**Міністерство освіти і науки України**
**Державний вищий навчальний заклад**
**«Ужгородський національний університет»**
**Біологічний факультет**

М.В. Кривцова,
М.В. Ніколайчук

# «ЕКОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ»

## НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

Рекомендовано Міністерством освіти і науки України
як навчальний посібник для студентів
біологічних факультетів вищих навчальних закладів

Ужгород-2011

**УДК 579.26**
**ББК Е48Я73**
**К 821**

*Рекомендовано Міністерством освіти і науки України як навчальний посібник для студентів біологічних факультетів вищих навчальних закладів (24.11.10 № 1/11-10782).*

М.В. Кривцова, М.В. Ніколайчук: «Екологія мікроорганізмів». Навчальний посібник. − 2011. − 184 с.

У навчальному посібнику наведені теоретичні відомості та методики виконання лабораторних робіт з основних тем дисципліни «Екологія мікроорганізмів», що дають уявлення про структуру мікробних ценозів, участь мікроорганізмів у кругообігу речовин, вплив абіотичних факторів на мікроби, взаємовідносини мікроорганізмів в мікробних асоціаціях та з макроорганізмом тощо. Висвітлено методи вивчення мікробного антагонізму, визначення антибіотикочутливості бактерій, дослідження мікробних екосистем води, ґрунту, повітря, епіфітної, прикореневої та ризосферної мікрофлори рослин, нормофлори організму людини, мікрофлори об'єктів навколишнього середовища, продуктів харчування.

**Рецензенти:**
Завідувач відділом проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ,
Член-кореспондент НАНУ,
професор, д.б.н. М.Я. Співак

Завідувач кафедрою вірусології
Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка
професор, д.б.н. В.П. Поліщук

Проректор Одеського національного
університету ім. І.І. Мечникова
професор, д.б.н. В.О. Іваниця

**Рекомендовано до друку:**
Рішенням редакційно-видавничої ради УжНУ:
протокол № 2 від 22 червня 2010 року.

Рішенням Великої Вченої Ради УжНУ:
Протокол № 6 від 24 червня 2010 року.

© Кривцова М.В.,
Ніколайчук М.В., 2011

ISBN

# ЗМІСТ

ВСТУП..... 4
Розділ І. Теоретичний курс з «Екології мікроорганізмів»..... 6
Тема 1. Вступ до екології мікроорганізмів. Взаємовідносини мікроорганізмів в природі..... 6
Тема 2. Мікроорганізми – продуценти антибіотичних речовин. Біологічна роль антибіотиків..... 21
Тема 3. Мікроорганізми та кругообіг речовин в природі..... 31
Тема 4. Абіотичні фактори середовища та їх значення для життєдіяльності мікроорганізмів..... 53
Тема 5. Ґрунт, вода, повітря як середовище існування мікроорганізмів..... 62
Тема 6. Взаємодія мікроорганізмів та рослин..... 72
Тема 7. Взаємовідносини мікроорганізмів з безхребетними та хребетними тваринами. Нормальна мікрофлора тіла людини..... 83
Тема 8. Забруднення та його вплив на мікробні екосистеми..... 94
Тема 9. Екологія вірусів..... 111
Розділ ІІ. Методи дослідження екології мікроорганізмів..... 132
Лабораторна робота № 1. Вивчення антагонізму у мікробів..... 132
Лабораторна робота № 2. Антибіотики. Методи вивчення чутливості бактерій до антибіотиків..... 134
Лабораторна робота № 3. Мікробіологічний аналіз повітря..... 138
Лабораторна робота № 4. Мікробіологічний аналіз води..... 140
Лабораторна робота № 5. Мікробіологічний аналіз ґрунту..... 143
Лабораторна робота № 6. Епіфітна мікрофлора. Фітопатогенні мікроорганізми..... 146
Лабораторна робота № 7. Вивчення прикореневої та ризосферної мікрофлори..... 149
Лабораторна робота № 8. Нормальна мікрофлора організму людини..... 151
Лабораторна робота № 9. Санітарно-мікробіологічний контроль у закладах методом змивів..... 154
Лабораторна робота № 10. Мікрофлора продуктів харчування..... 157
Тестові завдання..... 162
Додаток..... 177
Бібліографічний список використаної та рекомендованої літератури..... 179
Предметний покажчик..... 181

# ВСТУП

Всі середовища біосфери населені мікроорганізмами: вони існують у ґрунті, воді, повітрі, на дні океанів, пісках пустель, антарктичних льодовиках, викидах підприємств хімічної промисловості, системах ядерних реакторів тощо. Мікроорганізми є обов'язковим компонентом будь-якої екосистеми. Інтенсивна життєдіяльність великої кількості мікроорганізмів є важливим фактором забезпечення динамічної рівноваги у біосфері. Кругообіг біогенних елементів можливий лише за участю мікроорганізмів. Широке розповсюдження мікроорганізмів зумовлене їхніми малими розмірами, швидкістю розмноження, різноманітністю, гнучкістю метаболізму, стійкістю до несприятливих факторів середовища. Мікроорганізми володіють високим адаптаційним потенціалом, що обумовлює здатність пристосування у середовищах і умовах, згубних для інших живих істот. В умовах, які визначаються як екстремальні, нерідко мешкають тільки мікроорганізми, наприклад, при екстремальних значеннях солоності, температури, pH тощо.

Екологія мікроорганізмів – наука, яка вивчає зв'язки між мікроорганізмами, взаємовідносини мікроорганізмів з іншими організмами біосфери, функції мікроорганізмів у біосфері, вплив факторів середовища на мікробні екосистеми, роль мікроорганізмів у створенні певного біоценотичного середовища, реакцію мікробних ценозів на антропогенне навантаження, роль мікроорганізмів у деградації ксенобіотиків та збереженні довкілля.

Глобальна роль мікроорганізмів у створенні фундаменту життя у найширшому розумінні цього слова вперше була оцінена одним із видатних натуралістів XX століття В.І. Вернадським у його вченні про біосферу.

Основні принципи екології мікроорганізмів було розроблено С.М. Виноградським. Він вперше ввів поняття хемосинтетичного живлення організмів за рахунок енергії окислення неорганічних сполук, відкрив нітріфікуючі бактерії та анаеробні азотфіксатори, запропонував метод елективних середовищ для виділення різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів. М.Г. Холодний розробив і ввів у практику мікробіологічних досліджень принципово нові методи вивчення водних і ґрунтових мікроорганізмів у їхньому природному середовищі існування (метод «пластинок обростання» та «ґрунтових камер»), запропонував використовувати мікроорганізми як індикатори наявності у повітрі певних органічних речовин.

Значний вклад у розкриття механізмів взаємовідносин між мікроорганізмами в різних об'єктах навколишнього середовища, а також між мікроорганізмами і рослинами, мікроорганізмами і тваринами, розробку сучасних положень екології мікроорганізмів як науки внесли вітчизняні вчені – С.М. Виноградський, М.Г. Холодний, В.Й. Білай, М.М. Підоплічко, Л.Й. Рубенчик, К.І. Андреюк, Г.О. Іутинська, В.П. Патика, Л.В. Григор'єва та ін.

Вчені мікробіологи В.Й. Білай, М.М. Підоплічко, Л.Й. Рубенчик, Р.І. Гвоздяк зробили внесок у розкриття механізмів взаємовідносин між мікроорганізмами і рослинами. Роботи К.І. Андреюк, Г.О. Іутинської мали неоцінне значення для розробки концепції про мікробні ценози різних типів ґрунтів і взагалі для екології ґрунтових мікроорганізмів. П.І. Гвоздяк та ін. заклали основи мікробної деструкції синтетичних забруднювачів довкілля. В.П. Патика розробив методи використання мікроорганізмів як альтернативу синтетичних агрохімікатів.

Для сучасного стану екології мікроорганізмів велике значення мали дослідження вітчизняних учених з розробки критеріїв оцінки ступеня забруднення навколишнього середовища патогенними мікроорганізмами за індикаторними показниками – так званими санітарно-показовими мікроорганізмами (Л.В. Григор'єва), з розробки методичних основ гігієнічного регламентування мікробних забруднювачів в об'єктах виробничого і навколишнього середовищ (Т.Г. Омельянець).

У навчальному посібнику наведені теоретичні відомості та методики виконання лабораторних робіт з основних тем спецкурсу «Екологія мікроорганізмів», що дають уявлення про структуру мікробних ценозів, взаємовідносини мікроорганізмів в мікробних асоціаціях, з навколишнім середовищем та макроорганізмом тощо. Зокрема, висвітлено методи вивчення мікробного антагонізму, антибіотикочутливості бактерій, дослідження мікробних екосистем води, ґрунту, повітря, епіфітної, прикореневої та ризосферної мікрофлори рослин, нормофлори організму людини, мікрофлори об'єктів навколишнього середовища, продуктів харчування. Навчальний посібник містить контрольні питання, завдання для самоконтролю, тестові завдання, бібліографічний список використаної та рекомендованої літератури і буде корисним для студентів, аспірантів, науковців, які працюють в галузі екології мікроорганізмів, загальної, медичної, сільськогосподарської, промислової мікробіології.

# РОЗДІЛ І. ТЕОРЕТИЧНИЙ КУРС З «ЕКОЛОГІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ»

## ТЕМА 1. ВСТУП ДО ЕКОЛОГІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ. ВЗАЄМОВІДНОСИНИ МІКРООРГАНІЗМІВ В ПРИРОДІ

1. Предмет вивчення екології мікроорганізмів, основні поняття та терміни.
2. Міжвидові взаємовідносини мікроорганізмів.
3. Патогенність та фактори патогенності бактерій. Умовно патогенні мікроорганізми.

### 1. Предмет вивчення екології мікроорганізмів, основні поняття та терміни

Екологія мікроорганізмів зародилась у другій половині XIX ст. Започаткували ці дослідження Л. Пастер, С. М. Виноградський, М. Бейєрінк та інші видатні мікробіологи. Її фундаментом стали праці С. М. Виноградського, який відкрив спеціалізовані форми ґрунтових бактерій і довів їх роль в певних процесах трансформації речовин у ґрунті. На прикладі асоціацій ґрунтових мікроорганізмів він першим сформував положення про автохтонну (постійну) та аллохтонну (непостійну) мікрофлору в конкретній екологічній ніші. Цей принцип виявився універсальним для мікробних асоціацій водоймищ, рослинних та тваринних організмів. Він вперше встановив факт хемосинтетичного живлення організмів за рахунок енергії окиснення неорганічних сполук, відкрив нітріфікуючі бактерії та анаеробні азотфіксатори, запропонував метод елективних середовищ тощо.

Доцільно згадати, що ще в кінці 19 сторіччя І.І.Мечников створив першу гіпотезу трофічної ролі мікрофлори кишечнику тварин та людини. Він науково обґрунтував та запропонував практичний метод пригнічення негативної ролі гнилісних бактерій за допомогою регулярного вживання кисломолочних продуктів.

Глобальна роль мікроорганізмів у створенні основ живої матерії вперше була масштабно показана видатним російським натуралістом Володимиром Вернадським (1863-1945), що створив вчення про біосферу. Він вперше сформував ідею про біосферу як найвищий рівень екологічної інтеграції.

Однак найбільш інтенсивного розвитку набула екологія мікроорганізмів у другій половині XX ст. Цьому сприяли не тільки проведення широких спеціальних екологічних досліджень, а й успіхи у всіх інших галузях мікробіології, а також розвиток генетики і молекулярної біології.

«Екологія мікроорганізмів» вивчає зв’язки між мікроорганізмами в об’єктах навколишнього середовища, взаємовідносини між ними та іншими організмами біосфери, функції мікроорганізмів у біосфері, вплив факторів середовища на мікробні екосистеми, роль мікроорганізмів у створенні певного біоценотичного середовища, реакцію мікробних ценозів на антропогенне навантаження, роль

мікроорганізмів у біодеградації забруднювачів і збереженні довкілля. Екологія мікроорганізмів користується тими ж термінами, що й загальна екологія. Екологія ж вивчає, головним чином, системи за ієрархією розташовані вище рівня організму, тобто популяції, спільноти.

**Популяція** − це сукупність організмів одного виду, які мають спільний генофонд, займають певну територію і функціонують як частина біологічної спільноти. **Мікробна популяція** − це сукупність мікробів одного виду, локалізованих певним чином у просторі і здатних обмінюватись генетичною інформацією. Популяція як відносно відособлена частина виду в ізольованому стані в природі не існує. Такий феномен можна сконструювати лише штучно, наприклад, виростити чисту культуру бактерій в пробірці з поживним середовищем. Сукупність взаємопов'язаних популяцій мікроорганізмів, рослин, тварин, які населяють певну територію, функціонують як єдина система, завдяки взаємопов'язаним метаболічним перетворенням, називається **біоценозом**. В англомовній літературі термін «біоценоз» майже не застосовується, а використовується ідентичний за змістом термін «community» (спільнота). За визначенням К.І. Андріюк, сукупність безлічі асоціацій мікроорганізмів, які заселяють ділянку середовища з більш-менш однорідними умовами (мікроклімат, вологість тощо) і здійснюють трансформацію органічних і мінеральних речовин певного біоценозу є **мікробним ценозом.**

Будь-яка біосистема, що включає всі організми, сумісно функціонуючі на певній ділянці, і яка взаємодіє з фізичним середовищем у такий спосіб, що потік енергії утворює чітко визначені біотичні структури і кругообіг речовин між живою і неживою частинами, являє собою екологічну систему або **екосистему**. **Біотоп** − ділянка земної поверхні, на якій існує біоценоз. **Екосистема** складається з двох компонентів: біоценозу та середовища його існування (біотопу). Наприклад, природна мікрофлора (мікробіота) тіла разом з організмом господаря. Мікроорганізми є обов'язковим компонентом будь-якої екосистеми. Широке розповсюдження мікроорганізмів зумовлене їхніми малими розмірами, швидкістю розмноження, різноманітністю і гнучкістю метаболізму, стійкістю до несприятливих факторів середовища. Екологічно значущі рівні організації мікробного ценозу як біологічної системи можна подати наступним чином: популяція − асоціація − мікробний ценоз**.** До **асоціації** можуть входити популяції мікроорганізмів двох або більше видів. Вони спільно «несуть відповідальність» за розвиток певного процесу (наприклад амоніфікацію, розкладання клітковини тощо). Локалізація такої асоціації у просторі визначається наявністю субстрату, що забезпечує її функціонування, а також інших лімітуючих факторів − температури, вологості, антагоністів тощо. Отже, мікробний ценоз − найбільша одиниця класифікації мікробних спільнот. В ієрархії біологічних систем мікробний ценоз можна розглядати як систему нижчого рангу в рамках системи вищого рангу − біоценозу. За деяких екстремальних умов формуються біоценози, які складаються тільки з бактерій, наприклад, у біотопах з температурою 75 °С або в насичених розчинах солей. Динамічність і гнучкість мікробного ценозу забезпечують йому певну стійкість та надійне функціонування за умов

непостійності факторів середовища. У ґрунті, наприклад, це пов'язано з постійним співіснуванням еколого-трофічних груп мікроорганізмів, здатних до переробки потоку енергії та речовини, яка надходить до біоценозу.

Відносна чисельність видів мікроорганізмів у різних точках простору неоднакова. Це співвідношення може мінятись і в часі. Рухомість і гнучкість мікробного ценозу проявляється у сезонних, місячних, добових коливаннях чисельності мікроорганізмів. Окрім того, в процесі освоєння будь-якого субстрату за зміни температури, вологості тощо спостерігаються закономірні зміни і якісного складу кількості мікроорганізмів, спрямованості і напруженості мікробіологічних процесів. Ці зміни, що характеризують розвиток спільноти, отримали назву **мікробних сукцесій. Сукцесія** − це спрямована і безперервна послідовність появи і зникнення популяцій різних видів у певному місці мешкання. Одним із типів послідовних змін видів є **деградаційна сукцесія.** Вона відбувається порівняно швидко − впродовж декількох місяців або років. Будь-яка мертва органіка (наприклад, відмерла рослина чи тварина) використовується мікроорганізмами або тваринами-детритофагами. Зазвичай різні види редуцентів з'являються і зникають по черзі в процесі розкладання органічної речовини одних і появи інших речовин. Водночас зміни фізичного стану детриту роблять його корисним спочатку для одних видів, потім для інших.

Сукцесію називають **аутогенною** (породжується сама), якщо сукцесійні зміни визначаються переважно внутрішніми взаємодіями. Якщо ж на зміни регулярно впливають або їх контролюють зовнішні сили (пожежі, шторми) − **аллогенною** (породжується ззовні).

Мікробний ценоз немає певної зовнішньої форми і просторових меж. Компоненти одного мікробного ценозу можуть накладатись на інші, створюючи складну структурну картину.

Мікробний ценоз, як і будь-яку біологічну систему, можна проаналізувати за певними показниками. Так, при дослідженні екосистеми ґрунту К.І. Андріюк і О.В. Валагурова пропонують враховувати наступні показники:

*структуру* − просторову структуру, що характеризує розміщення мікроорганізмів у сфері їхнього існування: горизонтальне або вертикальне розміщення мікроорганізмів («мікробний пейзаж»);

*склад* − таксономічну структуру, що характеризує видовий і родовий склад мікроорганізмів, які входять до певного мікробного ценозу, їхню кількісну характеристику і співвідношення;

*функціональну* структуру, яка дає уявлення про сукупність зв'язків між мікроорганізмами, що здійснюють ті чи інші функції в певному ценозі, а також між ними і зовнішнім біотичними та абіотичними факторами.

Ці показники мікробного ценозу можуть бути придатними не тільки для ґрунту, а й для інших систем.

Будь-який вид або рід живих організмів характеризується певними ареалами. **Ареал** − частина простору або поверхні, в межах якої розповсюджується і проходить повний цикл свого розвитку певний таксон. Про ареал бактерій говорять рідко, як і про закономірності їхнього географічного поширення.

Мікроорганізми розповсюджуються і присутні скрізь, де є будь-яке життя. Однак деякі види мікроорганізмів мають обмежені ареали. Наприклад, існують типові морські бактерії, більшість бактерій, які світяться, можна виявити тільки в морі.

Слід розрізняти умови, в яких мікроорганізми активно розвиваються, і умови, в яких вони тільки зберігаються. Наприклад, більшість мікроорганізмів тільки зберігаються в атмосферному повітрі, але не розмножуються (стрептококи, стафілококи та ін.). Загальноприйнятим є факт, що мікроорганізми є космополітами, їх розповсюдження не визначається географічними факторами і залежить лише від екологічних умов місць їх існування. Багато видів мікроорганізмів мають певні ареали і облігатно пов'язані у своєму існуванні з тими або іншими видами вищих організмів. Наприклад, відомі ареали збудників, пов'язаних з певними ареалами гризунів: чуми (Китай), віспи, холери (Індія) та ін.

Певні організми, у тому числі і мікроорганізми, існують, розмножуються і можуть бути виявлені в певних місцях, які називають «місцем мешкання». Тобто місце мешкання організму − це фізичний простір, місце, де він живе або його можна знайти. Всередині екосистеми певний мікроорганізм зазвичай має лише одне місце. Однак у різних екосистемах один і той самий вид може мати декілька місць мешкання. Наприклад, умовно патогенні для людини бактерії *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* та ін. містяться у різних ділянках і порожнинах тіла залежно від стану організму хазяїна, водночас *Pseudomonas aeruginosa* входить також і до складу мікробних ценозів водойм, ґрунту.

Якщо поняття «місце мешкання» включає лише фізичний простір, конкретне місце, то **«екологічна ніша»** − поняття більш містке і включає в себе не тільки фізичний простір, що займає організм, а і функціональну роль організму в спільноті (наприклад, його трофічне становище) і позицію щодо градієнтів зовнішніх факторів − температури, вологості, кислотності та інших умов існування. Поняття «екологічна ніша» включає також роль, яку відіграє організм у певній екосистемі. Таким чином, поняття «екологічна ніша» включає всі умови середовища, яких потребують організми і які необхідні для підтримки їхньої життєздатної популяції. Тобто «екологічна ніша» − це сукупність усіх факторів середовища, в межах яких можливе існування виду в природі.

Розглядаючи мікробні асоціації, доцільно зупинитись на їх ролі у трофічних ланцюгах. Головною (але не єдиною) рушійною силою активності живих істот будь-якого природного співтовариства є постійна боротьба за джерело живлення та простір. Трофічні ланцюги всіх живих організмів планети починаються з **продуцентів** − автотрофних організмів (рослин, водоростей та деяких мікроорганізмів), які в результаті фотосинтезу чи хемосинтезу трансформують мінеральні речовини у складні органічні. Далі харчові ланцюги продовжують **консументи** − гетеротрофні організми, в основному тварини, які харчуються іншими організмами або частинами органічної речовини. Замикають трофічні ланцюги **сапротрофи або деструктори** − в основному це

бактерії і гриби, які отримують енергію за рахунок або шляхом розкладання мертвих тканин, або поглинаючи розчинену органічну речовину, що виділяється самостійно чи добувається сапротрофами з рослин та інших організмів. В результаті діяльності сапротрофів вивільняють неорганічні елементи живлення.

**2. Міжвидові відносини мікроорганізмів**

Мікроорганізми в природі існують у тісних асоціаціях один з одним. В процесі еволюції у певних видів мікроорганізмів, що населяють ґрунт, водойми та інші субстрати, сформувались механізми адаптації до умов середовища та до його мешканців. Це призвело до заселення самих різних екологічних ніш мікробними асоціаціями. Мікроорганізми в цих спільнотах пов'язані між собою енергетичними ланцюгами та впливають один на одного. Вони конкурують за джерело живлення, життєвий простір. Взаємовідносини між членами спільнот складні та динамічні у зв'язку з постійною зміною екологічних умов та фізіологічною мінливістю самих мікроорганізмів.

Вивчення взаємовідносин мікроорганізмів має велике значення для розуміння процесів кругообігу речовин в природі, формування ґрунту, еволюції видів мікроорганізмів.

Існують наступні типи взаємовідносин між організмами, в тому числі і мікроорганізмами: нейтралізм, симбіоз (коменсалізм, мутуалізм, синтрофія, метабіоз, синергізм), конкуренція, антагонізм, паразитизм, хижацтво.

**Нейтралізм** − взаємовідносини, за яких організми, що розвиваються у складі одного ценозу, безпосередньо не впливають один на одного.

**Симбіотичні або асоціативні взаємовідносини** − форма тісного співіснування, яке розглядається як позитивний вплив мікроорганізмів один на одного, навіть якщо один партнер виграє від співіснування більше, ніж інший.

Симбіоз може бути факультативним або облігатним. При факультативному симбіозі кожний з організмів може при необхідності жити і без партнера, при облігатному − самостійний розвиток одного з організмів чи обох неможливий. Ступінь шкоди чи користі від взаємного співіснування для кожного з партнерів можна оцінити лише тоді, коли порівняти їх стан при незалежному співіснуванні з їх станом при житті в асоціації.

Розрізняють типи симбіотичних взаємовідносин: коменсалізм, мутуалізм, синтрофія, метабіоз, синергізм**. Коменсалізм** характеризує такі відносини, коли мікроби використовують інший організм без шкоди, але й без очевидної вигоди для останнього. За такої форми взаємовідносин один із партнерів системи (коменсал) покладає на іншого (хазяїна) регуляцію своїх відносин із зовнішнім середовищем, але при цьому не вступає з ним у тісні стосунки. Основою для коменсальних відносин може бути спільний простір, субстрат, поживні речовини. Хазяїн не відчуває помітних шкідливих наслідків від присутності коменсала − не виграє і не страждає. Прикладом такого типу співіснування можуть бути водяні рослини і тварини (губки, молюски), поверхня яких вкрита плівкою з мікроорганізмів і водоростей.

Під **мутуалізмом** розуміють взаємовідносини, які мають взаємовигідний характер. В даному випадку мікроорганізми, живлячись за рахунок свого господаря, не лише не спричиняють йому жодної шкоди, але й приносять користь, наприклад, автохтонні мікроорганізми товстого кишечнику синтезують вітаміни, приймають участь в процесах травлення, захищають від хвороботворних мікробів, підтримують імунологічний статус організму тощо. Типовим прикладом мутуалістичних взаємовідносин є симбіоз бульбочкових бактерій та бобових рослин: бульбочкові бактерії фіксують азот, в результаті чого рослини отримують продукти азотфіксації, а бактерії − продукти асиміляції $CO_2$, що утворюються в рослинах.

**Синтрофія –** співіснування мікроорганізмів, при якому мікроорганізми можуть сумісно жити і розвиватися на середовищі, яке недоступне жодному з цих видів окремо. Наприклад, обмін факторами росту у молочнокислих бактерій: кожний із симбіонтів виділяє у середовище речовини, необхідні для іншого. В основі синтрофії може лежати також видалення токсичного продукту, наприклад руйнування пеніциліну пеніциліназою аеробних спороутворюючих бактерій, що забезпечує існування тих мікробів, які чутливі до пеніциліну. Якщо стимуляція проявляється в результаті односторонньої взаємодії, то такий тип взаємовідносин називається **сателітизмом.**

Синтрофні взаємовідносини можуть проявлятись в тому, що один вид мікробів готує субстрат для розвитку другого, при цьому продукти метаболізму одного виду бактерій є харчовим та енергетичним субстратом іншого або один мікроорганізм продовжує процес, розпочатий іншим. Такий тип синтрофії називається **метабіозом**. Прикладом можуть бути ґрунтові мікроорганізми, що приймають участь у кругообігу азоту. Так, амоніфікучі бактерії трансформують амінокислоти в аміак та солі амонію, нітріфікуючі − перетворюють амонійні солі в солі азотної кислоти, а бактерії-денітрифікатори відновлюють до молекулярного азоту.

**Синергізм** − форма співіснування мікробів, при якій у асоціантів посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості. Прикладом є асоціація дріжджів та оцтовокислих бактерій − «чайний гриб». Оцтовокислі бактерії перетворюють сахарозу до глюкози та фруктози, а потім до глюконової та кетоглютарової кислот, які використовуються дріжджами. Дріжджі, в свою чергу, синтезують вітаміни, які використовують оцтовокислі бактерії.

**Антагоністичні взаємовідносини** проявляються у пригнічуючому впливі одного або декількох членів мікробної асоціації один на одного.

Розрізняють антагонізм пасивний (конкурентний) та активний.

**Пасивний антагонізм** − взаємодія, при якій різні мікроорганізми використовують одні й ті ж поживні речовини – це боротьба за їжу та життєвий простір. Перевагу у такій боротьбі отримують організми, що швидко ростуть та невибагливі до поживних речовин. Наприклад, деякі мікроскопічні гриби *Rhizopus, Mucor* можуть використовувати любі джерела вуглеводів – целюлозу, лігнін, пектин та за короткий час захоплюють значну поверхню і утруднюють до неї доступ інших мікроорганізмів.

**Активний антагонізм** обумовлений виділенням бактерицидних речовин. Мікроби виділяють в середовище існування метаболіти, які можуть бути неспецифічними продуктами обміну (органічні кислоти, спирти, аміак, феноли та ін.) і викликати коагуляцію білків цитоплазми. В цьому випадку антагонізм носить загальний характер. Так, молочнокислі бактерії, підкислюючи середовище, викликають пригнічення гнилісної мікрофлори. Утворення лимонної кислоти *Aspergillus niger* є причиною загибелі конкурентної для нього мікрофлори.

Іншою причиною антагонізму може бути виділення специфічних бактерицидних або бактеріостатичних речовин − антибіотиків, бактеріоцинів, які вибірково діють на інші мікроорганізми. Якщо обидві конкуруючі популяції утворюють такі речовини, йдеться про антагонізм; якщо інгібітор утворює тільки популяція одного виду, говорять про аменсалізм. **Аменсалізм** − різновид антагоністичних відносин, коли одна із популяцій завдає шкоди іншій, сама ж при цьому не страждає.

**Конкуренція** − взаємовідносини між організмами одного або різних видів, які змагаються за однакові ресурси зовнішнього середовища за умови їх нестачі. В мікробіології поняття конкуренції застосовують в оцінці взаємовідносин між мікроорганізмами і макроорганізмами, наприклад, мікроорганізми ґрунту можуть конкурувати з вищими рослинами за елементи мінерального живлення. Боротьба між популяціями мікроорганізмів може призводити до зникнення однієї з них. В експериментальній мікробіології конкурентні взаємовідносини між популяціями різних видів бактерій досліджуються за хемостатного культивування бактерій на штучних середовищах. У найпростіших випадках конкурентні відносини моделюють і вирощують форми, здатні використовувати один і той самий субстрат, внесений у середовище. Зрозуміло, що той організм, який швидше росте за умов всіх можливих концентрацій субстрату, швидко опиняється в чистій культурі, а його конкурент зникає. Однак бувають випадки, коли за високої концентрації субстрату домінуватиме один організм, а за низької − інший. Проте, якщо два організми розвиваються в середовищі, де є субстрат, який можуть використовувати обидва, конкуренція між цими організмами спостерігається не завжди, навіть якщо цей субстрат єдиний. Наприклад, під час вирощування лактобацил і пропіоновокислих бактерій у хемостаті на мінімальному середовищі з глюкозою спостерігається сильний ріст обох мікроорганізмів. Обидва можуть використовувати глюкозу, але лактобацили утворюють із глюкози молочну кислоту, якій надають перевагу пропіонобактерії, тому конкуренції за глюкозу не відбувається.

**Паразитизм** − форма антагоністичних взаємовідносин, при якій паразит використовує партнера-господаря як середовище існування і/або як джерело живлення, покладаючи на нього регуляцію своїх відносин із зовнішнім середовищем і, як правило, при цьому завдає певної шкоди організму господаря. Паразити живляться не лише мертвими органічним рештками зі «столу» господаря. Основна їх їжа − нативні тканинні, клітинні білки та інші необхідні компоненти живого організму господаря. Паразити усуваються від

самостійного вирішення проблеми регуляції своїх зв'язків із зовнішнім середовищем, повністю перекладають цю задачу на партнера-господаря. Існують різні ступені спеціалізації паразитів, тобто вибірковість певного виду паразиту до певних видів хазяїв.

Відомі лише нечисленні випадки паразитизму мікроорганізмів на мікроорганізмах. Так, розповсюджений у природі мікоплазмоподібний гриб *Metallogenium*, який утворює зірчасті мікроколонії, що складаються з тонких ниток, просякнутих окислами заліза і марганцю. *Metallogenium* часто паразитує на клітинах або колоніях водоростей, бактерій, грибів. Вібріон *Vampirovibrio chlorellavorus* є облігатним паразитом, який існує за рахунок клітин деяких форм одноклітинної водорості *Chlorella*. Вібріон прикріплюється до оболонки водоростей своїм переднім кінцем, на якому утворюється слизова прикріплювальна подушечка. Вібріони збільшують проникність клітини водоростей і ростуть за рахунок речовин, які надходять із клітини. Заражені вібріонами клітини хлорели перестають рости і ділитися і через деякий час руйнуються, від них залишаються тільки обривки оболонок.

**Хижацтво** − такі взаємовідносини двох груп мікроорганізмів, коли одні використовують інших як їжу. Така форма відносин досить поширена серед тварин. В світі мікробів хижацтво зустрічається досить рідко. Прикладом серед мікроорганізмів хижака є *Bdellovibrio bacteriovirus* – дрібна, грамнегативна бактерія з одним полярним джгутиком. Ці мікроорганізми атакують і вбивають інших грамнегативних бактерій, проникаючи в простір між стінкою та мембраною клітини-господаря і розмножуючись там. Вони часто знаходяться в стічних водах, рідше у прісноводних водоймищах та морях. Вібріони ростуть тільки на живих бактеріях і не культивуються на поживних середовищах.

Слід зазначити, що паразитичні або патогенні мікроорганізми мають переважно більший біотичний потенціал, ніж хижаки. Їхня структура, обмін, вибір хазяїна і життєві цикли часто більш спеціалізовані, що пов'язано з своєрідністю їхнього середовища мешкання і механізмом розповсюдження від одного хазяїна до іншого. Існування паразитів і хижаків має екологічне значення. Найбільш шкідливу дію зумовлюють нові паразити і хижаки, наприклад уперше завезені збудники хвороб людини, тварин та рослин. За умов тривалого контакту паразитів з хазяями або хижаків з жертвами вплив стає помірним, нейтральним або навіть сприятливим.

### 3. Патогенність та фактори патогенності бактерій

У світі живих систем існують складні взаємовідносини між мікро- та макроорганізмами, з одного боку, та умовами зовнішнього середовища – з іншого. Така взаємодія є результатом тривалого спільного розвитку всього органічного світу.

Взаємодія між мікро- та макроорганізмами формувались в процесі довготривалого історичного розвитку у відповідності з загальнобіологічним законом симбіозу живих істот. Більшості патогенних мікроорганізмів притаманний паразитичний тип існування. Виник і розвивався паразитизм в результаті численних мутацій і постійного відбору форм, найбільш

пристосованих до нових екологічних умов − існування в організмі хазяїна. Одночасно серед паразитичних форм мікробів виникали патогенні варіанти, здатні в процесі життєдіяльності чинити в організмів хазяїна патогенетичну дію. Всі відомі на сьогодні збудники хвороб людини мають єдине джерело походження. Вихідним етапом еволюції патогенних видів є вільноживучі сапрофіти, які з'явились більше ніж 2,5 млрд. років тому назад. Сапрофіти жили і розвивались на залишках рослин, трупах тварин, ґрунті, воді, атмосфері. Мікроби-паразити виникли значно пізніше і формувались по мірі розвитку рослинного і тваринного світу в результаті поступової адаптації сапрофітів до організмів різних біологічних хазяїв.

Першими господарями паразитів були членистоногі, після появи птахів і ссавців, паразити пристосувались до харчування їх кров'ю. Еволюція патогенних мікроорганізмів продовжується і сьогодні. Якщо раніше на її хід впливали природні фактори, то тепер додались антропогенні, обумовлені діяльністю людини: застосування хіміотерапевтичних препаратів, антибіотиків, імунопрофілактичних препаратів, які є індукторами мутацій та сприяють підвищенню адаптивної мінливості мікроорганізмів, появі атипових штамів, стійких до антибіотиків і інших антимікробних препаратів.

Збудники інфекційних захворювань розрізняються за ступенем паразитизму. Такі мікроорганізми, як віруси, хламідії, рикетсії здатні існувати тільки в організмі біологічного господаря і повністю втратили здатність до існування у зовнішньому середовищі. Інші збудники зберегли здатність до виживання у зовнішньому середовищі (збудники черевного тифу, дизентерії, туляремії). Перехід мікробів-сапрофітів до паразитичного існування супроводжувався істотними змінами їх властивостей, зокрема харчових потреб. На відміну від сапрофітів, здатних утилізувати органічні речовини зовнішнього середовища, мікроби-паразити задовольняють свої харчові потреби за рахунок речовин організму хазяїна. Ступінь паразитизму у мікробів корелює з їх здатністю до вибіркової локалізації в органах і тканинах та специфічністю взаємодії з макроорганізмом. Деякі мікроорганізми, проникаючи в організм, можуть вражати любий орган або тканину (стрептококи, стафілококи), інші збудники набули здатності вибірково вражати певні органи або тканини: збудник дизентерії розмножується у стінці товстої кишки, збудник гонореї − у слизових оболонках статевих органів.

Паразити поділяються на внутріклітинних та позаклітинних, факультативних та облігатних. **Факультативні внутріклітинні паразити** – збудники туберкульозу, гонореї, менінгіту – можуть паразитувати як в клітинах, так і поза ними. **Облігатні внутріклітинні паразити** − віруси, хламідії, рикетсії, не здатні існувати поза клітинами. Внутріклітинні паразити використовують готові сполуки, синтезовані клітиною господаря, для власних метаболічних реакцій. Так, хламідії і рикетсії є паразитами на енергетичному рівні і повністю залежать від джерел енергії клітин хазяїна. В основі механізму внутріклітинного паразитизму рикетсій лежить втрата здатності до синтезу деяких ферментів, що приймають участь у гліколізі, а хламідій − нездатність синтезувати молекули АТФ.

Паралельно із збільшенням залежності харчових потреб мікроорганізмів від клітин організму хазяїна спостерігається посилення їх паразитичних властивостей. Мікроби-паразити набули здатності синтезувати ферменти і токсини, які надали їм патогенних властивостей.

**Патогенність** − це потенційна здатність мікроорганізмів викликати інфекційний процес. Патогенність є видовою ознакою мікробів і характеризується специфічністю тобто здатністю даного виду мікробів викликати певні патологічні зміни в організмі. Патогенність, як видова ознака мікроба, генетично детермінована. В той же час ступінь виразності патогенних, як і інших властивостей мікроба, проявляється у фенотипі по різному. Окремі штами мікробів одного виду можуть значно відрізнятись за ступенем патогенності. Для кількісного виразу патогенності застосовують термін «вірулентність». **Вірулентність** − це штамова ознака патогенного мікроба. Серед представників деяких видів патогенних мікроорганізмів можуть зустрічатись високо вірулентні штами, здатні викликати загибель тварини при зараженні декількома мікробними клітинами, і штами зі зниженою вірулентністю, смертельні дози яких виражаються сотнями тисяч або мільйонами особин. Тобто вірулентність означає ступінь патогенності даної культури (штаму) мікроорганізму. Якщо патогенність є сталою видовою ознакою мікроорганізму, то вірулентність є його індивідуальною властивістю, яка може змінюватися під впливом природних умов (світла, температури, вологості тощо). Вірулентність можна підвищувати та послаблювати пасажуванням на сприйнятливих лабораторних тваринах, трансформацією, трансдукцією, дією антимікробних препаратів, пересіванням з одного на інше поживне середовище тощо. Вірулентність мікробів визначають експериментальним шляхом на сприйнятливих тваринах. Одиницею вимірювання вірулентності є умовно прийнята одиниця, так звана **мінімальна смертельна доза − Dlm (Dosis letalis minima) –** це найменша кількість мікроорганізмів, яка при певному способі зараження викликає за певний час смертельне захворювання сприйнятливої тварини стандартної маси та віку. Оскільки тварини володіють індивідуальною чутливістю до патогенного мікроба, то для більш точної характеристики вірулентності мікроба встановлюють **безумовну смертельну дозу (Dcl − Dosis cetra letalis)** або **середню смертельну дозу ($LD_{50}$ − Dosis letalis 50 %). Dcl** − це найменша кількість мікробів, яка викликає загибель 100% взятих у дослід тварин, а **$LD_{50}$** − доза, що вбиває половину заражених тварин**.**

Патогенність визначають наявністю у мікроорганізмів низки властивостей, які називають факторами патогенності. До факторів, що обумовлюють патогенність, відносять: адгезію, інвазивність, токсиногенність та фактори патогенності пов’язані з антифагоцитарною функцією.

Пусковим механізмом інфекційного процесу є **адгезія** мікробів до клітин. Адгезивність обумовлюється позитивним хемотаксисом та спеціальними структурами мікробної клітини (фімбрії, адгезини, ліганди), а також наявністю відповідних рецепторів на чутливих клітинах макроорганізму. Адгезивну функцію виконують спеціальні антигени − білки лектини, які містяться у

фімбріях патогенних штамів ешерихій, вібріонів, протеїв та інших мікроорганізмів. Штами мікробів, які позбавлені таких антигенів, не здатні прикріплюватись до клітин, наприклад епітелію кишечнику, і викликати інфекцію. Збудники хвороб володіють специфічністю − здатністю прикріплюватись до клітин певних органів. Так, збудник холери викликає захворювання лише при потраплянні на слизову тонкого кишечнику, гонокок − на слизову оболонку сечостатевої системи. Таким чином, адгезія та антигенний склад фімбрій відіграють важливу роль у розвитку початкових стадій інфекційного процесу для тих збудників, основними воротами інфекції яких є слизові оболонки.

*Фактори патогенності пов'язані з інвазивністю*. Для того щоб проникнути в макроорганізм, патогенний мікроб повинен подолати його слизові оболонки, шкірні покриви та інші тканинні бар'єри. В основі проходження крізь тканини лежить молекулярна взаємодія ферментних систем збудника з речовинами, із яких побудовані тканинні структури макроорганізму. Патогенні мікроорганізми продукують ферменти, здатні деполімеризувати основні речовини тканин, збільшуючи їх проникність і сприяючи проникненню і розповсюдженню збудника. Таким чином, **інвазивність** − важлива умова для розвитку багатьох патогенних форм. Фактори інвазивності, або поширення, − це низка ферментів, що їх виробляють мікроорганізми та за допомогою яких проникають в організм і поширюються в ньому (гіалуронідаза – викликає гідроліз сполучної тканини, коагулаза – коагулює плазму крові, коллагеназа викликає руйнування тканинних білків тощо).

*Фактори патогенності пов'язані з токсичною функцією*. **Токсиногенність** − здатність мікроорганізмів за допомогою токсичних продуктів бактеріальної клітини (екзо- та ендотоксинів) порушувати метаболічні функції організму хазяїна, руйнуючи постійність його внутрішнього середовища.

**Екзотоксини** − це отруйні речовини, що виділяються в середовище мікробною клітиною як продукт життєдіяльності. Вони, як правило, є простими білками, які характеризуються різко вираженою токсичністю, тобто в дуже малих дозах токсично діють на сприйнятливі організми. Екзотоксини характеризуються органотропністю − здатністю вибірково вражати окремі тканини й органи організму. Так, наприклад, дифтерійний екзотоксин уражає надниркові залози та серцевий м'яз, а правцевий − рухові нервові клітини. Органотропність і специфічність дії екзотоксинів пов'язана з наявністю на поверхні чутливих клітин організму специфічних рецепторних структур, до яких прикріплюється молекули токсину, і особливостями структури токсинів. Вони нестійкі до високої температури, світла, кисню, дуже швидко руйнуються під час кип'ятіння. Екзотоксини термолабільні, руйнуються за температури 60° кип'ятіння протягом декількох хвилин. Ці токсини не руйнуються під впливом травних ферментів і при пероральному введенні спричиняють отруєння організму.

**Ендотоксини** − сполуки, які найчастіше пов'язані з певними структурами мікроорганізмів і можуть вивільнятися тільки після автолізу клітин. За хімічним складом вони набагато складніші за екзотоксини, оскільки містять

білки, ліпіди й полісахариди. Ці токсини становлять собою ліпополісахариди і є структурним компонентом О-антигену, який крім ліпополісахариду включає також протеїн. У найбільшій мірі вивчені ендотоксини ентеробактерій: сальмонел, шигел, ешерихій. Крім токсичності вони володіють пірогенністю − здатністю викликати підвищення температури тіла. Ендотоксини термостабільні, деякі з них витримують тривале кип'ятіння, а також атоклавування при 120 °С протягом 30 хв. Органотропність у ендотоксинів виражена слабо. При введенні в організм всі ендотоксини викликають загальне отруєння з однотиповою клінічною картиною: слабкість, діарею, підвищення температури. На відміну від екзотоксинів ендотоксини володіють відносно слабкими антигенними властивостями. Антисироватки до ендотоксинів не повністю нейтралізують їх токсичні властивості. Пояснюється це тим, що ендотоксини індукують утворення антитіл до полісахаридної частини, а токсичність їх обумовлена ліпідним компонентом.

*Фактори патогенності з антифагоцитарною функцією*.

Умовою розвитку інфекційного процесу в організмі є персистенція мікроба на протязі певного періоду часу. Вона залежить від здатності мікробів протистояти захисним силам організму, серед яких особливе місце займає фагоцитоз. В ході еволюції мікроби набули спеціальних властивостей, що забезпечують їх захист від фагоцитозу. За умови відсутності здатності долати фагоцитарний бар'єр мікроби піддаються фагоцитозу, що супроводжується їх загибеллю. Антифагоцитарні властивості мікробів пов'язані із здатністю утворювати речовини, що блокують процес фагоцитозу на різних стадіях. Одні з них пригнічують реакцію хемотаксису фагоцитів, інші блокують прикріплення мікробних клітин до фагоцитів та їх поглинання, треті протидіють внутріклітинному перетравленню мікробів і, нарешті, деякі з цих речовин викликають лізис фагоцитів. Більша частина пристосувань спрямована на подолання впізнавання та поглинання мікробної клітини фагоцитом. Антифагоцитарні функції здійснюються певними поверхнево локалізованими морфологічними структурам мікробної клітини. Особливе місце серед них належить капсулі та капсулоподібним утворам. Із патогенних бактерій капсулу утворюють пневмококи, збудники сибірської виразки, чуми, туляремії, риносклероми, анаеробної інфекції. Значення капсули у антифагоцитарному ефекті зводиться до екранування поверхневих клітинних структур − пептидоглікану у грампозитивних і ліпополісахариду у грамнегативних бактерій, з якими взаємодіє система комплементу, яка відіграє важливу роль на стадії впізнавання. Бактеріальна клітина розпізнається фагоцитом як чужорідна після прикріплення до відповідних структур її поверхні С3b- фрагмента системи комплементу. Капсула екранує місце зв'язування С3b- фрагмента, блокуючи тим самим процес впізнавання. Крім того, завдяки високому ступеню гідрофільності, що обумовлена поверхнево-активним речовинам, які входять до її складу, капсула перешкоджає поглинанню мікробної клітини фагоцитами. У деяких бактерій, в тому числі стафілококів, антифагоцитарні властивості пов'язані з речовинами мікрокапсули. Роль капсульної речовини належить білку А, який відіграє важливе значення в антифагоцитарному ефекті. У

*Pseudomonas aeruginosa* здатність протистояти фагоцитозу асоціюється зі слизом. Слиз продукують як вірулентні, так і невірулентні штами бактерій даного виду, проте неоднакового хімічного складу. Вірулентними властивостями володіють штами, що утворюють мукоїдний тип колоній і продукують слизисту речовину полісахаридної природи, при цьому спостерігається кореляція між кількістю слизу, що продукує збудник і тяжкістю запального процесу, що він викликає. Роль факторів патогенності з функцією захисту від фагоцитозу можуть виконувати також поверхнево розташовані компоненти мікробної клітини, що об'єднуються під загальною назвою оболонкові антигени. Так, наприклад Vi- антиген збудника черевного тифу, М-антиген гемолітичного стрептокока, ліпідна фракція у мікобактерій туберкульозу. Бактерії, що містять ці субстанції, після поглинання моноцитами інтенсивно розмножуються в них, а після вивільнення з них утворюють фракцію F-1, набуваючи стійкості до поліморфноядерних лейкоцитів.

Фактори патогенності, пов'язані з антифагоцитарною функцією, характеризуються, як правило, яскраво вираженими антигенними властивостями, і напрацювання антитіл проти цих субстанцій лежить в основі імунітету в умовах ряду інфекцій.

Слід зазначити, що потенційна здатність мікроорганізмів викликати захворювання визначається не тільки хвороботворними якостями мікроорганізму, а й властивостями макроорганізму, сприйнятливого до збудника, його захисними механізмами. Інфікований організм відповідає на проникнення патогену відповідними реакціями, які виражаються у виявленні симптомів хвороби, а також у різних захисних пристосуваннях.

**Інфекційність** − здатність мікроорганізму спричиняти інфекційний процес у природних умовах, тісно пов'язана з інвазивністю − здатністю проникати у тканини організму, долаючи його захисні функції. Важливе значення для виникнення інфекційного процесу має стан організму. Ступінь його участі в цьому процесі може залежати від виду й генотипу, реактивності, розладу функції центральної нервової системи, білкового голодування, наявності вітамінів, гормонів та інших факторів. Залежно від стану, в якому перебуває організм, а також впливу зовнішнього середовища інфекційний процес може закінчитися загибеллю хвороботворного мікроорганізму, загибеллю організму або встановленням взаємної адаптації між ними.

Крім патогенних, існують і так звані **умовно-патогенні** мікроорганізми, які відносяться до нормальної мікрофлори тварин і людини. У здоровому організмі нормальна мікрофлора створює конкурентні умови для патогенних мікробів, пригнічуючи їх ріст і розмноження, і здійснюючи стимулюючий ефект на розвиток і функціонування імунної системи. Потенційно патогенні властивості, що притаманні умовно-патогенним мікроорганізмам, проявляються при ослабленні захисних сил організму. Вперше на можливість прояву патогенних властивостей у мікробів вказав І.І. Мечников. В останні десятиріччя значно частішими стали випадки виникнення інфекційних процесів, спричинених саме умовно-патогенними мікробами, що характеризуються важким перебігом, високою летальністю і погано піддаються лікуванню. Особливо широке

розповсюдження набули сепсис, пневмонія, гнійно-септичні інфекції у дитячих, хірургічних, урологічних, родильних відділеннях. В етіології цих захворювань поряд з стафілококами і стрептококами ведучу роль займає грамнегативна мікрофлора: кишкова паличка, клебсієла, протей, псевдомонади. Однією з причин росту захворювань, що викликані умовно патогеннними мікроорганізмами, є порушення рівноваги між макроорганізмом і мікрофлорою, що його населяє, а також між окремими видами, що складають цю флору. Ці зсуви у мікробній екології людини можуть бути спричинені застосуванням антибіотиків, імунодепресантів, підвищенням загального рівня радіації та іншими факторами. Потенційно патогенні властивості проявляються у більшості представників мікрофлори людини. Більш частою причиною запальних процесів є представники факультативної мікрофлори, що населяють різні ділянки тіла. Таким чином, мікрофлора, що населяє відкриті порожнини організму, може відігравати як роль біологічного бар'єра, так і потенційного резервуару інфекцій. Прояв патогенних або захисних властивостей її представників залежить від стану організму і бар'єрних функцій слизової оболонки або шкіри. У наш час умовно патогенні мікроорганізми займають значне місце в інфекційній патології людини.

### *Контрольні питання*

1. Обґрунтуйте, чим відрізняється коменсалізм від мутуалізму. Наведіть приклади.
2. Дайте характеристику основних типів симбіозу.
3.Чим облігатний симбіоз відрізняється від факультативного?
4. Наведіть приклад хижацтва серед мікроорганізмів.
5. Охарактеризуйте фактори патогенності бактерій.
6. Що таке Dlm?
7. Дайте порівняльну характеристику екзо- та ендотоксинів.
8. Дайте визначення поняттю вірулентність.
9. Які мікроорганізми носять назву умовно-патогенних? Чому?
10. Що таке інфекційність?

### *Література*

1. Асонов Н.Р. Практикум по микробиологии. – Изд. 2-, перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1988. – 155 с.
2. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. − М.: Мед. информ. агентство, 2002. − 734 с.
3. Вершигора А.Е. Общая иммунология. – Киев: Высшая школа, 1990. – 735 с.
4. Гусев М.А., Минеева Л.А. Микробиология. − 4-е изд., − М.: Издательский центр «Академия», 2003. − 464 с.
5. Езепчук Ю.В. Биомолекулярные основы патогенности бактерий . – М.: Наука, 1977. – 216 с.
6. Патика В.П., Омельянець Т.Г., Гриник І.В., Петриченко В.Ф. Екологія мікроорганізмів: Посібник / За ред. В.П. Патики. − К.: Основа, 2007. − 192 с.

7. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для мед. Вузов. – 2-е изд. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 591 с.
8. Медицинская микробиология / Под. ред акад. РАМН В.И. Покровского, проф. О.К. Поздеева. М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 1184 с.
9. Нетрусов А.И. Микробиология: Учебник для студ. высших. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, А.И. Котова. – М.: Издательский центр «Академия». – 2006. – 352 с.
10. Общая микробиология / Под ред. А. Е. Вершигоры. − К.: Выща шк. Головное изд-во, 1988. − 343 с.

## ТЕМА 2. МІКРООРГАНІЗМИ – ПРОДУЦЕНТИ АНТИБІОТИЧНИХ РЕЧОВИН. БІОЛОГІЧНА РОЛЬ АНТИБІОТИКІВ.

1. Визначення поняття антибіотик.
2. Антибіотики мікробного походження.
3. Антибіотики рослинного та тваринного походження.
4. Загальні відомості про механізм дії антибіотиків. Резистентність до антибіотиків.
5. Оцінка чутливості мікробів до антибіотиків.

### 1. Визначення поняття антибіотик

**Антибіотики** − це речовини мікробного, рослинного або тваринного походження, їх напівсинтетичні та синтетичні аналоги і похідні, що вибірково пригнічують життєдіяльність мікроорганізмів, вірусів, найпростіших, грибів, а також затримують ріст пухлин. Термін «антибіотики» у науку введений З.А. Ваксманом у 1942 р.

Антибіотичні речовини утворюються мікроорганізмами: актиноміцетами, пліснявими грибами, бактеріями, а також рослинами та тваринами. Вони можуть виділятись у навколишнє середовище або концентруватись у клітинах і вивільнятись при їх руйнуванні. Деякі антибіотики (хлорамфенікол) отримують хімічним шляхом.

Антибіотики є продуктом вторинного метаболізму мікроорганізмів, їм притаманна висока біологічна активність. Антибіотики спричиняють біологічний ефект у дуже малих кількостях (наприклад, пеніцилін викликає виразну бактерицидну дію на бактерії у концентрації 0,000001 г/мл). Для антибіотичних речовин характерною рисою є специфічність, т.б. вибіркова дія на певні організми. Так, бензилпеніцилін затримує ріст грампозитивних бактерій (стафілококів, стрептококів) і практично не впливає на грамнегативні мікроби, гриби.

Антибіотики мають відповідати наступним вимогам:
1) у дуже низьких концентраціях (10-50 мкг/мл) володіти цидною (викликати загибель мікроба) або статичною (затримувати ріст мікроба) дією;
2) бути нешкідливими і не знижувати свою активність в організмі;
3) пригнічувати ріст мікробів, не порушуючи фізіологічного стану організму.

Біологічну активність антибіотиків оцінюють в умовних одиницях, які містяться в 1 мл розчину (ОД/мл) або в 1 мг препарату (ОД/мг). У таких антибіотиків, як еритроміцин, новобіоцин, ністатин, трихоцетин та ін. одна одиниця активності еквівалентна 1 мкг препарату. За одиницю антибіотичної активності пеніциліну приймають мінімальну кількість препарату, здатну затримувати ріст штаму *Staphylococcus aureus* 209 у 50 мл поживного бульйону. Активність стрептоміцину вимірюється мінімальною кількістю антибіотика, який інгібує *Escherichia coli* в 1 мл поживного бульйону. Фактично для більшості антибіотиків 1 ОД відповідає 1 мкг хімічно чистого препарату. Однак є антибіотики, для яких існують винятки. Так, наприклад, для пеніциліну 1 ОД

відповідає 0,6 мкг, поліміксину В − 0,1 мкг, ністатину - 0,333 мкг хімічно чистих антибіотиків.

**2. Антибіотики мікробного походження**

*Антибіотики, що синтезуються грибами***.**

Продуцентами антибіотиків також є мікроскопічні гриби, головним чином дейтероміцети (*Deuteromycetes*). Широкого застосування набули антибіотики із грибів пеніцилін, цефалоспорини, трихотецин та ін.

Пеніцилін − продукт життєдіяльності пеніцилових грибів (*P. notatum, P. crustosum, P. chrysogenum* та ін.). Назва антибіотика була запропонована А. Флемінгом. Це складна речовина, що включає декілька біологічно активних сполук. Найбільш важливий з них бензилпеніцилін. Кристалічний препарат був отриманий у 1940 Х.У. Флорі та Е.Б. Рейном. У нашій країні подібний антибіотик був отриманий З.В. Єрмольєвою. Пеніцилін застосовується у вигляді калієвої, натрієвої, кальцієвої та інших солей. Природні пеніциліни діють на грампозитивні мікроорганізми, вони гальмують утворення пептидоглікану, який входить до складу клітинної стінки бактерій під час їх розмноження. На сьогодні існують напівсинтетичні пеніциліни широкого спектру дії: ампіцилін, оксацилін, ампіокс, метицилін та ін. Крім того, є напівсинтетичні пеніциліни, які доповнюють антимікробний спектр дії препаратів даної групи і використовуються для лікування хвороб, збудники яких не чутливі до пеніциліну.

Пліснявий гриб *Cephalosporium acremonium* є продуцентом декількох антибіотиків, із яких найбільш активним виявився цефалоспорин С. Цей антибіотик пригнічує ріст як грампозитивних, так і грамнегативних мікробів. Цефалоспорин С не інактивується пеніциліназою, тому є активним проти бактерій, стійких до пеніциліну. Як і пеніцилін, цефалоспорин, інгібує синтез клітинної стінки у бактерій.

Цефалоспорини мають ряд переваг над пеніцилінами: для них характерна більша кислотостійкість, вони менш чутливі до β-лактамаз, у багатьох випадках відсутні перехресні алергічні реакції з пеніцилінами. На основі природного цефалоспорину отримані сотні напівсинтетичних цифалоспоринів (цефалексін, цефалотин, цефазоліл, цефтріаксон та ін.).

*Грізеофульвін* утворюється пліснявим грибом *Penicillium griseofulvum***.** Грізеофульвін вперше був описаний як протифунгіцидний препарат, для застосування у сільському господарстві. Згодом був досліджений для лікування дерматомікозов у тварин. Показав ефективність при лікуванні трихофітії. Частина введеного грізеофульвіна депонується на поверхні волосся та епідермісі шкіри і тим самим попереджує проникнення патогенних грибів. Оскільки антибіотик діє на гриби статично, а не цидно, то після його застосування часто спостерігаються рецидиви хвороби.

*Трихоцетин* (продуцент гриб *Trichothecium roseum*) – препарат, що характеризується високою антифунгіцидною активністю, спочатку був випробуваний у рослинництві, а згодом була показана його ефективність

стосовно дерматофітів (використовується для лікування тріхофітії у тваринництві).

*Антибіотики, що синтезуються актиноміцетами*.

Антибіотики синтезуються багатьма мікроорганізмами, однак, найбільше ця властивість виражена у актиноміцетів. Більшість антибіотиків, що використовується у медичній практиці (70 %) виділено із актиноміцетів: еритроміцин, мономіцин, канаміцин, ністатин, гентаміцин та ін.

У 1943 р. виділений, а у 1944 описаний А. Штац, Е. Б'юджи та З.А. Ваксманом антибіотик із *Act. streptomycini* стрептоміцин. Антибіотик пригнічує ріст грампозитивних та грамнегативних мікробів, таких, як стафілококи, стрептококи, збудники сальмонельозів, дизентерії. Антибіотик діє на мікроби цидно. Антимікробна активність ґрунтується на пригніченні синтезу білка. Однак ще у 1946 році було встановлено, що стрептоміцин володіє загальною нейротоксичною дією, спричинює ураження центральних і периферійних відділів органів слуху та рівноваги, пригнічує дихання, порушує видільну функцію нирок. У практиці знайшли застосування інші антибіотики групи стрептоміцинів.

Канаміцин виділений у 1957 р. із культуральної рідини *Act. kanamyceticus.* Відомо три різновиди антибіотику: А, В, С. У практиці застосовують сульфат канаміцину, який добре розчинний у воді. За біологічними властивостями він схожий на стрептоміцин і неоміцин. Активний щодо збуднику туберкульозу. Цидна активність щодо мікробів більш виразна у стадії їх розмноження та в аеробних умовах. Препарат пригнічує ріст мікробів, стійких до пеніциліну, стрептоміцину, левоміцетину, тетрацикліну та інших антибіотиків. Токсичність на тваринний організм така ж, як у стрептоміцину, але нижча, ніж у неоміцину.

Неоміцин − комплекс антибіотиків, що утворюється при біосинтезі *Act. fradiae*. Неоміцин − антибіотик широкого спектру дії, однак, до нього стійкі клостридії, гриби, деякі штами синьогнійної палички. Антибіотична активність на мікроби вище, ніж у стрептоміцину, проте він ще більш токсичний, викликає втрату слуху та запальні процеси у нирках, саме тому застосовується місцево у вигляді мазей, розчинів, аерозолів.

*Тетрацикліни.* В цю групу входять антибіотики, близькі за хімічним складом і дією. Їх активно застосовують у медицині та ветеринарії, що обумовлено їх широким спектром дії.

*Хлортетрациклін* (біоміцин) виділений у 1948 р. із актиноміцета *Act. aureofaciens*. З лікувальною метою антибіотик призначають при сальмонельозах, бруцельозі та ін. інфекціях. На мікроби діє, в основному статично, пригнічуючи синтез білка.

*Дібіоміцин* діє на тих самих збудників, що і хлортетрациклін, але менш токсичний.

*Окситетрациклін (терраміцин)* − отриманий у 1949 році і синтезується *Act. rimosus*. За своїми властивостями близький до хлортетрацикліну. На відміну від хлортетрацикліну у його формулі атом хлору замінений на гідроксильну групу (ОН), звідки і назва «хлортетрациклін». Препарат володіє

незначною токсичністю, спричинює меншу подразнюючу дію на слизову оболонку шлунково-кишкового тракту.

*Тетрациклін.* Отриманий у 1953 р. із хлортетрацикліну хімічним шляхом при видаленні із його молекули атому хлору. Пізніше, у 1966 р. в результаті тривалого пошуку продуцента, цей антибіотик був отриманий шляхом біосинтезу із актиноміцету. Препарат викликає менше побічних ефектів, ніж попередники.

*Морфоциклін* − синтетичний препарат, отриманий із тетрацикліну, в якому один атом водню у карбоксильній групі заміщений групою метилморфіну. Діє на ті ж мікроби, що й тетрациклін, проте більш активний щодо мікоплазм.

Загалом, тетрацикліни спричинюють подразнення слизової шлунково-кишкового тракту, токсично діють на печінку, викликають дисбактеріоз кишечнику.

*Хлорамфенікол (лєвоміцетин)* − виділений 1947 р. Ерліхом із актиноміцета ізольованого з ґрунту *Act. venezuelae.* Антибіотик пригнічує дію багатьох мікробів, в тому числі рикетсій та спірохет. Не активний по відношенню до кислотостійких бактерій. Механізм дії полягає у інгібуванні білкового обміну. Хлорамфенікол і його препарати ефективні при шлунково-кишкових хворобах, таких як сальмонельоз, дизентерія та ін.

*Еритроміцин.* Антибіотик отримують із культуральної рідини *Act. erythreus*. За спектром дії він близький до пеніциліну, однак, пригнічує ріст пеніцилін стійких мікробів. Діє як на грампозитивні, так і на деякі грамнегативні мікроби, а також рикетсії і клостридії.

