
ЗАГАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ



Ніжин – 2023

Ніжинський державний університет
імені Миколи Гоголя

ЗАГАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ

Навчальний посібник

Укладачі:

С. О. Приплавко,

В. М. Гавій

Ніжин – 2023

УДК 579.2(075.8)

314

Рекомендовано до друку Вченою радою
Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя
(НДУ ім. М. Гоголя)
Протокол № 01 від 27.09.2023 р.

Рецензенти:

Кучменко О. Б. – доктор біологічних наук, професор кафедри біології
Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя;

Шейко В. І. – доктор біологічних наук, професор кафедри біології
Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя.

Приплавко С. О., Гавій В. М.

314 Загальна мікробіологія: навч. посібн. – Ніжин: НДУ ім. М. Гоголя, 2023. –
117 с.

У навчальному посібнику висвітлено основні питання загальної мікробіології, зокрема історія розвитку науки, місце мікроорганізмів у системі живих істот; морфологія, фізіологія, систематика мікроорганізмів; поширення мікроорганізмів у природі і їх роль у кругообігу речовин і енергії; вплив чинників зовнішнього середовища на життєдіяльність мікроорганізмів.

Для студентів та викладачів біологічних та екологічних спеціальностей вищих навчальних закладів III – IV рівня акредитації.

УДК 579.2(075.8)

© Приплавко С. О., Гавій В. М.,
укладання, 2023

© НДУ ім. М. Гоголя, 2023

ПЕРЕДМОВА

У навчальному посібнику висвітлено основні питання сучасної мікробіології за програмою підготовки студентів біологічних спеціальностей вищих навчальних закладів.

Навчальний посібник складається з 2 частин: «Курс лекцій» та «Лабораторний практикум».

Виклад матеріалу розпочинається з короткого історичного нарису про відкриття мікроорганізмів і становлення мікробіології. Розглянуто місце мікроорганізмів у системі живого, їхню будову та хімічний склад, живлення, методи культивування, вплив факторів середовища. Доволі повно представлено різноманітність прокаріотичних мікроорганізмів, поширення у природі, їх роль у кругообігу речовин і енергії. Висвітлено особливості енергетичного та пластичного обмінів мікроорганізмів, механізми регулювання цих процесів, а також можливі шляхи використання мікроорганізмів і продуктів їхнього метаболізму у практичних цілях. Матеріал окремих лекцій навчального посібника присвячений взаємовідносинам між мікроорганізмами та мікро- і макроорганізмами: з рослинами, тваринами та людиною.

Теоретичні положення, які студент вивчає у лекційному курсі загальної мікробіології, закріплюються та поглиблюються при виконанні лабораторних робіт. Одночасно, під час лабораторних занять студент набуває необхідних умінь та навичок проведення мікробіологічних досліджень. Лабораторний практикум містить методичні рекомендації по виконанню 12 лабораторних робіт.

Навчальний посібник може бути корисним викладачам та студентам біологічних та екологічних спеціальностей вищих навчальних закладів III – IV рівня акредитації.

Частина 1.

КУРС ЛЕКЦІЙ

ЛЕКЦІЯ 1.

Вступ. Мікробіологія як наука

Мікробіологія – наука про найдрібніші і найпоширеніші, невидимі для неозброєного ока, живі організми, які за свої мікроскопічні розміри дістали назву мікроорганізми або мікроби. Різноманітні представники світу мікробів належать до різних таксонів. Серед них вирізняють бактерії, ціанобактерії, актиноміцети, рикетсії, а також деякі мікроскопічні гриби та найпростіші, які детально вивчаються в курсах мікології і протозоології.

Мікробіологія (грец. *mikros* – малий, *bios* – життя, *logos* – вчення) вивчає морфологію, систематику, фізіологію і біохімію, генетику, екологію мікроорганізмів, їхню роль і значення в кругообігу речовин, патології людини, тварин і рослин, досліджує загальні умови їхньої життєдіяльності і способи спрямування цієї діяльності на користь людині. Особливу увагу мікробіологічна наука приділяє дослідженню найчисленнішої групи мікроорганізмів – бактеріям, що є основним предметом її вивчення.

Методи вивчення мікроорганізмів оригінальні і специфічні, пов'язані із малими розмірами досліджуваних об'єктів. Виділяють такі етапи дослідження мікроорганізмів:

I етап – початковий. На цьому етапі мікроорганізми виділяють у чисту культуру. Чисті культури отримують з однієї клітини, працюючи в стерильних умовах, шляхом вирощування ізолюваних колоній мікроорганізмів, зазвичай у чашці Петрі, яка має містити відповідні поживні речовини для досліджуваного мікроорганізму. Чашки Петрі утримуються у відповідних умовах достатньо довго, щоб з'явилися видимі ізолювані колонії. Таким чином проводять культивування мікроорганізмів, які підлягають дослідженню. Важливою умовою цього етапу дослідження є дотримання правил стерильності та відповідний підбір складу поживного середовища для вирощування мікроорганізмів конкретного виду.

II етап – світлова та електронна мікроскопія. На цьому етапі дослідження мікроорганізмів виготовляють прижиттєві та фіксовані мікропрепарати. Для вивчення окремих структур клітини прокаріот застосовують прості або диференційовані фарбування мікропрепаратів.

III етап – застосування методів фізіології, біохімії, генетики, молекулярної біології для детального вивчення мікроорганізмів певного виду.

Положення мікроорганізмів у загальній системі живого світу

До середини ХІХ століття всі організми за структурними та функціональними ознаками поділяли на два царства: царство Рослини (*Plantae*) та царство Тварини (*Animalia*). Після відкриття мікроскопа Антоні ван Левенгуком (1683 рік) почав накопичуватись матеріал про дрібні організми, які не можна було віднести ні до рослин, ні до тварин. Вже в 1866 році Е. Геккель висловив думку про необхідність виділення третього царства, яке він запропонував назвати Протисти (*Protista*). Експериментальні підтвердження та уточнення особливостей будови та життєдіяльності протист тривало до середини ХХ століття. Вивчення організмів на клітинному рівні дало змогу розділити організми за двома різними типами клітин на дві групи – організми, які у клітині мають ядро та організми, у яких ядро в клітині відсутнє. На той час вже були з'ясовані основні відмінності в будові клітин організмів, які не мають ядер. Ці відмінності заключались в тому, що:

1. Ядерний матеріал таких організмів не обмежений мембраною від цитоплазми.
2. У цитоплазмі відсутні мембранні органели. Іноді вони присутні, але мембрани таких структурних компонентів не суцільні і забезпечують тісний взаємозв'язок із цитоплазмою.
3. У цитоплазмі наявні малі рибосоми 70-S типу, на відміну від рибосом ядерних клітин, які мають константу седиментації 80-S.

На даний час відомо, що представники мікроскопічних організмів є серед представників усіх царств. Особливе місце серед всіх мікроорганізмів займають безядерні організми – прокаріоти, які є основним предметом вивчення мікробіології. Прокаріотичні організми мають такі специфічні риси, які крім відсутності ядра у клітині вирізняють їх серед інших представників живого світу:

1. Прокаріоти є багаточисельними і дуже різноманітними. Їх вік – 3-3,5 млн. років, що говорить про те, що вони є найбільш старими жителями нашої планети. При цьому відомо, що деякі бактерії з'явилися недавно. Прокаріоти займають практично всі екологічні ніші. Їх знайшли у льодах Арктики, нафтових скважинах, у водах гарячих джерел, у будь-яких ґрунтах та природних водоймах, у повітрі на висоті 85 км над поверхнею, а також в організмах інших організмів.
2. Прокаріоти мають слабку морфологічну диференціацію у порівнянні з еукаріотами.
3. Прокаріоти мають метаболізм, який відрізняється великою різноманітністю та пластичністю. Так, за джерелом енергії вони можуть бути фототрофами або хемотрофами. По відношенню до кисню вони поділяються на аероби та анаероби. За джерелом Карбону можуть бути автотрофами або гетеротрофами. У процесах життєдіяльності вони можуть використовувати як природні речовини, так і речовини хімічного синтезу такі як, каучук, пластмаси, солярку, парафін, пестициди тощо.

4. Їх рівень метаболізму є дуже високим завдяки активності їхніх ферментативних систем. Саме через це прокаріоти можуть розкласти будь-які речовини у процесах своєї життєдіяльності.
5. Прокаріоти мають високу швидкість розмноження при порівняно простій структурній організації.

Через такі особливості прокаріотичні організми є вдалимими об'єктами різноманітних досліджень. Їх використовують як вдалі об'єкти для генетичних досліджень, а також все більшої уваги їм приділяють у біотехнологічних процесах.

Мікроорганізми в природі та в народному господарстві

Мікроорганізми перебувають скрізь: у ґрунті, воді, повітрі, на предметах, які нас оточують, на продуктах харчування і кормах, рослинах, на поверхні тіла і в шлунково-кишковому тракті людини і тварин. Їх знаходять у снігах Антарктиди і в гарячих джерелах – гейзерах, у пекучих пісках пустель, у стратосфері, глибинах шахт, морів та океанів тощо. Мікроби, займаючи майже всі екологічні ніші, становлять чи не найбільшу складову живої речовини нашої планети.

В усіх сферах природи на частку мікробів припадає переважна більшість біохімічних перетворень. У безупинному циклі перетворень: мінеральні речовини – зелені рослини – тварини – мікроорганізми – мінеральні речовини – вирішальна роль належить мікробам. Вони зумовлюють кругообіг речовин і енергії в природі. З життєдіяльністю мікроорганізмів пов'язане утворення деяких руд, кам'яного і бурого вугілля, торфу та інших корисних копалин.

Винятково важливе значення мають мікроорганізми, що їх використовують у різних галузях народного господарства, наприклад, у таких необхідних для життя людини процесах, як випікання хліба, виробництво молочнокислих продуктів, ферментів, кормового білка, амінокислот, вітамінів, антибіотиків, гормонів, вакцин та інших лікарських препаратів, органічних кислот, стимуляторів росту, бактеріальних добрив, засобів захисту рослин тощо. Мікробіологічні процеси лежать в основі виробництва спирту, вина, пива, силосування кормів для тварин та ін.

Сучасні досягнення мікробіологічної науки дозволили вченим розробити теоретичні основи технології бактеріального вилужування кольорових, рідкісних і благородних металів з бідних руд, рудних концентратів, відходів гірничовидобувної промисловості, оскільки існуючі технології одержання з таких руд міді, нікелю, хрому, олова, молібдену, урану, золота тощо ще недостатньо ефективні.

Досягнення сучасної мікробіології ґрунтуються на розвитку фізики, хімії, біохімії, молекулярної біології, генетики, фізіології та інших природничих наук. Мікробіологію не можна вивчати у відриві від цих наук, бо деякі з них є основою для розуміння її положень, а інші – забезпечують практичне застосування її досягнень. Знання з ботаніки і зоології полегшують вивчення мікробіології, зокрема таких її розділів, як місце і роль

мікроорганізмів у природі, анатомія і морфологія бактерій, систематика й походження мікробів тощо.

Знання з біохімії, фізико-хімічної біології та фізіології допомагають розкривати чимало нових аспектів життєдіяльності мікробів, наприклад, те, що мікроорганізми синтезують нові класи органічних сполук, здійснюють в органічній хімії ряд нових типів реакцій; мікроорганізми використовують як моделі для біохімічних, фізіологічних і генетичних досліджень.

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

У вирішенні ряду глобальних проблем: дефіцит харчового білка внаслідок збільшення населення Землі, надзвичайно швидке вичерпування природних ресурсів, які не поновлюються, енергетична криза, антропогенне забруднення довкілля тощо, повинна відіграти сучасна біотехнологія, стрижнем якої є мікробіологія.

Біотехнологія виникла ще в сиву давнину разом з появою хліборобства і тваринництва. Саме ця первісна примітивна біотехнологія спричинилася до виникнення людської цивілізації. Як науковий термін «біотехнологію» вперше було використано угорським ученим К. Ерекі 1919 р. на позначення тих робіт, наслідком яких продукція одержується за допомогою живих організмів, як одноклітинних, так і багатоклітинних.

Європейська федерація з біотехнології у 1984 р. визначила біотехнологію як інтегроване використання біохімії, мікробіології та інженерних наук з метою технологічного (промислового) застосування можливостей мікроорганізмів, культури клітин тканин та їх частин, а Європейська комісія доповнила – ще й для того, щоб забезпечити людей потрібними продуктами і послугами.

Нині біотехнологія посідає одне з перших місць у розвитку науковотехнічного прогресу. Вважають, що за її допомогою докорінно зміняться способи вирішення таких кардинальних проблем, як забезпечення людства продовольством, охорона здоров'я, задоволення енергетичних потреб, охорона довкілля.

Останнім часом біотехнологія досягла відчутних успіхів у розвитку промислової мікробіології, підприємства якої постачають селу, крім кормового білка, незамінні амінокислоти (лізин, глютамінову кислоту, треонін та інші), ферменти, ветеринарні антибіотики, вітаміни, премікси, біожири, бактеріальні добрива, мікробіологічні засоби захисту рослин, поживні середовища, стартові корми для молодняка і цінних порід риб.

Випускаються також препарати для потреб харчової (ферментні препарати, різні закваски для хлібопечення і приготування молочнокислих продуктів), текстильної, хімічної, медичної, кондитерської, парфумерної та інших галузей промисловості, а також для наукових цілей. Мікробіологічна промисловість випускає нині понад 150 різних видів продукції.

За допомогою мікроорганізмів дістають додаткові джерела енергії у вигляді біогазу, етанолу, метанолу, водню тощо внаслідок використання ними відходів сільського господарства, промисловості, а також сонячної енергії. Використання метанолу і етанолу як моторного палива або добавок до нього ілюструє істотний вклад мікробіології у вирішення енергетичної проблеми. У деяких випадках біотехнологія дозволяє водночас вирішувати як енергетичні, так і екологічні проблеми.

Розвиток біотехнології збігається із новою ерою – генної і клітинної інженерії. До середини 80-х років були розроблені методи рекомбінування і конструювання генів із клітин і удосконалення методики перенесення їх в мікробні клітини. У 1980–1982 рр. опрацьовано методи перенесення генів у тваринні і рослинні організми. Такі організми одержали назву трансгенних.

Успіхи генної і клітинної інженерії відкривають небачені раніше перспективи. Наприклад, застосування генно-інженерних методів (технології рекомбінантних ДНК) дало змогу створити високопродуктивні мікроорганізми-продуценти, що синтезують такі цінні речовини, як білки одноклітинних організмів, незамінні амінокислоти (лізин, треонін, глютамінова кислота), вітаміни (В₁, В₁₂, С), антибіотики, які застосовуються в сільському господарстві проти шкідників; пеніциліни, тетрацикліни, цефалоспоріни, стрептоміцини, гентаміцини, еритроміцини та багато інших антибіотиків, потрібних у медицині, а також гормони (інсулін, соматостатин, соматотропін, еритропоетин, енкефаліни і ендорфіни), інтерферони, інтерлейкіни, ферменти (амілаза, хімосин, протеази, целюлаза, холестеролоксидаза, супероксиддисмутаза, аспарагіназа тощо).

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

Загальна мікробіологія вивчає хімічний склад, структуру, загальні закономірності життєдіяльності, екологію і систематику бактерій, а тому є обов'язковим розділом усіх інших мікробіологічних дисциплін.

Сільськогосподарська мікробіологія досліджує роль мікроорганізмів у родючості ґрунту, у формуванні його структури. Вивчає фітопатогенні мікроорганізми і способи захисту рослин від інфекцій, участь мікробів у кругообігу речовин у природі, у живленні рослин, силосуванні кормів тощо.

Медична та ветеринарна мікробіологія вивчають переважно ті види мікробів, які в процесі еволюції пристосувались до паразитування у людському або тваринному організмі і цим спричиняють низку інфекційних

захворювань. Вивчення збудників цих захворювань, засоби профілактики і лікування інфекційних хвороб – основне завдання медичної та ветеринарної мікробіології.

Водна мікробіологія досліджує заселення мікробами прісних і солоних водойм, їхню роль і значення в кругообігу речовин та трофічних зв'язках, виявляє еколого-географічні закономірності розподілу мікроорганізмів. Вона також опрацьовує дуже важливу проблему очищення питної води, а також промислових і стічних вод.

Геологічна мікробіологія вивчає роль і значення мікроорганізмів у геологічних процесах, з'ясовує їхню участь в утворенні й розкладанні різних руд, горючих копалин, сірки тощо. Розробляє мікробіологічні способи добування металів із руд.

Технічна мікробіологія розробляє наукові основи використання біохімічної діяльності мікроорганізмів у різних виробничих процесах. Чимало виробництв легкої, харчової, хімічної та інших видів промисловості ґрунтуються на процесах, що їх спричинюють мікроби. Наприклад, приготування тіста для випікання хліба, виготовлення молочнокислих продуктів, квашення овочів і силосування кормів, мікробіологічний синтез білків, амінокислот, ферментів, вітамінів, фізіологічно активних речовин, лікарських препаратів тощо. Технічна мікробіологія розробляє технологію виробництва органічних кислот, спирту, вина, пива, замочування прядивних культур, внесення бактеріальних добрив і засобів захисту рослин; серед її завдань вирізняють також розроблення методів боротьби з корозією металів тощо.

Космічна мікробіологія вивчає вплив космічних умов на мікроорганізми, наявність мікробів у метеоритах. Розробляє методи запобігання занесенню земних мікроорганізмів на інші планети і, можливо, звідти на Землю.

Важливим завданням космічної мікробіології є також дослідження і розв'язання проблеми кругообігу речовин на космічних кораблях і орбітальних станціях для забезпечення життєдіяльності космонавтів під час тривалих космічних польотів.

ЛЕКЦІЯ 2.

Структурна організація прокариотичної клітини

Форми бактерій

Бактерії (від лат. *bacteria* – паличка) відрізняються, порівняно із еукаріотичними організмами, простішою будовою. За зовнішнім виглядом і формами клітин їх поділяють на такі основні групи:

- кулясті (коки),
- паличкоподібні (бактерії, бацили, клостридії),
- звивисті (вібріони, спірили і спірохети),
- нитчасті (сіркобактерії, залізобактерії тощо).

