрі-Ланка і Росії). Кам'яне вугілля містить до 90% вуглецю. У зв'язаному стані вуглець входить також в різні горючікопалини, в карбонатні мінерали, наприклад кальцит і доломіт, а також до складу всіх біологічних речовин. У формі диоксиду вуглецю він входить в склад земної атмосфери, в якій на його частку припадає 0,046% маси.

Вуглець має виняткове значення для живої речовини. З вуглецю в біосфері створюються мільйони органічних сполук.

Вуглекислота з атмосфери в процесі фотосинтезу, здійснюваного зеленими рослинами, асимілюється і перетворюється в різноманітні органічніз'єднання рослин. Рослинні організми, особливо нижчімікроорганізми, морський фітопланктон, завдяки винятковій швидкостірозмноження, продукують на рік близько $1,5 \cdot 10^{11}$ т вуглецю у вигляді органічноїмаси. Рослини частково поїдаються тваринами. У кінцевому рахунку, органічна маса в результаті дихання, гниття ігоріння перетворюється на вуглекислий газ або відкладається у вигляді сапропелю, гумусу, торфу, які, у свою чергу, дають початок багатьом іншимз'єднанням - кам'яному вугіллям, нафти. У процесах розпаду органічнихречовин, їх мінералізації, величезну роль відіграють бактерії (наприклад, гнильні), а також багато гриби (наприклад, плісняви).

Вуглець, що входить до складу органічних сполук, повертається в атмосферу у вигляді CO_2 завдяки діяльності мікроорганізмів, які здійснюють різні види бродінь,

окислюють та розкладають органічні сполуки. Кожний тип бродіння спричиняється певною групою мікроорганізмів. Найчастіше в процесах бродіння мікроорганізми використовують вуглеводи, зокрема глюкозу. При всіх видах бродіння глюкоза спочатку піддається гліколізу з утворенням піровиноградної кислоти. Далі, в залежності від збудника бродіння, піровиноградна кислота залучається до тих чи інших реакцій, в результаті яких утворюються специфічні кінцеві продукти.

2. Гліколіз

Для процесів життєдіяльності мікроорганізми найчастіше використовують вуглеводи, зокрема глюкозу. Полісахариди, зазвичай, перед бродінням гідролізуються до моносахаридів. Процес анаеробного розпаду глюкози дістав назву гліколізу (глікос – солодкий, лізис – розпад).

У мікроорганізмів відомо три шляхи перетворення глюкози до піровиноградної кислоти: перший — шлях *Ембдена—Мейєргофа—Парнаса*, або *гліколіз*, другий — шлях *Ентнера—Дудорова*. Якщо гліколіз вперше було відкрито у м'язах, дріжджах, а потім і в деяких бактерій, то шлях Ентнера—Дудорова знайдено тільки у бактерій. Нарешті, третій шлях перетворення глюкози трапляється у багатьох мікроорганізмів — це *пентозофосфатний* шлях, або пентозофосфатний цикл.

Основний шлях розщеплення вуглеводів — це шлях Ембдена—Мейєргофа—Парнаса. Він властивий анаеробним і аеробним мікроорганізмам.

На початковій стадії глюкоза фосфорилується в положенні 6 за допомогою ферменту гексокінази і АТФ як донора фосфорної кислоти. При цьому утворюється фосфорний ефір глюкози і АДФ. Глюкозо-6-фосфат є метаболічно активною формою глюкози і може бути вихідною сполукою для будь-якого з названих вище шляхів перетворення цукрів.

Глюкозо-6-фосфат під впливом ферменту фосфоглюкоїзомерази ізомеризується до фруктозо-6-фосфату. Останній фосфорилується в положенні 1 під дією ферменту фосфофруктокінази і другої молекули АТФ. У результаті цієї реакції утворюється дифосфорний ефір фруктози — фруктозо-1,6-дифосфат.

Далі фруктозо-1,6-дифосфат розщеплюється альдолазою на дві молекули — фосфогліцериновий альдегід і діоксіацетонфосфат. Останній під впливом ферменту тріозофосфатізомерази перетворюється на 3-фосфогліцериновий альдегід. Це перетворення дає змогу уникнути втрати половини глюкози, що вступила в реакцію.

Цією реакцією завершується перша стадія гліколізу, в якій молекулу глюкози шляхом двох фосфорилувань і розщеплення підготовлено до другої стадії, що включає окислювально-відновні реакції і реакції фосфорилування, в процесі яких регенерується АТФ.

Друга стадія гліколізу починається з окислення 3-фосфогліцеринового альдегіду до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти. Це один із найважливіших етапів гліколізу, оскільки енергія, яка звільняється при окисненні альдегідної групи 3-фосфогліцеринового альдегіду, зберігається у формі високоенергетичного продукту окислення — 1,3-дифосфогліцеринової кислоти. Каталізує цю реакцію фермент тріозофосфатдегідрогеназа.

На наступних етапах перетворення 1,3-дифосфогліцеринової кислоти на піровиноградну обидва фосфорні залишки переносяться на АДФ (відбувається так зване субстратне фосфорилування) і утворюється АТФ. Далі 3-фосфогліцеринова кислота під впливом ферменту фосфогліцеромутази перетворюється на 2-фосфогліцеринову кислоту. Остання, дегідратууючись за участі ферменту енолази, утворює фосфоенолпіровиноградну кислоту, яка має макроергічний зв'язок. Під впливом ферменту піруваткінази фосфоенолпіровиноградна кислота віддає свою фосфорну групу молекулі АДФ. При цьому утворюється енолпіровиноградна кислота і друга молекула АТФ. Закінчується друга стадія гліколізу спонтанним перетворенням енолпіровиноградної кислоти на піровиноградну. Отже, трансформація глюкози до піровиноградної кислоти за схемою Ембдена—Мейєргофа—Парнаса приводить до виділення вільної енергії, якої досить для утворення 4 молекул АТФ. Це відбувається за окислення фосфогліцеринового альдегіду і дегідрування 2-фосфогліцеринової кислоти. Однак дві з них використовуються для перетворення глюкози на фруктозо- 1,6-дифосфат і тільки дві молекули АТФ та дві молекули НАДН, що також утворюються разом з АТФ, залишаються для процесів синтезу.

Піровиноградна кислота, що утворилася в процесі гліколізу, є проміжним продуктом, який за різних видів бродіннь по-різному перетворюється. Характер цих перетворень залежить від ферментативних особливостей збудників бродіння.

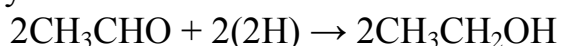
3. Спиртове бродіння. Хімізм, збудники, значення

Спиртове бродіння – процес розкладу цукру мікроорганізмами до спирту і вуглекислого газу. У 1815 р. Гей-Люссак встановив, що шести вуглецеві вуглеводи – гексози, перетворюються на спирт і CO_2 за таким рівнянням: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{CO}_2$, яке нині є загальноприйнятим.

Спиртове бродіння викликається дріжджами (*S. cerevisiae*, *S. globosus*, *S. vini* і др.), а також деякими бактеріями та окремими представниками мукових грибів. Основними збудниками є дріжджі. Вони зброджують моно- та дицукри з утворенням етилового спирту та вуглекислоти. В якості джерела азоту використовують пептон, амінокислоти чи аміачні солі. Найкраще вони розвиваються при рН 4-6 і витримують до 15-17% спирту.

Під час спиртового бродіння відбувається два періоди:

- 1. Індукційний** – оцтовий альдегід, що утворюється з піровиноградної кислоти, не використовується в якості акцептора водню. Внаслідок цього в середовищі накопичується гліцерин, оцтовий альдегід та вуглекислота. Після накопичення певної кількості молекул оцтового альдегіду, реакція з використанням фосфогліцеринового альдегіду припиняється і настає друга фаза.
- 2. Стаціонарний** період – водень акцептується оцтовим альдегідом, внаслідок чого відбувається посилене накопичення етилового спирту :



Ця реакція складає основну ланку в спиртовому бродінні

Оскільки накопичення гліцерину відбувається лише на початку бродіння, то його вихід дуже низький і його можна віднести до побічних продуктів бродіння. Однак якщо в середовище додати сульфіти, що зв'язують оцтовий альдегід, то вихід

гліцерину різко зростає і виникає *гліцеринове бродіння* $C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_2OHCH_2OHCH_2OH + CH_3CHO + CO_2 + eH$

Цей тип видозміненого спиртового бродіння має важливе технічне значення при отриманні гліцерину з цукру за допомогою дріжджів.

Поряд з етиловим спиртом в зброженому субстраті виявляються ще й вищі спирти, що називаються *сивушними маслами*. Їх утворення пов'язано з розкладом амінокислот, які використовують дріжджі в якості джерела азоту.

Спиртове бродіння широко використовується при виноробстві, пивоварінні, винокурінні та хлібопеченні. Дріжджі, що використовуються у цих виробництвах, поділяють на дріжджі *верхового* і *низового* бродіння.

Перші з них характеризуються активним бродінням, а другі з самого початку осідають на дно і їх бродіння в'яле. Більша частина дріжджів, що використовуються при винокурінні і випіканні хліба – верхового бродіння.

Виноробство. На відміну від цих виробництв, у виноробстві дріжджі не відгравали такої важливої ролі. Тут вирішальним є якість суслу. Основна маса вина отримувалася шляхом самозброжування суслу за участі випадкових дріжджів, що є на поверхні ягід винограду. Однак нині використовують чисті культури дріжджів і у виноробстві. Так бродіння виноградного соку відбувається більш активно. Завдяки цьому отримують вина з відмінним «букетом».

Особливо важливим є використання чистих культур дріжджів при виробництві шипучих вин, де потрібні стійкі до спирту та вуглекислоти раси.

Хлібопекарська промисловість. Тут спиртове бродіння використовується для підйому та розрихлення тіста, оскільки воно супроводжується виділенням великої кількості CO_2 . З 1 кг зброженого цукру отримуємо 255 л CO_2 . Цей об'єм збільшується вдвічі при температурі випікання хліба, а рахунок чого тісто ще більш розрихлюється і випікається пористий хліб.

Винокуріння. Основною сировиною є крохмаль злаків або картоплі, який піддається гідролізу амілазою солода до мальтози. Отримується багата на поживні речовини маса, що слугує для розвитку багатьох мікроорганізмів. Для створення більш сприятливих умов, в середовище додають не лише дріжджі, а й молочнокислу мікрофлору. Завдяки цьому обмежується розвиток гнилісної мікрофлори, а вуглеводи середовища зброжуються до виділення спирту.

Пивоваріння. Тут раси дріжджів мають більш важливе значення, оскільки від них залежить утворення речовин, що надають пиву особливого смаку та аромату.

4. Молочнокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення

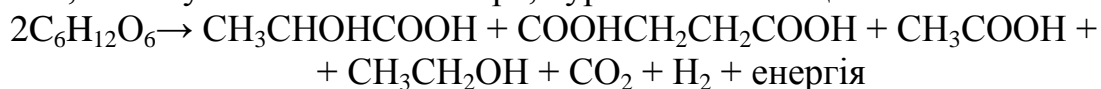
Молочнокисле бродіння - процес анаеробного окислення вуглеводів, що викликається специфічною групою мікроорганізмів. Кінцевим продуктом при виступає молочна кислота. Серед побічних продуктів бродіння є оцтова кислота, вуглекислий газ, етиловий спирт.

Існує три типи молочнокислого бродіння:

1. Гомоферментативне молочнокисле бродіння, при якому з глюкози утворюється тільки молочна кислота:



2. Гетероферментативне молочнокисле бродіння, коли з глюкози, крім молочної кислоти, синтезується етиловий спирт, бурштинова та оцтова кислоти:



3. Біфідобродіння, котре викликають біфідобактерії, при якому з глюкози утворюється оцтова і молочна кислоти?



Часто в середовищах, де бродіння відбувається завдяки молочнокислим бактеріям (*Streptococcus cremoris* *Leuconostoc cremoris*), накопичуються невеликі кількості ацетоїну і діацетилу – речовин, які мають своєрідний приємний аромат. Цей аромат передається продуктам, в яких розвиваються зазначені бактерії. Крім глюкози, молочнокислі бактерії зброджують велику кількість цукрів: фруктозу, галактозу, манозу, сахарозу, лактозу, мальтозу і пентози.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння здійснюють бактерії родів *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Lactobacillus*.

Бактерії роду *Streptococcus* представляють собою круглі чи злегка овальні клітини діаметром від 0,5-0,6 до 1 мкм, розташовані поодинокі, парами або ланцюжками. Глюкозу зброджують з утворенням в основному молочної кислоти. Вони поширені на рослинах, у ґрунті, а також у молоці та інших субстратах і використовуються в ряді харчових виробництв.

Промислове значення мають наступні види: *S. lactis* (молочнокислий стрептокок), *S. cremoris* (вершковий стрептокок), *S. diacetylactis*, *S. thermophilus*,

Гетероферментативне молочнокисле бродіння здійснюють бактерії родів *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*.

Бактерії роду *Leuconostoc* мають вигляд сферичних або частіше сочевицеподібних клітин, що розташовуються поодинокі, парами або короткими ланцюжками, грам-позитивні, спор не утворюють, факультативні анаероби, оптимум температури 20-30°C. Зброджують моно- і дисахариди. Глюкозу зброджують з утворенням молочної кислоти, етилового спирту і CO₂. На середовищах із сахарозою клітини утворюють товсту зовнішню оболонку із слизу або смолистих речовин – декстранів.

L. mesenteroides і *L. dextransum* беруть активну участь у зброджуванні вуглеводів при квашенні капусти і силосуванні. *L. mesenteroides* і *L. citrovorum* зброджують лимонну кислоту з утворенням діацетилу, тому вони можуть бути компонентами заквасок, що застосовуються в масло-і сироварінні.

З бактерій роду *Lactobacillus* гетероферментативне молочнокисле бродіння здійснюють бактерії видів *L. fermentum* і *L. brevis*, які зброджують глюкозу з утворенням молочної кислоти, CO₂, оцтової кислоти та етилового спирту. Звичайно ці види зустрічаються на рослинах, виявлені в хлібних заквасках. Це невеликі палички, які мають температурний максимум близько 45°C.

Біфідобродіння. До роду *Bifidobacterium* відносяться бактерії, які мають форму прямих чи розгалужених паличок, роздвоєні V-форми, булавоподібні або лопатоподібні форми. Біфідобактерії – нерухомі грам-позитивні анаероби, які не

утворюють спор, оптимум температури для них 36-38°C, глюкозу зброджують головним чином до оцтової і молочної кислот. Типовий представник роду *B. bifidum*. Біфідобактерії мешкають у кишечнику людей, тварин, комах. Встановлено, що *B. bifidum* складає від 50 до 90% мікробного вмісту фекалій людини.

Молочнокислі бактерії мають величезне практичне значення, їх широко використовують при виготовленні кисломолочних та квашених продуктів, сирів, кислоторшксового масла.

У виробничих умовах різні кисломолочні продукти готують внесенням у пастеризоване молоко відповідних чистих культур бактерій. Молочнокислі бактерії відіграють основну роль при виготовленні сирів. Для деяких сирів використовують також пропіоновокислі бактерії, плісневі гриби. Квашення овочів і силосування кормів відбувається, головним чином, завдяки молочнокислому бродінню цих субстратів. Важливе значення мають молочнокислі бактерії для виготовлення хліба, зокрема житнього. Тут застосовують закваску (шмат старого тіста), що містить молочнокислі бактерії і дріжджі. Головною причиною піднімання хліба є спиртове бродіння, а кислий смак хліба викликаний молочнокислим бродінням, яке також перешкоджає розвитку маслянокислих бактерій.