Крім того, є і інші антибіотики, отримані із актиноміцетів*:* олеандоміцин, лінкоміцин, ністатин, леворин та ін.

*Антибіотики, що синтезуються бацилами*.

Продуценти антибіотиків зустрічаються і серед спороутворюючих бактерій роду *Bacillus*. Медичне значення мають антибіотики − граміцидин із *B. brevis*, поліміксин − із *B.polymyxa*, бацитрацин − із *B.licheniformis*.

*Граміцидин.* Виділений у 1939 р. Р.Ж. Дюбо із *B. brevis.* У нашій країні граміцидин С був отриманий у 1942 р. Г.Ф. Гаузе та М.Г. Бражніковою. За хімічним складом − це циклічний пептид, в який входить п’ять амінокислот. У 1956 р. здійснений синтез антибіотику. Граміцидин активний стосовно стафілококу, стрептококу, збудників сальмонельозу, правцю, сибірської виразки, ешерихіозу та інших хвороб. Однак антибіотик володіє токсичними властивостями, зокрема викликає лізис еритроцитів, але не подразнює слизові оболонки та шкіру, тому призначається зовнішньо.

*Поліміксин В* синтезується *B.polymyxa.* Був відкритий у 1947 р. У всіх поліміксинів виразна активність щодо збудників захворювань шлунково-кишкового тракту та патогенних грибів. Цидна дія антибіотику пояснюється здатністю збільшувати проникність клітинної стінки мікробної клітини.

*Поліміксин Е* (колістин) синтезується *B.colistinus*, виділений у 1950 р. Дія антибіотику аналогічна іншим поліміксинам.

*Субтілін* − продукт *B. subtilis*. Всього із різних штамів цього продуцента виділено більше 70 антибіотиків. Володіє цидною дією по відношенню до

збудника сибірської виразки, стафілококів, мікобактерій та інших мікробів, малотоксичний. Застосовується у харчовій промисловості у якості консерванту. У сільському господарстві використовується штам *B. subtilis* № 3 для профілактики цвільового ураження кормів.

*Антибіотики, що синтезуються бактеріями.*

Із *Streptococcus lactis* отриманий антибіотик нізін. Він крім звичайних амінокислот містить лізин, гістидин, пролін, метіонін, ізолейцин, а також лактіонін та β-метиллатіонін. Нізін пригнічує ріст стафілококів, стрептококів, сарцин, бацил. Антибіотик застосовується у харчовій промисловості. Отримано ряд антибіотиків із бактерій роду *Pseudomonas*.

Таким чином, мікроорганізми залишаються перспективним джерелом одержання антибіотиків. Крім того, у медичній практиці широкого впровадження набули напівсинтетичні антибіотики, які представляють собою хімічні модифікації природних антибіотиків. Так, на основі пеніцилінового ядра 6-амінопеніциланової кислоти (6-АПК) отримано за допомогою реакції ацилювання різноманітні синтетичні пеніциліни. 6-АПК отримують із пеніциліна ферментативним гідролізом під дією дезацилаз, які, в свою чергу, отримують із *E.coli, B.subtilis, Nocardia*.

**3. Антибіотики рослинного та тваринного походження.**

*Антибіотики рослинного походження.*

Антибіотики отримують також із рослин (із зверобію отриманий антибіотик іманін, часнику – алліцин).

**Фітонциди** − біологічно активні речовини вищих рослин. Вони вперше були описані вченим Б.П. Токіним. Найбільше фітонцидів міститься у цибулі, хроні, часнику, гірчиці, алое, кропиві, бруньках берези та інших рослинах. У хвойному лісі повітря майже стерильне. На площі 1 га дерева у хвойному лісі літком виділяють за добу до 5 кг летких фітонцидів. Багато фітонцидів виділяє хвойних кущ ялівець, дерево лавру, кімнатні рослини − бегонія, герань тощо. Основною складовою частиною фітонцидів є ефірні олії, що згубно діють на мікроорганізми. Фітонциди використовують у медицині, для зберігання м'ясних та рибних продуктів.

*Алліцин* − представляє собою фітонцид часнику. Виділений і вивчений у 1944 р. американським вченим К. Кавалліто та його співробітниками. У непошкодженому часнику фітонцид знаходиться у формі неактивного алліну, який немає запаху і не володіє антимікробними властивостями. У 1948 р. А. Штоллєм та Е. Сибеком (Швейцарія) було встановлено, що запах часнику проявляється за умов дії на аллін ферменту аллінази, який знаходиться у вакуолях, а субстрат у цитоплазмі. При порушенні цілісності зубка часнику субстрат і фермент вступають у взаємодію, внаслідок чого аллін перетворюється у амінокислоту алліцин з характерним специфічним запахом. Сполука, що утворилась, нестійка і руйнується протягом двох днів при кімнатній температурі. Алліцин пригнічує розвиток багатьох грампозитивних та грамнегативних мікробів. Фітонциди частіше застосовують зовнішньо при лікуванні інфікованих ран. Лікувальні властивості часнику були давно відомі у

Китаї, Єгипті, Середній Азії та ін. Його застосовували для профілактики та лікування захворювань різної етіології. Фітонциди часнику ефективні при хворобах шлунково-кишкового тракту, дихальних шляхів, інших органів. Часник застосовують у консервуванні і зберіганні сільськогосподарської продукції. Завдяки більш стійкій сполуці часнику диаллілдисульфіду консервовані продукти зберігають протягом тривалого часу запах і смак. Крім ефірних олій часник містить також вітаміни, мікроелементи та інші речовини, що сприяють підвищенню резистентності організму. Не дивлячись на високу ефективність фітонциду, його застосування стримується швидкою втратою активності та підвищеною токсичністю.

*Рафанін* виділений у 1947 році із насіння редису. Із 1 кг насіння отримують лише 3 г чистого рафаніну. В інших частинах рослини фітонциди не виявлені. В насінні рафанін міститься у вигляді проантибіотику, який під дією ферменту перетворюється у фітонциди. Рафанін за концентрації 40-200 мкг/мл пригнічує розвиток грампозитивних та грамнегативних мікробів.

*Новоіманін,* як і його попередник *іманін,* отриманий із зверобію звичайного і описаний у 1959 р. Новоіманін − складний (неоднорідний за складом) препарат, володіє більш високою, ніж інші фітонциди, антимікробною активністю. Основна діюча речовина − антибіотик гіперфорін, вміст якого досягає 10-20 %. Пригнічує ріст грампозитивних мікробів, особливо стафілококів, стійких до інших антибіотиків. Випускається у вигляді 1%-ного водного розчину.

*Сальвін* виділений із шавлії лікарської (1959). Представляє собою смолоподібну масу, яка добре розчиняється в органічних розчинниках. Препарат термостабільний. Спричинює цидну дію на грампозитивні мікроби. Застосовується місцево для лікування хронічних запальних процесів слизової оболонки. Випускається у вигляді 1%-ного водного розчину.

Отримані і інші фітонциди із рослин: крепін, томатин та ін.

*Антибіотики тваринного походження***.**

У 1909 р. П.Н. Лащенков (вчений Томського університету) помітив, що куряче яйце не розкладається до повного висихання, якщо його вилити у чашку і залишити при доступі атмосферного повітря. Цей факт наштовхнув вченого на ідею про те, що білок курячого яйця володіє властивостями перешкоджати росту мікроорганізмів. У 1922 р. А. Флемінг виявив, що такими ж властивостями володіє не тільки білок курячого яйця, а і інші виділення тварин і рослин. Речовину, що обумовлювала дані властивості, він назвав лізоцим. У нашій країні вивченням лізоциму займалась З.В. Єрмольєва та інші дослідники. Встановлено, що його найбільша кількість міститься у курячому яйці (титр 1:60 000 000), сльозах (1: 40 000), виділеннях слизової носа (1:13 500), менше у слині (1:300), сироватці крові (1:270) та інших тканинах.

*Лізоцим* (мурамідаза) викликає лізис мікробів, при цьому перш за все руйнується оболонка. Він неспецифічний, а тому діє на значну кількість мікроорганізмів: більш чутливі до нього грампозитивні, менше − грамнегативні бактерії. Лізоцим нетоксичний, він подібно до біостимулятора активізує захисні сили і є фактором фізіологічного імунітету. У зв’язку з цим стає зрозумілою біологічна роль сльозової рідини, слини, слизу носу.

*Екмолін* − малоочищений біологічний препарат, отриманий у 1950 році із тканин риб З.В. Єрмольєвою. Затримує ріст грампозитивних та грамнегативних мікробів, малотоксичний. Посилює дію пеніциліну та стрептоміцину. Застосовується як пролонгатор інших антибіотиків. Отриманий антибіотик екмоновоциллін, який представляє собою суміш пеніцилінової солі та водного розчину екмоліну.

*Інтерферон* − глюкопротеїд з молекулярною масою від 12 до 160 кДа, універсальний фактор неспецифічної резистентності. Відкритий у 1957 р. А. Айзексом і Дж. Лінденманом. Синтезується клітинами хребетних (клітини кісткового мозку, лімфоцити, макрофаги та ін.) під впливом природних та синтетичних індукторів. Найбільш активними природними індукторами інтерферону є віруси. У меншій мірі такою властивістю володіють інші мікроорганізми і продукти їх життєдіяльності. Інтерферон стійкий до низьких температур, кислот та лугів (pH 2-10), ультрафіолетових променів, нечутливий до деяких ферментів (нуклеаз, ліпаз). На віріони і нуклеїнову кислоту, що в них міститься, інтерферон безпосередньо не діє. Він стимулює синтез білка, який інгібує репродукцію збудника і тим самим попереджає розвиток інфекційного процесу. Препарат нетоксичний, його застосовують для лікування та профілактики респіраторних та інших вірусних інфекцій. Відомі три типи інтерферонів, різних за походженням і фізико-хімічним властивостям: α-інтерферон утворюють лейкоцити, β-інтерферон − клітини сполучної тканини, γ-інтерферон − Т-лімфоцити. У 1981 р. М. Едж із співробітниками синтезували ген лейкоцитарного інтерферону людини, який ідентичний гену, що міститься в клітинах організму. У 1982 році бактеріальний інтерферон методом генної інженерії був синтезований і в нашій країні.

**5. Загальні відомості про механізм дії антибіотиків. Резистентність до антибіотиків.**

Характер і механізм біологічної дії антибіотиків обумовлені специфікою хімічної будови препарату та особливостями структури і хімічного складу бактеріальної клітини. Наприклад, мішенню для пеніциліну є клітинна стінка. У склад клітинної стінки бактерій входить гетерополімер пептидоглікан (муреїновий комплекс), який утворює жорсткий каркас клітинної стінки. Пеніцилін порушує процес утворення нормального гетерополімеру, клітини позбавлені жорсткого каркасу клітинної стінки, в результаті незбалансованого росту сильно збільшуються у розмірах, набувають форми сферопластів. Різниця грампозитивних та грамнегативних бактерій у чутливості до пеніциліну обумовлені різницею у будові клітинної стінки: у грампозитивних бактерій у клітинній стінці до 90 % глікопептида, у грамнегативних − не перевищує 5-10 %. Муреїновий шар клітинної стінки грамнегативних бактерій вкритий білковим шаром, а також ліпополісахаридом і ліпопротеїдом, що утруднює доступ до нього пеніциліну. До числа антибіотиків, що пригнічують синтез клітинної стінки чутливих бактерій, відносяться Д-циклосерин, цефалоспорин.

Стрептоміцин відноситься до аміноглікозидних антибіотиків. Цей антибіотик інгібує синтез білка, завдяки вибірковій дії на 30S-субодиницю рибосом. Тобто мішенню є один із білків рибосом прокаріот.

Інгібуючий ефект тетрациклінів обумовлений порушенням зв'язування аміноацил-т-РНК з рибосомально-матричним комплексом завдяки взаємодії з 30S-субодиницю рибосом у якості мішені. Механізм антибактеріальної дії левоміцетину полягає у пригніченні пептидилтрансферазної реакції, завдяки зв'язуванню з 50S-субодиницю рибосом, в результаті чого припиняється синтез білка в бактеріальній клітині.

Леворин та ністатин − полієнові антибіотики складної хімічної будови. Механізм їх дії обумовлений вибірковим зв'язуванням з цитоплазматичною мембраною, яке здійснюється завдяки взаємодії з її стериновими компонентами. Це призводить до порушення проникності цитоплазматичної мембрани, втрати клітиною життєво важливих низькомолекулярних речовин і, врешті решт, до її загибелі.

*Резистентність до антибіотиків.*

Багато антибіотиків поступово втратили свою ефективність у зв'язку з формуванням мікроорганізмами резистентності до них. Наприклад, багато штамів стафілококів, що виділяють на даний час, за рідкими виключеннями, резистентні до пеніциліну та ін. антибіотиків. З'явились штами бактерій, які володіють множинною резистентністю до антибіотиків. Резистентність мікроорганізмів до лікарських препаратів може бути природною або набутою. Природна стійкість обумовлена відсутністю у мікроорганізмів «мішені» для дії антибіотику, т.б. такої ланки у ланцюгу метаболічних реакцій, яка б блокувалась під дією препарату. Набута стійкість може бути обумовлена мутаціями в хромосомних генах, що контролюють синтез компонентів клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани, рибосомних та транспортних білків. Такого роду мутації змінюють «мішень» і роблять клітину стійкою для антибіотику. Хромосомні мутанти звичайно стійкі до одного або декількох антибіотиків близької хімічної структури. Частіше всього набута резистентність виникає в результаті переносу плазмід (R-фактор), що контролюють множинну резистентність до антибіотиків. Плазміди включають комплекс генів, що кодують синтез ферментів, які руйнують або модифікують структуру антибіотику, з чим і пов'язана втрата його активності. Так, стійкість *S. aureus* до пеніциліну обумовлена наявністю локалізованих у плазмідах генів β-лактамази, що розщеплює пеніцилін до неактивної пеніцилінової кислоти. Плазміди *E.coli* детермінують синтез ферментів, які мають здатність до аденілування, форфорилювання або ацелювання аміноглікозидних антибіотиків і таким чином попереджують згубну дії цих антибіотиків на чутливі до них мікроорганізми.

Для подолання лікарської резистентності бактерій необхідно постійне поповнення арсеналу хіміотерапевтичних препаратів новими, які б відрізнялись від існуючих механізмом дії. Перспективним напрямком є хімічна модифікація вже існуючих антибіотиків, пошук інгібіторів бактеріальних ферментів, що інактивують антибіотики.

**6. Оцінка чутливості мікробів до антибіотиків**.

Оцінка чутливості мікробів до антибіотиків та вивчення їх фармакокінетики в організмі хворого є основними лабораторними показниками, які при їх співставленні дозволяють прогнозувати ефективність антибактеріальної терапії. Крім того, результати визначення антибіотикочутливості використовують як маркер, що дозволяє виявляти та контролювати зміни антибіотикограми збудників у динаміці; використовувати детермінанти резистентності, які найчастіше зустрічаються, або їх сполучення як додаткові маркери при діагностиці внутрішньо лікарняних інфекцій; для виявлення джерел інфікування та шляхів розповсюдження полірезистентних штамів. Такі дані, одержані та узагальнені у різних регіонах країни протягом фіксованих проміжків часу, використовуються при формуванні політики антибактеріальної терапії та визначенні номенклатури антибіотиків, які випускаються в країні.

Найбільш розповсюдженими методами визначення антибіотикочутливості збудників інфекцій є диско-дифузійний (метод дисків) та серійних розведень.

Поживні середовища для визначення чутливості бактерій до антибіотиків повинні відповідати таким вимогам:

- бути стандартними та забезпечувати оптимальні умови росту мікроорганізмів;
- не містити інгібіторів бактеріального росту і великої кількості стимуляторів;
- не містити речовин, що пригнічують активність препаратів.

На результати дослідження може суттєво впливати значення pH середовища. Найдоцільніше вибирати нейтральне або дещо лужне середовище (pH 7,0-7,4), оскільки ці значення придатні для більшості антибіотиків. При визначенні чутливості бактерій використовують бульйон і 1,5-2 % агар на переварі Хоттінгера, звичайний м'ясо-пептонний бульйон і 1,5-2 % агар на ньому, середовище АГВ (агар Гівенталя-Вєдьміної). Вони придатні при визначенні антибіотикочутливості стафілококів, ентеробактерій, псевдомонад. Однак стрептококи та гемофільні бактерії вимагають добавки ростових факторів; дріжджі та анаеробні бактерії − спеціальних середовищ і певних умов культивування. На результати визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків-аміноглікозидів, поліміксинів, тетрациклінів впливає вміст у поживних середовищах катіонів кальцію, магнію, що особливо важливо при дослідженні *Ps. aeruginosa*. Оптимальний вміст - 50 мг/л $Ca^{2+}$ і 25 мг/л $Mg^{2+}$.

### *Контрольні питання*

1. Дайте визначення терміну антибіотик.
2. Наведіть приклади антибіотиків мікробного походження та їх продуцентів?
3. Які антибіотики продукуються бацилами? Наведіть приклади, вкажіть продуцента.
4. Наведіть приклади антибіотиків, що продукуються актиноміцетами.
5. Як називаються антибіотики рослинного походження, наведіть приклади.
6. Які антибіотики мають тваринне походження?
7. Чим обумовлений інгібуючий ефект тетрациклінів?
8. Якими механізмами обумовлена резистентність до антибіотиків?

9. Як оцінюють біологічну активність антибіотиків?
10. Яким вимогам повинні відповідати поживні середовища для визначення антибіотикочутливості бактерій?

### *Література*

1. Асонов Н.Р. Микробиология. − 4-е изд., перераб. и доп. − М.: Колос, 2002. − 352 с.
2. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. − М.: Мед. информ. агентство, 2002. − 734 с.
3. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології: Навчальний посібник. − К.: Либідь, 2001. − 144 с.
4. Егоров Н.С. Основы учения о антибиотиках. – М.: Высшая школа, 1986. − 455 с.
5. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для мед. Вузов. – 2-е изд. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 591 с.
6. Медицинская микробиология / Под. ред акад. РАМН В.И. Покровского, проф. О.К. Поздеева. М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 1184 с.
7. Микробиология. К.Д. Пяткин, Ю.С. Кривошеин. − М.: Медицина, 1980. − 512 с.

## ТЕМА 3. МІКРООРГАНІЗМИ ТА КРУГООБІГ РЕЧОВИН В ПРИРОДІ

1. Загальні відомості про кругообіг речовин в природі.
2. Кругообіг азоту.
3. Кругообіг вуглецю.
4. Кругообіг сірки.
5. Кругообіг заліза.
6. Кругообіг фосфору.

### 1. Загальні відомості про кругообіг речовин в природі

Постійна взаємодія абіотичних факторів і живих організмів екосистеми супроводжується безперервним кругообігом необхідних для життя хімічних елементів. Цей зв'язок між різними компонентами біосфери, рух органічних і мінеральних сполук, що постійно чергуються, називається **кругообігом речовин**. В кожній екосистемі відбувається кругообіг речовин як результат екофізіологічного зв'язку автотрофів і гетеротрофів. Різні види організмів із цих груп безперервно шукають і поглинають речовини, необхідні для їх росту, життєдіяльності і відтворення та відкладають у навколишнє середовище мінеральні і органічні речовини − продукти власного метаболізму. Всім живим істотам на Землі необхідні одні і ті самі хімічні елементи: N, C, H, O, S, P та ін. Серед більш ніж 90 елементів, які зустрічаються у природі, 30-40 необхідні живим організмам. Однак різні групи організмів потребують різні форми цих елементів. Так, тваринам азот і вуглець необхідні у формі органічних сполук, рослинам у вигляді мінеральних сполук, а, в решті решт, і тваринні, і рослинні організми всі біологічно важливі речовини перетворюють в органічні сполуки власного тіла і продукти виділення: сечу, екскременти, кореневі виділення. Повернення цих елементів у доступну форму для рослин і тварин здійснюють мікроорганізми. Мікроорганізми відіграють основну роль у кругообігу речовин, мінералізуючи органічні залишки і замикаючи, таким чином, біологічні цикли екосистеми.

Щороку на суші утворюється близько $10^{11}$ т фітомаси, частину її (близько 20 %) поїдають тварини і повертають у ґрунт з екскрементами. Доповнюють біомасу прижиттєві виділення коренів і сама коренева система, що становить від 20 до 90 % фітомаси рослини. Мікроорганізми розкладають ці значні обсяги органічних речовин, рослинні залишки, виділення і трупи тварин на розчинні, доступні для засвоєння рослинами мінеральні елементи або газоподібні сполуки, які повертаються в ґрунт, воду і атмосферу. Із мінеральних сполук знову синтезується органічна речовина. Трансформація органічних сполук та обмін газоподібних продуктів мікробного метаболізму супроводжуються взаємодією мікроорганізмів ґрунту з його первинними і вторинними мінералами.

Елементи, без яких неможлива життєдіяльність живого організму, називаються біогенними. Насамперед це азот, вуглець, сірка, фосфор та близько 30 інших елементів. З них деякі (вуглець, кисень, азот, фосфор, сірка) необхідні організмам у великих кількостях, це так звані макроелементи, інші − такі, як

Na, K, Ca, Mn, Zn − у малих або навіть мізерних кількостях (мікроелементи). Хімічні елементи, в тому числі всі основні елементи протоплазми, в біосфері циркулюють за характерними більшою чи меншою мірою замкненими шляхами із зовнішнього середовища в організм, і навпаки. Ці шляхи називають **біогеохімічними циклами.**

**2. Кругообіг азоту**

У природі постійно відбувається кругообіг азоту, в якому приймають участь рослини, тварини, мікроорганізми. Останні здійснюють мінералізацію мертвих залишків, переводять азот органічних речовин в мінеральну форму (амонійні солі, солі азотистої та азотної кислот, молекулярний азот і аміак), а також в органічні речовини своїх клітини. В цикл перетворення азоту входять реакції синтезу складних азотистих сполук і реакції мінералізації органічних азотовмісних речовин до мінеральних форм азоту. Цикл азоту складається з 4-х етапів:

I. Амоніфікація.

II. Нітрифікація.

III. Денітрифікація.

IV. Фіксація молекулярного азоту.

**Амоніфікація.**

Рослини у процесі своєї життєдіяльності можуть засвоювати тільки мінеральні форми азоту. Завдяки ґрунтовим мікроорганізмам відбувається мінералізація органічного азоту рослинних і тваринних білків з утворенням аміаку, а в кінцевому рахунку азоту. Цей процес отримав назву амоніфікації, або гниття, а мікроорганізми, що його викликають, називають амоніфікуючими. Отже, **амоніфікація** – це процес розкладу органічних азотовмісних сполук з утворенням аміаку. Амоніфікації підлягають речовини різної структури – білкові, аміноцукри, нуклеїнові кислоти, сечовина та інші. В амоніфікації приймає участь багато видів мікроорганізмів, але найбільш активну участь у розкладі білкових речовин приймають грампозитивні спороутворюючі палички, які відносяться до роду *Bacillus* (*B. subtilis, B. megaterium*), із безспорових до групи амоніфікаторів входять представники роду *Pseudomonas, Micrococcus, Proteus, Arthrobacter, Mycobacterium*.

На першому етапі білки поза мікробною клітиною розщеплюються бактеріальними протеолітичними екзоферментами, які каталізують розщеплення пептидних зв’язків, на окремі фрагменти – пептиди. Останні поглинаються клітиною і розщеплюються внутріклітинними протеолітичними ферментами до окремих амінокислот. Подальше їх перетворення можливе двома шляхами:

1) амінокислоти використовуються безпосередньо у конструктивному метаболізмі для побудови білкових молекул;

2) амінокислоти служать основним матеріалом в енергетичних процесах;

В останньому випадку метаболізм білків починається з декарбоксилування або дезамінування. В результаті декарбоксилування амінокислот утворюється $CO_2$ та первинні аміни:

$$R\text{-}CHNH_2 - COOH \rightarrow R\text{-}CH_2NH_2 + CO_2;$$

Найбільш відомі з них путресцин та кадаверин, які виникають при декарбоксилуванні орнітину та лізину при анаеробному розкладі білка.

Дезамінування – відщеплення аміногрупи від амінокислоти, яке призводить до вивільнення азоту у вигляді аміаку. Доля вуглеводного скелету амінокислоти при дезамінуванні різна.

Процес може відбуватись при допомозі молекулярного кисню:

1) $R\text{-}CHNH_2 - COOH + ½\ O_2 \rightarrow R\text{-}CO\text{-}COOH + NH_3$;

При участі НАД- залежних дегідрогеназ:

2) $R\text{-}CHNH_2 - COOH + НАД^+ + H_2O \rightarrow R\text{-}CO\text{-}COOH + НАД\cdot H_2 + NH_3$;

У формі гідролізу:

3) $H_2N{-}CO{-}NH_2 + H_2O \rightarrow 2\ NH_3 + CO_2$.

Дезамінування, при якому відбувається окислення (1, 2) або гідролітичне (3) перетворення вуглецевого скелету амінокислот, отримало назву окисного та гідролітичного дезамінування відповідно.

При дезамінуванні деяких амінокислот (аланіну, аспарагінової, глютамінової кислот) утворюється α-кетокислоти (піровиноградна, α-кетоглутарова, щавелевооцтова), які є проміжними продуктами клітинного катаболізму. Більшість утворених при цьому органічних кислот піддається попереднім перетворенням, які призводять до появи сполук, здатних прямо включатись в основні катаболітичні цикли клітини.

Амоніфікацію нуклеїнових кислот викликають мікроорганізми, що продукують нуклеази. ДНК-ази і РНК-ази знайдені у багатьох мікроорганізмів, наприклад *B. megaterium*. При розкладі нуклеїнових кислот також вивільняється аміак.

Амоніфікацію сечовини здійснюють мікроорганізми, які продукують фермент уреазу. Мікроорганізми, що розкладають сечовину, були відкриті у 1862 р. Л. Пастером і названі уролітичними. Останні мешкають у ґрунті, рубці жуйних тварин, стічних водах (*Micrococcus urea*, *Planosarcina urea*, *Bacillus probatus*).

Процес амоніфікації у побуті відомий як гниття, оскільки в результаті нього відбувається накопичення продуктів, які мають специфічний запах: сірководню, метилмеркаптану, первинних амінів, відомих під назвою трупних токсинів.

Роль амоніфікаторів в природі важко переоцінити. Вони здійснюють мінералізацію білків рослинних і тваринних залишків до $CO_2$, $NH_3$, $H_2S$. Аміак, що вивільняється при мікробному розкладі азотовмісних сполук, частково сполучається з кислотами з утворенням амонійних солей; частково використовується гетеротрофними мікроорганізмами, перетворюючись у мікробні білки; частина аміаку виділяється в атмосферу; частина окислюється до азотистої та азотної кислоти.

**Нітрифікація.** Окиснення аміаку до азотистої і азотної кислот здійснюється в процесі **нітрифікації**. Процес нітрифікації двохфазний. Кожна з фазі здійснюється специфічними групами бактерій. За С.Н. Виноградським, першу фазу – окиснення амонійних солей до солей азотистої кислоти (нітритів) –

здійснюють представники родів *Nitrosomonas, Nitrosocystis, Nitrospira, Nitrosovibrio, Nitrosolobus.*

$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + \text{енергія};$$

Другу фазу – окислення нітритів до нітратів – здійснюють бактерії роду *Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospina.*

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 + \text{енергія}.$$

Всі нітрифікуючі бактерії об'єднані у родину *Nitobacteriaceae*, яка нараховує 7 родів.

Нітрифікатори обох фаз – облігатні аероби або мікроаерофіли, більшість облігатні автотрофи, їм не потрібна наявність органічних речовин, оптимальна температура їх розвитку 28-30 С°, вони самі синтезують органічні сполуки з неорганічних, необхідну для цього енергію отримують в результаті реакцій окиснення. Основним джерелом вуглецю для нітріфікуючих бактерій є $CO_2$ повітря, асиміляція якого здійснюється в циклі Кальвіна, а необхідна для цього енергія поступає в результаті окиснення аміаку.

Нітрифікація відбувається у ґрунті, озерах, морях, океанах. Нітрифікуючі бактерії поширені майже в усіх ґрунтах, в великій кількості вони зустрічаються в поверхневих горизонтах. Динаміка нітрифікації в ґрунті залежить від процесу амоніфікації. Будь-які ґрунтові умови, які гальмують утворення аміаку, затримують і нітрифікацію, оскільки цей процес може проходити лише при наявності амонійних сполук. Процес нітрифікації, з одного боку, забезпечує рослини азотом у доступній для них формі, з іншого – нітрати значно легше і швидше вимиваються з ґрунту, ніж амонійні солі. Тому інтенсивна нітрифікація може призводити до збіднення ґрунтів азотом.

Нітрати, що утворилися, у ґрунті піддаються подальшим перетворенням:

1) вони можуть бути використані вищими рослинами;

2) можуть вимиватись у водойми;

3) використовуватись мікроорганізмами у якості джерела азоту;

4) відновлюватись мікроорганізмами до молекулярного азоту і аміаку.

**Денітрифікація.** Денітрифікацією в широкому розумінні – відновлення, в результаті якого азот переходить в менш окиснену форму, ніж в нітратах. Денітрифікацією у вузькому розумінні називають відновлення нітратів до нітритів і далі до молекулярного азоту. Цей процес призводить до втрати певної кількості ґрунтового азоту і поверненню його в атмосферу.

В залежності від того, які мікроорганізми приймають участь у процесі денітрифікації, розрізняють пряму денітрифікацію і опосередковану. Пряма денітрифікація здійснюється мікроорганізмами, які здатні відновлювати нітрати, використовуючи їх в якості акцепторів водню при окисненні органічних речовин. Здатністю до прямої нітрифікації володіють багато ґрунтових мікроорганізмів. Найбільш активними серед них є *Micrococcus denitrificans*, деякі бацили. Мікроби-денітріфікатори мають дві системи денітрифікації: цитохромну (дисиміляційну) і флавопротеїдну (асиміляційну). Наявність цих двох систем забезпечує два шляхи відновлення нітратів: асиміляційний (неспецифічний) і дисиміляційний (специфічний).

Асиміляційна денітрифікація проходить з утворення аміаку, який асимілюється організмом і включається в метаболізм. Нітрати використовуються тут як джерело азоту.

Дисиміляційна денітрифікація здійснюється мікроорганізмами для отримання енергії і її кінцевим продуктом є молекулярний азот.

$$NO_3 \xrightarrow{H_2} NO_2 \xrightarrow{H_2} NO \xrightarrow{4H} NH_2OH \xrightarrow{H_2} NH_3 + H_2O;$$

асиміляційна денітрифікація

$$NO_3 \xrightarrow{H_2} NO_2 \xrightarrow{H_2} NO \xrightarrow{-H_2O} N_2O \xrightarrow{H_2} N_2 + H_2O.$$

дисиміляційна денітрифікація

Більшість денітрифікаторів хемаорганотрофи. Використання в якості кінцевого акцептору електронів нітратів дозволяє їм окиснювати органічні субстрати до $CO_2$ і води. Однак є один вид денітрифікаторів, який здатний засвоювати $CO_2$ повітря (*Thiobacillus denitrificans*).

Денітрифікуючі бактерії належать до факультативно анаеробних видів, які переключаються на денітрифікацію тільки при відсутності кисню. В аеробних умовах ці мікроорганізми окиснюють органічні речовини. В клітинах денітрифікаторів є ферментативна система, яка активізує кисень нітратів, – нітратаза, і система, яка активізує молекулярний кисень. В анаеробних умовах функціонує перша ферментативна система, в аеробних – друга.

Опосередкована денітрифікація – чисто хімічний процес, реакція відновлення, яка проходить при взаємодії нітритів з аміносполуками, що утворюються в результаті життєдіяльності різних мікробів. В результаті таких реакцій також утворюється молекулярний азот. Мікроорганізмам в цих реакціях належить опосередкована роль: вони утворюють речовини, що вступають у взаємодію – нітрити і аміносполуки. Опосередкована денітрифікація проходить тільки у кислому середовищі, і значення її не суттєве.

Денітрифікації сприяє слабка аерація ґрунтів, висока вологість, наявність достатньої кількості органічних сполук. Дисиміляційна денітрифікація приводить до збідніння водойм і ґрунтів зв’язаним азотом. Однак денітрифікацію не слід розглядати як процес, який завжди призводить до зменшення азоту в ґрунті. Частина проміжних продуктів дентірифікації засвоюється рослинами. Відмічають позитивну роль денітрифікаторів у ризосфері рослин, враховуючи те, що останні здатні синтезувати речовини, які стимулюють ріст рослин.

**Азотфіксація.** Зв’язаний азот − дефіцитний компонент біосфери, який обмежує ріст і утворення біомаси на суші і в морі. Так, джерелом азоту для рослин є мінеральний азот ґрунту, де його порівняно небагато – до 150 кг/га. Значну часту азоту (у доступній для рослин формі) кожний рік виносять сільськогосподарські культури. За рахунок біологічної фіксації суттєво поповнюється азотний фонд ґрунту. В результаті зв’язування $N_2$ бульбочковими бактеріями в симбіозі з рослинами родини бобових ґрунт щорічно збагачується азотом у кількості 100-200 кг/га. Молекулярний азот

атмосфери не доступний вищим рослинам, його фіксують тільки прокаріоти. Мікроорганізми фіксують азот ґрунтового повітря, атмосфери, де вміст елементу складає 79 %.

Буссенго (1838) першим вказав на те, що конюшина та інші бобові збагачують ґрунт азотом. Заслугою Гельригеля і Вільфарда (1886 – 1888) стало встановлення зв'язку між фіксацією азоту та кореневими бульбочками бобових. С.Н. Виноградський (1893) і М. Бейєринг (1901) ізолювали із ґрунту мікроорганізми (*Clostridium pasterianum* і азотобактер), здатні фіксувати молекулярний азот із повітря. Їх назвали азотфіксаторами. За рахунок діяльності азотфіксаторів у ґрунт щорічно поступає 60-75 % азоту від загального його вмісту в ґрунті. В результаті чисельних досліджень виявлено цілий ряд нових мікроорганізмів, які володіють здатністю засвоювати азот атмосфери (анаеробні клостридії, сульфатредукуючі бактерії, фотосинтезуючі спірили, актиноміцети, гриби, синьо-зелені водорості тощо).

Азотфіксуючі бактерії можна розділити на дві групи: вільноживучі і симбіотичні, які співіснують з вищими рослинами.

*Вільноживучі азотфіксатори.* Класичні представники цієї групи мікроорганізмів – аеробні бактерії роду *Azotobacter* і анаеробна паличка *Clostridium pasterianum*. Крім того, до вільноживучих азотфіксаторів належать синьо-зелені водорості, метанутворюючі, десульфатуючі бактерії, а також *Aerobacter*, *Achromobacter*.

*Clostridium pasterianum* – бактерії, виділені С. Н. Виноградським у 1893 р., представляють собою спороутворюючі грампозитивні анаеробні палички клостридіальної форми, що мають розміри 1,5×10 мкм, при утворенні спор потовщуються і набувають веретеноподібної форми, межі pH – 5,5-8,0. Широко поширений в усіх ґрунтах, особливо в погано аерованих.

Азотобактер був виділений в чисту культуру Бейєрінком в 1901 році. Це грамнегативні поліморфні палички, які з віком можуть мати форму диплококів, вкриті товстою слизовою капсулою. Молоді клітини рухомі завдяки наявності джгутиків, розміщених по всій поверхні клітини. З віком їх кількість скорочується, і з появою капсули рухливість припиняється. Характерна особливість азотобактера – різко виражений поліморфізм. Залежно від умов культивування клітини можуть мати найрізноманітніші форми – нитковидні, веретеноподібні, колбовидні. Для азотобактера характерно те, що він розвивається на безазотних мінеральних середовищах з утворенням слизистих опуклих колоній темно-коричневого кольору (*Azotobacter chroococcum*), жовтого (*A. vinelandii*) та інших кольорів. При культивуванні на азотних середовищах втрачає здатність до азотфіксації. Оптимальна температура для розвитку – 28 С°, мінімальна – 9–5 С°, гине при нагріванні протягом 30 хв. при 45–50 С°. Оптимальна pH – 7,2–7,4, діапазон pH – 5,8–10. Суворий аероб. Джерелом вуглецю і енергії для азотобактера служать вуглеводи, спирти, органічні кислоти. Джерелами азоту, крім молекулярного, можуть бути солі амонію, нітрити, нітрати, амінокислоти, сечовина. Морфологічну схожість до азотобактеру мають аеробні азотфіксуючі мікроорганізми роду *Beijerinkia*. Від

азотобактера ці бактерії відрізняються повільним ростом і високою кислотостійкістю (pH=3,0).

До вільних азотфіксаторів належать також мікобактерії, фотосинтезуючі бактерії, деякі актиноміцети. Істотну роль у азотфіксації відіграють синьо-зелені водорості, які забезпечують ґрунт азотом на рисових полях (30-50 кг/га у рік). У чистих культурах здатність до азотфіксації виявлена у 40 видів синьо-зелених водоростей.

Поряд з вільноживучими азотфіксуючими бактеріями в ґрунтах мешкають *симбіотичні азотфіксатори* – бульбочкові бактерії. Останні були виявлені М.С. Вороніним у 1866 році на корінні люпину і вільхи у бульбочках. Через 20 років Г. Гелльригель і Г. Вільфарт доказали, що бульбочкові бактерії фіксують азот атмосфери, внаслідок чого в ґрунті під бобовими рослинами навіть після збору врожаю азоту більше, ніж було до посіву. Азотфіксатори були виділені в 1888 році Бейєрінком з бульбочок бобових рослин. Ці мікроорганізми були віднесені до роду *Rhizobium* (гр. *rhizo* – корінь; *bios* – життя) родини *Pseudomonadaceae.* Це грамнегативні рухомі палички, не утворюють спор, строгі аероби. Фіксацію молекулярного азоту здатні здійснювати тільки у симбіозі з рослинами.

Бульбочкові бактерії зустрічаються там, де ростуть бобові рослини, хоча можуть жити в ґрунтах і у вільному стані. Бульбочкові бактерії характеризуються певною специфічністю щодо рослин, тобто вони можуть вступати в симбіоз з певним видом бобової рослини. Ця специфічність покладена в основу їх класифікації. Розрізняють наступні види бульбочкових бактерій: бактерії конюшини – *Rh. trifolii*, квасолі – *Rh. phaseoli*, люпину – *Rh. lupini*, сої – *Rh. japonicum*, бобів, гороху, віки – *Rh. leguminosarum.*

Щорічно за рахунок азотфіксації бульбочковими бактеріями в ґрунт поступає 100-200 кг/га.

Зараження кореневої системи рослин відбувається тільки через молоді кореневі волоски. Бактерії проникають через кінець або біля кінця кореневого волоска та ростуть у формі нитки (інфекційна нитка) до його основи. Такі нитки, оточені целюлозною оболонкою, проникають крізь стінки епідермісу у кору кореня та стимулюють поділ тетраплоїдної клітини кореня та сусідніх диплоїдних клітин. Інфекційні нитки розгалужуються і розподіляються по тетраплоїдним клітинам. Результатом такого розростання тканин є утворення бульбочок. Бактерії у бульбочках розмножуються дуже швидко і розташовуються окремо або групами в цитоплазмі рослинних клітин. У молодих бульбочках більшість бактеріальних клітин паличковидної форми, згодом бактеріальні клітини збільшуються у розмірі у 10-12 разів і змінюють свою форму (бактероїди). У таких бульбочках відбувається фіксація азоту. Між бактеріями та рослинами встановлюються симбіотичні відносини, які можна визначити як мутуалізм: бактерії живляться вуглецьвмісними речовинами, що виробляють рослини в процесі фотосинтезу, а рослини засвоюють азотисті сполуки, які утворюють бактерії з молекулярного азоту.

Тканина, заповнена бактеріями, має червонуватий колір і містить фермент **леггемоглобін**, який є речовиною спорідненою з гемоглобіном. Цей пігмент

був відкритий в результаті спектроскопічного дослідження червоного пігменту бульбочок сої і є єдиним представником гемоглобінів, виявлених у рослинному світі. Його утворення можливе лише в симбіозі бактерій з рослинами. Молекулярний азот фіксують тільки ті бульбочки, які містять леггемоглобін. Леггемоглобін розглядають як необхідний фактор симбіотичної азотфіксації, в якій він відіграє функцію регулятора парціального тиску кисню і транспорта електронів в азотфіксуючу систему.

Не всі види бобових рослин здатні до утворення бульбочок. Можлива причина – відсутність специфічних бактерій.

Серед бульбочкових бактерій розрізняють активні і неактивні раси, які утворюють різні за ефективністю бульбочки. Ефективні характеризуються більшими розмірами та енергійною азотфіксацією. Неефективні позбавлені азотфіксуючої здатності.

Причини ефективності азотфіксації не пов'язані з культуральними, фізіологічними властивостями та антигенною структурою бактерій. Ефективні бульбочки заповнені бактеріями в стадії бактероїдів, що не завжди спостерігається в неефективних – це перша причина, і друга – характерною особливістю ефективних бульбочок є наявність леггемоглобіну.

Крім бульбочкових бактерій, здатністю до симбіотичної азотфіксації володіють і інші мікроорганізми, які утворюють бульбочки більше ніж на 200 видах не бобових рослин. До таких рослин належить вільха, обліпиха, береза, гінго та ін. У бульбочках не бобових рослин виявлені мікроскопічні гриби роду *Frankia.* На коренях деяких тропічних зернових знайдені азоспірили. У деяких вищих рослин є бульбочки, в яких у якості симбіонтного партнеру виступають стрептоміцети. У верхній частині їх кореневої системи знаходяться пучкоподібні або кущоподібні вирости (ризотамнії), які містять симбіотичні організми. Здатністю фіксувати азот володіють і деякі голонасінні. У *Podocarpus* роль симбіонту виконує фікоміцет. У деяких тропічних рослин листкова пластинка усіяна бугорками, які є порожнинами у тканині листка, заповненими слизом та бактеріями. Наприклад *Psichotria* утворює симбіоз з бактеріями роду *Klebsiella*.

Механізм азотфіксації досить складний. Біологічна азотфіксація азоту представляє собою ферментативний процес відновлення молекулярного азоту. Мікроби-азотфіксатори, не дивлячись на їх різноманітність, володіють однією ферментативною системою, яка отримала назву нітрогенази. Основна роль цієї ферментативної системи – активізація молекули азоту. Нітрогенази всіх відомих азотфіксаторів складаються з двох білків: молекула одного з них містить тільки атоми заліза (малий компонент – азоферредоксин), молекула другого білка – атоми молібдену і атоми заліза (великий компонент – молібдоферредоксин). В активації молекули азоту приймає участь молібден, а сполуки заліза виконують роль у переносі електронів. Для функціонування нітрогенази потрібна енергія АТФ, енергія розпаду якої використовується для відновлення азоту. Потреба в АТФ у азотфіксуючих мікроорганізмів значна. Так, для відновлення однієї молекули азоту витрачається 12 молекул АТФ. Утворення нітрогенази пов'язане з наявністю в клітинах азотфіксуючих

мікроорганізмів nif-плазміди, яка містить nif-ген, що регулює синтез цього білка. Передача nif-плазміди від одного виду бактерій до іншого може призвести до появи азотфіксуючої здатності у нових видів мікроорганізмів. Отже, процес відновлення $N_2$ до аміаку складається з трьох послідовних стадій відновлення:

$$N\equiv N \xrightarrow{2\bar{e}} \underset{\text{диімін}}{HN=NH} \xrightarrow{2\ \bar{e}} \underset{\text{гідразин}}{H_2N-NH_2} \xrightarrow{2\ \bar{e}} 2NH_3;$$

Кисень репресує синтез нітрогенази. Її активність проявляється за низької концентрації кисню у газовому середовищі. Навіть аеробні азотфіксатори здійснюють процес фіксації азоту в мікроаеробних умовах, для створення яких у них наявні захисні пристосування. Так, вільноживучий азотфіксатор *Azotobacter* утворює слиз, який попереджає проникнення кисню в клітини і сприяє створенню навколо них мікроаеробної зони. У бульбочкових бактерій самі бульбочки – це структура, яка обмежує доступ молекулярного кисню. Цю ж функцію виконує і леггемоглобін, активно зв'язуючи кисень та контролюючи його потрапляння в бактероїди.

Молекулярний азот – інертна сполука. Два атоми в його молекулі мають міцний потрійний зв'язок. Для того, щоб розірвати його, необхідно 941 кДж/моль.

Сумарне рівняння реакції відновлення молекулярного азоту має такий вигляд:

$$N_2+3H_2+12\ АТФ \longrightarrow 2NH_3+12\ АДФ +ФН;$$

Нітрогеназа відновлює не тільки азот, а й неспецифічні для неї субстрати: оксид азоту, ціаніди, ацетилен та ін.

Аміак, що утворився, реагує з кетокислотами бактерій, які, в свою чергу, перетворюються в амінокислоти.

*Практичне застосування азотфіксуючих бактерій.*

Здатність азотобактера і бульбочкових бактерій фіксувати азот атмосфери і збагачувати ним ґрунт використовується для виготовлення бактеріальних добрив – азотобактерину і нітрагіну. В основі їх дії лежить життєдіяльність мікроорганізмів.

Ефективність таких добрив залежить від комплексу умов:

1) правильного поєднання бактеріальних добрив з органічними і мінеральними;

2) якості добрив: бактерії препарату повинні життєздатними і активнішими ґрунтових;

3) ґрунтові умови повинні бути сприятливі для розвитку мікроорганізмів.

Нітрагін – бактеріальний препарат, що містить чисту культуру бульбочкових бактерій. Випускається нітрагін двох видів – ризоторфін (суміш бульбочкових бактерій з стерильним торфом) та різобін (сухий нітрагін).

Для виробництва **ризоторфіну** культуру бульбочкових бактерій, призначену для певного виду рослин, вирощують на агаризованому середовищі, у склад якого входить відвар насіння бобових та 1% сахароза. Отриману культуру вносять у ферментер і ферментують протягом 50 − 70 годин при температурі 28

– 30 °С в аеробних умовах, для чого у середовище (pH 6,5 − 7,2) подають стерильне повітря. В процесі культивування чисельність мікробних клітин в 1 мл середовища збільшується до 1 млн. Таку культуру змішують з стерильним торфом. Наповнювач висушують, розмелюють, нейтралізують $CaCO_3$, фасують у поліетиленові пакети і опромінюють γ-променями. У такий пакет стерильною голкою вводять інокулят. Отвір у пакеті заліплюють липкою стрічкою. Вміст пакетів перемішують і витримують протягом 2–4 тижнів при температурі 26 °С. За цей час кількість бульбочкових бактерій різко зростає. Ризоторфін зберігають при температурі 2-6 °С до 6 місяців.

**Технологія виробництва ризобіну**. Клітини бактерій від середовища відділяють шляхом сепарування, після чого до них додають захисне середовище (20 % меласи, 1 % тіосечовини) і висушують під вакуумом при температурі 30−35 °С. Суху біомасу (вологість 2–5 %) розмелюють, змішують з наповнювачем (бентоніт) і фасують у вологозахистні мішки. В 1 г препарату має міститись не менше 9 млрд. життєздатних бульбочкових бактерій.

**Азотобактерин** – препарат *Azotobacter chroococcum*. Виготовляють два види цього препарату – сухий та ґрунтовий. Технологія виробництва азотобактерину подібна до нітробактерину. Азотобактер не лише фіксує азот і покращує азотне живлення, а й продукує біологічно активні речовини, які стимулюють проростання насіння і прискорюють їх ріст (нікотинова, пантотенова кислота, пірідоксин, гіберелін, гетероауксин); виділяє фунгіцидні речовини, пригнічуючи розвиток мікроскопічних грибів, що затримують ріст рослин. Найбільшу позитивну дію справляє азотобактер при правильному поєднанні з органічними і мінеральними добривами або при застосуванні на родючих ґрунтах, які добре розробляються.

### 3. Кругообіг вуглецю

Вуглець ($CO_2$) – найперший біогенний елемент, який має найінтенсивніший і найбільш швидкий кругообіг з усіх біогеохімічних циклів. Наближені підрахунки показують, що річна продукція органічної речовини на землі становить $33\times10^{11}$т. Основну їх масу складають сполуки рослинного походження. У склад рослинних речовин входять в основному вуглецевмісні сполуки (клітковина, лігнін, крохмаль, пектин, ксилан, а також білки, жири та ін.). Першоджерелом синтезу любої органічної речовини є $CO_2$ повітря, вміст якого в повітрі відносно постійний і складає 0,03% від загальної кількості газів, т.б. кількість $CO_2$ в повітрі порівняно невелика, і його запаси в процесі фотосинтезу можуть бути використані протягом 30 років. В природі поступово відбувається оборотний процес, в результаті якого вуглець органічних сполук повертається у повітря у вигляді вуглекислоти. Постійність концентрації $CO_2$ у атмосфері підтримується як фізико-хімічними, так і біологічними процесами: виверження вулканів супроводжується виділенням великої кількості вуглекислоти, спалювання паливного матеріалу для промисловості, реакції фотосинтезу, хемосинтезу, дихання, бродіння – всі ці процеси супроводжуються споживанням або виділенням $CO_2$.

Кругообіг вуглецю починається з фіксації $CO_2$ зеленими рослинами та автотрофними організмами. Вуглеводи, які при цьому утворюються або інші вуглецевмісні органічні сполуки частково використовуються тими ж організмами для отримання енергії, при цьому продукт окислення – $CO_2$, виділяється в атмосферу. Частина фіксованого рослинами вуглецю вживаються людиною і тваринами, які виділяють його у формі $CO_2$ в процесі дихання. Вуглець, що виділяється в результаті розкладання відмерлих рослин і тварин, окислюється до $CO_2$ і теж повертається в атмосферу.

Головна роль у поверненні вуглецю в атмосферу належить мікроорганізмам. В процесі дихання і бродіння вони розкладають різні органічні сполуки. Більш доступними для них є вуглецевмісні речовини, розчинні у воді (вуглеводи, спирти). Однак в природних умовах – ґрунті і воді частіше зустрічаються погано розчинні сполуки вуглецю, такі як крохмаль, клітковина, лігнін. В них зосереджена основна маса вуглецю. Розклад їх починається з гідролізу, в результаті чого утворюються більш прості сполуки типу вуглеводів. Подальше перетворення даних сполук здійснюється в реакціях дихання або бродіння.

**Розщеплення крохмалю.** Крохмаль утворюється зеленими рослинами при асиміляції $CO_2$ і в ґрунт потрапляє у складі насіння, бульб і рослинних тканин.

Здатність до розщеплення крохмалю за допомогою амілолітичних ферментів притаманна багатьом видам бактерій. Серед бактерій, що активно утворюють амілазу, відносяться *Bacillus macerans, Bacillus polymyxa*. Активними продуцентами амілаз є також цвільові гриби (*Aspergillus oryzae*). В анаеробних умовах розщеплення крохмалю здійснюється спороутворюючими мікроорганізмами роду *Clostridium*. Спеціалізовані види його (*Cl. amyloviticum*) розщеплюють крохмаль до кислот, спиртів, газів.

Розщеплення крохмалю мікробами починається з його гідролізу. Під дією ферменту амілази крохмаль перетворюється в декстрин, потім в мальтозу та ізомальтозу. Оцукрений крохмаль під дією мікробів в анаеробних умовах розкладається за одним із типів бродіння вуглеводів. В аеробних умовах крохмаль окислюється через ЦТК (цикл трикарбонових кислот) або пентозофосфатний цикл до $CO_2$.

Розщеплення крохмалю мікроорганізмами застосовують в спиртовій і текстильній промисловості (видаленні крохмалю з текстилю), а також у хлібопекарстві.

**Розщеплення пектинових речовин.** Пектинові речовини представляють собою складні поліцукри, які складаються з залишків α-Д-галактуронових кислот, з'єднаних 1,4-зв'язками, і виконують роль речовин, які цементують луб'яні волокна з корою і деревиною рослин. Після руйнування пектину луб'яні волокна легко відділяються від кори і деревини.

Відомі три типи пектинових речовин: протопектин (водонерозчинна складова клітинної стінки), пектин (полімер галактуронової кислоти, що містить метилефірні зв'язки), пектинова кислота (водорозчинний полімер галактуронової кислоти, вільний від метилефірних зв'язків). Розщеплення пектину здійснюється як аеробними, так і анаеробними мікроорганізмами. В аеробних умовах тут приймають участь *B.subtilis, B.mesentericus*, в анаеробних

– *Cl. felsineum ma Cl. pectinovorum*. Вони синтезують три види екзоферментів, які руйнують пропектин до розчинного пектину; пектиназу, що гідролізує метилефірний зв'язок пектину з утворенням пектинової кислоти і метилового спирту; полігалактоуроназу, яка руйнує зв'язки між структурними одиницями галактуронової кислоти, пектину або пектинової кислоти. Продукти розпаду пектинової кислоти (галактоза, арабіноза та ін.) окислюються або зброджуються різними мікроорганізмами. При розщепленні пектину утворюються різні речовини: органічні кислоти (оцтова, масляна), гази (вуглекислота, водень), розчинники (ацетон, бутанол) та ін.

Бродіння пектину має важливе практичне значення. На ньому ґрунтується спосіб вимочування льону, конопель, кенафу та інших прядильних культур.

Активну участь у розкладі пектинових речовин в аеробних умовах приймають деякі гриби – *Aspergillus niger, Penicillium glaucum, Mucor, Cladosporium*. Особливо велика роль їх у руйнуванні пектинових речовин у лісових ґрунтах, де гіфи грибів пронизують всю масу палого листя і швидко мацерують її.

Здатністю розкладати пектинові речовини володіють бактерії і гриби, в першу чергу збудники захворювань рослин. Пектолітичні ферменти виявлені у бактерій роду *Ervinia*, деяких грибів роду *Fusarium, Botrytis, Aspergillus*. Активні штами грибів застосовуються в промисловості для отримання пектолітичних ферментів, які застосовуються з метою очищення фруктових соків.

**Розщеплення лігніну.** Лігнін є основною складовою частиною здерев'янілих тканин вищих рослин. Велика його кількість міститься у вторинних шарах клітинної стінки і в міжклітинній речовині. Лігніни різних родин, родів і видів рослин відмінні між собою за хімічною природою. За кількістю в природі він посідає третє місце після клітковини. Окиснювальне руйнування лігніну призводить до утворення гумінових кислот, які є складниками гумусу ґрунтів. В аеробних умовах лігнін можуть розкладати багато представників класу *Basidiomycetes*. Наприклад, є дані про те, що при помірній температурі лігнін розкладають чимало видів вищих грибів. Лігнін розкладається також бактеріями і грибами родів *Alternaria, Fusarium, Trichoderma, Pseudomonas, Achromobacter*. Лігнін деполімеризується на прості ароматичні речовини за рахунок екзогенних ферментів мікроорганізмів. Розклад лігніну у ґрунті відбувається набагато повільніше, ніж інших вуглецевих сполук.

**Розщеплення целюлози.** Целюлоза – найбільш поширена органічна речовина в природі. До її складу входить понад 50 % усього органічного вуглецю біосфери. Синтезують целюлозу переважно вищі рослини. У деревині міститься понад 50 % целюлози, а у волокнах бавовнику – понад 90 %. За хімічною природою целюлоза являє собою полісахарид, молекула якого складається із залишків глюкози (від 300 до 3000), з'єднаних між собою 1,4-зв'язками. Молекули целюлози з'єднані у фібрили, які утворюють волокна, вкриті загальною оболонкою, просоченою воском і пектином. Серед усіх полісахаридів клітковина найстійкіша щодо кислот і лугів; у воді не розчиняється, а тільки набухає. Розклад целюлози відіграє надзвичайно

важливу роль, оскільки цей процес забезпечує повернення основної маси $CO_2$, необхідного для фотосинтезу, в атмосферу. З розкладом клітковини у ґрунті пов'язано його структурування й утворення гумусових речовин. Клітковину розкладають аеробні мікроорганізми (бактерії, актиноміцети, гриби) та анаеробні мезофільні і термофільні бактерії. Для цих мікроорганізмів характерна висока специфічність до цього полісахариду. Розклад целюлози відбувається як в аеробних, так і анаеробних умовах, у кислому або лужному середовищі, при низькій або високій вологості та температурі.

Першим етапом розкладу целюлози є її ферментативний гідроліз. Цей процес протікає під впливом мікробних ферментів целюлаз. Бактеріальні целюлази є екзоферментами, однак на відміну від інших гідролаз вони пов’язані з мікробними клітинами. Тому розклад целюлози проходить тільки при безпосередньому контакті мікробів з волокнами целюлози.

В процесі гідролізу нерозчинна у воді клітковина перетворюється в дисахарид целобіозу, який, в свою чергу, під впливом ферменту целобіази перетворюється в глюкозу.

Існує аеробний і анаеробний шлях розкладу целюлози.

*Аеробний шлях розщеплення целюлози*. Група мікроорганізмів, що розкладає целюлозу, широко представлена в ґрунті, гної. До них належать представники родів *Cytophaga, Sporocytophaga*. У розщепленні целюлози також приймають участь міксобактерії, актиноміцети, гриби. Окремі види *Pseudomonas, Vibrio* і *Bacillus*, які живуть у ґрунтах, також можуть перетворювати клітковину. До актиноміцетів і грибів, що розкладають целюлозу в ґрунтах, належать представники родів *Streptomyces, Streptosporangium, Micromonospora, Aspergillus, Botrytis, Fusarium, Penicillium, Rhizoctonia, Trichoderma* та інші. Всі продукти гідролізу целюлози окислюються аеробними бактеріями до $CO_2$. Слід відмітити значні масштаби аеробного розкладу целюлози і перевагу цього процесу у ґрунті над анаеробним розщепленням цієї сполуки.

*Анаеробний розклад* целюлози здійснюють переважно бактерії роду *Clostridium*. Вони поширені в ґрунтах, гної, мулі, стічних водах та інших середовищах. Найкраще вивченим представником цього роду є *Clostridium omelianskii*, вперше виділений відомим російським мікробіологом В. Л.Омелянським у 1902 р. Це анаеробна, рухлива, спороносна бактерія, що має вигляд барабанної палички. До мезофільних бактерій, які руйнують клітковину, належить також *Clostridium cellobioparum*. Серед термофілів, температурним оптимумом для яких є температура близько 60 °С, слід згадати *C.thermocellum*.

Дуже важливе значення мають бактерії, які розкладають клітковину в рубці жуйних тварин. Це специфічні кулясті та паличкоподібні облігатно анаеробні бактерії, які розкладають целюлозу кормів до глюкози. Найкраще вивченими представниками цієї групи бактерій є *Ruminococcus albus, Ruminococcus flavefaciens, Bacteroides succinogenes* та інші.

Розклад клітковини відбувається протягом кількох етапів. Розклад целюлози йде по типу бродіння. Спочатку під дією целлюлаз проходить позаклітинний гідроліз. Потім продукти гідролізу (глюкоза і целобіоза) зброджуються,

утворюючі різні речовини: оцтову, масляну, молочну і мурашину кислоти, вуглекислоту і молекулярний водень.

**Розщеплення ксилану.** Серед вуглецевмісних речовин у природі друге місце за клітковиною посідає ксилан. Солома і луб містить його до 15-20 %. Ксилан входить до складу клітинних оболонок і міжклітинної речовини рослинних тканин. Багато його міститься в деревині, соломі, качанах кукурудзи, горіхах і насінні. У розкладі ксилану беруть участь набагато більше видів мікроорганізмів, ніж у розкладі клітковини. Це пов'язано з неоднаковим хімічним складом цих сполук у різних рослин. Ксилан рослинних решток активно розкладаються грибами і аеробними та анаеробними бактеріями. До них належать представники родів грибів (*Aspergillus, Rhizopus* та інші), актиноміцетів (*Streptomyces*), бактерій (*Bacillus, Clostridium, Cytophaga, Sporocytophaga, Vibrio* та інші).

Ферменти, які каталізують розщеплення ксилану, називають ксиланазами. Вони каталізують розщеплення полімерної молекули ксилану до цукрів, які далі зброджуються або окислюються до кінцевих продуктів. Швидкість розкладу цих сполук у ґрунті залежить від температури, вологості, pH середовища та інших умов.

**Розщеплення вуглеводнів.** Мікробній деструкції піддаються також такі хімічно стійкі речовини, як парафін, каучук, нафта. Ці речовини використовуються мікроорганізмами як джерело енергії та вуглецю. Розклад вуглеводнів може здійснюватись багатьма бактеріями і грибами. Наприклад, у розкладі аліфатичних вуглеводнів приймають участь мікобактерії, нокардії, коринебактерії, а також дріждоподібні гриби роду *Candida*.

### 4. Кругообіг сірки

У природі постійно відбуваються процеси перетворення сірки. У живих клітинах сірка представлена, головним чином сульфгідрильною групою сірковмісних амінокислот (цистеїн, метіонін, цистин). Сульфат ($SO_4$) – основна доступна форма сірки, яка відновлюється автотрофами і включається в білки. Рослини, поглинаючи сульфати, відновлюють їх з утворенням амінокислот, які містять сірку.

При анаеробному розпаді органічних сполук сульфгідрильні групи відщеплюються ферментами десульфуразами з утворенням сірководню. Тому утворення сірководню в результаті мінералізації органічних речовин в анаеробних умовах називають **десульфурацією.** Сірководень в аеробних умовах – нестійка сполука, яка перетворюється небіологічним шляхом в елементарну сірку або окислюється сіркоокислюючими тіобактеріями у сульфат. Значна кількість сірководню утворюється десульфатуючими бактеріями в процесі сульфатного дихання. Сірку, яка необхідна для синтезу сірковмісних амінокислот, рослини і мікроорганізми отримують в результаті асиміляційного відновлення сульфату. Тваринний організм отримує відновлені сполуки сірки з їжею.