Коки (лат. *coccus* – зерно). Кулясті бактерії – коки бувають:

- сферичні,
- еліпсоподібні,
- бобовидні,
- ланцетоподібні.

За характером поділу, розміщенням й біологічними властивостями вони поділяються на:

- мікрококи,
- диплококи,
- стрептококи,
- тетракоки,
- сарцини,
- стафілококи.

Мікрококи (лат. *micrococcus* – маленький) характеризуються поодиноким розміщенням клітин під час поділу і розміщенням клітин після поділу в одній площині. Їх завжди можна знайти у ґрунті, воді, повітрі (*Micrococcus albus*, *Micrococcus acva*, *Micrococcus luteus* та ін.).

Диплококи (лат. *Diplococcus* – подвійний) – це коки, які діляться в одній площині і після поділу їх клітини розміщуються попарно. До них належать представники як сапрофітних, так і патогенних мікроорганізмів (*Azobacter chroococcum*, *Neisseria gonorrhoeae*).

Стрептококи (лат. *streptococcus* – витий) – це коки, які утворюють ланцюжки під час поділу і розміщуються в одній площині, як і диплококи (*Streptococcus lactis*, *S. faecalis*).

Тетракоки (грец. tetra – чотири) – це коки, які діляться в двох взаємно перпендикулярних площинах і після поділу утворюють тетради. Ця форма бактерій зустрічається рідко. Вперше їх було описано німецьким бактеріологом Г. Гаффкі (*Gaffkya tetragena*, *Aetococcus*).

Сарцини (лат. *sarcio* – зв'язую) – це коки, розміщені у формі правильних пакунків по 8-16 і більше клітин. Вони діляться в трьох взаємноперпендикулярних площинах. Найчастіше сарцини трапляються в ґрунті і повітрі, наприклад *Sarcina flava*, *Sarcina urea* та ін.

Стафілококи (грец. staphyle – виноградне гроно) – кулясті бактерії, які діляться у кількох площинах і утворюють скупчення, що нагадують виноградні грона. Патогенні стафілококи, наприклад, золотистий стафілокок (*Staphylococcus aureus*), є збудниками гнійних інфекцій. Серед стафілококів є й сапрофіти, наприклад *Staphylococcus saprophyticus*.

Палички (лат. *bacteria* – паличка). Паличкоподібні (циліндричні) форми характерні для більшості бактерій. Їх поділяють на дві групи – бактерії та бацили. Бактерії, як правило, не утворюють ендоспор. Бацилами називають бактерії, які здатні утворювати ендоспори. Кінці паличкоподібних бактерій частіше заокруглені, проте вони можуть бути обрубаними або загостреними. Вони також розрізняються за довжиною і поперечним діаметром. Подібно до коків, паличкоподібні бактерії можуть розміщуватися парами вздовж – диплобактерії і диплобацили (*Pseudomonas*, *Bacillus*) та ланцюжками – стрептобактерії або стрептобацили, наприклад сінна паличка (*Bacillus subtilis*), збудник сибірки (*B. anthracis*) та ін. Серед деяких видів паличкоподібних бактерій, особливо в старих культурах, бувають різновиди, які мають бокові вирости (туберкульозна паличка). Є також бактерії, що можуть утворювати булавовидні потовщення (збудники дифтерії).

До **звивистих** бактерій належать вібріони, спірили і спірохети. Вони розрізняються не тільки за довжиною і товщиною, а й за ступенем зігнутої їхніх клітин.

Вібріони (лат. *vibrio* – згинаюся) – це мікроби, які мають вигляд коми (згин їхнього тіла не перевищує 1/4 оберта спіралі). Типовим представником цих мікробів є збудник холери (*Vibrio cholerae*).

Спірили (лат. *spira* – вигин, згин) – це звивисті бактерії, які мають один або кілька повних витка. Представниками непатогенних спірил є пурпурна фототрофна бактерія – *Rhodospirillum rubrum*, сапрофітна бактерія – *Spirillum volutans* та інші.

Спірохети (лат. *spira* – вигин, грец. *chaite* – грива) – бактерії, що мають вигляд зігнутого довгого гвинта. Звивистість клітин спірохет зумовлена характером їхнього руху. Серед цих бактерій є як сапрофітні, так і патогенні види. До сапрофітів належать *Spirochaeta plicatilis*, що живуть у воді, *Spirochaeta buccalis*, які населяють ротову порожнину. До патогенних належать зубна спірохета (*Treponema macrodentinum*), збудник сифілісу (*T. pallidum*) та інші.

Нитчасті бактерії. Це переважно паличкоподібні одноклітинні і багатоклітинні організми. Їхні нитки утворені багатьма клітинами, які об'єднані за допомогою слизу, чохла, піхв, плазмодесм тощо. Нитчасті бактерії в основному є водними мікробами. Нитки цих бактерій можуть вільно плавати у воді (ціанобактерії, *Beggiatoa alba*) або бути прикріпленими до субстрату (*Triothrix nivea*).

Незвичайні форми бактерій. Крім перелічених основних форм прокаріотів, виявлені бактерії, які мають вигляд зімкненого або розімкненого кільця (тороїдна форма), правильної шестикутної зірки, трикутника, плоских квадратних пластинок, гантелей, червоподібних і бактерій, що утворюють

вирости (простеки) та інші форми. Існує припущення, що й надалі будуть виявлені нові форми прокаріотичних організмів.

Форма клітин прокаріотів визначається твердою (ригідною) клітинною оболонкою. Для більшості клітин бактерій форма є сталою видовою ознакою. Однак є й деякі винятки з цього правила. У циклі розвитку деяких бактерій спостерігається зміна форми клітин, наприклад у представників роду *Arthrobacter*. Для мікоплазм і L-форм бактерій, які не мають оболонки, а оточені мембраною, властива здатність приймати різні форми, тобто для них є характерним явище плеоморфізму. Отже, порівняно з різноманітністю форм, що існує у світі вищих організмів, морфологічні типи прокаріотних організмів досить обмежені.

Розміри бактерій. Переважна кількість бактерій є невидимі для неозброєного ока (мають розміри до 70-80 мкм). Діапазон розмірів бактерій досить великий. Наприклад, клітина сінної палички (*Bacillus subtilis*) має розміри у середньому 1-3 мкм завдовжки, а поперечний діаметр її дорівнює 0,5-1,2 мкм. Середні розміри палочкоподібних бактерій становлять 0,8-3,0 мкм, діаметр клітин більшості коків – 0,5-1,0 мкм. Проте серед мікроорганізмів є «гіганти», наприклад, спірохети можуть мати довжину 500 мкм, а нитчаста сіркобактерія (*Beggiatoa gigantea*) сягає розмірів 600 мкм завдовжки. У найменших бактерій – мікоплазм діаметр клітин становить 0,12-0,15 мкм.

Встановлено, що в клітині діаметром 0,15 мкм може вміститися 1200 молекул білка і відбуватися близько 100 ферментативних реакцій. Це той мінімум, який є необхідним для підтримання клітинної структури і забезпечення клітинного метаболізму. Малі розміри бактерій визначають деякі особливості їхнього метаболізму. У них дуже велике відношення поверхні клітин до об'єму, а це створює сприятливі умови для активного обміну між мікробами і зовнішнім середовищем. Розміри бактерій можуть змінюватися залежно від віку культури, складу середовища, на якому вони вирощуються, температури та інших чинників.

Будова і хімічний склад бактеріальної клітини

Ультраструктура прокаріотичної клітини вивчається за допомогою електронно-мікроскопічних, мікрохімічних та інших методів, які дають змогу з високою точністю визначити будову і хімічний склад бактерій. Завдяки цим методам вдалося встановити, що прокаріотична клітина має низку принципових особливостей ультраструктурної і хімічної організації порівняно з еукаріотичною клітиною.

Зовні цитоплазматичної мембрани бактеріальної клітини розміщуються так звані *поверхневі структури*: оболонка, капсула, слизовий чохол, джгутики і ворсинки (війки). Цитоплазматичну мембрану разом з цитоплазмою, органелами і включеннями прийнято називати протопластом. Спочатку варто ознайомитись із хімічним складом і функціями поверхневих структур бактеріальної клітини.

Клітинна оболонка

Ззовні бактеріальна клітина оточена щільною оболонкою, яку називають також клітинною стінкою. Вона є обов'язковим структурним елементом прокариотичної клітини, за винятком мікоплазм і L-форм бактерій. На клітинну оболонку припадає від 5 до 50 % сухої речовини клітини. Оболонка зумовлює відносну сталість форми клітини, є захистом від несприятливих умов довкілля, бере активну участь у обміні речовин клітини, їй належить важлива роль у регулюванні росту, поділу бактерій і розподіленні генетичного матеріалу. Товщина оболонки коливається від 0,01 до 0,05 мкм і залежить від виду бактерій, віку клітин та умов їхнього культивування.

За будовою і хімічним складом оболонка бактеріальної клітини суттєво відрізняється від клітинної оболонки еукаріотів. Її складають специфічні полімерні комплекси, яких немає в клітинних структурах інших організмів. Будова і хімічний склад оболонки є сталими для певних видів бактерій, на що зважають під час діагностування. Вважають, що саме оболонка визначає забарвлення бактерій за Грамом. Так називають розроблений данським мікробіологом Х. Грамом у 1884 р. метод фарбування мікроорганізмів, який дає змогу диференціювати бактерії.

Після забарвлення бактерій карболовим генціанвіолетом і обробки препаратів розчином йоду та промивання їх спиртом, клітини одних бактерій знебарвлюються, а інші залишаються синьо-фіолетовими. Саме за цією ознакою бактерії поділяють на дві групи: грампозитивні забарвлюються у синьо-фіолетовий колір, грамнегативні знебарвлюються. Суть фарбування мікробів за Грамом досі ще остаточно не з'ясована. Вважають, що в основі цього методу лежать будова і особливості хімічного складу клітинних оболонок бактерій.

Характер будови клітинної оболонки є важливішою ознакою, ніж саме фарбування за Грамом. Це дозволило Н. Гіббонсу і Р. Муррею ще в 1978 р. запропонувати грамнегативні еубактерії віднести до відділу грацілікутних, а грампозитивні – до відділу фірмікутних бактерій. До цих двох відділів прокариотів належить переважна більшість бактерій.

До складу оболонки прокариотів входять сім груп хімічних речовин. Хімічний склад оболонки грампозитивних і грамнегативних еубактерій досить помітно відрізняється. У перших основним компонентом клітинної стінки є пептидоглікани, які ще називають глікопептидами, мукопептидами, або муреїнами. У других – грамнегативних прокариотів – вміст цього структурного полімеру в кілька разів менший, відсутні тейхоеві кислоти тощо.

Вважають, що головним структурним компонентом оболонок більшості бактерій є пептидоглікан (муреїн). Тільки у мікоплазм, L-форм бактерій, архебактерій та деяких метаноутворюючих і галофільних бактерій він відсутній. Пептидоглікан – гетерополімер, який складається з лінійних молекул глікану. Полісахаридний кістяк муреїну побудований із залишків, які чергуються, N-ацетилглюкозоаміну і N-ацетилмурамової кислоти, з'єднаних між собою за допомогою β -1,4-глікозидних зв'язків. У грампозитивних бактерій нині виявлено близько 100 різних хімічних типів муреїну.

**Хімічний склад клітинних оболонок
грампозитивних і грамнегативних бактерій
(за Rose, 1971, Freer, Salton, 1971)**

Компоненти клітинної оболонки	Грампозитивні еубактерії	Грамнегативні еубактерії	
		Внутрішній шар (пептидоглікановий)	Зовнішній шар (зовнішня клітинна мембрана)
Пептидоглікан	+	+	-
Тейхоєві кислоти	+	-	-
Полісахариди	+	-	+
Білки	- +	-	+
Ліпіди	- +	-	+
Ліпополісахариди	-	-	+
Ліпопротеїни	-	- +	+

Примітка: + наявні у малій кількості, - + наявні не в усіх видів, - відсутні

До сітки пептидоглікану клітинної оболонки прокариотів входять також тейхоєві і тейхуронові кислоти, поліпептиди, ліпополісахариди, ліпопротеїни та ін. Тейхоєві кислоти після пептидоглікану є другим унікальним класом хімічних сполук клітинної стінки грампозитивних бактерій. Це полімери, які побудовані на основі спиртів рибіту і гліцерину, що їхні залишки з'єднані між собою фосфодієфірними зв'язками. При цьому утворюються рибіттейхоєві та гліцеролтейхоєві кислоти.

Крім тейхоєвих кислот, у оболонках грампозитивних бактерій виявлено тейхуронові кислоти, що утворюються із залишків уронових кислот та N-ацетилглюкозоаміну. При нестачі фосфору у середовищі вони спроможні замінити тейхоєві кислоти, які ковалентно можуть з'єднуватися з N-ацетилмурамовою кислотою. Їхні довгі лінійні молекули інколи пронизують увесь пептидоглікановий шар, сягаючи зовнішньої поверхні оболонки. Вільні гідроксили фосфорної кислоти, які залишаються, надають тейхоєвим кислотам властивості поліаніонів, завдяки чому ці кислоти визначають поверхневий заряд клітини.

У складі клітинної оболонки грампозитивних бактерій також виявлено у невеликих кількостях білки, ліпіди і полісахариди. З'ясовано, що полісахариди і ліпіди можуть ковалентно з'єднуватися з макромолекулами оболонки. Припускають, що білки виконують захисну функцію.

У грамнегативних еубактерій будова клітинної оболонки є набагато складнішою, ніж у грампозитивних. У середині оболонки цих бактерій міститься пептидоглікановий шар. Ззовні від нього розташований ще один шар (зовнішня мембрана), який складається з фосfolіпідів, ліпополісахаридів і білків, а під ним – цитоплазматична (внутрішня) мембрана, до складу якої також входять фосfolіпіди, білки тощо.

Білки зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій поділяють на дві групи:

1. Основні, які беруть участь у формуванні мембранних гідрофільних пор (їх ще називають поринами).
2. Мінорні білки, які виконують транспортну і рецепторну функції. Вони транспортують у клітину залізовмісні сполуки, вітаміни тощо.

Між зовнішньою і внутрішньою мембранами клітинної оболонки грамнегативних бактерій існує периплазматичний простір (периплазма), в якому, крім муреїнового шару, містяться специфічні білки, олігосахариди, неорганічні речовини і вода. Периплазматичні транспортні білки відіграють важливу роль у надходженні в клітину амінокислот, цукрів, фосфатів тощо.

Серед прокариотів виявлено види бактерій, клітинна оболонка яких за структурою та хімічним складом помітно відрізняється від грампозитивних і грамнегативних типів. Вони належать до групи архебактерій, зокрема оболонки метаноутворюючих архебактерій містять пептидоглікан особливого хімічного складу. У інших представників цієї групи клітинна стінка складається переважно з кислого гетерополісахариду. Оболонка екстремальних галофілів, метаноутворюючих та ацидотермофільних архебактерій складається тільки з білка. Ці бактерії не забарвлюються за Грамом.

Поряд з цим слід зазначити, що за певних умов прокариоти можуть існувати і без клітинних оболонок. Наприклад, за дії на клітини певними хімічними речовинами можна вилучити структури (протопласти і сферопласти), які повністю або частково позбавлені оболонки. Вперше ці структури було виявлено у разі дії на бактерії ферментом лізоцимом з яєчного білка. Встановлено, що цей фермент розриває β -1,4-глікозидні зв'язки, які з'єднують залишки N-ацетилглюкозоаміну і N-ацетилмурамової кислоти в пептидоглікані. Одержані при цьому протопласти або сферопласти набувають сферичної форми і в сприятливих умовах можуть виявляти певну метаболічну активність. Проте здатність до розмноження вони втрачають.

Унікальність структури і хімічного складу оболонки еубактерій та їх відмінність від рослинних і тваринних клітин дає змогу створювати і застосовувати медикаментозні препарати, які специфічно діють тільки на клітинну стінку прокариотів і не завдають шкоди клітинам інших організмів. Прикладом цього є дія пеніциліну та деяких інших антибіотиків.

Ворсинки. До поверхневих структур прокариотної клітини належать також ворсинки, які ще називають *фібріями* або *пілі*. Фімбрії або пілі – це ниткоподібні структури на поверхні бактеріальної клітини. Вони мають форму порожнистих циліндрів, стінки яких утворені з білка піліну. На одній клітині їх може бути більше тисячі. До руху бактерій вони не мають відношення. Товщина ворсинок сягає 10 нм, а довжина – 0,2-2 мкм. Вони характерні для коків, паличковидних рухливих і нерухливих бактерій.

Накраще вивчено ворсинки *E. coli*. Нині відомі ворсинки загального типу і статеві (їх називають F-пілями), які беруть участь у кон'югації. Вони властиві чоловічим клітинам бактерій. F-пілі формуються тільки у клітин, які активно ростуть. Їх утворення зумовлює статевий чинник.

Розрізняють декілька типів фімбрій:

1. Фімбрії, які прикріплюють клітину до поверхні субстрату, або з'єднують клітини між собою. Можливо вони також беруть участь у перенесенні великих молекул поживного субстрату у клітини.

2. Фімбрії, які виконують статеві функції. Через них передається матеріал ДНК з клітини донора у клітину реципієнта при кон'югації.

Ворсинки понижують електрофоритичну рухливість клітини. Вважають, що F-пілі зумовлюють здатність бактерій прикріплюватися до різних організмів і неорганічних субстратів, а також, що вони беруть участь у транспорті метаболітів та захищають бактерії від паразитів.

Крім ворсинок, на поверхні деяких бактерій виявлено вирости, подібні до шипів, які мають форму порожніх циліндрів, що складаються з білка спініну. Найчастіше шипи утворюються на нерухомих бактеріях. Вони перешкоджають поїданню бактерій безхребетними. Однак досі ще не з'ясовано основну функцію цих поверхневих структур.