Окремі молочнокислі продукти готують, використовуючи закваску, яка містить симбіотичні комплекси мікроорганізмів. Наприклад, для приготування кефіру в молоко вносять так звані зерна кефіру, зовні трохи схожі на мініатюрні головки кольорової капусти. Вони містять *Lactobacillus bulgaricus*, дріжджі *Saccharomyces kefir*, які зброджують лактозу. Продуктами бродіння є молочна кислота і спирт. Регулювати їх можна за допомогою температури (більше 20 °C – молочнокисле, нижче 15°C – спиртове). Міцний кефір містить 1% спирту та 1% молочної кислоти. Змішане бродіння також лежить в основі приготування кумису з кобилячого молока. У даному випадку молочнокисле бродіння здійснюється термофільними молочнокислими паличками, близькими до *Lactobacillus bulgaricus*, і дріжджами з роду *Torula*, які зброджують лактозу. Під час бродіння молоко періодично збовтують, внаслідок чого казеїновий згусток дробиться. У кумисі накопичується до 2% спирту та більше 1% молочної кислоти.

У зв'язку із здатністю молочнокислих бактерій синтезувати антибіотики (нізин, диплококцин, лактолін, бревін та ін.) і продукувати органічні кислоти, припускають, що ці організми є антагоністами гнильної і хвороботворної кишкової мікрофлори людей і тварин.

Сквашування овочів. Процес квашення овочів має кілька періодів.

Початковий – відбувається дифузія цукрів у розсолі і починається молочнокисле бродіння. Спочатку тут розвивається мішана мікрофлора.

Середній – розвиваються тільки молочнокислі бактерії і нагромаджується молочна кислота.

Кінцевий – розвиток молочнокислих бактерій поступово припиняється внаслідок зростання концентрації молочної кислоти. Продукт цілком законсервовано.

Квашені овочі треба зберігати без доступу повітря, бо інакше на розсолі розвивається грибок *Oidium lactis*, який призводить до зменшення концентрації

молочної кислоти, внаслідок чого починають розвиватися гнильні мікроорганізми, які спричинюють гниття і псують квашені продукти.

Попереднє додавання до заквашуваних овочів чистої культури молочнокислих мікроорганізмів прискорює процес накопичення молочної кислоти.

Силосування. Цей спосіб виготовлення соковитих кормів дуже поширене, оскільки цей своєрідний спосіб консервування дає змогу зберігати соковиту рослинну масу за будь-якої погоди. При цьому в кормі зберігається більше поживних речовин, ніж при висушуванні на сіно (не втрачаються листки, квіти). За крохмальним еквівалентом поживність корму може знизитися на 50% при сушінні, тоді як при силосуванні – на 5-10%. Силосування також дає змогу використати на корм рештки рослин (бадилля картоплі, буряків).

Кислий силос отримують в результаті розвитку в силосній масі типових і нетипових молочнокислих мікроорганізмів, хоча в період закладки корму в ньому розвивається різноманітна мікрофлора, яка конкурує між собою. Якщо до силосу буде доступ повітря, то будуть розвиватися гнилісні мікроби, якщо ж будуть анаеробні умови – молочнокислі. У цьому випадку вже через 2-3 дні буде переважати молочнокисла мікрофлора, що веде до підвищення вмісту молочної і оцтової кислоти у середовищі, силос буде підкислюватися. Ці кислоти мають добрі смакові якості для тварин і пробуджують у них апетит. Молочнокислі мікроорганізми знижують рН середовища до 4,2 – 4,0, що призводить до відмирання гнилісної мікрофлори. При подальшому зниженні рівня рН відмирає і молочнокисла мікрофлора, а корм самоконсервується.

При силосуванні подрібнену зелену масу завантажують у траншеї, силосні башти або складають у наземні бурти. Є два способи силосування: *гарячий і холодний*.

Гарячий спосіб – рослинну масу не трамбують під час закладання, а на 1-2 дні рихло складають товщиною 1-1,5 м. Внаслідок цього є вільний доступ повітря, розвиваються енергійні мікробіологічні і ферментативні процеси, внаслідок чого температура корму може підніматись до 50 °С. Потім накладають такої ж товщини наступний шар, який також розігрівається, а попередній шар рослин спресовується під вагою верхнього шару. Цей спосіб силосування використовується в окремих випадках, коли на силос використовують грубостеблові і малоцінні корми, оскільки при розігріванні корму відбувається втрата його поживної цінності.

Холодний спосіб силосування застосовують більш широко. Рослинну масу подрібнюють і щільно трамбують, завдяки чому під час дозрівання силосу температура в ньому не піднімається вище 25—35 °С.

До типових молочнокислих бактерій, які відіграють основну роль при силосуванні, належать із гомоферментативних *Streptococcuslactis*, *S. thermophilus*, *Lactobacillusplantarum*; із гетероферментативних — *Lactobacillusbrevis*, *Betabacteriumbreve*.

Оскільки молочна кислота утворюється лише при зброджуванні моноцукрів (глюкоза, фруктоза), то її накопичення залежить від вмісту цих речовин у рослинній масі. Тому в рослинах визначають фактичний вміст цукрів та цукровий мінімум.

Цукровий мінімум – найменша кількість цукрів, яка може при молочнокислому бродінні дати таку кількість молочної кислоти, яка знизить рН середовища до 4,5-4,0.

З врахуванням цукрового мінімуму та вмісту цукру у рослинах всі кормові культури можна поділити на три групи по відношенню до силосування:

1. Добре силосуються – кукурудза, сорго, топінамбур, соняшник. У цих культур вміст цукру у рослині переважає цукровий мінімум.

2. Важко силосуються – горох, буркун, вика, конюшина. У цих культур вміст цукру у рослині та цукровий мінімум майже однакові.

3. Не силосуються – люцерна, соя, бадилля картоплі. У цих культур вміст цукру у рослині нижчий за цукровий мінімум.

Так само, як і при квашенні овочів, у силосуванні розрізняють три послідовні фази:

1. Розвиток змішаної мікрофлори;
2. Домінантний розвиток молочнокислих бактерій (головне бродіння);
3. Припинення розвитку молочнокислих бактерій внаслідок накопичення молочної кислоти і зниження рН до 4-4,2.

Отже, у третій фазі настає консервація силосу. Герметизація і кислотність силосу є основними факторами, які визначають його стійкість під час зберігання.

5. Маслянокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення

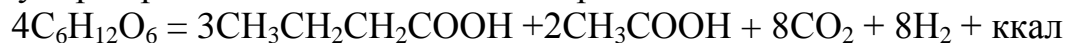
Маслянокисле бродіння – перетворення складних вуглеводів (крохмаль, целюлоза, пектинові речовини) в анаеробних умовах за допомогою мікроорганізмів. Маслянокислі бактерії чутливі до кислотності середовища, оптимальне для них рН=7,0-7,3, оптимальна температура в межах 30-40°C.

Серед маслянокислих бактерій є сапрофітні (*C. pasteurianum*, *C. butyricum*, *C. felsineum*) та патогенні види (*C. botulinum*, *C. tetani*, *C. perfringens*).

Типовий представник масляно-кислих бактерій — *Clostridium butyricum*. Це велика паличка (1—2X10 мкм), в молодому стані вона рухлива. На пізніших стадіях розвитку втрачає джгутики, набуває веретеноподібну форми і нагромаджує усередині клітки запасну живильну речовину — полісахарид гранулезу. *C. butyricum* утворює веретеноподібні спори (інколи вони мають форму барабанної палички). Як джерело вуглецю маслянокислі бактерії можуть використовувати моно- і дисахариди, деякі полісахариди (декстрин, крохмаль), молочну і піровиноградну кислоти, маніт, гліцерин і інші з'єднання. У складних білкових середовищах за відсутності зброджуваного вуглеводу маслянокислі бактерії погано зростають або зовсім не зростають. Джерелом азоту слугують різноманітні речовини — амінокислоти, аміачні з'єднання і навіть молекулярний азот. Маслянокисле бродіння починається з трансформації цукрів в піровиноградну кислоту шляхом Ембдена — Мейергофа — Парнаса. Кінцеві продукти з піровиноградної кислоти утворюються в результаті ланцюга реакцій, що каталізуються декількома ферментними системами. Процес перетворення піровиноградної кислоти дуже складний. Піровиноградна кислота перетворюється на ацетил-КоА, CO₂ і H₂ за участю ферментної системи — піруват ферредоксиноксидо-редуктази. З ацетил-

КоА через ацетилфосфат синтезується оцтова кислота. Утворення масляної кислоти починається з конденсації двох молекул ацетил-КоА, внаслідок чого утворюється ацетоацетил-КоА, який відновлюється до бутиріл-КоА. Масляна кислота виходить з бутиріл-КоА після його гідролізу і перенесення КоА на оцтову кислоту.

Сумарне рівняння маслянокислого бродіння:



В природі маслянокисле бродіння є ланкою перетворень органічних речовин. Але в сільському господарстві та промисловості воно є небажаним. Маслянокислі бактерії є причиною псування овочів, сирів, консервів, при його розвитку в кормах, що заквашуються, білкова частина корму розкладається, а масляна кислота, що накопичується, надає йому неприємного запаху.

Разом з тим масляна кислота потрібна для деяких промислових цілей, наприклад, для одержання ефірів масляної кислоти, що використовують як ароматичні речовини в кондитерській та парфумерній промисловості. Масляну кислоту одержують на заводах, піддаючи бродінню спеціально підготовлені середовища (картоплю, відходи крохмалопаточного чи цукрового виробництва тощо) чистою культурою маслянокислих бактерій.

6. Розклад целюлози та пектинових речовин маслянокислими мікроорганізмами

До складу целюлози (клітковини) входить більше 50% всього органічного вуглецю біосфери. Целюлоза – найбільш розповсюджений полісахарид рослинного світу; вищі рослини на 15-50% складаються з целюлози.

Мікроорганізми, що її розкладають, відіграють дуже важливу роль у процесі мінералізації і кругообігу вуглецю. В результаті розкладу клітковини та інших органічних речовин в ґрунті утворюється гумус або перегній, який забезпечує родючість ґрунту. Целюлозу розкладають аеробні мікроорганізми (бактерії і гриби) і анаеробні мезофільні і термофільні бактерії.

Група аеробних мікроорганізмів, які розкладають целюлозу, найширше представлена в ґрунті. Особлива роль у процесі розкладу клітковини належить бактеріям роду *Cytophaga*, що були описані С. Н. Виноградським. Це неспорозні, слизисті, тонкі, трохи зігнуті палички, здатні добре розвиватись тільки на субстратах, що містять клітковину.

Анаеробні бактерії, що розкладають целюлозу, знайдених у природі, відносяться до роду *Clostridium*. Ці бактерії живуть у ґрунтах, компостах, гної, річковому мулі і стічних водах. Вони поширені в нейтральних та кислих ґрунтах. Типовий представник роду – *Clostridium omelianskii*, уперше виділений відомим мікробіологом В. Л. Омелянським. Цей мікроорганізм має паличкоподібну форму, рухливий, мезофіл (розкладає целюлозу при температурі 30-40°C), утворює товсті спори в клітині, тому клітина роздувається і стає схожою на барабанну паличку. Розкладати целюлозу може й інший мезофільний вид *C. cellobioparum*.

Анаеробні бактерії, що розкладають целюлозу, зустрічаються в ґрунті, гної і компостах. Вони є термофілами і дуже активно зброджують клітковину. До них відноситься *C. thermocellum*, оптимальна температура для якого близько 60°C, а максимум наближається до 70°C. При 40- 45°C ця бактерія розвивається погано.

У рубці жуйних тварин знаходяться специфічні облигатні анаеробні бактерії, що розкладають целюлозу кормів до глюкози, яка потім зброджується з утворенням органічних кислот (оцтової, пропіонової, масляної, молочної, мурашиної, бурштинової й ін.), спиртів і газів (CO₂ і H₂). Розкладання целюлози в рубці тварин здійснюють кокоподібні і паличкоподібні бактерії: *Ruminococcusflavefaciens*, *Ruminococcusalbus*, *Bacteroidessuccinogenes*, *Butyrovibrio fibrisolvens*, *Ruminobacterparvum*. Бактерії рубця мають велике значення в травленні жуйних тварин.

Пектинові речовини – це складні полісахариди полігалактуроніди. Бактерії і гриби можуть розкладати пектинові речовини в аеробних і анаеробних умовах. У ґрунті присутня значна кількість таких мікроорганізмів – до 1 млн. клітин на 1 г ґрунту.

Продукти розпаду пектинової кислоти піддаються подальшому окислюванню або зброджуванню різноманітними мікроорганізмами. Зокрема, при анаеробних умовах вони зброджуються маслянокислими бактеріями, які відносяться до роду *Clostridium* (*C. pectinovorum*, *C. felsineum*) та іншими. Продуктами бродіння *C. pectinovorum* є масляна й оцтова кислоти, а також H₂ і CO₂. *C. felsineum*, крім зазначених речовин, утворюють і невелику кількість ацетону і бутилового спирту. В анаеробних умовах пектин розкладають також гриби.

Пектинове бродіння спостерігається при замочуванні лубоволокнистих рослин – льону, коноплі, кенафу, джуту, канатника та інших. Целюлозні волокна цих рослин, які мають промислове значення, склеєні з навколишніми тканинами пектином. Після розкладання пектину бактеріями стає можливим відділення волокон.

7. Ацетобутилове бродіння. Хімізм, збудники, значення

Ацетобутилове бродіння близьке до маслянокислого. В результаті цього бродіння в якості основних кінцевих продуктів трансформації вуглеводів одержують ряд цінних сполук:

Бутиловий спирт CH₃CH₂CH₂CH₂OH

Етиловий спирт CH₃CH₂OH

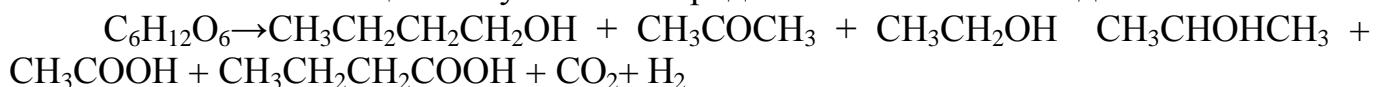
Ацетон CH₃COCH₃,

Ізопропіловий спирт CH₃CH(OH)CH₃,

Оцтову кислоту CH₃COOH

Масляну кислоту CH₃CH₂CH₂COOH. Виділяються також CO₂ та H₂. Збудник цього бродіння — *Clostridium acetobutylicum* – рухливі анаеробні спороутворюючі палички, які зазвичай розміщуються попарно, активно зброджують крохмаль та інші вуглеводи, крім клітковини..

Загальна схема ацетобутилового бродіння має такий вигляд:



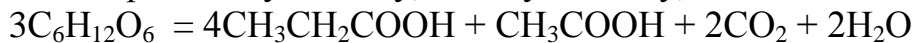
Ацетобутилові бактерії значно вимогливіші до умов середовища організми, чому маслянокислі. Вони потребують готових амінокислот і вітамінів. Характер кінцевого продукту цього бродіння обумовлюється як видовою приналежністю

мікроорганізму, так і зовнішніми умовами: складом живильного середовища, рН і температурою.