В мінералізації сірки приймають участь неспецифічні гетеротрофні мікроорганізми. При цьому утворюються різні продукти – $H_2S$, меркаптани,

мінеральна сірка і сульфати. В розщепленні органічних сполук сірки в аеробних та анаеробних умовах приймають участь *Proteus vulgaris, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Clostridium sporogenes*. При цьому утворюється $H_2S$ за рахунок цистину або цистеїну, а гриби *Microsporum gipseum* та *Aspergillus niger* з цистину утворюють метилмеркаптани і сульфати.

Перетворення мінеральної сірки здійснюється спеціалізованими бактеріями. В одних випадках сірка є донором електронів і джерелом енергії – це процес окиснення сірки; в інших служить акцептором водню – це процес відновлення мінеральної сірки.

**Окиснення мінеральної сірки.** Описано багато представників різних груп бактерій, здатних здійснювати **сульфофікацію** – окиснювати відновлені сполуки сірки, наприклад сірководень, тіосульфат, молекулярну сірку. Це фототрофи, які здійснюють безкисневий фотосинтез, деякі типові гетеротрофні мікроорганізми родів *Bacillus, Pseudomonas, Arthrobacter* та ін. Окиснення сірки та її відновлених сполук може служити джерелом клітинної енергії, електронів при фотосинтезі, використовуватись для детоксикації перекису водню, що утворюється в процесі дихання.

**Тіонові бактерії.** Використовувати процес окиснення сірки та її відновлених сполук для отримання енергії здатні представники, що відносяться до групи тіонових бактерій, зокрема бактерії родів *Thiobacillus, Thiomicrospira, Thiodendron* та ін. Це одноклітинні мікроорганізми різної морфології та розмірів, є рухомі та нерухомі представники, безспорові, розмноження здійснюється поділом або брунькуванням, грамнегативні. Для тіонових бактерій показана здатність окиснювати з отриманням енергії, крім молекулярної сірки ($S^0$), багато її мінеральних відновлених сполук: сульфід, тіосульфат, тритіонат, тетратіонат. Там, де в якості проміжного продукту окислення утворюється молекулярна сірка, вона відкладається поза клітиною. Повне ферментативне окиснення тіоновими бактеріями молекулярної сірки і її відновлених сполук призводить до утворення сульфату. Окислення сірководню до сульфату супроводжується втратою 8 електронів, які поступають у дихальний ланцюг, при цьому у якості проміжного продукту утворюється молекулярна сірка і сульфіт.

$$H_2S \rightarrow S^0 \rightarrow SO_3^{2-} \rightarrow SO_4^{2-};$$

На етапі окиснення сульфіту до сульфату має місце субстратне фосфорилювання, яке дозволяє запасати енергію у молекулах АТФ. Однак основну кількість енергії тіонові бактерії отримують в результаті переносу електронів, що утворились при окисненні відновленої сірки, у дихальний ланцюг на рівні цитохрому *a*.

Деякі види тіонових бактерій відносяться до облігатних хемолітоавтотрофів, інші – можуть рости як хемолітоавтотрофно, так і хемоорганогетеротрофно, використовуючи в останньому випадку у якості джерела вуглецю і енергії ряд органічних сполук (кислоти, цукри, спирти, амінокислоти). Описані також тіонові бактерії, які ростуть хемолітогетеротрофно, використовуючи в якості джерела вуглецю тільки органічні сполуки, а енергію отримують за рахунок

окиснення відновлених сполук сірки. Основним механізмом асиміляції $CO_2$ служить відновлюваний пентозофосфатний шлях, виявлений у всіх тонових бактерій.

Тіонові бактерії пристосовані до різних умов існування. *Thiobacillus thiooxidans* та *T. ferrooxidans* – чітко виражені ацидофіли (оптимальні РФ 2 – 4), *T. denitrificans* та *T. thioparus* навпаки, розвиваються тільки в нейтральному та лужному середовищі (pH 7–10). Більшість тіобацил відносяться до мезофілів з оптимальною температурою росту приблизно 30°С. В останній час описані термофільні штами, які ростуть при 60–70°С. Серед них є термофіли, що ростуть при температурі вище 80°С. Значна кількість їх знаходиться в термальних водах вулканічного походження. Наявність мінеральної сірки поблизу вулканів і сірчаної кислоти у водних джерелах зумовлені діяльністю тіонових бактерій.

**Безбарвні сіркобактерії** нагадують ціанобактерії. На основі морфологічних ознак вони поділяються на 2 групи: одна представлена одноклітинними формами (роди *Achromatium, Macromonas* та ін.), у складі іншої об'єднані нитчасті мікроорганізми (роди *Beggiatoa, Thiothrix, Thioploca*). Одноклітинні безбарвні сіркобактерії – рухомі або нерухомі, різноманітні за розмірами та формою. Нитчасті мікроорганізми представлені також нерухомими або здатними до ковзного руху видами. Єдина загальна ознака для групи – здатність відкладати сірку у периплазматичному просторі клітини. Важлива фізіологічна особливість безбарвних сіркобактерій – утворення значної кількості перекису водню. Був виявлений зв'язок між окисненням $H_2S$ та кисневим метаболізмом безбарвних сіркобактерій. Виявилось, що окиснення сполук сірки використовується для видалення $H_2O_2$. Відкладання мінеральної сірки, таким чином, – результат окиснення сульфідів перекисом водню, що утворюється в клітині. Перекисний механізм окиснення відновлених сполук сірки виключає можливість використання цими організмами енергії даного процесу. Питання про здатність безбарвних сіркобактерій існувати автотрофно досі не доведено: чисті культури можуть рости тільки за наявності органічних сполук; не виявлено типових для еубактерій механізмів автотрофної асиміляції $CO_2$. В мікроаерофільних умовах деякі штами *Beggiatoa* мають здатність до азотфіксації.

Хемотрофи, що окиснюють сірку, мешкають у морських та прісних водоймах, в аеробних шарах ґрунтів різного типу. Оскільки ця група об'єднує організми з різними фізіологічними властивостями, її представників можна виявити в кислих гарячих сірчаних джерелах, кислих шахтних водах, у водоймах з лужним середовищем і високою концентрацією NaCl. Окиснення відновлених сполук сірки до сульфідів, що здійснюється цими бактеріями, призводить до підкислення навколишнього середовища. Підкислення ґрунту призводить до перетворення деяких сполук, наприклад фосфатів, у розчинну форму, що робить їх недоступними для рослин. Окиснення нерозчинних сульфідних матеріалів, супроводжується переводом металів у розчинну форму, що полегшує їх добування. Однак накопичення сірчаної кислоти в результаті

діяльності цих бактерій може призводити до псування і руйнування різних об'єктів.

**Пурпурні сіркобактерії** родини *Chromatiaceae* – відрізняються від безбарвних морфологією, наявністю пігменту і фізіологією. Ця родина включає представників родів неоднорідних за морфологією − це палички, коки, спіралевидні та вібріоїдні бактерії, рухомі та нерухомі, з газовими вакуолями або без них. Типовий рід *Chromatium*. Пурпурні сіркобактерії не є спороносними. Для пурпурних сіркобактерій основний спосіб існування − фотолітоавтотрофія. Всі представники цієї групи можуть рости в анаеробних умовах на середовищі з $CO_2$ в якості єдиного джерела вуглецю, використовуючи як донор електронів сульфід ($H_2S$). Багато видів може використовувати з цією метою молекулярну сірку, сульфіт, тіосульфат, молекулярний водень. Сульфід окиснюється поступово до молекулярної сірки або сульфату, при цьому глобули сірки відкладаються у периплазматичному просторі і інвагінатах цитоплазматичної мембрани.

Найкраще вивченими пурпурними бактеріями є представники роду *Chromatium: Ch. okenii, Ch. weissei, Ch. buderi, Ch. minus.*

**Зелені сіркобактерії** належать до родини *Chlorobiaceae*. Це суворі анаероби і облігатні фототрофи, основне джерело вуглецю $CO_2$, як донори електронів можуть використовувати тільки неорганічні сполуки: $H_2S$, $S^0$, $Na_2S_2O_3$. Окислення сульфіду відбувається в периплазматичному просторі і на першому етапі призводить до утворення молекулярної сірки, що відкладається поза клітиною. Після вичерпання $H_2S$ із середовища $S^0$ поглинається клітинами і в периплазматичному просторі відбувається її окислення до сульфату. Найбільш докладно вивчено представників зелених сіркобактерій з роду *Chlorobium*, які оточені слизистою масою і в природних умовах утворюють різні за формою скупчення (*Ch. limicola, Ch. vibrioforme*). У природних умовах зелені сіркобактерії найчастіше трапляються в канавах, ставках, озерах, річках, сірчаних джерелах тощо.

**Відновлення мінеральної сірки.** Більшість рослин і мікроорганізмів використовують в якості джерела сірки сульфати з утворенням сульфідів (необхідних для синтезу сірковмісних амінокислот) в результаті асиміляційного відновлення сульфату.

Використовувати сульфат як кінцевий акцептор водню при анаеробному диханні здатна лише невелика група мікроорганізмів, яка включає два роди *Desulfovibrio* та *Desulfatomaculum.* Побічним продуктом такого дисиміляційного відновлення сульфату (або сульфатного дихання) є сірководень. Процес проходить в анаеробних умовах: у водоймищах на значних глибинах, в ґрунтах, насичених водою, торф'яниках.

Сульфатредукуючі бактерії є облігатними анаеробами. В якості кінцевого акцептора електронів вони використовують сульфати. Донором водню можуть бути різні органічні сполуки (спирти, кислоти) і молекулярний водень. В якості побічного продукту сульфатного дихання утворюється сірководень. Органічні сполуки сульфатредукуючі бактерії окислюють не до кінця, частіше до оцтової кислоти.

Бактерії роду *Desulfovibrio* мають форму вібріону з полярно розміщеним джгутиком. Спор вони не утворюють, містять оранжевий пігмент десульфовірідін і цитохром $C_3$. Донором електронів служать піруват і малат. Типовим представником роду *Desulfovibrio* є *D.desulfuricans* – грамнегативний, облігатно анаеробний, дуже рухливий вібріон, виявлений у морській воді, мулі, прісній воді, ґрунтах .

Рід *Desulfatomaculum* включає 4 види спороутворюючих паличковидних бактерій, що місять цитохром b. Типовим представником його є *D. nigrificans*. Це грамнегативні, спороносні, облігатно анаеробні рухливі паличкоподібні бактерії, які можуть перетворювати сульфати на сульфіди при високих температурах. В якості донора електронів він використовує піровиноградну кислоту. Це термофіл, оптимальна температура його росту – 55 С. Решта видів – мезофіли.

Сульфатвідновлюючі бактерії широко розповсюджені в анаеробних зонах водойм різного типу, ґрунтах, травному тракті тварин. Часто вони розвиваються разом з пурпурними та зеленими сіркобактеріями, які використовують в якості донорів електронів сірководень, що утворився в результаті сульфатредукції. Сульфатвідновлюючим бактеріям належить ведуча роль в утворенні сірководню в природі, у відкладанні сульфідних мінералів. Накопичення $H_2S$ часто призводить до негативних наслідків: у водоймах – до загибелі риби, у ґрунті – до ураження рослин. В деяких водоймищах його може бути до декілька міліграмів на літр води. Наприклад, в Чорному морі на глибині 2500 м вміст сірководню досягає 6,5 мг/л. Утворюється він бактеріями роду *Desulfovibrio.* В аеробних умовах сірководень нестійкий і перетворюється або в елементарну сірку, або окислюється сіркобактеріями в сульфати, а це має важливе біологічне значення, оскільки сірководень є отруйною речовиною.

З активністю сульфатвідновлюючих еубактерій пов’язана корозія в анаеробних умовах різного металевого обладнання.

**5. Кругообіг заліза**

Залізо – важливий компонент органічного життя. Біологічна роль заліза зумовлена, головним чином, тим, що воно входить до складу гемоглобіну, міоглобіну, ферментів – каталази, пероксидази, а також цитохромів, фередоксину тощо. В ґрунті залізо міститься у вигляді органічних і мінеральних сполук. Важливу роль у трансформації сполук заліза відіграють мікроорганізми. 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 окисленням і осіданням заліза відбуваються і прямо протилежні процеси відновлення і розчинення його сполук. Сукупність цих процесів становить **кругообіг заліза** в природі.

Здатність осаджувати окисли заліза та марганцю на поверхні клітин притаманна багатьом еубактеріям, що належать до різних таксономічних груп. У вивченні **залізобактерій** в останні часи досягнуті значні успіхи, пов’язані з отриманням чистих культур цих організмів. Виявилось, що це різноманітна

група бактерій, яка здатна окислювати і відкладати окисли заліза і/або марганцю поза або в клітині. На основі морфологічних характеристик всі залізобактерії можна поділити на дві групи: нитчасті та одноклітинні.

До першої групи відносять грамнегативні нитчасті бактерії, що оточені чохлом. Найбільше поширені представники родів *Leptothrix і Sphaerotilus.* Нитки нерухомі або пересуваються ковзним рухом. У чохлах, що оточують нитки, накопичуються окисли заліза і марганцю (*Leptothrix*) або тільки заліза (*Sphaerotilus*). Залізобактерії цієї групи – облігатні аероби, але можуть задовільно рости при низькій концентрації $O_2$ у середовищі. Оптимальні pH для росту – 6-8. Єдиний можний спосіб існування – це хемоорганогетеротрофія. Окиснення заліза і марганцю та їх відкладання у чохлах цих бактерій не пов'язано з отриманням ними енергії. До окиснення $Fe^{2+}$ при pH 6-8 можуть призводити процеси як хімічної, так і біологічної природи. Окиснення пов'язане з дією перекису водню, кількість якого у деяких випадках може досягати 10-20 мг/л. Процес локалізований у чохлах, де накопичуються продукти метаболізму і позаклітинні ферменти. Таким чином, за допомогою відновлених форм заліза забезпечується видалення $H_2O_2$ – токсичного продукту клітинного метаболізму. Крім безбарвних, до нитчастих залізобактерій відносяться і деякі фотосинтезуючі еубактерії із групи ціанобактерій і ковзних зелених бактерій.

Друга група залізобактерій включає одноклітинні організми із різних таксонів. Вона представлена грамнегативними або грампозитивними еубактеріями, що розмножуються поперечним поділом або брунькуванням. Клітини різної форми і розмірів, одноклітинні або формують скупчення, оточені капсулами, в яких відкладаються окисли заліза і марганцю. Мікроорганізми, що належать до цієї групи, поділяються на дві підгрупи, що відрізняються за типом метаболізму і відношенню до кислотності середовища. Перша підгрупа об'єднує залізобактерії, що ростуть у нейтральному та слабо лужному середовищі і характеризуються хемоорганогетеротрофним типом метаболізму. Представники підгрупи – вільноживучі мікоплазми, об'єднані в роди *Metallogenium, Gallionella, Siderococcus*. Для них притаманний поліморфізм: коковидні клітини, від яких можуть відходити тонкі нитки, пучки, переплетених довгих ниток і т.д. На поверхні ниток відкладаються окисли заліза (*Gallionella, Siderococcus*) або заліза і марганцю (*Metallogenium*). Ростуть в нейтральному або кислому середовищі. Деякі з них оліготрофи. Всі аероби або мікроаерофіли. Відкладання окислів заліза – результат хімічних реакцій або функціонування перекисного шляху і не має відношення до отримання клітинами енергії.

Другу підгрупу складають аеробні ацидофільні форми. Оптимальні pH їх росту 2-3. В цих умовах $Fe^{2+}$ у присутності $O_2$ стійкі до хімічного окислення. Для ацидофільних залізобактерій встановлена здатність отримувати енергію в результаті окиснення двохвалентного заліза. Основним представником залізобактерій з енергетичним метаболізмом хемолітотрофного типу є *Thiobacillus ferrooxidans*, що відноситься до групи тіонових бактерій і володіє здатністю отримувати енергію також в результаті окиснення різних відновних

сполук сірки. Окиснювати закисне залізо з отриманням енергії здатна і облігатно ацидофільна бактерія *Leptospirillum ferrooxidans*, яка близька за рядом властивостей до *Thiobacillus ferrooxidans*, однак, на відміну від останньої не окислює сполуки сірки. *Leptospirillum ferrooxidans* та більшість досліджених штамів *Thiobacillus ferrooxidans* належать до облігатних хемолітоавтотрофів, які використовують енергію окиснення заліза для асиміляції $CO_2$, що служить основним і єдиним джерелом вуглецю. Деякі штами *Thiobacillus ferrooxidans* виявили здатність рости на середовищах з органічними сполуками і є, таким чином, факультативними хемолітоавтотрофами. Нарешті, описані термофільні бактерії, що отримують енергію в результаті окиснення $Fe^{2+}$ і потребують для росту органічних сполук, т.б. здійснюють метаболізм хемолітогетеротрофного типу.

Окиснення заліза, що призводить до отримання енергії, здійснюється за рівнянням:

$$2Fe^{2+} + ½\ O_2 + 2H^+ \rightarrow 2Fe^{3+} + H_2O;$$

Із всіх представників еубактерій, у яких виявлена здатність до окиснення заліза і/або марганцю, тільки облігатно ацидофільні форми можуть використовувати цю енергію для асиміляції $CO_2$, т.б. існувати хемолітоавтотрофно. Саме вони є істинними залізобактеріями, відповідаючи тій назві, яка була введена С. Н. Виноградським. Для інших мікроорганізмів утворення окислів заліза і марганцю не пов’язане з отриманням енергії і відбувається в результаті неспецифічних реакцій іонів металів з продуктами метаболізму, перш за все продуктами неповного відновлення $O_2$.

**6. Кругообіг фосфору**

Кругообіг фосфору значно відрізняється від циклів вуглецю та азоту. Цей елемент є одним з основних компонентів живої речовини. Його органічні сполуки відіграють важливу роль у процесі життєдіяльності живих організмів, входять до складу нуклеїнових кислот, складних білків, фосфоліпідів мембран, є основою біоенергетичних процесів. Фосфор концентрується живою речовиною, де його майже в 10 разів більше, ніж у земній корі. На суші відбувається інтенсивний кругообіг фосфору в системі ґрунт − рослини − тварини − ґрунт. Фосфор, як важливий і необхідний елемент протоплазми, циркулює, поступово переходячи із органічних сполук у фосфати, які знову можуть використовуватись рослинами. Резервуаром фосфору є літосфера, де в основному зосереджені запаси цього елемента, доступні живим істотам. Оскільки мінеральні сполуки фосфору важкорозчинні, і зв’язаний в них фосфор майже не доступний рослинам, останні використовують переважно його легкорозчинні форми, що утворюють при розкладанні органічних решток. Основними джерелами фосфору на Землі є гірські породи та інші відкладення, що утворилися в минулі геологічні епохи. Ці породи поступово піддаються впливу ерозії, вивільняючи фосфати в екосистеми, але значна їх кількість виноситься з річок у моря, відкладаючись частково в мілководних і глибоководних осадах. Фосфати, що виносяться з річковим стоком, взаємодіють з кальцієм, утворюють фосфорити, поклади яких з часом виходять

на поверхню і знову включаються в міграційні процеси. Механізми повернення фосфору в кругообіг, певно, недостатньо ефективні і не покривають витрат. Частина неорганічного фосфору надходить в екосистеми суші і поглинається рослинами, які за його участю синтезують різні органічні сполуки і, таким чином, включаються у трофічні ланцюги. Вважається, що у Світовий океан щороку потрапляє $1{,}4\times10^7$ т фосфору, а повертається на сушу близько 107 т, переважно з продуктами морського промислу. Фосфати, скупчені на великих морських глибинах, виключаються з кругообігів. Потім органічні фосфати разом з трупами, відходами та виділеннями тварин повертаються в землю, де знову підпадають під дію мікроорганізмів і перетворюються в мінеральні ортофосфати, які використовують рослини та інші автотрофи.

Активну участь у перетворенні органічних сполук фосфору беруть бактерії родів *Pseudomonas* і *Bacillus* (*B. megaterium, B. mesentericus, B. mycoides*), гриби з родів – *Aspergillus, Rhizopus, Penicillium, Alternaria, Trichothecium*, деякі актиноміцети й дріжджі – *Rhodotorula, Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* та інші.

Якщо простежити всі перетворення фосфору в масштабі біосфери, можна стверджувати, що його цикл не замикається. Щороку на добрива видобувають мільйони тонн фосфоровмісних порід. Значну роль у кругообігу речовин відіграють **фосформобілізуючі мікроорганізми**, які здатні перетворювати важкорозчинні фосфати ґрунту в легкорозчинні, доступні рослинам сполуки. На основі таких мікроорганізмів розроблені бактеріальні біопрепарати. **Фосфоробактерин** − бактеріальне добриво, що містить спороносну культуру бактерії *Bacillus megaterium v.phosphaticum*, здатну перетворювати органічні сполуки фосфору в доступні для рослин мінеральні легкорозчинні солі фосфорної кислоти. Бактерії представляють собою крупні грампозитивні палички з заокругленими кінцями, щільною оболонкою і зернистою цитоплазмою, утворюють овальні ендоспори. Клітини багаті на органічні сполуки фосфору, нуклеотиди. Фосфоробактерин застосовується в основному під зернові та овочеві культури. Під зернові препарат вносять з розрахунку 5 − 10 г/га, під овочеві − 15 г/га.

### *Контрольні питання*

1. Які основні етапи кругообігу азоту?
2. Які мікроорганізми приймають участь у процесі амоніфікації. Охарактеризуйте роль мікроорганізмів амоніфікаторів в природі.
3. Охарактеризуйте фази процесу нітрифікації. Які мікроорганізми забезпечують проходження кожної фази?
4. Які мікроорганізми забезпечують симбіотичну азотфіксацію? Перерахуйте представників вільноживучих азотфіксаторів.
5. Охарактеризуйте процес розщеплення крохмалю, целюлози, лігніну, ксилану, пектинових речовин.
6. Охарактеризуйте основні етапи кругообігу сірки. Які мікроорганізми приймають у кожному з них?

7. Охарактеризуйте кругообіг заліза. Які мікроорганізми приймають участь в цьому процесі?
8. Охарактеризуйте кругообіг фосфору. Які мікроорганізми приймають участь в цьому процесі?
9. Наведіть приклади бактеріальних добрив.
10. Які основні етапи виробництва нітрагіну.

### *Література*

1. Асонов Н.Р. Микробиология. − 4-е изд., перераб. и доп. − М.: Колос, 2002. − 352 с.
2. Громов Б.В, Павленок Г.В. Экология бактерий. − Л.: Изд. ЛГУ, 1989. − 247 с.
3. Гусев М.А., Минеева Л.А. Микробиология. − 4-е изд. − М.: Издательский центр «Академия», 2003. − 464 с.
4. Медицинская микробиология /Под. ред акад. РАМН В.И. Покровского, проф. О.К. Поздеева. М.: ГЭОТАР, 1999. – 1184 с.
5. Микробиология. К.Д. Пяткин, Ю.С. Кривошеин. − М.: Медицина, 1980. − 512 с.
6. Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М. и др. Экология микроорганизмов / Под ред. Нетрусова. − Москва: Изд.центр «Академия», 2004. − 272 с.
7. Общая микробиология / Под ред. А. Е. Вершигоры. − К.: Выща шк. Головное изд-во, 1988. − 343 с.

## ТЕМА 4. АБІОТИЧНІ ФАКТОРИ СЕРЕДОВИЩА ТА ЇХ ЗНАЧЕННЯ ДЛЯ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ

1. Фізичні фактори середовища.
2. Хімічні фактори середовища.

На мікроорганізми впливає багато факторів зовнішнього середовища, які можуть гальмувати або стимулювати розвиток і навіть призводити до загибелі. Різноманітність умов середовища обумовлює різноманітність властивостей мікроорганізмів. Всі фактори зовнішнього середовища, що впливають на існування мікроорганізмів, можна розділити на три групи: фізичні, хімічні та біологічні. Із фізичних факторів найбільш важливе значення мають температура, вологість, осмотичний та гідростатичний тиск, променева енергія, електроенергія, ультразвук. Важливими серед хімічних факторів є реакція середовища, окисно-відновні умови, токсичні речовини (дезінфікуючі речовини, отрутохімікати), а серед біологічних − взаємодія мікроорганізмів між собою, з макроорганізмом.

**1. Фізичні фактори середовища**

***Вологість.*** Вода є одночасно і середовищем, і безпосереднім компонентом багатьох біохімічних реакцій у живій клітині. Обмін речовин, біосинтез, всі біохімічні реакції можливі лише у водному середовищі, більше того, поживні речовини у безводному середовищі не надходять у клітину. Мікроорганізми мають різну чутливість до нестачі вологи. Найбільш чутливі азотфіксуючі та нітрифікуючі бактерії. Дрібні бактерії більш стійкі до висушування, ніж крупні, коки більш стійки, ніж палички. Так, *Treponema pallidum* − збудник сифілісу − довга клітина з тонкою оболонкою, швидко гине у повітрі при низькій вологості, а збудник туберкульозу *Mycobacterium tuberculosis* має товсту клітинну оболонку, що містить велику кількість ліпідів, зберігається у висушеному стані декілька місяців. Деякі, навпаки, тривалий час можуть існувати без вологи. Особливо стійкі до висушування спори мікробів. Без вологи у мікроорганізмів припиняються або сповільнюються процеси метаболізму і настає стан анабіозу. У цьому стані обмін речовин мінімальний, а життєздатність клітин зберігається.

***Висушування і вакуум.*** Висушування відбувається в результаті випаровування вологи, зменшення її не тільки у субстраті, а й в мікробній клітині. Із зменшенням вологи загальмовуються життєві процеси, клітина переходить у стан анабіозу. На цьому принципі засновано зберігання сухих продуктів.

Життєві процеси у мікробній клітині загальмовуються, але не припиняються. В такому стані, особливо в вакуумі, мікробні клітини зберігаються протягом десятиліть. Деякі патогенні стрептококи залишались життєздатними в подібних умовах біля 25 років, збудник туберкульозу − до 17 років, дифтерії − 5 років і т.д. Живі мікроби виявлені у римських гробницях, які були не тронуті 1800 років, в єгипетських муміях.

Довгий час бактерії зберігаються у сухому ґрунті. Так, із ґрунту, що зберігався протягом 100 − 200 років у сухому стані, були виділені *Bacillus subtilis* та інші бацили.

На практиці висушування застосовується для консервування продуктів та збереження культур мікроорганізмів висушуванням − шляхом заморожування у вакуумі (ліофільна сушка). Зневоднення при низькій температурі в глибокому вакуумі використовують для приготування живих вакцин (туберкульозу, бруцельозу, грипу), вітамінів, ферментів та інших біологічно активних препаратів.

***Осмотичний та гідростатичний тиск.*** Осмотичний тиск визначається концентрацією розчинених у середовищі солей. Чим більша концентрація солей, тим вище осмотичний тиск. Нормальний тиск у клітині звичайно дорівнює 3-6 атм. Більшість мікроорганізмів не можуть використовувати воду гіпертонічних розчинів. Однак у засолених ґрунтах, оцукрених середовищах, осмотичний тиск може досягати 100 атм. Мікроорганізми, що мешкають у таких середовищах, виробили захисний механізм у вигляді підвищення тиску у самій клітині. Мікроорганізми, що мешкають у середовищах з високими концентраціями речовин, називаються **осмотолерантними**. До них відносяться деякі види дріжджів, що розмножуються у меді, варенні, бактерій − у рибі. Відомо багато мікроорганізмів, які надають перевагу середовищам з високим осмотичним тиском (**осмофільні**). Є мікроорганізми, які для свого росту і розвитку потребують значних концентрацій повареної солі (**галофільні**). Наприклад, *Halobacterium* краще ростуть на середовищі з концентрацією 20-30 % NaCl. Природними середовищами мешкання галофільних мікроорганізмів є солені озера і моря.

***Гідростатичний тиск.*** За відношенням до гідростатичного тиску бактерії варіюють. На морських глибинах бактерії витримують гідростатичний тиск, обумовлений масою води, який може досягати великих значень, збільшуючись з кожними 100 м глибини на 10 атм. Є бактерії, які витримують тиск 1120 атм. і мешкають на дні океанів, такі бактерії отримали назву **барофільних**. *Bacillus submarines* витримує до 5000 атм. В нафтових свердловинах є барофільні сульфатредукуючі бактерії. Більшість бактерій, які мешкають у ґрунті чи дрібних водоймах, гинуть при гідростатичному тиску 200-600 атм.

***Температура.*** Визначає не лише інтенсивність росту і розвитку, а і саму можливість існування. Значення температури та її тривалість дії може регулювати ріст, змінювати морфологію, метаболізм, викликати загибель бактеріальної клітини. Температура може бути оптимальною, т.б. найбільш сприятливою для розвитку; максимальною, при якій життєві процеси пригнічуються; мінімальною, яка призводить до гальмування та припинення росту. За відношенням до температури всі мікроорганізми поділяють на:

**– психрофіли (кріофіли)** − мікроорганізми, що розвиваються при низьких температурах (+15 − -8 °С). Це мешканці холодних джерел, північних морів, льодовиків, океанів, глибоких озер, холодильних камер. Серед них можуть зустрічатись збудники хвороб риб, водних рослин, мікроорганізми, що розкладають харчові продукти;

**– мезофіли** − мікроорганізми, що розвиваються при середніх температурах 20-40 ºС. Температура 25-39 ºС для них оптимальна. Мезофіли − збудники хвороб людини та тварин, збудники бродіння, амоніфікації та інших процесів. Тобто це більшість сапрофітних та патогенних мікроорганізмів;

**– термофіли** − група мікроорганізмів з температурним оптимумом 50-60 ºС, розвиваються при температурі − 40-80 ºС. Вони розповсюджені в гарячих джерелах, ґрунті районів з жарким кліматом, торфі, навозі, травному тракті тварин. При оптимальній вологості термофіли підвищують температуру органічних речовин, розкладають їх, в результаті чого можуть нагромаджуватись горючі гази − метан, водень, які в деяких випадках спричиняють самозапалення рослинної маси. Різкі коливання температури призводять до загибелі таких мікробів. Виявлена група бактерій з температурним оптимумом 80-90 ºС − це група **екстремально термофільних** бактерій.

***Дія на мікроби високих та низьких температур.*** До високої температури особливо чутливі вегетативні форми. На мікроби більш ефективно, у порівнянні з сухим жаром, діє насичена водяна пара. Так, загибель спор збудника сибірської виразки наступає через 1 хв. після дії водяною парою при температурі 132 ºС, сухим жаром − при 180 ºС. На якість стерилізації впливає також число клітин в 1 мл суспензії. Чим їх більше, тим вища має бути температура або більш тривалою експозиція.

Низькі температури, зазвичай, не викликають загибелі мікробів, а лише затримують їх ріст і розмноження. Життєздатність багатьох мікробів зберігається при температурі близькій до абсолютного нуля. Спори проростають після їх 10-годинного перебування у рідкому водні (-252 °С); протягом 2 год. При такій самій температурі зберігають життєздатність бактерії черевного тифу. Спори та гнилісні бактерії зберігали життєздатність у трупах мамонтів, які пролежали тисячі років у промерзлому ґрунті Сибіру. Вегетативні форми мікробів більш чутливі до дії низьких температур. Так, охолодження до мінус 10 − мінус 20 °С протягом 1−2 діб знижує кількість кишкових паличок в суспензії на 90 %. Тому, можливо, температура мінус 190 °С та нижче, коли заморожування відбувається без утворення кристалів, менш згубна для живого, ніж температура мінус 20 °С і вище, при якій утворюються кристали льоду, що призводить до механічних пошкоджень і необоротних змін у мікробній клітині.

Ще більш стійкі до низьких температур віруси. Вірус сказу при температурі мінус 190 °С та мінус 292 °С залишався активним протягом декількох місяців.

***Променева енергія.*** Енергія, що поширюється у просторі у вигляді електромагнітних хвиль, називається променевою. Електромагнітні хвилі включають радіохвилі, світлові промені, іонізуючу радіацію. Різні спектри променевої енегії впливають на мікроорганізми не однаково. Радіохвилі не здійснюють біологічної дії, інфрачервоні − викликають нагрівання.

***Дія видимого світла.*** Світло являє собою електромагнітне випромінювання з довжиною хвилі 400 − 780 нм. Елементарною частинкою, квантом електромагнітного випромінювання є фотон. Природнім джерелом видимого

світла є Сонце, зірки, атмосферні розряди, люмінесціюючі об'єкти тощо. Енергія Сонця необхідна зеленим і пурпурним бактеріям, які за допомогою пігментів перетворюють світлову енергію в доступну біохімічну і використовують її для синтезу компонентів клітини. Проте, світлова енергія може згубно впливати на деякі види бактерій. Бактерицидність видимого світла залежить від довжини хвилі: чим вона коротше, тим більше в ній енергії. Під впливом прямих сонячних променів гине багато мікробів, особливо патогенних (збудник туберкульозу протягом 3 − 5 год., вірус ящура − 2 год.).

***Дія на мікроби ультрафіолетового (УФ) випромінювання.*** Діапазон ультрафіолетового випромінювання 100-400 нм поділяють на три області: УФ-А − з довжиною хвилі 315-400 нм; УФ-В з довжиною хвилі 280-315 нм; УФ-С з довжиною хвилі 100-280 нм. Біологічне значення УФ випромінювання має ділянка спектру 230-400 нм. Найбільшою цидною активністю володіють короткі ультрафіолетові промені (254-265 нм), які поглинаються нуклеїновими кислотами та білками, спричинюючи генетичні мутації, порушення реплікації ДНК, повноцінного поділу клітини, інактивацію біосинтезу життєво важливих компонентів клітини, що призводить до її загибелі. Так, *E. coli* гине під дією мінімальної кількості УФ випромінювання з довжиною хвилі 234 нм, *Staphylococcus aureus* та *Ps. aeruginosa* − при 265 нм, *Serratia marcescens* − при 281 нм. Мікроби, що утворюють пігмент, найменш чутливі до дії УФ випромінювання (яскраво жовтий у *Sarcina lutea*, чорний меланін у *Aspergillus niger*).

Багато мікроорганізмів має специфічні ферменти, які можуть виправляти пошкодження, нанесені ДНК УФ випромінюванням, розщеплюючи димер тиміну. Ці ферменти активізуються видимим світлом, внаслідок чого цей процес отримав назву фотореактивації.

***Іонізуюча радіація.*** Іонізуюча радіація впливає в основному на ДНК клітини, викликаючи бактерицидний або мутагенний ефект. До них найбільш чутливі клітини у фазі експоненціального росту. Деякі мікроорганізми володіють високою стійкістю до дії іонізуючої радіації. У воді ядерних реакторів виявлені бактерії *Micrococcus radiodurans*, які мають червоний пігмент, стійкі до дії УФ та іонізуючого випромінювання. Деякі тіонові бактерії живуть у покладах уранових руд.

Ренгентівське опромінення бактерій дозою 0,5 Гр посилює ріст і утворення пігментів, доза 3-5 Гр призводить до зупинки росту. До опромінення більш чутливі молоді клітини, які знаходяться у стадії поділу або росту. Більш чутливі до опромінення грампозитивні мікроби і менш чутливі грамнегативні. Підвищена стійкість до опромінення відмічена у клостридій ботулізму: вони гинуть при дії на них дозами 25-40 кГр. Стійкі до опромінення віруси і рикетсії. Чим менше розмір вірусної частинки, тим вище летальна доза. До прикладу, вірус ящуру інактивується після опромінення дозою 35-40 кГр. Деякі бактерії (збудник сибірської виразки, кишкова паличка) можуть набувати стійкості до опромінення. Після декількох опромінень летальна доза підвищується у два і більше разів. Збільшення стійкості до опромінення залежить і від середовища, на якому вирощувалась культура.

Бактерицидна дія опромінення використовується на практиці. Бактерицидні ультрафіолетові, ртутно-кварцеві лампи використовують для стерилізації боксів, операційних, у харчовій промисловості.

***Ультразвук*** − високочастотні коливання звукових хвиль більше 20 000 Гц. Ультразвук може викликати розриви клітин і клітинних структур, морфологічні, фізіологічні та фізико-хімічні зміни. Руйнування клітин під дією ультразвуку відбувається в результаті утворення піни у цитоплазмі, збільшення її об'єму, розриву клітинної стінки тощо. Найбільш чутливі до ультразвуку молоді клітини, з віком стійкість підвищується. До ультразвуку чутливі всі мікроорганізми, в тому числі спорові. Однак за ступінню чутливості вони значно відрізняються. Ультразвук згубно діє на ешерихії, сальмонели, протей, золотистий стафілокок тощо. Чим менше розміри мікроорганізму, тим вище його стійкість до дії ультразвуку.

***Електроенергія.*** Короткотривале проходження через суспензію бактерій постійного або змінного струму, імовірно, викликає дуже слабку дію. Однак довготривале пропускання струму високої напруги може призвести до електролізу деяких компонентів середовища. Сполуки, що при цьому утворюються, можуть шкідливо впливати на мікроорганізми. Крім того, проходження струму може супроводжуватись виділенням тепла, яке, в свою чергу, може впливати на бактерії. Мікроби, як і всі колоїдні частинки, суспендовані у водних розчинах, несуть на своїй поверхні електричний заряд, тому при проходженні електричного струму через таку суспензію частинки, що несуть негативний заряд, будуть рухатись до аноду, а частинки, заряджені позитивно, − до катоду. Такий рух частинок у електричному полі отримав назву електрофорез. Описане явище було покладено в основу ряду аналітичних методів, що дозволяють в результаті електрофорезу, провести розділ речовин із суміші. В мікробіології цей метод застосовують для аналізу продуктів метаболізму мікроорганізмів.

Електричний струм посилює цидну дію дезінфікуючих речовин, особливо ртутних препаратів. У полі електричного струму відбувається дисоціація молекул на іони, що скорочує строк дії речовин і підвищує їх ефективність. Електроліз також застосовують для дезінфекції води, знезараження стічних вод і т.д. При цьому згубна дія на мікроби забезпечується не безпосередньо електричним струмом, а тими продуктами (кисень, хлор, кислоти), які утворюються в результаті його проходження через середовище.

***Вплив магнітного поля на мікроорганізми.*** У мікробів, як і у інших живих істот, встановлений магнітотропізм. У найбільшій мірі магнітотропізм виражений у мікроскопічних грибів, які можуть рости за силовими лініями магнітного поля. Таке явище пояснюється наявністю продуктів біосинтезу, що містять особливі білки-ферменти, в молекулах яких є атоми заліза з феромагнітними властивостями. У клітинах магніточутливих бактерій виявлені органели (магнітосоми), що складаються з біогенного магнетиту ($FeO \times Fe_2O_3$). Вони мають дископодібну форму, оточені мембраною і складають у магніточутливих мікробів до 2 % маси сухої речовини.

Мікроби реагують на будь-яке напруження геомагнітного поля, що призводить до зміни морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей. Клітини збільшуються в розмірах, утворюючи довгі нитки; на щільних поживних середовищах утворюють дрібні безколірні колонії (стафілокок, чудова паличка). Може змінюватись вірулентність, резистентність до антибіотиків тощо. Виходячи з цих даних, магнітне поле може розглядатись як екологічний фактор, що в певній мірі визначає протікання біологічних процесів, що сприяє появі або тимчасовому зникненню інфекційних і інших хвороб на Землі.

***Дія струсів на мікроорганізми.*** Дія струсів часто викликає загибель бактерій, але не вірусів. Якщо помістити бактерії у склянку із скляними кульками, і струшувати її, то через деякий час відбувається механічне пошкодження клітин. Бактерії руйнуються швидше, якщо їх попередньо заморозити. Подібне явище спостерігається у гірських та інших річках із швидкою течією, завдяки чому, у поєднанні з сонячними променями та іншими факторам, вода очищується від мікробів.

**2. Хімічні фактори середовища**

***Кислотність середовища.*** Для життєдіяльності мікроорганізмів велике значення має кислотність середовища, яка визначається концентрацією іонів водню, що утворились у водному розчині в результаті електролітичної дисоціації води (pH). Концентрація водневих іонів визначає кислотність середовища. Кожний мікроорганізм існує в певних межах pH і має свій оптимум реакції середовища.

У більшості мікроорганізмів оптимум pH=6−7. *Acetobacter*, плісняві гриби, дріжджі краще розвиваються в кислому середовищі, при pH=5-6. Такі організми дістали назву ацидофільних. Існують як факультативні ацидофіли (дріжджі, гриби), так і облігатні (*Thiobacillus thiooxidans*), нездатні до росту в нейтральних середовищах. Багато ацидофільних форм серед водоростей та найпростіших, а *Euglena mutabilis* та *Cyanidium caldarium* на стільки вимогливі до реакції середовища, що фактично є індикаторами низького pH середовища.

Гнилісні мікроорганізми, навпаки, добре розвиваються у нейтральному та слабо лужному середовищі. Оптимум pH для них дорівнює 7–7,6.

Існують бактерії, які краще розвиваються у лужному середовищі. Наприклад, холерний вібріон має оптимум pH=9. Такі мікроорганізми називаються алкаліфільними.

Вплив іонів водню на мікроорганізми може бути як прямим (безпосередній вплив pH на мікробну клітину), так і опосередкованим. Останнє пов’язано з впливом іонів водню не на бактерії, а компоненти середовища, дисоціація яких залежить від pH і впливає на потрапляння поживних речовин в клітину. Реакція середовища впливає на утворення та активність мікробних ферментів. Від реакції середовища залежить і вплив інших факторів. Так, у кислому середовищі посилюється негативний вплив високої температури, тому у кислих розчинах згортання білків при нагріванні відбувається швидше, ніж у нейтральному та лужному середовищі.

***Відношення до кисню.*** Молекулярний кисень життєво важливий елемент. Він необхідний всім макроорганізмам без виключення. Мікроорганізми відрізняються за своїми потребами у молекулярному кисні. Вивчення потреби мікроорганізмів у молекулярному кисні виявило серед них ряд груп: облігатні аероби, облігатні анаероби, факультативні анаероби, мікроаерофіли.

*Облігатні аероби* для здійснення процесів метаболізму потребують молекулярний кисень. Вони не здатні отримувати енергію шляхом бродіння. Їх ферменти здійснюють перенос електронів від субстрату, що окислюється, до кисню. Аероби розвиваються, як правило, на поверхні поживних середовищ. До облігатних аеробів відносяться мікрококи, мікобактерії, *B. subtilis* та ін.

*Облігатні анаероби* для свого розвитку не потребують молекулярний кисень, більш того, він для них токсичний. Багато ферментів таких бактерій денатурується під впливом молекулярного кисню. Згубна дія кисню на облігатні анаероби обумовлена тим, що в живій клітині у присутності кисню утворюється пероксид водню, який у великих концентраціях отруйний для бактеріальної клітини. Облігатні анаероби гинуть при концентрації $H_2O_2$ 0,0003 %, при тому, що аероби витримують до 0,015 %, т.б. у 50 разів більше. У клітинах аеробних бактерій виробляється фермент каталаза, що розкладає перекис водню на воду та молекулярний кисень, тому $H_2O_2$ не накопичується в клітинах. У анаеробів та факультативних анаеробів каталаза відсутня, що і є однією з причин їх нездатності існувати у аеробних умовах.

У анаеробів в якості акцептору водню виступають нітрати, сульфати чи інші сполуки (*Bacteroides, Fusobacterium, Metanobacterium*). В природних умовах безкисневими зонами є грязьові відкладання, болота, насичені водою ґрунти, травні тракти тварин, підземні нафтосховища та ін. Значна кількість представників анаеробних бактерій відносяться до роду *Clostridium* (*C. tetani, C. botulinum, C. perfringens*).

*Факультативні анаероби* займають проміжне положення між облігатними аеробами та анаеробами, можуть жити в присутності та відсутності кисню. Типовим представником цієї групи є кишкова паличка, стафілокок, стрептокок. Кишкова паличка на середовищі з вуглеводами розвивається як анаероб, зброджуючи цукри, а потім починає використовувати кисень як типовий аеробний мікроорганізм, окислюючи до $CO_2$ і $H_2O$ продукти бродіння.

*Мікроаерофіли* складають групу організмів, що живуть при низьких концентраціях кисню. До цієї групи відносяться молочнокислі бактерії, актиноміцети, лептоспіри тощо.

***Хімічні сполуки***. Характер дії хімічних речовин на мікроорганізми визначається їх природою, концентрацією, біологічними властивостями самого мікроорганізму. Так, аміак на розвиток багатьох бактерій справляє негативну дію, а для нітрифікаторів − це необхідна енергетична субстанція. Дія хімічних речовин на мікроорганізми може бути стимулюючою (сприяє росту і розмноженню), бактеріостатичною (гальмує ріст і розмноження) та бактерицидною (вбиває).

Прикладом стимулюючої дії на мікроорганізми може служити дія вітамінів.

Багато хімічних речовин згубно впливають на мікроорганізми та отримали назву антимікробних. Серед них є речовини як органічного, так і неорганічного походження. Із неорганічних значною антимікробною активністю володіють солі важких металів − ртуті, срібла, свинцю. Вони вбивають бактерії у розведенні $10^{-4}$–$10^{-8}$. Взаємодіючи з білками протоплазми, вони викликають коагуляцію білків.

Деякі антимікробні речовини інактивують ферменти мікробів. Такі окислювачі, як хлорне вапно, пероксид водню, йод, взаємодіючи з компонентами цитоплазматичної мембрани, викликають окисні процеси у клітині, що призводить до її загибелі.

Серед органічних речовин сильними антимікробними властивостями володіють етиловий спирт (викликає коагуляцію білка), формальдегід (зв'язує аміногрупи амінокислот), фенол (розчиняє ліпіди цитоплазматичної мембрани), карболова кислота та ін.

Антимікробні речовини, що отримали широке практичне застосування для пригнічення патогенних мікробів, називаються дезінфікуючими, а їх використання дезінфекцією.

Мікроби піддаються не тільки фізичним, хімічним, а й біологічним впливам. В природі живі істоти об'єднані у біоценози. Для кожного біоценозу характерним є видове та кількісне співвідношення популяцій, структура, взаємовідносини та інші ознаки. Серед різних ценозів (фіто-, зооценозів) значне місце займають мікробоценози − спільноти мікроорганізмів. Між ними та іншими мікроорганізмами можуть існувати різні взаємовідносини, які проявляються у формі коменсалізму, мутуалізму, сенергізму, саттелітизму, антагонізму та ін., розглянуті у Темі 1.

### *Контрольні питання*

1. Перерахуйте основні фізичні фактори, що чинять вплив на мікроорганізми.
2. Обґрунтуйте, чому наявність вологи є важливим фактором для життєдіяльності мікроорганізмів.
3. Які мікроорганізми називають осмотолерантними?
4. Які мікроорганізми називають барофільними?
5. На які групи поділяють мікроорганізми за їх відношенням до температури?
6. Як бактерицидна дія ультрафіолетового випромінювання використовується на практиці?
7. Як електроенергія впливає на мікроорганізми?
8. Які мікроорганізми називають алкафільними?
9. Перерахуйте основні хімічні фактори, що впливають на мікроорганізми.
10. Перерахуйте основні біологічні фактори, що впливають на мікроорганізми.

### *Література*

1. Асонов Н.Р. Микробиология. − 4-е изд., перераб. и доп. − М.: Колос, 2002. − 352 с.
2. Громов Б.В, Павленок Г.В. Экология бактерий. − Л.: Изд. ЛГУ, 1989. − 247 с.

3. Гусев М.А., Минеева Л.А. Микробиология. − 4-е изд., − М.: Издательский центр «Академия», 2003. − 464 с.
4. Медицинская микробиология / Под. ред акад. РАМН В.И. Покровского, проф. О.К. Поздеева. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 1184 с.
5. Микробиология. К.Д. Пяткин, Ю.С. Кривошеин. − М.: Медицина, 1980. − 512 с.
6. Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М. и др. Экология микроорганизмов / Под ред. Нетрусова. − Москва: Изд.центр «Академия», 2004. − 272 с.
7. Общая микробиология / Под ред. А. Е. Вершигоры. − К.: Выща шк. Головное изд-во, 1988. − 343 с.

## ТЕМА 5. ҐРУНТ, ВОДА, ПОВІТРЯ ЯК СЕРЕДОВИЩЕ ІСНУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ.

1. Мікрофлора повітря.
2. Мікрофлора води.
3. Мікрофлора ґрунту.

Поширення мікроорганізмів повсюдне. Вони є мешканцями ґрунту, води, повітря, макроорганізмів, об'єктів техносфери.

**1. Мікрофлора повітря.**

В атмосферному повітрі можуть знаходитись десятки й сотні видів сапрофітних мікроорганізмів. Однак повітря не є сприятливим середовищем для бактерій, що обумовлено відсутністю поживних речовин, згубною дією ультрафіолетового випромінювання, висушування, відсутністю вологи. Склад мікробів повітря дуже різноманітний і залежить від ступеня забрудненості повітря мінеральними і органічними зависями, температури, осадів, характеру місцевості, вологості та ін. факторів. Чим вище у повітрі концентрація пилу, диму, тим більше бактерій. Кожна частинка пилу має здатність адсорбувати бактерії. У повітрі приміщень мікроорганізмів більше, ніж у повітрі відкритих місць, у повітрі міст мікроорганізмів більше, ніж лісів та полів, над окультуреним багатим на органічні речовини ґрунтом мікроорганізмів більше, ніж над пустелями. До дощу мікроорганізмів більше, ніж після дощу в одній і тій же місцевості.

Мікрофлора повітря складається із різноманітних видів, які потрапляють у нього з ґрунту, рослин, тварин, живих організмів. В повітрі часто зустрічаються пігментні сапрофіти (мікрококи, сарцини), *B. subtilis, B. megaterium, B. cereus*, актиноміцети, мікроскопічні гриби.

Кількість мікроорганізмів варіює у широкому діапазоні – від декількох екземплярів до декількох десятків тисяч. Повітря Арктики містить 2-3 мікроба на 20 $м^3$, у містах з розвинутою промисловістю – 1000-3000 у 1 $м^3$. У повітрі лісів мікроорганізмів мало, що обумовлено дією рослинних фітонцидів. Навколо хворих людей та тварин у повітрі можуть знаходитись патогенні мікроорганізми (мікобактерії туберкульозу, бацили сибірської виразки, сальмонели та ін.). Через повітря з краплинами слизу можуть передаватись збудники грипу, скарлатини, дифтерії, коклюшу, стафілококові, стрептококові інфекції тощо.

Мікроорганізми, що знаходяться у повітрі, можуть знаходитись у трьох фазах бактеріального аерозолю: крапельного, крапельно-ядерної, пилової. Під аерозолем розуміють фізичну систему із твердих частинок, які завішані у газовому середовищі. Дрібні краплі аерозолю, які людина з кашлем або чиханням виділяє можуть знаходитись у повітрі протягом декількох годин або діб. Людина в середньому за добу вдихає 12000-14000 л повітря, при цьому 99% бактерій затримуються у дихальних шляхах.

В залежності від пори року змінюється склад бактерій у повітрі. Якщо прийняти загальну кількість мікробів взимку за 1, то навесні їх буде – 1,7; літом – 2; восени – 1,2.

Для повітря закритих приміщень санітарно-показовими є стафілококи, гемолітичні стрептококи та стафілококи.

Загальна кількість мікроорганізмів в операційній до операції не має перевищувати 500 в 1м$^3$ повітря, після – 1000.

На бактерії, що знаходяться у повітрі згубно діють ультрафіолетові промені, але якщо бактерії адсорбовані на частинках пилу, то стають добре захищеними від дії променів.

Кількість мікроорганізмів у жилих приміщеннях прямо залежить від санітарно-гігієнічного режиму прибирання (слабка вентиляція, скупчення, людей, сухе прибирання).

Таким чином, мікроби у повітрі поширені нерівномірно, а їх склад в основному визначається середовищем.

**Механізм самоочищення повітря**. Повітря має дуже невелику в'язкість, тому одним з основним механізмів самоочищення є осідання бактеріальних аерозолів. Швидкість осідання залежить від їх розміру, чим менший діаметр частинки, тим довше вона осідає. Бактерії, що осіли на предмети побуту, з'єднуються з пиловими частинками і перетворюються у пилову фазу бактеріального аерозолю. В 1 г пилу знаходиться більше 1 млн. мікроорганізмів. Важливим механізмом самоочищення є постійне переміщення повітря. В рухомому повітрі зростає імовірність зіткнення бактеріальних аерозолів, що веде до зливання 2 або більшої кількості частинок, їх питома вага збільшується, що полегшує їх осідання під впливом сили тяжіння. Добре відома згубна дія УФ випромінювання на мікроорганізми.

Велика кількість бактеріальних аерозолів змивається дощем, снігом, які образно називають промивними водами атмосфери.

**2. Мікрофлора води.**

Мікроорганізми − обов'язкові мешканці прісних і солоних водойм, які відіграють ключову роль у їхній життєдіяльності, забезпечуючи замкнені цикли основних біогенних елементів.

Вода є природнім середовищем існування різноманітних мікроорганізмів. В прісних і солених водах виділяють всі таксономічні групи бактерій, найпростіших, водоростей.

Сукупність всіх водних мікроорганізмів позначають терміном мікробіальний планктон. Його якісний склад залежить від пори року, метеорологічних факторів, ступеня віддаленості водойми від населених пунктів, хімічного складу джерела, характеру ґрунту берегів, наявності і складу гідробіонтів, від джерел забруднення.

Водна оболонка Землі (гідросфера) являє собою сукупність морів, озер, річок, боліт, підземних вод. Із загальної кількості води на Землі лише 2,5% припадає на прісну воду. Однак переважна більшість прісної води важкодоступна: майже 70% її міститься в гірських і полярних льодовиках. В

озерах та руслах річок лише 0,006% прісних вод. Об'єм підземних прісних вод приблизно в 100 разів більше. Ґрунтові води, хоча і утворюють дуже великий прісноводний резервуар та являють собою дуже важливий для людей питний ресурс дуже мало населені мікроорганізмами.

Мікрофлору водоймищ утворюють 2 групи: **автохтонні** (водні) і **аллохтонні** (потрапляють ззовні при забрудненнях різного походження).

**Автохтонна мікрофлора** – сукупність мікроорганізмів, що постійно живуть і розмножуються у воді. Частково ця група поповнюється мікрофлорою прибережної зони: ґрунту, мулу та рідко повітря.

Автохтонна мікрофлора чистих водоймищ представлена сапрофітами ґрунту *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas fluorescens, Micrococcus, Micrococcus roseus*, анаеробні організми зустрічаються у воді дуже рідко. В намулі океанів і морів, боліт, гарячих мінеральних джерел, нафтових свердловин та інших місцях з обмеженою кількістю кисню, мешкають найбільш древні істоти на нашій планеті – архебактерії – метанутворюючі бактерії, які для своєї життєдіяльності використовують вуглекислоту та водень. У воді, що містить органічні речовини, багато клостридій. Вода, що містить сірководень, багата на фотосинтезуючі бактерії. Мікрофлора річок залежить від ступеня їх біологічної забрудненості та якості очистки стічних вод.

**Аллохтонна мікрофлора** – це сукупність мікроорганізмів, що потрапляють ззовні із різних джерел забруднення. Джерелом аллохтонної мікрофлори є виділення людей, тварин, господарсько-побутові, промислові стічні води. Серед аллохтонних можуть зустрічатись патогенні для людини мікроорганізми. Але в порівнянні з автохтонними, вони швидше відмирають у воді, якщо нові умови відрізняються від попередніх, в яких вони існували.

Відносно детально вивчено мікрофлору озер. У багатьох озерах відбувається явище стратифікації − розташування шарів води за вертикаллю, спричинене нагріванням та охолодженням води влітку і взимку. Зазвичай нижній шар води холодніший і містить більше розчинних солей, верхній шар тепліший. Верхній шар називають **епілімніон**, нижній – **гіполімніон**, середній – **металімніон.** Навесні і восени, коли температура всієї водної маси вирівнюється, відбувається перемішування води.

Першою чітко вираженою екологічною нішею в епілімніоні є поверхнева плівка води. В ній концентруються поживні речовини, переважно ліпіди, які надходять з води і повітря. Тут масово скупчуються мікроорганізми, які прикріплюються до межі розділення фаз. Концентрація мікроорганізмів у поверхневій плівці набагато вища, ніж у нижньому шарі води. Сукупність організмів, які мешкають у поверхневій плівці води, називають нектон. Ціанобактерії зустрічаються у всій товщі епілімніону, але особливо інтенсивно вони розвиваються внизу. Частину клітин фототрофів (бактерій і водоростей) поїдають безхребетні, частина відмирає, а рештки забезпечують можливість розвитку гетеротрофним бактеріям та іншим мікроорганізмам — вторинним продуцентам. У верхній частині епілімніону завдяки фотосинтезу, що здійснюється фототрофами − водоростями і ціанобактеріями, відбувається синтез органічної речовини. Сюди також надходять екзогенні органічні

речовини. Частина організмів осідають, нагромаджуючись у металімніоні і на дні водойми, де відбувається їхнє розкладання. Споживання при цьому кисню сприяє утворенню біля дна водойми, а потім і в гіполімніоні анаеробних умов. За сприятливих умов, які створюються в гіполімніоні, відбувається бурхливий розвиток анаеробних фототрофних бактерій, головним чином, пурпурних. Первинна продукція анаеробних фототрофів, як уже зазначалось, може бути доволі значною. Елементарна сірка, що утворюється у процесі фотосинтезу, відразу використовується сульфатредукторами. У результаті анаеробних процесів нагромаджуються різні продукти бродіння, зокрема молекулярний водень, метан, сірководень, а також вуглекислота. Ці гази у вигляді бульбашок піднімаються догори.

У металімніоні вміст біогенних мінеральних речовин вищий, ніж в епілімніоні, але розвиток аеробних форм лімітований нестачею кисню. Деякі ціанобактерії, які тут активно розвиваються (*Oscillatoria*), стійкі до сірководню і здатні до аноксигенного фотосинтезу за рахунок використання сірководню як відновлювача вуглекислоти. Біля нижньої межі кисневої зони можуть розвиватися аеробні сіркобактерії. Озера з бурхливим розвитком фототрофів та більшою кількістю органіки називають евтрофними. Озера, бідні на елементи мінерального живлення і, відповідно, організми в них називаються оліготрофними.

Особливі умови для розвитку мікроорганізмів створюються у мулових відкладеннях. Склад ценозів поверхневого шару намулу визначається, передусім, кисневим режимом придонного шару води. За відсутністю кисню у мулі відбуваються послідовні стадії анаеробного розпаду осідаючих органічних решток. Процес завершують метанутворюючі та сульфатредукуючі мікроорганізми. Якщо у придонному шарі води є кисень, у поверхневих зонах мулу утворюється кілька вузьких мікрозон, які характеризуються різними значеннями окисно-відновного потенціалу і різною мікрофлорою. В мулі прісних водоймищ переважають анаероби, що розкладають клітковину, сіркобактерії, нітріфікуючі бактерії, азотфіксуючі мікроорганізми.

Між проточними і стоячими прісними водоймами існує різниця. Обмін між сушею і водою інтенсивніше виражений у річках, тому там створюється більш «відкрита» екосистема. У річках набагато вища концентрація кисню і він більш рівномірно розподілений у воді, там слабше (або відсутня зовсім) виражена термічна стратифікація. Винятком можуть бути великі річки з повільною течією.

Підземні води фільтруються через пласти землі, очищаються від мікрофлори і тому містять мало мікробів. Особливо чисті води глибоких артезіанських колодязів, джерельні води.

Води відкритих водойм часто забруднюються стічними водами, дощовими, талими водами, що призводить до потрапляння у водойми великої кількості мікроорганізмів, що різко змінює мікробний біоценоз і санітарний режим. Основним шляхом мікробного забруднення є потрапляння у воду неочищених міських відходів.

Стічні води містять представників нормальної мікрофлори кишечнику людини і тварин, включаючи умовно-патогенну мікрофлору. До її складу можуть входити і патогенні види – збудники кишкових інфекцій, лептоспірозів, віруси поліомієліту, гепатиту. Мікробне забруднення водоймищ відбувається також при купанні людей, худоби, пранні, тому у воді можна виявити стафілокок, БГКП, ентерокок, гриби та ін. мікроорганізми. В залежності від ступеня забрудненості у водоймищах тривалий час можуть зберігатись і хвороботворні бактерії. У водопровідній, річній і колодязній воді сальмонели можуть знаходитись від 2 діб до 3 місяців, шигели 5-9 діб, лептоспіри – 7-150 діб, холерний вібріон у воді річок виживає декілька місяців, збудник туляремії – від декількох діб до 3 місяців.

Мікроорганізми широко розповсюджені у водах морів та океанів, їх знаходять на глибині 3700-10000 м. Моря займають 70% земної поверхні, причому життя виявляють на всій глибині моря. Основними бар'єрами для вільного переміщення морських організмів є солоність морської води, температура і глибина. Хоча в морях і океанах не існує безжиттєвих зон, однак, поблизу материків і островів вода заселена значно густіше, зокрема і мікроорганізмами. Найбільша маса мікробів реєструється у прибережних водах морів. На глибині до 1 км зустрічаються поодинокі представники мікробів, на глибині більше 4 км мікроби практично відсутні.

Морські мікроорганізми, на відміну від прісноводних, потребують іонів натрію. Причому потреба в натрію у різних морських мікроорганізмів виражена по-різному і змінюється залежно від складу середовища. Так, деякі морські бактерії в лабораторних умовах можуть рости без натрію на складних органічних середовищах, але потребують його для росту на простих синтетичних. У клітинах морських мікроорганізмів виявлено поліаміни, причому їхній вміст збільшується за умов зменшення концентрації солі в середовищі. Поліаміни сприяють стабілізації мембран морських мікроорганізмів у цих умовах.

Мікроорганізми, які мешкають у солоній воді, належать до різних таксономічних груп: *Alcaligenes, Flavobacteriu, Pseudomonas, Vibrio*. Для морської води характерною є така мікрофлора, що викликає фосфоресценцію у риб і води.

Оптимальна концентрація NaCl для морських мікроорганізмів становить 2,5 – 5%.

Вода є фактором передачі багатьох інфекційних захворювань: черевного тифу, сальмонельозних гастроентеритів, холери, дизентерії, лептоспірозів та ін.