Цитоплазматична мембрана

Цитоплазматична мембрана є обов'язковим структурним компонентом бактеріальної клітини. Вона відокремлює цитоплазму від клітинної оболонки. У мікоплазм та деяких інших прокариотів цитоплазматична мембрана заміняє клітинну стінку. Під електронним мікроскопом цитоплазматична мембрана має вигляд тришарового утворення з різною електронною щільністю. Її товщина 5-10 нм. На її частку припадає до 15 % сухої речовини клітини.

За хімічним складом цитоплазматична мембрана є білково-ліпідним комплексом, який містить 50-75 % білків, 15-45 % ліпідів та невеличку кількість вуглеводів. У ліпідах мембран багатьох прокариот виявлено низку специфічних жирних кислот, яких немає у мембранах еукаріот. Це циклопропанові жирні кислоти. Головним ліпідним компонентом мембран бактерій є фосфоліпіди – похідні 3-фосфогліцеролу. Ліпіди підтримують механічну стабільність і зумовлюють гідрофобні властивості мембран.

На відміну від ліпідів, білковий склад цитоплазматичної мембрани прокариотної клітини є набагато різноманітнішим. Наприклад, мембрана кишкової палички містить 27 основних і велику кількість мінорних білків. За амінокислотним складом ці білки майже не відрізняються від інших клітинних білків, за виключенням низького вмісту цистину в них. Досліди показали, що білки мембран бактеріальної клітини переважно є ферментами.

До недавня найбільше визнання мала модель мембрани, запропонована ще 1935 р. Г. Доусоном і Д. Даніелі, яка дістала назву «елементарної мембрани». Згідно з цією моделлю, мембрана побудована з двох білкових шарів, між якими розташований бімолекулярний шар ліпідів. Однак останніми роками нагромадилось багато даних, які свідчать, що цитоплазматична мембрана має набагато складнішу будову, ніж «елементарна».

Тепер більшість вчених поділяють думку про те, що структура бактеріальної мембрани підпадає під рідинно-мозаїчну модель, розроблену для

еукаріотів. Цитоплазматична мембрана утворена мінливим ліпідним біошаром, у який вмонтовані білки. Отже, за цією моделлю мембрана є «рідкою», лабільною, динамічною структурою, якій притаманна молекулярна асиметрія і мінливість.

За сприятливих температурних умов мембранні ліпіди перебувають у розрідженому стані, який характеризується частковою впорядкованістю структури. Із зниженням температури вони переходять у кристалічний стан. «Рідка» структура мембран забезпечує свободу білкам, що є необхідним для здійснення процесів транспорту електронів і речовин через мембрану. Ця властивість також зумовлює високу еластичність мембран.

За сучасними даними, білки, що входять до складу цитоплазматичної мембрани, можна умовно поділити на такі групи:

- інтегральні, які цілком занурені у мембрану, а подекуди пронизують її наскрізь;
- периферійні білки, частково занурені в гідрофобну ділянку;
- поверхневі, що містяться на поверхні мембрани.

Зв'язок інтегральних білків з ліпідами частково, а периферійних повністю визначається електростатичними взаємодіями. Поряд з цим деякі білки і ліпіди в мембрані можуть бути ковалентно зв'язаними.

Отже, зовнішня цитоплазматична мембрана – складна високоорганізована і високоспеціалізована структура, яка виконує різноманітні функції:

1. Вона є основним бар'єром, який забезпечує вибіркове надходження в клітину і вихід з неї різних речовин (іонів).
2. На поверхні мембрани локалізовані ферментні системи, які беруть участь у синтезі мембранних ліпідів, компонентів клітинної оболонки та інших речовин.
3. Клітинні мембрани містять високочутливі рецептори, за допомогою яких клітини розпізнають і, відповідним чином, реагують на інформацію, яка надходить ззовні.
4. Цитоплазматичній мембрані належить важлива роль – перетворення клітинної енергії. У бактерій, джерелом енергії для яких є процеси дихання або фотосинтезу, в цитоплазматичній мембрані певним чином розміщені переносники електронів (ЕТЛ), функціонування яких призводить до генерування електрохімічної енергії (H^+), що використовується потім у клітині по різних каналах, у тому числі й для утворення хімічної енергії (АТФ).
5. У мембрані також є ферментні комплекси, які забезпечують перетворення електрохімічної і хімічної енергії.
6. Цитоплазматична мембрана має спеціальні ділянки для прикріплення хромосоми і плазмід за реплікації їх і наступній сегретації.
7. Нарешті, мембрані належить інтегруюча роль в організмі, яка поєднується з бар'єрною функцією. Клітина – це єдине ціле, і порушення цілісності структури цитоплазматичної мембрани призводить до втрати нею життєдіяльності.

Внутрішньоцитоплазматичні мембрани

Розвинуті системи внутрішньоклітинних мембран мають фототрофні, хемотрофні та деякі інші бактерії. Виділяють кілька видів цих мембран.

У фотосинтезуючих бактерій внутрішньоцитоплазматичні мембрани можуть мати форму трубочок, плоских дисків (тилакоїдів), пухирців (везикул, хроматофорів) тощо. Оскільки в цих мембранних структурах локалізовано фотосинтетичний апарат клітини (фотосинтезуючі пігменти та системи фосфорилування), вони дістали загальну назву фотосинтетичних мембран. Всі фотосинтетичні мембрани є похідними цитоплазматичної мембрани, які виникли внаслідок її розростання та інвагінації в цитоплазму.

У зелених фототрофних бактерій та ціанобактерій внутрішньоклітинні фотосинтетичні мембрани відсутні. Основні компоненти фотосинтетичного апарату у них локалізовано на цитоплазматичній мембрані, а світловловлюючі пігменти містяться в органелах, які прилягають до мембрани – хлоросомах і фікобілісомах.

У різних груп прокаріот цитоплазматична мембрана утворює локальні впинання, які мають назву *мезосом*. Ці мембранні утворення добре розвинуті у грампозитивних еубактерій. У грамнегативних бактерій вони трапляються рідше і менш розвинуті. За формою, розмірами і розміщенням розрізняють три основні типи мезосом: ламелярні (пластинчасті), тубелярні (трубчасті) і везикулярні, що нагадують пухирці. Є мезосоми змішаного типу. Мезосоми найчастіше містяться в зоні формування клітинної перетинки і поділу бактеріального ядра.

Немає єдиної думки, щодо функцій мезосом у прокаріотичних організмах. Згідно з однією гіпотезою, мезосоми відіграють важливу роль у реплікації і сегретації ДНК, поділі клітин і утворенні клітинної оболонки. За іншою гіпотезою, мезосоми не є обов'язковими структурами бактеріальної клітини. Вони тільки підсилюють певні клітинні функції. Нарешті, припускають, що мезосоми не беруть активної участі в процесах клітинного метаболізму, а виконують суто структурну функцію, що забезпечує компартменталізацію клітини, створює більш сприятливі умови для перебігу різних ферментативних реакцій.

Цитоплазма

Вміст клітини, оточений цитоплазматичною мембраною, називається цитоплазмою. За фізико-хімічною природою цитоплазма – складна колоїдна система. Її складають: вода, білки, ліпіди, вуглеводи, мінеральні сполуки та інші речовини, співвідношення яких залежить від виду, віку, живлення бактерій та інших чинників. Фракція цитоплазми, яка має гомогенну консистенцію і містить макромолекули розчинних РНК, ферментних білків, продуктів і субстратів різних метаболічних реакцій тощо, дістала назву *цитозоля* або *гомогенна фракція*.

Друга фракція цитоплазми містить різноманітні структурні утворення: внутрішньоцитоплазматичні мембрани, генетичний апарат (нуклеоїд і плазмід), рибосоми, інші внутрішньоклітинні структури і включення різної

хімічної природи та функціонального призначення. Вони утворюють *гетерогенну фракцію* цитоплазми.

Рибосоми прокариот мають вигляд округлих рибонуклепротеїнових тілець діаметром 15-20 нм, що розташовані довільно в цитоплазмі бактерій і складаються на 40% із білка і на 60 % із РНК. Їх кількість у клітині залежить від інтенсивності синтезу білка і може коливатися від 5000 до 90 000. Рибосоми прокариот мають константу седиментації 70-S, від чого і дістали назву 70 S-частинок. Вони побудовані з двох рибонуклеопропротеїнових субодиниць: малої 30-S і великої 50-S. Мала субодиниця побудована з однієї молекули 16-S РНК і переважно з однієї молекули кожного з білків 21 виду. Велика субодиниця містить дві молекули РНК (23-S і 5-S) та по одній копії білків 34 видів. Більша частина рибосомальних білків виконує структурну функцію.

За коефіцієнтом седиментації та деякими іншими властивостями, до бактеріальних рибосом подібні рибосоми мітохондрій і хлоропластів еукариотних клітин. Рибосоми є центрами синтезу білка в клітині. Під час синтезу білка вони набувають форми агрегатів, які називаються полірибосомами. Ці полісоми містяться у цитоплазмі або зв'язані з мембранними структурами.

Нуклеоїд

Генетичний матеріал прокариот представлений молекулою ДНК, яка знаходиться в обмеженому просторі цитоплазми і не має мембрани, називається нуклеоїдом. Молекула ДНК прокариот має вигляд нитки, яка замкнута у кільце (кільцева форма ДНК). Довжина ДНК близько 1 мм. Вона має типову будову, тобто складається з двох ланцюгів, які закручені у вигляді подвійної спіралі. Співвідношення азотистих основ у складі ДНК А+Т до Г+Ц – є постійним числом для кожного виду мікроорганізмів, а також є діагностичною ознакою.

ДНК прокариот відповідає одній хромосомі. Хромосоми є високо упорядкованими структурами, які є дуже компактними і включають 20–100 незалежних суперспіралізованих петель.

Механізм реплікації та сегрегації вивчений не повністю. Допускають, що ДНК однією точкою лишається прикріпленою до цитоплазматичної мембрани через мезосому. Реплікація ДНК відбувається напівконсервативним методом. При цьому подвійна спіраль ДНК починає розкручуватися з місця прикріплення у двох протилежних напрямках. Після цього на кожному ланцюзі добудовується комплементарний ланцюг. Дочірні ДНК лишаються прикріпленими. Їх розділення відбувається за рахунок росту цитоплазматичної мембрани. Процеси реплікації та сегрегації реплікованих хромосом здійснюються системою ферментів, які з'єднані з ДНК-мембранним комплексом.

У клітинах, які швидко ростуть часто поділ ДНК опереджає поділ клітин. Таким чином утворюються клітини з набором ДНК, який в 4-8 разів більший від маси хромосоми.

Позахромосомними генетичними елементами прокаріотичних клітин є **плазмід**. Їх ще називають цитоплазматичними ДНК. Це невеликі ковалентно-замкнуті кільцеві молекули ДНК, які реплікуються автономно від хромосомної ДНК. На даний час описано багато плазмід. Вони можуть виконувати у клітинах такі функції:

1. Контролюють статевий процес – F-фактор.
2. Надають стійкості клітинам до лікарських препаратів – R-фактор.
3. Відповідають за синтез речовин – бактеріоцинів, які є сполуками білкової природи, що убивають близькородинні види бактерій – Col-фактор.

Плазмід

Капсула

У багатьох прокаріотів клітинна оболонка зовні оточена шаром слизової речовини. Залежно від структурних особливостей (товщина, консистенція) цей шар дістав назву **капсули** або **слизового чохла**. Розрізняють макро- і мікрокапсули. Слизовий шар, який оточує оболонку клітини, зберігає з нею зв'язок і має аморфну будову, називається капсулою. Якщо товщина такого шару є меншою за 0,2 мкм, то його називають *мікрокапсулою*, а якщо більшою, то *макрокапсулою*. У деяких бактерій капсули значно більші за самі клітини.

Якщо слизовий шар, що оточує бактерію, має тонку структуру, в якій подекуди проглядаються декілька шарів з різною будовою, то його називають *слизовим чохлом*. Аморфна слизова речовина, яка легко відокремлюється від оболонки має назву *слизового шару*. Між цими структурами виявлено багато перехідних форм.

Капсула не є видовою ознакою. Її утворення залежить від:

1. Штаму мікроорганізма. (Штам – це культура бактерій одного виду, яку виділили з різних джерел, або з одного джерела, але у різний час).
2. Віку культури.
3. Умов вирощування мікроорганізмів.

За хімічним складом ці утворення не є повністю ідентичними клітинним оболонкам, оскільки містять низку речовин, яких немає в клітинних стінках. Основними компонентами капсул і чохлів прокаріотів є полісахариди гомо- або гетерополімерної природи. До їхнього складу також входять мукополісахариди, ліпополісахариди і поліпептиди. Хімічний склад капсул бактерій є родо- або видоспецифічним.

Капсули містять близько 98 % води. Вони не є обов'язковими складовими частинами клітини. Якщо їх немає, клітина не втрачає життєдіяльності. Однак капсули відіграють важливу роль у житті прокаріотів.

1. Вони захищають клітини від висихання, механічних пошкоджень, створюють додатковий осмотичний бар'єр.
2. Перешкоджають проникненню фагів, мають антигенні властивості.

3. Для деяких бактерій речовини капсули є запасними поживними речовинами.
4. Капсула сприяє прикріпленню до різних субстратів, об'єднує клітини мікроорганізмів у ланцюжки та конгломерати. За допомогою слизу забезпечується зв'язок між сусідніми клітинами в колоніях.
5. Капсула містить сукупність катіонів, які використовуються бактеріальною клітиною.

Останнім часом з капсульних полімерних речовин (полісахаридів) деяких видів бактерій (*Lenconostoc mesenteroides*) виготовляють такі цінні препарати, як замітники плазми крові, сефадекси, синтетичні плівки мікробної клітковини для радіоелектронної апаратури тощо.

Капсули мають багат шарову фібрилярну структуру. Фібрили окремих шарів розміщуються паралельно або перпендикулярно до клітинної стінки.

В утворенні капсули бере участь цитоплазматична мембрана. У патогенних бактерій наявність капсули пов'язана з високою вірулентністю (здатністю викликати захворювання) штама. Втрата капсули веде до втрати цієї властивості.

Джгутики. Рух бактерій

На поверхні тіла багатьох видів бактерій є спеціальні вирости, які називаються джгутиками. Вони є органами руху бактерій у рідкому середовищі. Число джгутиків, розміри й розміщення їх для певних видів прокариотів є сталими ознаками і тому мають важливе таксономічне значення. Проте є дані, що кількість і розміщення джгутиків можуть змінюватися залежно від стадії життєвого циклу і умов культивування, а це свідчить про те, що необхідно обережно ставитися до цих ознак у систематиці.

За характером розташування джгутиків бактерії поділяють на такі групи:

- *монотрихи* – бактерії з одним джгутиком на кінці, наприклад холерний вібріон або синьогнійна паличка;

- *амфітрихи* – бактерії, які мають два полярно розміщені джгутики або по кілька джгутиків на полюсах клітини, наприклад, спірили;

- *лофотрихи* (моно- і біполярні політрихи) – бактерії, які мають по пучку джгутиків на одному або обох полюсах бактеріальної клітини, наприклад, палички синьо-зеленого молока;

- *перетрихи* – бактерії з великою кількістю джгутиків по всій поверхні клітини, наприклад, протей, кишкова паличка та інші.

Існує і інша класифікація джгутиків за кількістю та їх розміщенням:

1. Монополярні монотрихи – це мікроорганізми, які мають по одному джгутику на одному із полюсів.
2. Біполярні монотрихи – мають по одному джгутику на обох полюсах.
3. Біполярні політрихи – мають по пучку джгутиків на обох полюсах.
4. Монополярні політрихи – мають по пучку джгутиків на одному полюсі.
5. Перетрихи – мають багато джгутиків по всій поверхні клітини.

Ультраструктура джгутиків детально вивчена у кишкової палички, сальмонели та інших бактерій. Електронно-мікроскопічні дослідження показали, що джгутик складається з трьох частин:

- базальної структури, яка складається з двох або чотирьох кілець, циліндра і центрального стрижня – осі, на якій закріплюються кільця і гачок,
- гачок – зігнутий білковий циліндр довжиною 30-90 нм,
- нитки – порожнистий циліндр, товщина якого 12-20 нм. Іноді нитка має чохол.

Базальна структура містить у своєму складі 9-12 різних білків. У грамнегативних бактерій вона складається з центрального стрижня, який є продовженням гачка, і системи кілець. Верхні кільця розміщені у зовнішній мембрані (кільце L) і муреїновому шарі (кільце P). Вважають, що верхня пара кілець виконує роль втулки для стрижня. Внутрішні кільця містяться в цитоплазматичній мембрані (кільце M) і периплазматичному просторі (кільце S). Внутрішня пара кілець є обов'язковою складовою частиною базальної структури.

Зовнішні кільця у грампозитивних бактерій відсутні, що дало привід вважати їх непотрібними для руху бактерій. Отже, грамнегативні бактерії мають чотири кільця. Два з них закріплюються у зовнішній мембрані та муреїновому шарі клітинної стінки, третій – у периплазматичному просторі, четвертий – у цитоплазматичній мембрані.

У грампозитивних бактерій два кільця – одне у цитоплазматичній мембрані, а друге у муреїновому шарі клітинної стінки.

Гачок має вигляд вигнутого циліндра, проксимальна частина якого з'єднана з центральним стрижнем базальної структури. Він складається з білка флагеліна, який відрізняється від того флагеліна, який входить до складу нитки. Функція гачка ще досі остаточно не з'ясована.

До гачка приєднана нитка джгутика. У більшості прокариотів вона складається з білка флагеліна, субодиниці якого розміщені у вигляді спіралі. У середині спіралі є порожній канал. Тримірна спіраль нитки має певну довжину хвилі і амплітуду. Джгутик є лівозакрученою спіраллю і обертається проти годинникової стрілки. При цьому бактерія рухається поступально. Однак джгутики можуть міняти напрямок руху, переходячи до правої спіралізації, але при цьому втрачається поступальний рух.