Ацетонобутилове бродіння використовують у промисловості для одержання ацетону і бутилового спирту. При цьому субстратом є крохмалиста сировина і меляса. Після відгонки ацетону і спирту з бражки відхід, що залишається (барду), використовують для отримання рибофлавіну (вітаміну В₂), який продукується ацетонобутиловими бактеріями. Ацетон застосовують для виробництва штучного шовку й шкіри, фотографічних плівок, штучного цементу й інших продуктів. Бутиловий спирт використовують у виробництві лаків. Гази, що утворюються при ацетонобутиловому бродінні, ідуть на синтез метилового спирту СН₃ОН.

8. Пропіоновокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення

Пропіоновокисле бродіння – це процес перетворення цукру або молочної кислоти на пропіонову кислоту, оцтову кислоту, СО₂ та Н₂О:



При пропіоновокислому бродінні, залежно від умов, пірвіноградна кислота може окислюватись до оцтової кислоти і СО₂, відновлюватись до молочної кислоти, карбоксилуватись до щавлевооцтової кислоти. Пропіонова кислота може утворюватись або відновленням пірвіноградної і молочної кислот, або декарбоксилуванням янтарної (бурштинової) кислоти.

Пропіоновокисле бродіння спричиняють бактерії родини *Propionibacteriaceae*, кудивідноситься рід *Propionibacterium*, за своїми властивостями вони близькі до молочнокислих бактерій і часто розвиваються разом з ними. Пропіоновокислі бактерії – це нерухливі, грампозитивні, неспорозні палички. Вони є факультативними анаеробами, вимогливі до складу поживного середовища (потребують джерела азоту, вітамінів). Крім цукру та молочної кислоти, вони зброджують пірвіноградну кислоту та гліцерин, здатні дезамінувати амінокислоти з утворенням жирних кислот.

Пропіоновокислі бактерії здатні зброджувати молочну кислоту, що утворилася в результаті бродіння під дією інших бактерій, перетворюючи її на пропіонову і оцтову кислоти, тому воно є одним з важливих процесів при визріванні сирів. При розвитку в сирній масі пропіоновокислих бактерій молочна кислота, що утворюється молочнокислими бактеріями, перетворюється на пропіонову кислоту, оцтову кислоту та СО₂, який є причиною виникнення в сирі "вічок" – порожнинок. Присутність у сирі пропіонової та оцтової кислот обумовлює його своєрідний смак та запах.



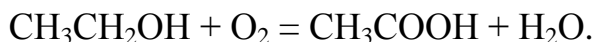
Пропіоновокислі бактерії у великих кількостях виявляють і в травному тракті жуйних тварин. У рубці є бактерії, які гідролізують целюлозу з утворенням глюкози. Остання потім перетворюється на молочну кислоту і інші речовини. Пропіоновокислі бактерії зброджують глюкозу і молочну кислоту в пропіонову і оцтову кислоти, які всмоктуються в кровоносну систему тварини.

Пропіонова кислота та її солі є інгібіторами плісеней і використовуються для запобігання пліснявінню продуктів. Деякі пропіоновокислі бактерії (*Propionibacterium acidipropionici*, *P. shermanii*) використовуються для одержання ціанкобаламіну (вітаміну В₁₂).

9. Окислення етилового спирту до оцтової кислоти.

Біохімічну природу цього процесу встановив Л.Пастер у 1862 р. Оцтовокислі бактерії — грамнегативні, неспороносні, строго аеробні, в основному рухливі палички. Вони трапляються в ґрунті, воді, на поверхні рослин — повсюдно. Це кислотостійкі бактерії, деякі види можуть розвиватися при рН=3,2. Відомо близько 20 видів оцтовокислих бактерій. Найважливішими з них є *Acetobacteraceti*, *Acetobacterpasteuriarium*, *Acetobacterorleanense*, *Acetobacterxylinum*.

Характерною особливістю цих бактерій є перетворення етилового спирту на оцтову кислоту:



Acetobacteraceti нагромаджує в середовищі до 6% оцтової кислоти, *Acetobacterorleanense* — до 9,5%, а *Acetobacterschutzenbachii* — до 11,5.

Оцтовокислі бактерії мають здатність окислювати не лише етиловий спирт, а й пропіловий — у пропіонову кислоту, бутиловий — у масляну кислоту, а деякі з них можуть окислювати глюкозу до глюконової кислоти. Особливої уваги заслуговує процес окислення цими бактеріями шестиатомного спирту сорбіту до сорбози, яка далі використовується для синтезу аскорбінової кислоти.

Оцтовокислі бактерії використовуються для промислового виробництва оцту. Є два способи виробництва оцту.

Повільний — перетворення вина на оцет. За цим способом, підкислене оцтом і розведене водою вино розливають у чани і залишають на повітрі. Через певний час на поверхні вина утворюється плівка з оцтовокислих бактерій, які окислюють спирт, і вино перетворюється на оцет.

Швидкий спосіб виробництва оцту. Сировиною для нього є оцтовоспиртовий розчин, який заливають у спеціальні чани-генератори; для живлення бактерій сюди ж додають фосфатні й амонійні солі. У середовище вносять чисті культури *Acetobacterschutzenbachii*, *A. aceti*. Всередині чанів укладають згорнуті рулони букових стружок. В міру протікання субстрату по стружках бактерії, що населяють стружки, окислюють спирт в оцтову кислоту, яка нагромаджується в нижній частині апарата. Заряджений генератор працює безперервно протягом багатьох місяців.

Разом із цим слід зазначити, що оцтовокислі бактерії можуть завдавати значної шкоди, якщо потрапляють у напівфабрикати і готову продукцію, тим самим призводячи до їх псування. Вони є небажаними у спиртовому, пивоварному, дріжджовому, хлібопекарському та інших виробництвах.

Для нотаток

ТЕМА №9. ПЕРЕТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ СПОЛУК АЗОТУ.

План

1. Кругообіг азоту в природі
2. Амоніфікація. Збудники, хімізм
3. Нітрифікація. Збудники, хімізм
4. Денітрифікація. Збудники, хімізм
5. Фіксація молекулярного азоту мікроорганізмами
6. Імобілізація азоту

Ключові терміни та поняття: Резерфорд Д., молекулярний азот, гниття, Виноградський С.М., I і II фаза нітрифікації, пряма, непряма, асимільаторна і дисимільаторна денітрифікація, вільноживучі і симбіотичні азотфіксатори.

1. Кругообіг азоту в природі

Азот — основний елемент, що визначає величину врожаю сільськогосподарських культур. Рослинам недоступний газоподібний азот, що у величезній кількості, що перебуває в повітрі. З великої різноманітності з'єднань азоту, що зустрічаються в ґрунті, вони можуть використовувати для харчування в основному тільки мінеральні форми цього елемента.

Молекула азоту є однією з найінертніших. Д.Резерфорд, який вперше (1772) виділив азот повітря, назвавши його нежиттєвим тому, що він не підтримує ні дихання, ні горіння. Проте тепер усім відомо, що азот є необхідною складовою частиною нуклеїнових кислот, амінокислот, білків, фосфоліпідів, численних ферментів і вітамінів, АТФ, НАД і НАДФ та інших важливих сполук усіх живих організмів.

Більшу частину азоту біосфери становить молекулярний азот N_2 на долю якого припадає до 80% усіх молекул повітря. Молекулярний азот атмосфери не може засвоюватися більшістю вищих рослин. Ці рослини можуть використовувати для свого живлення переважно мінеральні сполуки цього елемента, які знаходяться у ґрунті. Однак існує велика група ґрунтових вільноживучих і симбіотичних мікроорганізмів, які, завдяки наявності у них нітрогеназної системи мають здатність засвоювати молекулярний азот атмосфери.

У природі постійно відбувається кругообіг азоту, в якому беруть участь рослини, тварини і мікроорганізми. Це досить складний процес і його можна поділити на чотири етапи.

1. Органічні рештки рослинних і тваринних організмів, які потрапляють у ґрунт, розкладаються (мінералізуються) амоніфікуючими мікробами, актиноміцетами та плісневими грибами і перетворюються на амонійні сполуки — аміак та інші.
2. Амонійна форма азоту в ґрунті далі окислюється нітрифікуючими бактеріями і перетворюється на сполуки азотистої і азотної кислот (нітрити і нітрати).

Інтенсивність утворення нітратів у ґрунті залежить від його аерації. Чим краще відбувається обмін повітря, тим більше утворюється нітратів і навпаки.

3. За певних умов нітрати і нітрити під впливом денітрифікуючих бактерій можуть відновлюватися до молекулярного азоту (денітрифікація), в результаті чого зберігається відносна рівновага між вмістом молекулярного азоту в атмосфері і зв'язаним азотом ґрунту, рослин і тварин.

4. Фіксація атмосферного азоту ґрунтовими мікроорганізмами (*Azotobacter*, *Clostridium*, *Rhizobium*, ціанобактерії)

Отже, коли зіставити кількість амонійного, нітритного і нітратного азоту, який потрапляє в ґрунт у результаті фотохімічних процесів і електричних розрядів в атмосфері, з тією кількістю, що вноситься в ґрунт завдяки його фіксації мікроорганізмами, то стає зрозумілою виняткова важливість цього процесу на нашій планеті. Адже загальна продуктивність мікробної фіксації азоту становить від 270 до 330 млн т на рік.

2. Амоніфікація. Збудники, хімізм

Амоніфікація білків (гниття). Це найбільш динамічна ланка при перетворенні сполук азоту. При позаклітинних перетвореннях кінцевим продуктом є амінокислоти. В процесі беруть участь протеази мікроорганізмів і рослин. Далі амінокислоти або надходять до клітин мікроорганізмів, або адсорбуються на ґрунтових частках. При внутрішньоклітинних перетвореннях відбувається декарбосилування та дезамінування. Останній шлях призводить до вивільнення аміаку. В процесі амоніфікації, крім бактерій, беруть участь актиноміцети і гриби.

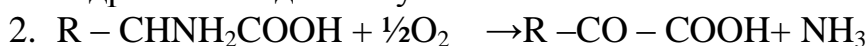
Це складний багатофазовий процес, кінцеві результати якого залежать від будови й складу білка, умов, у яких відбувається розклад, і від збудників, що спричинюють його. Гниття білків починається з їхнього гідролізу під впливом протеолітичних ферментів, які виділяються мікроорганізмами в оточуюче середовище.

Білок + H₂O → пептони → поліпептиди → амінокислоти

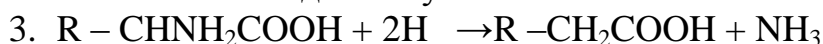
Амінокислоти, що утворилися, дифундують вглиб клітини бактерій і піддаються дезамінуванню та декарбосилуванню, під час якого утворюється аміак та радикал.



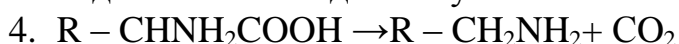
Гідролітичне дезамінування



Окислювальне дезамінування



Відновлювальне дезамінування



Декарбосилування

Амоніфікацію білків зумовлюють різні види аеробних і анаеробних мікроорганізмів. Особливо активними амоніфікаторами є представники роду **Bacillus** (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. mycoides*), **Pseudomonas** (*P. fluorescens*, *P. aeruginosa*), **Clostridium** (*C. sporogenes*, *C. putrificus*), *Proteusvulgaris* та інші.

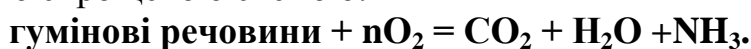
Разом з бактеріями активну участь в амоніфікації білкових речовин беруть ґрунтові гриби й актиноміцети — **Aspergillus**, **Penicillium**, **Mucor**, **Trichoderma**,

Cladosporium тощо. Оскільки амоніфікацію білків спричиняють різні групи мікроорганізмів, то вона може відбуватися в широкому інтервалі кислотності

Процесу амоніфікації піддаються не тільки білки, а й їхні похідні — пептони, пептиди, амінокислоти, а також нуклеїнові кислоти та їхні похідні — пуринові і піримідинові основи, сечовина, сечова кислота, складний азотовмісний цукор хітин і гумусові кислоти.

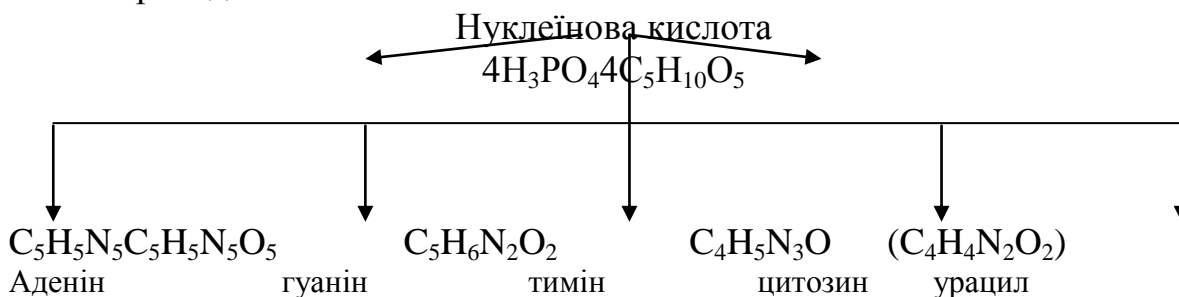
При амоніфікації білків в анаеробних умовах можуть утворюватися і токсичні речовини, наприклад, діаміни, до яких належать кадаверин і путресцин.

Амоніфікація гумусових сполук. Основна маса зв'язаного азоту в ґрунті міститься у формі перегнійних або гумусових речовин. Так, в орному шарі гектару чорнозему міститься 300 тонн гумусу. Його розклад— процес дуже повільний. Наприклад, у помірному кліматі протягом року розкладається приблизно 1—3% загального запасу ґрунтового гумусу. Амоніфікацію гумінових речовин мікробами можна зобразити такою спрощеною схемою:



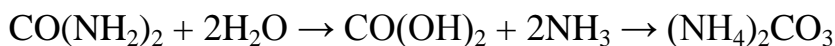
У цьому важливому процесі беруть участь аеробні і анаеробні мікроорганізми.

Розклад нуклеїнових кислот. Під впливом ферментів рибонуклеази і дезоксирибонуклеази, які синтезуються деякими видами грибів, актиноміцетів і бактерій, нуклеїнові кислоти розкладаються до мононуклеотидів. Останні під дією нуклеотидів розщеплюються на фосфорну кислоту, рибоза або дезоксирибоза, пуринові і піримідинові основи.



Амоніфікація сечовини. До поширених у природі азотовмісних сполук належать також сечовина, сечова і гіпурова кислоти, які містяться в сечі людини і тварин. Сечовина може синтезуватись також грибами. Наприклад, у шампінйонів до 13% сухої маси припадає на сечовину. Розклад сечовини у ґрунті зумовлює особлива група уробактерій. Найенергійнішими збудниками цього процесу є **Micrococcus ureae, Sporosarcina ureae, Bacillus pasteurii**.

Хіміз розкладу сечовини являє собою процес дезамінування під дією ферменту уреаз:



Вуглеаміачна сіль, що утворилася, далі розкладається на аміак та вуглекислоту:



3. Нітрифікація. Збудники, хімізм

Нітрифікація є другим етапом перетворення азоту у ґрунті. Це мікробіологічний процес окислення аміаку, що утворився під час амоніфікації, до азотистої кислоти або її солей (нітритів), а далі до азотної кислоти та її солей

(нітратів). Відбувається в аеробних умовах у ґрунті та природних водах. Часто може викликати появу в них нітратів у токсичній кількості, а оскільки нітрати — найбільш активно мігруюча в розчині сполука азоту — їх винесення з ґрунту в розташовані нижче по схилу водоймища, що спричиняє за собою евтрофікацію цих водоймищ.