У світі існує велика кількість систем з біологічного аналізу та оцінки якості води. Однією з них є класифікація водойм за **показниками сапробності**, згідно з якою водойми поділяються на 4 зони.

*Полісапробна зона.* Сильно забруднена вода, бідна на кисень і багата на органічні рештки. Число мікроорганізмів в 1 мл досягає 1000000 і більше, переважають кишкові палички та анаеробні бактерії, які викликають процеси гниття та бродіння.

*Мезасапробна зона* (зона помірного забруднення), в якій відбувається мінералізація органічних речовин з інтенсивним окисленням і виразною нітрифікацією. Число мікроорганізмів в 1 мл становить сотні тисяч. Кількість кишкових паличок значно менше.

*Олігосапробна зона*. Зона характерна для чистої води. Кількість мікроорганізмів незначна, в 1 мл – декілька десятків або сотень. Кишкова паличка в цій зоні відсутня.

*Катаробна зона* – зона дуже чистої води (від 1 до 100 мікробів в 1 мл).

Водопровідна вода вважається високої якості якщо загальна кількість мікробів в 1 мл становить 100, сумнівною – 100-150, забрудненою – 500 і більше. У воді колодязів та відкритих водойм кількість мікробів в 1 мл не має перевищувати 1000. Якість води оцінюється за наявністю в ній кишкової палички. **Колі-індексом** називається число особин кишкової палички, яка виявляється в 1 л води. **Колі-титром** − найменша кількість води, в якій виявляється хоча б одна кишкова паличка. Наявність останньої у воді свідчить про забруднення її вмістом шлунково-кишкового тракту.

Водопровідна вода рахується хорошої якості якщо колі-індекс 2-3, а колі-титр 300. Вода колодязів повинна мати колі-індекс не більше 10, колі-титр не менше 100.

Крім того для визначення забрудненості води враховують присутність у воді *Str. faecalis*, оскільки ці бактерії є представниками нормофлори тіла людини і тварин, тому свідчить про фекальне забруднення води.

Вода – середовище, для якого характерне самоочищення. Фактори самоочищення можна поділити на фізичні, хімічні та біологічні.

**Фізичні фактори.** *Осадження* у воді нерозчинного органічного осаду. Мікроби в силу своєї ваги, а також внаслідок того, що вони адсорбовані на різних органічних і неорганічних частинках поступово осідають на дно. *Сонячне світло* згубно діє на мікрофлору води. *Інтенсивні переміщення і тертя шарів води* під час протікання призводить до загибелі бактерій. В проточній воді самоочищення проходить швидше, ніж у стоячій. *Розбавлення* забрудненої води чистими водами в падаючих річок також сприяє очищенню і покращує її якість. *Випаровування* деяких летючих речовин, як аміак та ін. також покращує якість води.

**Хімічні фактори.** *Окислення* деяких органічних і неорганічних речовин, таких як сірководень. *Олігодинамічна* дія деяких металів та їх солей (золото, срібло, мідь). Вода річок, озер нерідко володіє *бактерицидними властивостями*. Морська вода діє згубно на деякі сапрофітні бактерії, при чому її бактерицидність зберігається після фільтрації та автоклавування.

**Біологічні та біохімічні фактори.** Велику роль у самоочищенні води відіграє *бактеріофаг*, що у великій кількості потрапляє у воду разом з бактеріями. Бактеріофаг може бути свідченням наявності у воді специфічної патогенної мікрофлори. *Мікробний антагонізм* серед окремих видів також сприяє самоочищенню води.

Значну роль у самоочищенні води відіграють біохімічні процеси, зумовлені життєдіяльністю бактерій, інфузорій, рачків та ін. гідробіонтів. В результаті

процесів гниття, бродіння проходить розклад органічних сполук до більш простих і в подальшому утворюють кінцеві продукти розпаду, такі як аміак, вуглекислий газ, вода та ін. Ці процеси розпаду і мінералізації ведуть до збіднення води органічними речовинами і відмирання мікроорганізмів.

Санітарно-мікробіологічне дослідження води проводять в наступних випадках:

1. Вибір джерела водопостачання.
2. Контроль знезараження питної води центрального водопостачання.
3. Визначення придатності для вживання криничної й джерельної води.
4. Перевірка якості і ступеня очищення стічних вод.
5. Розслідування водних спалахів інфекційних хвороб.
6. Контроль знезараження води плавальних басейнів.
7. Спостереження за санітарно-епідеміологічним станом відкритих водоймищ.

З відкритих водойм проби води для аналізу беруть за допомогою спеціальних приладів − батометрів, які опускають на певну глибину, де прилад відкривається і в нього набирається вода, яку й доставляють на поверхню.

При взятті проб необхідно виконувати певні правила.

1. Якщо є джерело забруднення, то з такої водойми беруть три проби води: вище джерела забруднення, навпроти нього і нижче за течією.

2. Проби води з колодязів беруть 2 рази: вранці до розбору води і увечері після розбору.

3. З ставків, озер та річок проби води беруть з глибини 0,5 − 1 м і на відстані 1 − 2 м від берега.

Проби води беруть у добре вимиті сухі скляні бутилі з притертими пробками. Для мікробіологічного аналізу необхідно 2 л води. До кожної проби прикладають супроводжувальну відомість, в якій відзначають: назву джерела і його місцезнаходження; рік, місяць і число взяття проби; точне місце взяття проби; температуру повітря, дані про опади у день взяття проби і за останні 10 днів; температуру води; коротке описання водойми; для якої мети направляється. В лабораторію проби доставляють негайно.

Визначають вміст у 1 мл води мезофільних аеробів та факультативних анаеробів. З кожної проби роблять посів двох об’ємів, так щоб число колоній, що виростуть коливалось в межах 30 – 300.

При аналізі водопровідної води в кожну із двох чашок вносять по 1 мл, забрудненої води − 0,01 і 0,001 мл. При визначенні мікробного числа сильно забруднених і стічних вод, досліджувані взірці розводять стерильною водою, виготовляючи серійні розведення.

**3. Мікрофлора ґрунту.**

Ґрунт є дуже складною відкритою саморегулювальною системою, яка має свою структуру і складається з власне ґрунту (твердої фази), біоти, газової і водної фази. Вчення про ґрунт було створено В.В. Докучаєвим, П.А. Костичевим, С.Н. Виноградським, В.Р. Вільямсом та ін. Мікроорганізми першими населяють материнську породу і обумовлюють ґрунтоутворюючі процеси. Ґрунт як середовища є гетерогенним. Складовими частинами ґрунту є органічні і мінеральні речовини, ґрунтовий розчин, повітря. Хімічний склад і

співвідношення у різних типах ґрунтів цих компонентів не постійні. Родючість ґрунту залежить не тільки від присутності в ньому тих чи інших органічних і неорганічних речовин, а і від наявності певних мікроорганізмів, які обумовлюють якісний склад ґрунту. Життєдіяльність мікроорганізмів в ґрунті, їх чисельність і різноманітність визначаються ґрунтовними умовами: наявністю і доступністю поживних речовин, вологістю, аерацією, реакцією середовища, температурою.

З усіх середовищ біосфери ґрунт вважається найбагатшим за наявністю і складом мікрофлори. У ньому існує безліч мікроорганізмів з різними властивостями. Це автотрофи і гетеротрофи, аероби і анаероби, термофіли і психрофіти і т.д. Мікрофлора ґрунту відіграє незамінну роль не тільки у формуванні його родючості, а також і в детоксикації різних сполук.

У ґрунті є поживні речовини і волога, внаслідок чого кількість мікроорганізмів на 1 г ґрунту досягає від 200 млн. бактерій у глинистому, до 5 млрд. у чорноземах.

Мікрофлора родючого ґрунту складається із мікробних популяцій водоростей, актиноміцетів, нітріфікуючих, денітрифікуючих бактерій, мікробів, що здійснюють розкладання целюлози, сіркобактерій, пігментуючих бактерій, грибів, найпростіших. У збагаченні ґрунтом азоту суттєву роль відіграють вільноживучі та симбіотичні азотфіксатори. Найбільша кількість мікробів міститься у верхньому шарі ґрунту на глибині від 1 до 15 см. В ґрунті довго зберігаються спори (*B.cereus, B.megaterium*). У глибоких шарах (1,5-6 м) зустрічаються поодинокі мікроби, вони виявлені і в артезіанській воді. Навіть у родовищах нафти присутні так звані «нафтові» бактерії, які перетворюють нафту у щільну асфальтоподібну масу і внаслідок чого відбувається закупорка природних резервуарів нафти. Кількість мікроорганізмів ґрунту знаходиться у тісній залежності з забрудненням фекальними масами, а також від характеру обробки ґрунту та добрив.

Бактерії, що не утворюють спор, внаслідок нестачі поживних речовин, а також згубної дії світла, висихання, мікробів-антагоністів і фагів зберігаються у ґрунті від декількох днів до декількох місяців.

За межами населених пунктів мікрофлору ґрунту, як правило, складають сапрофіти. Патогенні мікроби потрапляють у ґрунт з фекаліями, сечею, сміттям, трупами, гноєм, стічними водами.

Звичайно ґрунт не є сприятливим середовищем для патогенних мікробів, вірусів, грибів, найпростіших, однак, є фактором передачі деяких збудників інфекційних захворювань: у ґрунті зберігаються сальмонели черевного тифу – від 2-3 тижнів до 12 місяців, холерний вібріон – 1,5-5 тижнів до 9 місяців, мікобактерії туберкульозу – 13 тижнів до 7 місяців, збудник чуми – 0,5 тижнів до 1 місяця. В ґрунті довго зберігаються бацили сибірської виразки, клостридій стовбняка, ботулізму. Бацили сибірської виразки, потрапляючи у ґрунт, перетворюються у спори і зберігаються в ній багато років. Палички сибірки можуть потрапляти в ґрунт з фекаліями тварин, хворих на сибірку, їх трупами, із стічними водами шкіряних заводів, а також з водою, в якій мили вовну. Худоба заражається через поїдання трав, забрудненої спорами, спостерігаються

випадки зараження людей, які ходили босоніж по забрудненому ґрунту, і у яких на шкірі ніг були подряпини, ранки.

Ґрунт – місце мешкання різних тварин в тому числі гризунів, на яких паразитують переносники чуми, туляремії, енцефалітів, лейшманіозу і т.д. В ґрунті проходять певні стадії життєвого циклу найпростіші – цисти амеб, балантидій, значна роль ґрунту у передачі гласних інвазій. У ґрунті знаходяться і деякі гриби, які проникаючи в організм, викликають алейкію, гістоплазмоз, ерготизм, пеніцильоз та ін.

Для мікробіологічного дослідження ґрунту застосовують селективні методи, за допомогою яких можна виявляти різні види мікроорганізмів, які потребують певного поживного субстрату.

Цінним показником санітарного забруднення ґрунту є виявлення *E.coli* і близьких до неї бактерій, а також *Str. faecalis*, *Cl. perfringens*.

***Самоочищення ґрунту.*** Самоочищення ґрунту – процес складний і здійснюється він під впливом різних факторів:

1) адсорбуюча здатність ґрунту – один із найбільш вагомих факторів очищення від мікроорганізмів.
2) антагонізм мікроорганізмів;
3)взаємовідносини між рослинами і мікроорганізмами (конюшина частково пригнічує бацили сибірської виразки);
4) фагоцитоз мікроорганізмів найпростішими;
5) лізис під дією бактеріофагів;
6) висушування, коливання температури і pH.

### *Контрольні питання*

1. Чому повітря не є сприятливим середовищем для існування мікроорганізмів?
2. Які мікроорганізми є санітарно-показовими для повітря закритих приміщень? Охарактеризуйте механізми самоочищення повітря.
3. Від чого залежить тривалість перебування мікроорганізмів у повітрі?
4. Дайте визначення поняттям аллохтонна та автохтонна мікрофлора води.
5. Охарактеризуйте мікрофлору стічних вод.
6. Охарактеризуйте водойми за показниками сапробності.
7. Які є механізми самоочищення водойм?
8. Від чого залежить родючість ґрунту?
9. Обґрунтуйте, чому із всіх середовищ біосфери ґрунт є найбагатшим за чисельністю мікрофлори?
10. Якими мікроорганізмами представлена мікрофлора родючого ґрунту? Які патогенні бактерії зберігаються в ґрунті?

### *Література*

1. Асонов Н.Р. Микробиология. − 4-е изд., перераб. и доп. − М.: Колос, 2002. − 352 с.
2. Громов Б.В, Павленок Г.В. Экология бактерий. − Л.: Изд. ЛГУ, 1989. − 247 с.
3. Гусев М.А., Минеева Л.А. Микробиология. − 4-е изд., стер. − М.: Издательский центр «Академия», 2003. − 464 с.

4. Патика В.П., Омельянець Т.Г., Гриник І.В., Петриченко В.Ф. Екологія мікроорганізмів: Посібник / За ред. В.П. Патики. − К.: Основа, 2007. − 192 с.
5. Медицинская микробиология /Под. ред акад. РАМН В.И. Покровского, проф. О.К. Поздеева. М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 1184 с.
6. Микробиология. К.Д. Пяткин, Ю.С. Кривошеин. − М.: Медицина, 1980. − 512 с.
7. Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М. и др. Экология микроорганизмов / Под ред. Нетрусова. − Москва: Изд.центр «Академия», 2004. − 272 с.
8. Общая микробиология / Под ред. А. Е. Вершигоры. − К.: Выща шк. Головное изд-во, 1988. − 343 с.

## ТЕМА 6. ВЗАЄМОДІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА РОСЛИН.

1. Епіфітна мікрофлора.
2. Прикоренева та ризосферна мікрофлора.
3. Фітопатогенні мікроорганізми, спеціалізація фітопатогенів.
4. Основні ознаки захворювання рослин.
5. Загальна характеристика патологічного процесу.

### 1. Епіфітна мікрофлора.

Велика кількість мікроорганізмів міститься на надземних органах рослин: стеблах, листках, квітках, плодах і насінні. Вперше це було виявлено Р. Буррі ще в 1903 р. Мікроби, що живуть на поверхні рослини, дістали назву **епіфітів**, або **мікроорганізмів філосфери**. На 1 грам зеленої маси може припадати до $10^7$-$10^8$ клітин мікроорганізмів, причому верхня поверхня листкової пластинки містить більше мікроорганізмів у порівнянні з нижньою. Чисельність і різноманітність популяцій мікроорганізмів філосфери залежать від виду рослин, місця її існування, клімату, погодних умов, доступності вологи і поживних речовин, джерелом яких є секрети та ексудати рослин. Значна кількість мікроорганізмів може існувати на поверхні плодів ($10^5$-$10^6$) та насінні ($10^4$-$10^6$). Епіфітна мікрофлора зберігається на насінні і при проростанні переходить на поверхню рослин. Епіфітні мікроорганізми живляться нормальними виділеннями рослинних тканин. Основними поживними речовинами для них є амінокислоти, моно- і дицукри, вітаміни, мінеральні елементи тощо. Для живлення представників епіфітної мікрофлори чимале значення має летка фракція органічних сполук, які виділяють рослини.

Склад епіфітних мікроорганізмів за своєю систематикою дуже різноманітний, на різних рослинах можуть переважати різні види, але їх склад для тієї чи іншої рослини відносно постійний. Кількісний склад епіфітів коливається в широких межах і залежить від умов середовища (вологості, стадії вегетації тощо). Для багатьох мікроорганізмів, які мешкають на рослинах, характерна здатність до синтезу біологічно активних речовин. Серед таких мікроорганізмів є активні фіксатори атмосферного азоту. Деякі мікроорганізми здатні синтезувати меланінові або каротиноїдні пігменти, що захищають їхні клітини від несприятливої дії сонячної радіації. Мешканці філосфери часто синтезують позаклітинні полісахариди, які захищають клітини від сонячної радіації та висихання. Бактерії, які розвиваються у філосфері, можуть виділяти корисні для рослини стимулятори росту.

Переважну більшість епіфітів складають гнильні бактерії *Erwinia herbicola, Pseudomonas fluorescens*, а також мікрококи, молочнокислі бактерії і дріжджі та ін. Трапляється незначна кількість бацил, актиноміцетів та мікроскопічних грибів, а також і представники фітопатогенної мікрофлори.

Серед епіфітних зустрічаються такі мікроорганізми, які утворюють протимікробні речовини, що негативно впливають на фітопатогенні бактерії і запобігають хворобам рослин.

Мешканцями філосфери є деякі молочнокислі бактерії, наприклад *Lactobacillus plantarum*. З рослинною масою ці бактерії потрапляють у силос, де їхній бурхливий розвиток забезпечує дозрівання силосу, а також утворення квашених продуктів. На плодах, багатих на цукор, зокрема винограді, мікроорганізмів особливо багато. Характерним представником таких плодів є *Gluconobacter oxidans*.

Мікроорганізми також виявлені на поверхні та всередині зерна. До найбільш вивчених належать наступні представники родів аеробних та анаеробних бактерій: *Bacillus, Clostridium, Arthrobacter, Agrobacterium, Erwinia, Pseudomonas, Xanthomonas, Streptomyces* та ін., а також грибів, що відносяться до родів *Aspergillus, Botrytis, Fusarium, Acremonium, Penicillium, Phythophtora, Ustilago,* серед яких є фітопатогенні.

Але поряд з цим відмічається здатність окремих епіфітних представників бактерій вражати рослини. Припускають, що фітопатогенні бактерії походять від епіфітних, а основною причиною еволюції епіфітних бактерій в напрямку паразитизму стало живлення рослинними тканинами. Поселяючись на ушкоджених рослинах, бактерії спочатку живились відмерлими тканинами і поступово дали початок розвитку паразитарних форм.

**2. Прикоренева та ризосферна мікрофлора**

Зона ґрунту, яка знаходяться в контакті з кореневою системою рослин, носить назву ризосфери, а мікроорганізми, що розвиваються в ній, називаються ризосферними. Вважають, що чим ближче ґрунт до коренів рослин, тим більше у ньому мікроорганізмів. Особливо багато їх на поверхні коріння. Умовно розрізняють два типи ризосфери: **ближню (ризоплану)** та **віддалену**. Ближня ризосфера розміщується безпосередньо на поверхні коріння і видаляється разом з ним, відділена − починається на відстані декількох міліметрів від коріння і поширюється в радіусі 50 см від нього. Ближня і віддалена ризосфери різняться за кількістю мікроорганізмів. Наприклад, у ґрунті, що взятий на відстані 15 см від коріння, число бактерій складає до 5 млн., а на поверхні коріння – від 50 млн. до 10 млрд.

У ризосфері додаткове джерело живлення для мікроорганізмів − це відмираючі клітини епідермісу, кореневі волоски та продукти екзоосмосу рослин − кореневі виділення. В кореневих виділеннях встановлено наявність органічних кислот − янтарної, щавелевої, яблучної, фумарової, вуглеводів типу альдоз і кетоз, амінокислот і нуклеотидів, фізіологічно активних речовин − ферментів, вітамінів, алкалоїдів та інших сполук. Кореневі виділення є важливим селективним фактором у формуванні ризосфери окремих мікробних асоціацій. В зоні коріння покращуються фізико-хімічні властивості ґрунту, її структурність, вологість, pH. Тому щільність мікроорганізмів у ризосфері значно вища, ніж поза кореневою зоною.

Динаміка чисельності ризосферних бактерій змінюється за періодом росту рослин. В їх розвитку спостерігається два максимуми: перший припадає на період кущіння, другий − на період цвітіння та плодоношення. В цей же період спостерігається максимум кореневих виділень. В період дозрівання і в’янення

активність та чисельність ризосферних бактерій знижується. На коренях різних видів рослин оселяються різні види бактерій. Пояснюється це різним обміном речовин у окремих рослин. Бактерії у прикореневій зоні рослин виконують деякою мірою роль санітарів, очищаючи її від продуктів метаболізму рослин.

Ризосферні мікроорганізми здійснюють сприятливий вплив на рослини, що обумовлено:

– мінералізацією органічних речовин і рослинних залишків;

– синтезом вітамінів, амінокислот, ферментів і інших факторів росту, які посилюють ферментативні процеси в рослинах і сприяють посиленню кореневого живлення та більш енергійному обміну речовин рослин;

– антагоністичною активністю по відношенню до фітопатогенних мікроорганізмів.

Деякі види бактерій, навпаки, можуть бути інгібіторами рослин. Пригнічуюча дія мікрофлори на вищі рослини пов’язана з утворенням і виділенням у ґрунт токсичних речовин окремими видами мікроорганізмів, а також наявністю серед них збудників хвороб. Токсичні форми мікроорганізмів зустрічаються в усіх типах ґрунтів. Серед бактерій − це найчастіше представники родів *Bacillus, Pseudomonas*, серед грибів − *Penicillium, Fusarium.* Для усунення умов, що сприяють цим факторам, необхідно проводити чергування культур у сівозмінах, що забезпечує зміну мікробних асоціацій у ризосфері.

Якісний і кількісний склад мікрофлори ризосфери специфічний для кожного виду рослин. Так, у складі мікрофлори сільськогосподарських рослин на фоні спільних представників було виявлено характерні види мікроорганізмів: у кукурудзи − *Pseudomonas sinuosa*, у вівса − *Mycobacterium globiforme*. Основна маса прикореневої мікрофлори представлена не спороносними грамнегативними бактеріями роду *Pseudomonas*, мікобактеріями і грибами, головним чином, базидіоміцетами, рідше фікоміцетами, аскоміцетами. Деякі рослини утворюють симбіоз з азотфіксуючими мікроорганізмами. Характерною для бульбочкових бактерій є специфічність: зазвичай певний вид бактерій утворює бульбочки тільки на одному або не багатьох видах бобових. Наприклад, *Rhizobium trifolii* утворює бульбочки тільки на коренях конюшини, *Rhizobium phaseoli* − тільки на коренях квасолі. Не всі види бобових рослин здатні до утворення бульбочок. Можливою причиною цього явища є відсутність специфічних бактерій. Вільноживучі азотфіксуючі мікроорганізми не пов’язані безпосередньо з кореневими системами рослин, а асоціативні − мешкають у ґрунті в безпосередній близькості до коренів рослин (у ризосфері). До них відносяться близько 50 видів мікроорганізмів різних родів (*Achromobacter, Agrobacterium, Azospirillum, Enterobacter, Flavobacterium* та ін.). Одними із найактивніших асоціативних азотфіксаторів ризосфери є представники роду *Azospirillum.* Ці мікроорганізми значно покращують азотне живлення рослин, що сприяє підвищенню вмісту загального і білкового азоту та амінокислот у врожаї. Крім того, вступаючи в асоціативні взаємовідносини з рослинами, азоспірили утворюють біологічно активні речовини

фітогормональної природи, які сприяють підвищенню імунітету і стійкості рослин до фітопатогенів.

Гриби утворюють симбіоз з корінням рослин, який носить назву **мікориза**. В залежності від морфологічних особливостей співіснування грибів з рослинами розрізняють **екто-** та **ендотрофні мікоризи. Ектотрофні мікоризи** − асоціації, при яких гриб не проникає у коріння, а поселяється на їх поверхні, утворюючи чохол із міцелію. При **ендотрофних мікоризах** міцелій гриба розміщується в клітинах кори кореня рослин. Мікориза розглядається як симбіотичне співжиття далеких організмів. Особливо це співжиття сприятливе для розвитку рослин:

– збільшує поверхню поглинання кореня за рахунок розгалуження гіф гриба;

– гриби своїми ферментами розкладають багаті на азот органічні сполуки, забезпечуючи рослини амінокислотами, мінеральними речовинами, водою;

– мікоризні гриби забезпечують рослини ростовими речовинами.

Рослини, у свою чергу, виділяють ряд ростових речовин, які стимулюють розвиток гриба. Крім того, гриби отримують від рослин вуглеводи, які служать джерелом енергії.

### 3. Фітопатогенні мікроорганізми, спеціалізація фітопатогенів

Фітопатогенні мікроорганізми − мікроорганізми (бактерії, віруси, гриби) здатні спричиняти захворювання рослин. Одним з напрямків фітопатології є вивчення хвороб рослин, які викликаються мікроорганізмами. Фітопатологія вивчає причини виникнення хвороби, її симптоматику, механізми поширення, вплив умов навколишнього середовища, що впливають на її розвиток тощо.

Відомо понад 300 видів бактерій, що уражають рослини, викликаючи бактеріози. Вони поширені в різних кліматичних зонах земної кулі. Найкраще вивчено бактеріози культурних рослин. Інфекційні хвороби у рослин спричиняються також грибами і називаються мікозами. Такі поширені хвороби агрокультур, як різні види сажки, іржі, рак картоплі, кила капусти, фітофтора картоплі, гниль дерев та багато інших, викликаються грибами, які можуть проникати крізь непошкоджену покривну тканину, продихи, і найчастіше − через різні поранення.

Найбільшої шкоди рослинництву завдають фітопатогенні віруси. Вони викликають захворювання рослин, що мають назву мозаїки та жовтяниці. Описано близько 700 вірусних захворювань рослин.

Походження паразитарних форм, до числа яких відносять фітопатогени, розглядають як результат зміни сапрофітного способу живлення. На поверхні уражених органів і тканин розвиваються патогени, які відносяться до ектопаразитів, патогени, що мешкають всередені рослин-хазяїв, відносяться до ендопаразитів. З ступенем паразитизму пов’язані і такі властивості збудників, як патогенність, вірулентність і агресивність. Під **патогенністю** розуміють здатність мікроорганізмів викликати захворювання певного виду рослин і наносити йому шкоду.

**Вірулентність** − якісна міра патогенності. Один і той же збудник може бути вірулентним для одного сорту рослин і авірулентним для іншого. За ознакою

вірулентності виділяють раси збудників у межах одного і того ж виду патогену. Фітопатогенні бактерії, що ростуть у міжклітинному просторі, продукують фактори вірулентності: токсини, ферменти, рослинні гормони, позаклітинні поліцукри і індукують різні симптоми: хлорози, м'які гнилі, в'янення. Однак для багатьох бактерій природа факторів вірулентності не визначена.

**Агресивність** − кількісна міра патогенності. Це здатність паразита викликати масове зараження сприйнятливих рослин (епіфітотії), долаючи захисні властивості. Високоагресивними є збудники, які здатні викликати зараження при мінімальній кількості патогена. Більш агресивними є облігатні форми патогенів, менш агресивними − факультативні.

Збудники хвороб приурочені до певного типу рослин-хазяїв, віково-фізіологічного стану рослин, окремих тканин, органів. У відповідності до цього виділяють наступні типи паразитичної спеціалізації патогенів.

**1. Філогенетична спеціалізація** проявляється в тому, що збудник хвороби уражає або близькоспоріднені, або віддалені у філогенетичному відношенні рослини. Така філогенетична спеціалізація називається вузькою або віддаленою. До монофагів відносяться ті фітопатогени, які уражають один або декілька близькоспоріднених родів; олігофаги приурочені до рослин-хазаїв в межах однієї родини, а поліфаги вражають рослини багатьох родин, порядків чи навіть класів. Характер спеціалізації визначається різним ступенем паразитизму. Облігатні патогени часто вузькоспеціалізовані, факультативні − більш широко. З іншого боку, спеціалізовані патогени (*Ralstonia solanacearum, Pseudomonas syringae, Xanthomonas. campestris*) краще адаптовані до конкретного хазяїна, що призводить до обмеження кола хазяїв відносно невеликою групою. Пектолітичні *Erwinia* не є високоефективними на початкових етапах інфекції, що пов'язано з їх нездатністю долати захисні покриви рослини, однак у випадку потрапляння до рослини починають швидко розмножуватись.

**2. Онтогенетична або віково-фізіологічна спеціалізація** вибірково проявляється не тільки по відношенню до виду рослини, але і до його стану. На основі цього побудовані деякі принципи захисту і підвищення чутливості рослин до хвороб. Якщо збудник уражає молоді рослини (т.б. на початкових стадіях онтогенезу), то слід вживати заходів швидкого проходження цієї фази. Якщо вражаються старіючі рослини, то для їх захисту від хвороб цієї групи слід проводити мероприємства, що гальмують протікання онтогенезу.

**3. Органотропна спеціалізація** проявляється у приуроченості до певних органів рослин.

**4. Гістотропна або тканинна спеціалізація** виражається у приуроченості до певних тканин рослини. Наприклад, за тканинною спеціалізацією віруси розділяються на паренхімні і флоемні. Перші знаходяться у клітинах паренхіми листка і викликають її ураження різного ступеня, найбільш часто зустрічаються серед таких уражень листкові мозаїки: чергування ділянок листка темно-зелених і більш світлих, що можна пов'язати з різною кількістю в них інфекційних частинок. Розвиток флоемних вірусів може призводити до порушення флоемного току, обміну фітогормонів, скручування листків, прояву різних вад.

**4. Основні ознаки захворювання рослин**

Розвиток патологічного процесу супроводжується появою на рослині симптомів або ознак хвороби. Кожній хворобі притаманні свої характерні ознаки або симптоми, прояв яких залежить від умов навколишнього середовища. У зв'язку з цим виділяють типові і нетипові для даного захворювання симтоми. Всі хвороби за проявами симптомів можна віднести до декількох типів. До одного з найбільш поширених симптомів захворювання відноситься розвиток **гнилей**. Загниванню можуть піддаватись всі органи рослин, але найбільше ті, які багаті на воду та запасні речовини (бульби, цибулини, коренеплоди), частіше при їх зберіганні. Причиною розвитку гнилей можуть бути як гриби, так і бактерії. У випадку, коли під дією ферментів патогену руйнується міжклітинна речовина, говорять про виникнення м'яких гнилей. Уражена тканина перетворюється у безформенну масу різних кольорів. Гнилі можуть також бути **мокрими**, **сухими**, **твердими**. Мокрі гнилі утворюються в органах, багатих на воду, сухі − утворюються при руйнуванні міжклітинних речовин і оболонок клітин, відносно бідних на воду, тканини втрачають структуру і перетворюються у волокнисту або порошкоподібну масу (ураження деревини трутовиками). Відомі типи захворювань, коли клітини руйнуються без істотного руйнування пектину, т.б. тверді гнилі.

**Плямистості** або **некрози** проявляються у вигляді відмерлої тканини на уражених органах рослини − листі, стовбурах, плодах. Плями можуть мати різну форму (округлу, подовжену та ін.) і залежати від розташування жилок. При ураженні жилок некрози проявляються у вигляді штрихів. Часто некрози чітко відмежовані від здорової тканини. Таке обмежене розповсюдження патогену можна розглядати як захисну реакцію рослини. Іноді уражена і здорова тканина відмежована зкорковілим прошарком.

**Виразки (антракнози)** виникають при ураженні насичених водою органів і тканин рослин і характеризуються пом'якшенням тканин, що оточують місця ураження. В результаті утворюються поглиблення.

**Хлорози** і **мозаїки** виникають при порушенні пігментації листків. При хлорозах це супроводжується загальним пожовтінням або посвітлінням листків, при мозаїках пожовтіння торкається окремих частин листка. Частіше всього причиною цього бувають порушення живлення або ураження вірусами.

**В'янення** або **вілт** − широко поширений тип ураження рослин, загибель яких відбувається в результаті проникнення збудника у кореневу і провідну системи. Спостерігається закупорка провідних судин, під дією токсинів відбувається некроз стінок судин, порушується транспорт води, і рослина в'яне. Причиною розвитку вілту можуть бути гриби і бактерії.

**Пухлини** та **наросты** проявляються як розростання ураженої тканини під впливом збудника хвороби. Можуть утворюватись на різних частинах рослини: коренях (кіла капусти), бульбах (рак картоплі), коренеплодах (рак коренів буряка). Виникнення пухлин спричинене збільшенням розмірів уражених клітин (гіпертрофія) або їх кількості (гіперплазія). Іноді обидва процеси відбуваються одночасно. Нарости, гали, пухлини – характерні ознаки хвороб, викликані грибами, бактеріями, вірусами.

**Пустули** − ділянки ураженої тканини з ознаками спороношення грибів, спочатку прикриті епідермісом, який згодом руйнується. Утворення пустул є найбільш типовою ознакою ураження іржастими грибами.

**Парша** − захворювання, що розвивається на покривних тканинах, що призводять до розтріскування і утворення струпів. Зазвичай збудник проникає не досить глибоко у тканину, але при сильному ураженні може викликати деформацію плодів. Зустрічається на бульбах картоплі, плодах, насінні.

**Муміфікація** виражається у почорнінні і зсиханні уражених органів рослин. Частіше всього муміфікуються уражені міцелієм паразитуючого гриба, багаті на поживні речовини органи. Уражений плід перетворюється на твердий темнозабарвлений утвір − склероцій (спорин'я злаків, муміфікація плодів яблуні).

**Головня** проявляється у руйнуванні і перетворенні уражених органів і тканин рослини в чорну щільну масу, що складається з спор паразита, і утворюється на генеративних органах рослини: колосі, зернівці та ін.

**Відставання у рості** може бути пов'язане як з хворобами місцевого, так і загального характеру і не є симптомом конкретного захворювання. На противагу відставанню, може спостерігатись надмірний ріст, що пов'язано з виділенням ростових речовин патогеном.

**Деформації** − зміна форми ураженого органу. Наприклад, деякі грибні і вірусні захворювання пов'язані з деформацією листків: скручуванням, зморшкуватістю, курчавістю. Скручування листків відбувається в результаті їх переповнення крохмалем, що спричинене порушенням його відтоку при ураженні провідної системи. Деформації листків, як правило, є результатом вірусних уражень.

### 5. Загальна характеристика патологічного процесу

Інфекційне захворювання рослини представляє собою складний процес взаємодії збудника і рослини-хазяїна. Характер розвитку взаємовідносин залежить від факторів навколишнього середовища, тому кожний патологічний процес може виникати і розвиватись за наявності наступних умов:

– сприйнятливої до певного патогену рослини;

– патогенного організму і достатньої кількості інфекційного матеріалу;

– контакту патогену і рослини.

Значна роль також відводиться патогенності, вірулентності та агресивності патогену.

Етапи інфекційного процесу: зараження, інкубаційний період, прояв захворювання або власне хвороба.

**1. Зараження** − це сукупність декількох послідовних процесів, які включають потрапляння інфекції на поверхню органів рослини, проростання спор та проникнення у тканини (у випадку інфекції, спричиненої грибами).

Для більшості патогенів характерним є хемотаксис на ряд специфічних речовин, що виділяє рослина. Для *Erwinia amylovora* показаний позитивний хемотаксис на фумарат, малат, сукцинат.

Розвиток інфекційного процесу також залежить від **інфекційного навантаження** або числа клітин збудника. **Максимальне інфекційне навантаження** − це число клітин збудника, які викликають у найбільш короткий термін розвиток інфекційного процесу; **мінімальне інфекційне навантаження** − число клітин збудника, які здатні інфікувати рослину. Інфекційне навантаження для різних видів мікроорганізмів варіює від декількох одиниць до декількох десятків і сотень клітин. До прикладу, для зараження рослин томата з наступним розвитком раку *Clavibacter michiganensis* в лабораторних умовах достатньо 10 клітин. При зміні умов зараження поріг значно підвищується. На прикладі бактерій *Erwinia carotovora* показано, що в природних умовах достатня доза складає біля 100 клітин, а в лабораторних − 30.

Для зараження мікроорганізмами, що зберігаються в ґрунті, має значення **щільність популяції збудника**: число одиниць в 1 г ґрунту або 1 г органа рослини. Збільшення щільності популяції звичайно корелює з збільшенням потенціалу інокулюму. **Потенціал інокулюму** − це число ізолятів в популяції, які володіють фітопатогенними властивостями по відношенню до одного або декількох видів рослин або їх сортів, що пов’язано з виникненням спеціалізованих рас збудника. Щільність популяції і потенціал інокулюму залежать від багатьох факторів: кореневих виділень рослин, стійкості або чутливості до них збудника, тривалості культивування рослини, фунгіцидних властивостей ґрунту, наявності в ньому рослинних залишків тощо.

В залежності від виду патогенних організмів під **патогеном** розуміють або цілий організм, або окремі його частини, здатні викликати захворювання. У фітопатогенних грибів це можуть бути спори і частини вегетативного міцелію, у бактерій − клітини і спори, у вірусів − інфекційні частинки.

Фітопатогенні бактерії здатні зберігатись у ґрунті, насінні, рослинних залишках. Шляхи поширення інокулюму в природі різноманітні: за допомогою води − гідрохорія, тваринами − зоохорія, з повітрям − анемохорія і т.д. Комахи звичайно розносять інокулюм на обмежені відстані, лише під час їх міграції відстані можуть бути більш істотними. Комахи можуть створювати додаткові вхідні ворота для інфекції за рахунок наявності колючо-сисного ротового апарату. Наприклад, *Erwinia amylovora* розноситься бджолами та іншими запилювачами і потрапляє у механічні ушкодження, які спричинені самими комахами. Фітопатогенні бактерії, віруси та мікоплазми з повітрям не розповсюджуються. Таким шляхом вони можуть розноситись з дрібними частиками ураженої тканини рослини на значні відстані. Один з основних шляхів поширення бактерій − посадковий матеріал: з насінням, бульбами, цибулинами тощо. Звичайно бактерії локалізуються у насінні між сім’яною оболонкою і ендоспермом, проникають у зародок. Бактерії з насіння та бульб на рослини можуть переходити різними шляхами: разом з ростом рослин, просуваючись по судинам, викликаючи захворювання вже дорослих рослин (кільцева гниль картоплі, чорний бактеріоз пшениці), або спочатку уражаються сім’ядолі проростаючого насіння, потім з них бактерії переносяться на листя (бактеріоз огірків і динь) або виносяться на поверхню ґрунту з оболонкою

насіння і вражають листя, яке розвивається. При збереженні фітопатогенних бактерій на поверхні рослин або в їх тканинах говорять про поверхневу контамінацію.

У період зараження більшість фітопатогенів потребує підвищеної вологості (від 50 до 100%).

Проникнення збудника у тканини рослини-хазяїна відбувається різними шляхами. Спори грибів здатні проникати як в ушкоджені, так і не ушкоджені тканини через природні або штучні отвори. Бактерії не здатні проникати в рослину безпосередньо через покривну тканину, зараження відбувається через природні утвори − продихи, черевички або ушкоджену покривну тканину. Наприклад, мандарин більш стійкий до збуднику бактеріального раку *Xanthomonas citri*, ніж грейпфрут. Причина цього полягає в тому, що зовнішні стінки продихів мандарина побудовані таким чином, що перешкоджають проникненню в продихову щілину краплин рідини з клітинами бактерій, у грейпфрута таких пристосувань немає. Особливе значення для проникнення має волога: наявність краплинно-рідкої вологи або висока вологість на поверхні рослини сприяє розмноженню патогенів.

**2. Інкубаційний період** – період часу від зараження до появи зовнішніх проявів захворювання. Тривалість інкубаційного періоду залежить від температури, вологості, освітленості і інших факторів зовнішнього середовища. Напрклад, у *Xanthomonas campestris* він може тривати від 2 до 8 діб. При цьому, якщо збудник проникає через продихи, наступний строк розвитку захворювання подовжується, якщо через механічно уражену тканину − скорочується. На етапах зараження і інкубаційного періоду через обов'язкове впізнавання та розмноження патогену в тканинах реалізується один з двох можливих типа взаємовідносин між рослиною та фітопатогеном: сумісні та несумісні.

Сумісні взаємовідносини (реакції) − розвиток інфекційного процесу в результаті розмноження клітин мікроорганізмів і продукції ними факторів патогенності, несумісні − продукція організмом-хазяїном факторів стійкості до патогену.

**3. Прояв захворювання** визначається швидкістю поширення збудника по провідній системі або іншим способом. У разі розвитку бактеріозів можуть спостерігатись як дифузні, так і місцеві ураження. При *дифузних бактеріозах* збудник проникає у судинну систему, розповсюджується у провідних пучках і прилеглих до них тканинах. Порушується нормальне потрапляння води, і рослина гине. Основним симптомом є в'янення. Наприклад, розвиток *Clavibacter michiganensis* на рослинах томатів спочатку проявляється лише на листках, потім − на пагонах, і, врешті решт, рослина в'яне. Загибель рослин − одна з основних причин високої шкідливості збудників дифузних бактеріозів.

*Місцеві бактеріози* проявляються в ураженні паренхімальних тканин, окремих органів рослин, плодів, пагонів. Їх основні симптоми − некрози, хлорози, гнилі, пухлини. Некрози бактеріальної етіології представляють собою ділянки відмерлої тканини, чорного або бурого забарвлення, які можуть виникати на всіх надземних частинах рослин. Наприклад, некрози, викликані

*Xanthomonas campestris*, *Erwinia amylovora*, призводять до зменшення асиміляційної поверхні, відмирання окремих пагонів, загибелі зав'язі і, врешті решт, істотного зниження врожаю. Ураження соковитих, багатих на вуглеводи тканин призводить до утворення гнилей. Під дією ферментів бактеріальних клітин, руйнується міжклітинна речовина (мацерація тканини), що є типовим для бактерій роду *Erwinia*. Відносно рідко зустрічається утворення пухлин, які утворюються при зараженні бактеріям роду *Agrobacterium*. При зараженні деякими видами бактерій може проявлятись одночасно декілька симптомів ураження. Хлорози часто супроводжують розвиток некрозів, їх зони можуть зливатись. Збудник бактеріального раку томатів викликає в'янення, розтріскування стебел і плямистість плодів тощо.

Таким чином, для бактеріозів характерні наступні властивості:

− патогени бактеріальної природи не здатні проникати в рослинний організм через непошкоджену покривну тканину;
− зараження рослин залежить від наявності краплинноріджкої вологи;
− перенос на значні відстані з повітрям обмежений;
− системний характер інфекції, т.б. спостерігається пасивне розповсюдження бактерій в тканинах рослини через судинну систему, заселення у сусідні тканини, проникнення в насіння і т.д.;

Для діагностики бактеріальних хвороб необхідні:

− аналіз симптомів захворювання;
− виділення збудника із ураженої тканини в чисту культуру;
− вивчення його біологічних властивостей;
− зараження рослини з метою отримання характерних симптомів;
− повторне виділення збудника із штучно зараженої рослини;
− порівняння властивостей збудників виділених із обох культур.

## *Література*

1. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. − М: Мир, 1978. − 429 с.

2. Патика В.П., Омельянець Т.Г., Гриник І.В., Петриченко В.Ф. Екологія мікроорганізмів: Посібник / За ред. В.П. Патики. − К.: Основа, 2007. − 192 с.

3. Нетрусов А.И. Микробиология: Учебник для студентов высших учеб. заведений / А.И. Нетрусов, А.И. Котова. – М.: Издательский центр «Академия». – 2006. – 352 с.

4. Определитель бактерий Берджи: В 2т. / Под ред. Дж. Хоулта и др. М.: Мир, 1997.

5. Попкова К.В. Общая фитопатология. – М.: Агропромиздат, 1989. – 399 с.

6. Фитопатогенные микроорганизмы: Учеб.- метод. комплекс для студентов биологического факультета / Р. А. Желдакова, В. Е. Мямин. – Мн.: БГУ, 2006. – 116 с.

## *Контрольні питання*

1. Що є джерелом живлення для епіфітних мікроорганізмів?
2. Охарактеризуйте вплив епіфітних мікроорганізмів на рослини.

3. Від чого залежить кількісний та якісний склад епіфітної мікрофлори?
4. Як відбувається зараження рослин фітопатогенними мікроорганізмами?
5. Що таке ризосфера? Чим ближня ризосфера (ризоплана) відрізняється від віддаленої?
6. Чим обумовлений сприятливий вплив ризосферних мікроорганізмів на рослини та рослин на ризосферні мікроорганізми?
7. Дайте характеристику мікоризі.
8. Охарактеризуйте типи паразитичної спеціалізації патогенів.
9. Охарактеризуйте етапи патологічного процесу при інфекційному захворюванні рослин.
10. Перерахуйте основні ознаки захворювання рослин.

## ТЕМА 7. ВЗАЄМОВІДНОСИНИ МІКРООРГАНІЗМІВ З БЕЗХРЕБЕТНИМИ ТА ХРЕБЕТНИМИ ТВАРИНАМИ. НОРМАЛЬНА МІКРОФЛОРА ТІЛА ЛЮДИНИ

1. Мікроорганізми та безхребетні тварини.
2. Мікроорганізми та хребетні тварини.
3. Мікрофлора організму людини.
4. Дисбактеріоз та способи його корекції.

### 1. Мікроорганізми та безхребетні тварини.

Симбіотичні відношення мікроорганізмів з найпростішими широко розповсюджені. Зазвичай мікроорганізми розташовані всередині клітин найпростіших і таким чином вони є ендосимбіонтами. Симбіонтам приписують різні функції. Так, наприклад, бактерії продукують необхідні клітині амеб (родів *Amoeba, Pelomyxa)* та інфузорій (роду *Paramecium*), ферменти, ростові речовини. Інфузорії, які містять симбіонтів, переважають у боротьбі за існування своїх співродичів, які їх не мають. Симбіонтами прісноводних і морських найпростіших − амеб та інфузорій часто бувають метаногенні бактерії. У клітинах найпростіших вони зазвичай асоційовані з мікротілами – **гідрогеносомами**, в яких із пірувату утворюється водень, $CO_2$ і ацетат. Метаногени використовують ці продукти в своєму метаболізмі і утворюють метан. Для хазяїна-найпростішого симбіонти виступають кінцевими акцепторами електронів, а мікроорганізми знаходять у клітині найпростішого захист і джерело живлення.

Черв'яки і молюски також живуть у симбіозі з бактеріями. Автотрофи, які окислюють сірководень, симбіонти глибоководних безхребетних еволюційно близькі до групи кишкових бактерій і псевдомонад. Особливо часто симбіонтами морських губок є ціанобактерії, причому розвиваються вони тільки в освітлених частинах. Губки використовують продукти фотосинтезу та азотфіксації ціанобактерій.

Безхребетні, які мешкають у ґрунті, нагромаджують і розкладають органічну речовину, впливають на фізичні та хімічні властивості ґрунту, розвиток процесу ерозії, структуру ґрунтового покрову. Діяльність безхребетних тварин, їхня вертикальна та горизонтальна міграції сприяють перерозподілу по поверхні і профілю ґрунту органічних решток і мінеральних солей, подрібненню органіки та перемішуванню її з мінеральною частиною ґрунту. Утворення в товщі ґрунту біологічних ходів і пустот підвищує водопроникність й аерацію ґрунтів, що сприяє розвитку аеробних мікробіологічних процесів. Будь-які мікроорганізми можуть стати жертвами безхребетних, для яких вони є їжею. Безхребетні виїдають мікроорганізми вибірково, що може спричиняти зниження чисельності одних видів і створювати передумови для інтенсивного розмноження інших. Подальша доля мікробних клітин, яких проковтнули тварини, може бути різною. За наявності у безхребетних ферментів, що руйнують клітинні стінки мікроорганізмів, останні перетравлюються, якщо такі ферменти відсутні – можуть зберігати життєздатність, а іноді й інтенсивно розвиватись. Наприклад, у кишечнику дощового черв'яка інтенсивно розмножуються бактерії родів *Streptomyces, Corynebacterium.*

Поїдання ґрунтових мікроорганізмів безхребетними не може істотно впливати на чисельність і активність цих мікробних популяцій. Однак у кишечнику безхребетних здатні інтенсивно розмножуватись деякі неспороутворгаючі мікроорганізми, наприклад, псевдомонади. Ці бактерії мають високу активність ендогенного метаболізму і швидко відмирають при голодуванні. Здатність до розмноження в кишечнику безхребетних дає їм можливість підтримувати чисельність популяції на певному постійному рівні і не зникати зовсім навіть за відсутності в навколишньому середовищі відповідних для них ростових субстратів.

Для багатьох мешканців водойм мікроорганізми також є джерелом їжі. Наприклад, *E. coli* поїдається водними безхребетними. У водних екосистемах, на відміну від ґрунтових, поїдання бактерій безхребетними є однією з причин зниження чисельності внесених у них бактеріальних клітин.

У членистоногих (комах) бактерії-симбіонти зазвичай розташовані в клітинах спеціальних органів – **міцетомах** або певних ділянках тіла в спеціалізованих клітинах – **міцетоцитах**. Симбіонтів мають комахи обох статей, у деяких попелиць – тільки самки. Потомству симбіонти передаються через яйця, в поодиноких випадках – через сперму.

У тарганових симбіонти наявні завжди і в усіх видів незалежно від характеру харчування. Симбіонт постачає хазяїну низку ферментів азотного обміну особливо необхідних комахам на стадії личинки. Бактерії, окрім того, забезпечують яйця комах вітамінами групи В та іншими біологічно активними сполуками і визначають життєздатність яєць. Активність бактерій регулюється гормонами комах. Формування міцетомів не є реакцією організму комах на проникнення бактерій, воно може бути і в особин, що не мають симбіонтів.

Мутуалістичні відносини мають місце між членистоногими і мікроорганізмами, які перетравлюють їжу, наприклад, між термітами і мікроорганізмами, які мешкають у їх кишечнику. Бактеріальний компонент кишечнику термітів представлений молочнокислими бактеріями та мікроорганізмами, що здійснюють різні види бродіння, родів *Bifidobacterium, Clostridium, Microbacterium, Edwardsiella, Micromonospora, Cristispira, Acetobacterium.* У задній кишці термітів виявлені також актиноміцети та рикетсії, що синтезують речовини, які забезпечують нормальний розвиток комах. Симбіонти термітів живуть усередині тіла хазяїна, це їхня екологічна ніша. Життєвий цикл симбіонтів точно скоординовано з життєдіяльністю хазяїна. Зокрема, при виділенні термітами гормонів линьки мікроорганізми утворюють цисти. Це дуже важливо для передачі мікроорганізмів, а також для повторного зараження термітів, які викидають при линці вистилку кишечнику, а потім знову проковтують її.

Ще тісніший взаємозв’язок може виникнути між хазяїнами і мікроорганізмами, що живуть не всередині, а зовні тіла хазяїна. Прикладом можуть слугувати тропічні мурашки, які розводять цілі грибні сади на листі, що приносять у мурашник. Для розкладання листя в нормі необхідна певна послідовна зміна мікроорганізмів, у мурашок це монокультура, що удобрюється їхніми виділеннями. Гриби за допомогою своїх ферментів розкладають клітковину, у фекаліях мурашок містяться протеолітичні ферменти, яких немає у грибів, і мурашки, таким чином, є поставниками ферментного апарату для розкладання білків. Це приклад метаболічного альянсу, за якого відбувається інтеграція вуглецевого та азотного обміну двох організмів.

## 2. Мікроорганізми та хребетні тварини

У природних умовах численні мікроорганізми заселяють організм тварини, тіло якої має безліч екологічних ніш. Характер і механізм взаємодії мікроорганізмів з макроорганізмами багатогранний і відіграє вирішальну роль у житті та еволюції як одних, так й інших.

Мікроорганізми є обов'язковими мешканцями морських і прісноводних риб. Наприклад, у деяких морських риб розвиваються бактерії, що світяться. Ці мікроорганізми продукують фермент, за допомогою якого в кишечнику риб здійснюють розкладання хітину комах − полімеру, який не розкладається ферментами хазяїна. Тим самим вони сприяють повнішому засвоєнню їжі хазяїном. Виділяючись з фекаліями риб, вони завдяки своєму освітленню знову приваблюють риб і знову потрапляють у кишечник − свою основну екологічну нішу.

Бактерії, що світяться, можуть входити в симбіотичні системи й іншого характеру, не пов'язані з травленням. Ці бактерії виявляються у деяких головоногих молюсків і морських, переважно глибоководних, риб у спеціальних органах, що світяться. Органи, заселені бактеріями, називають фотофорами (бактеріофотофорами). **Бактеріофотофора** являє собою порожнистий орган ектодермального походження, який з'єднується вивідним протоком із зовнішнім середовищем. Через цей самий протік йде інокуляція бактеріями, через нього видаляються продукти метаболізму бактерій і відмерлі епітеліальні клітини, що злущуються. Функціональна тканина органу зібрана в крипти, що дуже нагадують кишкові. Крипти розділені щілинами або канальцями, їхня поверхня вистелена однорідним епітелієм, клітини якого виявляють інтенсивну секреторну активність. Секрет, який виділяється твариною в порожнину фотофори, підтримує життєдіяльність цих бактерій. Бактерії, що світяться, містяться у самій порожнині і складають основну масу фотофори ($10^9$ – $10^{10}$ клітин/мл). Світіння відбувається завдяки кристалам гуанідину, що продукується бактеріями, причому тільки за наявності молекулярного кисню, що надходить із крові риби, при цьому, змінюючи тонус судин, риба має можливість регулювати інтенсивність світіння.

Припускають, що світіння може використовуватись рибами для маскування, приманювання жертви, комунікації між особинами одного виду, для освітлення найближчого простору.

В однієї рибини може розвиватись тільки один вид бактерій з роду *Photobacterium.*

Численна і багатоманітна мікрофлора травного тракту жуйних тварин. Шлунок у великої рогатої худоби чотирьохкамерний, особливу роль у перетравленні рослинної їжі належить рубцю. В 1 мл вмісту рубця жуйних тварин міститься від 1 до 10 млрд. мікробних клітин. На долю мікробів припадає до 10% маси сухої речовини вмісту рубця. У рубці створюються сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів: температура 38–40 °С, pH 5,8–7,3, безперервне надходження слини (70 л/добу і більше), періодичне потрапляння подрібненого корма і його перемішування при скороченні. Гази, що утворюються, створюють анаеробіоз. Їх склад наступний (%): діоксин вуглецю до 65, метану до 30, аміаку, сірководню та інших газів до 5. У такому

середовищі можуть розвиватись факультативні та облігатні анаероби. Целюлоза, що потрапляє з кормом в організм тварин, засвоюється завдяки мікроорганізмам. В результаті зброджування кормів утворюється оцтова, пропіонова, масляна, валеріанова та мурашина кислоти. Перетворення клітковини у рубці здійснюється целюлозорозкладаючими мікроорганізмами. У рубці постійно присутні бактерії *Ruminococcus flavofaciens, R. albus, Selenomonas, Prevotella, Succinimonas, Streptococcus, Lachnospira,* що приймає участь у перетравлені пектину, *Clostridium*, що володіють високим потенціалом у розкладі поліцукрів та пептидів. Мікроорганізми родів *Eubacterium, Megasphaera, Peptostreptococcus, Wolinella, Anaerovibrio, Bacteroides, Micromonospora, Syntrophococcus, Escherichia, Syntrophomonas* та ін. мають здатність зброджувати значну кількість цукрів, спиртів, амінокислот, жирних кислот. При зброджуванні целюлози румінококи утворюють янтарну, оцтову, невелику кількість молочної та мурашиної кислот. Румінококи здатні синтезувати амінокислоту лейцин. Паличковидні форми мікробів при зброджуванні клітковини в основному утворюють оцтову, мурашину, молочну кислоти, етиловий спирт, водень, діоксид водню. Органічні кислоти, що утворились, всмоктуються в кров і служать попередниками основних частин молока. Таким чином, мікроорганізми приймають участь в утворенні молока. У рубці жуйних виявлені сульфатредукуючі бактерії роду *Desulphovibrio*, а із метаногенних архей *Methanobrevibacter ruminantium, Methanospirillum hangatei*. Гриби, що мешкають у рубці, здійснюють гідроліз лігніну та ксилану та, в меншій мірі, целюлози. Виділені із рубця гриби родів *Neocallimastix, Caecomyces, Piromyces, Anaeromyces, Sphaeromyces* є анаеробами, які мають гідрогеносоми та містять гідрогенотрофні метаногени в якості ендосимбіонтів. Крім того, у рубці містяться значна кількість найпростіших, які відносяться до родів *Isotricha, Dasytricha, Epidinium, Ophryoscolex*. Використання найпростішими крохмалю модулює кислотність шлунка та попереджує ацидоз. Таким чином, за участю значної кількості мікроорганізмів розклад грубої рослинної їжі відбувається за 0,5–2 доби. Мікроорганізми рубця забезпечують також тварину вітамінами, біологічно активними речовинами, стимулюють імунну систему, попереджують розвиток патогенних мікроорганізмів.

### 3. Мікрофлора організму людини

**Нормальна мікрофлора** організму − це сукупність мікробіоценозів, що характеризуються визначеним кількісним і якісним складом, займають той чи інший біотоп і підтримують біохімічну та імунологічну рівновагу в організмі, необхідну для збереження його здоров'я. Організм людини населяють понад 500 видів бактерій, біля 50 видів вірусів і понад 20 видів найпростіших. Загальна кількість мікроорганізмів досягає $10^{14}$, що у 10 разів більше, ніж клітин організму. Слід відмітити, що всі мікроорганізми, які мешкають в тому чи іншому біотопі, знаходяться між собою у складних симбіотичних відносинах, пов'язані трофічним ланцюгами. Так, екосистеми слизових оболонок відкритих порожнин і шкіри формуються, починаючи з моменту народження дитини, і змінюються в процесі його росту і розвитку. **Сукцесія,**

т.б. послідовна зміна на певній ділянці середовища існування одних біоценозів іншими, закінчується формуванням стабільної мікробної спільноти.

Вивченням нормальної мікрофлори та препаратами із молочно-кислих лактобацил (ацидофільної палички, яка використовується для приготування простокваші) першим займався видатний біологі і патолог, почесний член Петербурзької АН Ілля Мечников. Його концепція про одночасну користь та шкідливість мікрофлори організму набула у наш час всесвітнє визнання.

Нормальна мікрофлора поділяється на 2 групи:

1) постійна (автохтонна) − специфічна для даного біотопу;

2) тимчасова (аллохтонна), занесена з інших біотопів хазяїна або з оточуючого середовища.

*Мікрофлора шкіри.* Найбільш характерними мікробами шкіри є коринебактерії (*Corynebacterium bovis, C. lipophylicum, C. minutissimum, C. xerosis, C. pseudodiphtheriticum*); пропіонобактерії (*Propionibacterium acnes, P. avidum, P. freudenreichii, P. granulatum*); стафілококи (*Staphylococcus epidermidis, S. saprophyticus, S. capitis, S. cohnii*); мікрококи (*Micrococcus kristinae, M. luteus, M. varians*); сарцини (*Sarcina maxima, S. ventriculi*); актиноміцети (*Actinomyces bovis, A. israelii*). У окремих осіб зустрічаються дріжджоподібні гриби роду *Candida*, *Staphylococcus aureus*, різні види стрептококів, анаеробні клостридії. З епідеміологічної точки зору важливими біотопами є шкіра обличчя, пахвинних ямок, промежини, молочних залоз породіль, місця оперативних розрізів.

*Мікрофлора дихальних шляхів.* Серед резидентної мікрофлори дихальних шляхів зустрічають зеленячі, гемолітичні і негемолітичні стрептококи, коринебактерії, нейсерії, стафілококи, мікрококи, пептострептококи, бактероїди. Значно рідше виявляють актиноміцети, мікоплазми, трепонеми, ентеробактерії та гриби роду *Candida*. Основна маса мікрофлори припадає на долю *Streptococcus viridans* (90 % від всіх мікроорганізмів). Біля 10 % всіх людей є носіями *Staphylococcus aureus*, а серед медпрацівників хірургічних і акушерсько-гінекологічних стаціонарів цей вид виділяють у 40-90 % обстежених.

Слизова оболонка трахеї, бронхів, бронхіол, альвеол у здорової людини, як правило, не містять мікроорганізмів.

*Мікрофлора порожнини рота.* Мікрофлора порожнини рота дуже складний мікробіоценоз, в якому тісно співіснують аероби та анаероби, грамнегативні, грампозитивні бактерії, віруси, гриби, найпростіші. Найбільш характерними представниками мікрофлори рота є: ротові стрептококи (*Streptococcus salivarius, S. mitis, S. mutans, S. sanguis, S. viridans*)*;* анаеробні пептострептококи (*Peptostreptococcus anaerobius, P. productus, P. lanceolatus, P. micros*); стафілококи (*Staphylococcus epidermidis, S. saprophyticus, S. hominis, S. hyicus*); мікрококи (*Micrococcus luteus, M. varians*); бактероїди (*Bacteroides fragilis, B. gingivalis*); спірохети (*Treponema denticola, T. macrodentium, T. orale, T. vincentii, Borrelia*); нейсерії *(Neisseria flava, N. sicca);* лептотрихії (*Leptotrichia buccalis);* вейлонели *(Veilonella parvula);* лактобацили *(Lactobacillus casei, L. acidophilus);* фузобактерії *(Fusobacterium nucleatum, F. periodenticum,*

*F. plauti);* превотели *(Prevotella disiens);* кампілобактерії *(Campylobacter sputorum);* гриби родів *Actinomyces, Candida;* мікоплазми *(Mycoplasma orale, M. salivarium).* До випадкових, але небезпечних представників ротової порожнини відносяться *Streptococcus pyogenes, S pneumoniae, S. viridans, Staphylococcus aureus, Corynebacterium diphtheriae*, віруси герпесу, паротиту та ін.

*Мікрофлора травного тракту.* В кишечнику знаходять сприятливі умови понад 500 видів різних бактерій, загальна маса яких сягає 3,5 кг. Склад і щільність мікробної флори у різних відділах травного каналу не однакові.

*Стравохід.* Стравохід здорових людей містить дуже малу кількість мікробів і не має постійної мікрофлори, а наявні в ньому мікроорганізми представляють мікрофлору ротової порожнини.

Мікробний спектр шлунка збіднений і представлений лактобацилами, стрептококами, сарцинами (*S. ventriculi*), кампілобактеріями (*Campylobacter fetus, C. pylory*), хелікобактеріями та стійкими до кислоти дріжджоподібними грибами (*C. albicans*), вміст яких у нормі не перевищує $10^2$ - $10^3$ КУО/мл.

Найкращі умови для вегетації мікроорганізмів в тих відділах кишечнику, де pH коливається від 5 до 7. Закономірно збільшується кількість мікробів в напрямку від тонкої до товстої кишки.

Мікрофлора тонкої кишки нечисленна і представлена ентерококами (*Enterococcus faecalis, E. faecium, E. durans*), лактобацилами, біфідобактеріями (*Bifidobacterium bifidum, B. infantis, B. longum*), *E. coli*. Загальна кількість мікробів не перебільшує $10^3$ -$10^4$ КУО/мл.