Існує припущення, що обертання джгутика спричинюється обертанням M-кільця (цим своєрідним джгутиковим мотором), яке далі передається через центральний стрижень на гачок, а потім на нитку. Встановлено, що рух джгутикових бактерій забезпечується енергією електрохімічного потенціалу. Отже, прокариотична клітина має механізм, який дозволяє їй перетворювати електрохімічну енергію безпосередньо на механічну.

Існують два типи рухливих бактерій: повзаючі й плаваючі. До перших належать міксобактерії, ціанобактерії, сіркобактерії та інші. Вони можуть пересуватись по твердому субстрату за допомогою ковзаючого руху. У оболонці цих бактерій виявлено білкові фібрили, які подібні до ниток джгутиків. Обертання цих фібрил викликає хвилеподібні рухи клітинної

оболонки, за рахунок яких клітина відштовхується від поверхні твердого субстрату. Ковзаючий рух також забезпечується енергією АТФ.

Характер руху плаваючих бактерій залежить від кількості і розміщення джгутиків, віку і властивостей культури, температури та інших чинників. Окремі види бактерій можуть рухатися за сприятливих умов із швидкістю, яка перевищує довжину їхнього тіла в 50 разів. Наприклад, холерний вібріон може пересуватися зі швидкістю 200 мкм на секунду при довжині тіла 3 мкм. Більшість рухомих бактерій проходить за 1 с відстань, яка дорівнює середнім розмірам тіла бактеріальної клітини.

Спрямованість бактерій визначається характером розміщення джгутиків. Прямолінійно рухаються моно- і лофотрихи. Перетрихи під час руху здатні перевертатися у різні боки.

Деякі бактерії мають направлені рухи – *таксиси* (від грец. розміщення), зумовлені дією різних зовнішніх факторів. Розрізняють такі види таксисів:

- хемотаксиси,
- фототаксиси,
- термотаксиси,
- магнітотаксиси,
- віскозотаксиси,
- аеротаксиси.

Кожний із цих локомоторних рухів може бути позитивним або негативним. У зв'язку з погіршенням екологічної ситуації, особливу увагу нині привертає вивчення хемотаксисів мікроорганізмів – руху, який викликається хімічними речовинами. До цього виду руху відносять також осмотаксиси, які зумовлюються концентрацією солей, та аеротаксиси, спричинені вмістом кисню.

Виявлено, що чутливість до градієнтів тих чи інших подразників пов'язана з наявністю в бактеріальних клітинах специфічних рецепторів. Наприклад, вивчення хемотаксису в кишкової палички дозволило виявити декілька десятків хеморецепторів білкової природи, які синтезуються незалежно від присутності індуктора або тільки в результаті індукції. Припускають, що рецептор реагує на ефектор і передає сигнал на «мотор» джгутика.

Джгутикові форми є в усіх груп прокариот. У багатьох видів вони з'являються на певних стадіях розвитку. Джгутики видимі лише у електронний мікроскоп.

Джгутик має довжину, яка приблизно дорівнює довжині трьом клітинам (10-20 мкм).

Іноді джгутики можуть розміщуватись латерально (на бічній стінці). Кількість джгутиків коливається від 1 до 50–100 і більше. Для кожного виду бактерій кількість джгутиків є діагностичною ознакою.

Джгутики виконують функцію руху. Вони характерні для плаваючих паличкоподібних і витких форм і дуже рідко зустрічаються у коків.

Рух джгутика відбувається подібно до корабельного гвинта. Якщо джгутиків багато, то вони збираються у пучок. Обертання джгутиків здійснюється

проти годинникової стрілки, при цьому викликають обертання клітини у протилежному напрямку. Імпульс повертання джгутики отримують від повертання проксимального кільця базальної структури. Швидкість руху у різних бактерій різна і залежить від умов середовища. Джгутики можуть змінювати напрямок руху.

Специфічні рухи характерні для спірохет. Тіло спірохет – це протоплазматичний циліндр, який оточений цитоплазматичною мембраною і зовнішнім чохлам, який складається з мурену і зовнішньої мембрани. Навколо протоплазматичного циліндра у периплазматичному просторі перекручені пучки аксиальних фібрил, яких може бути від двох до ста і навіть більше. Один кінець аксиальних фібрил закріплений, а інший – вільний. Посередині аксиальні фібрили переплітають протоплазматичний циліндр. Рух спірохет відбувається за рахунок обертання та скорочення аксиальних фібрил, які викликають еластичну хвилю на поверхні зовнішнього чохла.

Аксиальні фібрили спірохет утворюють аксостиль. Ці фібрили є аналогами джгутиків. Вони складаються з білка флагеліну. Вважають, що обертання і скорочення фібрил спричинює гвинтоподібні або хвилеподібні рухи спірохет. Рух цих бактерій, як і джгутикових, забезпечується енергією у формі H^+ .

У прокариот зустрічаються і інші способи руху. Так ковзаючий тип руху зустрічається у міксобактерій, мікоплазм та сіркобактерій.

Ендоспори бактерій

Ендоспори бактерій утворюються у період спокою, який виникає через несприятливі умови середовища (виснаження поживного середовища, нестача основних елементів обміну, насичення іонами K^+ та Mg^{2+} , зміна рН середовища, підвищення чи зниження вмісту кисню і т.д.).

Спороутворення характерне для більш, ніж 15 родів бактерій. Найкраще вивченими є ендоспори бактерій родів *Bacillus* та *Clostridium*.

Спори бактерій утворюються у декілька етапів:

1. Підготовчий етап. На цьому етапі зупиняється ріст клітин, відбувається реплікація ДНК, гальмується метаболізм. Клітини містять два і більше нуклеоїди. Перший знаходиться у спорогенній зоні, а другий у цитоплазмі спорангію. На основі клітинної стінки утворюється нова речовина – діпіколінова кислота, яка забезпечує ендоспорам термостійкість. У процесі спороутворення приймають участь більш, ніж 100 генів.

2. Формування спор. Цитоплазматична мембрана клітини утворює вп'ячування від периферії до центру і відмежовує спорогенну зону (нуклеоїд з ділянкою густої цитоплазми) перегородкою від іншого вмісту, а потім обростає її. Так утворюється проспора усередині материнської клітини, яка відмежована двома шарами: внутрішнім і зовнішнім. Між ними формується муреїновий шар – кортекс (це мурен, який має більш кисле рН).

3. Дозрівання спори.

Існує декілька типів спорангіїв залежно від того, як він розміщений у клітині:

1. Бацилярний спорангій – розміщений центральній частині клітини.
2. Клостридальний спорангій – зміщений від центру до одного з полюсів.
3. Плектридіальний спорангій – полярно розміщений по полюсам клітини.

Після дозрівання спори спорангій руйнується і спори звільнюються. Форма спор може бути сферичною, або овальною. Будова спор бактерій однотипова. Вони складаються з білків і нуклеїнових кислот, які становлять 50-60 % всієї сухої маси. Серцевина спор містить також рибосоми, ферменти, ліпіди та низькомолекулярні речовини. Центральна частина оточена цитоплазматичною мембраною, до якої прилягає муреїновий шар кортекс. Зовні спора вкрита трьома шарами покривів – внутрішнім, середнім і зовнішнім. Покриви утворені білками з невеликою кількістю вуглеводів та ліпідів. Оболонки спор забезпечують стійкість до дії ферментів, органічних розчинників та поверхнево активних речовин. У більшості видів бактерій спори містяться в екзоспориумі. У сприятливих умовах спори проростають. Утворення ендоспор не пов'язане із розмноженням. Цей процес направлений на пристосування бактерій для виживання у несприятливих умовах.

Принципові особливості клітинної організації прокариот

Прокариотичні організми мають відмінності в будові клітин, порівняно з еукариотами. Основні ознаки відмінності цих організмів відображено у наступній таблиці.

Таблиця

Ознаки відмінності клітин прокариотичних та еукариотичних організмів

№	Клітина прокариот	Клітина еукариот
1	2	3
1.	Нуклеоїд не обмежений мембраною від цитоплазми.	Ядро обмежене мембраною від цитоплазми.
2.	Містять одну кільцеву хромосому.	Хромосом більше, ніж одна. Вони лінійної форми.
3.	Відсутній мітоз.	Мітоз присутній.
4.	ДНК цитоплазми представлене плазмідами.	ДНК цитоплазми локалізована в органелах (хлоропластах та мітохондріях).
5.	Відсутні органели оточені мембраною в цитоплазмі.	Цитоплазматичні органели присутні.
6.	Дихальна система локалізована в цитоплазматичній мембрані.	Дихальна система локалізована в мітохондріях.
7.	Фагоцитоз і піноцитоз відсутні.	Спостерігається фагоцитоз і піноцитоз.

1	2	3
8.	У цитоплазмі рибосоми 70-S типу.	У цитоплазмі рибосоми 80-S типу. В органелах – 70-S типу.
9.	У клітинній стінці присутній пептидоглікан (муреїн).	Клітинна стінка представлена іншими речовинами (у рослин – целюлозою).
10.	Суха маса клітини 10^{-15} - 10^{-11} г.	Суха маса клітини 10^{-11} - 10^{-7} г.
11.	Спрямований рух цитоплазми відсутній. Не здатні до амебоїдного руху.	Спостерігається спрямований рух цитоплазми.
12.	Вакуолі трапляються рідко.	Вакуолі трапляються часто.
13.	Джгутики складаються з однієї або кількох фібрил.	Кожен джгутик складається з 20 фібрил, зібраних у групи $2 \cdot 9 + 2$.
14.	Фотосинтез відбувається за участю бактеріохлорофілу. Відновниками можуть бути: H_2S , інші сполуки S, органічні речовини.	Фотосинтез відбувається за участю хлорофілу a, b, c, d. При цьому виділяється O_2 , відновником є H_2O .
15.	Чутливі до пеніциліну.	Не чутливі до пеніциліну.
16.	Стійкість до γ -опромінення дуже висока.	Стійкість до γ -опромінення низька.

ЛЕКЦІЯ 3.

Ріст та розмноження прокаріот

Для прокаріот, за деяким виключенням, онтогенез (власний розвиток організму) рівний періоду від поділу клітини до її наступного поділу. Цей період називають клітинним циклом, який включає сукупність усіх процесів, пов'язаних із ростом та поділом. Ріст – це збільшення об'єму або кількості хімічних компонентів клітини, що супроводжується збільшенням їх маси і розмірів. Після досягнення клітиною певних розмірів вона ділиться. У деяких випадках поділ може відбуватись без росту клітини.

Більшість бактерій розмножуються шляхом рівновеликого бінарного поперечного поділу з утворенням двох однакових дочірніх клітин. При цьому відбувається реплікація ДНК і поділ клітини. Існує різниця ділення клітин у грампозитивних і грамнегативних бактерій. Грампозитивні бактерії діляться шляхом утворення перегородки, без зміни діаметру клітини. Грамнегативні при діленні утворюють перетяжку.

Бінарний поділ прокаріот може відбуватись як в одній площині (при цьому утворюються окремі клітини або ланцюжки клітин), так і в декількох площинах (тоді утворюються тетракоки, стафілококи або сарацини).

Розрізняють декілька типів клітинних циклів:

1. Мономорфний клітинний цикл. Характерний для бактерій з рівновеликим бінарним поділом. Внаслідок такого циклу утворюються клітини одного морфологічного типу.

2. Диморфний клітинний цикл. Характерний для бактерій, які розмножуються брунькуванням. При цьому утворюються дві нерівномірні особини, які відрізняються за формою, рухливістю та іншими ознаками. Одна із особин, що утворюється при цьому поділі нерухлива, старіюча, материнська. Інша – з джгутиком, дочірня. Материнська клітина новосинтезованого матеріалу не отримує і старіє, а дочірня – розвивається.

3. Поліморфний клітинний цикл. Зустрічається досить рідко. При цьому утворюються клітини декількох типів, які мають різні ознаки.

Процеси росту і розвитку тісно взаємопов'язані. Як правило ріст спричиняє поділ. Штучно можна викликати десинхронізацію процесів поділу (дробіння). Швидкість розмноження прокаріот дуже велика. Вона залежить від виду, віку культури, поживного середовища, умов аерації, температури, вологості та інших факторів.

Ріст бактеріальної популяції в статичній культурі

Бактерії, які розвиваються у обмеженому об'ємі середовища, називають *бактеріальною популяцією*.

Культура мікроорганізмів, яка розвивається в умовах середовища, в яке не додають поживні речовини і не виводять продукти обміну називається *статичною культурою*.

Існують певні закономірності росту бактеріальної популяції у статичній культурі. При цьому у процесі росту виділяють 4 фази:

1. Початкова (або лагфаза).
2. Експоненціальна (або логарифмічна).
3. Максимальна стаціонарна фаза.
4. Фаза відмирання.

Період росту бактеріальної популяції на *початковій фазі* триває від посіву бактерій на свіже поживне середовище до досягнення максимальних розмірів клітин. При цьому бактерії пристосовуються до нових умов. У клітинах активуються обмінні процеси, відбувається синтез ферментів, нуклеїнових кислот та білків. Клітини швидко ростуть, збільшуються їх розміри. Поділ клітин у цій фазі не відбувається. Тривалість початкової фази залежить від повноцінності поживного середовища (чим поживніше середовище, тим менше триває фаза) та від стану культури мікроорганізмів (чим молодша культура, тим менше триває фаза).

Експоненціальна фаза характеризується активним поділом переважної більшості клітин. Кількість клітин при цьому зростає у геометричній прогресії. Ця фаза недовготривала. Поживне середовище при цьому виснажується і накопичуються токсичні речовини. Сповільнюється інтенсивність синтезу нуклеїнових кислот, білків, поліцукрів та інших сполук клітини. Розміри клітин на цій фазі максимальні, але ріст бактеріальної популяції за рахунок кількості клітин сповільнюється до кінця фази.

Максимальна стаціонарна фаза характеризується тим, що кількість життєздатних клітин під час неї не збільшується. Кількість новоутворених клітин дорівнює кількості загиблих клітин. Загальна чисельність клітин стала. Тривалість цієї фази залежить від популяції бактерій.

Фаза відмирання характеризується масовою загибеллю бактерій. Кількість відмираючих клітин більша, ніж кількість новоутворених. На цій фазі з'являються інволюційні форми клітин (ті, що функціонують, але не розмножуються), які не дають потомства. Поживне середовище на період відмирання виснажується. Накопичується велика кількість токсичних речовин і продуктів метаболізму. Більшість клітин гине. Виживають лише поодинокі мікроорганізми, які переходять у стан спокою. Така мало чисельна бактеріальна популяція перебуває у стані спокою невизначено довгий період часу, доки культура бактерій не опиниться знову в сприятливих умовах.

Безперервні культури мікроорганізмів

У 50-х роках 20 століття було розроблено новий метод вирощування бактеріальних клітин, який називався метод безперервної або проточної культури мікроорганізмів. Суть цього методу полягає в тому, що у ферментер, де вирощується культура мікроорганізмів, постійно вводять свіже поживне середовище і виводять продукти обміну та біомасу клітин, яка накопичується. Таким чином у ферментері створюються оптимальні умови для підтримки бактеріальної культури в експоненціальній фазі протягом тривалого часу.

При вирощуванні мікроорганізмів методом безперервних культур застосовують також *хемотати*, які контролюють ріст бактеріальної популяції концентрацією поживного субстрату за джерелом Карбону або Нітрогену. Чим більша концентрація цих елементів, тим більша кількість клітин мікроорганізмів.

Турбідостати дають можливість контролювати введення поживного середовища густиною бактеріальної популяції, яка утворюється. При цьому густина бактеріальних клітин контролюється фотоелементом, який пов'язаний з реле, що регулює подачу поживного середовища.

Метод безперервних культур широко використовується у різних виробництвах мікробіологічної промисловості. Він також використовується і у лабораторній практиці для вивчення фізіології прокаріот.

ЛЕКЦІЯ 4.

Екологія прокариот

Взаємовідносини мікроорганізмів

Взаємовідносини мікроорганізмів у складі біоценозів і мікробіоценозів досить різноманітні і складні. Вони сформувались упродовж еволюції як між мікроорганізмами, так і між макроорганізмами. Сумісне існування різних організмів призводить до їх співжиття – симбіозу. Симбіотичні відносини мікроорганізмів поділяються на асоціативні (взаємосприятливі) та конкурентні.

Асоціативні відносини зустрічаються досить часто. Серед них виділяють декілька форм:

1. Симбіоз – це тісні асоціативні взаємовідносини мікроорганізмів, які стимулюють і підтримують один одного. Як правило разом такі мікроорганізми розвиваються краще, ніж окремо. Іноді самостійно вони не розвиваються. Прикладом симбіозу є кефірні зерна. Це співжиття молочнокислих бактерій і дріжджів. Молочнокислі бактерії утворюють молочну кислоту і цим стимулюють розвиток дріжджів. Дріжджі у свою чергу продукують амінокислоти і вітаміни, які необхідні для живлення молочнокислим бактеріям. Також симбіоз характерний для аеробних бактерій роду *Azotobacter* і анаеробних бактерій роду *Clostridium*, які здійснюють молекулярну фіксацію Нітрогену.

2. Коменсалізм – це такі взаємовідносини, коли взаємна користь чітко не виявлена, але при цьому організми не шкодять один одному. Іноді вигоду у таких взаємовідносинах має тільки один партнер. Прикладом коменсалізму є організм людини з нормальною мікрофлорою її тіла. Такі мікроорганізми перешкоджають розвитку хвороботворних мікроорганізмів і сприяють розщепленню складних речовин.

3. Синтрофія – це явище сумісного росту двох і більшої кількості мікроорганізмів на середовищі, яке не доступне для окремо взятого організму. При цьому відбувається обмін факторами росту, або субстратом, що сприяє росту. Прикладом синтрофії є молочнокислі бактерії, які розщеплюють субстрат і синтезують речовини, які необхідні іншим видам.