У 1890-1892 рр. С.М.Виноградський, застосувавши розроблену ним методику елективних культур, виділив чисту культуру бактерій цього процесу. До дослідів С. М. Виноградського припускалось, що причиною нітрифікації є один вид мікроорганізмів, які окислюють амонійні сполуки до нітратів. Проте працями С. М. Виноградського було доведено, що цей процес є результатом послідовної дії двох груп мікроорганізмів і відбувається він у дві фази.

Перша фаза — окислення аміаку до азотистої кислоти (вірніше, її аніону), яку здійснюють нітробактерії *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio* за наступним механізмом:



Однак схематичний хід цього процесу описує такий цикл реакцій:



При цьому також виділяється енергія, що складає основу розвитку нітрифікуючих мікроорганізмів та засвоєння ними вуглецю з вуглекислого газу.

Друга фаза — окислення аніону азотистої кислоти до аніону азотної, що здійснюється нітратними бактеріями (народи *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*).



Поряд з окисленням аміаку до азотистої кислоти в культурах нітрифікуючих мікроорганізмів йде відновлення вуглекислоти, на що затрачається близько 7% виділеної енергії

Обидві групи бактерій є облігатними аеробами, оптимальна для їх розвитку температура 25—30 градусів за Цельсієм і рН 7,5—8,0. У кислому середовищі процес не йде. Усі ці бактерії — грамнегативні автотрофи (літотрофи), що використовують енергію окислення сполук азоту для синтезу органічних речовин з вуглекислого газу. Морфологічно ці групи різноманітні, у більшості своїй дрібні, рухомі, з полярним або перитрихальним джгутикуванням. Окислення аміаку проводять на цитоплазматичній мембрані. Звільнені в ході реакцій електрони переходять у дихальний ланцюжок на цитохроми.

Вважають, що великі поклади селітри в деяких країнах — результат процесів нітрифікації, які відбувалися на нашій планеті протягом мільйонів років.

У різних ґрунтах інтенсивність процесів нітрифікації є різною. Чим багатший ґрунт, тим більше може нагромаджуватися азотної кислоти. Проте не слід забувати, що солі азотної кислоти (нітрати), на відміну від амонійних (іон амонію поглинається ґрунтовим комплексом), можуть легко вимиватися з ґрунту, а це істотно впливає на зниження коефіцієнта використання нітратів рослинами.

Крім того, в самій рослині нітрати повинні відновитися, щоб рослина змогла використати їх у процесах біосинтезу, а для цього потрібна енергія; амоній може використовуватися рослинами й безпосередньо. Все це змушує дослідників

вирішувати питання про штучне зниження інтенсивності процесу нітрифікації завдяки використанню специфічних інгібіторів.

4. Денітрифікація. Збудники, хімізм

Денітрифікація – процес відновлення нітратів у ґрунті до молекулярного азоту в анаеробних умовах. Він спричиняється до істотних втрат із ґрунту доступних для рослин форм азоту.

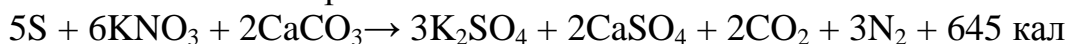
Пряма денітрифікація, здійснюється групою факультативно-анаеробних мікроорганізмів — денітрифікаторів. Вона буває двох типів — асиміляторна і дисиміляторна. При асиміляторній денітрифікації нітрати відновлюються до аміаку, який використовується як джерело азоту для побудови тіла мікробів. У дисиміляторній денітрифікації нітрати використовуються як окислювачі органічних речовин замість молекулярного кисню, що забезпечує мікроорганізми потрібною енергією. Здатність до дисиміляторної денітрифікації мають тільки специфічні аеробні бактерії.

Збудниками прямої асиміляторної денітрифікації є представники родів *Pseudomonas*, *Paracoccus* (*Pseudomonasaeruginosa*, *Pseudomonasfluorescens*, *Pseudomonasstutzeri*, *Paracoccusdenitrificans*). Денітрифікацію можуть зумовити і термофільні бактерії з роду *Bacillus*.

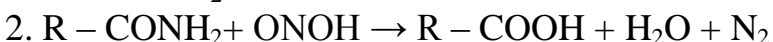
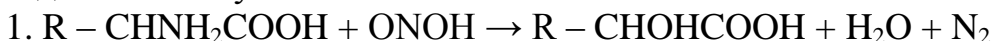
Хід процесу описує наступна схема:



Відновлювати нітрати можуть також деякі хемолітоавтотрофи, зокрема *Thiobacillusdenitrificans*, яка розмножується в анаеробних умовах і є сіркоокислюючою бактерією:



Непряма денітрифікація, при якій відбувається хімічних взаємодія нітратів з амонійними солями, амінами або амідами, що супроводжується виділенням газоподібного азоту.



Найбільше інтенсивно денітрифікація йде в ґрунтах з високою вологістю й поганою аерацією, що є однією з основних причин втрати із ґрунту мінерального азоту й зниження коефіцієнта використання рослинами азотних добрив.

Денітрифікатори широко поширені в ґрунтах і в ризосфері рослин, у т.ч. і винограду, тому для зниження денітрифікації в ґрунті необхідна гарна аерація, зменшення вологості в певні періоди (дренаж) і створення умов для кращого споживання нітратів ґрунту рослинами,

5. Фіксація молекулярного азоту мікроорганізмами

Запаси газоподібного азоту в атмосфері величезні: над кожним квадратним кілометром земної поверхні в повітрі міститься близько 8 млн т азоту. Проте цей азот ні для рослин, ні для тварин недоступний. Лише деякі мікроорганізми, які вільно живуть у ґрунті або перебувають у симбіозі з рослинами, можуть засвоювати азот безпосередньо з повітря і будувати з нього білкові сполуки свого тіла.

Однак існують азотфіксуючі мікроорганізми, здатні засвоювати молекулярний азот і будувати з нього азотовмісні органічні сполуки своєї клітини. Ці мікроорганізми вільно живуть у ґрунті або перебувають у симбіозі з рослинами. Азотфіксуючі мікроорганізми обумовлюють підвищення родючості ґрунту, і їх вивченню приділяється велика увага. Рациональне використання біологічної фіксації молекулярного азоту дає можливість суттєво підвищити врожай і ощадливіше витратити мінеральні азотні добрива.

Вперше збагачення субстратів азотом у результаті діяльності вільноживучих мікроорганізмів було показано французьким ученим Жоденом в 1882 р. Він встановив, що живильні розчини в замкнених судинах, що містять органічні безазотисті речовини, можуть збагачуватися азотом при розвитку в них мікроорганізмів.

В 1885 г. інший французький учений — М. Бертоло підтвердив цей факт відносно ґрунту. У стерилізованому ґрунті за літній період зміст азоту не змінювався, а в нестерильному — зростав. Це дозволяло припустити, що ґрунт збагачується азотом за допомогою мікроорганізмів.

Чисту культуру азотфіксуючого мікроорганізму вперше виділив С. М. Виноградський (1893). Це була анаеробна спороутворююча паличка, названа *Clostridium pasteurianum*. Трохи пізніше голландський мікробіолог М. Бейерінк (1901) відкрив *Azotobacter chroococcum* — аеробну бактерію, також здатну засвоювати молекулярний азот.

Відомо два основних природних шляхи зв'язування молекулярного азоту — фізико-хімічний і біологічний. Перший пов'язаний з впливом на молекулярний азот електричних розрядів, які бувають під час грози. Кількість зв'язаного таким чином азоту незначна і не відіграє великої ролі в живленні рослин.

Другий шлях фіксації молекулярного азоту пов'язаний з життєдіяльністю мікроорганізмів, що належать до двох груп: мікроби, які перебувають у симбіозі з рослинами, та азотфіксатори, що вільно живуть у ґрунті та воді.

Відомо, що вирощування бобових рослин підвищує родючість виснажених ґрунтів. Першу спробу з'ясувати причину цього зробив у 1838 р. французький агрохімік Ж.Бусенго. У своїх дослідах з конюшиною і горохом, добрий урожай яких було вирощено при невеликій кількості азоту в піщаному ґрунті, він припустив, що висока врожайність бобових рослин пов'язана з їхньою здатністю асимілювати атмосферний азот. При повторному досліді у 1858 р. Ж.Бусенго дістав протилежні наслідки, цього разу він прожарював пісок і поливав рослини тільки дистильованою водою, бажаючи видалити сліди азотних сполук. Проте Ж.Бусенго не здогадувався, що так він знищив мікроорганізми в піску.

Тільки через 30 років німецькі дослідники Г.Гельрігель і Г.Вільфарт розкрили причину невдачі цього видатного вченого. їм вдалося довести, що бобові рослини, посіяні в прожарений пісок (де вбито всіх мікробів), не утворюють бульбочок на коренях і не можуть фіксувати молекулярний азот атмосфери. Тоді вже було відомо, що в бульбочках на коренях бобових рослин міститься дуже багато бактерій.

Ще в 1858 р. І.Лахман, а дещо пізніше М.С.Воронін, незалежно один від одного, відкрили наявність мікробних клітин у бульбочках бобових рослин. У 1888

р. голландський мікробіолог М. Бейерінк вперше виділив у чистій культурі бактерії з бульбочок гороху, квасолі, вики та інших культур.

Симбіотична фіксація азоту. Бульбочки утворюються тільки у представників родини бобових (Fabaceae). У різних рослин бульбочки розрізняються тільки за формою і величиною. Утворюються вони після проникнення в кореневу систему бульбочкових бактерій.

Численні дослідження показали, що бульбочкові бактерії відрізняються між собою, а тому рід *Rhizobium* треба розглядати як групу споріднених мікроорганізмів. У молодому віці ці бактерії рухливі, мають паличкоподібну форму, завдовжки від 1,2 до 3 мкм, розміщення джгутиків в одних видів перетрихальне, в інших — субполярне. Бульбочкові бактерії є грамнегативними, неспороносними аеробними організмами.

Старіючи, бульбочкові бактерії втрачають джгутики, перестають бути рухливими і набувають вигляду оперезаних паличок, оскільки з віком бактеріальна клітина наповнюється жировими включеннями, які не забарвлюються. Зі старінням у бульбочках культури *Rhizobium* часто виникають потовщені, розгалужені, сферичні та іншої форми утворення, які значно більші за звичайні клітини. Ці поліморфні утворення дістали назву **бактероїдів**. Вони нерухомі і не здатні до розмноження. Проте найбільш енергійно відбувається засвоєння азоту в бульбочках саме тоді, коли бульбочкові бактерії перетворюються на бактероїди.

Встановлено, що бульбочкові бактерії можуть заражати лише певну групу бобових рослин. Вибіркова здатність цих бактерій відносно рослин дістала назву **специфічності**. Ця властивість стала головною ознакою для розробки систематики бульбочкових бактерій.

За Л.М.Доросинським, рід *Rhizobium* поділяють на такі групи: *R. leguminosarum* — бактерії гороху, вики, кормових бобів, чини; *R. phaseoli* — квасолі; *R. japonicum* — сої; *R. vigna* — вігни, арахісу, машу; *R. cicer* — нуту; *R. lupini* — люпину, серадели; *R. trifolii* — еспарцету; *R. lotus* — лядвенцю; *R. robinii* — акації.

В окремих випадках спостерігається не тільки видова, а й сортова специфічність бульбочкових бактерій. Крім специфічності, цим бактеріям властива **вірулентність** — здатність проникати в тканину кореня, розмножуватися там і спричиняти утворення бульбочок. За певних умов ці бактерії можуть знижувати або зовсім втрачати активність.

Істотною властивістю бульбочкових бактерій є також їхня активність, тобто здатність у симбіозі з рослинами асимілювати молекулярний азот. У ґрунті трапляються штами активних і неактивних бульбочкових бактерій. Зараження бобових рослин активною расою бактерій веде до утворення великої кількості бульбочок на головному корені та зумовлює енергійний процес фіксації атмосферного азоту. Неактивні раси цих бактерій спричиняють утворення бульбочок, але азот не фіксується.

Бульбочки, які утворюються активними расами бактерій, мають рожеве забарвлення. Пігмент, що надає їм такого забарвлення, за хімічним складом близький до гемоглобіну крові та називається **леггемоглобіном** (фітоглобін). Вважають, що цей пігмент сприяє процесу засвоєння азоту, підтримуючи

окислювально-відновний потенціал на певному рівні. Бульбочки, які утворюють неактивні раси бактерій, мають зеленкуватий колір.

Механізм проникнення бактерій у кореневий волосок досі ще недостатньо вивчено. Встановлено, що на поверхні клітинної оболонки бобових рослин є особливий вид білка, до якого вибірково «приклеюються» специфічні бульбочкові бактерії завдяки наявності в їхній оболонці специфічного ліпополісахариду. Припускають, що саме у відповідь на появу цього ліпополісахариду на оболонці кореневого волоска з'являється білок лектин, який зв'язує полісахариди оболонки ризобіїв. Це своєрідний механізм «впізнання» перед виникненням бобово-ризобіального симбіозу.

Після проникнення бактерій у клітину кореневого волоска вони починають посилено розмножуватись і утворюють суцільний тяж, так звану *інфекційну нитку* (слизовий тяж), в якій скупчується величезна кількість бульбочкових бактерій. Останні можуть розмножуватися тільки в тетраплоїдних клітинах рослин.

Як в інфікованих бактеріями, так і в сусідніх клітинах починається активний поділ, і утворюються бульбочки. В однорічних рослин бульбочки є тимчасовим утворенням. У багаторічних вони можуть функціонувати протягом кількох років. Контакт бактерії з рослиною встановлюється через судинні пучки, які обплітають тканину бульбочки. Провідними шляхами до бульбочок надходять вуглеводи та інші поживні речовини, де вони використовуються бактеріями, а рослина одержує із бульбочок зв'язані сполуки азоту. Доведено, що найінтенсивніша віддача зв'язаного азоту із тканин бульбочки відбувається тоді, коли бактерії перебувають у життєдіяльному стані.

Транспорт азотовмісних речовин із бульбочок у рослину здійснюється у формі амінокислот. Незначна кількість засвоєного рослиною азоту виділяється внаслідок екзоосмосу коренями в ґрунті переважно у вигляді аспарагінової кислоти.

Після відмирання і розкладу бульбочок бактерії потрапляють у ґрунт і живуть там як сапрофіти, поки знову не проникнуть у корені рослин. Питання про те, що лежить в основі взаємовідносин бактерій і бобових рослин (паразитизм чи співжиття), ще повністю не з'ясовано. Важливим є той факт, що бульбочкові бактерії, проникаючи в рослину, стимулюють розвиток у неї імунітету, який перешкоджає подальшому зараженню коренів.

Окремі бобові культури збагачують ґрунти різною кількістю азоту. При сприятливих умовах симбіозу кількість азоту, який фіксується горохом, за рік сягає 100—300 кг/га, кормовими бобами — 160-200, люпином білим — до 300, люцерною — до 500 кг/га і більше. Бобові рослини нагромаджують до 60% азоту внаслідок фіксації молекулярного азоту. Решту азоту вони використовують із ґрунту у вигляді мінеральних сполук. Отже, вклад бобових рослин у забезпечення ґрунтів доступними формами азоту досить відчутний.