Найбільш чисельна і різноманітна мікрофлора товстого кишечнику (табл. 1). Мікрофлора кишечнику поділяється на 3 групи: облігатну (мікроорганізми, які постійно входять у склад нормофлори і відіграють значну роль в метаболітичних процесах та захисті організму від інфекцій), факультативну (бактерії, які часто зустрічаються у здорових людей, але є умовно-патогенними і можуть бути етіологічними факторами захворювання у випадку зниження резистентності організму) та транзиторну (до транзитної групи відносяться мікроорганізми, які не здатні до тривалого перебування та розмноження в кишечнику, патогенні бактерії, тобто збудники інфекційних захворювань, можуть виявлятися і у здорової людини при бактеріоносійстві). Основну масу облігатної мікрофлори складають анаеробні бактерії та мікроаерофіли: біфідобактерії (*Bifidobacterium bifidum, B. adolescentis*); лактобактерії (*L.fermentum, L. plantarum, L. acidophilus, L. casei*); бактероїди (*Bacteroides fragilis*); фузобактерії (*Fusobacterium*); вейлонелли (*Veilonella parvula, V. alcalescens*). На долю цих родів припадає 96-99% всіх мікробів. Крім того, тут вегетує значна кількість *Escherichia coli, Enterococcus spp.* Факультативна флора не постійна, її видовий склад змінюється в залежності від резистентності макроорганізму, складу облігатної флори. Вона в основному знаходиться в порожнині кишечнику і репрезентована здебільшого умовно-патогенними бактеріями: ентеробактерами (*E. aerogenes, E. cloacae*), пептококами, пептострептококами (*Peptostreptococcus anaerobius, P. putridis*), стафілококами (*S. aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus*), цитробактерами (*C. freundii, C. intermedius*), протеєм (*P. vulgaris, P. mirabilis*), дріжджоподібними грибами

(*C. albicans*), клостридіями (*Cl. perfringens, Cl. sporogenes, Cl. putrificum*), клебсієллами (*K pneumoniae, K. ozaenae*), пропіонобактеріями (*P. acnes, P. avidum*), синьогнійною паличкою (*Ps. aeruginosa*).

**Таблиця 1**

**Показники нормоценозу товстого кишечнику людини**

| Група мікроорганізмів | Кількість КУО в 1 г випорожнень дорослих людей |
|---|---|
| *Bifidobacterium spp.* | $10^8$-$10^9$ |
| *Bacteroides spp.* | $10^9$-$10^{10}$ |
| *Lactobacillus spp.* | $10^6$-$10^7$ |
| *Streptococcus lactis* | $10^6$-$10^8$ |
| *Clostridium spp.* | $10^5$ |
| *Escherichia coli*<br>ферментуючі лактозу<br>неферментуючі лактозу<br>Гемолітичні | <br>$10^7$-$10^8$<br>$10^5$-$10^7$<br>$10^6$ |
| *Proteus spp.* | $10^4$ |
| *Klebsiella spp.* | $10^5$ |
| *Staphylococcus aureus*<br>інші стафілококи (*S. epidermidis, S. saprophyticus* та ін.) | $10^4$ |
| *Candida spp.* | $10^4$ |
| Плісняві гриби | $10^4$ |
| *Enterococcus spp.* | $10^5$-$10^6$ |
| Умовно-патогенні ентеробактерії | $10^4$ |
| Патогенні ентеробактерії | 0 |

З урахуванням локалізації мікробів, їх адгезивних властивостей і рухливості мікрофлору ЖКТ розділяють на порожнинну (П-), що локалізується в просвіті кишечнику, і пристінкову, або мукозну (М-), що тісно зв'язана зі слизовою оболонкою кишечнику. Мікроорганізми, що колонізують слизову оболонку забезпечують екологічну рівновагу організму, яка залежить від властивостей мікробів, а також від стану пристінкової зони кишечнику. Кількісний і якісний склад мікробних популяцій кишечнику є відносно стабільним.

Основні функції нормальної мікрофлори тісно пов'язані з імунним статусом, станом шлунково-кишкового тракту та гормональної систем. У числі найважливіших − забезпечення колонізаційної резистентності, т.б. сукупності механізмів, що забезпечують попередження заселення організму хазяїна патогенними і умовно-патогенними мікроорганізмами, посилення фізіологічної і травної активності шлунково-кишкового тракту. Крім того, детоксикація, стимуляція синтезу біологічно-активних речовин та поновлення шару поверхневих клітин слизової оболонки кишечнику, що відбувається кожні 48 годин, підтримання високого рівня компонентів системи комплементу, лізоциму, секреторних імуноглобулінів, інтерферону, різного типу цитокінів

тощо. Узагальнюючи, можна навести наступні функції, що виконує нормальна мікрофлора кишечнику:

1. Участь у процесі травлення, що досягається високою ферментативною активністю багатьох мікроорганізмів.

2. Продукція біологічно активних речовин (амінокислоти, β-аланін, 5-аміновалеріанова кислота, γ-аміновалеріанова кислота, медіатори, що впливають на функцію ШКТ, печінки, серцево-судинну систему, обмінні процеси).

3. Забезпечення колонізаційної резистентності − специфічної адгезії бактерій на відповідних рецепторах епітеліоцитів за допомогою лектинів, внаслідок чого утворюється міцна захисна плівка, яка перешкоджає колонізації патогенних ентеробактерій.

4. Участь у синтезі вітамінів К, В1, В2, В6, В12, РР, фолієвої, нікотинової та пантотенової кислоти. Симбіотична флора також сприяє всмоктуванню вітаміну Д, кальцію та заліза.

5. Представники облігатної нормофлори володіють виразним антагонізмом, регулюють кількісний і якісний склад нормофлори, стримують ріст умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів.

6. Мікрофлора кишечнику активно сприяє формуванню імунобіологічних реакцій організму. Бактеріальні модуліни біфідо- і лактобактерій стимулюють лімфоїдний апарат, синтез імуноглобулінів, інтерферонів, цитокінів, пропердину та комплементу, підвищують активність лізоциму та сприяють зменшенню проникливості судинних, тканинних бар'єрів для токсичних продуктів патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, перешкоджають транслокації бактерій у внутрішні органи та кров.

7. Участь у детоксикації екзогенних і ендогенних субстратів шляхом їх біосорбції або трансформації в нетоксичні продукти.

Поряд з корисною функцією, що виконує кишкова мікрофлора, деякі її представники можуть справляти негативний вплив на організм хазяїна. При зниженні імунної резистентності організму, умовно-патогенні мікроорганізми, що відносяться до транзиторної та факультативної мікрофлори, є джерелом ендогенних інфекцій.

### 4. Дисбактеріоз та способи його лікування

Під впливом численних ендо- та екзогенних факторів якісний і кількісний склад нормофлори може змінюватись, т.б. формується **дисбактеріоз кишечнику**. Згідно літературних даних, вчені описують різні фактори, що викликають порушення нормофлори кишечнику: кліматичні, соціальні, екологічні, довготривалий прийом антибіотиків, імунодепресантів, інфекційні та соматичні захворювання. На нормофлору впливають наступні фактори: вік, харчування, сезон, професія, рентгено- і радіотерапія, хіміотерапія, хірургічні втручання, техногенне навантаження тощо.

При перевищенні порогу шкідливих екзо- або/та ендогенних факторів на організм, мікробіоценози виходять із стану рівноваги, що викликає мікроекологічні та імунні порушення. Це призводить до домінування в біотопі

потенційно небезпечних (умовно патогенних) мікроорганізмів, посилення генетичного обміну та формування клонів, що несуть генетичні детермінанти патогенності та множинну резистентність до лікарських препаратів, в основному антибіотиків. Процес може призвести до серйозних зрушень, які прийнято відносити до дисбіозів або дисбактеріозів. Перший діагноз торкається бактерій, вірусів, найпростіших та грибів. Другий відображає подібні процеси тільки у бактерій і мікроскопічних грибів. Виділяють дисбактеріози шкіри, ротової порожнини, кишечнику, сечостатевої системи. Академік Олександр Білібін ще у 70-х роках XX ст. відмічав, що інтерес до вивчення нормальної мікрофлори дещо згас на початку «ери антибіотиків» і знову посилився, коли лікарі інфекційних відділень почали наштовхуватись на побічні впливи такої терапії. Було показано, що безконтрольне застосування антибіотиків і хіміотерапевтичних препаратів широкого спектру дії призводить до дисбактеріозу кишечнику. На сьогодні дисбактеріоз розглядають як клініко-лабораторний синдром, що характеризується зміною якісного і/або кількісного складу нормальної мікрофлори, метаболічними та імунологічними порушеннями, а також транслокацією (переносом) її різних видів із просвіту кишечнику в невластиві біотопи та надмірним розмноженням бактерій. При дисбактеріозі кишечнику можливе проникнення бактерій транзиторної мікрофлори в цитоплазму ентероцитів, що розглядається як прояв ендоцитозу. Встановлено, що серед умовно-патогенних бактерій (золотистих стафілококів, гемолітичних кишкових паличок, клебсієл та ін.) і грибів роду *Candida* зустрічаються штами, що синтезують речовини, які затримують ріст та розмноження лактобацил.

Клінічні прояви дисбактеріозу характеризуються ознаками, невластивими основному захворюванню. Найбільш часто відбувається зниження колонізаційної резистентності, пригнічення імунної системи з підвищенням сприйнятливості до інфекцій. Широке розповсюдження цієї патології, на думку багатьох вчених, є одним з важливих факторів, що визначає збільшення частоти та важкості гострих і хронічних захворювань травного, респіраторного та урогенітального трактів. Встановлено, що дисбактеріоз кишечнику характеризується не тільки порушенням чисельності мікрофлори, а і зміною спектру її антагоністичної активності по відношенню до патогенів. В результаті з’являються мікробні асоціації з підвищеною вірулентністю, здатні стати причиною самоінфікування. При дисбактеріозі можливе підвищення рівня гістаміну в органах і тканинах з виникненням сенсибілізації (підвищеної чутливості) організму і розвитком алергії.

В лікуванні дисбактеріозів використовують: антибактеріальні препарати; бактеріофаги; пробіотики (препарати, сконструйовані із живих мікроорганізмів і речовин мікробного походження, які здійснюють позитивний ефект на фізіологічні, біохімічні і імунні реакції організму хазяїна через оптимізацію і стабілізацію його нормальної мікрофлори); пребіотики (препарати немікробного походження, які здійснюють позитивний вплив на розвиток мікрофлори); ентеросорбенти (карболен, вугілля, силікати); імуноглобуліни; вітаміни; імуномодулятори (ехінацея, жень-шень); дієто- і фітотерапія

(протейний дисбактеріоз − евкаліпт, календула; синьогнійний − червоний солодкий перець, чорна смородина; при грибковому дисбактеріозі − цикорій); кисломолочні суміші (Біокефір, Віталакт, Біфілін тощо).

Найбільш ефективними та безпечними є препарати, що поділяються на пробіотики, пребіотики и синбіотики. Перші з них − **пробіотики** – живі мікроорганізми і речовини мікробного походження, що здійснюють позитивний вплив на фізіологічні, біохімічні, імунні реакції організму хазяїна шляхом покращення функцій його нормальної мікрофлори. Усі препарати, що містять штами облігатних (біфідобактерії, лактобацили, ешерихії, енетерококи) або транзиторних (спорові аеробні апатогенні бацили) мікроорганізмів.

Існують монокомпонентні (біфідумбактерин, лактобактерин, колібактерин, споробактерин, бактісубтил); полікомпонентні (біфікол, біфіформ, ацилакт, лінекс); сорбовані (біфідумбактерин форте, флорин форте); метаболітні (хілак форте) пробіотики. Всі вони сприяють нормалізації мікробіоценозу і, як наслідок, відновленню травної, обмінної і захисної функції кишечнику і організму людини в цілому.

**Пребіотики** − препарати, які відрізняють за механізмом дії і відносяться до різних фармакотерапевтичних груп, але володіють загальною властивістю стимулювати ріст і розвиток нормальної мікрофлори кишечнику. До їх числа відноситься лактулоза, ряд олігоцукрів, пантотенат кальцію, лізоцим тощо.

**Синбіотики** – препарати, отримані в результаті раціональної комбінації про- і пребіотиків, наприклад, нормофлорин Б, нормофлорин-Л; біовестинлакто, біфідобак тощо.

Призначати пробіотики доцільно з врахуванням мікробіологічних порушень, фази і стадії дисбактеріозу, а також стану і характеру основного захворювання. Показано, що прийом цих препаратів сприяє збільшенню абсолютного числа В-лімфоцитів при зниженні відносного та абсолютного числа Т-лімфоцитів. Важлива роль мікрофлори у розвитку імунної відповіді обумовлена її універсальними імуномодулюючими властивостями. Тому пробіотики рекомендують як у гострий період захворювання, так і після перенесеного захворювання (у зв’язку з їх здатністю пригнічувати збудників інфекції).

### *Контрольні питання*

1. Наведіть приклади симбіозу мікроорганізмів з безхребетними тваринами.
2. Які існують особливості у взаємовідносинах членистоногих з бактеріями-симбіонтами?
3. Охарактеризуйте особливості мікрофлори ШКТ великої рогатої худоби.
4. Охарактеризуйте мікрофлору ротової порожнини людини.
5. Які мікроорганізми є представниками нормофлори шкіри людини?
6. Дайте характеристику мікрофлори різних відділів травного тракту людини.
7. Дайте видову характеристику автохтонної та аллохтонної мікрофлори товстого кишечнику людини.
8. Перерахуйте функції мікрофлори шлунково-кишкового тракту.
9. Що таке дисбактеріоз та дисбіоз?
10. Охарактеризуйте препарати пробіотики, пребіотики та синбіотики.

## *Література*

1. Асонов Н.Р. Микробиология. − 4-е изд., перераб. и доп. − М.: Колос, 2002. − 352 с.
2. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. - №1. – С. 66-70.
3. Бондаренко В.М., Диходед В.Г., Воробьев А.А. Иммунорегуляция численности грамотрицательной микрофлоры кишечника // ЖМЄИ – 2004. – № 4. – С. 90-93.
4. Веселов А.Я. Современные представления о нормальной микрофлоре пищеварительного тракта взрослого человека и изменениях ее в норме и при некоторых заболеваниях органов пищеварения (обзор литературы) // Лабораторное дело. – 1988. – № 4. – С. 3-11.
5. Патика В.П., Омельянець Т.Г., Гриник І.В., Петриченко В.Ф. Екологія мікроорганізмів: Посібник / За ред. В.П. Патики. − К.: Основа, 2007. − 192 с.
6. Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Широбоков В.П. Практична мікробіологія: Посібник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.
7. Нетрусов А.И. Микробиология: Учебник для студентов высших учебных заведений / А.И. Нетрусов, А.И. Котова. – М.: Издательский центр «Академия». – 2006. – 352 с.
8. Федоровская Е. А., Немировская Л. И. Взаимосвязь микробных экосистем и иммунитета человека // Мікробіологічний журнал – 1999. – Т.61, № 5. – С. 85-95.
9. Fioramonti J., Theodorou V., Bueno L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? // Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. – 2003. – Vol. 17, № 5, P. 711-724.
10. Fukushima Y., Kawata Y., Hara H., Terada A., Mitsuoka T. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children // Int J Food Microbiol. – 1998. – Vol. 42, № 1-2, P. 39 – 44.
11. Guslandi M. Probiotics for chronic intestinal disorders // The American Journal of Gastroenterology. – 2003, Vol. 98, № 3, P. 520-521.
12. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract // International Journal of Food Microbiology. – 2003. – Vol. 88, № 2-3, P. 123-131.

## ТЕМА 8. ЗАБРУДНЕННЯ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА МІКРОБНІ ЕКОСИСТЕМИ

1. Класифікація основних типів забруднень.
2. Забруднення у сільськогосподарському виробництві.
3. Забруднення ґрунту пестицидами та їх вплив на мікроорганізми.
4. Забруднення ґрунту мінеральними добривами та їх вплив на мікроорганізми.
5. Мікроорганізми та важкі метали.
6. Забруднення біосфери нафтопродуктами та його вплив на мікроорганізми.
7. Забруднення водних екосистем.
8. Біотехнологічне виробництво як фактор біологічного забруднення навколишнього середовища.
9. Радіоактивне забруднення та мікроорганізми.

### 1. Класифікація основних типів забруднень

Забруднення навколишнього середовища – це небажані зміни фізичних, хімічних, біологічних характеристик повітря, води, ґрунту, що можуть мати несприятливий вплив на життя людини, потрібних йому рослин і тварин, виробничі процеси, виснажувати, псувати сировинні ресурси. За природою забруднюючих речовин забруднення поділяють на групи:

– фізичні (радіоактивне та теплове випромінювання, шум, низькочастотна вібрація);

– хімічні (пестициди та інші синтетичні органічні речовини, важкі метали, пластмаси, мийні речовини, газоподібні речовини похідних вуглеводню і рідкі вуглеводні, похідні сірки, азоту, фтористі сполуки тощо);

– біологічні (забруднення патогенними мікроорганізмами, стічні води тваринницьких комплексів, викиди мікробіологічної промисловості, відмерлі рослини, тварини та ін.).

За можливими наслідками в екосистемах розрізняють, передусім, два основних типи забруднювачів.

**1. Стійкі забруднювачі:**

- речовини, для яких не існує природних механізмів розкладання з тією самою швидкістю, з якою вони вводяться в екосистему. Це низка важких металів, радіоактивні елементи та ін. Практично єдиний спосіб очищення від них − вилучення їх (шляхом захоронення) або заборона використання;
- стійкі забруднювачі, спричинені природними процесами (наприклад, деякими нафтопродуктами). Проблема їхнього розкладання може бути технічно розв’язана шляхом сполучення механічної і біологічної (мікробної) обробки відходів.

**2. Нестійкі забруднювачі** − це речовини, які містять енергію або поживні речовини (різні органічні речовини, фосфати, карбонати), що підвищують продуктивність екосистем, якщо надходять у помірній кількості. За умов підвищення їхнього надходження до критичного рівня в екосистемах виникають різні коливання, а подальше збільшення цих забруднень призводить

до стресу. Викид забруднюючих речовин у навколишнє середовище − явище складне, воно не обмежується зовнішнім проявом − виливанням відходів у річку чи різнокольоровим димом із заводських труб. Жодна речовина з тих, що викидається людиною в біосферу, не залишається на місці. Здебільшого ці речовини переносяться на значні відстані від місця викиду. Внаслідок цього домішки в повітрі, воді і ґрунті забруднюючих речовин поступово розповсюджуються по всій біосфері. Слід також враховувати, що промислові підприємства викидають в атмосферу у вигляді аерозолів важкі метали (свинець, ртуть, кадмій, молібден та ін.), радіоактивний пил, які потім осідають на поверхні ґрунту. Дуже часто забруднення потрапляють у гідросферу через ґрунт (літосферу). Отже, ґрунт є безперервним джерелом будь-якої забруднюючої речовини, що викидається людиною в повітря, і відіграє головну роль в обмінних процесах між атмосферою та гідросферою.

**2. Забруднення у сільськогосподарському виробництві**

Повітря в місцях, де є промислове виробництво, забруднене значно більше, ніж у сільській місцевості, проте від забруднення ґрунтів потерпають головним чином сільськогосподарські райони, де вирощують сільськогосподарські рослини. Атмосферне забруднення, сорбуючись ґрунтом із повітря або потрапляючи в нього разом із осадом у вигляді дощу і снігу, може впливати на фізико-хімічні і біологічні властивості ґрунту. Під впливом атмосферних забруднень у ґрунті нагромаджується велика кількість сульфатів, свинцю, ртуті та інших речовин, які порушують співвідношення поживних елементів у ґрунтовому розчині, що, в свою чергу, згубно впливає на ґрунтову мікрофлору, порушуючи рівновагу мікробних екосистем.

Окис вуглецю в концентраціях, характерних для промислового забруднення повітря, навіть за концентрації 50 мг/м$^3$ знижує активність азотфіксуючих мікроорганізмів ґрунту, а подальше збільшення концентрації призводить до наростання інгібуючого ефекту. Сірчистий газ навіть у високих концентраціях не є інгібітором азотфіксаторів, але коли він у ґрунті окислюється до сірчаного і з’єднується з водою ґрунту, утворюється сірчана кислота, що згубно діє на азотфіксуючі мікроорганізми ґрунту.

Через збільшення населення, урбанізацію, індустріалізацію, несільськогосподарське використання земель, площа, що обробляється (на одну людину), зменшується, тоді як сільське господарство має виробляти дедалі більше продуктів харчування. Підвищення родючості земель досягається шляхом інтенсифікації сільськогосподарського виробництва − застосування хімічних добрив, регуляторів росту і пестицидів, а це призводить до зростаючого порушення балансу енергії та кругообігу речовин в агроекосистемах, до порушення мікробних ценозів.

Окрім того, значна кількість залишків твердих відходів сільськогосподарського походження, що утворились в результаті виробництва або споживання продукції землеробства (рослинні рештки) і тваринництва (виділення свійських тварин: гній, гнійна рідина), відходи або некомерційні продукти, які скидають у стічні води, харчові, відходи − все, що отримують у

сільському господарстві в усіх промислово розвинутих країнах, не повертається на поля, на відміну від традиційного землеробства. Ці продукти більше не включаються у природні кругообіги речовин, а викидаються на звалища, де, внаслідок їх анаеробного бродіння, виділяються токсичні сірчані та амонійні сполуки, які зумовлюють посилення забруднення навколишнього середовища.

Безперервна інтенсифікація сільського господарства і широке використання штучних речовин (хімічних добрив, пестицидів і т. д.) поступово призводять до незворотного забруднення культивованих земель. Хімічне забруднення та місцеве переобтяження органічними відходами, здатними до бродіння, у значній мірі погіршує стан і родючість ґрунтів.

### 3. Забруднення ґрунту пестицидами та їх вплив на мікроорганізми

Серед численних видів забруднювачів особливе місце посідають **пестициди** − хімічні речовини, які використовують для боротьби зі шкідниками і хворобами рослин, для знищення деяких паразитів домашніх тварин. На відміну від інших забруднюючих речовин пестициди навмисно розпилюють у природному середовищі, причому використання їх у світі щороку збільшується на 15%.

За своїм призначенням пестициди (від лат. *pestis* − зараза) поділяють на: **інсектициди** (для знищення шкідливих комах), **родентициди** (проти шкідливих мишоподібних гризунів), **нематоциди** (для знищення нематод), **фунгіциди** (для боротьби з фітопатогенними грибками), **гербіциди** (для знищення бур'янів).

Повсюдне використання пестицидів почалось наприкінці Другої світової війни. У 1939 році у Західній Європі було розроблено перші два препарати: ДДТ (дихлордифенілтрихлорметилметан) і ГХЦГ (гексахлорциклогексан) на основі ліндану. Під час війни ДДТ використовували медичні служби союзних армій для боротьби з вошивістю. А через 30 років застосування цього інсектициду заборонили у Швейцарії, де його було відкрито, і в Швеції − країні, що присудила Нобелівську премію його винахіднику П. Мюллеру. В СРСР ДДТ заборонили лише в 80-х роках. Але й досі залишки цього пестициду знаходять у ґрунті.

За останні десятиліття кількість пестицидів дуже зросла. Широкому застосуванню цих речовин сприяло швидке і радикальне розв'язання проблеми захисту рослин. Сучасні пестициди за своєю структурою поділяють на хлорорганічні, фосфорорганічні і карбамати. Всі вони токсичні. Серед усіх пестицидів найбільше виробляють гербіцидів. Широке їх застосування пояснюється не тільки отриманням доходу, а й різким скороченням ручної праці. Однак попри всі вигоди, які отримують при використанні пестицидів, останні мають низку негативних ознак: вони високотоксичні, призводять до глибоких змін усієї екосистеми, спричиняють загибель багатьох видів тварин і рослин, впливають на мікробний ценоз. Особливо яскраво виражений вплив пестицидів на мікроорганізми ґрунту, на які вони діють безпосередньо.

Ґрунтові мікроорганізми, як компонент біогеоценозів, зазнають різнопланового впливу з боку пестицидів. Діючи на деякі мікроорганізми, пестициди впливають на екосистеми у цілому, модифікуючи їх. Часто такі

модифікації призводять до незворотного порушення екологічної рівноваги. З іншого боку, ґрунтова мікробіота може трансформувати та мінералізувати пестициди, використовуючи їх як джерело вуглецю і енергії. З цими процесами тісно пов’язана проблема детоксикації пестицидів у навколишньому середовищі.

Типи реакції ґрунтових мікроорганізмів на пестициди коливаються у широких межах − від високої стійкості до високої чутливості − залежно від хімічних властивостей препаратів, їхньої здатності розчинятись у воді, форми, способу внесення і дози, типу і властивостей ґрунту, особливостей гідротермічного режиму, агротехніки, характеру рослинного покриву та ін. Пестициди по-різному впливають на мешканців ґрунту, їх чисельність, різноманітність і життєдіяльність.

Дія пестицидів на мікрофлору і мікробіологічні процеси в ґрунті має вибірковий характер. Наприклад, базудин токсичний для грибів, ТМТД (тирам) − грибів і актиноміцетів, рогор − нітрифікаторів. Багаторічне використання гербіцидів (симазину, політриазину в дозах 1,5 і 2 кг/га) призвело до зниження в ґрунті олігонітрофілів, нітрифікаторів і особливо денітрифікаторів. Підвищені дози фунгіциду ридомілу пригнічують гриби і актиноміцети, але зовсім не діють на азотфіксуючі мікроорганізми родів *Azotobacter* і *Rhizobium*. Ридоміл також пригнічує целюлозорозкладачі мікроорганізми.

На фоні загального зменшення чисельності бактерій і грибів делапон пригнічує розвиток амоніфікаторів, гарлон 3А нетоксичний для бактерій, грибів і стрептоміцетів, однак, пригнічує такий показник, як «дихання», яке може не відновлюватись навіть через 2 роки. Цинеб зменшує чисельність спороутворюючих бактерій, атразин − грибів.

Вільноживучі бульбочкові бактерії не чутливі до гербіцидів у виробничих дозах. Однак у симбіозі з бобовими рослинами вони стають дуже чутливими. Дія гербіцидів у такому разі виявляється опосередковано − через рослини. У рослин пригнічується фотосинтез і погіршується азотний обмін, що впливає на формування бульбочок, та процес симбіотрофної азотфіксації.

Більшість пестицидів належить до високоактивних органічних сполук. Оскільки в основному це ліофільні сполуки, вони добре розчиняються в ліпідах клітинних мембран і легко дифундують у клітини у вигляді іонів або недисоційованих молекул. Чим більша розчинність пестицидів, тим швидше і легше вони проникають у клітину. Потрапивши в неї, пестициди змінюють фізико-хімічні властивості цитоплазми, руйнують мембрани органел, змінюють реакцію середовища, порушують умови нормального функціонування клітинних білків. Особливо чутливі до отруйної дії пестицидів ферменти − біокаталізатори клітини. Виведення із дії будь-якого ферменту, який бере участь у важливому метаболічному процесі, призводить до пригнічення, а іноді й загибелі організму. Так, за даними Ю. В. Круглова (1991), внаслідок 3 − 9-річного застосування гербіцидів симазину, атразину і монурону мікроскопічні водорості практично повністю вибувають із мікробіоценозу. Такі зміни в цій ланці ґрунтової екосистеми рівнозначні екологічній катастрофі.

Таким чином, прямий вплив пестицидів на ґрунтові мікроорганізми, зумовлений їхньою вибірковою токсичністю. Навіть, якщо пестицид не має прямої токсичної дії на мікроорганізми, то впливає опосередковано. Непряма дія зумовлена змінами умов живлення і енергетичного забезпечення мікроорганізмів, порушенням рівноваги в екосистемі. Так, у разі застосування гербіцидів зміни кількості та якості рослинних решток у ґрунті призводять до загального зниження біологічної активності і функціональної перебудови вуглецевого живлення ґрунтових мікроорганізмів, що, зрештою, може спричинити інтенсивну втрату гумусу.

Наприклад, токсичні концентрації гербіциду атразину в 100 разів перевищують виробничі, тому він не має прямої інгібуючої дії на мікроорганізми. У польових умовах під час прополювання необробленого поля, коли рослини залишались у борозні, фітомаса становила 5 т/га або 15 т за 3 роки. На обробленому ж гербіцидом — бур'яни відростали погано, фітомаса становила всього кілька десятків кг/га і розподілялась на площі нерівномірно. А органічні рештки − це основне джерело живлення і енергетичного матеріалу для сапрофітів ґрунту. Якісний склад, кількість фітомаси та динаміка її надходження зумовлюють біогенність і динаміку мікробіологічних процесів. Тобто основна причина нижчої біологічної активності обробленого ґрунту полягала в гіршому забезпеченні мікроорганізмів органічною речовиною. Окрім того, при зменшенні кількості фітомаси відповідно знижується і надходження в ґрунт ферментів, що, в свою чергу, негативно впливає на біохімічні процеси, які в ній відбуваються. Після 3-річної обробки атразином спостерігається тенденція до зниження гумусу в ґрунті, збіднення органічними речовинами.

Існують дані, що у виробничих дозах деякі пестициди не інгібують, а, навпаки, стимулюють мікробіологічні процеси. Так, каптан і паратіонметіл збільшують чисельність багатьох груп бактерій і актиноміцетів, атразин − нітрифікуючих бактерій.

Багато авторів відмічає індиферентне відношення мікроорганізмів до пестицидів. Наприклад, триазинові гербіциди у виробничих дозах не впливають на чисельність целюлозорозкладаючих мікроорганізмів.

Частина мікробіоценозу є більш чутливою до пестицидів − це так звані індикаторні мікроорганізми. Негативний вплив на них виявляється найбільшою мірою і тривалий час. Тому логічно використовувати ці індикаторні групи мікроорганізмів (тест-культур) для контролю і оцінки забруднення ґрунту та інших об'єктів навколишнього середовища пестицидами.

## 4. Забруднення ґрунту мінеральними добривами та їх вплив на мікроорганізми

Іншим значним забруднюючим фактором є мінеральні добрива, які вносять у ґрунт для збільшення урожайності культур. Відомо, що разом з урожаєм з ґрунту вилучається певна кількість поживних елементів: азоту, фосфору, калію, сірки, кальцію, магнію та інших. Отже, відновлювати ці втрати слід унесенням

у ґрунт фосфатів, нітратів, солей калію і т. д. у кількості, еквівалентній вилученій з урожаєм.

Розв’язання проблеми раціонального і ефективного використання мінеральних добрив можливе тільки на основі комплексного підходу, в якому важливе значення мають мікробіологічні дослідження. Ґрунтові мікроорганізми є обов’язковим компонентом будь-якої агроекосистеми, вони мають потужний ферментативний апарат, виконують різноманітні функції в кругообігу речовин, забезпечуючи постійне функціонування екосистеми в цілому. Внесення мінеральних добрив різко інтенсифікує мікробіологічні процеси в ґрунті. Це до певних меж можна розглядати як позитивне явище, якщо ставити завдання підвищення урожайності.

Однак гонитва за максимальною продуктивністю, безконтрольне застосування хімічних добрив з порушенням правил агротехніки призводить до перенасиченості ґрунтів цими препаратами, а через них − до забруднення водного і повітряного басейнів, зміни хімічного складу рослинної продукції та отримання їжі, шкідливої для здоров’я людини.

Особливу увагу слід приділяти азотним добривам як найнебезпечнішим для усієї екосистеми. Насамперед, це негативна дія на мікроорганізми, які беруть участь у трансформації азоту в біосфері і проводять процеси азотфіксації, амоніфікації, нітрифікації, денітрифікації. Підвищення дози добрив зменшує чисельність мікроорганізмів ґрунту та їхню біомасу, несприятливо відбивається на стані мікроорганізмів, більша частина яких гине.

У відповідь на зміни умов життєдіяльності в мікробних ценозах ґрунтів порушується природна рівновага між представниками різних еколого-трофічних угрупувань, які відповідають за основні біологічні процеси: азотфіксацію, нітрифікацію, розкладання целюлози, гуміфікацію та ін. При цьому знижується активність ферментів, пов'язаних з цими процесами.

Характер дії мінеральних добрив на чисельність мікроорганізмів залежить від сукупного впливу різних екологічних факторів: типу ґрунту, його вологості і температури, ступеня окультуреності ґрунту, виду вирощуваної культури. Але для характеристики стану ґрунту при використанні мінеральних добрив важливі не тільки показники чисельності різних фізіологічних груп мікроорганізмів, а й аналіз їхнього видового складу. Внесення мінеральних добрив може мало позначатися на кількості мікроорганізмів різних еколого-трофічних груп, але при цьому істотно змінити їхній видовий склад. На думку багатьох дослідників, мінеральні добрива істотно впливають на видовий склад спороутворюючих бактерій і особливо бактерій роду *Bacillus*.

Підвищення pH призводить до зниження кількості неспороутворюючих бактерій і збільшення відносного вмісту спорових мікроорганізмів і грибів. Зниження pH до 4 гальмує діяльність *Nitrobacter*, в наслідок чого в ґрунті нагромаджуються нітрити. Порушується структура спільноти мікроорганізмів, які розкладають целюлозу; відбувається пригнічення грибів роду *Aureobasidium* і стимуляція деяких міксоміцетів. Причому зменшується також різноманітність ґрунтових грибів, зберігаються переважно види з активним метаболізмом і здатністю виділяти токсичні речовини. З розвитком фітотоксичних грибів

пов’язано явище токсикозу ґрунтів, що проявляється у зниженні проростання насіння й інтенсивності розвитку рослин. У дерново-підзолистих ґрунтах це *Penicillium funiculosum* і *Penicillium vermiculatum*, у сіроземах − *Aspergillus ustus*, *Stachybotris*, у чорноземі − *Aspergillus ustus*. Зменшується також кількість ціанобактерій, при цьому витісняються, в першу чергу, азотфіксатори. Вапнування цих ґрунтів позитивно впливає на чисельність амоніфікаторів, азотфіксаторів, нітрифікаторів.

Високі дози NPK призводять до збільшення фітопатогенних бактерій, наприклад, *Verticillium, Fusarium*, що є причиною масового захворювання злаків.

Негативна дія високих доз азотних, калійних добрив та інших мінеральних добрив, а також тривалого їх застосування проявляється в активізації токсиноутворюючих мікроорганізмів і збільшенні їх умісту в ґрунті, що призводить до мікробного токсикозу ґрунту.

Внесення високих доз азотних добрив спричиняє збільшення нітратів і нітритів, потрапляння їх у ґрунтові води. Використання питної води і їжі з високим умістом нітратів і нітритів призводить до виникнення отруєнь і специфічних захворювань. Потрапляючи в кров тварин і людей, нітрати сприяють перетворенню двовалентного заліза, яке міститься в гемоглобіні крові, на тривалентне. Сполука, яка при цьому утворюється (метгемоглобін), неспроможна переносити кисень, тобто відбувається погіршення постачання киснем організму. При заміщенні 20% гемоглобіну у людей спостерігається анемія, а при заміщенні 80% – навіть смерть. Встановлено, що вміст нітратів у воді та їжі впливає на захворюваність злоякісними пухлинами.

Всесвітньою організацією охорони здоров’я (ВООЗ) встановлено такі допустимі кількості споживання продуктів, які не повинні перевищувати: для нітратів − 200 мг, для нітритів − 10 мг на день. Граничнодопустима концентрація (ГДК) нітратів у питній воді − 22 мг/л у помірних широтах; у тропіках, де споживання води більше, − 10 мг/л.

Внесення калійних і фосфорних добрив не призводить до таких негативних наслідків, як унесення азотних. Проте калійні добрива можуть опосередковано впливати на процес нітрифікації, змінюючи поглинання ґрунтом амонію. Фосфорні добрива можуть бути небезпечними для водного середовища, спричиняти евтрофікацію водойм, а також впливати на мікробіологічну трансформацію азоту. Може також порушуватись баланс мікроелементів, наприклад цинку.

### 5. Мікроорганізми та важкі метали

Важкі метали − це група хімічних елементів з густиною понад 5 г/см$^3$ або відносною атомною масою понад 40.

Різні сполуки важких металів впливають на ґрунтову мікробіоту неоднаково. Як правило, їхня токсичність залежить від розчинності − чим більша розчинність, тим більша активність. Найтоксичнішими для мікроорганізмів є ртуть і кадмій, цинк і свинець – менш токсичні. Більшість дослідників вважають порівняльну токсичність металів приблизно постійною, що

зменшується таким чином; Cd > Pb > Zn. Низка важких металів (Zn, Cu, Mn, Co, Mo та ін.) відомі як мікроелементи, що в мікрокількостях необхідні для нормальної життєдіяльності рослин, тварин і людини. Метали, що входять до складу багатьох ферментів, відіграють важливу роль у вуглеводному обміні, процесах дихання, утворенні пігментів. У природних умовах важкі метали перебувають у розсіяному стані, однак, здатні утворювати локальні акумуляції, в межах яких концентрації металів можуть перевищувати звичайні рівні в сотні і тисячі разів, нагромаджуючись у кількостях, що загрожують існуванню живих організмів.

Серед токсичних металів виділяють групу, за якою закріпився негативний термін «важкі». Такі метали, як ртуть, свинець, кадмій, мідь належать до критичної групи речовин − індикаторів стресу навколишнього середовища. Вони є найнебезпечнішими забруднювачами навколишнього середовища. Ці метали мають тенденцію закріплюватись в окремих ланках біологічного кругообігу, акумулюватись у біомасі мікроорганізмів і рослин та трофічними ланцюгами надходити в організми тварин і людини, негативно впливаючи на їхню життєдіяльність.

Кадмій належить до найтоксичніших елементів, цинк і мідь − до найменш токсичних для людини і тварин важких металів. Особливо високого рівня набуло забруднення навколишнього середовища важкими металами останніми десятиліттями внаслідок багатогранної діяльності людини. Так, антропогенний внесок кадмію у глобальне забруднення довкілля утричі перевищує надходження з природних джерел.

Джерелами забруднення навколишнього середовища важкими металами є: застосування пестицидів, викиди в атмосферу, стічні води промислових підприємств, паливна промисловість, транспорт (через використання етилованого бензину), рідкі і тверді міські відходи, родовища важких металів.

Особливо забруднені важкими металами (свинцем, міддю, цинком і кадмієм) ґрунти придорожніх великих автомагістралей від викидів автотранспорту, території навколо заводів, що виплавляють свинець, нікель, мідь.

Потрапляючи на ґрунт, важкі метали розповсюджуються по горизонтах, акумулюючись, в основному, в гумусові (від 6 до 85%). У ґрунті вони можуть залучатись до різних хімічних реакцій, скажімо окисно-відновних, комплексоутворення та ін. Нагромаджуючись у ґрунті, важкі метали змінюють його фізико-хімічні властивості: різко зменшується агрегованість ґрунтової маси та її пористість, порушуються новоутворення карбонатів, гіпсу та гідроксидів заліза, змінюється якісний склад гумусу.

Важкі метали значною мірою можуть пригнічувати біохімічну активність ґрунтових мікроорганізмів, змінювати їх загальну чисельність. Забруднення ґрунту ними спричиняє певні зміни у видовому складі комплексу ґрунтових мікроорганізмів. За сильного забруднення знижується видова різноманітність комплексу мікроорганізмів і збільшується абсолютне домінування невеликої кількості видів.

Стійкість мікроорганізмів до високих концентрацій важких металів різна, бактерії більш чутливі до важких металів, ніж гриби. Найстійкішими щодо дії

важких металів є мікроміцети, стійкість яких пояснюється здатністю акумулювати в своїх клітинах ці елементи. Найбільш вразливими до дії важких металів є представники роду *Azotobacter*. Відносно більш висока стійкість властива целюлозолітичним бактеріям, грибам і мікроміцетам, особливо темно пігментованим.

У воді важкі метали поступово переходять у колоїдний та іонообмінний стан. Помічено, що в кислому середовищі метали більш рухомі, ніж у лужному.

Проблема охорони ґрунтів від забруднення важкими металами ставить завдання їхньої рекультивації. Останніми роками ведеться пошук прийомів, спрямованих на скорочення концентрацій рухомих форм сполук важких металів у ґрунті. Пропонується внесення в ґрунт органічних речовин для закомплексування токсичних іонів або вапнування ґрунту для підвищення його pH, завдяки чому має підвищуватись розчинність сполук важких металів. Деякі автори з такою метою пропонують уносити в ґрунт інактивовану або живу біомасу мікроорганізмів.

Важливу роль у процесах міграції і трансформації важких металів відіграють ґрунтові мікроорганізми завдяки їхній здатності до мінералізації тваринних рослинних решток. При цьому утворюються органічні сполуки, які реагують з металами. У мікродозах важкі метали (як мікроелементи) сприятливо діють на мікроорганізми. За збільшення концентрацій важкі метали виявляють токсичну дію, відбувається зниження інтенсивності основних процесів трансформації азоту та вуглецю − амоніфікації, нітрифікації, денітрифікації, розкладання клітковини і гуміфікації. Для бактерій та актиноміцетів доведена тенденція зменшення чисельності при забрудненні ґрунту важкими металами, для бацил і ґрунтових грибів − зворотний ефект, у грибів посилюється споруляція. Серед механізмів, що забезпечують стійкість мікроорганізмів до дії важких металів, відмічають біологічну трансформацію і часткову детоксикацію деяких з цих речовин.

Основними напрямами мікробної трансформації вважають окисно-відновну біотрансформацію і трансформацію неорганічних сполук в органічні. Окиснення відновлених сполук металів певні мікроорганізми використовують як джерело енергії. При відновленні окиснених сполук такі мікроорганізми здійснюють процес, який є формою дихання і характеризується тим, що окиснені сполуки металів виступають кінцевим акцептором електронів. Такі реакції окиснення і відновлення можуть мати фундаментальне значення у перерозподілі цих елементів у біосфері, але ці питання поки що маловивчені.

Найнебезпечніші для організмів наслідки мікробної трансформації неорганічних сполук важких металів в органометалеві сполуки. Найбільш детально ці процеси вивчено для ртуті. Під дією мікроорганізмів сполуки ртуті можуть переходити в найбільш небезпечну форму − метилртуть. Здатність метилувати ртуть мають деякі аеробні та анаеробні бактерії і гриби. Результатом метиляції є утворення моно-і диметилртуті, співвідношення яких залежить від ґрунтово-екологічних умов, наприклад, кислотності ґрунту. Встановлено, що мікроорганізми відіграють роль і у трансформації ртуті до елементарної. Сполуки, що утворюються, можуть потрапляти в біологічні

об’єкти і нагромаджуватись у різних ланках трофічних ланцюжківв. Так, акумуляцію ртуті спостерігають у міцелії і плодових тілах їстівних грибів (білих, підберезників, печериць), особливо в районах значного промислового і транспортного забруднення ґрунтів.

Нагромадження важких металів у біологічних об’єктах і трофічних ланцюгах − один з основних наслідків мікробної трансформації. Згідно з думкою відомого американського еколога Ю. Одума, навіть якщо припустити, що зникли всі джерела забруднення, то у найближчі 100 років забруднення ґрунтів ртуттю зменшиться лише на 20%, при цьому внаслідок забруднення ґрунтів продовжуватиметься забруднення вод.

Багато мікроорганізмів здатні або сорбувати іони металів, або їх осаджувати. Процес вивільнення металів використовується у біогідрометалургії при видобуванні металів із руди. За допомогою мікроорганізмів із розбавлених розчинів видобувається близько 100% Cu, Pb, Hg, Co, Cr, Mn, Zn та ін. Так, із розчинів, які містять 8,6 г/л Cu, за допомогою мікроорганізмів добування Cu становило 98,5%.

Механізм сорбції металів із розчинів мікроорганізмами пов’язаний з клітинною стінкою. Для мікроскопічних грибів особливу роль у сорбції металів відіграють хітин і отриманий з нього хітозан.

Останнім часом вивченню акумуляції важких металів ґрунтовими мікроорганізмами приділяється велика увага. Мікроміцети здатні концентрувати важкі метали як усередині клітин, так і на поверхні. Встановлено, що окремі види мікроміцетів можуть нагромаджувати близько 13,4% міді і 16,8% цинку щодо їх початкового вмісту в ґрунті, а представники родів *Penicillium* і *Trichoderma* витягувати з ґрунтового розчину до 70-80% міді. Здатність нагромаджувати в клітинах Zn і Pb мають також *Bacillus megaterium, B. cereus, B. mesentericus, Pseudomonas sp., Stretomyces indigicolor*. Кінцева концентрація металу всередині клітини може бути на кілька порядків вищою за концентрацію в навколишньому середовищі. К. І. Андреюк, Г. О. Іутинська та ін., досліджуючи адсорбційні можливості стрептоміцетів щодо міді, кадмію і свинцю, припускають, що стрептоміцети, асимілюючи певну кількість металів, спроможні тимчасово виключати їх з кругообігу і зменшувати токсичну дію не тільки на інші компоненти мікробного ценозу, а навіть і на рослини.

На поглинання іонів важких металів впливає фізіологічний стан клітин та умови навколишнього середовища, передусім структура і тип ґрунту, вологість, вид і доза забруднення. Пом’якшення токсичної дії важких металів у ґрунті може відбуватись і внаслідок взаємодії важких металів з продуктами метаболізму мікроорганізмів, наприклад з екзополісахаридами, що утворюються мікроорганізмами. Ці сполуки, з одного боку, захищають мікробні клітини від несприятливих умов існування, з іншого − зв’язують метали, видаляючи їх із середовища. Тому використання ґрунтових мікроорганізмів як агентів очищення ґрунтів і стоків промислових підприємств, є перспективним і застосовується у світовій практиці.

## 6. Забруднення біосфери нафтопродуктами та його вплив на мікроорганізми

До групи основних забруднювачів біосфери належать також нафта і нафтопродукти. Забруднення нафтопродуктами набуло глобального характеру. Загальновідомі трагічні наслідки забруднення нафтою вод світового океану, що мають характер міжнаціональних катастроф. У багатьох країнах нафтою забруднено і величезні території суші.

Під впливом нафтопродуктів, насамперед, змінюються фізико-хімічні властивості ґрунтів. Особливо порушується повітряний режим ґрунту: просочуючись у нього, нафта витісняє повітря із пор. У ґрунтових агрегатах створюються значні кількості мікрозон з обмеженим доступом кисню, збільшуються концентрації натрію і хлору, що може призвести до засолювання ґрунту. Вплив нафти на живі організми ґрунту значною мірою визначає її концентрація. У низьких концентраціях вона стимулює ґрунтову біоту, оскільки є енергетичним субстратом для великої групи мікроорганізмів і містить речовини, що інтенсифікують розвиток рослин.

З іншого боку, масоване нафтове забруднення ґрунту, що спричиняють аварійні розливи, супроводжується токсичною дією на живі організми. Порушуються умови мешкання ґрунтових мікроорганізмів, а це позначається на їхній життєдіяльності. Порушується рівновага мікробного ценозу як біологічної системи, а потім практично повністю пригнічується активність мікроорганізмів у ґрунті. На фоні зменшення загальної чисельності мікроорганізмів у мікробних спільнотах знижується вміст азотобактера, актиноміцетів, грибів, знижується активність гідролітичних і окисно-відновних ферментів.

Негативний ефект нафтопродуктів особливо активно проявляється в перший період, що, напевне, пов’язано з наявністю токсичних, часто летких вуглеводнів (толуолу, ксилолу, бензолу), нафталінів і деяких інших розчинних у воді фракцій нафти. Ці сполуки порівняно легко і швидко вивітрюються з ґрунту або руйнуються. Тому період найгострішої токсичної дії на біоту може бути відносно коротким.

Найчутливішими до перенасичення ґрунту нафтою є нітрифікуючі мікроорганізми. Чисельність і активність мікроорганізмів, які беруть участь у процесах азотфіксації, амоніфікації та денітрифікації, навпаки, може збільшуватись. Таким чином, результатом нафтозабруднення можуть бути зміни кругообігу азоту.

Характер і ступінь впливу нафтового забруднення на ґрунтову мікрофлору залежить від складу нафти, її кількості, кліматичних умов, типу ґрунту, його фізико-хімічних особливостей. Так, внесення добрив у забруднений нафтопродуктами ґрунт дещо знижує їхній негативний вплив: підвищується інтенсивність «дихання», мінералізація, активізуються ферменти дегідрогеназа та уреаза, посилюється процес окислення вуглеводнів нафти.

Ефект тривалої дії нафти на ґрунт може проявлятися в зміні його мікробіологічних властивостей. У всіх типах ґрунтів у великій кількості містяться мікроорганізми, здатні до окиснення різних вуглеводнів (н-алкани, газоподібні вуглеводні, тверді парафіни і ароматичні вуглеводні). Серед них

виявлено представників родів *Bacillus, Arthrobacter, Brevibacterium, Pseudomonas, Nocardia, Rhodococcus* та неспорових дріжджеподібних грибів родів *Candida, Torulopsis, Criptococcus, Rodosporidium*.

Нафта та низка нафтопродуктів справляють інгібуючий вплив на фотосинтетичну активність. З цим пов'язана доволі негативна дія нафти на розвиток фотосинтезуючих організмів – рослин, водоростей, ціанобактерій аж до їхньої повної загибелі. Водночас збільшується чисельність мікроорганізмів, здатних окиснювати різні вуглеводні. Тому мікроорганізми можуть бути основними агентами з очищення ґрунтів від нафтового забруднення. Проте слід ураховувати і небезпеку, оскільки в процесі розкладання нафти частина сполук може трансформуватись у канцерогенні речовини, наприклад 3-4-бензпірен. Тому обов'язковим є контроль за здійсненням мікробіологічних процесів під час рекультивації ґрунтів.

**7. Забруднення водних екосистем.**

Усі ґрунтові забруднювачі в тих чи інших кількостях потрапляють у воду. Причому проблема боротьби із забрудненням води на відміну від забруднення ґрунту та атмосфери набагато складніша, оскільки численні забруднюючі речовини можуть розчинятись у воді або ж у завислому стані переноситись на величезні відстані від місць викиду. Внаслідок гомогенності водного середовища отруйні речовини впливають на всі організми, що мешкають у водоймі.

Забруднення водних систем становить більшу небезпеку, ніж забруднення атмосфери ще й тому, що процеси регенерації або самоочищення відбуваються у водному середовищі набагато повільніше, ніж у повітрі.

Інша особливість забруднення вод полягає в тому, що вода містить відносно невелику кількість кисню, тоді як навіть дуже забруднене повітря зберігає відносно постійну концентрацію цього газу, вода не має таких властивостей. З підвищенням температури вміст кисню у воді зменшується, а за однакової температури його значно менше у морській воді, ніж у прісній. При скиданні теплих вод електростанціями, промисловістю, міських стічних вод кількість кисню у верхніх шарах води різко знижується.

Особливе занепокоєння викликає стан малих річок. Нині вони майже втратили гідробіологічне значення і в переважній більшості використовуються лише як водостоки, що відводять відпрацьовані стічні води. Інші річки втратили дренуюче значення внаслідок замулення, від чого вони посилено деградують. Зниження проточності і швидкості течії створює застійні зони, в яких погіршується кисневий режим, а це, в свою чергу, призводить до зниження інтенсивності процесів самоочищення.

Крім того, в результаті скидання зі стічною водою органічних речовин, що містять біогенні елементи, в тому числі азот і фосфор, настає посилене розмноження мікроорганізмів, зокрема патогенних, що сприяє поширенню таких захворювань, як інфекційний гепатит, сальмонельози та інші кишкові інфекційні захворювання.

Відбувається також масове розмноження організмів фітопланктону, в першу чергу бурих і синьозелених водоростей, а також інтенсивний розвиток вищих водних рослин. Всі ці організми розмножуються, відмирають, і маса органічної речовини у водному об'єкті зростає. Оскільки зазначені організми є аеробними і дихають киснем, розчиненим у воді, вони швидко опиняються в умовах дефіциту кисню. Вода стає непридатною для життя, в ній починають переважати анаеробні процеси. Цей процес називають евтрофікацією. **Евтрофікація** – це підвищення біологічної продуктивності водних об'єктів через накопичення у воді біогенних елементів під дією антропогенних або природних факторів. Власне анаеробні процеси являють собою вторинне забруднення води. Евтрофікація може бути також наслідком змиву з полів азотних і фосфорних добрив і потрапляння у воду мінеральних сполук, здатних легко окиснюватись.

Органічне забруднення зазвичай оцінюють біохімічним споживанням кисню за 5 діб ($БСК_5$). Це дає змогу визначити, яка кількість кисню необхідна мікроорганізмам-деструкторам для повної мінералізації всієї органічної речовини, яка міститься в 1 л забрудненої води. Згідно із чинним в Україні ДСТом, $БСК_5$ не повинно перевищувати 3 мг/л, число мікроорганізмів в 1 мл не більше 100. Відповідно до французьких законів вода вважається питною, якщо кількість органічних речовин, що містяться в ній, відповідає $БСК_5$ менше 5мг/л, а кількість мікроорганізмів у 1 мл менше 50. До того ж вода не повинна містити токсичних домішок.

За відсутності кисню починають розвиватись численні види анаеробних бактерій, наприклад сульфобактерії (*Desulfovibrio*), які відновлюють сульфати до сірчистих сполук і виробляють сірководень, який має специфічний запах. Ці мікроорганізми сприяють утворенню чорного сірчистого заліза внаслідок реакції заліза із сірководнем, і тому бруд і мул забарвлені в характерний чорний колір. Інші види анаеробних мікроорганізмів розкладають азотні сполуки і виділяють аміак. Поступово відмирають водні найпростіші. У природних умовах евтрофікація, в масштабі геологічних епох, відбувається дуже повільно, але діяльність людини прискорює цей процес.

## 8. Біотехнологічне виробництво як фактор біологічного забруднення навколишнього середовища

**Біотехнологія –** це технологія отримання продуктів з використанням живих організмів мікроорганізмів, рослин, тварин. Особливого значення набула мікробна біотехнологія, яка дає змогу отримувати різноманітні речовини за допомогою мікроорганізмів і продуктів їхньої життєдіяльності. Мікробіоті властива висока швидкість розмноження, яка не має аналогів живих створінь, здатність виробляти і виділяти у навколишнє середовище різні корисні речовини, утилізувати різноманітну сировину. Мікроорганізми мають найвищий вміст білка в біомасі. Для вирощування мікроорганізмів використовують здебільшого дешеву сировину: відходи від переробки рослин, харчової промисловості, гідролізного виробництва, продукти переробки нафти тощо.

Біотехнологічні процеси застосовують у харчовій (виготовлення пива, квасу, кефіру, йогуртів, дріжджового тіста, ковбас тощо), фармацевтичній (виробництво антибіотиків, ферментів, вітамінів, амінокислот, інсуліну), нафтодобувній і нафтопереробній промисловостях, при утилізації відходів, що містять лігнін та целюлозу, під час очищення стічних вод, у біоенергетиці і біометалургії, у виробництві мікробіологічних засобів захисту рослин від шкідників та хвороб, мікробіологічних азотних і фосфорних добрив та стимуляторів росту рослин і тварин, виробництві кормових домішок та ін. При цьому використовують виробничі штами мікроорганізмів. **Виробничим** називають штам мікроорганізмів, який застосовується у промисловості під час виробництва того чи іншого продукту (біопрепарату). **Штам-продуцент** – штам мікроорганізмів, що продукує ту чи іншу речовину (антибіотик, фермент тощо) і використовується для одержання кінцевого продукту (тобто продукту біотехнології).

У біотехнологічних процесах використовують тільки непатогенні штами мікроорганізмів, патогенні не допускаються до використання як виробничі. На відміну від хімічних речовин, мікроорганізми є живими об'єктами, які можуть зберігати життєздатність і розмножуватись за наявності певних умов у навколишньому середовищі або макроорганізмі. Продукти біотехнології, що містять у своєму складі виробничі штами мікроорганізмів чи продуценти, як правило, не токсичні для людини і тварин, але можуть спричиняти дисбіотичну, сенсибілізуючу, імуномодулюючу чи іншу специфічну дії. Тому є необхідність вивчати дію відповідних мікроорганізмів або їх продуктів на організм теплокровних та об’єкти навколишнього середовища.

Донедавна для отримання продуктів біотехнології використовували природні штами мікроорганізмів, але з розвитком генної інженерії пропонують використовувати, поряд із природними штамами, і генетично модифіковані мікроорганізми (ГММО), що відкривають нові можливості для підвищення якості і збільшення обсягів біотехнологічного виробництва.

Біотехнологічні продукти виготовляють як великі підприємства мікробіологічної промисловості, біофабрики, так і невеликі біолабораторії та малі підприємства. При цьому біолабораторії у виробництві біопрепаратів, як правило, не проводять висушування біомаси, а випускають препарат на основі нативних мікроорганізмів. Специфічною особливістю мікробіологічних виробництв є наявність біологічного фактора: як живих клітин мікроорганізмів-продуцентів, так і білкового пилу мікробної біомаси і біологічно активних продуктів мікробного синтезу. Мікроорганізми-продуценти і продукти їхньої життєдіяльності можуть забруднювати виробничі приміщення, атмосферне повітря, воду, ґрунт. Найбільш забрудненими ділянками мікробіологічного виробництва є ферментери підприємств з виробництва кормового білка, антибіотиків, засобів захисту рослин. Найбільш інтенсивне надходження аерозолів у повітря робочої зони відбувається в результаті викидів із ферментерів через інтенсивну аерацію поживного середовища, а також викидів із розпилювальних сушильних установок.

Рівні запиленості білковим пилом на підприємствах мікробіологічної промисловості в деяких випадках сягають сотень мг в 1 $м^3$ повітря, перевищуючи рівень ГДК для інертних видів пилу в десятки, а іноді і сотні разів. Проте білковий пил не слід розглядати як інертний через уміст у ньому значної кількості мікроорганізмів, продуктів їхньої життєдіяльності та інших біологічно активних білкових сполук. Так, у виробничих приміщеннях ферментних заводів вміст життєздатних спор пліснявих грибів-продуцентів може сягати $10^4$-$10^5$ спор/$м^3$, на гідролізно-дріжджових заводах – до $2\times10^5$ дріжджових клітин/$м^3$, у промисловому виробництві сухої форми мікробного родентициду, бактороденциду – до $10^7$ КУО/$м^3$, мікробного інсектициду ентобактерину – до $10^5$ КУО/$м^3$. В атмосферному повітрі у місцях розташування великотоннажних заводів мікробіологічного синтезу (наприклад, при виробництві кормового мікробіологічного білка БВК) виробничі штами мікроорганізмів можуть потрапляти на відстань до 2,5 км від джерела викиду.

Мікробне забруднення спостерігають у порівняно невеликих кількостях у виробничих приміщеннях біолабораторій, де виробляють мікробні препарати, в основному для сезонних потреб. Рівень мікробного забруднення приміщень біолабораторій виробничими штамами коливається від десятків до десятків тисяч клітин в 1 $м^3$.

Забруднення повітряного середовища виробничих приміщень мікроорганізмами та білковим пилом зумовлено недостатньою герметизацією обладнання і комунікацій, іноді порушенням режиму вирощування, сепарації, пакування, а також низькою санітарною культурою обслуговування технологічного процесу. Недосконале очищення газоповітряних викидів і промислових стічних вод, забруднення мікроорганізмами-продуцентами та білком різних об’єктів виробничого і навколишнього середовищ може впливати як на здоров’я працюючих з цими мікроорганізмами і населення, яке проживає поблизу мікробіологічних підприємств, так і на існуючі біоценози.

Оскільки відходи і продукти мікробіологічної промисловості можуть забруднювати навколишнє середовище, відомості про рівень забруднення та стан різних об’єктів довкілля необхідні для прогнозування наслідків забруднення та організації спеціальних заходів для попередження небажаних ситуацій (очисні споруди) чи швидкої ліквідації забруднення безпосередньо у довкіллі. Захист об’єктів навколишнього середовища від забруднюючих продуктів біотехнологічного виробництва базується, передусім, на вдосконаленні технологій. Створення замкнених технологічних циклів, організація безвідходного виробництва різко скорочують, іноді навіть зовсім унеможливлюють надходження забруднюючих речовин у навколишнє середовище.

Враховуючи потенційність небезпечної дії на організм нових штамів мікроорганізмів, питання про промислове використання будь-якого штаму мікроорганізмів не може бути розв’язане без достатньої наукової оцінки його можливих шкідливих впливів для людини і природних біоценозів. Саме якісна оригінальність цих об'єктів, що полягає в їх живій природі, є причиною обережної оцінки в цьому відношенні. З огляду на це міжнародні організації

ВООЗ і ФАО, а також національні органи з реєстрації нових препаратів багатьох країн рекомендують проводити вивчення ефективності й економічності мікробіологічних препаратів, як і всіх інших препаратів, після доведення їхньої безпеки для людини і довкілля.

### 9. Радіоактивне забруднення та мікроорганізми

Серед усіх видів забруднень найнебезпечнішим є радіоактивне. Потрапляючи в навколишнє середовище, радіоактивні речовини (радіонукліди) стають джерелом його зовнішнього опромінення, а споживання радіонуклідовмісних сільськогосподарських продуктів призводить до формування джерела внутрішнього опромінення людини через нагромадження радіоактивних речовин у його організмі.

Існуючі у природі радіонукліди розділяють на дві категорії – природні і штучні. До природних належать радіонукліди природного радіаційного фону з дуже тривалим періодом напіврозпаду, які існують у складі Землі як планети з моменту її утворення. Найважливіші серед них – уран ($^{238}$U), торій ($^{232}$Th), калій ($^{40}$K). Окрім того, біогенно значущі природні радіонукліди надходять з повітря ($^{3}$H, $^{14}$C та ін.). Із зростанням хімізації сільського господарства збільшується застосування добрив і меліорантів з підвищеним умістом природних радіонуклідів. Це, зокрема, пов’язано з тим, що деякі види гірської сировини, що використовуються при отриманні мінеральних добрив (передусім фосфорних), збагачені $^{238}$U, $^{232}$Th і дочірніми продуктами їхнього розпаду.