4. Саттелізм – це стимуляція одного мікроорганізма іншим. Наприклад, дріжджові гриби і сарацини, які утворюють амінокислоти та вітаміни і часто сприяють росту і розмноженню інших більш чутливих до поживного середовища бактерій – молочнокислих або оцтовокислих.

5. Метабіоз – це взаємовідносини, при яких один мікроорганізм створює умови для розвитку іншого. Як правило останній продовжує процес, розпочатий першим. Наприклад, амоніфікуючі бактерії розкладають органічні нітрогеновмісні сполуки з утворенням аміаку. Аміак є субстратом для нітрифікаторів, які окиснюють його до нітратів та нітритів. Останні сполуки підлягають перетворенню за участю денітрифікуючих бактерій.

6. Синергізм – це така форма співіснування мікроорганізмів, коли в учасників взаємопосилуються фізіологічні функції і виникають нові власти-

вості. Прикладом синергізму є співжиття оцтовокислих бактерій і дріжджів, які утворюють так званий «чайний гриб». Оцтовокислі бактерії перетворюють сахарозу на фруктозу і глюкозу, які окиснюються до глюконової та кетоглутарової кислот. Ці кислоти використовуються дріжджами. Дріжджі забезпечують оцтовокислі бактерії вітамінами.

Прикладом конкурентних взаємовідносин є відношення антагонізму. Антагогізм – це така форма взаємовідносин, коли один організм несприятливо діє на інший. При антагонізмі відбувається боротьба за поживні речовини, кисень, екологічну нішу. Антагонізм може бути пасивний і активний. Під пасивним антагонізмом розуміють конкуренцію мікробів за поживу і життєвий простір. Активний антагонізм виявляється при виділенні у середовище бактерицидних речовин, наприклад, антибіотиків.

Антагонізм дуже поширений у природі. Встановлено, що він існує не тільки між представниками різних видів прокариот, а і між штамми одного виду мікробів, а також серед вірусів. У 1887 році Л.Пастер вперше висловив думку про можливість використання антагонізму з лікувальною метою. В основі цього явища покладена така форма конкурентних взаємовідносин, як антибіоз.

Антибіоз – це форма конкурентних взаємовідносин мікроорганізмів, при якому один мікроб виділяє речовини токсичні для іншого. На цьому явищі засновано використання антибіотиків.

Іншою формою конкурентних взаємовідносин мікроорганізмів є паразитизм, при якому один партнер повністю живе за рахунок іншого, спричиняючи у деяких випадках загибель свого господаря. Паразитами є різноманітні збудники хвороб людини, тварин та рослин. Іноді паразитизм не супроводжується безпосереднім контактом мікроба-паразита і його жертви. Так, мікобактерії виділяють літичні ферменти у середовище і викликають лізис міцелію гриба. У подальшому вони інтенсивно розвиваються за рахунок поживних компонентів зруйнованого міцелію.

Хижацтво також є формою конкурентних взаємовідносин, яке характеризується поїданням особин іншого виду. Прикладом цих відносин є поїдання сіркобактерій хижою бактеріальною сіточкою, або поїдання хижим грибом *Dactylaria gracilis* нематод.

Антибіотики

Антибіотики – це специфічні речовини, які утворюються в клітині у процесі життєдіяльності, а також їх похідні, які вибірково пригнічують життєдіяльність бактерій, поодиноких вірусів і деяких пухлин. Ці речовини належать до вторинних метаболітів. Їх біосинтез не пов'язаний з ростом мікроорганізмів і вони не є життєво необхідними. Вони утворюються тільки при певних умовах, для забезпечення їх продуцентів необхідними речовинами в умовах конкуренції.

Продуцентами антибіотиків є:

- актиноміцети (продукують антибіотики стрептоміцин, тетрациклін, еритроміцин, ністатин, левоміцетин);

- плісняві гриби (продукують пеніцилін, цефалоспорин, мікроцид, фумагілін);
- бактерії роду *Bacillus* (продукують граміцидин, бацитрацин, едеїн, тиротрицин).

Механізми дії антибіотиків можуть бути такими:

1. Антибіотики пригнічують синтез клітинної стінки (наприклад, пеніцилін).
2. Порушують функції цитоплазми (граміцидин).
3. Інгібують синтез білків (стрептоміцин, тетрациклін).
4. Пригнічують реплікацію ДНК, синтез РНК (новобіоміцин, порфіроміцин).

Антибіотики поділяють на дві групи:

1. Антибіотики вузького спектру дії (пеніцилін), ті які пригнічують ріст грампозитивних і грамнегативних коків та спірохет, але не діють на кислостійкі грамнегативні бактерії і найпростіші.

2. Антибіотики широкого спектру дії, ті які діють на всі перераховані вище та інші мікроорганізми.

Найменша кількість препарату антибіотика, яка пригнічує ріст стандартного штаму-мікроба називається одиницею діючої речовини. Як правило ця речовина дорівнює 1 мкг.

Сучасні антибіотики отримують в основному біологічним шляхом. Лише окремі з них синтезують хімічним способом (левоміцетин, синтоміцин).

Початком ери антибіотикотерапії є 1942-1943 роки. У цей період було налагоджено промислове виробництво пеніциліну в США.

Паралельно із застосуванням антибіотиків виникає поява резистентних (стійких) форм мікроорганізмів. На даний час пеніциліностійких стафілококів більше 80 %, стрептоміциностійких – більше 70 %. Причиною резистентності є мутації мікроорганізмів, які таким чином пристосовуються до виживання. Розрізняють природжену та набуту резистентність. Природжена резистентність проявляється при відсутності «мішені» для дії антибіотика. Таку резистентність мають мікоплазми (бактерії, які не мають клітинної стінки) до пеніциліну. Набута резистентність формується при повторному вживанні антибіотика, проти збудників хвороб, які вже мутували у більш стійкі форми.

Вживання антибіотиків призводить до побічних дій. Вони проявляються у:

- зниженні слухової чутливості (стрептоміцин);
- зниженні функцій кровотворних органів (левоміцетин);
- порушенні функцій печінки і травного тракту (тетрациклін);
- алергічних реакціях, які проявляються у вигляді дерматитів і навіть анафілактичного шоку;
- порушенні нормальної мікрофлори кишечника (виникнення дисбактеріозів).

Легку антибіотичну дію мають фітонциди рослин (цибулі, часнику, хрину). На даний час відомо близько 2000 антибіотиків, але дозволені до використання лише декілька десятків з них.

Взаємовідносини мікроорганізмів з рослинами

Про тісний взаємозв'язок мікроорганізмів і рослин стало відомо ще в середині XIX століття. Мікрофлора у рослин може формуватися на різних органах і навколо них. Зокрема розрізняють:

I. Мікрофлору зони кореня. Вона у свою чергу поділяється на:

- Мікрофлору ризосфери, яка враховує мікроорганізми, що зосереджені у ґрунті навколо кореневих систем рослин.

- Мікрофлору ризоплани – це мікроорганізми, які зосереджуються безпосередньо на поверхні кореня.

Мікроорганізмів приваблюють кореневі виділення рослин, такі як органічні речовини: цукри, вітаміни, амінокислоти та інші речовини. Вплив мікробів на рослинний організм може бути як позитивний, так і негативний. На кількісний та якісний склад мікроорганізмів зони кореня впливають:

- тип ґрунту;
- кліматичні умови;
- характер рослинного покриву;
- фаза розвитку рослини.

Динаміка кількості мікроорганізмів зони кореня має два піки:

1. У період фази кущіння рослин, коли переважають неспороутворюючі мікроорганізми.

2. У період фази квітання рослин, коли переважаючими є бацили та актиноміцети, які здатні руйнувати рослинні клітини.

Значення мікроорганізмів зони кореня полягає у тому, що вони:

1. Здійснюють трансформацію органічних речовин. При цьому утворюються водорозчинні мінеральні речовини, які є доступними для рослин.

2. Кислоти, які виділяють мікроорганізми (вугільна кислота, мінеральні та органічні кислоти) перетворюють важкорозчинні солі у доступну форму для рослин.

3. Мікроорганізми продукують біологічно активні речовини такі, як вітаміни (вітамін B₁₂, рибофлавін, пантотенова кислота), ростові речовини (гібереліни), які можуть використовуватись рослинами і позитивно впливати на їх обмін речовин.

4. Мікроорганізми розкладають токсичні для рослин сполуки, знезаражуючи при цьому ґрунт.

5. Деякі мікроорганізми зони кореня є антагоністами фітопатогенних мікроорганізмів і виконують роль санітарів ґрунту.

II. Мікрофлора надземної частини рослин ще називають епіфітною мікрофлорою. Вона представлена мікроорганізмами, які зосереджені на стеблах та листках рослин. Склад епіфітної мікрофлори специфічний. На 80% вона складається з бактерій. Друге місце посідають гриби. У тропічних рослин до складу епіфітної мікрофлори входять азотфіксуючі мікроорганізми.

Мікроорганізми поширені також на насінні рослин. Як правило це неспороутворюючі бактерії, дріжджі та гриби. Загальна кількість мікроорганізмів різко зростає при підвищенні вологості повітря та виділенні

продуктів обміну. Значення епіфітної мікрофлори полягає в тому, що вона виконує бар'єрну функцію проти фітопатогенних мікроорганізмів.

Окремо варто розглянути такі мікроорганізми рослин, які називають фітопатогенами. Це ті мікроби, які викликають захворювання рослин. У всіх групах мікроорганізмів є збудники хвороб рослин. Перше місце серед фітопатогенів займають гриби, друге належить вірусам і бактеріям. Найменша кількість фітопатогенів спостерігається серед актиноміцет.

Механізм дії фітопатогенів:

1. Вони активно синтезують гідролітичні ферменти, які здатні до мацерації рослинних тканин, клітинних стінок, що веде до проникнення збудників у клітину.

2. Вони сприяють порушенню фізіологічних процесів рослини – фотосинтезу та диханню.

3. Фітопатогени виділяють токсини, які інактивують ферменти рослинних клітин.

Джерелами зараження рослин фітопатогенами можуть бути: ґрунт, вода, комахи, інфіковане насіння, залишки хворих рослин.

Взаємовідносини мікроорганізмів з людиною і тваринами

Мікрофлора організмів людини і тварин утворилась у процесі еволюції. Мікрофлора людини – це сукупність мікробіоценозів, які сформувалися у певних тканинах і органах шляхом добору мікробів. На кількість і якість мікрофлори організмів впливає:

1. Вік організму.
2. Стать.
3. Особливості живлення.
4. Клімат.
5. Умови життя.

Нормальна мікрофлора людини і тварин – це сукупність мікроорганізмів, які пристосувались до життя в організмі людини або тварини і не викликають порушень фізіологічних функцій. Нормальну мікрофлору організмів поділяють на:

1. Облігатну – відносно постійну, яка включає в себе сапрофіти та умовно патогенні мікроорганізми, які пристосувались до життя у таких умовах.

2. Факультативну – тимчасову або випадкову, яка визначається надходженням мікроорганізмів та імунною системою.

Найбільша кількість мікроорганізмів у організмі людини міститься в ротовій порожнині, зокрема у зубному нальоті (в 1 грамі сухого зубного нальоту міститься 250 мільйонів клітин мікроорганізмів). Переважаючими тут є облігатні стрептококи, бактероїди, дріжджі, актиноміцети та факультативні ентеробактерії, синегнійні палички, кишкові палички, які можуть згубно впливати на організм. Слина сприяє підтриманню складу мікроорганізмів, завдяки антибактеріальним властивостям. У шлунку бактерії майже відсутні через бактеріальну дію шлункового соку та кислот. Але паталогічні зрушення кислотності можуть спричинити їх появу. У

тонкому кишечнику мікробів мало, там переважають аеробні мікроорганізми. У товстому кишечнику їх значно більше (у середньому 260 видів факультативних та облигатних анаеробів).

У бронхах, альвеолах бактерії практично відсутні, завдяки захисним властивостям епітелію носової порожнини. Верхні дихальні шляхи мають значно більше мікробів. Тут присутні стафілококи стрептококи, іноді віруси та інші мікроорганізми. При послабленні імунних сил, переохолодженні, виснаженні організму умовно патогенні мікроорганізми можуть викликати катар, бронхіти, ангіни, пневмонії.

Якісні і кількісні порушення у складі мікробіоценозів організмів людини і тварин можуть сприяти виникненню дисбактеріозів. Ступінь патогенності мікробів виражена вірулентністю (здатністю викликати захворювання). Вірулентність пов'язана із здатністю утворювати екзо- і ендотоксини, із здатністю до інвазії (проникнення в органи), з утворенням капсульного слизу, виділенням агресинів (речовини, які пригнічують захисні сили організму). При виникненні інфекцій розвивається запалення. Типовими ознаками запалень є порушення системи дихання, серцево-судинної системи та ін. У важких випадках можливий розвиток сепсису (потрапляння збудника захворювання у кров і рознесення його по всьому організму).

Захисту від інфекцій сприяє імунітет. Він може бути вродженим і набути. Профілактичними та терапевтичними заходами боротьби з інфекціями є використання вакцин, які можуть бути різних типів. Розрізняють живі вакцини (містять ослаблені мікроби), убиті вакцини (містять убиті мікроби), хімічні вакцини (на основі хімічних речовин) та асоційовані (комбіновані).

Мікрофлора повітря

Повітряне середовище є несприятливим для розвитку мікроорганізмів. Це обумовлено такими несприятливими факторами:

1. Відсутністю у повітрі поживних речовин для мікробів.
2. Згубною дією сонячних променів.
3. Мікроорганізми повітря піддаються висушуванню.
4. На них погано впливає коливання температур.

Кількісний і якісний склад мікроорганізмів повітря залежить від ступеня його забрудненості пилом, димом та іншими органічними і мінеральними речовинами.

Вміст мікроорганізмів у повітрі коливається у широких межах (від декількох клітин до десятків тисяч на 1 м³).

Чисельність і видовий склад мікрофлори повітря визначається рядом факторів:

1. Географічна зона. Практично стерильним є повітря полярних районів. Відносно чисте повітря над морями та океанами. Найбільш забрудненим є повітря промислових районів. Так, на висоті 500 м над промисловими центрами кількість бактерій може сягати 2000-3000 клітин на 1 м³. При сильному вітрі їх кількість зростає до 7000-8000 клітин на 1 м³.

2. Висота над рівнем моря. Найбільша кількість мікроорганізмів зосереджена у нижніх шарах атмосфери над поверхнею ґрунту. Верхні шари тропосфери бідні на мікроорганізми. У стратосфері мікроорганізми можуть знаходитись лише за рахунок виверження вулканів чи атомних вибухів.

3. Сезон року. Максимальна кількість мікроорганізмів у повітрі міститься у суху жарку погоду. Мінімальна кількість – взимку. Весна і осінь займають проміжне місце за кількістю мікробів у повітрі.

4. Метеорологічні умови. Випадання опадів у вигляді дощу та снігу у значній мірі очищає повітря від пилу, тому і кількість мікроорганізмів у повітрі зменшується.

5. Характер місцевості. Зелені насадження мають пилеутримуючу здатність. Крім того, рослини виділяють фітонциди, які згубно діють на мікроорганізми. Тому у парках та садах забруднення повітря на мікроорганізми знижується у 2,5-3 рази. Важливе значення на вміст мікробів у повітрі мають місцеві джерела забруднення, такі як смітники, промислові підприємства та інші.

У повітрі переважна кількість мікробів представлена бактеріями роду *Micrococcus* (66%), споровими грибами роду *Bacillus* (25%), актиноміцетами та пліснявими грибами. Спори грибів і бактерій піднімаються на значну висоту – 85 км і вище. Всього у повітрі при його аналізі виявляють близько 1200 різних видів бактерій та актиноміцет.

Мікрофлора приміщень

Санітарний стан мікрофлори приміщень залежить:

1. Від санітарно-гігієнічного режиму, який включає розміри приміщення, кількість та якість прибирань, освітлення, провітрювання.

2. Від кількості людей у приміщенні та роду їх діяльності.

Санітарно-гігієнічний стан приміщень визначається за такими показниками:

1. Мікробне число – це загальна кількість мікроорганізмів у 1 м³ повітря.

2. Число санітарно-показникових бактерій. До них відносять гемолітичні стрептококи і стафілококи, які містяться в 1 м³.

Особливі вимоги до стану повітря мають приміщення пологових будинків, операційних та лікарняних палат, дитячих закладів. Так до початку операції мікробне число не повинно перевищувати значення 500 клітин у 1 м³ повітря, а число санітарно-показникових бактерій повинно бути 0 у 250 літрах повітря. При операції на центральній нервовій системі мікробне число не повинно бути більше 70 клітин у 1 м³.

Для зменшення кількості мікробів проводять дезінфекцію повітря. Для цього застосовують бактерицидні лампи, які викликають загибель бактерій та вірусів, або розпилюють хімічні антисептики, які не повинні мати запаху і бути не токсичними для людини. Такими антисептиками є 3-етиленгліколь та пропіленгліколь.

Через повітря може здійснюватись передача інфекцій. Відомо два шляхи передачі інфекцій через повітря:

1. Повітряно-крапельний шлях. Цим шляхом передаються інфекції вірусної та бактеріальної природи: коронавірусна інфекція, грип, гострі респіраторні захворювання, кір, віспа, коклюш, скарлатина, туберкульоз. При розмові та чханні в повітря виділяється до 60 тисяч крапель бактеріального аерозолі, який розповсюджується на 1-1,5 м. Якщо діаметр краплини становить близько 100 мкм, то вона у повітрі тримається близько 3 секунд. Після випаровування вологи лишається бактеріальна клітина, діаметр якої становить 2 мкм. Такі клітини розповсюджуються у повітрі шляхом дифузії і можуть існувати протягом доби і навіть більше.

2. Повітряно-пиловий шлях. Встановлено, що 1 г пилу може містити до 1 мільйона клітин бактерій. Пил містить як патогенні, так і непатогенні мікроорганізми. Серед патогенних можуть зустрічатись стрептококи, стафілококи, які здатні до пошкодження епідермісу, мікобактерії туберкульозу, бацили сибірської виразки, бактерії сальмонели та інші.