Бульбочки можуть утворюватися не тільки на коренях рослин, а й на інших органах. їх знайдено на листках майже 400 різних видів рослин, наприклад деяких дводольних тропічних, зокрема у павети (*Pavetta indica* L.) із родини маренових (*Rubiaceae*). Найдокладніше досліджено такі бульбочки у рослин павети і психотрії.

Вільноживучі азотфіксатори. Крім бульбочкових бактерій, у ґрунті є багато інших видів мікроорганізмів, які можуть засвоювати молекулярний азот атмосфери. В 1893 р. С. М. Виноградський вперше виділив і вивчив вільноживучий азотфіксатор

— анаеробну спороносну бактерію веретеноподібної форми, яку було названо на честь Л. Пастера — *Clostridium pasteurianum*.

Описано багато азотфіксаторів з роду *Clostridium* (*C. buturicum*, *C. acetobutylicum*, *C. pectinovorum*, *C. felsineum*, *Cl. beijerinckii* та ін.). Ці бактерії можуть використовувати різні джерела азоту: солі амонію і азотної кислоти, а також багато різних органічних азотовмісних сполук. Із вуглецевих сполук вони використовують моноцукри, дицукри, поліцукри, органічні кислоти тощо.

Енергійним фіксатором азоту серед цієї групи бактерій є *Clostridium pasteurianum*. Він може зв'язувати до 10—12 мг азоту на 1 г зброженого цукру.

Іншим дуже поширеним вільноживучим азотфіксатором є аеробна, овальної форми, бактерія — *Azotobacter chroococcum*, відкрита у 1901 р. М. Бейерінком. Розмір клітин азотобактера коливається в межах 2-3 x 4-6 мкм. Він розмножується простим поділом з утворенням поперечної перегородки. Молоді клітини азотобактера рухливі, перетрихи з віком втрачають рухливість, набувають майже коковидної форми і покриваються товстим шаром слизу (капсулою). Іноді клітини азотобактера можуть бути вкритими товстою оболонкою і перетворюватися на цисти.

Серед представників азотобактера найгрунтовніше вивчено *A. chroococcum*, *A. vinelandii*, *A. agilis*, *A. beijerinckii*. Ці види різняться за формою і розмірами клітин, пігментацією колоній.

На відміну від клостридій азотобактер інтенсивніше зв'язує молекулярний азот. Активні культури азотобактера зв'язують 15—20 мг азоту на 1 г використаного цукру або іншої органічної речовини. Він не засвоює клітковини. Однак при наявності її в ґрунті розмножується більш інтенсивно, оскільки між целюлозорокладачами і азотобактером існує явище метабіозу. Азотобактер потребує нейтрального середовища. В кислих ґрунтах він не розвивається.

Близькі до азотобактера вільноживучі азотфіксатори з роду *Beijerinckia*. На відміну від азотобактера, вони можуть рости навіть при рН = 3. Ці бактерії мають різну форму, бувають рухливими і нерухливими; за енергією фіксації азоту вони близькі до азотобактера.

Серед вільноживучих азотфіксуючих бактерій слід згадати про види роду *Derxia* і *Azotomonas fluorescens*.

Пошуки вільноживучих азотфіксаторів дали змогу виявити їх і в інших родин — *Spirillaceae*, *Rhizobiaceae*, *Achromobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae* та ін. Здатність до фіксації молекулярного азоту мають анаеробні пурпурні та зелені фототрофні бактерії, що живуть у заболочених озерах і мулі, деякі мікобактерії, спірохети, проактиноміцети і навіть окремі види грибів, у тому числі дріжджі.

Використання методу мічених атомів дозволило підтвердити припущення, висловлене ще в 1889 р., про те, що одна з найбільших груп мікроорганізмів, які населяють ґрунти, — мікроскопічні водорості — можуть засвоювати атмосферний азот. Серед них близько 40 видів синьозелених водоростей. До найпоширеніших належать *Anabaena*, *Amorphonostoc*, *Aulosira*, *Calothrix*, *Nostoc*, *Scytonema* тощо.

Останніми роками вчені різних країн приділяють велику увагу вивченню процесу фіксації азоту мікроорганізмами, які містяться на корінні і в прикореневій зоні небобових рослин. Ці мікроби дістали назву *ризосферних*, а процес зв'язування ними молекулярного азоту називається *асоціативною азотфіксацією*.

Азотфіксуюча активність виявлена у представників багатьох родів ризосферних бактерій: *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aquaspirillum*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Erwina*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum* та ін.

Бактеріальні добрива. Поряд з іншими добривами в агровиробництві широко використовують бактеріальні препарати, виготовлені на культурах відповідних бактерій. Думка про використання бульбочкових бактерій для посилення фіксації N₂ виникла після того, як М.Бейерінку (1888) вдалося виділити чисту культуру цих бактерій з бобових рослин. Вперше препарат бульбочкових бактерій під назвою нітрагін було виготовлено в 1896 р. Грунтовий нітрагін — це розмножена культура бульбочкових бактерій на стерильному ґрунті.

Масове виготовлення цього бактеріального добрива в нашій країні почалося з 1929 р. Нині нітрагін випускають у двох формах — нітрагін сухий (ризорбін) та нітрагін торфовий (ризоторфін).

Багаторічна практика використання цього бактеріального добрива як в Україні, так і за кордоном свідчить про значну його ефективність. При цьому слід зазначити, що застосування нітрагину веде не тільки до збільшення врожаю бобових рослин (пересічно на 10—15%), а й до поліпшення їхньої якості, оскільки в оброблених рослинах виявлено помітне збільшення вмісту білка і вітамінів.

Вдаються й до інших видів бактеріального добрива. На пропозицію С.П.Костичева, ще в 30-х роках почали застосовувати препарати для удобрення ґрунту, які містили культуру *Azotobacterchroococcum*.

Виробництво азотобактерину ґрунтується на розмноженні чистої культури азотобактера і змішуванні її з будь-яким субстратом (ґрунтом, торфом, агаром тощо). Азотобактерин використовують для підвищення врожайності зернових, технічних, овочевих та інших культур. У ґрунт його вносять разом з посівним матеріалом. Дія азотобактерину ґрунтується на використанні властивостей азотобактера, який крім фіксації молекулярного азоту може виробляти фізіологічно активні речовини, які стимулюють ріст рослин і цим сприяють підвищенню їхньої продуктивності. Середній приріст врожаю від застосування азотобактерину становить близько 10%.

6. Імобілізація азоту

За певних умов наявні в ґрунті мінеральні форми азоту внаслідок бурхливого розвитку мікроорганізмів споживаються ними й переводяться в білок цитоплазми. Подібний процес, називаний імобілізацією азоту, спостерігається, наприклад, при внесенні в ґрунт значної маси соломи. У результаті імобілізації азоту використання його рослинами помітно знижується, що приводить до зменшення врожаю. Таким чином, імобілізація являє собою процес зворотний мінералізації.

Встановлено, що перетворення азотовмісних сполук по шляху мінералізації або імобілізації повністю визначається співвідношенням азоту й вуглецю в

ТЕМА №10. ПЕРЕТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ СПОЛУК ЗАЛІЗА, СІРКИ І ФОСФОРУ.

План

1. Роль мікроорганізмів в утворенні і перетворенні сполук сірки і заліза.
2. Перетворення мікроорганізмами сполук фосфору.
3. Перетворення сполук сірки мікроорганізмами.
4. Перетворення мікроорганізмами сполук заліза.

Ключові терміни та поняття: *фосфат мобілізація, дефосфорилування, Bac. megaterium, перетворення неорганічних фосфатів, сульфофікація, десульфофікація, Thiobacillus thioararus, Th. thiooxidans, Th. Denitrificans, закисні і окисні сполуки заліза.*

1. Роль мікроорганізмів в утворенні і перетворенні сполук сірки і заліза.

Завдяки дуже високій каталітичній активності мікроорганізми відіграють основну роль в геохімічних перетвореннях в природі. Через свої невеликі розміри бактерії та інші мікроорганізми мають порівняно з вищими рослинами і тваринами високе співвідношення поверхні і об'єму. Це приводить до швидкого обміну субстратів і продуктів виділення міжклітиною і зовнішнім середовищем.

Висока інтенсивність дихання аеробів і велика швидкість розмноження, дивовижна здатність розщеплювати найрізноманітніші сполуки зумовлюють важливість ролі, яку мікроорганізми відіграють у природі. Циклічні перетворення елементів, з яких побудовані живі організми, в сукупності становлять кругообіг речовин. На різних етапах циклів у них беруть участь різні організми, однак вклад мікроорганізмів особливо важливий як у кількісному, так і в якісному відношенні. Мікроорганізми «... виконують у біосфері величезну геохімічну роботу, як розкладаючи ці сполуки, так і створюючи, в результаті цього розкладу, нові синтези, їхня роль значна в історії вуглецю, сірки, азоту, заліза, марганцю і багатьох інших елементів нашої планети», — писав перший президент НАН України академік В. І. Вернадський. Ідеї В. І. Вернадського про те, що мікроорганізми є могутнім агентом у трансформації різних речовин, а також у концентрації окремих елементів із розсіяного стану, одержали повне визнання. Добре відомо, що в біологічний кругообіг утягнуті всі хімічні елементи, які входять до складу живих організмів. Важливо розглянути не тільки перетворення мікробами сполук вуглецю й азоту, але й фосфору, сірки і заліза.

2. Перетворення мікроорганізмами сполук фосфору

По значенню для рослин фосфор займає друге місце після азоту. Він є в ґрунті, рослинах та в мікроорганізмах у органічних та неорганічних сполуках.

З хімічної точки зору кругообіг фосфору є досить простим, оскільки цей елемент трапляється в живих організмах тільки в п'ятивалентному стані у вигляді вільних фосфатних іонів ($\text{PO}_3\text{-4}$) або у вигляді органічних фосфатних компонентів клітини. Фосфор входить до складу нуклеїнових кислот, нуклеотидів,

фосфопротеїнів, АТФ, лецитину, фітину, сполукгумусу тощо. Отже, фосфор перебуває в неорганічній і органічній формах у ґрунті, рослинах і мікробах.

У ґрунті фосфор може бути в різних формах:

- 1) він входить у структуру первинних мінералів і зустрічається у формі фосфатів кальцію (апатити, оксиапатити, фторапатити, фосфорити), фосфатів або оксифосфатів заліза (вівіаніт);
- 2) від 25 до 85% загального фосфору в різних ґрунтах перебуває в органічній формі. Органічний фосфор становить від 0,5 до 2% кількості органічної речовини ґрунту. Фосфор входить до складу фітину й інших інозитфосфатів, нуклеїнових кислот і нуклеотидів, лецитину й гумусових сполук.

У ґрунт сполуки фосфору надходять із рослинними й тваринними залишками, а також з мінеральними добривами.

Сільськогосподарські рослини містять у своїх тканинах від 0,05 до 0,5% фосфору. У рослин (як і у тварин) цей елемент перебуває у формі органічних сполук (фітин, фосфоліпіди, нуклеїнові кислоти і т.д.). Фосфор (неорганічний ортофосфат) може також бути присутнім у клітинних вакуолях у якості внутрішнього буфера.

На противагу азоту й сірці, які в тканинах перебувають у відновленій формі, фосфор входить в органічні сполуки в окисненій формі у вигляді фосфату.

Перетворення органічних сполук фосфору. Фосфор, який міститься в органічних речовинах ґрунту, не засвоюється вищими рослинами. Складні органічні сполуки фосфору перетворюються мікроорганізмами надоступні для засвоєння рослинами солі ортофосфорної кислоти, що сприяє розчиненню важкорозчинних мінеральних фосфорних сполук у ґрунті. Органічні сполуки фосфору розкладаються мікробами з різною швидкістю. Так, нуклеїнові кислоти дефосфорилуються легше, фітин — важче. Швидко мінералізується фосфор органічних сполук тілами мікроорганізмів.

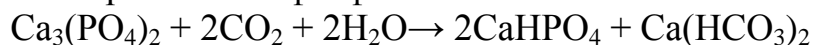
Органічні сполуки фосфору розкладають бактеріями родів *Pseudomonas*, *Bacillus* (*Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*), грибами з родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichothecium*, *Alternaria*, деякими актиноміцетами й іншими мікроорганізмами. Розкладання зазначених сполук також здійснюють дріжджі (*Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* і ін.).

При розкладанні органічних речовин мікроорганізмами останні фіксують у своїх клітинах певну кількість фосфору, що містять ці речовини. Тому внесення в ґрунт органічних сполук, занадто бідних фосфором, наприклад соломи, може викликати біологічне закріплення фосфатів і пов'язане з ним фосфорне голодування рослин.

Перетворення неорганічних фосфатів. Ряд неорганічних форм фосфору в ґрунті представлений нерозчинними фосфатами кальцію (наприклад, апатитами, оксиапатитами, фосфоритами), які містяться переважно в нейтральних і лужних ґрунтах (у кислих ґрунтах переважають солі заліза й алюмінію). Ці сполуки фосфору, що входять до складу мінералів, недоступні або слабо доступні для рослин. Однак багато мікроорганізмів можуть перетворювати нерозчинні з'єднання фосфорної кислоти в розчинний стан. До них відносяться представники бактерій, актиноміцетів, грибів і інших груп мікроорганізмів (роди *Pseudomonas*, *Bacillus*,

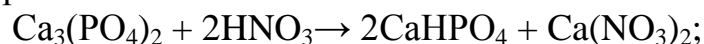
Micrococcus, Mycobacterium, Punicillium, Aspergillus і т.д.). Розчинення фосфатів у ґрунті відбувається в результаті утворення вуглекислого газу або різних кислот.

Вуглекислий газ, що утворюється під час руйнування органічної речовини, у присутності води перетворюється до вуглекислоти, яка більш-менш швидко розчиняє нерозчинний фосфат:

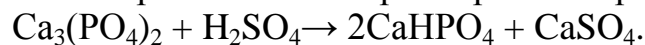


Мобілізація нерозчинних з'єднань фосфору відбувається також завдяки утворення мікроорганізмами органічних кислот і кетокислот при неповному окисненні вуглеводів або їх зброджуванні.

У деяких випадках нерозчинні форми фосфорних сполук можуть перетворюватися на розчинні за дії HNO_3 , яка утворюється нітрифікуючими бактеріями:



Аналогічний процес може відбуватися і під впливом сірчаної кислоти, яка утворюється при окисненні сірки сіркобактеріями:



Отже, біологічний цикл перетворення фосфору полягає у зворотному переході його із органічних сполук у неорганічні, з нерозчинного стану — в розчинний.

3. Перетворення сполук сірки мікроорганізмами

Сірка – необхідний елемент живлення для мікроорганізмів. У природі постійно відбуваються процеси перетворення сірки. В ґрунті сірка перебуває у формі сульфатів, а саме у вигляді $\text{CaSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_4 , K_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, сульфідів FeS_2 , Na_2S , ZnS і органічних сполук. У вигляді сульфгідрильних (-SH) і дисульфідних (-S-S-) груп сірка входить до амінокислот метіоніну, цистину і цистеїну; майже всі білки містять сірковмісні амінокислоти. Сірка є також у складі багатьох вітамінів, коферментів, глутатіону та інших сполук тіла рослин, тварин і мікроорганізмів.