Другу групу радіонуклідів становлять штучні радіонукліди, тобто радіонукліди техногенного походження. У роботі атомних електростанцій, отриманні ядерного палива для них, переробці відпрацьованого ядерного палива тощо можуть складатися критичні ситуації, пов’язані з аваріями і захороненнями відходів, які в процесі транспортування і зберігання можуть потрапляти в навколишнє середовище, не кажучи вже про небезпеку використання і зберігання атомної зброї. Останніми роками зростає кількість ядерних технологій, які застосовуються в різних галузях господарської діяльності людини, при цьому не виключено надходження радіоактивних речовин (радіонуклідів) у біосферу.

Найчастішими забруднювачами є радіоактивні ізотопи стронцію, цезію, йоду, урану. На різні форми організмів вони діють по-різному, але найбільш згубно на високоорганізовані і складні організми. Ссавці найчутливіші, а мікроорганізми стійкіші до опромінення. Летальна доза ($ДL_{50}$) для мікроорганізмів становить мільйони рад, для рослин – сотні тисяч, для ссавців – кілька сотень рад.

Серед мікроорганізмів найбільш стійкими до радіонуклідів є бактерії, найменше – гриби, стрептоміцети займають проміжне місце. Висока радіорезистентність грибів була доведена як експериментальними дослідженнями, так і натурними спостереженнями ґрунтових зразків, відібраних у районах радіоактивного забруднення після вибуху атомної бомби під час випробувань, при дослідженні ґрунту в 30-кілометровій зоні відчуження

ЧАЕС. Причому пігментовані гриби стійкіші, серед них темнопігментовані (з меланіновими пігментами) домінують над світлобарвними.

Серед бактерій радіостійкість більша у тих, які виділяють із радонових джерел. В охолодженій системі ядерних реакторів виділяються бактерії роду *Pseudomonas*, пояснення цьому поки що не знайдено.

### *Контрольні питання*

1. Охарактеризуйте стійкі та нестійкі забруднювачі навколишнього середовища.
2. Як ґрунтові мікроорганізми реагують на внесення пестицидів?
3. На які мікроорганізми ґрунту в першу чергу впливають азотні добрива?
4. Які мікроорганізми ґрунту є найбільш чутливими та найбільш стійкими до дії важких металів?
5. Які мікроорганізми здатні до акумуляції важких металів?
6. Як нафтопродукти впливають на мікроорганізми ґрунту?
7. Поясніть значення терміну евтрофікація.
8. Поясніть терміни виробничий штам та штам-продуцент.
9. Охарактеризуйте фактори біологічного забруднення біотехнологічного виробництва.
10. Які мікроорганізми є найбільш чутливими та найменш стійкими до радіоактивного забруднення.

### *Література*

1. Великий В.И., Мудрый И.В. Некоторые эколого-гигиенические аспекты интесивного применения азотных минеральных удобрений в сельском хозяйстве // Довкілля та здоров’я. – 1999. – № 4 (11). – С. 55-58.
2. Горбач Т.І., Баб’як М.В., Миколаєнко Ж.І. Вплив інсектицидів на ґрунтову мікрофлору // Науково-технічні, економічні та екологічні основи механізації процесу підвищення родючості ґрунту: Тези доп. – К., 1991. – С. 45-46.
3. Патика В.П., Омельянець Т.Г., Гриник І.В., Петриченко В.Ф. Екологія мікроорганізмів: Навчальний посібник / За ред. В.П. Патики. − К.: Основа, 2007. − 192 с.
4. Круглов Ю.В. Микрофлора почвы и пестициды. – Москва: Агропромиздат. – 1991. – 129 с.
5. Марфенина О.Е. Реакции микроскопических грибов на загрязнение почв тяжелыми металлами // Биологические науки. – 1989. – № 9. – С. 89-93.
6. Нетрусов А.И. Микробиология: учебник для студ. виш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, А.И. Котова. – М.: Издательский центр «Академия». – 2006. – 352 с.
7. Черников В.А., Алексахин Р.М., Голубев А.В. и др. Агроэкология: Учебник / Под ред. В.А. Черникова, А.И. Черкаса. – Москва: Колос. – 2000. – 536 с.

## ТЕМА 9. ЕКОЛОГІЯ ВІРУСІВ

1. Віруси тварин. Персистенція вірусів ссавців при різних екологічних ситуаціях.
2. Фітовіруси та довкілля.
3. Ентомопатогенні віруси
4. Віруси, що уражають організми гідробіоценозів
5. Віруси грибів.
6. Фаги та їх взаємодія з бактеріальними клітинами.

### 1. Віруси тварин. Персистенція вірусів ссавців при різних екологічних ситуаціях

Вірусні інфекції виявлені в усіх тваринних організмів – від найпростіших до багатоклітинних, у тому числі людини. Деякі з тварин здатні не тільки інфікуватися, а й бути переносником вірусів для інших тварин, в тому числі інших таксонів. Класифікація та деякі основні властивості вірусів наведені у таблиці 2.

Роботи по визначенню місця та ролі вірусів в еволюції живого, а також їх використання в генетично-інженерних процесах дають, з одного боку, новий поштовх для оптимізму в «приборканні» цих популяцій, а з другого – наводить на сумні роздуми про можливі складні епідеміологічні ситуації, які людство «несвідомо» створює при маніпуляціях з вірусами в складних умовах екології планети. Патогенез вірусних інфекцій розпочинається на клітинному рівні, а завершується загальним ураженням організму та часто швидкою міграцією вірусу в біоценозах. При цьому цей процес іноді закінчується летально для організму людини, тварини.

Враховуючи відповідні взаємовідносини клітини та вірусу, дослідники виділяють чотири типи вірусних інфекцій, які тільки частково дають змогу збагнути в цій ситуації стан генетичної системи вірусу і клітини.

Типи інфекцій розподілено на **альтернативну, латентну, онкогенну** та **повільну.** Вважається, що **альтернативний тип** вірусної інфекції, спостерігається тоді, коли геном вірусу має найбільшу автономність від геному господаря, яка відмічається на внутрішньоклітинному рівні. Взаємовідносини між вірусом і клітиною закінчуються або звільненням від вірусу, або повним відмиранням клітини. При цьому генетичні процеси у вірусу та клітини можуть порушуватись на різному рівні, наприклад копіюванні м-РНК, транскрипції, синтезу поліпептидних ланцюгів. В умовах альтернативного типу інфекції може відбуватися максимальне накопичення вірусу, або вірус здатний повністю зупинити свою репродукцію. Аналізуючи таку ситуацію вірусного геному та клітини господаря, багато дослідників на основі клінічних результатів виділяють в основному декілька форм персистенції вірусу в організмі: **латентну, хронічну та повільну.** На сьогоднішній період розвитку вірусології, сучасні погляди на персистенцію ще не дають змоги провести конкретний рубіж між різними типами інфекцій.

**Таблиця 2**

## Класифікація та деякі властивості вірусів людини та тварин

| ЦАРСТВО VIRA | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Родина вірусів** | **Тип нуклеїнової кислоти** | **Наявність супер-капсида** | **Розмір віріона, нм** | **Типові представники** |
| **ДНК-ГЕНОМНІ ВІРУСИ** | | | | |
| **Група I — двониткові ДНК-геномні віруси** | | | | |
| **Adenoviridae** | лінійна, двониткова | – | 70–90 | Аденовіруси ссавців та птахів |
| **Herpesviridae** | лінійна, двониткова | + | 220 | Віруси простого герпеса, цитомегалії, вітряної віспи |
| **Papovaviridae** | лінійна, кільцева | – | 45–55 | Вируси папіломи, поліоми |
| **Poxviridae** | лінійна, двониткова | + | 130–250 | Вірус натуральної віспи |
| **Група II — одноніткові ДНК-геномні віруси** | | | | |
| **Parvoviridae** | линейная, однонитчатая | – | 18–26 | Аденоасоційований вірус |
| **РНК-ГЕНОМНІ ВІРУСИ** | | | | |
| **Група III — двониткові РНК-геномні віруси** | | | | |
| **Reoviridae** | двониткова | – | 60–80 | Реовіруси, ротавіруси |
| **Група IV — одноніткові РНК-геномні віруси** | | | | |
| **Astroviridae** | одноніткова | – | 28–30 | Астровірус людини |
| **Caliciviridae** | одноніткова | – | 20–30 | Вірус гепатита Е |
| **Coronaviridae** | одноніткова | + | 80–130 | Коронавіруси людини |
| **Picornaviridae** | одноніткова | – | 20–30 | Віруси поліомієлітаа, Коксакі, гепатита А |
| **Togaviridae** | одноніткова | + | 30–90 | Вірус краснухи |
| **Flaviviridae** | одноніткова | + | 30–90 | Віруси кліщового енцефаліта, гепатита С, |
| **Arenaviridae** | фрагментована, одноніткова | + | 50–300 | Віруси Ласса, Мачупо |
| **Bornaviridae** | несегментована, одноніткова | + | ~80–100 | Вірус хвороби Борна |
| **Bunyaviridae** | фрагментована, одноніткова, кільцева | + | 90–100 | Віруси геморагічної лихоманки, енцефалітів |
| **Orthomyxoviridae** | одноніткова, фрагментована | + | 80–120 | Віруси грипа |
| **Paramyxoviridae** | одноніткова, лінійна | + | 150–300 | Віруси парагрипа, корі |
| **Rhabdoviridae** | несегментована, одноніткова | + | 30–90 | Вірус сказу, вірус везикулярного стоматита |
| **Filoviridae** | несегментована, одноніткова | + | 200–4000 | Віруси лихоманки Ебола, Марбург |
| **Група V ДНК- та РНК-віруси зі зворотною транскриптазою** | | | | |
| **Hepadnaviridae** | двониткова, кільцева з однонитковою ділянкою ДНК | + | 45–50 | Вірус гепатита В |
| **Retroviridae** | одноніткова РНК | + | 80–100 | Віруси лейкоза, саркоми, ВІЛ |

Доведено, що практично всі РНК- та ДНК-геномні віруси ссавців здатні в певних умовах викликати **латентну інфекцію.** До 1975-80 рр. цю інфекцію часто називали ще хронічною, субклінічною, інапарантною, поміркованою та ін. При цьому деякі основні поняття латентної інфекції часто викликають протиріччя. Проте доведено, що найбільш постійним механізмом оцінки стану клітини при цій інфекції є «нормальний» синтез клітинних РНК, ДНК та білків. При ній вірус та клітина являють собою добре збалансований та цікавий комплекс, який довгий час може існувати в організмі. Однак необхідно пам'ятати, що латентна інфекція не завжди стійка. Під дією різних зовнішніх факторів вона може змінити свій «статус». Геном вірусу часто навіть інтегрує в геном клітини (герпетична інфекція, взаємодія клітини з вірусом Синдбіс). Враховуючи приховану інфекцію, на базі вірусів розроблено ряд методичних підходів для створення живих вакцин. Разом з тим деякі віруси здатні ревертувати у вихідні форми, які колись були сильно вірулентні по відношенню до певного організму. Крім того, деякі штами вірусів здатні викликати латентну ендосимбіотичну інфекцію центральної нервової системи. При тривалій циркуляції персистентного вірусу в організмі патоген може викликати декілька симптомів захворювання, а інфекція проходить з певними періодами ремісії та загострення. При цьому часто таку інфекцію називають неонічною (аденовірусна інфекція, взаємодія вірусу кліщового енцефаліту з клітиною).

До певного часу осторонь знаходився **онкогенний тип** вірусної інфекції, особливістю якої є інтеграція геному вірусу в геном клітини з послідуючою трансформацією клітин. При цьому показано, що у ДНК- та РНК-геномних вірусах, які утворюють пухлини, знайдена РНК-залежна ДНК полімераза, що корегує синтез ДНК на матриці вірусної РНК.

**Повільна інфекція** у сьогоднішньому розумінні подається як така, що протягом всього існування організму взаємозв'язана з вірусом, який персистує у ссавців після інфікування. При цьому найчастіше хворий організм при цій інфекції гине. Проте, на думку дослідників, цей тип інфекції провокує патогени не вірусної природи, які викликають, наприклад, енцефалопатію норок та захворювання куру людей. Ці хвороби відносили до вірусної і, навіть, до віроїдної природи. Зараз доведено їх пріонну етіологію, яка потребує ще детального вивчення.

Репродукція патогену в клітині, його транспорт в організмі та циркуляція в екологічній ніші «цілеспрямовано» спрацьовують на збереження вірусу як біологічного компоненту природи, який, персистуючи, несе не тільки патологічні функції, а також виконує інформаційні процеси в організмі та біосфері.

Поведінка вірусів ссавців в різних екологічних системах тісно пов'язана з відповідним організмом, через який опосередковано на вірус діє більше 30 основних факторів довкілля. Відомо також, що багато вірусів добре зберігають свої властивості позаклітинно і в умовах ґрунту, води, пилу та ін. Вивчено, що віруси ссавців по-різному чутливі до фізичних та хімічних факторів. Наприклад, вірус венесуельського енцефаломієліту коней при дії γ-опромінення 6 - $8\times10^6$ рад зберігає ще свою інфекційність. Відомо, що в фекаліях людей

знаходять більше 100 різних штамів вірусів, а в морській воді деякі ентеровіруси зберігають свою інфекційніс більше 100 днів при температурі +4 – +6°С. Мідії та устриці часто контаміновані ентеровірусами до 40% і можуть бути джерелом інфекції для людей. Віруси добре зберігаються в аерозолях, пилових фракціях, а вірус ящуру здатний переноситись на далекі відстані вітровими бурями з пилом від інфікованих тварин фермерських господарств до здорових тварин.

В закритих приміщеннях спортзалів, театрів, шкіл, лікарень можна ідентифікувати ряд респіраторних вірусів із повітря. При цьому часто виділяються нові штами цих патогенів. Для вивчення обміну повітря в різних типах приміщень інколи практикується використання деяких бактеріофагів, які циркулюючи, наприклад, у багатоповерховому будинку як індикаторна біологічна система дають відповідь на можливу міграцію патогенних вірусів людини у закритих приміщеннях.

Є ряд цікавих досліджень про зберігання вірусів в різних типах ґрунтів. Наприклад, вірус ЕСНО-7 при вологості ґрунту від 10 до 42% виживає до 90 діб, ентеровіруси – 170 діб. Вірус поліомієліту та Коксаки здатні проникати через кореневу систему рослин в плоди томату.

Різні віруси неоднаково зберігають свою інфекційність на побутових предметах. Наприклад, на склі вірус грипу А не втрачає інфекційність біля 10 днів, аденовіруси – до 45 днів. Враховуючи біологічні характеристики вірусів, необхідно відмітити, що в природних умовах деякі патогени здатні передаватись комарами, кліщами та іншими переносниками вірусних хвороб. При цьому інколи в екологічній ніші створюється полівекторне вогнище хвороби, коли збудник передається декількома переносниками.

Віруси, які інфікують ссавців, бувають різної фізичної та хімічної будови. На відповідних періодах еволюційного шляху на основі взаємозв’язку їх комплементарних структур віруси формували різні типи вірусної інфекції. Мабуть, доведеться ще багато збагнути, щоб розібратись у механізмах персистенції деяких реовірусів, краснухи, сказу, Коксаки, герпесу коней, Епштеина-Барра, везикулярного стоматиту та інших патогенів вірусної природи.

Якщо розглянути певні РНК-вмісні віруси (грипу А, сказу, ентеровіруси, реовіруси та ін.), то деякі з них можуть мати відповідну персистенцію і в клітинних культурах. Наприклад, вірус грипу здатний довго (декілька місяців) зберігати свою генетичну інформацію в клітинах селезінки, а інфікована культура клітин *vero* деякими штамами вірусу кору викликала ситуацію персистенції в них цього патогену більше року. Цікаві результати отримано при підтримці вірусу простого герпесу (ДНК-вмісткого патогену) в культурі фібробластів плоду людини, який по-різному персистує при дії на культуру плоду температури. У ДНК-вірусу гепатиту В можна змоделювати в клітинах процес інтеграції його геному в геном хазяїна.

Таким чином, взаємовідносини вірусів ссавців з організмом та відповідними клітинами є складним процесом, а персистенція розпочинає свою дію на субклітинних та клітинних компонентах організму.

**2. Фітовіруси та довкілля**

Сучасні дослідження в напрямку екології свідчать про те, що різноманітні стресові впливи на біосферу призводять до значних змін у властивостях мікроорганізмів, в тому числі вірусів. Вони також є частиною екологічної системи нашої планети і можуть виконувати певні інформаційні функції, які проходять на генетичному рівні в біосфері.

Наприклад, ізоляти ВТМ (вірусу тютюнової мозаїки), можуть стати індикаторною системою забруднення довкілля, оскільки реагують на різні процеси своєю мінливістю на рівні нуклеотидної послідовності. Це призводить до нових проявів відповідних симптомів, які формуються внаслідок інфекції та факторів довкілля.

Разом з тим, віруси мають своєрідні властивості, що дає можливість застосовувати їх в якості моделі при постановці дослідів генетично-інженерних, біохімічних, біофізичних, екологічних та інших напрямках природничих наук. Віруси використовуються як векторні системи для отримання трансгенних організмів. Нещодавно було встановлено, що паличковидні та ізометричні віруси мають властивості діамагнетиків. Вони можуть орієнтуватись у магнітному полі та утворювати завдяки цьому своєрідні структури.

Убіквітарність вірусів вказує на їх своєрідні властивості. Але основний інтерес для дослідників становлять ті віруси, які викликають хвороби людини, тварин, рослин та мікроорганізмів – ті, які завдають значної шкоди здоров'ю людини, забирають мільйони життів, які наносять великі збитки агропромисловому комплексу.

На сьогоднішній день значна увага в лабораторіях різних країн світу приділяється вірусам рослин – фітопатогенним вірусам, які при певних екологічних ситуаціях можуть набувати характер епіфітотій і поширюватися з великою швидкістю. Віруси рослин вражають плодові, хміль, пшеницю, картоплю, овочі, цитрусові, їстівні гриби. При цьому спостерігається зниження врожаю та його якості в 1,5-3,0 рази.

Встановлено, що вірус тютюнової мозаїки зберігає свої структурні та інфекційні властивості навіть в різних тютюнових виробах (цигарках, махорці). Доведено, що лікарські рослини, наприклад: подорожник, дурман, ромашка, кропива, квасоля, калина та інші – в природних умовах можуть сильно вражатись вірусами різної хімічної та фізичної будови. Ці збудники в певних фармацевтичних фракціях здатні навіть знижувати якість ліків. У промислових умовах віруси можуть зупинити виробництво антибіотиків, продуцентами яких, наприклад, є мікроскопічні гриби. Разом з тим вивчено, що рослинний організм може бути і носієм вірусів людини, тварин. Так, наприклад, при поливі стічною водою рослин томату ентеровіруси з ґрунту через кореневу систему досягають плодів через 5-6 днів. В цій ситуації віріони зберігають свої біологічні властивості, структуру.

Які ж основні властивості фітовірусів? Вважалось, що ці патогени мають дуже просту фізичну та хімічну структуру, але дослідження останніх років показали, що віруси рослин – це не тільки представники з РНК геномом. Наприклад, існують віруси, які мають генетичний матеріал у вигляді ДНК

(вірус мозаїки кольорової капусти – група *Caulimovirus*; вірус смугастості кукурудзи – група *Geminivirus*).

Відомо, що нуклеїнові кислоти вірусів бувають одно- і дволанцюгові. Одна молекула нуклеїнової кислоти може бути, наприклад, лінійною або кільцевою. При цьому прості віруси складаються тільки з вірусного геному та декількох кодованих нуклеїновою кислотою поліпептидів. Коли вірусна РНК є позитивним ланцюгом, вона функціонує в ураженій клітині як РНК-інформаційна, може викликати синтез віріонів при зараженні клітин (ВТМ – вірус тютюнової мозаїки, *Tobamovirus*). Геном деяких РНК-вмісних фітовірусів може мати негативний ланцюг. При цьому для індукування вірусної реплікації потрібен фермент полімераза, що синтезує позитивний ланцюг РНК, необхідний для подальшої реплікації вірусу.

Фітовіруси викликають різні симптоми (мозаїки, жовтяниці, фітобластоми, скручування листя, некрози, локальні енації, апоптози) на різних видах рослин.

Розрізняють чотири основні типи реакцій рослин на ураження їх вірусом:

**імунність** – коли рослини не уражуються вірусом (синонім – стійкість);

**надчутливість –** коли рослини уражуються з утворенням місцевих некрозів, які з'являються внаслідок відмирання клітин біля точки зараження;

**толерантність –** коли вірус транспортується по тканинам рослини, але симптоми захворювання слабо виражені або не виражені зовсім (замасковані);

**системне ураження** – коли вірус транспортується по всіх тканинах рослини і репродукується в них з чітким проявом симптомів захворювання**.**

Вірусне ураження рослини може проявлятися як системно, так і носити локальний характер. Локальні ураження проявляються на листку поряд з місцем ураження, це – хлоротичні місцеві ураження, ураження некротичного типу та кільцева плямистість. Симптоми системного ураження поширюються по рослині; серед них затримка росту (карликовість), наприклад, викликана вірусом жовтої карликовості ячменю. Крім карликовості рослини, що інфіковані вірусом, можуть мати і інші типи аномального росту, такі як енації, деформації листової пластинки, пухлинні нарости у вигляді бородавок. У порівнянні з листковими пластинками корені і стебла рідше підлягають змінам під впливом вірусної інфекції, проте при зараженні вірусом коротковузля винограду часто спостерігаються фасціації стебел, а вірус деформації пагонів какао викликає здуття на стеблах і коренях цих рослин. Одним з найбільш розповсюджених симптомів на листках є поява світло- і темно-зелених ділянок, що утворюють мозаїчний візерунок. Межі між темними і світлими ділянками можуть бути або чіткими, або розпливчатими. У залежності від розміщення мозаїчних плям розрізняють прижилкову, міжжилкову, жовту мозаїки. При деяких вірусних захворюваннях (жовтуха цукрового буряку, ксантоз суниці) характерним є хлоротичне забарвлення листкової пластинки, що зумовлено змінами у хлоропластах. У темно-зелених ділянках листка хлоропласти розміщуються рівномірно, в більш світлих ділянках агрегують, а в самих світлих зливаються і руйнуються. Для деяких груп вірусів показано, що в темно-зелених ділянках міститься значно менше вірусу, ніж у світло-зелених.

Віруси відрізняються за здатністю до інфікування різних рослин: кількість сприйнятливих рослин варіює у різних вірусів. Коло господарів вірусу і симптоми, які він викликає, є характерними ознаками для даного вірусу і використовуються поруч із іншими для його ідентифікації.

Вірусна інфекція відображається на зовнішньому вигляді рослини, хоча це є відображенням внутрішньоклітинних змін, викликаних вірусом. Симптоми ураження можуть бути різними і залежать від рослини-господаря, тривалості інфекції, штаму вірусу та умов зовнішнього середовища. Наприклад, симптоми захворювання найбільш чітко виражені у рослин, які вирощені при яскравому світлі при помірній температурі. Для ідентифікації вірусів за візуальним симптомами використовують так звані рослини-індикатори. **Рослини-індикатори** – це рослини, які дають чітку специфічну реакцію на даний вірус, що легко відрізняється від реакції цієї рослини на інший вірус. За допомогою рослин-індикаторів можна вирішити такі завдання: визначити інфекційну природу збудника; визначити коло рослин-господарів; відокремити вірус із суміші при змішаних вірусних інфекціях; визначити концентрацію вірусів у рослинах; накопичити вірус з метою подальших фізико-хімічних досліджень; встановити видову приналежність патогену.

Оскільки віруси є облігатними паразитами, а термін життя окремої рослини обмежений, то необхідною умовою виживання вірусу є його перехід від однієї рослини до іншої. Зовнішня поверхня рослин має захисні шари кутикули та пектину, крім того, кожна клітина рослини оточена клітинною оболонкою. На сьогодні невідомо, щоб віруси рослин використовували специфічні клітинні рецептори, як це роблять віруси тварин та бактерій. Враховуючи відсутність у вірусів активного транспорту та масивну кутикулу листка, віруси не можуть проникати через непошкоджену кутикулу. Для вирішення цієї проблеми необхідно або уникнути проникнення через непошкоджену кутикулу (наприклад, передача вірусів за допомогою пилку, насіння, вегетативним розмноженням), або використовувати деякі способи передачі, пов’язані з пошкодженням кутикули, що спостерігається при механічній інокуляції рослин та передачі вірусів за допомогою переносників. Передача за допомогою насіння може відбуватися кількома способами, а саме: вірус може знаходитись в середині насіння (наприклад, вірус кільцевої плямистості тютюну, вірус штрихуватої мозаїки ячменю, вірус мозаїки квасолі, вірус кільцевої плямистості сливи та інші); або на поверхні насіннєвої шкірки (наприклад вірус огіркової мозаїки (ВОМ), вірус тютюнової мозаїки (ВТМ). Передача вірусів в процесі вегетативного розмноження рослин може здійснюватись за допомогою бульб (наприклад, Х-вірус картоплі), цибулин, черенків та ін. В іншому випадку віруси можуть потрапляти в рослину за допомогою переносників, таких як членистоногі, нематоди та гриби. У свою чергу, членистоногі переносники підрозділяються на рівнокрилих (цикадки, білокрилки, попелиці), напівжорсткокрилих (клопи), жорсткокрилих (жуки), трипсів та кліщів. Тип трансмісії вірусів за допомогою переносників може характеризуватися станом переносника за персистентністю (стан, при якому переносник залишається інфекційним після того, як залишить джерело інфекції (неперсистентний,

напівперсистентний, персистентний) та базуватися на поведінці вірусу у переносник (циркулятивні та нециркулятивні віруси). Циркулятивні, в свою чергу, поділяться на пропагативні (віруси, здатні до розмноження як у клітинах рослини-господаря, так і в клітинах переносника) та непропагативні (віруси, що циркулюють, але не здатні репродукуватися у векторі, розмножуються тільки в клітинах рослини-господаря). Прикладом нециркулятивних вірусів є вірус гравіровки тютюну, вірус огіркової мозаїки, прикладом циркулятивних вірусів є вірус слабкої плямистості томату, вірус жовтої карликовості ячменю, Y-вірус картоплі. Крім того, віруси можуть передаватися через ґрунт за допомогою таких переносників, як нематоди (вірус кільцевої плямистості тютюну, вірус кільцевої плямистості малини, вірус чорної кільцевої плямистості томату) та мікроскопічні гриби (вірус некрозу огірку, вірус некрозу тютюну, вірус некротичного пожовтіння жилок буряку, вірус жовтої мозаїки ячменю, вірус мозаїки вівса).

Важливо, що на сьогоднішній день розроблені методи діагностики та ідентифікації вірусів різних видів рослин. Один із них – це дистанційне виявлення інфекцій на великих площах агроценозів в наземних умовах та за допомогою космічних приладів, які базуються на інфрачервоному світлі, що фіксує хлоротичність листя рослин.

Інтенсивність вірусних епіфітотій в багатьох випадках залежить від різних переносників, що розповсюджені в біоценозах. Вони захоплюють віруси, зберігають їх у життєздатному стані, вводять у рослину, що спричиняє інфікування.

Потрібно відмітити, що «накопичення» вірусів в рослинному інфікованому матеріалі різна. Так, з одного літра соку свіжого листя тютюну можна виділити 1,9-2,8 г ВТМ, листя та плодів томату – від 1,0 до 2,0 г цього вірусу, а з соку листя та плодів огірків – 0,6-2,3 г вірусу огіркової мозаїки. Цікаво, що цей вірус за своєю структурою нагадує вірус поліомієліту та інші патогени вірусної природи, які уражують людей та тварин.

Враховуючи широке поширення фітовірусів на різних видах рослин, слід відзначити, що вони можуть стати причиною ослаблення рослинного організму щодо патогенів іншої природи: бактерій, мікроскопічних грибів, мікоплазм та віроїдів. При цьому виникають взаємозв’язки між патогенами різної природи та фітовірусами, тим більше, що бактерії, гриби, мікоплазми контаміновані «своїми» вірусами різної морфології.

Відмічено, що інфіковані вірусами рослини значно зменшують активність фіксування атмосферного азоту (бобові рослини). На плодах огірків, томатів, та інших рослин, уражених вірусами, активізуються різні види мікроскопічних грибів, бактерій. Плоди таких рослин стають токсичними для людини. Їх небезпечно використовувати для одержання соків з метою харчування, необхідно заборонити як сировину для консервування чи одержання висушеного продукту.

Важливо, що при деяких вірусних інфекціях та порушенні екологічних ніш в клітинах пасльонових рослин утворюються неідентифіковані структури, які пригнічують організм рослини, після чого плоди їх більш чутливі до ураження

мікроскопічними грибами, бактеріями. Ці структури характерні для екологічних ніш з підвищеним вмістом радіонуклідів.

Як вже відзначалос, фітовіруси мають широкий спектр рослин-господарів. Наприклад, ВТМ уражує тютюн, томат, картоплю, троянду, вишню, соняшник, огірки, хміль в агроценозах. Надзвичайно складна ситуація з рослинами томата та огірка в закритому ґрунті (теплицях). Фактично, ці рослини та їх плоди уражені вірусами на 32-100%. Такі рослини часто бувають контаміновані як вірусами, так і іншими патогенами.

З плодових тіл та міцелію печериці можна також виділити паличкоподібний вірус, який надзвичайно сильно знижує врожай та якість продукції. Важливо підкреслити, що при імунізації вірусним антигеном тварин (кроликів) у них з'являються помітні симптоми загального захворювання: пригнічення, сльозовиділення, загнивання вух. Цей вірус, як показали імунологічні тести, дещо споріднений з вірусом тютюнової мозаїки, який інфікує вищі рослини. Паличковидний вірус печериці може уражати міцелій грибів та плодові тіла одночасно з бациловидними та сферичними вірусами. При цьому їх роль в організмі ссавців не досліджувалась. Проте попередні досліди показують, що ці віруси неоднозначно проявляють себе в їх культурі клітин. Останні часто деградують.

Доведено, що РНК ВТМ, виділеного із троянди ефіроолійної, здатна через певний час в клітинах Hela викликати збірку вірусних часток, при цьому клітини стають сильно деградовані і відрізняються від контрольних. Подальшим виділенням цих паличковидних часток із клітин було відмічено, що вони за морфологічними та інфекційними показниками нагадували вихідний штам ВТМ. Такі частки інфікували здорові рослини лободи, тютюну, томата, огірка. Відмічено, що подібний процес можна спостерігати і на інших клітинах ссавців.

Таким чином, віруси рослин приносять значні збитки народному господарству. Вони неоднозначно поводять себе в організмі невластивих їм господарів і, навіть, можуть викликати певні патології у ссавців, а це робить необхідним широке вивчення цих популяцій і їх вплив на довкілля.

Всі фактори зовнішнього середовища, що діють на віруси та інші біологічні об'єкти, можна розділити на природні, які існують у відповідних біоценозах і діють на віруси *in vivo,* та ті, які впливають на патогени безпосередньо в дослідах в умовах *iv vitro.* При цьому до певного часу питання дії різних факторів на віруси, які в екологічній ніші знаходяться поза клітиною, залишалось майже не вивченим. Разом з тим, останнім часом з'явилась низка наукових робіт, які вказують на міграцію фітовірусів у воді, ґрунті, фекаліях тварин. При цьому віріони певний час зберігають свої інфекційні та інші властивості.

На сьогоднішній день фітопатогенні віруси в багатьох випадках є тими об'єктами, які дослідники використовують для вирішення окремих вірусологічних, загальнобіологічних проблем.

Складним питанням взаємодії та циркуляції вірусів в екологічних нішах є дослідження комплексу факторів біотичної та абіотичної природи, які можуть

змінювати властивості патогенну. Відмічено, що штами ВТМ в різних умовах довкілля мають неоднакову нуклеотидну послідовність та зміни в первинній структурі капсидного білку. Існують фітовіруси, що передаються переносниками та уражують здорові рослини тільки при наявності вірусу-помічника, які впливають разом на рослинний організм у відповідному біоценозі. Відомо, що фітовіруси можуть репродукуватися в організмі переносника і викликати в ньому патології. Подібна поведінка вірусів у переносниках в різних ситуаціях довкілля спостерігається у вірусів, які інфікують організм ссавців.

Як відомо, фітовіруси рослин безпосередньо не часто стикаються з абіотичними агентами зовнішнього середовища. Вплив на віруси певного фактору відбувається в основному тільки через організм рослини та переносника. Хоча відомо, що багато вірусів, що уражують рослину, можуть деякий період «вільно» знаходитись в різних типах ґрунтів, воді, фекаліях тварин. Важливо відмітити, що підтримка окремих штамів вірусів на відповідних рослинах може викликати адаптивні зміни до переносника. Значне розповсюдження фітовірусів в природних умовах пов’язане з наявністю в біоценозах широкого спектру рослин, сприйнятливих до них. При цьому можуть існувати і інші фактори, які забезпечують високу екологічну пластичність вірусів. До таких факторів необхідно віднести існування різних штамів фітовірусів, вплив на патоген і його переносник температури, вологості, умов вирощування рослин, інтерференції між штамами та ін.

На основі спеціальних досліджень встановлено, що практично весь рослинний світ у різних країнах світу (Україні, Росії, США, В’єтнаму, Польщі, Угорщині та ін.) контамінований вірусною інфекцією. При цьому існують відповідні вогнища хвороб, які підсилюються певними факторами довкілля. У цих регіонах можна виділити як споріднені, так і різні штами окремих вірусів.

В пізнанні екології окремих вірусів є також важливою оцінка штучно створених фізико-хімічних та інших факторів, що діють на біологічну активність фітовірусів. Вивчено, що не лише в умовах *in vitro*, а також в деяких випадках *in vivo*, віруси помітно змінюють свої властивості – наприклад, втрачають свою інфекційність або проявляють нову вірулентність.

Зміни у вірусів можливі при дії різного діапазону температур, опромінення, при впливі неорганічних та органічних сполук, інгібіторів та інших речовин і факторів. В рослинному організмі, так і в модельних системах (протопластах, культурі тканин) їх дія може порушувати взаємозв’язок вірусів із компонентами клітини.

Вітчизняні та зарубіжні вчені велику увагу приділяють вивченню впливу різних фізичних факторів на біологічні властивості вірусів. Зокрема, показано, що віруси не однаково чутливі до іонізуючого випромінювання. У деяких РНК-вмісних вірусів під впливом ультрафіолету утворюються зшивки, які пригнічують подальшу реплікацію, і не завжди капсомери, що захищають НК, зданті запобігти цьому.

Гамма-опроміннення призводить до деяких змін активності ферментів. Певні дози опромінення є стимуляторами для росту і розвитку хронічно уражених

вірусами багаторічних рослин. Малі дози опромінення не викликають якісно нових змін у біохімічному складі та метаболізмі рослин. В цій ситуації відбувається підвищення синтезу речовин, який еволюційно стабілізувався для окремих видів рослин. Проте, підвищення радіаційного фону може негативно впливати на інфіковані вірусами рослини картоплі, хмелю, пшениці. А бобові, інфіковані вірусами, часто не здатні фіксувати атмосферний азот, що викликає складні порушення в екологічних нішах і може створити катастрофічну ситуацію.

Досліджується також вплив на фітовіруси температури, магнітного випромінювання, з метою розробки заходів боротьби, створення трансгенних рослин, використання вірусів в модельних дослідах та ін.

Таким чином, багато факторів які впливають на віруси рослин, викликають певні зміни у їх властивостях, що можна використати для вирішення теоретичних і практичних завдань в галузі екології вірусів.

### 3. Ентомопатогенні віруси

Відомо, що епізоотії вірусної природи здатні призупиняти масове розмноження шкідливих комах, віруси яких широко розповсюджені в біоценозах. Враховуючи прогноз розмноження шкідників, виникає можливість викликати масову загибель комах в природних та аграрних біоценозах за допомогою вірусів.

Ентомопатогенні віруси при відповідних умовах довкілля здатні виконувати функцію «санітарів» шкідників лісу, полів. Їх відомо більше 250 ізолятів, які виділені від 175 видів членистоногих.

Разом з тим, природа наділила ці популяції здатністю утворювати в клітинах комах різного типу включення: ядерний поліедроз, цитоплазматичний поліедроз, гранульоз, райдужність. У членистоногих віруси спричиняють ядерний поліедроз, цитоплазматичний поліедроз та гранульоз, а інші віруси, як вважається, не утворюють тілець-включень у комах.

Найбільше включень вдається виділити у представників *Lepidiptera, Hymenoptera, Coleoptera*. Мабуть саме той факт, що поліедроз та гранульоз легко діагностуються, дав змогу дослідникам зафіксувати більше представників з тільцями-включеннями.

Враховуючи швидку репродукцію цих вірусів, вчені та практики розробили технологію напрацювання вірусних препаратів проти шкідників. Серед цих біопестицидів знайшли своє застосування препарати проти непарного шовкопряду, рижого соснового пильщика, капустяної совки, зернової совки та ін.

Як показують досліди, в умовах виробництва, наприклад, авіаобробка вогнищ масового розмноження рижого соснового пильщика вірусним препаратом, дає добрі та надійні результати. На території лісових насаджень така технологія викликала загибель псевдогусениць пильщика до 100%. Проте коло дії вірусного препарату на інші живі системи в умовах екологічної ніші вивчено ще недостатньо. Разом з тим, у світовій практиці нагромаджений

значний досвід застосування вірусів для біологічного контролю чисельності певних комах у природі.

На основі сучасних вірусологічних методів показано, що деякі ентомопатогенні віруси мають між собою один еволюційний ланцюг. Встановлена певна антигенна спорідненість між патогенами ядерного поліедрозу та гранульозу. На основі досліджень, проведених на цих вірусах та інших, було розраховано умови, які визначають процес адсорбції вірусу на поверхні клітини. Ця високоспецифічна взаємодія добре вивчена для бактеріофагів. Ентомопатогенні віруси є також надійною моделлю дослідження процесу адсорбції. Вірус ядерного поліедросу рижого соснового пильщика добре взаємодіє з епітеліальними клітинами середнього відділку кишечника. Проте вірус ядерного поліедрозу волнянки адсорбується на клітинах жирового тіла, гемолімфи, гіподерми та клітинах інших тканин.

Процес адсорбції вірусу на клітинній поверхні відбувається в тому випадку, коли спрацьовують її та вірусні рецептори. Хімічна природа клітинних рецепторів будується на ліпопротеїдних, ліпополісахаридних, мукопротеїдних структурах. На процес адсорбції вірусу впливають різні фактори: pH середовища, будова вірусу, фізіологічний стан клітини та ін. Особливо важливою умовою взаємодії вірусу з клітиною є комплементарність її структур. На рівні адсорбції вірусів з відповідною клітиною розрізняють кілька фаз: адсорбція, ензиматична взаємодія, елюція. Часто ці фази важко відмежувати. На різних вірусах, в тому числі ентомопатогенних, доведено, що перша фаза нестійка, вона часто може мати зворотній хід. Саме на цей процес суттєво впливають електростатичні взаємодії вірусних та клітинних рецепторів. Ензиматична взаємодія це стійкий процес. У деяких вірусів у цій фазі зміни можуть проходити тільки з окремими компонентами вірусу. Елюція вірусів відбувається з моменту розщеплення, наприклад, мукопротеїдів рецепторів еритроцитів з відщепленням нейрамінової кислоти нейрамінідазою.

Чутливість клітин комах до відповідного вірусу залежить від багатьох факторів. Одним із них є те, що клітина з рецепторами взаємодіє з «синхронними» рецепторами вірусу. В клітинній мембрані спрацьовують гідролітичні ферменти, які викликають депротинізацію оболонки вірусу, що відкриває шлях нуклеїновій кислоті патогену.

Важливою особливістю вірусів комах у природі є їх здатність на протязі багатьох генерацій знаходитись в латентному етані. При цьому інфікований хазяїн часто нормально виконує всі фізіологічні функції. Проте при зміні екологічних чинників та під впливом різних внутрішніх змін в організмі комахи може індукуватись репродукція вірусу, яка здатна викликати захворювання та повну загибель хазяїна.

В плані пояснення окремих позицій збереження вогнищ вірусних інфекцій є трансфазна та трансваріальна передача вірусів. Прикладом є вірус райдужності комара (*Aedes taeniorphynchus - iridovirus*).

Якщо розглянути передачу деяких ентомопатогенних вірусів, то їх вплив на організм хазяїна буває різним. При цьому значення має як стадія розвитку комахи, так і концентрація самого патогену.

Таким чином, віруси, які уражають різні види комах, надзвичайно поширені. Типовим представником цих вірусів може бути добре вивчений вірус ядерного поліедрозу тутового шовкопряду (*Bombix mori*). Поліедри тутового шовкопряду нагадують кристали. Внутрішня поверхня поліедру містить віріони, які локалізовані групами або зустрічаються поодиноко. Розмір таких вірусних часток складає 210-325×30-55 нм.

На відміну від ядерного поліедрозу, віруси, які також утворюють включення в цитоплазмі, мають сферичну форму (лускокрилих, двокрилих комах). Віріони, які знаходяться в поліедрах містять біля 10 окремих сегментів дволанцюгової РНК. Ці патогени за своїми властивостями нагадують реовіруси.

Гранульози характерині для лускокрилих. Їх включення формуються у вигляді зернистих структур розміром до 500 нм, віріони містять ДНК.

Важливо, що ентомопатогенні віруси мають велике значення для розробки нових біотехнологій в галузі сільського господарства, медицини.

### 4. Віруси, що уражають організми гідробіоценозів

Як і всі живі організми, популяції гідробіоценозів при відповідних умовах середовища здатні уражатись хворобами. Доведено, наприклад, що як фітопланктон, так і зоопланктон часто контаміновані вірусами. Навіть вода, лід і ґрунт Антарктиди містять певні віруси. Така ситуація може стати фактично головним потенційним гальмом для вживання водних організмів з метою харчування.

На сьогоднішній період розвитку цивілізації людина створила неймовірно важкі умови для виживання організмів різних гідросистем, пов’язані із захороненням радіоактивних елементів на дні морів, розливом нафтопродуктів, забрудненням води пестицидами, фекаліями. Всі ці та інші негативні явища сильно змінили стан та розвиток водних організмів.

Досліджено, що стресова ситуація для планктону може викликати ланцюгову реакцію змін у водній системі моря чи океану. До прикладу «хвороба Мінамата», яка розігралась в приморському місті Мінамата в Японії у 1953 р. В той час прямо на вулицях гинули собаки, кішки, а потім і люди. Чутливою до цієї хвороби була й морська птиця. У жителів цього міста розвивалась хвороба, яка викликала конвульсії, хворобу легень, тремор (вібрацію м’язів) та швидку смерть. Втручання в цю ситуацію вчених показало, що хвороба викликається ртутним отруєнням. Виявилося, що ртуть потрапляла в організм тварин, птиці та людей через рибу. При цьому вона пройшла всі морські харчові ланцюги. «Постачальником» цього забруднення, як виявилось, став металургійний завод. Йони ртуті надзвичайно швидко вступають в реакцію з органічними сполуками (кислотами), які утворюються внаслідок розкладу осадів анаеробними бактеріями. При цьому утворюється та нагромаджується у воді токсична речовина метилртуть, яка здатна «проходити» всі харчові ланцюги моря.

Можна навести й інші приклади, коли морська або річкова вода, в зв'язку з порушенням в екологічній ніші, здатна «квітнути», завдаючи значної шкоди оточуючому середовищу та організмам.

У свій час бездумне розпорядження по перекриттю Дніпра створило складну ситуацію на штучних морях. Низка водосховищ змінила турбулентність та ламінарність водної течії. Затоплення великої території родючих земель, луків викликало нову проблему – «квітнення» води. У 1998 році під час літнього періоду вода в притоках Дніпра у зв'язку з великим паводком затопила значні площі луків. Висока температура повітря прогріла воду до 30°С та викликала швидке гниття затопленої рослинності. При цьому рівень кисню у воді знизився майже до нуля (норма ~ 8 мг/л). Фактично, вся риба в цих місцях загинула. Великі маси риби, планктону, іншої живності розкладаються, що є ідеальним середовищем для розвитку збудників холери, дизентерії, лептоспірозу тощо. В цей час було відмічено значне ураження риби вірусами: краснухи, жаберного некрозу, неоплазми. Короп, судак, карась, щука, окунь були на 23% уражені патогенами вірусної природи, чіткі симптоми пухлин проглядались на тілі щуки. Велика територія поверхні води була покрита мертвою рибою, яка поступово осідала на дно річок, заплав, що набували зеленого кольору з неприємним смородом та гнітючим краєвидом.

Необхідно відмітити, що і на сьогоднішній день проблема «зеленого квітнення» води залишається не вирішеною. Вона ще більше додала клопоту рибництву, санітарно-епідеміологічній службі, дослідникам, які не залишають можливості боротися з цианобактеріями за допомогою вірусів (цианофагів). До цього потрібно доповнити, що ця проблема останнім часом ще більше ускладнилась забрудненням води радіоактивними елементами, синтетичними пластмасами, детергентами, хімічним забрудненням та ін.

Враховуючи всі ці та інші приклади стресових ситуацій водних систем, необхідно зупинитись на вірусних популяціях, які убіквітарні в різних процесах життя. Велика мінливість вірусів водних рослин, риб, бактерій під впливом факторів довкілля здатна породжувати нові варіанти вірусних патогенів, які можуть викликати хвороби та епідемії у людей та інших організмів. Таким чином, одним із важливих паразитів гідробіонтів є віруси, які здатні повністю знищити відповідну популяцію.

В умовах екологічної катастрофи включаються в ланцюг життя і віруси, які у відповідних умовах довкілля контамінують все живе у водній системі та прилеглих регіонах боліт, річок, озер. Швидка мінливість вірусів породжує їх нові форми, які дослідники виділяють з організмів риб, амфібій, ссавців, комарів, бактерій, рослин (табл. 3).

Потрібно підкреслити, що більшість вірусів гідробіонтів – це класичні модельні системи для дослідження циркуляції цих популяцій в певних екологічних нішах.

**Таблиця 3**

## Характеристика деяких вірусів гідробіонтів

| Вірус | Основний хазяїн | Морфологія та розміри (нм) | Тип |
|---|---|---|---|
| Бакуловірус | Більше 10-ти видів комарів (*Culex piplens, Aedes soelicitans*) | Паличкуваті, 200×60-80 | ДНК |
| Вірус жаберного некрозу | Короп | 200-220 | ДНК |
| Вірус лімфоцистозу LDV, $LDV_1$, $LDV_2$ | Уражує більше 100 видів риб: морська та річкова камбала, вухастий окунь, судак та ін. | Гексагональний, 198, 8-380 | ДНК |
| Ірідовірус FV-3, LT-1, LT-4, TEV та ін. | Різні види жаб (*Rana pipiens, Rana catesbeiana*) | Сферичні, 135 | ДНК |
| Онкорнавіруси риб | Пухлини у різних видів риб зустрічаються дуже часто, але ідентифіковані віруси були у щуки (лімфосаркома), судака (дермальна саркома), атлантичних оселедців (фібросаркома плавучого міхура) | Надзвичайно суперечні дані | РНК |
| Пікорнавірус | Мідії (*Mytilus edulis* та ін.) | Сферичні, 27 | РНК |

**5. Віруси грибів.**

Доведено, що їстівні та мікроскопічні гриби уражаються вірусами. Інфікування цими патогенами, наприклад, грибів роду *Penicillium*, *Aspergillus* викликає у них морфологічні та біохімічні зміни. Деякі віруси мікроскопічних грибів мають антивірусну активність по відношенню до певних захворювань ссавців. Віруси, виділені у грибів (*P. stoloniferum, P. funiculosum, P. chrysogenum, Asp. flavus, Asp. foetidus* та інші), в основному мають ізометричну форму та різні розміри. Застосовуючи сучасні методи виділення з послідуючою їх очисткою, вдається накопичувати патогени в певній кількості. Встановлена залежність концентрації вірусу *P. funiculosum* та ваги міцелію. Вивчено, що нуклеїнова кислота вірусу *P. funiculosum* РНК типу, молекулярна маса вірусу – $5{,}7 \times 10^6$ дальтон. Ці показники наближено відповідали аналогічним для вірусу *P. stoloniferum*, який має дводанцюгову РНК.

Судячи з результатів досліджень з рівновагового центрифугування, один із ізолятів вірусу (PSV-S) в градієнтах сахарози можна розділити на декілька компонентів (класів - E, M, L, H), які відрізняються між собою за фізико-хімічними показниками (коефіцієнтом седиментації, питомою щільністю, молекулярною масою РНК та самого вірусу).

У грибів *P. brevicompactum* виділено вірус PBV-1, який за своєю структурою має ікосаедричну голівку (~513 Å), відросток (1500x60 Å). Фаг має здатність інфікувати широкий діапазон мікроорганізмів, у тому числі *E. coli*. Виходячи з результатів вивчення цього вірусу, існує ряд його ізолятів, які частково

відрізняються за фізико-хімічними та біологічними показниками. Ця група вірусів має спадковий компонент – дволанцюгову ДНК.

Віруси при різних умовах середовища можуть різко знижувати продуктивність грибів як продуцентів фармацевтичних фракцій. На репродукцію більшості вірусів грибів активно впливає температурний режим, ультрафіолетове випромінювання, освітлення. Деякі віруси грибів та їх нуклеїнові кислоти мають інтерфероногенні властивості. Препарати їх можуть стимулювати у ссавців захисні функції проти вірусів герпесу, везикулярного стоматиту, поліомієліту та інших патогенів.

Доведено, що в умовах довкілля певні віруси рослин передаються грибами. Гриб *Olpidium* може бути вектором для вірусу некрозу тютюну, розростання жилок салату, некротичної мозаїки конюшини, карликовості тютюну. Є результати досліджень про передачу грибом *Polymyxa graminis* вірусу мозаїки пшениці ґрунтової, вірусу жовтої мозаїки ячменю, а гриб *Polimyxa batae* при надмірній вологості ґрунту є переносником вірусу некротичного пожовтіння цукрового буряку. Інші гриби, такі як *Synchitrium endobioticum* – передає Х-вірус картоплі, а *Pseudoperonospora humili* – збудник інфекційної стерильності хмелю. В регіонах Полісся України ця хвороба розповсюджена на 12-24% рослин.

**Віруси їстівних грибів**. Найбільш детально віруси їстівних грибів досліджені у печериць, які почали інтенсивно вирощуватись за спеціальними технологіями в штучних екосистемах.

У грибах виявлені вітаміни А, $B_1$ $B_2$, D, C, PP, чимало мінеральних речовин, макро- та мікроелементів – заліза, калію, фосфору, кальцію, натрію, міді, йоду, марганцю, 18 амінокислот. Крім цього, у печериці ідентифіковано ароматичні речовини, які надають їй приємного смаку та аромату. Гриби є джерелом антибіотиків та інших лікарських речовин. Зустрічаються повідомлення, в яких відмічається протипухлинна дія грибів. Ферменти, що містяться в грибах, використовуються в харчовій промисловості, медицині, сільському господарстві.

Доведено, що ефективність вирощування здорової печериці в штучних умовах може бути значно вища, ніж ефективність відомих сільськогосподарських культур. Сучасні спеціалізовані технології вирощування печериці повинні включати ряд факторів, які забезпечують прибуткове вирощування грибів: створення та підбір спеціальних середовищ, витримування температурного режиму, освітлення, pH, вологості та ін. Надзвичайно важливим в цьому виробництві є підбір високоурожайних штамів грибів, використання безвірусного міцелію, адже ураження посівного матеріалу та плодових тіл печериці вірусами може знижувати їх врожай в 1,5-3 рази. При цьому в науковій літературі відсутні дані про резерватори вірусних інфекцій, а також шляхи циркуляції патогенів в біоценозах та в штучних екосистемах.

В умовах України створено більше 70-ти малих фермерських підприємств, в яких вирощуються їстівні гриби. Аналіз штамів грибів роду *Agaricus* показав, що ці гриби можуть вражатись вірусами різної морфології. Особливо детально

було досліджено штам печериці *A. bisporus*. Застосовуючи методи діагностики та ідентифікації вірусів (візуальний, електронномікроскопічний, ІФА), вивчена локалізація патогенів в посівному матеріалі, плодових тілах грибів, фекаліях тварин. В природних регіонах України та під час культивування печериці в спеціалізованих господарствах як міцелій, так і плодові тіла уражуються від 1,6 до 65% паличкоподібним (150-295х18 нм), ізометричним (32 нм), бацилоподібним (52 х18 нм) вірусами.

Аналіз посівного матеріалу показує, що він часто буває латентним носієм вірусів. Порушення технології вирощування міцелію спричиняє його лізис, зміну стандартного кольору та продуктивності. Для визначення вірусних хвороб печериць розроблена система методичних підходів, які можна застосовувати в умовах виробництва. Таким чином, однією з головних умов попередження вірусних хвороб печериць є застосування безвірусного посівного матеріалу.

Для ліквідації вірусної інфекції та уникнення розповсюдження патогенів через спори грибів приміщення обробляють паром при температурі 70°С (10-15 годин), а дерев'яні конструкції – 3,5-4,4%-ним розчином пентахлорфеноляту натрію. Після висихання протягом 5–7 годин стелажі, підлогу промивають водою, а відпрацьований інфекційний компост якнайшвидше видаляють з території господарства. Попередженням появи інфекцій є також дезінфекція покривного шару землі та компосту 1,5-2%-ним розчином формаліну після нанесення їх на стелажі, а урожай слід збирати до розкриття плодових тіл, не залишаючи на грядках ґрунту фрагменти грибів. Весь інвентар, тара після закінчення певного виду роботи повинні дезинфікуватися 1,5–2%-ним розчином формаліну. Як захід боротьби з вірусними інфекціями проводять також знешкодження комах – потенційних переносників вірусів, дотримання санітарно-гігієнічних вимог до взуття, одягу.

Основним заходом боротьби із вірусними інфекціями печериці є вирощування плодових тіл високоврожайних та стійких до вірусів штамів грибів, а при відборі міцелію диких штамів грибів – аналіз на наявність вірусів.

При вирощуванні печериці можуть використовуватись і зовсім нестандартні методи в технології отримання плодових тіл із високою урожайністю. Сюди слід віднести локалізацію інфекції в ґрунті на стелажах та компості шляхом відмежування місць з хворими плодовими тілами за допомогою захисного рівчака з послідуючою його дезінфекцією, обробкою міцелію антивірусними препаратами та фізичними факторами (розробки біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка).

Інтенсивне вирощування їстівних грибів різних систематичних груп в спеціалізованих біотехнологічних центрах провокує появу вірусних хвороб і на інших видах цих організмів. Так, наприклад, їстівний гриб глива звичайна (*Pleurotus ostreatus (Fr) Kummer*), може уражуватись комплексом хвороб, які викликаються бактеріями, мікроскопічними грибами та ізометричним вірусом. Тому проблеми вірусних інфекцій у виробництві стосуються не тільки печериць.

**6. Фаги та їх взаємодія з бактеріальними клітинами.**

Віруси, які вражають бактерії називаються **бактеріофагами**. Ці віруси є паразитами прокаріотичних організмів. Властивості бактеріофагів часто чітко відбивають екологічні, біологічні та фізико-хімічні особливості бактерій-хазяїв. Взаємодія вірусів з бактеріями в культурі відбуваються в основному за відповідним циклом до рівноваги між вірусними компонентами та клітинами бактерій.

За морфологічними ознаками бактеріофаги відносяться до булавоподібних вірусів, які складаються з голівки довжиною 100 нм та відростку або "хвостика" такої ж довжини. Голівка утворена білковими компонентами, всередині якої розташована ДНК. Кількість білка та ДНК приблизно однакова. Фаги нерухомі. Ураження бактеріальної клітини фагами за механізмом подібне до ін'єкції. Геном фагів представлений ДНК або РНК, який оточений білковою оболонкою капсидом, структурні субодиниці якої укладені по типу спіральної або кубічної симетрії. Крупні фаги, які володіють хвостиком, побудовані по типу бінарної симетрії (головка − ікосаедр, хвостик − спіральна симетрія).

Фаги розрізняються за формою − нитковидні, сферичні; фаги, що мають голівку і хвостик; за розмірами дрібні, середнього розміру і крупні. Розміри фагів варіюють від 25 до 200 нм.

За морфологією розрізняють 5 типів вібріонів бактеріофагів: 1-й нитковидні (у своєму складі містять одноніткову ДНК), 2-й − головка з аналогом відростка (РНК вмісні і один бактеріофаг з однонитковою ДНК), 3-й − головка з коротким відростком, 4-й − головка з відростком, що не скорочується; 5-й − головка з відростком, що скорочується (3-5 типи, як правило, з двонитковою ДНК).

Існують фаги, як і інші віруси, в трьох формах − віріону (позаклітинна форма), вегетативній (розмноження у клітині), провірус (інтегрована з геном клітини хазяїна). У найбільш складно побудованих фагів є головка кубічної симетрії, з заключним у ній геномом, і відросток, в якому розрізняють порожній стрижень, чохол, що його оточує, якій складається з актиноподібного, здатного до скорочення спірального білка, і базальну пластинку з шипами і нитками (рецепторами), яка знаходиться на дистальному кінці стрижня і від якої залежить специфічна адсорбція на клітині-хазяїні.

Бактеріофаги розрізняють **інфекційні** (здатні викликати різні форми фагової інфекції) і **неінфекційні** (вегетативні) або незрілі фаги, які знаходяться в стадії розмноження. В свою чергу інфекційні фаги поділяються на ті, що знаходяться у стадії спокою (знаходяться поза клітиною), **вірулентні** (здатні викликати продуктивну форму інфекції), **помірні фаги** − здатні викликати не тільки продуктивну, а й редуктивну фагову інфекцію.

Життєвий цикл фага може проявлятись у формі **продуктивної** (фаг розмножується у клітині і виходить із неї), **редуктивної** (геном фага проникає у клітину, однак, розмноження фага не відбувається, його геном інтегрується в хромосому клітини-хазяїна, стає її складовою частиною, т.б. фаг перетворюється у профаг, а клітина стає лізогенною) та **абортивної інфекції**, при якій взаємодія фага з клітиною обривається на одній із стадій життєвого циклу і він гине. Клітина, яка є носієм профагу, називається **лізогенною,**

оскільки профаг, якій передається клітиною нащадкам, може вийти з хромосоми, активізуватись та викликати продуктивну форму інфекції. Якщо в результаті лізогенії, т.б. проникнення профага в хромосому клітини-хазяїна, вона отримує нові спадкові ознаки, таку форму мінливості називають **лізогенною конверсією** т.б. мінливістю, яка обумовлена лізогенією. Лізогенну конверсію викликають тільки помірні фаги.

Доведено, що такі бактеріофаги як λ, ф 80 (ікосаедри, головка – 540 Å, відросток – 100х1400 Å; ДНК - мол.маса 3,3-$10^7$; латентний період 35 хв.), Р1 (ікосаедр, головка 650 Å, відросток 120х1500 Å, ДНК – мол. маса 6-$10^7$; латентний період 45 хв.), Р2 (ікосаедр, головка 500 Å, відросток 100х1500 Å; ДНК – 2,2-$10^7$; латентний період 30 хв.) здатні до лізогенії. При певних умовах ДНК фагу вмонтовується в ДНК бактерії, подвоюється з нею при діленні бактерії, а після цього набуває імунні властивості до послідуючого інфікування ідентичними фагами (лізогенна конверсія).

Життєвий цикл фага, який супроводжується продуктивною інфекцією, складається з 6 послідовних стадій:

**1. Адсорбція фагів** на клітинній поверхні бактерій за допомогою специфічних рецепторів (білків-лоцманів), які розташовані на кінці нитки, шипа або хвостика. В свою чергу на клітинній стінці бактерій розташовуються її фагоспецифічні рецептори, які розпізнаються фагом. Адсорбція фага − пусковий механізм його життєвого цикла. Цей процес є специфічним, тому обумовлює можливість практичного застосування фагів, наприклад для ідентифікації бактерій, а також лікувальних та профілактичних цілей.

**2. Проникнення фагового геному** через клітинну стінку і цитоплазматичну мембрану у середину клітини і вивільнення його від оболонки (роздягання фага).

**3. Встановлення фагового геному** за допомогою білка-лоцмана для реалізації інформації, що міститься у геномі:

а) однониткова ДНК − до реплікативного апарату для синтезу комплементарної їй нитки і утворення реплікативної форми; далі її поведінка аналогічна двонитковій ДНК.

б) двониткова ДНК − до транскрипційного апарату для синтезу мРНК і наступною трансляцією вірусспецифічних білків (ферментів і структурних).

в) РНК-геном − до трансляційного апарату для синтезу вірус специфічних білків (ферментів реплікації і структурних).

**4. Реплікація фагової геномної ДНК або РНК.**

**5. Зборка синтезованих вібріонів** − включення геномної НК у білкову оболонку, морфогненез фагів.

**6. Вихід синтезованих фагів із клітини:**

а) шляхом відбруньковування (без загибелі бактеріальної клітини);

б) шляхом лізису клітини із середини.

По спектру своєї дії на бактерії фаги поділяють на **полівалентні** (лізують споріднені бактерії, наприклад полівалентний сальмонельозний бактеріофаг лізує майже всі сальмонели), **монофаги** (лізують бактерії тільки одного виду)

та **типоспецифічні фаги**, які вибірково лізують окремі варіанти бактерій у середині виду.

Практичне використання фагів:

1. Ідентифікація бактерій шляхом постановки проби фаголізису.
2. Фаготипування з метою визначення джерела інфекції.
3. Визначення присутності в патологічному матеріалі або об'єктах зовнішнього середовища бактерій по наявності відповідних бактеріофагів, що свідчить про контамінацію цих об'єктів.
1. Для лікування інфекцій (дизентерійний, стафілококовий, колі-протейний, полівалентний клебсієльозний).
2. Для профілактики інфекцій.
3. Для вивчення генетики мікроорганізмів.
4. Бактеріофаги − стимулятори Т-клітинної ланки імунітету.