Заходами боротьби з мікроорганізмами у приміщеннях є:

1. Вологе прибирання.
2. Провітрювання.
3. При наявності вогнища інфекції використання масок для запобігання розповсюдження мікроорганізмів, знешкодження мокрот хворого.
4. Застосування аерозольних вакцин.

Відомо, що вірус грипу зберігає свою вірулентність у повітрі протягом 4-9 годин.

Мікрофлора води

Мікрофлора природних вод

Вода є більш сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів ніж повітря. За походженням мікрофлори і її особливістю природні води поділяються на такі групи:

1. Підземні або джерельні води, які містять мало мікроорганізмів (не більше 10 бактерій на 1 мілілітр). Чистота цих вод пояснюється фільтрацією води через шари ґрунту.

2. Вода атмосферних опадів. Склад мікроорганізмів у водах опадів залежить від місцевості, де вони проходять. У промислових районах вода опадів є забрудненою. Чим більше забруднене повітря, тим більше мікроорганізмів міститься в опадах. Кількість мікробів при цьому може коливатись від 10 до 100 бактерій в 1 мілілітрі води.

3. Поверхневі води річок, озер, водосховищ, морів та океанів. У цих водах мікроорганізмів значно більше. Переважаючими у поверхневих водах є зелені і пурпурні бактерії, залізобактерії. Якісний і кількісний склад бактерій залежить від забрудненості води.

Для екологічної характеристики забрудненості вод введені поняття трьох зон сапробності:

1. Полісапробна зона. У цій воді міститься велика кількість рослинних і тваринних решток, органічних речовин побутових і промислових вод. Тому переважаючими тут є анаеробні бактерії бродіння органічних речовин. При

цьому виділяються велика кількість токсичних газів (сірководень, аміак та інші), ряд токсичних речовин, які мають неприємний запах. В одному мілілітрі такої води міститься до 1 мільйона бактерій. Переважаючими є анаеробні бактерії роду *Clostridium* і бактерії кишкової палички.

2. Мезосапробна зона. У такій воді відбуваються процеси мінералізації органічних речовин шляхом аеробного окиснення. Ця зона поділяється на дві підзони:

- α -мезосапробна зона. В одному мілілітрі міститься від 100 тисяч до 1 мільйона бактерій. У такій воді відбуваються початкові етапи мінералізації.

- β -мезосапробна зона. В одному мілілітрі міститься від 1000 до 100 тисяч бактерій. У такій воді відбуваються більш інтенсивні процеси окиснення і завершуються процеси мінералізації органічних сполук.

3. Олігосапробна зона. В одному мілілітрі міститься не більше 1000 бактерій, бактерії кишкової палички відсутні. У такій воді відбуваються процеси окиснення неорганічних сполук (окиснення Fe^{2+} до Fe^{3+} , окиснення нітритів до нітратів).

Значення мікрофлори водойм:

1. Мікроорганізми води здійснюють мінералізацію органічних залишків фіто- та зоопланктону, а також органічних сполук, що надходять із суші.

2. Маса бактерій природних вод становлять бактеріальний планктон, який разом із фітопланктоном є харчовою базою для живих організмів.

3. Мікроорганізми води беруть участь у кругообізі біогенних елементів.

4. Вони також беруть участь у формуванні хімічного складу морської води і придонних відкладень.

5. Мікроби сприяють самоочищенню водойм. При цьому велика роль належить сапрофітам, які перетворюють органічні речовини на неорганічні і частково знищують патогенні організми. Варто пам'ятати, що можливості самоочищення води обмежені.

Мікрофлора питної води

Питну воду отримують з природних джерел. Санітарний стан питної води визначають колі-індексом. Цей показник характеризує наявність кишкової палички у питній воді. За колі-індексом вода поділяється на:

1. Чисту – в 1 л може міститись до 10 клітин кишкової палички.

2. Слабо забруднену – в 1 л спостерігається від 11 до 100 клітин кишкової палички.

3. Забруднену – в 1 л від 101 до 1000 клітин кишкової палички.

4. Дуже забруднену – в 1 л від 1001 до 10000 клітин кишкової палички.

Вірулентність мікроорганізмів у воді може зберігатись тривалий час. При вживанні питної води з великим вмістом кишкової палички можуть розвиватись гострі захворювання (дизентерія, черевний тиф, холера). Збудники цих захворювань зберігаються у воді до 90 діб. Джерелами забруднення питних вод є побутові або промислові води, неправильне внесення добрив чи пестицидів на сільськогосподарські угіддя.

Питна вода повинна бути безпечною у епідемічному відношенні та нешкідливою за хімічним складом. За вмістом загальної кількості бактерій в одному мілілітрі води виділяють такі групи питної води:

1. Чиста вода, в якій міститься до 100 бактерій.
2. Сумнівно чиста (100-500 бактерій).
3. Забруднена вода (більше 500 бактерій).

Санітарними показниками питної води є:

- Колі-титр – це найменший об'єм води у мілілітрах, що містить 1 клітину кишкової палички. Для водопровідної води цей показник не повинен перевищувати 300 мл.

- Колі-індекс – це кількість клітин кишкової палички в 1 л води. Цей показник для водопровідної води повинен не перевищувати 2-3 клітин на 1 літр.

Сучасна система очистки питних вод на водоочисних станціях включає ряд операцій. Спочатку проводиться забір води з природних водойм. Потім воду піддають механічній очистці, використовуючи для цього решітки та густі сітки. У подальшому вода проходить хімічну обробку. При цьому вона знезаражується, з неї видаляється запах, освітлюється. При подальшій обробці застосовують систему фільтрів. При цьому воду пропускають через дренажні труби, гравій, пісок. За необхідності додатково проводять кінцеве очищення. Крім того проводять знезараження води шляхом введення газоподібного чи рідкого хлору у такій кількості, щоб після насичення у воді лишалось не менше 0,3-0,5 мг/л після 30 хвилинного контакту. Запах води нейтралізують шляхом додавання 20-25% розчину аміаку. Освітлюють воду коагулянтами (солі $Al_2(SO_4)_3$ і $Fe_2(SO_4)_3$). Ці солі реагуючи з вуглекислими солями води утворюють $Al(OH)_3$ і $Fe(OH)_3$, які випадають в осад, адсорбуючи 80% мікроорганізмів. З метою зменшення випадків захворювань на карієс проводять фторування води кремнефтористим натрієм. Як додаткові заходи для видалення мікроорганізмів застосовують також озонування води та її опромінення бактерицидними лампами.

Мікрофлора ґрунту

З життєдіяльністю мікроорганізмів, які живуть у ґрунтах пов'язано багато ґрунтових процесів – колообіги біогенних елементів, мінералізація тваринних і рослинних залишків, збагачення ґрунту доступними для рослин формами нітрогену та родючість ґрунту в цілому.

У ґрунті дуже чітко проявляються симбіоз, метабіоз й антагонізм мікробів і, як ні в якому іншому середовищі, виявляється надзвичайно багатий їх видовий склад. Особливо численні та різноманітні мікроорганізми навколо кореневих систем (у ризосфері) і на поверхні коренів (у ризоплані).

Якісний склад, кількість особин і співвідношення між різними групами мікроорганізмів змінюються залежно від типу ґрунту, гранулометричного складу, вмісту гумусу, рослинного покриву, способів його обробітку, внесення добрив та інше.

Склад мікрофлори ґрунту досить різноманітний. Переважаючими є водорості, плісняві гриби, актиноміцети, бактерії. Одними з перших меш-

канців ґрунту, який формується, стають водорості. Вони містять хлорофіл і розмішуються у верхніх горизонтах ґрунту, де достатньо вологи та світла. Найважливіший екологічний фактор для них – волога.

Мікробна система ґрунтів (і донних відкладень водоєм) – саморегульована система, в якій «керована» величина процесів гідролізу полімерів, а сигнальними метаболітами зворотного зв'язку слугують мономерні сполуки, що утворюються. Завдяки тому, що швидкість утворення мономерних сполук вища за швидкість їх використання, у мікроорганізмів-гідролітиків відбувається катаболічна репресія синтезу екзоферментів, і вони на деякий час переходять у стадію спокою. Її тривалість зумовлюється швидкістю зниження концентрації мономерів. Цей процес здійснюється мікроорганізмами-гетеротрофами, що створює умови для функціонування мікроорганізмів-оліготрофів, які здатні розвиватися при малих концентраціях у середовищі джерел карбону та енергії.

Вся маса мікроорганізмів ґрунту становить його запас або пул ґрунту. Роль пулу ґрунту заключається у підтриманні гомеостазу ґрунту – рівномірного стану органічних, мінеральних речовин та гумусу. Динаміка чисельності мікроорганізмів різних типів ґрунтів визначається наявністю таких груп мікроорганізмів:

1. Зимогенною мікрофлорою – це сапрофітні мікроорганізми, які здійснюють мінералізацію органічних залишків.

2. Автохтонною мікрофлорою, яка приймає участь у руйнуванні гумусу.

3. Оліготрофною мікрофлорою, яка представлена мікроорганізмами, що розвиваються за рахунок мінімальних кількостей органічних речовин і завершують процес мінералізації. Серед них розрізняють олігонітрофіли, які розвиваються в умовах наявності мінімальної кількості нітрогеновмісних речовин та олігокарбофіли, які розкладають залишки карбоновмісних речовин.

4. Автотрофною мікрофлорою.

Отже, мікробіоценоз – відкрита біологічна система, яка характеризується мінливістю співвідношення компонентів і підкоряється законам варіаційної статистики.

Для мікроорганізмів ґрунт є складною гетерогенною системою мікросередовищ з різними умовами життя. Встановлено, що 80-90% мікробів ґрунту знаходяться у адсорбованому стані на поверхні ґрунтових агрегатів, коренях рослин, речовинах органічних залишків. Незначна їх кількість міститься у ґрунтовому розчині.

Розподіл мікроорганізмів у ґрунті нерівномірний. Очевидно, більшість мікроорганізмів у ґрунтах розміщується в мікрозонах. Це залежить як від складу органічних речовин ґрунтових мікрозон, так і від взаємовідносин, які складаються між мікроорганізмами. Важливі фактори, що регулюють розподіл мікроорганізмів у природних середовищах – ґрунтово-географічні та кліматичні умови існування мікробів, тобто еколого-просторові закономірності розподілу мікроорганізмів і специфіка мікронаселення ґрунтових типів. Найбагатші бактеріями чорноземні ґрунти, каштанові та сіроземи.

У поверхневому шарі ґрунту, глибиною 1-2 мм, кількість їх відносно невелика, внаслідок дії сонячної та ультрафіолетової радіації, висушування та інших фізичних факторів. Найліпші умови життєдіяльності мікроорганізмів формуються на глибині 10-20 см. Саме тут активно іде процес розкладу органічних решток. На глибинах більше 5 м мікроорганізми виявлені у незначних кількостях.

Мікроорганізми, які живуть у ґрунті, мають дещо менші розміри, ніж вирощені на поживних середовищах у лабораторних умовах.

Під час дослідження мікрофлори ґрунту необхідно пам'ятати, що показники загальної кількості мікроорганізмів залежать більше від методу дослідження, ніж від конкретного їх вмісту. Найбільш достовірними вважають дані, отримані під час використання прямих методів аналізу. Якісний і кількісний мікробіологічний аналіз ґрунту є показником його родючості (сапрофітна мікрофлора) та санітарного стану (патогенна мікрофлора). Бактеріологічне дослідження ґрунту охоплює: визначення загальної кількості сапрофітних мікроорганізмів; кількості мікробів різних фізіологічних груп (амоніфікуючих, азотфіксуючих та ін.); мікроорганізмів-антагоністів і виявлення їх активності; визначення санітарно-показових мікроорганізмів.

ЛЕКЦІЯ 5. Фізіологія прокариот

Хімічний склад клітин прокариот

Хімічний склад мікроорганізмів, у тому числі й бактерій, подібний до хімічного складу тіла рослин і тварин. Бактеріальна клітина складається із органогенних елементів: вуглецю, азоту, кисню, водню і загальних елементів. На частку вуглецю припадає 45-55 %, азоту – 8-15 %, кисню – 30 %, водню – 6-8 %. Вміст зольних, або мінеральних, елементів становить від 2 до 14% сухої речовини клітин бактерій. Із різних елементів та їхніх сполук мікроби синтезують білки, вуглеводи, ліпіди, гліюцидоліпідні, гліюцидоліпіднопротеїдні комплекси, нуклеїнові кислоти, ферменти, вітаміни тощо.

Вода. Бактеріальна клітина містить 75-85% води й 15-20% сухої речовини. Спори бактерій містять значно менше води, ніж вегетативні клітини – 40-50%. Кількість води є основною частиною тіла бактерій. Вона перебуває в клітині бактерій як у зв'язаному, так і у вільному стані. Зв'язана вода є структурним елементом і не може бути розчинником. Вільна вода слугує за диспертне середовище для колоїдів і за розчинник для кристалічних речовин, джерело водневих і гідроксильних іонів і бере участь у різних хімічних реакціях. Вона зберігає майже всі властивості чистої води і відіграє також важливу роль у процесах дихання.

Сухий залишок. Суха речовина бактеріальної клітини (її органічна частина) складається із білків, вуглеводів, жирів і жироподібних речовин, нуклеїнових кислот та багатьох інших сполук.

Білки є основними компонентами органічних речовин бактеріальної клітини. Вони входять до складу цитоплазми, мембран та інших структур клітини. Вміст їх складає 50-80% сухої речовини бактерій. Розрізняють два основних види білків: протеїни і складні білки. Протеїни, або прості білки, під час гідролізу розкладаються на амінокислоти; складні білки є сполуками протеїнів і небілкових простетичних груп. Такими групами у складних білках можуть бути нуклеїнові кислоти, внаслідок чого ці білки назвали *нуклеопротеїнами*. Якщо простетичною групою білка буде жир або жироподібна речовина, такий білок називається *ліпопротеїном*. Останні можуть міститися всередині клітини у вигляді включень, а на поверхні цитоплазми утворювати мембрану. Сполуки білків з цукрами називаються глікопротеїнами. До білків належать також ферменти, які відіграють надзвичайно важливу роль у життєдіяльності мікроорганізмів.

Нуклеїнові кислоти. Це високомолекулярні поліконденсати мононуклеотидів, сполучених між собою у вигляді ланцюжка. Основним структурним елементом нуклеїнових кислот є нуклеотид, який складається з азотистої основи, п'ятивуглецевого цукру і залишку фосфорної кислоти. Крім ДНК, відомо три типи РНК: мРНК, рРНК і тРНК. ДНК складається з аденіну, гуаніну, цитозину, тиміну, дезоксирибози і залишку фосфорної кислоти; до

складу РНК входять аденін, гуанін, цитозину, урацил, рибоза і залишок фосфорної кислоти.

Різниця між цими двома нуклеїновими кислотами полягає в тому, що в ДНК є азотна основа тимін і дезоксирибоза, а в РНК – урацил і рибоза. Однак вияснилося, що у бактерій існують істотні відхилення від цього правила. Наприклад, у сінної палички виявлено нову азотисту основу – 5-оксиметилурацил, а в складі ДНК фага – *Bacillus subtilis* – дезоксиуридинову кислоту. Вміст нуклеїнових кислот у бактеріальній клітині, залежно від виду бактерій і поживного середовища складає від 10 до 30 % (на суху речовину).

Вміст *вуглеводів і багатоатомних спиртів* у бактеріальній клітині становить у середньому 12-18 % сухої речовини. До них належать: багатоатомні спирти, олігозиди, поліозиди, кислі поліозиди, нейтральні олігополіозиди, які містять ацетиламіногрупи, оліго- і поліозиди, що містять сіалову кислоту. Основна маса вуглеводів – це полісахаридний комплекс, який перебуває у вільному або зв'язаному стані з білками і ліпідами в оболонках і капсулах клітин. У клітинах деяких видів бактерій міститься також багато вуглеводів, подібних за хімічним складом до крохмалю і глікогену, декстринів і клітковини.

Ліпіди. У бактерій, які відкладають жир у вигляді особливих включень, кількість ліпідів може досягати 40% (міксобактерії туберкульозу, деякі дріжджі). У більшості бактерій вміст ліпідів коливається від 3 до 10 % (на суху речовину). Бактеріальні ліпіди складаються із вільних жирних кислот, нейтральних жирів, восків і фосфоліпідів. Нейтральні ліпіди бактерій містять ефіри жирних кислот і вуглеводи.

Ліпіди перебувають у клітинах мікробів як у вільному, так і в зв'язаному стані. Вони використовуються як будівельний (мембрани), енергетичний матеріал і як запасні поживні речовини. Крім білків, вуглеводів, жирів та жироподібних речовин, тіло мікробів містить і низку інших органічних сполук: органічні кислоти, спирти, пігменти, вітаміни, антибіотики тощо.

У клітинах мікроорганізмів містяться також *мінеральні речовини*: фосфор, сірка, натрій, магній, калій, кальцій, силіцій, хлор, а також мікроелементи: марганець, бор, молібден, кобальт, мідь, цинк та ін. Загальний вміст мінеральних речовин у бактерій становить у середньому від 2 до 14 % на масу сухої речовини. На кількісний і якісний склад мінеральних речовин великий вплив має середовище, на якому вирощують мікроби, їх вид і вік.

Мінеральні речовини відіграють важливу роль у регуляції внутрішньоклітинного осмотичного тиску і колоїдного стану цитоплазми, швидкості і напряму багатьох біохімічних реакцій. Низка мінеральних речовин є активаторами ферментів, стимуляторами росту тощо.

Харчові потреби мікроорганізмів

Для мікроорганізмів, як і для всіх інших істот, живлення є необхідним. Поживні речовини надходять із зовнішнього середовища в живий організм і використовуються ним або як будівельний матеріал, або як джерело енергії для процесів життєдіяльності.

Вивчення хімічного складу мікробів наочно показало, що для біосинтезу основних макромолекул їхнього тіла, з яких формується оболонка, мембрана, цитоплазма, нуклеоїд та інші компоненти, вони повинні одержувати для живлення вуглець, азот, фосфор, сірку, кисень, залізо, калій, кальцій, магній, натрій, хлориди, мікроелементи тощо.