В Україні середній вміст сірки в ґрунті становить 0,04 %, а в окремих районах вміст її зростає до 0,3 %; 80—90 % сірки в ґрунті перебуває в органічних сполуках і 10—20 % — у мінеральних. При нестачі сірки в ґрунті ріст і розвиток рослин пригнічується і продуктивність їх зменшується.

Значна частина сірки потрапляє в ґрунт у формі органічних сполук разом з відмерлим рештками. Тут органічні і неорганічні форми сірки зазнають різноманітних перетворень у процесі життєдіяльності мікроорганізмів. Напрямок цих перетворень регулюється в основному чинниками довкілля.

Разом із біологічним кругообігом сірки в атмосфері також відбуваються важливі небіологічні перетворення газоподібних форм цього елемента. Щорічно в атмосферу виділяється близько 90 млн. т сірки у вигляді H_2S , що утворюється біологічним шляхом. За цей же час при спалюванні різних викопних видів палива в атмосферу потрапляє ще 50 млн. т сірки у формі SO_2 і близько 1 млн. т SO_2 та H_2S утворюються при виверженні вулканів. В атмосфері H_2S швидко окислюється киснем (атомарним, молекулярним) і озоном до SO_2 . Останній може розчинитися у

воді і утворювати H_2SO_3 або повільно окислюватися до SO_3 який, розчиняючись і у воді, перетворюється на H_2SO_4 . Деяка частина сірчаної кислоти нейтралізується аміаком, щоміститься в атмосфері, а переважна більшість її разом з H_2SO_3 повертається на поверхню землі.

Відомі вчені В.І.Вернадський, Б.Л.Ісаченко, М.В.Іванов, які дотримувались і пліднорозвивали теорію біогенного походження сірки, вказували на надзвичайно важливу роль бактерій в утворенні й руйнуванні самородної сірки. Щодо з'ясування походження деяких родовищ сірки велике значення мали дані з розподілу стабільних ізотопів сірки і вуглецю в різних породах. Органічні сполуки сірки можуть бути розкладені мікробами до мінеральних. За певних умов відновлені неорганічні сполуки сірки окислюються мікроорганізмами, а окислені сполуки (сульфати, сульфіти та інші) можуть відновлюватися до H_2S .

Окислення неорганічних сполук сірки.

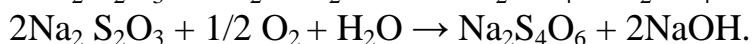
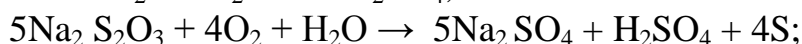
Активними окиснювачами відновлених з'єднань сірки є наступні групи мікроорганізмів:

1. тіонові бактерії, представлені чотирма родами: *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiodendron* і *Sulfolobus*.
2. одноклітинні й багатоклітинні (нитчасті) форми, що утворюють трихоми й належать до родів *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Thiospira*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioploca*.
3. фотосинтезуючі пурпурні й зелені сіркобактерії, а також деякі ціанобактерії;
4. хемоорганогетеротрофні організми з родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, актиноміцети й гриби (*Penicillium*, *Aspergillus*).

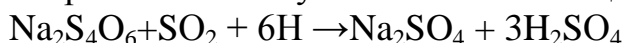
Бактерії з роду *Thiobacillus* поширені в ґрунтах. Нитчасті форми переважно живуть у заболочених водоймищах і затоплених ґрунтах, де є відновлені сполуки сірки, а фотосинтезуючі сіркобактерії найчастіше трапляються в ставках, озерах, морських лагунах тощо.

Представники роду *Thiobacillus* мають здатність окислювати тіосульфат, сірководень, сульфідиди і тетратіонати. М.Бейерінк виділив ці бактерії в особливу групу з родовою назвою *Thiobacillus*, а відомий російський мікробіолог В.Л.Омелянський запропонував називати цю групу бактерій тіоновими.

Тіонові бактерії. Рід *Thiobacillus* об'єднує багато видів (*Thiobacillus thioparus*, *Th.thiooxidans*, *Th. denitrificans*). Більшість видів роду — не спороносні, грам негативні, рухливі паличкоподібні бактерії, завдовжки від 1 до 3 мкм. Серед них є облігатні автотрофи, які використовують як джерело вуглецю CO_2 , факультативні автотрофи і один вид *Thiobacillus novellus*, що може водночас окислювати тіосульфат і органічні речовини. Окислювальні процеси, зумовлені представниками тіонових бактерій, можна записати у вигляді таких рівнянь:



Тетратіонати можуть окислюватися і далі до сірчаної кислоти:



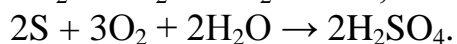
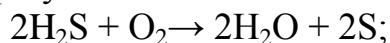
Тіонові бактерії — облигатні аероби, за винятком *Thiobacillus denitrificans*, яка вприсутності нітратів росте як анаероб. Сірка із середовища надходить у вакуолу клітинітонової бактерії завдяки дифузії і відкладається в ній про запас, а коли виникає потреба, вонаможе окислюватися.

Thiobacillus thioparus — невеликих розмірів неспороутворююча паличка з одним джгутиком. Розвивається влужних і нейтральних водах і може окислювати сірководень, елементарну сірку, тіосульфат,тетратіонат.

Thiobacillus thiooxidans— розвивається у кислих водах і в ґрунті. Вона може розвиватися прирН = 0,6 ... 4,5. При оптимальному рН середовища, яке становить 2,5, може нагромаджувати всередовищі до 5—7 % сірчаної кислоти.

Thiobacillus ferrooxidans — облигатний автотроф. Оптимальний розвиток цієї бактеріївідбувається при рН = 2 ... 4. Проте її можна виявити в рудах з нейтральною реакцією— там, деспостерігається мікрозональне окислення сульфідних мінералів. Характерною особливістю цихбактерій є здатність витримувати дію високих концентрацій (до 6 %) міді та деяких іншихметалів. Вони окислюють практично всі відомі сульфідні мінерали.

Ниткоподібні сіркобактерії об'єднують у роди: *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiospirillopsis*, *Thioploca* та інші. На відміну від тіонових, ці бактерії при окисленні H_2S до елементарної сірки (**сульфофікація**) можуть тимчасово відкладати її всередині клітин. Досліджуючи явище хемоавтотрофії,С.М.Виноградський показав, що ці бактерії, окислюючи сірководень, спочатку перетворюютього на елементарну сірку, яка нагромаджується в клітинах, а потім окислюється до сульфату затакою схемою:



Ниткоподібні сіркобактерії з роду *Beggiatoa*, що живуть у забруднених водоймищах абосірчаних джерелах, не прикріплені до субстрату, представники роду *Thiothrix* — прикріпленіодним кінцем до твердого субстрату. Виявлено здатність нитчастих сіркобактерій окислюватисірку і використовувати органічні речовини.

Сполуки сірки окислюються також пурпурними і зеленими сіркобактеріями. Вважають, щоці бактерії найдавніші фотосинтезуючі організми, які існують і нині. Описано понад 50 видівпурпурних і зелених бактерій. Чимало з них виділені у вигляді чистих культур.

Сірку можуть окислювати також багато видів гетеротрофних мікроорганізмів уприсутності органічних речовин, наприклад, деякі види бацил (*Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *B. asterosporus* та інші), актиноміцетів і дріжджових грибів. Перетворення сірки є побічнимпроцесом в головному метаболізмі цих мікробів.

Відновлення неорганічних сполук сіркиабо десульффікація. Мікробне відновлення сульфатів, яке щеназивається десульффікацією, найбільш інтенсивно відбувається в затоплюваних ґрунтах зпоганою аерацією, лиманах, деяких морях та інших водоймищах. Збудників процесу відносять до двох родів:*Desulfovibrio* та *Desulfotomaculum*.

Типовим представником роду *Desulfovibrio* є *D. desulfuricans*— грам негативний, облігатноанаеробний, дуже рухливий вібріон, виявлений у морській воді, мулі, прісній воді, ґрунтах.

Характерним представником сульфатредуючих бактерій з роду *Desulfotomaculum* є *D. nigrificans*. Це грам негативні, спороносні, облігатно анаеробні рухливі паличкоподібні бактерії, які можуть перетворювати сульфати на сульфіди при високих температурах. Десульфофікуючі бактерії є спеціалізованою групою мікроорганізмів. Вони використовують сульфат як акцептор водню в анаеробних умовах для окислення органічних сполук або водню. При окисненні органічних субстратів водень переноситься цими бактеріями на окислені сполуки сірки (сульфати, сульфіти, тіосульфати), які відновлюються до H_2S . Цей тип дихання, як уже зазначалось, дістав назву сульфатного. Процеси відновлення сірки сульфатредуючими ігнільними мікробами мають неабияке значення для життя в ґрунтах і водоймах, бо вони супроводжуються нагромадженням великої кількості сірководню. Якщо в ґрунті або водоймищі нагромадиться значна кількість H_2S , то життя рослин і тварин пригнічується або зовсім припиняється. Таке явище можна спостерігати в деяких озерах, лиманах і навіть у відкритому морі на певній глибині. Так, у Чорному морі на глибинах понад 200 м нагромаджується стільки сірководню, що розвиток живих організмів там є пригніченим./

Разом із цими бактеріями, що відновлюють сульфати, відіграють велику роль у геологічних процесах. Вони утворюють сірководень, який бере участь у формуванні сірчаних руд. Описано водоймища, де молекулярна сірка утворюється внаслідок окислення сірководню, який надходить в озера із сірчаних джерел.

Сульфатредуючі бактерії беруть участь не тільки у виникненні родовищ сірки, ай утворенні сульфідних руд. Існує думка, що утворення вторинних сульфідів за участю бактерій може відбутися як в осадових, так і в гідротермальних родовищах сульфідних руд. Причому ці процеси за сприятливих умов відбуваються і зараз. Значне поширення сульфатредуючих бактерій як у минулому, так і тепер вказує на їхню можливу роль в утворенні вторинних сульфідів у родовищах.

Сульфатредуючі мікроби також можуть приносити шкоду, руйнуючи нестійкі до сірководню матеріали. Їх діяльність – одна з причин корозії металевих обладнань в анаеробній зоні. Сірководень токсичний, при накопиченні його у ґрунті рослинність швидко гине. При накопиченні його у водоймах швидко гинуть тварини і рослини, що там живуть. В дечких озерах, лиманах і навіть у відкритому морі (чорне море на глибині 200 м) сірководень накопичується в таких кількостях, що життя там неможливе.

4. Перетворення сполук заліза.

Біологічна роль заліза зумовлена головним чином тим, що воно входить до складу гемоглобіну, міоглобіну, ферментів — катал ази, пероксидази, а також цитохромів, ферредоксину тощо. В ґрунті залізо міститься у вигляді органічних і неорганічних сполук.

Загальний вміст заліза в ґрунтах становить 0,5—5 %, а тому абсолютна нестача його в ґрунті неспостерігається. Важливу роль у трансформації сполук заліза

в ґрунтах, зокрема в переведенні нерозчинних сполук у розчинні і навпаки, відіграють мікроби. Мінералізацію органічних сполук, що містять залізо, можуть здійснювати різні гетеротрофні організми (бактерії, гриби, актиноміцети та ін.).

При цьому залізо найчастіше звільняється в аеробних умовах і осідає у вигляді гідроксиду заліза.

У біосфері поряд з окисненням і осіданням заліза відбуваються і прямо протилежні процеси відновлення і розчинення його сполук. Сукупність цих процесів становить кругообіг заліза в природі. Циклічний характер перетворення сполук заліза за участю мікроорганізмів. Роль мікроорганізмів, якщо брати цей кругообіг у планетарному масштабі, досить значна.

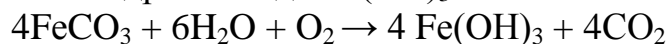
Окислення і відновлення сполук заліза. Чимало мікробів безпосередньо або посередньо беруть участь в окисненні заліза. Серед гетеротрофних представників є мікроорганізми, які окислюють комплексні органічні сполуки заліза. Гідроксид заліза, що утворюється при цьому, відкладається на поверхні клітин мікроорганізмів. Такі мікроби поширені в ґрунтах (наприклад, бактерії з родів *Rhizomicrobium*, *Seliberia* та інші), водоймищах (бактерії з родів *Blastocaulis*, *Siderocapsa*).

С.М.Виноградським було відкрито, а М.Г.Холодним ґрунтовно вивчено також різноманітні за морфологією мікроорганізми, які мають здатність окислювати неорганічні сполуки заліза в болотах, залізистих джерелах, в озерах, дренажних трубах тощо з утворенням охристих осадів. Ці бактерії дістали назву залізобактерій. До них належать нитчасті форми бактерій *Leptothrix*, *Grenothrix* і бактерії з родів *Gallionella*, *Metallogenium* та інші.

Ступінь автотрофності залізобактерій є різним: одні види є типовими автотрофами та існують переважно за рахунок енергії, що утворюється при окисненні оксиду (II) заліза або марганцю в оксид (III), інші здатні також окислювати органічні сполуки.

Рід *Leptothrix* об'єднує залізобактерії, що утворюють ланцюжки клітин. Їхня бічна поверхня виділяє гідрат окису заліза, який утворює циліндричний чохол, що покриває весь ланцюжок. У міру потовщення чохла обмежується доступ до клітин закисного заліза, кисню й CO_2 . Внаслідок цього бактеріальні клітини скидають старі чохла, повільно виходячи назовні, і потім утворюють новими чохла. Порожні чохла, накопичуючись, утворюють осадохри у водоймах.

Leptothrix окислює двовалентне залізо (FeCO_3) до тривалентного $\text{Fe}_2(\text{CO}_3)_3$ із наступним гідролізом до $\text{Fe}(\text{OH})_3$:



Рід *Gallionella*. Типовий представник цього роду *Gallionella ferruginea* має паличко або бобовинні клітини із джгутиками. Клітини розташовані на довгій плоскій, спірально-перекрученій стеблинці. Одна сторона клітини ввігнута, інша — опукла. Остання виділяє назовні відкладення колоїдного гідрату окису заліза, з якого поступово утворюється стеблинка.

Відомі й справжні хемолітоавтотрофні бактерії, що мають здатність отримувати енергію в результаті окислення закисного заліза й використовувати вуглець із вуглекислоти. До цих бактерій відноситься *Thiobacillus ferrooxidans*.

ТЕМА №11. МІКРООРГАНІЗМИ ЗОНИ КОРЕНЯ І ПОВЕРХНІ РОСЛИН.

План

1. Коренева і прикоренева мікрофлора, її значення в житті рослин.
2. Ризосфера, її види та значення у житті рослин.
3. Епіфітна мікрофлора, її вплив на рослини.
4. Епіфітні мікроорганізми при зберіганні зерна й насіння..

Ключові терміни та поняття: мікрофлора ризосфери, мікрофлора ризоплану, ендотрофна мікориза, ектотрофна мікориза, мікориза перехідного типу, перитрофна мікориза, мікрофлора філосфери, епіфітна мікрофлора.

1. Коренева і прикоренева мікрофлора, її значення в житті рослин

На поверхні коренів і надземних частин рослин виділяються органічні сполуки, синтезовані рослинним організмом. Це явище називається екзосмосом.

Залежно від багатьох причин інтенсивність екзосмоса може бути більшою або меншою.

При кореновому екзосмосі утворюються різні органічні кислоти — яблучна, бурштинова, винна, лимонна, щавлева й ін. Виявлені й цукри, представлені альдозами й кетозами, а також деякі амінокислоти (аланин, лізин і ін.). Склад продуктів екзосмосу окремих рослин тією чи іншою мірою відрізняється.