Здатність фагів викликати лізис у бактерій вивчено для багатьох представників, які належать до різних таксономічних родин: *Pseudomonas, Erwinia, Rhizobium, Streptococcus, Corynebacterium.*

Необхідно відмітити, що в одну і ту ж клітину бактерії може проникнути декілька вірусних часток. Проте таке інфікування не діє на латентний період та вихід фагу, а відповідні фактори середовища впливають так, що адсорбція однієї частки вірусу може навіть викликати загибель бактеріальної клітини.

Властивості подібні вищезгаданим, мають, наприклад, цианофаги, які контамінують водорості в екологічних нішах води. Цианобактерії – прокаріоти, як і вищі рослини, формують систему фотосинтетичного апарату, добре пристосовуються до відповідних умов водного середовища та часто домінують серед гідробіонтів, що викликає «квітнення» води, яке часто завдає значних збитків різним галузям виробництва. З багатьох вірусів цианобактерій добре вивчено групу вірусів LPP – фаги ниткуватих цианобактерій. Ці віруси мають дволанцюгову ДНК, складаються з голівки та короткого або довгого хвостових відростків.

Оскільки фаги мають специфічну літичну дію на мікроорганізми, їх можна використовувати для **фагоіндикації** – визначення виду відповідних бактерій в інфекційному матеріалі та об'єктах зовнішнього середовища.

### *Контрольні питання*

1. Охарактеризуйте типи вірусних інфекцій: альтернативну, латентну, онкогенну та повільну.
2. Охарактеризуйте основні властивості фіто вірусів.
3. Перерахуйте основні типи реакцій рослин на ураження їх вірусом:
4. Що таке рослина-індикатор?
5. Які є способи передачі вірусних інфекцій у рослин?
6. Як фізичні фактори довкілля впливають на фітовіруси?
7. Яке практичне застосування ентомопатогенних вірусів?
8. Які типи бактеріофагів виділяють за морфологічною будовою?
9. Яке практичне застосування фагів?
10. Охарактеризуйте життєвий цикл фагів.

## *Література*

1. Бойко А.Л. Основи екології та біофізики вірусів. – К.: Фітосоціоцентр, 2003. – 164 с.
2. Бойко А.Л. Экология вирусов растений. – К.: Выща школа, 1990. – 165 с.
3. Виноградова Р.П., Бердишев Г.Д., Верьовка С.В. Біохімія та генетика білків пріонів, збудників губкоподібних енцефалопатій. – К.: Фітосоціоцентр, 2000. – 56 с.
4. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. − М: Мир, 1978. − 429 с.
5. Жданов В.М. Эволюция вирусов. – М.: Медицина, 1990. – 223.
6. Кордюм В.А. О концепции «вирусы» и их место в биосфере // Биополимеры и клетка. – 2000. – Т.16, « 2. – С. 87-98.
7. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для мед. Вузов. – 2-е изд., испр. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 591 с.
8. Медицинская микробиология / под ред. В.И. Покровского, О.К. Поздеева. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – 1183с.
9. Поліщук В.П., Будзанівська І.Г., Рижук С.М., Патика В.П., Бойко А.Л. Моніторинг вірусних інфекцій рослин в біоценозах України. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 220 с.

# РОЗДІЛ ІІ
# МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКОЛОГІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ

## Лабораторна робота № 1

**Тема: Вивчення антагонізму у мікробів**

**Мета: ознайомити студентів з методикою дослідження антагоністичної активності мікроорганізмів.**

*Завдання:*
*1. Дослідити антагоністичну активність аеробних спороутворюючих бактерій роду Bacillus стосовно штамів E. coli та St. aureus методом перпендикулярних та радіальних штрихів.*
*2. Ознайомитись з методом агарових блоків для визначення явища мікробного антагонізму.*

*Матеріальне забезпечення: бактеріологічні чашки з середовищем Гаузе № 2, мікроб-антагоніст (бактерії роду Bacillus), тест-культури (E. coli та St. aureus), пробірки з стерильним фізіологічним розчином, бактеріологічні петлі, спиртівка, мікроскоп, предметні та покривні скельця.*

### 1. Вивчення антагоністичної активності бактерій методом перпендикулярних і радіальних штрихів та методом агарових блоків

Найбільш поширеним методом виявлення антагоністичної активності на щільному поживному середовищі є **метод перпендикулярних штрихів**. Згідно цього методу поживне середовище розливають у чашки Петрі по 15-20 мл. На поверхню застиглого агару смугою засівають чисту культуру досліджуваного на антагоністичну активність штаму. Засіяні чашки поміщають в термостат при 37 º С (середовище і умови вирощування можуть змінюватись в залежності від властивостей досліджуваних мікробів) і культивують 48 годин, після чого виконують підсів тест-мікробів перпендикулярно до смуги антагоніста. Для цього попередньо у фізіологічному розчині готують змив тест-бактерій згідно оптичного стандарту каламутності (500 млн. мікр.кл./1мл). Перпендикулярні смуги не мають стикатись з широкою смугою антагоніста, вони мають відступати від них на 1-2 мм. Чашки знову поміщають в термостат на добу, після чого проводиться облік результатів. Ріст чутливого мікроба відсувається від смужки антагоніста. Затримки росту тест-культур вимірюють в мм. Величина зон затримки росту може бути різною і досягати при виразній антагоністичній дії до 20 мм і більше. Крім того, дослідження антагоністичної активності бактерій стосовно тест-мікробів проводять **методом радіальних штрихів**, при якому чисту культуру мікроорганізму, який досліджується на антагоністичну активність, засівають у центр чашки Петрі і вирощують при 37 $^{o}$С протягом 48 годин. Підсів тест-мікробів виконують радіально до центру чашки (рис. 1).

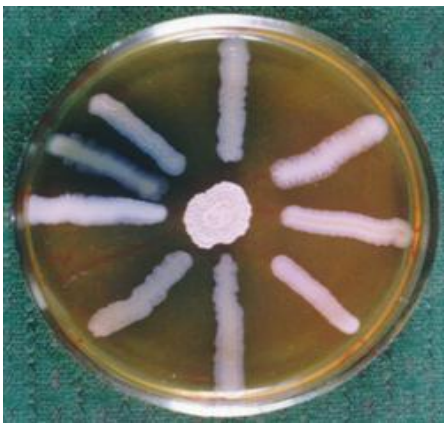

**Рис. 1 Визначення антагоністичної активності бактерій методом радіальних штрихів**

**Метод агарових блоків**. Досліджуваний мікроорганізм засівають “газоном” на поверхню агарової пластинки чашки Петрі. Після культивування вирізають агарові блоки діаметром 8 мм, які переносять на поверхню іншої агарової пластинки, попередньо засіяної одним тест-мікроорганізмом. На одну чашку Петрі можна розмістити 5-7 таких блоків. Чашки з блоками поміщають в термостат на 20-24 години. Якщо антибіотик, який синтезується та виділяється мікроорганізмом, пригнічує розвиток тест-мікроба, то навколо агарового блока утворюється зона відсутності росту.

**Оформлення результатів:**

Результати досліджень для кожного штаму-антагоністу оформити у вигляді таблиці:

| **Мікроб - антагоніст** | |
|---|---|
| **Тест-культура** | **Зона затримки росту тест-культури, мм** |
| | |

***Завдання для самоконтролю***

1. Визначте, який тип симбіозу наведений у прикладі.

Клітковина розкладається спеціалізованими групами мікроорганізмів − грибами, актиноміцетами, бактеріями *Cellulomonas, Cellvibrio*. В процесі засвоєння целюлози цими мікроорганізмами вона перетворюється в целобіозу. Інші види мікроорганізмів викликають подальший гідроліз целобіози з утворенням глюкози, яка є універсальним джерелом енергії і використовується більшістю мікроорганізмів.

2. Які методи застосовують для визначення антагоністичної активності бактерій?

3. Як провести вивчення анатагоністичної активності бактерій методом перпендикулярних шрихів?

## Лабораторна робота № 2

**Тема: Антибіотики. Методи вивчення чутливості бактерій до антибіотиків**

**Мета: ознайомити студентів з методами дослідження антибіотикочутливості бактерій.**

*Завдання:*
*1. Дослідити чутливість бактерій до антибіотиків диско-дифузійним методом.*
*2. Дослідити чутливість бактерій до антибіотиків методом серійних розведень та визначити мінімальну пригнічуючу концентрацію антибіотика стосовно досліджуваної бактеріальної культури.*

*Матеріальне забезпечення: спиртівка, чашки Петрі з поживним середовищем АГВ, стерильні ватні тампони, диски з антибіотиками, 10 пробірок з 2 мл стерильного МПБ, антибіотик відомої концентрації, суспензія бактеріальної культури.*

### 1. Диско-дифузійний метод визначення антибіотикочутливості

Чутливість мікроорганізмів до антибіотиків слід визначати тільки у чистій культурі. Однак у ряді випадків для швидкого одержання орієнтовних даних про антибіотикограму бактерій використовують безпосередньо патологічний матеріал. Щільні субстрати (харкотиння, гній, кал та ін.) розтирають, рідини (сеча, ексудати та ін.) центрифугують, а для посіву використовують осад. Досліджуваний матеріал наносять на поверхню поживного середовища петлею або ватним тампоном. Після одержання чистої культури дослідження повторюють. Для виготовлення інокулюму 5-10 однорідних колоній суспендують у 2 мл рідкого середовища або фізіологічного розчину. Бактеріальну суспензію ($10^3$-$10^5$ КУО/мл залежно від виду мікробів) в об'ємі 1 мл рівномірно розподіляють по поверхні середовища при похитуванні чашки, надлишок рідини видаляють піпеткою. Чашки підсушують при кімнатній температурі протягом 20-30 хв., а потім на однаковій відстані кладуть диски з антибіотиками (не більше 6) (рис. 2).

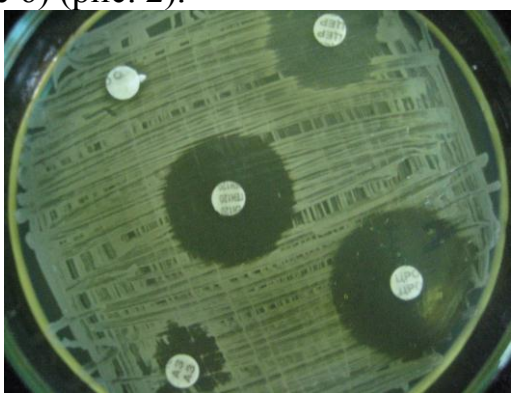

**Рис. 2**
**Визначення чутливості бактерій**
**до антибіотиків диско-дифузійним методом**

Рівномірність газону, яка визначається величиною посівної дози, − найголовніший фактор одержання достовірних результатів і підлягає кількісній оцінці та якісній стандартизації. Результати враховують через 24 та 48 годин. Для контролю стандартності проведення досліджень у кожному досліді використовують тест-культури з відомою чутливістю до антибіотиків.

Оцінку результатів проводять за таблицею "Граничні значення діаметрів зон затримки росту і значення МПК антибіотиків для інтерпретації результатів" (див. таблиця 1 додатку), яка містить граничні значення діаметрів росту для резистентних, помірно-резистентних та чутливих штамів, а також значення пригнічуючої (інгібуючої) концентрації (МПК, МІК) антибіотиків для стійких і чутливих штамів.

За своїм ступенем чутливості до антибіотиків мікроорганізми поділяються на три групи:

1 група − чутливі до антибіотиків (збудники знищуються в організмі при використанні звичайних терапевтичних доз препаратів), зона затримки росту 20 мм і більше;

2 група − помірно-резистентні (для них лікувальний ефект може бути досягнутий при використанні максимальних терапевтичних доз препаратів), зона затримки росту 15-10 мм;

3 група − резистентні (бактерицидних концентрацій препаратів в організмі створити не можливо, тому що вони будуть токсичними), зона затримки росту до 15 мм.

## 2. Вивчення антибіотикочутливості бактерій методом серійних розведень

Показаннями для визначення антибіотикочутливості за методом серійних розведень є необхідність одержання кількісних даних (переважно при тяжкому перебігу інфекційних процесів) для проведення регульованої антибіотикотерапії.

Встановлення ступеня чутливості мікробів до антибактеріальних препаратів впливає на вибір антибіотика (наприклад, відмова від ліків з високою токсичністю при помірному ступені чутливості збудника до них), його дозування (концентрація антибіотика в крові повинна в 2-3 рази перевищувати його мінімальну пригнічуючу концентрацію по відношенню до збудника) і режим введення. Крім того, її кількісне визначення необхідне також для встановлення бактерицидної дії обраного препарату (як гарантії швидкого терапевтичного ефекту та безрецидивного перебігу) по відношенню до даного збудника.

Для визначення антибіотикочутливості за методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі готують пробірки (8-10 і більше) з двократними послідовними розведеннями препарату (табл. 4). Середовище попередньо розливають у пробірки по 2 мл. У першу додають 2 мл розчину антибіотика певної концентрації, перемішують і переносять до наступної пробірки, продовжуючи розведення до передостанньої, з якої видаляють 2 мл суміші. Остання пробірка служить контролем росту культури. У тому ж

бульйоні, який використовують для розведення антибіотиків, готують суспензію добової агарової або бульйонної культури бактерій з розрахунку $10^5$-$10^6$ мікробних тіл в 1 мл залежно від виду збудника. Потім до кожної пробірки з розведеннями, а також до контрольної додають по 0,2 мл виготовленої суспензії. При визначенні чутливості до пеніцилінів пеніциліназоутворюючих стафілококів рекомендують використовувати одночасно велике й мале мікробне навантаження (100, 100000 та вище мікробних тіл в 1 мл). Залежно від посівної дози значення МПК препарату може коливатись: при збільшенні дози чутливість знижується за рахунок зростання кількості пеніциліназ, що утворюється в середовищі.

**Таблиця 4**

**Схема визначення антибіотикочутливості методом серійних розведень**

| **Компоненти, мл** | **Пробірки** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | **Контроль** | |
| | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **бактерій** | **анти-біотика** |
| **МПБ** | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| **Пеніцилін, 100 ОД/мл** | 2,0 | → | → | → | → | → | → | ↑ | - | 2,0 |
| **Концентрація антибіотика, ОД/мл** | 50 | 25 | 12,5 | 6,3 | 3,2 | 1,6 | 0,8 | 0,4 | - | 50 |
| **Суспензія бактерій, $10^5$/мл** | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | - |
| **Інкубація в термостаті при 37 °С 18-24 год.** | | | | | | | | | | |
| **Результат** | | | | | | | | | | |

Пробірки інкубують у термостаті при 37 °С протягом 18-24 год. Результати враховують, визначаючи наявність або відсутність росту в середовищі з різними розведеннями препарату. Остання пробірка, в якій спостерігають затримку росту культури (прозорий бульйон), відповідає МПК (мінімальній пригнічуючій концентрації) або МБсК (мінімальній бактеріостатичній концентрації) препарату відносно даного мікроба і вказує на ступінь його чутливості. Якщо ознаки росту з'являються в усіх пробірках, досліджуваний штам резистентний до максимальної концентрації препарату, яку було взято у дослід. Відсутність росту бактерій в усіх пробірках, крім контрольної, свідчить, що МПК препарату нижча, ніж та, що використовується в досліді.

Для визначення бактерицидного ефекту антибіотика з декількох останніх пробірок, в яких немає ознак росту, роблять висів на сектори агару в чашках Петрі. Через 24-48 год. інкубації при оптимальній температурі відмічають ту

найменшу концентрацію препарату в пробірці, посів з якої не дав росту, її вважають мінімальною бактерицидною концентрацією (МБцК).

**Оформлення результатів:**

Отримані результати оформити у вигляді таблиці для кожної досліджуваної культури:

| **Анти-біотик** | **Код диску** | **Діаметри зон для середовища АГВ, мм** | **Висновок про ступінь чутливості** | **МПК, мкг/мл** |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

***Завдання для самоконтролю***

1. Яким вимогам повинні відповідати поживні середовища для визначення антибіотикочутливості?
2. З якою метою проводиться оцінка антибіотикочутливості мікроорганізмів?
3. Які переваги методу серійних розведень над визначенням антибіотикочутливості диско-дифузійним методом?

## Лабораторна робота № 3

**Тема: Мікробіологічний аналіз повітря**

**Мета: ознайомити студентів з методикою мікробіологічного аналізу повітря.**

*Завдання:*
*1. Визначити якісний та кількісний склад мікрофлори повітря у різних приміщеннях методом осідання (седиментації) мікробів за Кохом та дати санітарну оцінку повітря.*
*2. Ознайомитись з методикою визначення мікробіологічного аналізу повітря за допомогою апарату Кротова.*

*Матеріальне забезпечення: бактеріологічні чашки з МПА, спиртівка, мікроскоп, предметні та покривні скельця.*

### 1. Мікробіологічний аналіз повітря методом седиментації мікробів за Кохом

В основу метода осідання мікробів за Кохом покладено положення, що за 5 хв. на горизонтальну поверхню в 100 $см^2$ при нерухомому повітрі осідають усі мікроорганізми, що містяться в 10 л повітря (а в 1 $м^3$ − їх буде в 100 разів більше).

Бактеріологічні чашки із стерильним поживним середовищем (МПА) або спеціальним агаром для гемолітичних стрептококів (середовище Гарро) чи жовтково-сольовим агаром (ЖСА) для золотистих стафілококів відкривають на 5-10 хв. (іноді необхідно тримати їх відкритими довше − це залежить від чистоти повітря). Потім чашки закривають і ставлять у термостат при температурі 37 °С на 24-48 години. Підраховують колонії на чашках в кожній повторності і вираховують середнє арифметичне. Заміряють діаметр чашки (нижньої частини − із середовищем) і обчислюють її площу. На основі цих даних вираховують кількість мікроорганізмів в 1 $м^3$ повітря і дають санітарну оцінку повітря, виходячи з таких даних: в 1 $м^3$ чистого повітря закритих приміщень улітку міститься 1500 клітин, узимку − 4500; у сумнівному − відповідно до 2500 і до 7000; брудному − понад 2500 і 7000. Для визначення якісного складу мікроорганізмів колонії на чашках групують за культуральними ознаками, а потім вивчають представників кожної групи окремо, працюючи з чистими культурами. При можливості визначають рід і вид.

### 2. Мікробіологічний аналіз повітря за допомогою апарату Кротова

Для отримання більш точних результатів користуються приладом Кротова (рис. 3). Він складається з пристосування для відбору проб, мікроманометра та електроприводу. В кришці пристосування для відбору є радіально розташована щілина, через яку надходить повітря. Вентилятор, що робить до 5000 об./хв.,

затягує повітря, яке стикається з поверхнею поживного середовища бактеріологічної чашки, встановленої зразу ж під кришкою із щілиною. Мікроорганізми залишаються на середовищі чашки, яка теж обертається повітряним потоком із швидкістю 60 об./ хв. Далі повітря виходить через два штуцери. Один з них з'єднаний із навколишнім середовищем, а другий − гумовою трубкою з мікроманометром. Рухом повітря стовпчик газу, забарвлений барвником стандарту, піднімається по капіляру мікроманометра, на якому нанесені поділки від 0 до 50. Вони означають кількість літрів повітря, здатного пройти при певному режимі через щілину кришки повітряного забірника. Загальний об'єм взятого повітря визначають, помноживши показання на шкалі мікроманометра на кількість хвилин роботи апарата Кротова. Кількість колоній, які виросли на бактеріологічних чашках, ділять на кількість літрів повітря, що пройшло через апарат, і множать на тисячу. Отриманий результат − загальна кількість мікроорганізмів в 1 м$^3$ повітря.

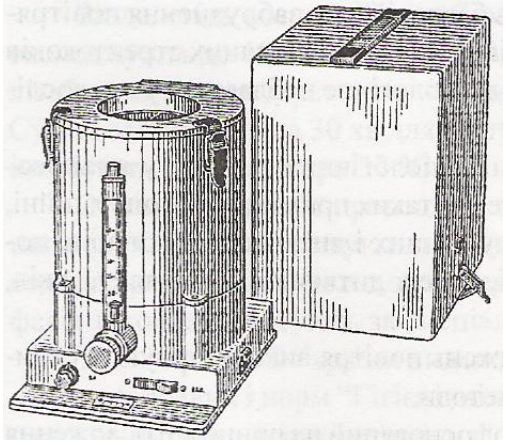

**Рис. 3 Апарат Кротова**

**Оформлення результатів:**

Оформити результати досліджень у вигляді таблиці:

| № п/п | ЗМЧ | Санітарний стан повітря |
|---|---|---|
| | | |

***Завдання для самоконтролю***

1. При проведенні аналізу мікрофлори повітря методом Коха, на чашці Петрі виросло 30 КУО. Дайте оцінку санітарного стану повітря.
2. Які переваги визначення мікрофлори повітря за допомогою апарату Кротова над медодом седементації.
3. Скільки мікроорганізмів міститься в 1 м$^3$ сумнівного повітря?

## Лабораторна робота № 4

## Тема: Мікробіологічний аналіз води

**Мета: ознайомити студентів з методами дослідження мікробіологічних показників води.**

*Завдання:*
*1. Визначити загальне мікробне число у водопровідній воді.*
*2. Визначити колі-титр та колі-індекс води.*

*Матеріальне забезпечення.*
*1. Визначення загального мікробного числа у воді:*
*2 стерильні колби з пробками, стерильні піпетки, 4 пробірки з 9 мл стерильної води, 8 стерильних бактеріологічних чашок Петрі, розплавлений і охолоджений МПА;*
*2. Визначення колі-титру та колі-індексу у воді:*
*3 флакони з 10 см$^3$ концентрованого лактозо-пептонного середовища, 3 пробірки з 1 см$^3$ концентрованого лактозо-пептонного середовища, 3 пробірки з 10 см$^3$ лактозо-пептонного середовища нормальної концентрації, скляні поплавки.*

**Загальні правила відбору проб води**

З відкритих водойм проби води для аналізу беруть за допомогою спеціальних приладів − батометрів, які опускають на певну глибину, де прилад відкривається і в нього набирається вода, яку й доставляють на поверхню. При взятті проб необхідно виконувати певні правила.

1. Якщо є джерело забруднення, то з такої водойми беруть три проби води: вище джерела забруднення, навпроти нього і нижче за течією.

2. Проби води з колодязів беруть 2 рази: вранці до розбору води і увечері після розбору.

3. З ставків, озер та річок проби води беруть з глибини 0,5 − 1 м і на відстані 1 − 2 м від берега.

Проби води беруть у добре вимиті сухі скляні бутилі з притертими пробками. Для мікробіологічного аналізу необхідно 2 л води. До кожної проби прикладають супроводжувальну відомість, в якій відзначають: назву джерела і його місцезнаходження; рік, місяць і число взяття проби; точне місце взяття проби; температуру повітря, дані про опади у день взяття проби і за останні 10 днів; температуру води; коротке описання водойми; для якої мети направляється. В лабораторію проби доставляють негайно.Визначають вміст у 1 мл води мезофільних аеробів та факультативних анаеробів. З кожної проби роблять посів двох об’ємів, так щоб число колоній, що виростуть, коливалось в межах 30 – 300. При аналізі водопровідної води в кожну із двох чашок вносять по 1 мл забрудненої води − 0,01 і 0,001 мл. При визначенні мікробного числа сильно забруднених і стічних вод, досліджувані взірці розводять стерильною водою, виготовляючи серійні розведення.

**1. Мікробіологічний аналіз водопровідної води**

Відкривають кран на 10 хв., закривають і обпалюють його спиртівкою. У стерильну колбу набирають воду. Заздалегідь готують пробірки з 9 мл стерильної води, стерильні чашки Петрі і піпетки.

З відібраної проби стерильною піпеткою набирають 2 мл води: 1 мл вносять в стерильну бактеріологічну чашку, а 1 мл у пробірку з 9 мл стерильної води. У пробірці буде перше розведення (1:10). Іншою стерильною піпеткою перемішують вміст першої пробірки і відбирають 1 мл розведення, переносячи в другу пробірку з 9 мл стерильної води (друге розведення 1:100) і 1 мл − в другу бактеріологічну чашку. Так само роблять і наступні розведення. Після цього в кожну чашку наливають по 10 − 12 мл стерильного розплавленого і охолодженого до 45 °С МПА. Чашки швидко закривають і обертальними рухами перемішують МПА з водою. На кришці чашки роблять відповідну позначку. Для кожного розведення роблять 2 повторності. Після застигання МПА чашки перевертають догори дном і ставлять у термостат при температурі 35 − 37 °С на три доби. Підраховують кількість колоній у кожній чашці, обраховують середнє арифметичне та, враховуючи розведення, обчислюють загальну кількість мікроорганізмів у 1 мл. Для підрахунку краще брати те розведення, посів якого дає 100 − 200 колоній. Якість води оцінюють за такими критеріями: кількість мікробів в 1 мл: мікробіологічно чиста вода − до 100; сумнівна − 100 − 500; погана − понад 500 (табл. 5).

Згідно з ГОСТ 2874-54 на питну воду загальна кількість мікробів в 1 мл при посіві нерозведеної води й інкубації її протягом 24 год. при температурі 37 °С повинна становити не більше 100. ЗМЧ відкритих водойм і криничної води не повинно перевищувати 1000. При санітарній оцінці води, яку виконують санітарно-епідеміологічні станції, загально прийнятими є такі показники як колі-титр і колі-індекс.

**Таблиця 5**

**Мікробіологічні показники безпеки питної води**

| № | Найменування показників | Одиниці Виміру | Нормативи |
|---|---|---|---|
| **1** | Число бактерій в 1 $см^3$ води (ЗМЧ) | КУО/1 $см^3$ | не більше 100 |
| **2** | Число бактерій групи кишкових паличок в 100 $см^3$ води (індекс ФК) | КУО/1 $дм^3$ | не більше 3 |
| **3** | Число термостабільних кишкових паличок в 100 $см^3$ води (індекс ФК) | КУО/1 $см^3$ | відсутність |
| **4** | Число патогенних мікроорганізмів у 1 $дм^3$ води | КУО/1 $дм^3$ | відсутність |
| **5** | Число коліфагів у 1 $дм^3$ води | КУО/1 $дм^3$ | відсутність |

**2. Визначення бактерій групи кишкової палички у воді**

До бактерій групи кишкової палички відносяться грамнегативні, безспорові, оксидазонегативні палички, що зброджують лактозу з утворенням кислоти і

газу при температурі 37°С протягом 1-2 доби. До категорії БГКП належать бактерії родини *Enterobacteriaceae*, що об'єднує роди *Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella*. Вони виділяються у навколишнє середовище з випорожненнями людей та теплокровних і є кількісним показником ступеня фекального забруднення води. Найбільш поширеним на сьогодні є бродильний (титраційний) метод. Цим методом визначають розмноження бактерій групи кишкової палички при посівах різних об'ємів досліджуваної рідини. В якості середовища накопичення використовують лактозо-пептонне середовище з індикатором та бродильними трубками.

В залежності від джерела води досліджують:

− на етапах очищення та знезараження засівають 100; 10; 1 та 0,1 $см^3$ води;

− у водопровідній воді − три об'єми по 100 $см^3$, три об'єми по 10 $см^3$ та три об'єми по 1 $см^3$.

Вказані об'єми вносять у флакони й пробірки з лактозо-пептонним середовищем із поплавками. Посіви 100 і 10 $см^3$ води проводять у флакони й пробірки відповідно з 10 і 1,0 $см^3$ концентрованого середовища (на 1000 $см^3$ дистильованої води 100 г пептону, 50 г глюкози, 50 г хлориду натрію, 100 $см^3$ індикатора Андреде). Проби по 1,0 $см^3$ води сіють у пробірки, що містять 10 $см^3$ середовища нормальної концентрації (на 1000 $см^3$ дистильованої води 10 г пептону, 5 г глюкози, 5 г хлориду натрію, 10 $см^3$ індикатора Андреде). Посіви інкубують 24 год. при 37 °С. Відсутність змін у посівах дозволяють на цьому етапі закінчити дослідження і дати негативний результат. При наявності помутніння, кислоти і газу із такого флакона здійснюють посів на чашки Петрі з середовищем Ендо. Наявність на середовищі Ендо червоних колоній з металічним блиском, у мазках − паличковидних грамнегативних бактерій, тест на оксидазу негативний вказує на наявність у взірцях бактерій групи кишкової палички. Результати досліджень виражають у вигляді колі-індекса (кількості бактерій кишкової палички у 1 л води) та колі титру згідно таблиці «Визначення індексу БГКП при посіві 333 $см^3$ води» (див. таблиця 2 додатку).

**Оформлення результатів:**

Результати досліджень оформити у вигляді таблиці:

| № проби води | ЗМЧ | Колі-титр | Колі-індекс |
|---|---|---|---|
| | | | |

### *Завдання для самоконтролю*

1. Що таке колі-титр та колі-індекс?
2. При посіві проби води виявилось, що загальне мікробне число становить 450 КУО. Дайте оцінку санітарної якості води.
3. Які етапи визначення бактерій групи кишкової палички у воді?

## Лабораторна робота № 5

**Тема: Мікробіологічний аналіз ґрунту**

**Мета: ознайомити студентів з методикою мікробіологічного аналізу ґрунту.**

*Завдання:*
*1. Визначити кількісний та якісний склад мікрофлори ґрунту.*
*2. Виділити із ґрунту асоціації мікроорганізмів, що фіксують атмосферний азот.*

*Матеріальне забезпечення: чашки Петрі з поживними середовищами МПА, Чапека, Ешбі; 6 пробірок з стерильною водою по 9 мл, шпатель, піпетки, спиртівка, стерильний пергаментний папір, вага, мікроскоп, предметні та покривні скельця.*

### 1. Мікробіологічний аналіз ґрунту

Відбір проб ґрунту проводиться у 4-5 точках вибраної ділянки на глибині 10-15 см. При цьому кожна точка являє собою центр території в 1 $м^2$. Лопатою викопують ямки, розміром 0,3 м×0,3 м, глибиною 0,2 м. Над однією з бокових стінок ямки за допомогою пропаленого на вогні ножа зрізають верхній шар ґрунту. В стерильну банку або стерильні пергаментні пакети беруть 200-300 г із кожної точки, змішують, відбирають наважку в 30 г і вносять у колбу, що містить 300 $см^3$ стерильної води, суміш збовтують протягом 10 хв., відстоюють для осідання грубих частинок. При необхідності відбору проб з глибших шарів використовують бур Некрасова, який дає змогу відібрати ґрунт на заданій глибині. Із отриманої суспензії готують десятикратні серійні розведення від $10^{-1}$ до $10^{-7}$. Кількість розведень залежить від типу ґрунту: для багатих гумусом ґрунтів потрібно 6-7 розведень, для бідних − 3-4.

Зразу ж в алюмінієвий бюкс зважують (нестерильно) 10 − 15 г ґрунту для визначення вологості, оскільки одержані при аналізі кількісні дані перераховують на 1 г абсолютно сухого ґрунту.

Для визначення загального мікробного числа з різних ґрунтових розведень проводять посів на середовища МПА (у двох повторностях). Посіви інкубують протягом 48 годин при температурі 28-30 ºС.

Після інкубації виймають з термостату чашки Петрі з посівами і підраховують кількість колоній, що виросли на двох чашках одного розведення, обраховують середнє арифметичне та, враховуючи розведення, перераховують на 1 г волого ґрунту. Для перерахунку на 1г абсолютно сухого ґрунту результат потрібно помножити на коефіцієнт його зволоженості, який вираховують за формулою:

$К = \frac{100 + W}{100}$, де W − вологість ґрунту, %

Для якісного аналізу колонії насамперед групують за культуральними ознаками.

На щільні поживні середовища проводять, як правило, поверхневий посів. Для цього їх у гарячому вигляді розливають у стерильні бактеріологічні чашки (по 10-20 мл), які після охолодження просушують в термостаті при температурі 40 °С. На поверхню агарової пластинки стерильною градуйованою піпеткою наносять 0,1 мл ґрунтової суспензії з відповідного розведення, потім скляним обпаленим у спирті шпателем розтирають краплю по всій поверхні поживного середовища. При цьому кришку чашки тримають близько над поверхнею поживного середовища нижньої частини чашки; запалена спиртівка повинна знаходитися перед чашкою. Для визначення співвідношення різних фізіологічних груп мікроорганізмів у ґрунті проводять посіви на різні поживні середовища. На МПА враховують відносну кількість амоніфікаторів, картопляному агарі − міксобактерії, на середовищі Чапека − грибів, на КАА (крохмале-аміачний агар) − актиноміцетів та мікобактерій, на середовищі Ешбі − оліготрофів і азотфіксаторів і т. д. Для виявлення бацилярних форм за Є. М. Мішустіним використовують змішане поживне середовище з МПА і сусло-агар (у відношенні 1:1). Перед посівом на це середовище ґрунтову суспензію прогрівають при температурі 70 °С протягом 15 хв. для звільнення її від вегетативних форм бактерій. Засіяні чашки Петрі позначають і розміщують у термостаті при температурі 25-30 °С. Облік кількості колоній проводять на 3−4-й день. Вивчають культуральні та морфологічні ознаки мікроорганізмів і роблять відповідні висновки. Із мікроорганізмів, що розвиваються на МПА і МПА + сусло-агар, виділяють такі групи: 1) бацили (слизисто-складчасті, шкірясто-складчасті, галузисті колонії тощо); 2) неспороносні бактерії (переважно плескаті колонії жовтого, оранжевого, білого та інших кольорів); 3) флуоресцюючі бактерії (колонії зеленуватого кольору); 4) актиноміцети (як безбарвні, так і пігментовані колонії), мікобактерії (дрібненькі, куполоподібні колонії, жовтого, рожевого та білого забарвлення). Посіви ґрунтової суспензії на картопляному агарі витримують у термостаті 10-15 днів при температурі 25-30 °С. На картопляному агарі міксобактерії з роду *Polyangium* утворюють плодові тіла переважно червоно-коричневого кольору, а з роду *Myxococcus* − безбарвні або світло-рожеві плодові тіла. На крохмале-аміачному агарі (КАА) на 7−10-й день ідентифікують колонії актиноміцетів і мікобактерій. Актиноміцети утворюють колонії різної пігментації. Повітряний міцелій актиноміцетів має сіре, біле, зеленувато-сіре, рожеве та інше забарвлення і характерний землистий запах. Мікобактерії утворюють дрібні куполоподібні колонії переважно жовтого кольору.

На середовищі Ешбі облік мікроорганізмів проводять на 5−6-й день інкубації. Тут добре ідентифікуються азотобактер і олігонітрофільні мікроби. Колонії азотобактера — плескаті, слизисті, безбарвні.

**2. Виділення асоціацій мікроорганізмів, що фіксують атмосферний азот**

Найбільш прийнятним поживним середовищем для виділення азотфіксаторів є середовище Ешбі. Його склад наступний (г/л): маніт або сахароза − 20;

$MgSO_4 \times 7H_2O$ − 0,2; NaCl − 0,2; $K_2SO_4$ − 0,1; $CaCO_3$ − 5; агар-агар − 20. Середовище стерилізують при 1 атм. 30 хвилин. В бактеріологічній чашці на середовищі Ешбі розкладають 25-50 грудочок ґрунту діаметром 1-2 мм і поміщають в термостат при температурі 28-30 ºС на 5-10 днів. За цей час навколо грудочок, як правило, утворюються слизисті колонії різних несимбіотичних азотфіксаторів. Серед них можуть бути азотобактери різних видів, азотфіксатори аероби, олігонітрофіли − бактерії, що здатні розвиватись при мізерних кількостях азоту у середовищі. Азотфіксатори враховують визначаючи відсоток грудочок, що обросли колоніями. За цим показником порівнюють різні ґрунти.

**Оформлення результатів:**

Отримані результати оформити у вигляді таблиці:

| **№ проби ґрунту** | **ЗМЧ** | **Кількість м/о, що фіксують атм. азот, %** | **Кількість актино-міцетів і мікобактерій, КУО** | **Кіль-кість грибів, КУО** |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

***Завдання для самоконтролю***

1. Наявність яких бактерій свідчить про фекальне забруднення ґрунту?
2. Перерахуйте селективні середовища, які використовують для дослідження мікрофлори ґрунту.
3. За якою методикою виділяють асоціації мікроорганізмів, що фіксують атмосферний азот?

## Лабораторна робота № 6

**Тема: Епіфітна мікрофлора. Фітопатогенні мікроорганізми**

**Мета: ознайомити студентів з методами дослідження епіфітної мікрофлори та інфекційних хвороб рослин.**

*Завдання:*
*1. Визначити кількісний склад епіфітної мікрофлори.*
*2. Провести кількісний облік мікроорганізмів на зерні.*
*3. Провести визначення збудника мокрої бактеріальної гнилі уражених бульб картоплі.*
*4. Провести визначення збудника фітофторозу картоплі.*

*Матеріальне забезпечення: мікроскопи, предметні та покривні скельця.*
*1. Кількісний склад епіфітної мікрофлори: чашки Петрі з МПА, листкові пластинки з різних рослин;*
*2. Кількісний облік мікроорганізмів на зерні: зерно, одна колба з 50 мл та 3 з 90 мл стерильної води, 3 пробірки з 9 мл стерильної води, стерильні чашки Петрі, розплавлений МПА;*
*3. Визначення збудника мокрої бактеріальної гнилі та фітофторозу картоплі: пінцети, припарувальні голки, фуксин, уражені бульби картоплі.*

### 1. Визначення кількісного складу епіфітної мікрофлори методом відбитків

У стерильні чашки Петрі заливають розплавлений простерилізований МПА. Після утворення агарових пластинок листок з досліджуваної рослини щільно притискують до поживного середовища. Для інкубації мікробів чашки Петрі розміщують у термостаті при температурі 25 - 37 °С на 2 − 3 доби. Після закінчення інкубації проводять кількісний облік і вивчення характеристики колоній мікроорганізмів.

Для визначення якісного складу епіфітної мікрофлори, колонії згруповують за культуральними ознаками, і з кожної групи колоній виготовляють мікропрепарати, виявляють належність мікробів до роду або родини та визначають кількість бактерій кожної групи в процентах від загальної кількості мікроорганізмів.

### 2. Кількісний облік мікроорганізмів на зерні

Наважку зерна в 5 г вміщують у колбу з 50 мл стерильної води, сюди ж додають 3 г піску. Суміш у колбі збовтують протягом 10 хв. Із одержаної витяжки виготовляють серію розведень ($10^{-2}$, $10^{-3}$, $10^{-4}$). З готових розведень стерильними піпетками відбирають по 10 мл суспензії і переносять у колби з 90 мл стерильної води. Після цього з кожної колби відбирають по 1 мл суспензії, виливають у стерильні чашки Петрі і заливають 20 мл розплавленого і охолодженого до 40°С МПА. Чашки інкубують у термостаті при температурі

30 °С. Крім МПА для посіву можна також використовувати елективні середовища: сусло-агар з крейдою, капустяний агар з крейдою, пептонний агар з крейдою, пептонний агар, картопляне середовище № 5 з крейдою та інші.

Через 2–5 днів інкубації проводять облік загальної кількості колоній, які виросли на поживних середовищах в чашках Петрі, і перераховують кількість мікроорганізмів на 1 г зерна. Для визначення якісного складу мікрофлори колонії згруповують за культуральними ознаками, з кожної групи колоній виготовляють мікропрепарати, виявляють належність мікробів до роду або родини та визначають кількість бактерій кожної групи в процентах від загальної кількості мікроорганізмів. На свіжому доброякісному зерні переважають *Erwinia herbicola*, які утворюють блискучі оранжеві колонії. Значно менше реєструється жовтувато-зеленуватих флуоресціюючих колоній *Pseudomonas fluorescens* та блискучих опуклих (часто з рожевим відтінком) дріжджових колоній. На несвіжому зерні, яке зберігалось при підвищеній вологості, *Erwina herbicola* та *Pseudomonas fluorescens* майже не виявляються. Найчастіше трапляються мікрококи, які утворюють білі плескаті колонії, спорові бактерії, актиноміцети і мікроскопічні гриби.

**3. Визначення збудника мокрої бактеріальної гнилі картоплі**

*Мокра бактеріальна гниль картоплі.* Ця хвороба характерна для бульб, коренеплодів тощо. ЇЇ спричиняють бактерії *Bacterium xanthochlorum Schuster*, що уражають бульби картоплі в ґрунтах та у сховищах. Найчастіше ураження відбувається через ґрунт. При мокрих гнилях відбувається мацерація тканин, які частково або повністю перетворюються на слизову масу. Бактерії добре розвиваються у вологих, з підвищеною температурою картоплесховищах, які погано провітрюються. Хвороба призводить до значних втрат. Навіть мало уражені бульби є непридатними до зберігання та використання в їжу. Основними заходами боротьби з цією хворобою є зберігання картоплі в сухих, прохолодних (2°С) приміщеннях і використання при посадці здорових бульб.

Із ураженої мокрою гниллю бульби картоплі препарувальною голкою відбирають трохи слизистого нальоту і виготовляють мікропрепарати живих і вбитих бактерій. При виготовленні фіксованих препаратів на предметному склі в краплині дистильованої води виготовляють мазок, фіксують його і фарбують фуксином. Виготовлені препарати вивчають під мікроскопом при сухій та імерсійній системах. У полі зору виявляються бактерії, що мають форму невеликих паличок, − *Bacterium xanthochlorum Schuster.*

**4. Визначення збудника фітофторозу картоплі**

*Фітофтороз картоплі*. Серед фітофторозів найпоширенішою є фітофтора картоплі, яку ще називають картопляною гниллю, або картопляним грибом. Ця хвороба спричиняється грибом *Phytophtora infestans*. Уражаються майже всі частини рослини. Хвороба дуже поширена і завдає величезних збитків сільському господарству. Зимує збудник у пошкоджених бульбах у вигляді міцелію. Найінтенсивніше розвивається фітофора на початку цвітіння картоплі. На нижніх листках і стеблі з’являються невеличкі бурі вологи плями. При

підвищенні вологості повітря на нижньому боці листків через продихи виходять повітряні гіфи у вигляді білуватого павутинного нальоту. Це фаза спороношення збудника − зооспорангієносці з зооспорангіями. Гриб розповсюджується під час вегетації рослин зооспорами. Особливо сприйнятливими до фітофтори є нестиглі бульби з пошкодженою шкіркою. При ураженні на них з'являються сіруваті, а потім буруваті заглиблені плями, під якими бульба має іржаве забарвлення.

Із зараженої частини рослини за допомогою препарувальної голки знімають трохи білувато-сірого пухнастого нальоту, з якого у краплині дистильованої води на предметному склі виготовляють препарат «роздавлена крапля». Його вивчають при малому та великому збільшенні за допомогою сухої системи мікроскопа. В полі зору добре видно спорангієносці з спорангіями гриба. Таким же методом можна вивчати збудників фузаріозів, інших пліснявих грибів, що спричиняють хвороби плодів, овочів, хліба та ін. продуктів (*Fusarium*, *Rhizopus*, *Botrytis* та ін.).

**Оформлення результатів:**

Результати досліджень оформити у вигляді таблиць:

**1. Визначення кількісного складу епіфітної мікрофлори методом відбитків**

| № п/п | Культуральні властивості ізольованих культур | Морфологічні та тинкторіальні властивості ізольованих культур |
|---|---|---|
| | | |

**2. Кількісний облік мікроорганізмів на зерні**

| № п/п | Кількість мікроорганізмів на 1 г зерна | Відсоткове співвідношенні різних груп мікроорганізмів |
|---|---|---|
| | | |

**3. Визначення збудника мокрої бактеріальної гнилі та фітофторозу картоплі**

Описати та зарисувати отримані мікропрепарати.

***Завдання для самоконтролю***

1. Опишіть етапи визначення кількісного складу епіфітної мікрофлори методом відбитків.
2. Як проводять аналіз мікрофлори зерна**?**
3. Охарактеризуйте інфекційне захворювання рослин – фітофтороз картоплі.

## Лабораторна робота № 7

**Тема: Вивчення прикореневої та ризосферної мікрофлори**

**Мета: ознайомити студентів з методикою дослідження мікрофлори ризосфери та прикореневої мікрофлори.**

*Завдання:*
*1. Визначити кількісний склад прикореневої та ризосферної мікрофлори.*

*Матеріальне забезпечення: вегетаційний посуд з рослинами, пінцет, ножиці, колби з 100 мл стерильної води, стерильні піпетки, стерильна голка, чашки Петрі з поживним середовищем МПА, 6 пробірок з стерильною водою по 9 мл, шпатель, піпетки, спиртівка, стерильний пергаментний папір, вага, мікроскоп, предметні та покривні скельця.*

### 1. Визначення ризосферної та кореневої мікрофлори методом послідовного відмивання коренів за Теппер

З монолітів ґрунту з рослинами стерильними пінцетом та ножицями відбирають 1 г молодих коренів приблизно одного діаметру з прилиплими до них частками ґрунту. Одночасно беруть наважку для визначення вологості ґрунту.

Корені поміщають у колбу з 100 мл стерильної водопровідної води і збовтують 2 хв. Стерильною голкою, загнутою у вигляді гачка, корені виймають і переносять послідовно у другу, третю, четверту, п'яту, шосту і сьому колби, які теж містять по 100 мл води. У кожній колбі корені відмивають по 2 хв. Бажано, щоб в останню, сьому, колбу перед стерилізацією було додано 3 − 5 г піску.

З кожної колби окремо стерильною піпеткою беруть 0,05 мл води, наносять на поверхню агару і окремим шпателем Дригальського, тримаючи напіввідкриту чашку біля полум'я горілки, втирають в агарову пластинку. Чашки поміщають у термостат при температурі 28 - 30 °С на 3 − 5 діб.

В міру відмивання коренів чисельність бактерій не зменшується, а в ряді випадків навіть збільшується. В чашках з посівами з перших відмивань багато великих колоній спороносних бактерій, а в міру відмивання кількість колоній бацилярних форм зменшується і збільшується кількість дрібно-точкових колоній неспорових бактерій (як правило, родів псевдомонад та мікобактерій). Колонії мікобактерій часто забарвлені в жовтий або оранжевий колір.

Для визначення кількості мікроорганізмів у ризосфері і на коренях суспензію з першого відмивання додатково збовтують 5 хв., а потім з неї готують розведення, з яких роблять поверхневі посіви.

Для підрахунку кількості КУО в 1 г ґрунту (абсолютно сухого) ризосфери число колоній на чашці множать на 20 (щоб визначити кількість зародків в 1 мл) і на ступінь розведення, а потім ділять на масу абсолютно сухого ґрунту ризосфери. Кількість ризосферного ґрунту, що потрапила з коренями у першу

колбу, знаходять по різниці початкової наважки і наважки відмитих коренів (для чого з останньої порції витягують корені, поміщають їх на фільтрувальний папір, висушують і зважують).

При визначенні кількості мікроорганізмів на 1 г коренів, число колоній, що виросли на чашці, множать на 20, на ступінь розведення і на 600 (6 змивів по 100 мл у кожному) і ділять на масу коренів.

Залежно від завдання можна використовувати різний набір поживних середовищ для культивування мікроорганізмів, що розвиваються в кореневій зоні рослин.

**Оформлення результатів:**

Кількість КУО на 1 г коренів − __.

Характеристику колоній, що виросли на на диференційно-діагностичних поживних середовищах оформити у вигляді таблиці:

| № п/п | Культуральні властивості ізольованих культур | Морфологічні та тинкторіальні властивості ізольованих культур |
|---|---|---|
| | | |

***Завдання для самоконтролю***

1. Чим відрізняється рихзосферна мікрофлора від прикореневої?
2. Опишіть методику визначення прикореневої та ризосферної мікрофлори.
3. В міру відмивання коренів у стерильній воді кількість мікроорганізмів збільшується чи зменшується?

## Лабораторна робота № 8

**Тема: Нормальна мікрофлора організму людини**

**Мета: ознайомити студентів з методиками вивчення нормальної мікрофлори різних екотопів організму людини.**

*Завдання:*
*1. Дослідити мікрофлору шкіри рук.*
*2. Дослідити мікрофлору зіву.*
*3. Ознайомитись з методикою визначення якісного та кількісного складу мікрофлори кишечнику.*

*Матеріальне забезпечення.*
*1. Бактеріологічне дослідження ротової порожнини: мікроскопи, предметні та покривні скельця, чашки Петрі з МПА, кров'яним агаром, пробірки з 0,85 % розчином NaCl;*
*2. Бактеріологічне дослідження шкіри рук:*
*мікроскопи, предметні та покривні скельця, чашки Петрі з МПА, пробірки з глюкозо-пептонним середовищем, стерильні ватні тампони, 0,85 % розчин NaCl.*

### 1. Вивчення мікрофлори шкіри рук

Найпростіший посів для дослідження мікрофлори шкіри рук здійснюється шляхом доторкання пальців до поверхні поживного середовища (утворення так званих "відбитків").

Частіше посів проводять на поверхню поживного середовища змиву з рук. Щоб отримати змив, пінцетом беруть стерильний ватний тампон, змочують його у МПБ або глюкозо-пептонному середовищі і протирають шкіру: спочатку протирають шкіру лівої, потім правої руки в такій послідовності: тил кисті, долоня, міжпальцеві проміжки, нігтьові ложа. Після цього тампон кладуть у пробірку із стерильним глюкозо-пептонним середовищем (до 1 % пептонної води додають 0,5 % глюкози і стерилізують) і перемішують деякий час, обережно обертаючи пробірку між долонями. Після закінчення змиву тампони знову занурюють у середовище. Після ретельного віджимання тампону й перемішування 1 $см^3$ рідини вносять у стерильну чашку Петрі, заливають 15 мл розтопленого і охолодженого агару. Засіяні чашки Петрі розміщують у термостаті при температурі 37 ºС на 24 години. Виймають чашки і витримують протягом 2-3 днів при кімнатній температурі. За цей час утворюються колонії сарцин, стафілококів, пігментних бактерій, цвільових та дріжджових грибів тощо. Після чого підраховують ЗМЧ.

Для визначення БГКП, стафілококів та ентерококів (індикаторні мікроорганізми) проводять посів на елективні середовища.

### 2. Бактеріологічне дослідження на дисбактеріоз кишечнику

Основним методом діагностики дисбактеріозу є бактеріологічний метод. Випорожнення доставлені в лабораторію без консервантів у кількості 1 г

поміщають в пробірку з 9-10 мл ізоточнічого розчину хлориду натрію (розведення 1:10), перемішують і залишають на 10-15 хв. при кімнатній температурі. Із основного розведення готують послідуючі (1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1:1000000). 0,1 мл матеріалу засівають на середовища: Плоскірєва, Лєвіна, Ендо – з метою виділення ентеробактерій, на середовище Сабуро – для дріжджоподібних грибів, на 5% кров'яний агар – для виявлення загальної кількості гемолітичної мікрофлори, на жовтково-сольовий – для стафілококу, ентерококагар – ентерококів, Блаурокка – біфідобактерій, лактобактерій – лактобакагар.

Після 22-24 годин продивляються посіви за виключенням середовища Сабуро. Лактозонегативні культури перевіряють стосовно їх приналежності до шигел, сальмонел, кишкових паличок, що викликають коліентерити. Кількість мікробів визначають за кількістю колоній, що виросли на поживному середовищі, враховуючи кількість посіяного матеріалу та ступінь розведення.

На середовищі Лєвіна колонії патогенних мікробів прозорі, безкольорові або мають рожевий відтінок, кишкова паличка утворює сині або чорні колонії, протей росте ізольованими оранжевими колоніями, причому середовище змінює забарвлення навколо колоній протею.

На середовищах Ендо, Плоскірєва, Левіна колонії кишкової палички, шигел і сальмонел безколірні, колонії кишкової палички забарвлюються в залежності від кольору індикатора: на середовищі Ендо − в червоний колір з металічним блиском, на середовищі Левіна − в синій або чорний, Плоскірєва − рожевий колір. На 5 % кров'яному агарі визначають процентне співвідношення бактерій, які володіють і не володіють гемолізуючими властивостями. З 5 % кров'яного агару пересівають колонії різних видів на скошений слабо лужний агар і після 20–22-годинної інкубації при 37 ºС проводять мікроскопію мазків, забарвлених за Грамом. Грамнегативні палички ідентифікують за допомогою тестів, які застосовуються при ідентифікації ентеробактерій, стафілококи досліджують на патогенність.

Посіви на середовище Сабуро перевіряють через 2–3 доби. Колонії грибів опуклі, сметаноподібні, глянцевидні (але не мокрі), гладенькі або зморшкуваті, спочатку білі, а згодом кремові, через 1-1,5 місяці коричнуваті, з часом колонія вростає у середовище. Мікроскопічно виявляються нитки міцелію та значна кількість великих овальних або округлих клітин, що брунькуються.

Для виділення анаеробних біфідобактерій необхідно проводити посів великих розведень фекалій на середовище Блаурокка, оскільки при посіві малих розведень в цьому середовищі виростають і інші мікроби. Для цього у пробірки з 13-15 мл регенерованого протягом 45 хв. середовища Блаурокка засівають 1 мл фекалій в розведеннях від $10^{-7}$–$10^{-11}$. Посіви інкубують при 37 ºС 24 год. Із посівів, в яких виявлений ріст у вигляді помутніння середовища, окремих колоній або тяжів виготовляють мазок і фарбують його за Грамом. При відсутності росту посіви залишають в термостаті до 48–72 годин.

Оскільки виявлення абсолютної кількості різних груп мікроорганізмів є трудомістким, визначають їх процентне співвідношення. На середовищах Ендо і Лєвіна визначають процентне співвідношення мікроорганізмів лактозонегативних (безколірних), лактозопозитивних (добре забарвлених),

колоній мікробів зі слабими ферментативними властивостями (слабе розщеплення лактози − рожеві колонії).

Про відсутність дисбактеріозу свідчить переважання біфідобактерій у розведеннях фекалій $10^8$-$10^9$, повноцінної у ферментативному відношенні кишкової палички (85-90 % до загальної кількості колоній), наявність ентерокока, виявлення в сумі не більше 10-15 % колоній лактозонегативних ентеробактерій, гемолізуючих ешерихій, кокових форм, грибів роду *Candida*, протея. Дисбактеріоз може виражатись високим відсотком (25-30%) лактозонегативних та гемолізуючих ентеробактерій, гемолізуючих та негемолізуючих кокових форм, наявністю грибів роду *Candida* у вигляд форм, що брунькуються, і ниток міцелію, протея, часто асоціацій вказаних бактерій. Відсутність росту біфідобактерій у розведенні $10^{-7}$ переконливо свідчить про наявність дисбактеріозу.

**3. Вивчення мікрофлори зіву**

Матеріал із ротоглотки відбирають стерильним ватним тампоном, яким обтирають правий мигдалик, потім дужку піднебіння, язичок, ліву дужку і лівий мигдалик. Важливо слідкувати, щоб тампон не торкався слизової щік та язика. Бактеріологічне дослідження здійснюють шляхом посіву матеріалу на кров'яний агар. Для цього чашку дещо відкривають однією рукою, торкаючись тампоном поверхні агару біля краю чашки і починають проводити посів штрихами від краю до краю чашки, поступово обертаючи тампон. Посів проводять на кров'яний, сироватковий, жовтково-сольовий та шоколадний агар, середовище Ендо та Сабуро. Виявлення мікроорганізмів, які не є представниками нормальної мікрофлори, або збільшення кількості будь-якого виду автофлори на фоні хвороби, свідчить про їх етіологічну роль при даному захворюванні.

**Оформлення результатів:**

Отримані результати оформити у вигляді таблиць.

**1. Вивчення якісного та кількісного складу мікрофлори шкіри рук**

| № п/п | ЗМЧ | Культуральні властивості ізольованих культур | Морфологічні та тинкторіальні властивості ізольованих культур |
|---|---|---|---|
| | | | |

**2. Вивчення мікрофлори зіву**

| № п/п | Культуральні властивості ізольованих культур | Морфологічні та тинкторіальні властивості ізольованих культур |
|---|---|---|
| | | |

***Завдання для самоконтролю***

1. Які селективні поживні середовища використовують для якісного визначення мікрофлори кишечнику?
2. Опишіть методику визначення мікрофлори зіву?
3. Як проводять змив для визначення мікрофлори шкіри рук?

## Лабораторна робота № 9

**Тема: Санітарно-мікробіологічний контроль у закладах методом змивів.**
**Мета: ознайомити студентів з методами санітарно-мікробіологічного контролю об'єктів.**

*Завдання:*
*1. Визначити ступінь мікробної забрудненості предметів в аудиторії.*

*Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та покривні скельця, чашки Петрі з МПА, Ендо, пробірки з середовищем Кесслера, стерильні колби та пробірки, стерильні серветки, стерильні ватні тампони, спиртівка.*

В закладах громадського харчування, продовольчих магазинах санітарно-бактеріологічний контроль є обов'язковим і здійснюється органами санітарного нагляду в плановому порядку, а також позапланово за епідемічними показниками. Такий контроль необхідно проводити і в навчальних закладах, особливо студентських їдальнях, буфетах, аудиторіях тощо. Як показник санітарного стану діючого закладу широко використовується характеристика мікробного засівання поверхні різних об'єктів − приладів та обладнання, інвентарю, одягу, рук персоналу.

Основними тестами мікробної забрудненості предметів є загальна кількість мікроорганізмів на одиницю поверхні досліджуваного предмета (мікробне число) і наявність на предметах санітарно-показових мікроорганізмів *E. coli* і *Cl. perfringens*, як показників фекального забруднення.

### 1. Вивчення мікробної забрудненості предметів в аудиторії методом змивів

Основним методом взяття проб для дослідження мікробної забрудненості поверхні будь-якого предмету є його змив з певної площі. З цією метою стерильною серветкою або ватним тампоном, змоченими у стерильній воді, протирають певну площу поверхні об'єкта і переносять серветку в пробірку з 10 мл стерильної води. Обережно збовтують суміш для десорбції мікроорганізмів і одержану суспензію використовують для аналізу. В їдальнях, буфетах тощо після миття перевіряють столовий та кухонний посуд, а після прибирання − внутрішні поверхні мийних ванн. Змиви з рук, рушників і санітарного одягу здійснюють до початку і після роботи. Кількість мікроорганізмів (мікробне число) у змивах часто визначають за методом Коха і виражають на одиницю поверхні досліджуваного об'єкта, найчастіше на 1 см$^2$.

Залежно від ступеня мікробного засівання із різних розведень змиву беруть по 1 мл і висівають на МПА в чашках за загальноприйнятою методикою.

Мікробне число визначають за такою формулою:

$$M = \frac{n \times 10}{S},$$

де М − мікробне число; n — кількість мікроорганізмів, які містяться в 1 мл вихідного розведення змиву (для визначення цієї кількості число колоній, які

виросли на МПА в чашках, перераховують з огляду на розведення); 10 − кількість рідини, яка використовувалася для десорбції мікрофлори, мл; S − площа, з якої зроблено змив, $см^2$.

Санітарний стан поверхні досліджуваного об'єкта вважається дуже добрим, якщо загальна кількість мікробів на 1 $см^2$ складає не більше 100, добрим − якщо їх від 100 до 1000, задовільним − якщо мікробів понад 1000, поганим − якщо їх більше 10000.

З метою визначення титру кишкової палички в досліджуваних змивах, посів змивів здійснюють на середовище Кесслера і ставлять чашки в термостат при температурі 43 °С на одну добу. Це перший етап виявлення кишкової палички, який дістав назву бродильної проби. Якщо утворення газів і помутніння не відбувається, роблять остаточний висновок про відсутність бактерій групи кишкової палички.

При виявленні газоутворення і помутніння проводять другий етап визначення кишкової палички. Для цього пересівають культуру, яка виросла на середовищі Кесслера, на диференціально-діагностичне поживне середовище Ендо. Засіяні чашки Петрі розміщують у термостаті при температурі 37 °С на 24 год. Після закінчення інкубації відбирають лактозопозитивні (червоні) колонії і виготовляють із них мікропрепарати, фарбують за Грамом і вивчають під мікроскопом. Якщо в полі зору виявляються грамнегативні неспороносні палички, то для остаточної ідентифікації кишкової палички проводять оксидазний тест. Цей тест пропонується як експрес-метод для диференціації *E. coli* від сапрофітних бактерій, що морфологічно подібні до неї, але відрізняються тим, що мають фермент оксидазу і можуть окислювати фенілендіамінові сполуки до індофенолу. Останній має яскраво синій колір.

Для проведення оксидазного тесту бактеріологічною петлею відбирають невелику кількість колонії, яка виросла на середовищі Ендо, на фільтрувальний папір, просочений розчином фенілендіаміну. Якщо на місці нанесення бактеріальної маси колір паперу не змінюється, то оксидазний тест буде негативним, і, навпаки, якщо бактерії володіють активною оксидазою, папір стає синім протягом 1 хв.

Виявлення в досліджуваних змивах кишкової палички, умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів свідчить про грубе порушення санітарно-гігієнічних правил та необхідність проведення негайних профілактичних заходів.

**Оформлення результатів:**

Загальне мікробне число − __.

Отримані результати оформити у вигляді таблиці:

| № п/п | Культуральні властивості ізольованих культур | Морфологічні та тинкторіальні властивості ізольованих культур |
|---|---|---|
| | | |

### *Завдання для самоконтролю*

1. Які існують тести для визначення мікробної забрудненості поверхні різних предметів?
2. Які мікроорганізми є санітарно-показовими у випадку фекального забруднення поверхні різних предметів?
3. При проведенні санітарного аналізу методом змиву з поверхні столів в їдальні виявилось, що кількість мікроорганізмів на 1 $см^2$ становить 350 КУО. Дайте оцінку санітарного стану столів.
4. Як визначити титр кишкової палички в досліджуваних змивах?
5. Виявлення яких мікроорганізмів у змивах свідчить про порушення санітарно-гігієнічних правил?