Крім поживних елементів, що використовуються на побудову структурних компонентів клітини, мікроби також потребують постійного джерела енергії, яка використовується для біосинтезу різних сполук та інших життєвих процесів у клітині.

Одним з найважливіших поживних елементів є вуглець. Потреби різних мікроорганізмів у джерелах цього елемента різноманітні. Фотосинтезуючі організми, що використовують сонячну енергію, а також бактерії, які одержують енергію під час окиснення неорганічних речовин, використовують як головне джерело вуглецю найбільш окислену його форму – CO_2 .

Усі інші організми одержують вуглець, головним чином, із органічних речовин. З останніх вони отримують також шляхом окиснення і необхідну їм енергію. Поживна цінність джерел вуглецю залежить від будови їхніх молекул. Для більшості мікробів кращим джерелом вуглецю є органічні речовини, які містять частково окиснені його атоми (COH , CHOH , CH_2OH та ін.).

Мікроорганізми великою мірою різняться між собою за здатністю засвоювати різні сполуки вуглецю. Деякі види мікробів настільки всеїдні, що можуть для свого живлення використовувати найрізноманітніші вуглецеві сполуки. Поряд із цим існує також багато спеціалізованих типів мікроорганізмів, які потребують для живлення специфічних вуглецевих сполук. Відомі мікроби, які можуть використовувати нафту, парафіни, газоподібні вуглеводні, а також гуму, гудрон, капрон та інші синтетичні матеріали. Цікаво, що навіть різні гербіциди та отрутохімікати у ґрунті починають розкладатися мікроорганізмами. Практично важко назвати органічні сполуки, які б не засвоювалися мікроорганізмами.

Специфічність набору органічних речовин, властиву кожному виду мікроорганізмів, використовують для його фізіологічної характеристики і класифікації.

Джерелом азоту для різних видів мікроорганізмів можуть бути найрізноманітніші азотисті сполуки, а для деяких – навіть молекулярний азот атмосфери. Найдоступнішим джерелом азоту для багатьох мікробів є іони амонію (NH_4^+) і аміак (NH_3), які досить швидко проникають у мікробну клітину і трансформуються в іміно- та аміногрупи. Більшість мікробів асимілюють мінеральні форми азоту.

Поряд з мінеральними джерелами азоту багато видів мікроорганізмів використовують азот органічних речовин, які водночас слугують для них джерелом вуглецю та енергії. Використання органічних джерел азоту пов'язується, як правило, з відщепленням від них NH_3 і поглинанням його мікробною клітиною. Деякі мікроорганізми можуть засвоювати також амінокислоти. Білками можуть житися тільки ті мікроби, що виділяють у зовнішнє середовище екзоферменти.

Сірка є необхідним поживним елементом для мікроорганізмів. Вона міститься в клітинах в основному у відновленій формі, зокрема у вигляді сульфідної групи. Більшість мікробів може використовувати для живлення сульфати. Проте є бактерії, які потребують для свого живлення відновлення сполук сірки. Для них джерелом сірки можуть бути неорганічні сульфіди, тіосульфати і органічні сполуки, що містять сірку.

Фосфор входить до складу дуже важливих органічних сполук мікробної клітини: нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, коферментів, АТФ тощо. Без фосфору мікроорганізми не можуть рости і розвиватися. На відміну від азоту і сірки фосфор входить до органічної речовини тільки в окисненому стані (H_3PO_4). Фосфор надходить у мікробну клітину у вигляді молекул фосфорної кислоти і в незмінній формі бере участь у різних біологічних процесах. Найкращим джерелом фосфору для більшості мікроорганізмів є різні сорти ортофосфатної кислоти.

Калій активує ферментні системи, відіграє істотну роль у вуглеводневому обміні та синтезі клітинних речовин. Джерелом калію для мікроорганізмів є його солі.

Магній входить до складу хлорофілу зелених і пурпурних сіркобактерій, а також є активатором низки ферментів. У клітині він перебуває переважно в іонному стані. Для нормального росту й розвитку деяких бактерій необхідний також *кальцій*. Джерелом цих поживних елементів для мікробів є їхні водорозчинні солі.

Залізо також належить до незамінних поживних елементів. Мікроорганізми використовують його в дуже малих кількостях. Однак нормальний розвиток їх без цього елемента неможливий, оскільки залізо входить до гемінового угруповання, яке є коферментом для низки важливих дихальних ферментів (цитохроми, цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза тощо). Джерелом заліза для мікробів можуть бути сульфати та інші його солі.

Крім названих поживних елементів, мікроорганізмам також потрібні для живлення і *мікроелементи* (бор, цинк, марганець, молібден та ін.). вони засвоюються мікробами в дуже малій кількості, але, незважаючи на це, нормальний розвиток мікробів без них є неможливим, оскільки вони входять до складу багатьох ферментів, а також є їхніми активаторами.

Поряд з макро- і мікроелементами мікроорганізми потребують для своєї життєдіяльності у невеликих кількостях і спеціальних речовин або, як їх ще називають, *факторів росту* – вітамінів і вітаміноподібних речовин, пуринів і піримідинів, амінокислот тощо. За потребами у факторах росту бактерії поділяють на:

- Ауксотрофні – це бактерії, які потребують фактори росту. Як правило вони використовують ці речовини із поживного субстрату, на якому поселяються. Фактори росту потрібні бактеріям у дуже малій кількості.
- Прототрофні – це бактерії, які самі можуть синтезувати для своїх потреб всі необхідні речовини.

Механізм надходження поживних речовин у мікробну клітину

Проникнення води і розчинення в ній поживних речовин з навколишнього середовища в мікробну клітину, а також виділення продуктів життєдіяльності з клітини назовні відбувається через оболонку, капсулу і слизові шари. Капсула і слизовий чохол через свою нещільність особливо не впливають на транспорт речовин. Найважчим бар'єром для проникнення поживних речовин у клітину є оболонка і цитоплазматична мембрана.

Проникнення води і розчинених у ній поживних речовин через цитоплазматичну мембрану є досить складним динамічним процесом. Вважають, що розчинена речовина може пройти через цитоплазматичну мембрану тільки тоді, коли на неї діятиме якась сила, або за допомогою механізмів, що зумовлюють перенесення цієї речовини крізь мембрану. У першому випадку такою силою є *пасивна дифузія*, тобто коли транспорт речовин відбувається через мембрану під дією різниці концентрацій (для неелектролітів) з двох боків цитоплазматичної мембрани. Досліди показали, що, за винятком води, тільки деякі речовини можуть проникати крізь мембрану завдяки пасивній дифузії.

З термодинамічної точки зору напрям пасивної дифузії визначається як хімічним, так і електричним потенціалом речовини.

Транспорт більшості розчинених речовин крізь мембрану здійснюється за допомогою спеціальних механізмів перенесення. Перший тип такого механізму дістав назву *полегшеної дифузії*. Це молекули-переносники, які циркулюють між зовнішнім і внутрішнім пограничними шарами цитоплазматичної мембрани. Вважають, що ці розміщені у мембрані переносники зв'язують молекули розчинених речовин на її зовнішньому боці та транспортують їх на внутрішній. Дисоціація цього комплексу на внутрішній поверхні мембрани завершує процес транспорту. Полегшена дифузія відбуватиметься за участі особливих мембранних білків, які називають *пермеазами*. У разі випадків вони індукуються своїми субстратами. Найпростіша інтерпретація функції пермеаз полягає в тому, що вони мають здатність проходити через мембрановий бар'єр як з приєднаною молекулою субстрату, так і без неї.

Другий тип процесу транспорту речовин пермеазами називається *активним перенесенням*, або *активною дифузією*. Цей механізм транспорту дає змогу розчиненим речовинам проникнути у клітину всупереч термодинамічно несприятливому градієнту концентрації. Вважають, що переважна більшість речовин надходить у прокаріотичну клітину внаслідок активного перенесення. Оскільки активне перенесення відбувається проти градієнта концентрації, то воно потребує затрат метаболічної енергії. Ця енергія утворюється у процесі дихання або бродіння. Кількість пермеазних білків у цитоплазматичній мембрані мікробів може бути досить значною. Наприклад, підраховано, що на одну клітину *E.coli* припадає близько 8000 молекул пермеаз, які є переносниками лактози.

Під час активного транспорту здійснюється переміщення крізь цитоплазматичну мембрану хімічно незмінних речовин проти градієнта концентрації. Однак у бактерій є й інші транспортні системи, які перетворюють поживну

речовину на хімічно змінену форму, не здатну проходити крізь мембрану. Подібні системи перенесення радикалів не здійснюють активного транспорту тому, що концентрація незміненої поживної речовини у середині клітини завжди дуже низька. Однак загалом процес перенесення радикалів нагадує активний транспорт, оскільки концентрація хімічно зміненої сполуки усередині клітини може значно перевищувати концентрацію вільної сполуки у середовищі.

Прикладом системи перенесення радикалів, яка є звичайною для бактерій, є *фосфотрансферазна система*. Вона транспортує багато цукрів та їхніх похідних, які фосфорилуються у процесі перенесення і надходять у клітину у вигляді цукрофосфатів. Оскільки мембрана є практично непроникливою для більшості фосфорильованих сполук, то цукрофосфати, які утворилися, затримуються в середині клітини.

Типи живлення прокариот

За типами живлення прокариоти дуже різноманітні. Враховуючи потреби у живленні прокариотичних організмів, варто враховувати такі критерії:

1. Джерело Карбону. За цим критерієм прокариоти поділяють на автотрофи (як джерело Карбону використовують неорганічні речовини) та гетеротрофи (як джерело Карбону використовують органічні речовини).

2. Джерело енергії. За цим критерієм прокариоти поділяють на фототрофи (як джерело енергії використовують сонячне світло) та хемотрофи (як джерело енергії використовують енергію хімічних зв'язків).

3. Джерело електронів. За цим критерієм прокариоти поділяють на літотрофи (джерелом електронів є неорганічні сполуки) та органотрофи (джерелом електронів є органічні сполуки).

Враховуючи ці критерії, виділяють 4 основні типи живлення прокариот.

Таблиця

Основні типи живлення прокариотичних організмів

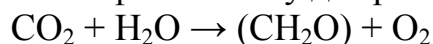
Тип живлення	Джере- -ло Карбо- ну	Джерело енергії	Джерело електронів	Представники
Фотолітоавтотрофи	CO ₂	Сонячне світло	H ₂ O та інші неорганічні сполуки (H ₂ S, S, H ₂)	Ціанобактерії, зелені, сірчані пурпурні бактерії.
Фотоорганотрофи	CO ₂	Сонячне світло	Органічні сполуки (спирти, орг. кислоти та інші)	Деякі пурпурні бактерії

Хемолітоавтотрофи	CO ₂	Реакції окиснення неорганічних сполук	Неорганічні речовини (H ₂ , H ₂ S, NH ₃ , Fe ²⁺ та ін.)	Нітрифікуючі, тіонові, водневі, ацидофільні бактерії, залізобактерії
Хемоорганогетеротрофи	Органічні сполуки	Реакції окиснення органічних сполук	Органічні речовини	Більшість бактерій (азот фіксуючі, молочнокислі, оцтовокислі та ін.

Фотолітоавтотрофи. Представники цього типу живлення здатні до бактеріального фотосинтезу. В основі цього процесу лежить перетворення енергії сонця, яка поглинається пігментами у біохімічну енергію АТФ. Ця енергія у подальшому використовується на засвоєння CO₂. Представники бактерій цієї групи мають пігменти – бактеріохлорофіли груп a, b, c і d, а також каротиноїди. Спектр поглинання сонячного світла у них значно ширший (до 1100 нм), порівняно з рослинами (до 780 нм). Така особливість прокариотичних організмів є пристосуванням до існування та до розширення меж екологічної ніші. Так деякі представники цих організмів можуть існувати під шаром водоростей у воді.

Каротиноїдних пігментів у прокариот нараховують близько 20 (особливо у пурпурних водоростей). Пігмент родопсин, що також може бути наявний у представників цього типу живлення, здатний поглинати світло у межах довжин хвиль від 400 до 550 нм і передавати енергію на бактеріохлорофіл. Це дає можливість існувати цим мікроорганізмам на значних глибинах.

Пігменти прокариот локалізуються у хроматофорах, які можуть мати різноманітну форму. Хімізм процесів фотосинтезу прокариот відрізняється від фотосинтезу у рослин. Так для фотосинтезуючих рослин донором протонів водню є вода. Загальне рівняння фотосинтезу для рослин має такий вигляд:



Для зелених і пурпурних бактерій донором протонів водню є H₂S, S та SO₃²⁻, тіосульфат, H₂, органічні речовини. При цьому кисень не утворюється. Більшість мікроорганізмів фотолітоавтотрофів – це облігатні анаероби. Виключенням є лише невелика група несірчаних пурпурних бактерій, які є факультативними анаеробами. Загальне рівняння бактеріального фотосинтезу має такий вигляд:



Суть бактеріального фотосинтезу така ж сама як і рослинного: вуглекислий газ є джерелом Карбону для синтезу органічних речовин під дією світла.

За визначником Бергі фотосинтезуючі бактерії представлені трьома родинami:

1. Родина Зелені бактерії.
2. Родина Сірчані пурпурні бактерії.
3. Родина несірчані пурпурні бактерії.

Дві перші родини представлені бактеріями, які існують у водоймах з підвищеним вмістом H_2S . Вони мають яскраве забарвлення зеленого, яскраво-малинового, коричневого, пурпурного чи фіолетового кольорів.

Фотоорганогетеротрофи. Бактерії цього типу живлення представлені однією родиною та трьома рядами. Їм характерна особливість перебудувати свій метаболізм. Завдяки цьому вони добре існують за різних умов: при світлі і у темряві. При цьому вони можуть переходити від анаеробного до аеробного способу існування. На світлі вони є фотоорганогетеротрофами і добре засвоюють вуглекислий газ як джерело Карбону для синтезу органічних речовин. Джерелом водню та електронів за таких умов для них є органічні речовини (цукри, спирти, органічні кислоти та амінокислоти). Часто органічні речовини є також і джерелом Карбону. У темряві такі бактерії стають хемоорганогетеротрофами. При цьому енергію вони отримують із органічного субстрату, який перетворюється за циклом Кребса.

Фотоорганогетеротрофи мають важливе значення в еволюційному плані для встановлення зв'язків між автотрофними та гетеротрофними організмами. Завдяки ним встановлено, що точна межа між типами живлення у прокариот відсутня.

Хемолітоавтотрофи. Ця група мікроорганізмів була відкрита С.М.Виноградським. До них належать нітрифікуючі, тіонові, водневі бактерії та залізобактерії. Нітрифікуючі бактерії отримують енергію з аміаку (NH_3). Нітрозні бактерії перетворюють аміак на нітрити, а нітратні бактерії в подальшому нітрити перетворюють на нітрати.

Тіонові бактерії як джерело енергії використовують H_2S , який окиснюють до S , а залізобактерії – Fe^{2+} , який окиснюють до Fe^{3+} . Хемолітоавтотрофи є геологічними агентами. Саме завдяки ним утворилися корисні копалини та здійснюється кругообіг таких елементів як N , S та Fe .

Хемоорганогетеротрофи. Ця група мікроорганізмів є найрозповсюдженішою. Їх ще називають санітарами планети. Їх поділяють на:

- сапрофіти, які розкладають органічні речовини решток;
- паразити, які існують за рахунок органічних речовин живої клітини.

У свою чергу паразити поділяються на:

- факультативні, ті які розвиваються на органічних середовищах, але потрапляючи в клітину-хазяїна переходять до паразитизму. До них належать також збудники таких хвороб, як пневмонії, менінгіту, гонореї, дизинтерії, черевного тифу, коклюшу, туберкульозу, сибірки.

- облігатні, які живуть виключно за рахунок органічних речовин клітин-хазяїна.

Процеси катаболізму і анаболізму у прокариотичних клітинах

Метаболічні процеси, які відбуваються у прокариотичних організмів поділяють на дві протилежні групи – катаболізм і анаболізм.

Катаболізм – це сукупність реакцій окиснення відновлених органічних і неорганічних сполук, які супроводжуються виділенням енергії, що акумулюється клітиною у вигляді АТФ або інших енерговмісних речовин. У прокаріот спостерігається декілька способів отримання енергії:

1. Бродіння. Розрізняють декілька типів бродіння, які можуть здійснювати прокаріоти. Ці процеси забезпечують найдавніші групи анаеробних прокаріот. Тип бродіння визначають за кінцевим продуктом, який утворюється внаслідок процесу окиснення.

2. Аеробне окиснення органічних і неорганічних речовин. Ці процеси здійснюються у більшості прокаріотичних організмів. При цьому розрізняють факультативні анаероби, які можуть переходити від аеробного окиснення органічних сполук до анаеробного нітратного або сульфатного дихання.

3. Анаеробне окиснення неорганічних сполук. Цей процес здійснюють хемолітотрофні прокаріотичні організми, які є дуже специфічною групою. Такий тип утворення енергії спостерігається тільки у цих організмів.

4. Використання енергії світла. До цих процесів здатні фотосинтезуючі бактерії.

Анаболізм – це сукупність реакцій біосинтезу конституційних і запасних компонентів клітини за рахунок речовин поживного субстрату та проміжних продуктів, які утворюються при катаболізмі. Анаболізм потребує енергії АТФ або інших енерговмісних речовин. Прокаріоти здійснюють біосинтез різноманітних речовин у своїх клітинах. Як приклади реакцій анаболізму прокаріот можна виділити:

1. Біосинтез вуглеводів.
2. Біосинтез амінокислот.
3. Біосинтез нуклеїнових кислот.
4. Біосинтез ліпідів.

Анаболізм і катаболізм у прокаріот відбуваються одночасно і тісно взаємопов'язані між собою. За сукупністю послідовних ферментативних реакцій їх можна поділити на три етапи:

1. Периферичний (початковий) метаболізм. На цьому етапі здійснюється ферментативне перетворення вихідного субстрату.