У виділеннях коріння є органічні сполуки великої фізіологічної активності — вітаміни, ростові речовини, іноді алкалоїди і т.д. Багато із зазначених з'єднань у деяких кількостях виділяються й надземними органами рослин. У зв'язку із цим на коріннях і надземних органах рослин розмножується багата сапрофітна мікрофлора:

Розглянемо склад мікрофлори зони кореня. Зазвичай виділяють «кореневі» мікроорганізми, що поселяються на самій поверхні кореня — **мікрофлора ризоплану**. Віділяють також групу мікробів, що живуть у шарі ґрунту, що прилягає до кореня—**мікрофлора ризосфери**. Кількість мікроорганізмів на поверхні кореня й у ризосфері в сотні раз більше, ніж в іншій масі ґрунту. У зоні молодого кореня в основному розмножуються неспорооутворюючі бактерії (*Pseudomonas*, *Mycobacterium* і т.д.). Тут же зустрічаються мікроскопічні гриби, дріжджі, водорості й інші мікроорганізми.

Склад **мікрофлори ризосфери** міняється з віком рослин. Наприклад, бацили, актиноміцети й целлюлозоруйнівні мікроорганізми, практично відсутні в ризосфері молодих рослин, з'являються на пізніших етапах розвитку рослин. Очевидно, ця група мікроорганізмів живе не за рахунок екзосмосу рослин, а бере активну участь у розкладанні відмерлого коріння.

Мікрофлора поверхні (ризопланна) кореня відрізняється по складу від мікробного ценозу ризосфери. Так, у ризоплані багатше представлений рід *Pseudomonas*, тут слабо розмножуються *Azotobacter*, целлюлозоруйнівні й деякі інші мікроорганізми, яких багато в ризосфері.

Є спроби довести, що зоні кореня кожного виду рослин властиві строго специфічні групи мікроорганізмів, що практично не розмножуються в ризосфері інших рослинних організмів. Наприклад, відомо, що **бульбочкові бактерії** активніше розмножуються в ризосфері бобових рослин. **Azotobacter** краще розвивається в зоні кореня одних рослин, ніж інших. У зоні кореня окремих рослин розмножуються деякі специфічні гриби і т.д.

Значення мікроорганізмів зони кореня в житті рослин. Насамперед не можна заперечувати їхню роль як руйнівників органічних і мінеральних з'єднань, що підготовляють мінеральну їжу для рослин. Певний вплив на рослини можуть виявити мікроорганізми зони кореня внаслідок їхньої здатності синтезувати вітаміни. Установлене, наприклад, що бактерії ризосфери виробляють тіамін і ряд інших вітамінів. Ними синтезуються також ростові речовини — гіберелін і гетероауксин. Мікрофлора зони кореня являє собою певний біологічний бар'єр, що впливає на взаємини вищих рослин і паразитів. Багато сапрофітних мікроорганізмів виробляють антибіотичні речовини, що пригнічують розвиток фітопаразитів. Також велика роль мікрофлори, що оточує корінь рослини, у втратах азоту шляхом денітрифікації.

2. Ризосфера, її види та значення у житті рослин

Деякі рослини вступають у тісні симбіотичні відносини з мікроорганізмами ґрунту. Проникаючи кореневу систему або навіть наземні тканини рослин, вони живляться там органічними сполуками, синтезованими рослиною-хазяїном. У свою чергу, рослини одержують від мікробів-симбіонтів ряд необхідних їм речовин. Характер останніх в окремих випадках може варіювати.

Значною віхою в розвитку вчення про відносини ґрунтових грибів і вищих рослин стала робота Ф. М. Каменського, що вивчав анатомічну будову коріння підялинника (*Monotropa hypopitys*). Він встановив, що коріння цієї рослини, особливо кінчики, покриті товстим шаром грибного міцелію. Каменський зробив висновок про можливість симбіотичних взаємин між грибом і кореневою системою підялинника.

Наступні роботи, особливо німецького дослідника Б. Франка, дозволили встановити наявність грибного міцелію на активній частині коріння листяних і хвойних деревних порід. Складний комплекс, утворений коріннями рослин і грибом, Франк назвав **мікоризою**, що в буквальному перекладі означає **грибний корінь**.

До теперішнього часу встановлене, що наявність і відсутність мікориз, а також особливості їх будови залежать переважно від систематичного положення рослини-хазяїна. У вищих спорових рослин не мають мікоризи спорофіти плаунів і хвощів.

Голонасінні всі мікотрофні. Серед покритонасінних не мають мікоризи осокові, ситникові, капустяні, макові, айстрові, більшість гречаних і лободові. Бобові рослини, що перебувають у симбіозі з бактеріями, мають мікоризу. Таким чином, мікориза широко поширена серед найрізноманітніших груп рослин, лише водні рослини не мають мікоризи.

Зовнішній вигляд і внутрішня структура мікориз можуть сильно варіювати. Розрізняють ектотрофну, ендотрофну й перехідну (ектоендотрофну) мікоризу. Між цими типами мікориз можуть існувати проміжні форми.

Ендотрофна мікориза – найпоширеніша. Характерна трав'янистій рослинності, багатьом деревам і кущам. При формуванні ендотрофної мікоризи міцелій гриба поширюється не лише між клітинами корової паренхіми, але й проникає до них. Клітини корової паренхіми залишаються життєздатними й переварюють міцелій, що впровадився в них. Особливо помітний цей процес у клітинах, розташованих більш глибоко. Це нагадує явище фагоцитозу. Під впливом вмісту клітини внутрішньоклітинний міцелій іноді утворює клубки (**пелотони**), а нерідко деревоподібні розгалуження (**арбускули**) або роздуті закінчення (**спорангіоли й везикули**).

У коренів з ендотрофною мікоризою частина міцеліальних закінчень виходить у ґрунт. Такі гіфи називаються емісійними. Вони не так густі й не утворюють грибного чохла, як при ектотрофній мікоризі. Тому кореневі волоски в рослин з ендотрофною мікоризою звичайно зберігаються.

Ектотрофна мікориза досить поширена. Вона властива головним чином хвойним рослинам, рідше зустрічається в інших систематичних груп рослин.

У цьому випадку корінь огортається досить щільним грибним чохлом, від якого в усі сторони поширюється густа мережа гіф. Ектотрофна мікориза може різнитися по кольору, вона буває білуватої, сіркою, рожевої, бурюю й інших тонів. Розрізняють мікоризу з повстяною поверхнею, волосисту або щетинисту й гладку. При ектотрофній мікоризі грибні гіфи проникають у корінь на невелику глибину, обмежуючись переважно міжклітинниками ектодерми.

Ектотрофна мікориза — однорічне утворення, щороку вона відновляється.

Мікориза перехідного типу (ектоендотрофна) поєднує в собі риси, характерні ектотрофній і ендотрофній мікоризам.

Перитрофна мікориза. У цьому випадку гриби не вступають із рослинами в тісний зв'язок. Вони поселяються в ризосфері, огортаючи корінь.

Від справжніх мікориз слід відрізнити псевдомікоризи, утворені паразитними грибами. Вони лише зовні нагадують мікоризи, але вражають усі тканини кореня й мають іншу фізіологічну основу. Крім шкоди, вони нічого рослині не приносять. Мікоризні гриби значно підсилюють і поліпшують розвиток кореневої і надземної частин рослини.

По відношенню до мікоризи вищі рослини можна розділити на наступні групи:

1. Облігатно-мікотрофні рослини, що не розвиваються без гриба (підялинник, орхідея).
2. Рослини, що поліпшують свій ріст і розвиток при наявності мікоризи. До цієї групи ставляться численні деревні й чагарникові породи (дуб, граб, хвойні і т.д.), у неї входять і трав'янисті рослини, у тому числі сільськогосподарські культури.
3. Рослини, що розвиваються без мікоризи, — водні й невелика група наземних.

Значення мікоризних грибів для рослин. Грибний міцелій, що оточує корінь, збільшує його робочу поверхню. Тому кореневою системою рослини краще

поглинаються із ґрунту живильні речовини. Радіоактивні з'єднання фосфору, наприклад, швидше асимілюються коріннями рослин при наявності в них мікоризи.

Рослини з мікоризою більш легко поглинають вологу при її дефіциті в ґрунті й тому легше переносять посуху. Багато органічних з'єднань можуть мінералізуватися мікоризними утвореннями, у результаті чого поліпшується живлення рослини. Деякі гриби-симбіонти руйнують гумус. Також вони можуть продукувати біологічно активні речовини й завдяки цьому можуть сприяти росту рослин.

Переважна більшість мікоризних грибів не можуть фіксувати молекулярний азот і як накопичувачі азоту ніякого значення не мають. Виключенням, є гриб *Rhizoglyphus* — симбіонт вересу й деякі симбіонти сосни.

3. Епіфітна мікрофлора, її вплив на рослини

Частина мікроорганізмів, що розвиваються в зоні кореня рослин, під час їх вегетації переходить на надземні органи й продовжує тут розмножуватися. Деяка кількість мікробів потрапляє на поверхню рослин з пилом і комахами.

Мікроорганізми, що розвиваються на поверхні рослин, одержали назву *епіфітів*, або *мікробів філосфери*. Ці мікроорганізми не паразитують на рослині, а ростуть за рахунок нормальних виділень її тканин і наявних на її поверхні невеликих кількостей органічних забруднень (пил і т.д.).

Задовольняти бідними запасами живильних матеріалів на поверхні рослин можуть далеко не всі мікроорганізми. Тому склад епіфітної мікрофлори рослин дуже специфічний.

До 80% загальної кількості епіфітів становлять клітини *Erwinia herbicola* (*Pseudomonas herbicola*). За даними М. М. Умарова, у філосфера фіксується близько 15% молекулярного азоту від загальної кількості азоту, що зв'язується небобовою рослиною за допомогою вільноживучих мікроорганізмів. Бацил і актиноміцетів серед епіфітних мікроорганізмів мало, частіше зустрічаються гриби (*Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor* і т.д.).

Мікроорганізми перебувають не тільки на стеблі, листі та інших надземних органах рослин, але й на насінні. Виключення становить лише насіння, щільно закриті плодовими або насінними оболонками, наприклад плоди бобових культур. Вони до моменту розкриття оболонок насіння практично позбавлені мікрофлори.

Під час збирання й обмолоту зерно сильно забруднюється мікроорганізмами. Велике значення при цьому мають пил і ґрунт. Потрапляючи на зерно, вони сильно забруднюють зернову масу мікробами.

Вплив епіфітних мікроорганізмів на рослинний організм може бути дуже різноманітним залежно від навколишніх умов. У перші етапи проростання зерна епіфітні мікроорганізми починають розмножуватися й переходять на коріння й проросток. При зниженій температурі інтенсивніше розвиваються більш холодостійкі мікроскопічні гриби, серед яких є факультативні й облігатні паразити, у результаті чого різко знижується польова схожість зерна. Попереднє протруєння насіння значно знижує шкоду від епіфітних грибів.

Епіфітні мікроорганізми, розмножуючись на поверхні рослин, створюють біологічний бар'єр, що перешкоджає проникненню паразитів у рослинні тканини.

Підсилюючи розмноження епіфітної мікрофлори обприскуванням рослин поживними розчинами, вдавалося збільшити антагоністичну дію епіфітів до фітопатогенних мікроорганізмів. Тому з деякими хворобами рослин можна боротися, впливаючи на них епіфітну мікрофлору.

4. Епіфітні мікроорганізми при зберіганні зерна й насіння

При дозріванні зерна вологість сильно знижується й досягає рівня, коли розмноження мікроорганізмів стає неможливим. У спілім зерні вся волога перебуває у зв'язаному стані й недоступна мікроорганізмам.

Окремі групи мікрофлори починають розвиватися на зерні при різних рівнях вологості. Так, при температурі близько 15—20°C деякі гриби можуть розмножуватися на зерні пшениці й кукурудзи з вологістю 14,5—15%, а бактерії — при зволоженні зерна пшениці до 17,5—18%. Для зерна різних культур є своя критична вологість, при якій на ньому можливе розмноження мікроорганізмів. На насінні бобів при зазначеній вище температурі гриби розвиваються при вологості 16%, соняшника— 7—9%. Мікроорганізми починають розвиватися на зерні, лише коли в ньому з'являється вільна вода, тобто ступінь зволоження перевищує рівень зв'язаної води.

Розвиток мікроорганізмів на зерні й насінні залежить також від температури. Ця залежність відзначається тільки для трохи зволоженого матеріалу, тому що на сухім зерні незалежно від температури мікроорганізми не розвиваються. При температурі 10°C навіть досить вологе зерно (18—19% вологи) може добре зберігатися, а при 15—20°C воно починає швидко пліснявіти й псуватися бактеріями. Для успішного зберігання зерна при більш високій температурі його вологість необхідно знизити.

Активний розвиток мікроорганізмів у зерновій масі різних культур при одній і тій же ступені зволоження починається в різний термін. Пшениця, жито, ячмінь, горох, боби й гречка більш стійкі. У просі, кукурудзі й соняшнику мікроорганізми розвиваються швидше й інтенсивніше.

При підмоканні зерна властива йому епіфітна мікрофлора швидко зникає. Починають розвиватися різні цвілі, переважно представники родів *Penicillium* і *Aspergillus*. Останній рід переважає при підвищеній температурі (вище 25°C). З бактерій на зерні спочатку рясно розмножуються мікрококи, що повністю витісняють *Erwinia herbicola*, пізніше з'являються різноманітні неспоронні палички, а при підвищеної температурі — бацили (*Bacillus mesentericus*, *Bac. subtilis* і ін.).

Для нотаток

ТЕМА №12. БАКТЕРІАЛЬНІ ДОБРИВА.

План

1. Значення бактеріальних добрив.
2. Препарати бульбочкових бактерій.
 - а) нітрагін
 - б) ризоторфін
3. Бактеріальне добриво азотобактерин.
4. Бактеріальне добриво фосфоробактерин.

Ключові терміни та поняття: мікрофлора ґрунту, *Rhizobium*, нітрогеназна активність, вірулентність, видова і сортова специфічність, сухий нітрагін, ґрунтовий і торф'яний азотобактерин, фосфоробактерин, *Bacillus megaterium var. phosphaticum*.

1. Значення бактеріальних добрив.

Мікрофлора ґрунту безпосередньо впливає на її родючість і, як наслідок, на врожайність рослин. Ґрунтові мікроорганізми в процесі росту й розвитку поліпшують структуру ґрунту, накопичують у ній живильні речовини, мінералізують різні органічні сполуки, перетворюючи їх у легко засвоювані рослиною компоненти харчування. Для стимуляції цих процесів застосовують різні бактеріальні добрива, що збагачують ризосферу рослин корисними мікроорганізмами. Мікроорганізми, що використовуються для виробництва бактеріальних препаратів, сприяють постачанню рослин не тільки елементами мінерального харчування, але й фізіологічно активними речовинами (фітогормонами, вітамінами й ін.).

У цей час випускають такі бактеріальні добрива, як нітрагін, ризоторфін, азотобактерин, фосфоробактерин, екстрасол.

2. Препарати бульбочкових бактерій.

Вітчизняна промисловість випускає два види препаратів бульбочкових бактерій: **нітрагін і ризоторфін**. Обидва препаративиробляються на основі активних життєздатних бульбочкових бактерій з роду *Rhizobium*. Ці бактерії в симбіозі з бобовими культурами здатні фіксувати вільний азот атмосфери, перетворюючи його в з'єднання, що легко засвоюються рослиною.