## Лабораторна робота № 10

**Тема: Мікрофлора продуктів харчування**

**Мета: ознайомити студентів з методами дослідження бактеріологічної якості продуктів харчування.**

*Завдання:*
*1. Провести мікробіологічний аналіз молока.*
*2. Провести мікробіологічне дослідження м'яса.*

*Матеріальне забезпечення.*
*1. Мікробіологічний аналіз молока: мікроскопи і все необхідне для мікроскопування, стерильні чашки Петрі та пробірки, циліндри, стерильні піпетки Мора (1 мл); редуктазник з нагрітою до 40 °С водою; розплавлений МПА і середовище Ендо; насичений розчин метиленового синього; стерильне та свіже молоко;*
*2. Мікробіологічний аналіз м'яса: свіже і несвіже м'ясо; набір фарб для фарбування мікропрепаратів за Грамом; чашки Петрі з МПА.*

Порядок взяття проб, методи їх дослідження і нормативи якості регламентуються серією ГОСТів або іншою нормативною документацією. Правильний відбір проб є умовою достовірності результатів досліджень. Проби мають бути середніми по відношенню до даної серії продукції. Транспортування у лабораторію матеріалу слід здійснювати як найшвидше. Відбір проводять стерильно, у стерильний посуд і стерильними інструментами. Як правило визначають загальне мікробне число у продукті та санітарно-показникові мікроорганізми. Основними мікроорганізмами − показниками фекального забруднення при дослідженні харчових продуктів − є бактерії групи кишкової палички (БГКП). Визначають присутність цих мікроорганізмів у певному об'ємі продукту або виявляють ступінь забруднення ним т.б. колі-титр.

### 1. Мікробіологічний аналіз молока

*Мікрофлора молока.*

Молоко являє собою дуже сприятливе середовище для розмноження та зберігання різних видів мікроорганізмів. Кількість їх у 1 мл молока може сягати кількох мільйонів. Засівання молока мікробами відбувається переважно під час доїння і зберігання. Найчастіше в молоці переважають мікрококи, молочнокислі бактерії та інші. У забрудненому молоці міститься значна кількість представників групи кишкової палички, а також маслянокислі та гнильні бактерії. За певних умов у молоко потрапляють патогенні мікроби, що може призвести до виникнення епідемій серед населення.

У навчальних лабораторіях найчастіше визначають загальну кількість мікроорганізмів у молоці (мікробне число), колі-титр і пробу на редуктазу.

Визначення в молоці патогенних мікробів здійснюється в спеціальних мікробіологічних лабораторіях.

Проби молока для мікробіологічних досліджень відбирають, керуючись в основному вимогами ГОСТу 9225-68. Об'єм проби повинен бути не меншим за 50 мл. Посуд, в який відбирають пробу, має бути стерильним. Пробу молока необхідно досліджувати зразу після її взяття. У лабораторії її треба зберігати при температурі 4–6 °С.

Визначення загальної кількості мікробів у молоці проводять безпосередньо підраховуючи мікроби під мікроскопом. Для цього 0,01 мл молока розподіляють по поверхні стерильного предметного скла. Препарат висушують, забарвлюють метиленовим синім і вивчають під мікроскопом.

При визначенні мікробного числа молока методом підрахунку колоній на агарі виготовляють розведення ($10^{-1}$ − $10^{-9}$) за допомогою простерилізованої водогінної води. Методом глибинного посіву із розведень молока стерильною піпеткою висівають по 1 мл суспензії в стерильні чашки Петрі і заливають розплавленим і охолодженим до 50 °С МПА. Суміш обережно перемішують і розміщують у термостаті при температурі 30 °С. Після триденної інкубації підраховують кількість колоній бактерій, які виросли на МПА, а на четвертий день − кількість колоній дріжджових і цвільових грибів. Потім визначають їх кількість з розрахунку на 1 мл молока.

Існує шкала якості молока за кількістю мікробів у 1 мл. До першого класу належить молоко, в 1 мл якого налічується до 500 000 мікробів, до другого − від 500 000 до 4 000 000, до третього − від 4 000 000 до 20 000 000 і до четвертого − понад 20 мільйонів. Якість молока першого класу вважається доброю, другого − задовільною, третього − сумнівною, четвертого − незадовільною.

Для оцінки засіяності молока мікробами часто використовують такий орієнтовний метод, як проба на редуктазу. Мікроорганізми молока в процесі життєдіяльності виробляють ферменти типу редуктаз, які каталізують відновні процеси в молоці. Час, необхідний для відновлення фарби-індикатора, обернено пропорціональний кількості мікробів у молоці. Основна різниця між визначенням кількості мікроорганізмів на чашках Петрі і редуктазною пробою полягає в тому, що в першому випадку визначають кількість колоній, а в другому − біохімічну активність мікрофлори молока.

Проба на редуктазу проводиться за такою методикою. У стерильні пробірки з гумовими корками вливають по 20 мл сирого молока, підігрітого до 40 °С і по 1 мл 2,5%-го розчину метиленового синього. Пробірки закорковують і тричі перемішують, обережно повертаючи. Після цього пробірки ставлять на водяну баню або в термостат при температурі 38 − 40 °С. Спостереження за забарвленням молока проводять через 20 хв., 30 хв., 1, 2 і 5,5 год. Дослідження закінчують після повного знебарвлення метиленового синього. Верхній шар молока в пробірках інколи залишається синім, але це не береться до уваги. Залежно від часу знебарвлення, проби відносять до одного із чотирьох класів (табл. 6).

**Таблиця 6**

**Визначення класу молока за пробою на редуктазу**

| Показник | Клас | | | |
|---|---|---|---|---|
| | I | II | III | IV |
| **Час знебарвлення, год.** | 5,5 | 5,5-2 | 2-0,5 | 20 хв. |
| **Приблизна кількість мікробів у 1 мл молока, млн.** | ~0,5 | 0,5-4 | 4-20 | >20 |
| **Якість молока** | Добра | Задовільна | Погана | Дуже погана |

Для визначення колі-титру молока використовують здатність до газоутворення групи бактерій кишкової палички на рідкому середовищі Буліра (До 1 л МПБ додають 12,5 г маніту і 6 мл 1%-го нейтральроту). Середовище розливають у пробірки з поплавками і стерилізують при 0,5 атм протягом 30 хв. За умов росту кишкової палички вишневий колір середовища перетворюється на оранжевий і в поплавку нагромаджується газ. У пробірку з середовищем Буліра вносять 1 мл суспензії відповідного розведення молока. Засіяні пробірки ставлять у термостат при температурі 42 °С на дві доби. Якщо газоутворення і помутніння не відбувається, роблять висновок про відсутність бактерій групи кишкової палички. При виявленні газоутворення і помутніння культуру пересівають на диференційно-діагностичне середовище Ендо. Засіяні чашки розміщують у термостаті при температурі 37 ºС на 24 год. Після закінчення інкубації відбирають лактозопозитивні (червоні) колонії, фарбують за Грамом і вивчають під мікроскопом. Якщо під мікроскопом виявляють грамнегативні неспороносні палички, то проводять оксидазний тест.

Одержані результати визначення колі-титру також дозволяють віднести молоко до якогось із чотирьох класів. Якщо колі-титр становить $10^{-1}$, то таке молоко має добру якість і належить до першого класу. До другого класу відносять молоко, колі-титр якого становить $10^{-2}$. Молоко, колі-титр якого становить $10^{-3}$, відноситься до третього класу (погана якість). Дуже забруднене молоко має колі-титр $10^{-6}$ і належить до четвертого класу.

**2. Мікробіологічне дослідження м'яса**

*Мікрофлора м'яса.*

В крові, м'язах і паренхіматозних органах здорових тварин мікроорганізмів, як правило, немає. М'ясо забитих тварин містить ту чи іншу кількість мікробів. Це пов'язано з засіванням його в процесі обробки. М'ясо засівається мікрофлорою як ендогенного, так і екзогенного походження. Забруднення м'яса екзогенною мікрофлорою найчастіше відбувається при неправильному зберіганні та транспортуванні.

Згідно з ГОСТом, свіжість м'яса забійних тварин, птиці та субпродуктів визначається за такими органолептичними показниками: зовнішнім виглядом і кольором поверхні туші та м'язів на розрізі, консистенцією, запахом, станом жиру, сухожиль, прозорості й аромату бульйону тощо. М'ясо сумнівної

свіжості (хоча б за одним із цих показників) піддають негайному хімічному та мікробіологічному аналізам. Якщо м'ясо зберігається при температурі, яка сприяє розвиткові мікробів, то в ньому починають швидко розвиватися різні мікроорганізми, насамперед гнильні. Внаслідок розкладання ними складних азотних сполук (білки) виділяються гази, які мають неприємний запах. При цьому змінюється видовий склад мікрофлори, замість кокоподібних інтенсивно починають розвиватися паличкоподібні форми, спочатку аероби *Bacillus subtilis, B. mesentericus, B. mycoides*, а дещо пізніше анаеробні бактерії *Clostridium putrificus, C. histoliticum, C. sporogenes, Proteus vulgaris* та інші. Цвільові гриби утворюють на м'ясі осередки зараження у вигляді плям різного кольору: зелені, бурі, темно-брунатні, чорні тощо. Вони спричинюють підвищення pH м'яса, що сприяє розвиткові гнильних бактерій.

Санітарний і санітарно-бактеріологічний контроль м'яса і м'ясних продуктів здійснюється ветеринарними та медичними установами. В навчальних мікробіологічних лабораторіях дослідження м'яса можна проводити для визначення його свіжості та придатності для харчування. З цією метою найчастіше використовують методи визначення свіжості м'яс`а в мазку-відбитку, а також визначення загальної кількості (мікробного числа) мікробів у м'ясі шляхом підрахунку колоній, які виросли на твердому поживному середовищі.

З метою виготовлення мазків-відбитків для мікроскопічного дослідження м'яса стерильними ножицями або скальпелем з поверхні та з середини зразка вирізають шматочки м'яса завбільшки 2,0−2,5 см. Для виготовлення мазків-відбитків шматочки зрізаною стороною притискують до стерильного предметного скла. Потім мазок-відбиток висушують на повітрі, фіксують на полум'ї спиртівки й фарбують за Грамом. Виготовлені препарати вивчають під мікроскопом при великому збільшенні. На мікропрепаратах зі свіжого м'яса, взятого з поверхні, у полі зору мікроскопа виявляються тільки поодинокі коки і палички. В середніх шарах м'яса мікроби виявляються дуже рідко. Препарати, як правило, забарвлюються погано. У препаратах із несвіжого м'яса в полі зору мікроскопа видно десятки різних мікроорганізмів, особливо у мазках-відбитках, виготовлених з поверхні м'яса. Препарати добре забарвлюються. Під час мікроскопіювання визначають середню кількість мікробів у 20 − 30 полях зору і результати зіставляють з даними табл. 7.

**Таблиця 7**

**Ознаки свіжості м'яса**

| Якість м'яса | Дані мікроскопіювання |
|---|---|
| **Свіже** | На препаратах-відбитках мікробів немає або в полі зору виявляються поодинокі клітини коків, дріжджів і паличок. Відсутні залишки розкладу тканин м'яса. |
| **Сумнівної свіжості** | У полі зору мікроскопа виявляються до 30 коків і паличок. Видно сліди розкладеної м'язової тканини. |
| **Несвіже** | На мікропрепаратах у полі зору понад 30 мікробів, переважно грамнегативних паличок, та велика кількість розкладеної м'язової тканини. |

Для визначення мікробного числа в м’ясі, відібраний зразок м’яса (100 − 150 г) занурюють на 1 − 2 хв. у кип’яток, щоб вбити мікроби на його поверхні. Стерильним скальпелем вирізують із середніх шарів зразка шматочок масою 1 г і кладуть його в стерильну ступку. Сюди ж додають 3 − 5 г стерильного піску і старанно розтирають, водночас додаючи стерильної води до розведення 1:10. З одержаної суспензії роблять серію розведень 1:100 тощо. Готові розведення залишають на 1 −2 хв. для відстоювання, а потім стерильною піпеткою 1 мл переносять у стерильну чашку Петрі, заливають розплавленим МПА, обережно перемішують і ставлять у термостат при температур 37 °С на дві доби. По закінченні інкубації підраховують кількість колоній, які виросли на поживному середовищі, та перераховують їх на 1 г м’яса, враховуючи розведення. Порівнюючи результати мікробіологічних досліджень з даними, наведеними в табл. 6, можна приблизно визначити ступінь свіжості м’яса.

**Оформлення результатів:**

Отримані результати оформити у вигляді таблиць.

**1. Мікробіологічний аналіз молока**

| № п/п | Кількість КУО у 1 мл | Час, затрачений на знебарвлення метиленового синього, год. | Якість молока |
|---|---|---|---|
| | | | |

**2. Мікробіологічне дослідження м'яса**

| № п/п | Кількість КУО у 1 г м’яса | Кількість мікроорганізмів у мазках-відбитках | Якість м’яса |
|---|---|---|---|
| | | | |

***Завдання для самоконтролю***

1. Які бактерії є показником фекального забруднення харчових продуктів?
2. Які мікроорганізми характерні для бактеріально чистого та забрудненого молока?
3. Як змінюється мікрофлора м’яса при його неправильному зберіганні?
4. Оцініть свіжість м’яса за препаратом-відбитком. На препаратах-відбитках мікробів немає або в полі зору виявляються поодинокі клітини коків, дріжджів і паличок. Відсутні залишки розкладу тканин.
5. Колі-титр молока становить $10^{-3}$. До якого класу якості слід віднести продукт?

# ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

**1. Оберіть вірне визначення метабіозу:**
а) взаємовигідне співіснування двох організмів;
б) взаємовідносини між організмами одного або різних видів, які змагаються за однакові ресурси зовнішнього середовища за умови їх нестачі;
в) співіснування мікроорганізмів, при якому продукти метаболізму одного виду бактерій є харчовим та енергетичним субстратом для іншого або один мікроорганізм продовжує процес розпочатий іншим;
г) форма співіснування мікробів, при якій у асоціантів посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості.

**2. Оберіть вірне визначення нейтралізму:**
а) взаємовигідне співіснування двох організмів;
б) взаємовідносини між організмами одного або різних видів, які змагаються за однакові ресурси зовнішнього середовища за умови їх нестачі;
в) співіснування мікроорганізмів, при якому продукти метаболізму одного виду бактерій є харчовим та енергетичним субстратом для іншого або один мікроорганізм продовжує процес розпочатий іншим;
г) взаємовідносини, за яких організми, що розвиваються у складі одного ценозу, безпосередньо не впливають один на одного.

**3. Оберіть вірне визначення мутуалізму:**
а) взаємовигідне співіснування двох організмів;
б) взаємовідносини між організмами одного або різних видів, які змагаються за однакові ресурси зовнішнього середовища за умови їх нестачі;
в) співіснування мікроорганізмів, при якому продукти метаболізму одного виду бактерій є харчовим та енергетичним субстратом для іншого або один мікроорганізм продовжує процес розпочатий іншим;
г) форма співіснування мікробів, при якій у асоціантів посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості.

**4. Облігатний симбіоз це:**
а) взаємовідносини, при яких кожний із організмів може при необхідності жити і без партнера;
б) нейтралізм;
в) хижацтво;
г) взаємовідносини, при яких самостійний розвиток одного з організмів чи обох неможливий.

**5. Оберіть вірне визначення коменсалізму:**
а) взаємовигідне співіснування двох організмів;
б) взаємовідносини, коли мікроби використовують інший організм без шкоди, але й без очевидної вигоди для останнього;
в) співіснування мікроорганізмів, при якому продукти метаболізму одного виду бактерій є харчовим та енергетичним субстратом для іншого або один мікроорганізм продовжує процес розпочатий іншим;
г) форма співіснування мікробів, при якій у асоціантів посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості.

**6. Оберіть вірне визначення синтрофії:**
а) співіснування мікроорганізмів, при якому мікроорганізми можуть сумісно жити і розвиватися на середовищі, яке недоступне жодному з цих видів окремо.
б) взаємовідносини, коли мікроби використовують інший організм без шкоди, але й без очевидної вигоди для останнього;
в) співіснування мікроорганізмів, при якому продукти метаболізму одного виду бактерій є харчовим та енергетичним субстратом іншого або один мікроорганізм продовжує процес розпочатий іншим;
г) взаємовідносини між організмами одного або різних видів, які змагаються за однакові ресурси зовнішнього середовища за умови їх нестачі.

**7. Оберіть вірне визначення синергізму:**
а) взаємовигідне співіснування двох організмів;
б) взаємовідносини між організмами одного або різних видів, які змагаються за однакові ресурси зовнішнього середовища за умови їх нестачі;
в) співіснування мікроорганізмів, при якому продукти метаболізму одного виду бактерій є харчовим та енергетичним субстратом для іншого або один мікроорганізм продовжує процес розпочатий іншим;
г) форма співіснування мікробів, при якій у асоціантів посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості.

**8. Оберіть вірне визначення паразитизму:**
а) форма взаємовідносин, при якій один організм використовує партнера-господаря як середовище існування і/або як джерело живлення, як правило, при цьому завдає певної шкоди організму господаря;
б) взаємовідносини між організмами одного або різних видів, які змагаються за однакові ресурси зовнішнього середовища за умови їх нестачі;
в) співіснування мікроорганізмів, при якому продукти метаболізму одного виду бактерій є харчовим та енергетичним субстратом для іншого або один мікроорганізм продовжує процес розпочатий іншим;
г) форма співіснування мікробів, при якій у асоціантів посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості.

**9. Факультативний симбіоз це:**
а) взаємовідносини, при яких кожний із організмів може при необхідності жити і без партнера;
б) нейтралізм;
в) хижацтво;
г) взаємовідносини при яких самостійний розвиток одного з організмів чи обох неможливий.

**10. Факультативні внутріклітинні паразити:**
а) можуть паразитувати як в клітинах хазяїна, так і поза ними;
б) можуть існувати тільки в клітинах хазяїна;
в) повністю втратили здатність до існування у зовнішньому середовищі;
г) віруси.

**11. Облігатні внутріклітинні паразити:**
а) мікобактерії туберкульозу;
б) можуть існувати тільки в клітинах хазяїна;
в) не втратили здатність до існування у зовнішньому середовищі;
г) можуть паразитувати як в клітинах хазяїна, так і поза ними;

**12. Фактори патогенності (вірно все крім):**
а) інфекційність;
б) метабіоз;
в) інвазивність;
г) токсиногенність.

**13. Інвазивність – це:**
а) здатність мікроорганізму спричиняти інфекційний процес у природних умовах;
б) здатність мікроорганізму існувати тільки у клітинах організму хазяїна;
в) здатністю проникати у тканини організму, долаючи його захисні функції;
г) здатність мікроорганізмів за допомогою токсичних продуктів бактеріальної клітини (екзо- та ендотоксинів) порушувати метаболічні функції організму хазяїна.

**14. Токсиногенність – це:**
а) здатність мікроорганізму спричиняти інфекційний процес у природних умовах;
б) здатність мікроорганізму існувати тільки у клітинах організму хазяїна;
в) здатність мікроорганізмів за допомогою токсичних продуктів бактеріальної клітини порушувати метаболічні функції організму хазяїна;
г) здатність проникати у тканини організму, долаючи його захисні функції.

**15. Інфекційність – це:**
а) здатність мікроорганізмів за допомогою токсичних продуктів бактеріальної клітини (екзо- та ендотоксинів) порушувати метаболічні функції організму хазяїна;
б) здатність мікроорганізму існувати тільки у клітинах організму хазяїна;
в) здатність проникати у тканини організму, долаючи його захисні функції;
г) здатність мікроорганізму спричиняти інфекційний процес у природних умовах.

**16. Оберіть твердження, які характеризують екзотоксини:**
а) комплекси ліпополісахаридів з білками клітинних оболонок грамнегативних бактерій;
б) рибосоми грамнегативних бактерій;
в) сполуки, які найчастіше пов’язані з певними структурами мікроорганізмів і можуть вивільнятися тільки після автолізу клітин;
г) отруйні для макроорганізму речовини, що виділяються в середовище мікробною клітиною як продукт життєдіяльності.

**17. Оберіть твердження, яке характеризує ендотоксини:**
а) комплекси ліпополісахаридів з білками клітинних оболонок грампозитивних бактерій;
б) прості білки, які характеризуються різко вираженою токсичністю;
в) сполуки, які найчастіше пов’язані з певними структурами мікроорганізмів і можуть вивільнятися тільки після автолізу клітин;
г) отруйні для макроорганізму речовини, що виділяються в середовище мікробною клітиною як продукт життєдіяльності.

**18. Антибіотики представляють собою:**
а) продукти вторинного метаболізму мікроорганізмів;
б) продукти первинного метаболізму мікроорганізмів;
в) ферменти;
г) стимулятори процесів диференціації бактеріальних клітин.

**19. Еритроміцин – антибіотик виділений:**
а) із бактерій роду *Pseudomonas*;
б) актиноміцетів;
в) грибів;
г) бактерій роду *Bacillus*.

**20. Цефалоспорини – антибіотики виділені з:**
а) бактерій роду *Bacillus*;
б) із бактерій роду *Pseudomonas*;
в) актиноміцетів;
г) грибів;

**21. Чутливість бактерій до антибіотичних сполук визначають за методом:**
а) диско-дифузійним методом;
б) Аппельмана;
в) радіальних штрихів;
г) Грація.

**22. До антибіотичних сполук рослинного походженя відносять:**
а) лізоцим;
б) желатину;
в) тетрациклін;
г) аліцин.

**23. Результати антибіотикограми, визначеної диско-дифузійним методом, показали, що діаметр зони затримки росту бактерій навколо паперового диску з антибіотиком гентаміцином становить 18 мм. Оцініть чутливість мікроорганізма до антибіотику:**
а) бактерії резистентні до препарату;
б) помірно-резистентні;
в) чутливі;
г) немає правильної відповіді.

**24. Необхідність проведення антибіотикограми обумовлено:**
а) формуванням стійкості бактерій до антибіотичних препаратів;
б) природною стійкістю бактерій до антибіотиків;
в) можливістю алергічних реакцій;
г) немає правильної відповіді.

**25. Оберіть не вірне твердження. Визначення антибіотикограми проводять:**
а) методом дисків;
б) методом серійних розведень;
в) для ідентифікациї мікроорганізмів;
д) з метою раціональної терапії.

**26. Оберіть не вірне твердження. При визначенні антибіотикограми:**
а) культуру засівають «газоном»;
б) культуру засівають уколом у стовпчик поживного середовища;
в) диски просочені антибіотиками розкладають по поверхні щільного поживного середовища;
г) виміряють зони затримки росту.

**27. Антибіотичну сполуку з *Penicillium notatum* отримав :**
а) Ваксман;
б) Флорі;
в) Флемінг;
г) Токін.

**28. До антибіотичних сполук грибкового походження відносять:**
а) пеніцилін;
б) бацитрацин;
в) еритроміцин;
г) поліміксин.

**29. Антибіотичні сполуки за способом отримання поділяють:**
а) природні і синтетичні;
б) макроліди і полієнові сполуки
в) бактерицидні і бактеріостатичні;
г) аміноглікозиди і цефалоспорини.

**30. Продукування антибіотичних сполук мікроорганізмами це:**
а) фактор конкуренції за поживні речовини;
б) регулювання процесів обміну;
в) стимулювання спороутворення;
г) ферменти бактеріальних клітин.

**31. До основних ускладнень при антибіотикотерапії відносять (вірно все крім):**
а) загострення запального процесу;
б) ураження печінки;
в) пригнічення нормальної мікрофлори організму;
г) затримка прояву алергічної реакції організму.

**32. Стійкість бактерій до антибіотиків пов'язана з:**
а) рибосомами;
б) мезосомами;
в) лізосомами;
г) R-плазмідами.

**33. Охарактеризуйте мікрофлору повітря:**
а) склад мікрофлори повітря залежить від температурних коливань та пори року;
б) показниками санітарно-бактеріологічного забруднення відкритих повітряних басейнів є *Staphylococcus aureus* та *Streptococcus viridans*;
в) повітря є сприятливим середовищем для більшості патогенних та сапрофітних бактерій;
г) загальне мікробне число – це кількість бактерій в 100 $м^3$ повітря.

**34. Оберіть вірне твердження:**
а) повітря сприятливе середовище для розвитку бактерій;
б) повітря містить незначну кількість поживних речовин для бактерій;
в) повітря містить значну кількість поживних речовин для бактерій;
г) повітря більш сприятливе середовище для росту бактерій, ніж вода.

**35. У повітрі відкритих просторів знаходяться переважно:**
а) патогенні мікроорганізми;
б) сапрофітні мікроорганізми;
в) анаеробні мікроорганізми;
г) спороутворюючі мікроорганізми.

**36. Повітря найменш забруднене:**
а) поблизу земної поверхні;
б) поблизу населених пунктів;
в) над лісовими масивами;
г) немає правильної відповіді.

**37. У повітрі закритих приміщень:**
а) присутні інтенсивні процеси самоочищення;
б) рівень бактеріального забруднення незначний;
в) не накопичується мікрофлора довкілля;
г) накопичується мікрофлора з дихальних шляхів людини чи тварини.

**38. Оберіть вірне твердження:**
а) значна кількість бактерій у повітря виділяється при чиханні;
б) незначна кількість бактерій у повітря виділяється при кашлі;
в) незначна кількість бактерій у повітря виділяється при розмові;
г) значна кількість бактерій накопичується при зміні температурного режиму довкілля.

**39. Через повітря розповсюдження патогенних бактерій найчастіше відбувається:**
а) повітряно-краплинним шляхом;
б) фекально-оральним шляхом;
в) парентеральним шляхом;
г) через предмети побуту.

**40. До санітарно-показових мікроорганізмів бактеріального забруднення повітря відносять:**
а) золотистий стафілокок, піогенні стрептококи;
б) кишкова паличка;
в) сарцини;
г) біфідобактерії.

**41. Оберіть вірне твердження:**
а) чим вище у повітрі концентрація пилу, диму, тим більше бактерій;
б) чим вище у повітрі концентрація пилу, диму, тим менше бактерій;
в) у повітрі приміщень мікроорганізмів менше, ніж у повітрі відкритих просторів;
г) у повітрі міст мікроорганізмів менше, ніж лісів.

**42. Оберіть не вірне твердження:**
а) до дощу мікроорганізмів більше, ніж після дощу в одній і тій же місцевості;
б) над окультуреним багатим на органічні речовини ґрунтом мікроорганізмів більше, ніж над пустелями;
в) у повітрі міст мікроорганізмів більше, ніж у повітрі лісів;
г) у зимовий період у повітрі приміщень мікроорганізмів менше, ніж у повітрі відкритих просторів.

**43. Через повітря з краплинами слизу можуть передаватись збудники (вірно все крім):**
а) грипу;
б) скарлатини;
в) дифтерії;
г) правцю.

**44. При проведенні аналізу мікрофлори повітря методом Коха, на чашці Петрі виросло 50 КУО. Оцініть санітарний стан повітря:**
а) чисте;
б) сумнівне;
в) брудне;
г) немає правильної відповіді.

**45. Оберіть вірне твердження:**
а) вода не є природним резервуаром для більшості мікроорганізмів;
б) у відкритих водоймищах знаходяться представники автохтонної та аллохтонної мікрофлори;
в) чисельність мікроорганізмів у воді не визначається кількістю у ній органічних сполук;
г) відсутня правильна відповідь.

**46. Чисельність мікроорганізмів у воді відкритих водойм не залежить від:**
а) кліматичних умов;
б) сезону;
в) ступеня забруднення води органічними сполуками;
д) відсутня правильна відповідь.

**47. Полісапробна зона це:**
а) зона чистої води;
б) найбільш забруднена зона води;
в) зона помірного забруднення води;
г) відсутня правильна відповідь.

**48. Мезосапробна зона характеризується:**
а) присутністю процесів мінералізації органічних сполук;
б) відсутністю процесів нітріфікації;
в) відсутністю аеробних мікроорганізмів;
г) відсутністю анаеробних мікроорганізмів.

**49. Олігосапробна зона це:**
а) зона чистої води;
б) найбільш забруднена зона води;
в) зона помірного забруднення води;
г) відсутня правильна відповідь.

**50. Колі-титр це:**
а) кількість кишкових паличок в одному літрі води;
б) кількість кишкових паличок в 500 мл води;
в) кількість кишкових паличок в 200 мл води;
г) найменша кількість води, у якій знаходиться одна кишкова паличка.

**51. Колі-індекс це:**
а) кількість кишкових паличок в одному літрі води;
б) найменша кількість вони, у якій знаходиться одна кишкова паличка;
в) кількість кишкових паличок в 1 мл води;
г) відсутня правильна відповідь.

**52. До санітарно-показових бактерій забруднення води відносять:**
а) золотисті стафілококи;
б) зеленячі стрептококи;
в) сарцини;
г) кишкові палички.

**53. Оберіть вірне твердження:**
а) автохтонна мікрофлора – сукупність мікроорганізмів, що постійно живуть і розмножуються у воді;
б) автохтонна мікрофлора води не поповнюється мікрофлорою прибережної зони;
в) це сукупність мікроорганізмів, що потрапляють ззовні із різних джерел забруднення;
г) джерелом автохтонної мікрофлори є виділення людей, тварин, господарсько-побутові, промислові стічні води.

**54. Аллохтонна мікрофлора це:**
а) сукупність мікроорганізмів, що потрапляють ззовні із різних джерел забруднення;
б) мікрофлора, що не поповнюється мікрофлорою прибережної зони;
в) сукупність мікроорганізмів, що постійно живуть і розмножуються у воді;
г) поповнюється мікрофлорою прибережної зони: ґрунту, мулу та рідко повітря.

**55. Оберіть вірне твердження:**
а) ґрунт несприятливе середовище для розвитку анаеробних мікробних популяцій;
б) родючість ґрунту прямо пропорційно залежить від кількості спорових бактерій;
в) родючість ґрунту прямо пропорційно залежить від кількості грамнегативних бактерій;
г) родючість ґрунту прямо пропорційно залежить від загальної кількості біомаси прокаріотів.

**56. Оберіть вірне твердження:**
а) найбільша кількість бактерій знаходиться на поверхні ґрунту;
б) найбільша кількість бактерій у ґрунті знаходиться на глибині 100 метрів;
в) найбільша кількість бактерій у ґрунті знаходиться на глибині 10-20 см;
г) найменша кількість бактерій у ґрунті знаходиться на глибині 10-20 см.

**57. Оберіть вірне твердження:**
а) ґрунт є сприятливим середовищем для розвитку патогенних бактерій;
б) в одному грамі родючого ґрунту міститься до 5 млрд. бактерій;
в) ґрунт містить представників усіх царств життя, крім вірусів;
г) якісний склад мікрофлори не залежить від фізико-хімічних характеристик ґрунту.

**58. Чисельність та видовий склад мікрофлори ґрунту не залежить:**
а) від вмісту органічних сполук;
б) структури ґрунту;
в) характеру рослинного покриву;
г) відсутня правильна відповідь.

**59. Патогенні мікроорганізми у ґрунт не потрапляють:**
а) з випорожненнями людини;
б) з випорожненнями тварини;
в) трупів тварини;
г) відсутня правильна відповідь.

**60. В якості тест-бактерій санітарно-епідеміологічного стану ґрунту використовують:**
а) *Pseudomonas fluorescens*;
б) *Sarcina flava*;
в) *Mycobacterium tuberculosis*;
г) *Clostridium perfringens*.

**61. Чисельність і різноманітність популяцій мікроорганізмів філосфери залежать від (вірно все крім):**
а) виду рослин;
б) місця існування, клімату;
в) доступності вологи і поживних речовин;
г) наявності азотфіксуючих мікроорганізмів в ґрунті.

**62. Оберіть вірне твердження. Епіфітні мікроорганізми:**
а) живляться секретами та ексудатами рослин;
б) патогенні для людини і тварин;
в) мешкають тільки на верхній поверхні листової пластинки;
г) знаходяться тільки на насінні.

**63. Епіфітні мікроорганізми мешкають:**
а) тільки на верхній поверхні листкової пластинки;
б) тільки на насінні;
в) тільки на плодах;
г) немає правильної відповіді.

**64. У тканину рослин фітопатогенні мікроорганізми потрапляють через (вірно все крім):**
а) свіжі ранки;
б) продихи, нектарники;
в) передаються з насінням;
г) через непошкоджену тканину листової пластинки.

**65. Мікози рослин спричинюються:**
а) грибами;
б) бактеріями;
в) вірусами;
г) найпростішими.

**66. Оберіть вірне твердження. Ризосферні мікроорганізми:**
а) мікроорганізми, що мешкають на верхній та нижній поверхні листової пластинки;
б) мікроорганізми, що мешкають на поверхні плодів та насіння;
в) мікроорганізми, що мешкають у зоні ґрунту, яка безпосередньо контактує з кореневою системою рослин;
г) мікроорганізми, що володіють здатністю викликати фітопатогенні захворювання.

**67. Ризосферні мікроорганізми здійснюють сприятливий вплив на рослини, що обумовлено (вірно все крім):**
а) мінералізацією органічних речовин і рослинних залишків;
б) синтезом біологічно активних речовин;
в) наявністю факторів патогенності;
г) антагоністичною активністю по відношенню до фітопатогенних мікроорганізмів.

**68. Мікориза це – :**
а) симбіоз грибів з коренями рослин;
б) симбіоз азотфіксуючих мікроорганізмів з коренями рослин;
в) асоціативна азотфіксація;
г) немає правильної відповіді.

**69. Мікориза сприятливо впливає на розвиток рослин, що обумовлено (вірно все крім):**
а) збльшенням поверхні поглинання кореня за рахунок розгалуження гіф гриба;
б) гриби своїми ферментами розкладають багаті на азот органічні сполуки, забезпечуючи рослини амінокислотами, мінеральними речовинами, водою;
в) наявністю факторів патогенності;
г) мікоризні гриби забезпечують рослини ростовими речовинами.

**70. До вільноживучих азотфіксаторів належать бактерії роду:**
а) *Rhizobium*;
б) *Staphylococcus*;
в) *Azotobacter*;
г) *Pseudomonas*.

**71. Оберіть вірне твердження. Нормальна мікрофлора людини:**
а) формується в період внутрішньоутробного розвитку;
б) наявна у всіх органах і тканинах;
в) представлена тільки вірусами і найпростішими;
г) поділяється на автохтонну і аллохтонну;

**72. Засновник вчення про нормальну мікрофлору:**
а) Р. Кох;
б) І. І. Мечников;
в) І. І. Івановський;
г) немає правильної відповіді;

**73. Екзогенні фактори, що впливають на склад нормальної мікрофлори людини (вірно все, крім):**
а) прийом антибіотиків;
б) режим харчування;
в) стать;
г) забруднення навколишнього середовища.

**74. Ендогенні фактори, що впливають на склад нормофлори:**
а) прийом антибіотиків;
б) характер харчування;
в) гормональний баланс в організмі;
г) екологічний стан довкілля.

**75. Нормальну мікрофлору людини поділяють на (вірно все крім):**
а) мукозну та порожнинну;
б) облігатну та факультативну;
в) транзиторну та облігатну;
г) патогенну та анаеробну;

**76. Функції нормальної мікрофлори (вірно все крім):**
а) продукція БАР;
б) участь у метаболізмі білків, вуглеводів і ліпідів;
в) детоксигенна;
г) видоутворююча.

**77. Позитивна роль мікрофлори для організму (вірно все крім):**
а) секреторна;
б) антагоністична;
в) вітаміноутворююча;
г) токсигенна.

**78. Нормальна мікрофлора товстого кишечнику дорослої людини (вірно все крім):**
а) бактероїди;
б) біфідобактерії;
в) рикетсії;
г) ентерококи;

**79. У складі нормальної мікрофлори носової порожнини домінують:**
а) стрептококи;
б) стафілококи;
в) ентеробактерії;
г) лактобацилли;

**80. У складі нормальної мікрофлори шкіри домінують:**
а) коки;
б) палички;
в) бацили;
г) клостридії;

**81. Причини розвитку дисбактеріозу (вірно все крім):**
а) захворювання ШКТ;
б) ендокринні захворювання;
в) гормонотерапія;
г) прийом пробіотиків;

**82. Дисбактеріоз кишечнику виявляють:**
а) при бактеріологічному дослідженні;
б) при серологічному дослідженні;
в) при алергологічному дослідженні;
г) зі слів хворого.

**83. Пробіотики – це:**
а) вакцини;
б) алергени;
в) вітаміни;
г) бактерії – представники нормофлори.

**84. Пробіотики – це препарати, які застосовують для:**
а) лікування захворювань серцево-судинної системи;
б) дисбактеріозів;
в) гельмінтозів;
г) лікування захворювань нирок.

**85. Найбільш фізіологічні мікроорганізми для створенні пробіотиків:**
а) кишкова паличка;
б) бацили;
в) біфідобактерії;
г) дріжджі.

**86. Біфідобактерії (вірно все крім):**
а) антагоністи гнилісної мікрофлори;
б) грампозитивні;
в) анаероби;
г) при інтенсивному розвитку спричинюють дисбактеріоз.

**87. Біфідобактерин – препарат на основі:**
а) вбитих біфідобактерій;
б) живих біфідобактерій;
в) вводиться внутрім'язево;
г) застосовується одноразово.

**88. Пребіотики містять:**
а) живих представників нормофлори;
б) вбитих представників нормофлори;
в) стимулятори росту мікроорганізмів нормофлори;
г) продукти харчування збагачені пробіотиками.

**89. Механізм дії пробіотиків забезпечується (вірно все крім):**
а) антагоністичною дією бактерій, що входять до складу препарату;
б) імуномоделюючою дією пробіотиків на організм;
в) здатністю пробіотиків спричинювати запальний процес;
г) створенням умов для відновлення нормальної мікрофлори.

**90. Санітарно-показовими мікроорганізмами фекального забруднення поверхні предметів є:**
а) бактерії роду *Bacillus*;
б) азотфіксуючі бактерії;
в) *E. coli, Cl. perfringens*;
г) немає правильної відповіді.

**91. При проведенні санітарного аналізу методом змиву з поверхні столів в їдальні виявилось, що кількість мікроорганізмів на 1 см$^2$ становить 1500 КУО. Санітарний стан поверхні столів:**
а) дуже добрий;
б) добрий;
в) задовільний;
г) поганий.

**92. Оберіть вірне твердження. Амоніфікація це:**
а) процес розкладу органічних азотовмісних сполук з утворенням аміаку;
б) окислення аміаку до азотистої і азотної кислот;
в) відновлення нітратів до нітритів і далі до молекулярного азоту;
г) фіксація молекулярного азоту азотфіксуючими мікроорганізмами.

**93. Оберіть вірне твердження. Нітріфікація це:**
а) процес розкладу органічних азотовмісних сполук з утворенням аміаку;
б) окислення аміаку до азотистої і азотної кислот;
в) відновлення нітратів до нітритів і далі до молекулярного азоту;
г) фіксація молекулярного азоту азотфіксуючими мікроорганізмами.

**94. Оберіть вірне твердження. Денітріфікація це:**
а) процес розкладу органічних азотовмісних сполук з утворенням аміаку;
б) окислення аміаку до азотистої і азотної кислот;
в) відновлення нітратів до нітритів і далі до молекулярного азоту;
г) фіксація молекулярного азоту азотфіксуючими мікроорганізмами.

**95. Оберіть вірне твердження. Азотфіксація це:**
а) процес розкладу органічних азотовмісних сполук з утворенням аміаку;
б) окислення аміаку до азотистої і азотної кислот;
в) відновлення нітратів до нітритів і далі до молекулярного азоту;
г) немає правильної відповіді.

**96. Представники родів *Nitrosomonas, Nitrosocystis, Nitrospira, Nitrosovibrio, Nitrosolobus* приймають участь*:***
а) в процесі азотфіксації;
б) першій фазі нітрифікації;
в) в процесі денітрифікації;
г) в процесі амоніфікації.

**97. *Micrococcus denitrificans* приймає участь:**
а) в процесі азотфіксації;
б) першій фазі нітрифікації;
в) в процесі денітрифікації;
г) в процесі амоніфікації.

**98. Оберіть вірне твердження. Бактерії роду *Azotobacter* і анаеробна паличка *Clostridium pasterianum*:**
а) приймають участь в амоніфікації;
б) відносяться до вільноживучих азотфіксаторів;
в) приймають участь в процесі денітрифікації;
г) відносяться до симбіотичних азотфіксаторів.

**99. Десульфурація – це:**
а) утворення сірководню в результаті мінералізації органічних речовин в анаеробних умовах;
б) окислення відновлених сполук сірки, наприклад сірководеню, тіосульфату, молекулярної сірки;
в) відновлення мінеральної сірки;
г) немає правильної відповіді.

**100. Сульфофікація – це:**
а) утворення сірководню в результаті мінералізації органічних речовин в анаеробних умовах;
б) окислення відновлених сполук сірки, наприклад сірководеню, тіосульфату, молекулярної сірки;
в) відновлення мінеральної сірки;
г) немає правильної відповіді.

**101. Представники родів *Thiobacillus, Thiomicrospira, Thiodendron* приймають участь:**
а) в процесі мінералізації сірки;
б) в процесі окислення мінеральної сірки;
в) в процесі відновлення мінеральної сірки;
г) в процесі розкладання лігніну.

**102. Представники родів *Beggiatoa, Thiothrix, Thioploca* приймають участь:**
а) в процесі мінералізації сірки;
б) в процесі окислення мінеральної сірки;
в) в процесі відновлення мінеральної сірки;
г) в процесі розкладання пектину.

**103. Представники родів *Desulfovibrio* та *Desulfatomaculum* приймають участь в:**
а) в процесі мінералізації сірки;
б) в процесі окислення мінеральної сірки;
в) в процесі відновлення мінеральної сірки;
г) в процесі розкладання целюлози;

**104. До симбіотичних азотфіксаторів належать представники роду:**
а) *Azotobacter*;
б) *Rhizobium*;
в) *Desulfovibrio;*
г) *Thiobacillus.*

**105. Кінцевим продуктом процесу сульфофікації є:**
а) нітрати;
б) сульфати;
в) $H_2S$;
г) сульфіти.

**106. Продуктом дисиміляційного відновлення сульфатів, що здійснюється бактеріями родів *Desulfovibrio* та *Desulfatomaculum* є:**
а) S;
б) сульфати;
в) $H_2S$;
г) сульфіти.

**107. Для тіонових бактерій характерні процеси:**
а) окислення з отриманням енергії молекулярної сірки, сульфідів, тіосульфатів, тритіонатів, тетратіонатів;
б) мінералізація сірки;
в) відновлення сірки;
г) немає правильної відповіді.

**108. До залізобактерій відносяться бактерії роду:**
а) *Leptothrix;*
б) *Rhizobium*;
в) *Desulfovibrio;*
г) *Thiobacillus.*

**109. Фосфоробактерин − бактеріальне добриво, що містить:**
а) бактерії роду *Pseudomonas*;
б) культуру бактерії *Bacillus megaterium v.phosphaticum*;
в) бактерії роду *Azotobacter*;
г) немає правильної відповіді.

**110. У розкладі пектину приймають участь бактерії роду:**
а) *Azotobacter*;
б) *Rhizobium*;
в) *Desulfovibrio;*
г) *Cl. pectinovorum.*

**111. До бактерій, що активно утворюють амілазу та розщеплюють крохмаль відносять:**
а) *Rhizobium*;
б) *Desulfovibrio;*
в) *Cl. pectinovorum;*
г) *Bacillus polymyxa.*

**112. Анаеробний розклад целюлози здійснюють переважно бактерії роду:**
а) *Rhizobium*;
б) *Desulfovibrio;*
в) *Thiobacillus;*
г) *Clostridium.*

**113. При дослідженні мазка-відбитка м'яса у полі зору мікроскопа виявляються до 30 коків і паличок. Видно сліди розкладеної м'язової тканини. Оцініть якість продукту:**
а) свіже;
б) сумнівної свіжості;
в) не свіже;
г) немає правильної відповіді;

**114. Колі-титр молока становить $10^{-1}$. Продукт відноситься до:**
а) першого класу якості (добра якість);
б) другого класу якості (задовільна якість);
в) третього класу якості (погана якість);
г) четвертого класу якості (дуже погана якість).

**115. Колі-титр молока становить $10^{-4}$. Продукт відноситься до:**
а) першого класу якості (добра якість);
б) другого класу якості (задовільна якість);
в) третього класу якості (погана якість);
г) четвертого класу якості (дуже погана якість).

**116. Загальне мікробне число взірця молока становить 500 000. Молоко відноситься до:**
а) першого класу якості;
б) другого класу якості;
в) третього класу якості;
г) четвертого класу якості.

**117. Загальне мікробне число взірця молока становить понад 20 млн. Молоко відноситься до:**
а) першого класу якості;
б) другого класу якості;
в) третього класу якості;
г) четвертого класу якості.

**118. При постановці проби на редуктазу час знебарвлення метиленового синього у молоці становив 3 години. Молоко відноситься до:**
а) першого класу якості (добра якість);
б) другого класу якості (задовільна якість);
в) третього класу якості (погана якість);
г) четвертого класу якості (дуже погана якість).

# ДОДАТОК

**Таблиця 1**

## Граничні значення діаметрів зон затримки росту і значення МПК антибіотиків для інтерпретації результатів

| Антибіотики | Вміст антибіотика в диску, мкг | Код дис-ку | Діаметри зон для середовища АГВ, мм | | | МПК, мкг/мл | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Стійкі | Помірно-стійкі | Чутливі | Стійкі | Чутливі |
| **Бензилпеніцилін: при дослідженні стафілококів** | 6 | ПЕН | ≤20 | 21-28 | ≥29 | - | ≤0,1 |
| **при дослідженні інших мікробів** | | | ≤10 | 11-16 | ≥17 | - | ≤1,5 |
| **Ампіцилін при дослідженні: стафілококів** | 10 | АМП | ≤20 | 21-28 | ≥29 | - | ≤0,2 |
| **синьогнійної палички** | | | ≤9 | 10-13 | ≥14 | ≥32 | ≤8 |
| **Метилцилін** | 10 | МЕТ | ≤13 | 14-18 | ≥19 | - | ≤3 |
| **Оксацилін** | 10 | ОКС | ≤15 | 16-19 | ≥20 | - | ≤3 |
| **Цефалексин** | 30 | ЦФЛ | - | - | - | ≥32 | ≤10 |
| **Цефалотин** | 30 | ЦФТ | ≤14 | 15-18 | ≥19 | ≥32 | ≤10 |
| **Стрептоміцин** | 30 | СТР | ≤16 | 17-19 | ≥20 | ≥15 | ≤6 |
| **Неоміцин** | 30 | НЕО | ≤12 | 13-16 | ≥17 | - | ≤10 |
| **Канаміцин** | 30 | КАН | ≤14 | 15-18 | ≥19 | ≥25 | ≤6 |
| **Мономіцин** | 30 | МОН | ≤13 | 14-17 | ≥18 | - | ≤10 |
| **Гентаміцин** | 10 | ГЕН | ≤15 | - | ≥16 | 6 | ≤4 |
| **Сизоміцин** | 10 | СИЗ | - | - | - | ≥6 | ≤4 |
| **Тетрациклін** | 30 | ТЕТ | ≤16 | 17-21 | ≥22 | ≥12 | ≤2 |
| **Доксициклін** | 10 | ДОК | - | - | - | ≥12 | ≤2 |
| **Еритроміцин** | 15 | ЕРИ | ≤17 | 18-21 | ≥22 | ≥8 | ≤2 |
| **Олеандоміцин** | 15 | ОЛЕ | ≤16 | 17-20 | ≥21 | ≥8 | ≤2 |
| **Лінкоміцин** | 15 | ЛІН | ≤19 | 20-23 | ≥24 | ≥8 | ≤2 |
| **Левоміцетин** | 30 | ЛЕВ | ≤15 | 16-18 | ≥19 | ≥16 | ≤8 |
| **Рифампіцин** | 5 | РІФ | ≤12 | 13-15 | ≥16 | ≥8 | ≤2 |
| **Фузидин** | 10 | ФУЗ | - | - | - | ≥16 | ≤2 |
| **Поліміксин** | 300 ОД | ПОЛ | ≤11 | 12-14 | ≥15 | ≥50 ОД/мл | - |
| **Ристоміцин** | 30 | РІС | ≤9 | 10-11 | ≥12 | - | ≤5 |

**Таблиця 2**

**Визначення індексу БГКП при посіві 333 см$^3$ води**

| Кількість позитивних результатів аналізу води з: | | | Індекс БГКП (колі-індекс) | Колі-титр |
|---|---|---|---|---|
| трьох флаконів по 100 см$^3$ | трьох пробірок по 10 см$^3$ | трьох пробірок по 1 см$^3$ | | |
| 0 | 0 | 0 | <3 | >333 |
| 0 | 0 | 1 | 3 | 333 |
| 0 | 1 | 0 | 3 | 333 |
| 1 | 0 | 0 | 4 | 250 |
| 1 | 0 | 1 | 7 | 143 |
| 1 | 1 | 0 | 7 | 143 |
| 1 | 1 | 1 | 11 | 91 |
| 1 | 2 | 0 | 11 | 91 |
| 2 | 0 | 0 | 9 | 111 |
| 2 | 0 | 1 | 14 | 72 |
| 2 | 1 | 0 | 15 | 67 |
| 2 | 1 | 1 | 20 | 50 |
| 2 | 2 | 0 | 21 | 48 |
| 2 | 2 | 1 | 28 | 36 |
| 3 | 0 | 0 | 23 | 43 |
| 3 | 0 | 1 | 39 | 26 |
| 3 | 0 | 2 | 64 | 16 |
| 3 | 1 | 0 | 43 | 23 |
| 3 | 1 | 1 | 75 | 13 |
| 3 | 1 | 2 | 120 | 8 |
| 3 | 2 | 0 | 93 | 11 |
| 3 | 2 | 1 | 150 | 7 |
| 3 | 2 | 2 | 210 | 5 |
| 3 | 3 | 0 | 240 | 4 |
| 3 | 3 | 1 | 460 | 2 |
| 3 | 3 | 2 | 1100 | 09 |
| 3 | 3 | 3 | >1100 | >0,9 |

## БІБЛІОГРАІФЧНИЙ СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ


1. Андреюк Е.И., Валагурова Е.В. Основы экологии почвенных микроорганизмов. − К.: Наук. думка, 1992. − 118 с.
2. Асонов Н.Р. Микробиология. − 4-е изд., перераб. и доп. − М.: Колос, 2002. − 352 с.
3. Асонов Н.Р. Практикум по микробиологии. – Изд. 2-, перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1988. – 155 с.
4. Бойко А.Л. Экология вирусов растений. – К.: Выща школа, 1990. – 165 с.
5. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – №1. – С. 66-70.
6. Бондаренко В.М., Диходед В.Г., Воробьев А.А. Иммунорегуляция численности грамотрицательной микрофлоры кишечника // ЖМЄИ. – 2004. – № 4. – С. 90-93.
7. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. − М.: Мед. информ. агентство, 2002. − 734 с.
8. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології: Навчальний посібник. − К.: Либідь, 2001. − 144 с.
9. Великий В.И., Мудрый И.В. Некоторые эколого-гигиенические аспекты интесивного применения азотных минеральных удобрений в сельском хозяйстве // Довкілля та здоров’я. – 1999. – Т. 11, № 4. – С. 55-58.
10. Вершигора А.Е. Общая иммунология. – Киев: Высшая школа, 1990. – 735 с.
11. Веселов А.Я. Современные представления о нормальной микрофлоре пищеварительного тракта взрослого человека и изменениях ее в норме и при некоторых заболеваниях органов пищеварения (обзор литературы) // Лабораторное дело. – 1988. – № 4. – С. 3-11.
12. Виноградова Р.П., Бердишев Г.Д., Верьовка С.В. Біохімія та генетика білків пріонів, збудників губкоподібних енцефалопатій. – К.: Фітосоціоцентр, 2000. – 56 с.
13. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. − М: Мир, 1978. − 429 с.
14. Горбач Т.І., Баб’як М.В., Миколаєнко Ж.І. Вплив інсектицидів на ґрунтову мікрофлору // Науково-технічні, економічні та екологічні основи механізації процесу підвищення родючості ґрунту: Тези доп. – К., 1991. – С. 45-46.
15. Громов Б.В, Павленок Г.В. Экология бактерий. − Л.: Изд. ЛГУ, 1989. − 247 с.
16. Гусев М.А., Минеева Л.А. Микробиология. − 4-е изд. − М.: Издательский центр «Академия», 2003. − 464 с.
17. Егоров Н.С. Основы учения о антибиотиках. – М.: Высшая школа, 1986. − 455 с.
18. Езепчук Ю.В. Биомолекулярные основы патогенности бактерий. – М.: Наука, 1977. – 216 с.
19. Патика В.П., Омельянець Т.Г., Гриник І.В., Петриченко В.Ф. Екологія мікроорганізмів: Посібник / За ред. В.П. Патики. − К.: Основа, 2007. − 192 с.
20. Жданов В.М. Эволюция вирусов. – М.: Медицина, 1990. – 223 с.
21. Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Широбоков В.П. Практична мікробіологія: Посібник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.
22. Кордюм В.А. О концепции «вирусы» и их место в биосфере // Биополимеры и клетка. – 2000. – Т.16, № 2. – С. 87-98.
23. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для мед. Вузов. – 2-е изд. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 591 с.
24. Краткий определитель бактерий Берги / Под. ред. Дж. Хоулта. – М.: Мир, 1980. – 495 с.
25. Круглов Ю.В. Микрофлора почвы и пестициды. – Москва: Агропромиздат. – 1991. – 129 с.

26. Лобзин Ю.Б., Макарова В.Г., Корвякова Е.Р., Захаренко С.М. Дисбактериоз кишечника (клиника, диагностика, лечение) / Руководство для врачей. – Санкт-Питербург: Фолиант, 2003. – 256 с.
27. Марфенина О.Е. Реакции микроскопических грибов на загрязнение почв тяжелыми металлами // Биологические науки. – 1989. – № 9. – С. 89-93.
28. Медицинская микробиология / Под ред. В.И. Покровского, О.К. Поздеева. – М.: ГЭОТАР, 1998. – 1183с.
29. Микробиология. К.Д. Пяткин, Ю.С. Кривошеин. − М.: Медицина, 1980. − 512 с.
30. Нетрусов А.И. Микробиология: учебник для студентов высших учебных заведений / А.И. Нетрусов, А.И. Котова. – М.: Издательский центр «Академия». – 2006. – 352 с.
31. Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М. и др. Экология микроорганизмов / Под ред. А. И. Нетрусова. − Москва: Изд.центр «Академия», 2004. − 272 с.
32. Общая микробиология / Под ред. А. Е. Вершигоры. − К.: Выща шк. Головное изд-во, 1988. − 343 с.
33. Поліщук В.П., Будзанівська І.Г., Рижук С.М., Патика В.П., Бойко А.Л. Моніторинг вірусних інфекцій рослин в біоценозах України. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 220 с.
34. Попкова К.В. Общая фитопатология. М.: Агропромиздат, 1989. – 399 с.
35. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера. − М.: Медицина, 1982. – 461 с.
36. Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж. Мир микробов: в 3-х т. – М.: Мир, 1979.
37. Федоровская Е. А., Немировская Л. И. Взаимосвязь микробных экосистем и иммунитета человека // Мікробіологічний журнал – 1999. – Т.61, № 5. – С. 85-95.
38. Фитопатогенные микроорганизмы: Учеб.-метод. комплекс для студентов биологического факультета / Под ред. Р. А. Желдакова, В. Е. Мямин. – Мн.: БГУ, 2006. – 116 с.
39. Чайка В.Є. Практикум з мікробіології. Навчальний посібник. − Вінниця: Книга-Вега, 2004. − 96 с.
40. Черников В.А., Алексахин Р.М., Голубев А.В. и др. Агроэкология: Учебник / Под ред. В.А. Черникова, А.И. Черкаса. – Москва: Колос. – 2000. – 536 с.
41. Шлегель Г. Общая микробиология. − М.: Мир, 1987.−567с.
42. Fioramonti J., Theodorou V., Bueno L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? // Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. – 2003. – Vol. 17, № 5, P. 711-724.
43. Fukushima Y., Kawata Y., Hara H., Terada A., Mitsuoka T. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children // Int J Food Microbiol. – 1998. – Vol. 42, № 1-2, P. 39 – 44.
44. Guslandi M. Probiotics for chronic intestinal disorders // The American Journal of Gastroenterology. – 2003, Volume 98, № 3, P. 520-521.
45. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract // International Journal of Food Microbiology. – 2003. – Vol. 88, № 2-3, P. 123-131.

# ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК


**А**
Агресивність, 76
Адгезивність, 15
Аероби, 59
Азотобактерин, 40
Азотфіксатори
  вільноживучі, 36
  симбіотичні, 37
Азотфіксація, 35
Аменсалізм, 12
Амоніфікація, 32
Анаероби
  облігатні, 59
  факультативні, 59
Антагонізм
  активний, 12
  пасивний, 11
Антагоністичні відносини, 11
Антибіотики, 21
Антибіотикочутливість, 134
  диско-дифузійний метод, 134
  метод серійних розведень, 135
Ареал, 8
Асоціація, 7

**Б**
Бактеріофаг, 128
  вірулентний, 129
  життєвий цикл, 129
  інфекційний, 129
  неінфекційний, 129
Бактеріофотофора, 85
Біотехнологія, 106
Біотоп, 7
Біоценоз, 7

**В**
Важкі метали, 100
Виразки, 77
Вірулентність, 15,75
Віруси
  бактерій, 128
  грибів, 125
  ентомопатогенні, 121
  рослин, 115
  тварин, 110
Вірусна інфекція
  альтернативна, 111
  латентна, 111
  онкогенна, 111
  повільна, 111
В'янення, 77

**Г**
Гербіциди, 96
Гідрогеносоми, 83
Гіполімніон, 64
Гнилі, 77
Головня, 78

**Д**
Денітрифікація, 34
  асиміляційна, 35
  дисиміляційна, 35
Десульфурація, 44
Деформація листків, 78
Дисбактеріоз кишечнику, 90

**Е**
Евтрофікація, 106
Екзотоксини, 16
Екологічна ніша, 9
Екосистема,7
Ендотоксини, 16
Епілімніон, 64
Епіфіти, 72
Епіфітотії, 76

**З**
Забруднення
  біологічні, 94
  нестійкі, 94
  стійкі, 94
  фізичні, 94
  хімічні, 94
Залізобактерії, 48
Зараження, 78
Зони сапробності
  катаробна, 67

мезасапробна, 66
олігосапробна, 67
полісапробна, 66

**І**
Імунність, 116
Інсектициди, 96

**К**
Коменсалізм, 10
Конкуренція, 12
Консументи, 9
Колі-індекс, 67
Колі-титр, 67
Кругообіг речовин, 31
азоту, 32
вуглецю, 40
заліза, 48
сірки, 44
фосфору, 50

**Л**
Леггемоглобін, 37
Лізогенія, 129
Лізогенна конверсія, 129

**М**
Метабіоз, 11
Металімніон, 64
Мікробіологічний аналіз
води, 140
ґрунту, 143
зіву, 153
молока, 157
м'яса, 159
на дисбактеріоз кишечнику, 151
повітря, 138
шкіри рук, 151
Мікробіальний планктон, 63
Мікробний ценоз, 7
Мікориза, 75
ектотрофна, 75
ендотрофна, 75
Мікроорганізми
барофільні, 54
галофільні, 54
мезофіли, 55
осмотолерантні, 54
осмофільні, 54
психрофіли, 54
термофіли, 55
умовно-патогенні, 18
фітопатогенні, 75
фосфатмобілізуючі, 51
Мікрофлора
автохтонна, 64
аллохтонна, 64
води, 63
ґрунту, 68
дихальних шляхів, 87
епіфітна, 72
нормальна, 86
повітря, 62
прикоренева, 73, 149
ризосферна, 73, 149
ротової порожнини, 87
травного тракту, 88
шкіри, 87
Міцетом, 84
Міцетоцин, 84
Мозаїки, 77
Муміфікація, 78
Мутуалізм, 11

**Н**
Надчутливість, 116
Нейтралізм, 10
Некрози, 77
Нематоциди, 96
Нітрифікація, 33

**П**
Паразитизм, 12
Парша, 78
Патоген, 79
Патогенність, 15, 75
Популяція, 7
мікробна, 7
Пестициди, 96
Плямистість, 77

Потенціал інокулюму, 79
Пребіотики, 92
Пробіотики, 92
Продуценти, 9
Прояв захворювання, 80
Пустули, 78
Пухлини, 77

**Р**
Радіонукліди, 109
  природні, 109
  штучні, 109
Родентицид, 96
Розщеплення
  крохмалю, 41
  ксилану, 44
  легніну, 42
  пектинових речовин, 41
  целюлози, 42
Рослина-індикатор, 117

**С**
Санітарно-мікробіологічний контроль, 154
Сапробність, 66
Сапротрофи, 9
Сателітизм, 11
Симбіотичні відносини, 10
Синбіотики, 92
Синергізм, 11
Синтрофія, 10
Системне ураження, 110
Сіркобактерії
  безбарвні, 46
  зелені, 47
  пурпурні, 47
Сукцесія, 8,87
  аллогенна, 8
  аутогенна, 8
  деградаційна, 8
  мікробна, 8
Сульфатне дихання, 47
Сульфофікація, 45

**Т**
Тіонові бактерії, 45
Токсиногенність, 16
Толерантність, 116

**Ф**
Фагоіндикація, 131
Фактори середовища
  фізичні, 53
  хімічні, 58
Філосфера, 72
Фітовіруси, 145
Фітонциди, 25
Фітопатогени, 75
Фосформобілізуючі мікроорганізми, 51
Фосфоробактерин, 51
Фунгіциди, 96

**Х**
Хижацтво, 13
Хлорози, 77

**Ш**
Штам
  виробничий, 107
  продуцент, 107

**Щ**
Щільність популяції збудника, 79

Навчальне видання

**«Екологія мікроорганізмів». Навчальний посібник.**

Марина Валеріївна Кривцова − *к.б.н., доц. каф. генетики, фізіології рослин і мікробіології біологічного факультету УжНУ.*

Маріанна Віталіївна Ніколайчук − *асистент кафедри терапії та сімейної медицини факультету післядипломної освіти УжНУ.*

**Рекомендовано до друку:**

Рішенням редакційно-видавничої ради УжНУ:
протокол № 2 від 22 червня 2010 року.

Рішенням Великої Вченої Ради УжНУ:
Протокол № 6 від 24 червня 2010 року.

Корекція − Фролова А.О.
Дизайн обкладинки − Христиченко Г.Ю.