Бактерії роду *Rhizobium* - строгі аероби. Серед них розрізняють активні, малоактивні й неактивні культури. Критерієм активності бульбочкових бактерій служить їхня здатність у симбіозі з бобовою рослиною фіксувати атмосферний азот і використовувати його у вигляді з'єднань для кореневого харчування рослин.

Фіксація атмосферного азоту можлива тільки в бульбочках рослин, що утворюються на коріннях. Виникають вони при інфікуванні кореневої системи бактеріями з роду *Rhizobium*. Зараження кореневої системи відбувається через молоді кореневі волоски. Після впровадження бактерії проростають усередині них

до самої підстави у вигляді інфекційної нитки. Вирослі нитки проникають крізь стінки епідермісу в кору кореня, розгалужуються й розподіляються по кліткам кори. При цьому індукується розподіл кліток хазяїна й розростання тканин. У місці локалізації бактерій на корені рослини хазяїна утворюються бульбочки, у яких бактерії швидко розмножуються й розташовуються окремо або групами в цитоплазмі рослинних кліток. Самі бактеріальні клітки збільшуються в кілька раз і міняють забарвлення. Якщо бульбочки мають червонувате або рожеве забарвлення, обумовлене наявністю пігменту леоглобін (леггемоглобін) - аналог гемоглобіну крові тварин, то вони здатні фіксувати молекулярний азот. Незабарвлені ("порожні") або, що мають зеленувате фарбування бульбочки не фіксують азот.

Бактерії, що перебувають у бульбочках, синтезують ферментну систему з **нітрогеназною активністю**, що відновлює молекулярний азот до аміаку. Асиміляція аміаку відбувається, в основному, шляхом залучення його в ряд ферментативних перетворень, що приводять до утвору глютаміна й глютамінової кислоти, що використовуються надалі на біосинтез білка.

Крім критерію **активності** в характеристиці бульбочкових бактерій використовують критерій **вірулентності**. Він характеризує здатність мікроорганізму вступати в симбіоз із бобовою рослиною, тобто проникати через кореневі волоски усередину кореня й викликати утворення бульбочок. Велике значення має швидкість такого проникнення. У симбіотичному комплексі рослина - *Rhizobium* бактерії забезпечуються живильними речовинами, а самі забезпечують рослини азотним живленням. З вірулентністю зв'язана й **видова вибірковість**, яка характеризує здатність даного виду бактерій до симбіозу з певним видом бобової рослини. Класифікація різних видів *Rhizobium* ураховує рослину хазяїна, наприклад: *Rhizobium phaseoli* - для квасолі, *Rhizobium lupini* - для люпину. Вірулентність і видоспецифічність взаємозалежні й не є постійними властивостями штаму.

Завданням виробництва бактеріальних добрив є максимальне нагромадження життєздатних клітин, збереження їх життєздатності на всіх стадіях технологічного процесу, готування на їхній основі готових форм препарату зі збереженням активності протягом гарантійного строку зберігання.

Вітчизняна промисловість випускає два види нітрагіну: ґрунтовий і сухий. Уперше культура бульбочкових бактерій на ґрунтовому субстраті була виготовлена в 1911 році на бактеріальній агрономічній станції в Москві. У цей час його виробництво має обмежене значення, тому що технологія досить складна й трудомістка при виконанні окремих операцій. Більш перспективна технологія виробництва сухого нітрагіну.

Сухий нітрагін - порошок ясно-сірого кольору, що містить в 1 г не менш 9 млрд. життєздатних бактерій у суміші з наповнювачем. Вологість не перевищує 5-7%. Промислове виробництво має типову схему. Необхідно відзначити, що важливо підбирати штами, стійкі до висушування. Для виробництва посівного матеріалу вихідну культуру бульбочкових бактерій вирощують на агаризованому середовищі, що містить відвар бобового насіння, 2% агару й 1% сахарози, потім культуру розмножують у колбах на рідкому живильному середовищі протягом 1-2 доби при 28-30°C і рН 6.5-7.5. На всіх етапах промислового культивування застосовують

живильне середовище, що включає такі компоненти, як меляса, кукурудзяний екстракт, мінеральні солі у вигляді сульфатів амонію й магнію, крейда, хлорид натрію й двозаміщений фосфат калію. Основна ферментація йде за тих самих умов протягом 2-3 доби. Готову культуральну рідину сепарують, виходить біомаса у вигляді пасти з вологістю 70-80%. Пасту змішують із захисним середовищем, що містить тіосечовину й мелясу (1:20) і направляють на висушування. Сушать шляхом сублімації (у вакуум-сушильних шафах). Висушену біомасу розмелюють. Продуктивніше висушування розпилювання, але при цьому 75% клітин втрачають життєздатність. Препарати сухого нітрагіну фасують і герметизують у поліетиленові пакети по 0.2 - 1 кг, зберігають при температурі 15 °С не більш 6 місяців. Насіння обробляють перед посівом. Внесення нітрагіну підвищує врожайність у середньому на 15-25%.

Ризоторфін. Препарат бульбочкових бактерій може випускатися й у вигляді **ризоторфину**. Уперше торф'яний препарат бульбочкових бактерій був приготовлений в 30-их роках, але технологія була створена в 1973-77 рр. Для готування ризоторфину торф сушать при температурі не вище 100°C і розмелюють у порошок. Найбільш ефективним способом стерилізації є опромінення його гамма-променями. Перед стерилізацією розмелений, нейтралізований крейдою й зволожений до 30-40% торф розфасовують у поліетиленові пакети. Потім його опромінюють і заражають бульбочковими бактеріями, використовуючи шприц, за допомогою якого впорскується живильне середовище збульбочковими бактеріями. Прокол після внесення бактерій заклеюється липкою стрічкою. Кожний грам ризоторфину повинен містити не менш 2.5 млрд. життєздатних клітин з високою конкурентоспроможністю й інтенсивною азотфіксацією. Препарат зберігають при температурі 5-6°C і вологості повітря 40-55%. Пакети можуть бути вагою від 0.2 до 1.0 кг. Доза препарату становить 200 г на га. Зараження насіння роблять наступним чином: ризоторфін розбавляють водою й проціджують через подвійний шар марлі. Отриманою суспензією обробляють насіння. Насіння висівають у день обробки або на наступний.

Обробка насіння бобових культур міцно ввійшло у світову сільськогосподарську практику. Найбільшими виробниками таких препаратів є США й Австралія.

3. Бактеріальне добриво азотобактерин.

Азотобактерин - бактеріальне добриво, що містить вільноживучий ґрунтовий мікроорганізм *Azotobacter chroococcum*, здатний фіксувати до 20 мг атмосферного азоту на 1 г використаного цукру. Внесені в якості добрива в ґрунт бактерії також виділяють біологічно активні речовини (нікотинову й пантотенову кислоти, піридоксин, біотин, гетероауксин, гіберелін і ін.). Ці речовини стимулюють ріст рослин. Крім того, фунгіцидні речовини із групи анисомицина, що продукує *Azotobacter*, пригнічують розвиток деяких небажаних мікроскопічних грибів у ризосфері рослини.

Усі види *Azotobacter* строги аероби. Чутливі до вмісту в середовищі фосфору й розвиваються лише при високому його вмісті в

живильному середовищі. Азотфіксуюча здатність культури пригнічується аміаком (взагалі зміст у середовищі зв'язаного азоту пригнічує азотфіксацію). Стимулюють процес фіксації азоту з'єднанням молібдену.

Встановлено, що при фіксації азоту процес його відновлення протікає на тому самому синтезованому азотобактером ферментному комплексі й лише кінцевий продукт (аміак) відділяється від ферменту. Нітрогеназна азотфіксуюча система являє собою мультиферментний комплекс, що містить не пов'язане з геном залізо та молібден.

Мікробіологічна промисловість випускає кілька видів азотобактерину: **сухий, ґрунтовий і торф'яний**.

Технологія одержання **сухого азотобактерину** має багато загального з технологією виробництва сухого нітрагіну. Сухий азотобактерин - активна культура висушених кліток азотобактера з наповнювачем. В 1 г препарату міститься не менш 0.5 млрд. життєздатних кліток. Культуру мікроорганізму вирощують методом глибинного культивування на середовищі компонента, що містить ті ж, що й при культивуванні клітин *Rhizobium*. Додатково вводять тільки сульфати заліза й марганцю, а також складну сіль молібденової кислоти, рН 5.7-6.5.

Процес ферментації проводять до стаціонарної фази розвитку культури, тому що в цій фазі біологічно активні речовини виділяються із клітки й залишаються в культуральній рідині. Біологічно активні речовини можуть також повністю або частково втрачатися при висушуванні, однак життєздатні клітини швидко відновлюють здатність їх продукувати. Висушену культуру стандартизують, фасують у поліетиленові пакети по 0.4-2 кг і зберігають при температурі 15°C не більш 3 місяців.

Ґрунтовий і торф'яний азотобактерин являють собою активну культуру азотобактера, розмножену на твердому живильному середовищі й містять в 1 г не менш 50 млн. життєздатних клітин. Для їхнього виготовлення беруть родючий ґрунт або торф із нейтральною реакцією середовища. До просіяного субстрату додають 2% вапна й 0.1% суперфосфату. По 500 г отриманій суміші переносять у сулії ємністю по 0.5 л, зволожують до 40-60% за об'ємом водою, закривають ватяними пробками й стерилізують. Посівний матеріал готують на агарових середовищах, що містять 2% сахарози й мінеральні солі. Коли агар повністю покривається слизуватою масою коричневого кольору, отриманий матеріал стерильно змивається дистильованою водою й переноситься на приготовлений субстрат. Вміст пляшок ретельно перемішують і термостатують при 25-27°C. Культивування продовжують доти, поки бактерії не розмножаться до необхідної кількості. Отриманий препарат зберігає свою активність протягом 2-3 місяців.

Використовувати азотобактерин рекомендується тільки на ґрунтах, що містять фосфор і мікроелементи. Азотобактерин застосовують для бактеризації насіння, розсади, компостів. При цьому врожайність збільшується на 10-15%. Насіння зернових обробляють сухим азотобактерином з розрахунку 100 млрд. клітин на 1 гектарну норму насіння. Картоплю й кореневу систему розсади рівномірно змочують водною суспензією бактерій. Для одержання суспензії 1 гектарну норму (300 млрд. клітин) розводять в 15 літрах води. При обробці ґрунтовим або торф'яним

азотобактерином насіння перемішують зі зволженим препаратом і для рівномірного висіву підсушують. Кореневу систему розсади змочують приготовленою суспензією.

4. Бактеріальне добриво фосфобактерин.

Фосфобактерин - бактеріальне добриво, що містить спори мікроорганізму *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*. Являє собою порошок ясно-сірого або жовтуватого кольори.

Бактерії мають здатність перетворювати складні фосфорорганічнісполуки (нуклеїнові кислоти, нуклеопротеїди і т.д.) і важкозасвоювані мінеральні фосфати в доступну для рослин форму. Крім цього бактерії виробляють біологічно активні речовини (тіамін, піридоксин, біотин, пантотенову й нікотинову кислоти та ін.), що стимулюють ріст рослини. Фосфобактерин належить до препаратів зі стимулюючим ефектом.

Bacillus megaterium* var. *phosphaticum являють собою дрібні, грампозитивні аеробні спороутворюючі палички розміром 2-6 мкм. Клітини містять значну кількість з'єднань фосфору. У ранній стадії розвитку це рухливі поодинокі палички, при старінні утворюють ендоспори, що локалізуються в одному з кінців клітки. У силу вищевикладеного технологія вирощування зводиться до одержання спор.

У цілому виробництво фосфобактерину схоже на виробництво азотобактерину й препаратів бульбочкових бактерій. Склад живильного середовища у відсотках: кукурудзяний екстракт - 1.8, меляса - 1.5, сульфат амонію - 0.1, крейда - 1, решта - вода. Культивування ведеться глибинним методом у строго асептичних умовах при постійнім перемішуванні й примусової аерації до стадії утворення спор. Основні параметри проведення процесу: температура 28-30°C, рН 6.5-7.5, тривалість культивування 1.5-2 доби.

Отриману в ході культивування біомасу клітин відокремлюють центрифугуванням і висушують у розпилювальній сушарці при температурі 35-40°C до залишкової вологості 2-3%. Висушені спори змішують із наповнювачем. В якості наповнювача – каолін. Розфасовують препарат у поліетиленові пакети по 50-500 г. В кожному грамі сухого доброякісного фосфобактерину повинно міститися не менше 200 млн. життєздатних клітин бактеріального препарату. На відміну від нітрагіну й азотобактерину фосфобактерин має більшу стійкість при зберіганні.

Фосфобактерин рекомендують застосовувати на чорноземних ґрунтах, які містять значну кількість фосфорорганічних сполук. Необхідний для підвищення врожайності зернових, картоплі, цукрового буряка й ін. сільськогосподарських рослин. Насіння обробляють сумішшю сухого фосфобактерину з наповнювачем (золою, ґрунтом і ін.) у співвідношенні 1:40. На 1 гектарну порцію потрібно 5 г препарату й 200 г наповнювача. Бульби картоплі рівномірно зволожують суспензією спор, приготовленої з розрахунку 15 г препарату на 15 л води. Урожай при цьому підвищується на 10%. Фосфобактерин рекомендовано для чорноземів на фоні внесення органічних добрив. Виявлено, що ефективність фосфобактерину на ґрунтах, удобрених суперфосфатом, не знижується, а підвищується.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Базова

1. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія / Т.П. Пиріг. – Київ, НУХТ, 2004. – 471 с.
2. Люта В.А. Основи мікробіології, вірусології та імунології / В.А. Люта. – Київ: «Здоров'я», 2001. – 280 с.
3. Гудзь С.П. Мікробіологія. Підручник [для студентів вищих навчальних закладів] / С.П. Гудзь, С.О. Гнатуш, І.С. Білінська. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2009. – 360 с.
4. Векірчик К.М. Мікробіологія з основами вірусології / К.М. Векірчик. – К.: Либідь, 2001. – 312 с.
5. Іутинська Г.О. Ґрунтова мікробіологія: Навчальний посібник. - К.: Арістей, 2006. – 284 с.
6. Емцев В.Т., Шильникова В.К. Микробиология. – М.: Агропромиздат, 1990. – 191 с.
7. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. – М.: Агропромиздат, 1987. – 386 с.

Допоміжна

8. Асонов Н.Р. Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2002. – 352 с.
9. Емцев В.Т. Микробы, почва, урожай / В.Т. Емцев – М.: Колос, 1980. – 289 с.
10. Мишустин Е.Н. Ассоциация почвенных микроорганизмов / Е.Н. Мишустин. – М.: Наука, 1975. – 255 с.
11. Шлегель Г. Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987. – 566 с.
12. Ежов Г.И. Руководство к практическим занятиям по сельскохозяйственной микробиологии. – М.: Высш. шк., 1981. – 150 с.

15. Інформаційні ресурси

13. <http://eknigi.org/zdorovie/142527-mikrobiologiya-virusologiya-imunologiya-pidruchnik.html>
14. <http://emed.org.ua/knigi/96-mikrobiologija-virusologija/1751-mikrobiologija-mishustin-ep-emcev-vt-1987>
15. <http://www.twirpx.com/file/621210/>