2. Проміжний етап. Це ферментативні реакції з утворенням проміжних продуктів, які часто є однаковими як для реакцій анаболізму, так і для катаболізму.

3. Кінцевий етап. Під час цього етапу утворюються кінцеві продукти анаболізму, які використовуються на побудову клітини, а також кінцеві продукти катаболізму, які виділяються клітиною у навколишнє середовище.

Для процесів анаболізму та катаболізму прокаріот характерна велика різноманітність. Це пов'язано із здатністю клітин прокаріот використовувати як джерело енергії і вихідних речовин безмежний набір органічних і неорганічних сполук, а також наявністю у прокаріотичних організмів різноманітних ферментативних систем.

Ферменти прокаріотичної клітини

Як відомо ферменти клітин виконують роль біокаталізаторів. У прокаріотичних організмів наявні ферменти всіх відомих класів ферментів. Це оксидоредуктази, трансферази, гідролази, ліази, ізомерази та лігази. Склад ферментів у клітинах прокаріот відносно постійний. Особливістю прокаріотичних організмів є те, що вони можуть синтезувати не лише ендоферменти, а і екзоферменти. Екзоферменти представлені класом гідролаз. Прокаріоти їх синтезують у своїх клітинах і виділяють назовні, де проходить розщеплення складних речовин, які не можуть потрапити у клітини без попереднього гідролізу.

За часом утворення ферменти прокаріот поділяються на дві групи:

1. Конститутивні ферменти. Ці ферменти синтезуються із постійною швидкістю незалежно від наявності субстрату, який підлягає перетворенню. Як правило їх концентрація у клітинах постійна. До таких ферментів належать гліколітичні ферменти.

2. Індуцельні ферменти. Швидкість синтезу цих ферментів зростає з появою субстрат-індуктора. До цієї групи ферментів належать гідролази.

Активність ферментів залежить від таких фізичних факторів, як температура, тиск, кислотність середовища та інших. Хімічні фактори також впливають на активність дії ферментів. Зокрема, окремі іони металів можуть реагувати з активними центрами ферментів і субстратів та впливати на пришвидження реакцій перетворення речовин.

Значну роль у метаболізмі прокаріот відіграють алостеричні ферменти, які реагують на потреби клітини у кінцевих продуктах ферментативних перетворень. При накопиченні цих продуктів алостеричні ферменти знижують активність перших ферментів у ланцюзі синтезу цих речовин, в результаті чого гальмується увесь процес утворення кінцевого продукту.

Клітини прокаріотичних організмів дуже економні. Вони синтезують лише ті ферменти, які необхідні. Тому кількість одного і того ж фермента у різний час може бути різною і коливатись у межах від 1-2 молекул до декількох відсотків від загальної маси клітини.

Катаболізм прокаріот.

Реакції бродіння.

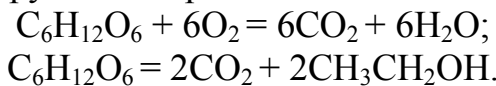
Спиртове бродіння

Досить поширеним способом отримання енергії прокаріотичними клітинами є процеси бродіння. Одним із найбільш поширених і вивчених типів бродіння є спиртове. Перші відомості про хімічну природу спиртового бродіння було знайдено в працях Каньяр-Латура, Шванна, Кютцінга і Тюрпена (1837-1838). Проте через жорстку критику, якій Ю. Лібіх піддав цю теорію, її швидко забули. І тільки в 1857 р. Л. Пастер експериментально довів і теоретично обґрунтував біологічну природу процесів бродіння. Йому вдалося на прикладі спиртового, молочнокислого і маслянокислого бродіння довести, що ці процеси спричиняються життєдіяльністю мікроорганізмів.

«Бродіння – це життя без повітря», – писав Л. Пастер, тобто життя за рахунок анаеробних перетворень речовин, яким належить фізіологічна роль у забезпеченні життя енергією. Він також відкрив, що кисень пригнічує бродіння. Цей ефект, який дістав назву ефекту Пастера, відомий тепер як один із класичних прикладів регуляції обміну речовин.

Під час вивчення спиртового бродіння Л. Пастер уперше спостерігав, як за присутності кисню інтенсивність бродіння знижується, що призводить до зменшення кількості виділених спирту і CO_2 . Водночас посилюється органічний синтез, про що свідчить значне збільшення маси дріжджових клітин. У цьому факті Л. Пастер угледів доказ того, що одиниця вуглецю в цукрі, яким живляться дріжджі використовується за доступу кисню набагато ефективніше, ніж в анаеробних умовах.

Питання про наявність чи відсутність ефекту Пастера вирішується зіставленням кількості CO_2 , яка виділяється в нормальних і анаеробних умовах, що добре ілюструється на рівняннях дихання і бродіння:



З наведених рівнянь випливає, що на кожен молекулу цукру, який використовується в аеробних умовах, має виділятися втричі більше CO_2 ніж під час бродіння. Отже, якщо коефіцієнт CO_2 аеробне/ CO_2 анаеробне буде меншим за 3, то матимемо пастерівський ефект.

Найпримітивнішим способом добування енергії, який властивий певним групам мікроорганізмів, є процеси бродіння. Примітивність їх полягає в тому, що із субстрату добувається лише незначна частина тієї хімічної енергії, яка в ньому міститься. Продукти, що утворюються в процесі бродіння, містять ще значну кількість енергії.

Бродіння – це процес, у якому має місце поєднане окиснення–відновлення зброджуваного субстрату без участі кисню. Основною проблемою всіх процесів бродіння є проблема акцептора електронів. Ступінь окиснення і поєднана з цим кількість вільної енергії, яка виділяється, а також характер продуктів, що утворюються при цьому, визначаються природою кінцевих акцепторів електронів. Якщо кінцевим акцептором електронів є оцтовий альдегід, то утворюватиметься етанол, якщо гліцериновий альдегід – гліцерол, якщо піровиноградна кислота – молочна кислота тощо. Отже, залежно від переважаючої кількості продуктів, які виділяються і є акцепторами електронів, розрізняють: спиртове, молочнокисле, пропіоновокисле, маслянокисле та інші види бродіння.

Спиртовим бродінням називається процес розщеплення цукру мікроорганізмами на спирт і вуглекислий газ. Ще в 1815 р. Гей-Люссак встановив, що гексози перетворюються на спирт і CO_2 за таким рівнянням: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{CO}_2$, яке нині є загальноприйнятим.

Збудниками спиртового бродіння є дріжджі, деякі мукові гриби і бактерії. У Європі для спиртового бродіння переважно використовують дріжджі *Saccharomyces*, в Азії – мукові гриби, а в Південній Америці – бактерії.

Дріжджі належать до класу сумчастих грибів (*Ascomycetes*), родини цукроміцетових. Є багато видів і рас дріжджів, усі вони мають овальні або видовжені, завбільшки (8-12)×(5-6) мкм клітини, розмножуються здебільшого брунькуванням, рідше поділом (поперечною перегородкою на дві клітини). У багатьох представників відомий і статевий процес. Дріжджі можуть існувати у гаплоїдній і диплоїдній фазах. Зміну ядерних фаз у дріжджів розглядають як чергування поколінь. Розрізняють аксоспорогенні, аспорогенні та балістоспорогенні дріжджі.

Рід цукроміцети об'єднує природні і так звані «культурні» види дріжджів, існування яких тісно пов'язане з історією бродильного виробництва. Найхарактернішою ознакою всіх видів дріжджів цього роду є їхня здатність до активного збродження цукрів з утворенням спирту і CO₂. До них належать хлібопекарські, пивні і винні дріжджі.

Описано понад 200 видів цукроміцетів. Найважливіше значення для людини має *Saccharomyces cerevisiae*. Цей вид включає нині сотні рас «культурних» дріжджів. Виробничі дріжджі поділяють на верхові (хлібопекарські, спиртові, винні) і низові (пивні).

Хімізм спиртового бродіння. Вивчення спиртового бродіння мало неопціненне значення для розвитку біології. У 1897 р. брати Бухнер виявили, що екстракт мацерованих дріжджів має здатність зброджувати глюкозу до етилового спирту. Цим самим було доведено, що такий складний процес, як бродіння, може відбуватися поза клітиною. Це відкриття поклато край суперечці між двома великими вченими – Л.Пастером і Ю.Лібихом. Воно примирило обидві теорії: і біологічна, і хімічна виявились правильними.

Вивчення позаклітинного бродіння стало важливим етапом у дослідженні хімізму цього процесу. Було встановлено, що ферментативне розщеплення цукрів супроводжується утворенням різних проміжних продуктів у результаті взаємозв'язаних реакцій. Каталізаторами цих реакцій є ферменти зимазного комплексу.

Збродження цукрів дріжджами до утворення спирту і вуглекислого газу відбувається за схемою Ембдена-Мейергофа-Парнаса. Будь-яке бродіння відбувається у дві стадії:

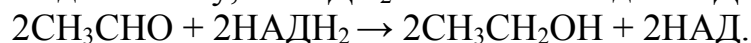
1. Окиснення. На цій стадії відбувається перетворення глюкози до піровиноградної кислоти і відщеплення двох пар водню (при окисненні 3-фосфогліцеринового альдегіду).

2. Відновлення. На цій стадії НАДН₂ передає водень кінцевому акцепторові.

За спиртового бродіння піровиноградна кислота, яка утворилася на стадії окиснення, не перетворюється на ацетил-КоА, як при аеробному метаболізмі, а декарбоксілюється до оцтового альдегіду:



Цю реакцію каталізує дріжджовий фермент піруватдекарбоксілаза, який можна вважати ключовим ферментом спиртового бродіння. Оцтовий альдегід відіграє роль кінцевого акцептора водню. Вступаючи у взаємодію з НАДН₂, він відновлюється до етанолу, а НАДН₂ окиснюється до НАД:



Ця реакція каталізується ферментом алкогольдегідрогеназою.

Поряд із головним продуктом бродіння – C_2H_5OH і CO_2 у невеликій кількості утворюються побічні продукти: гліцерол, оцтовий альдегід, оцтова і янтарна кислоти, сивушні олії – суміш вищих спиртів. Походження сивушних олій (вищих спиртів – бутилового, ізобутилового, ізоамілового) пов'язане з перетворенням амінокислот, які утворюються у процесі живлення дріжджів. Сивушні олії утворюються дезамінуванням і декарбоксілюванням окремих амінокислот під дією ферментів дріжджів. Наприклад, у разі гідролітичного дезамінування лейцину утворюється ізоаміловий спирт.

У початковій фазі (так званому індукційному періоді) бродіння, коли ще немає достатньо оцтового альдегіду, водень, відщеплений дегідрогеназою від одних молекул фосфогліцеринового альдегіду, переноситься на інші молекули цієї сполуки. В результаті цього утворюється фосфогліцерол, який може перетворюватись на гліцерол, звільнившись від фосфору. Такий видозмінений процес спиртового бродіння дістав назву гліцеролового бродіння: $2C_6H_{12}O_6 + H_2O = 2C_3H_5(OH)_3 + 2C_2H_5OH + 2CO_2$.

Коли в середовищі накопичуватиметься оцтовий альдегід, настає друга – стаціонарна фаза спиртового бродіння. При цьому водень витратиться на відновлення не фосфогліцеринового, а оцтового альдегіду і утворюватиметься не гліцерол, а етиловий спирт.

Якщо ставиться за мету добування гліцеролу, то із реакцій треба вивести оцтовий альдегід. Це можна зробити введенням у бродильне середовище сульфату натрію, бісульфітних солей кальцію тощо, тобто створити лужну реакцію ($pH = 8$).

Найкращою концентрацією цукру в бродильному середовищі для переважної більшості рас дріжджів є 10-15 %, оптимальне $pH=4-5$, температура 20-28 °C. При порівняно високих температурах (до 30 °C) найчастіше відбувається так зване верхове бродіння, яке спричиняють раси верхових дріжджів. Цей вид бродіння використовують у виробництві спирту і хлібопекарських дріжджів.

За низьких температур (5-10 °C) відбувається низове бродіння, яке зумовлюють раси низових дріжджів. Ці раси на відміну від верхових повністю зброджують рафінозу і не виносяться на поверхню бродильного субстрату. Низове бродіння використовують у пивоварінні та виноробстві.

При виготовленні тіста з пшеничної муки застосовують хлібопекарські пресовані, сухі або рідкі дріжджі. Останні виготовляють безпосередньо на хлібо заводах. При виготовленні дріжджів використовують чисті культури *Saccharomyces cerevisiae*, найчастіше Краснодарську, Дніпропетровську і Щелковську раси. Хліб, вироблений на рідких дріжджах, має приємніший смак і аромат, аніж хліб, випечений з використанням пресованих або сухих дріжджів.

Дріжджі використовують і безпосередньо як харчовий і кормовий продукт, бо вони багаті на білки, жири, вітаміни. Наприклад, кормові дріжджі широко використовуються як білковий корм для тварин, а також для дріжджування кормів.

Найчастіше застосовуються продуктивні штами кормових дріжджів *Candida scottii* і *Candida tropicalis*. З деяких видів дріжджів виготовляють також лікарські препарати (ергокальциферон та ін.), які використовуються для лікування авітамінозів та інших захворювань.

Щорічне світове виробництво одних тільки хлібопекарських дріжджів становить близько мільйона тон. При виробництві таких дріжджів використовують раси *Saccharomyces cerevisiae*, які добре розмножуються на мелясі (Одеська - 14, гідрид №196-6).

Молочнокисле бродіння

Молочнокислим бродінням називається анаеробний процес розкладу цукру під впливом молочнокислих бактерій з переважним утворенням молочної кислоти. Це бродіння відоме людині ще з сивої давнини. Проте біологічна суть цього процесу була встановлена лише в 1857 р. Л.Пастером, коли він відкрив у кислому молоці мікроорганізми – молочнокислі бактерії.

Під час вивчення цього виду бродіння Л. Пастер вперше з'ясував роль мікробів, які його спричиняють. Молочнокислі бактерії досить поширені в природі. Їх можна знайти скрізь – у повітрі й ґрунті, у молоці і на поверхні овочів та фруктів. Чимало їх є й на поверхні тіла, у кишках людини і тварин. Залежно від продуктів, які накопичуються під час бродіння, всі молочнокислі бактерії поділяють на дві групи:

1. Гомоферментативні молочнокислі бактерії утворюють при зброджуванні цукрів як основний продукт молочну кислоту і незначну кількість інших продуктів.

2. Гетероферментативні молочнокислі бактерії в процесі зброджування цукрів, крім молочної кислоти, утворюють значну кількість інших речовин: кислоти, спирт, вуглекислий газ тощо. Крім цього, деякі гетероферментативні бактерії можуть продукувати чотиривуглецеві сполуки – ацетоїн і діацетил ($\text{CH}_3\text{COCOC}_2\text{H}_5$). Останній має приємний запах, а тому продуктам, в яких розвиваються ці бактерії, притаманний характерний аромат.

Загальною рисою всіх молочнокислих бактерій є їхня висока цукролітична здатність і відсутність у більшості з них анаболітичних шляхів. Вони грампозитивні, неспоронні (за винятком *Lactobacillus inulinus*), переважно нерухливі анаероби або мікроаерофіли. Характерною рисою молочнокислих бактерій є також потреба їх у ростових речовинах. Вони не можуть рости на суто мінеральних середовищах з глюкозою і NH_4^+ . Більшість їх потребують вітамінів, пантотенової та фолієвої кислот, а тому вирощують ці бактерії на складних поживних середовищах. Молочнокислі бактерії добре витримують висушування, стійкі до CO_2 і етилового спирту. За реагуванням на температуру їх можна поділити на мезофільні – з оптимумом росту 25-35 °С і термофільні – з оптимумом росту 40-45 °С.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння зумовлюють представники родів *Streptococcus*, *Pedococcus* і *Lactobacillus*. Найважливішим із них для промисловості є молочнокислий стрептокок (*Streptococcus lactis*) – кулясті бактерії, з'єднані у довгі ланцюжки. Вони найкраще розвиваються

при температурі 30-35 °С, спричиняють природне скисання молока. Використовуються для виготовлення простокваші, сиру та інших молочнокислих продуктів. Деякі раси *Streptococcus lactis* утворюють антибіотик нізин.

Іншим поширеним представником роду *Streptococcus* є *Streptococcus cremoris*. Це бактерії кулястої форми, з'єднані у довгі ланцюжки. Цей мезофільний стрептокок добре розвивається при 25 °С і утворює підвищену кількість легких кислот. Деякі штами його можуть виробляти антибіотик диплококцин.

Стрептокок термофільний (*Streptococcus thermophilus*) добре розвивається за температури 40-45 °С. При зброджуванні цукру ці бактерії накопичують близько 1 % кислоти. Їх також використовують для виготовлення ряжанки, простокваші, сиру тощо.

Серед кулястих молочнокислих бактерій вирізняється також *Streptococcus diacetalis*, який утворює леткі і ароматичні речовини, що поліпшують смак і аромат молочних продуктів. Важливим є представник роду *Pediococcus* – *Pediococcus cerevisiae*. Бактерії цього роду найчастіше містяться в силосі, квашених овочах, сирі, кишках тварин та інших середовищах.

Папичкоподібні молочнокислі бактерії, як і коки, трапляються скрізь: у ґрунті, на рослинах, у молочних продуктах, кишках людини і тварин тощо. Серед них є термобактерії і стрептобактерії. Найбільш поширеними гомоферментативними представниками роду *Lactobacillus* є сирна паличка (*Lactobacillus casei*), болгарська паличка (*Lactobacillus bulgaricus*), ацидофільна паличка (*Lactobacillus acidophilus*), дельбрюківська паличка (*Lactobacillus delbrueckii*) і молочнокисла паличка (*Lactobacillus plantarum*). Сирна папичка накопичує до 1,5 % молочної кислоти, використовується для виготовлення різних видів сирів. Термофільна болгарська паличка є сильним кислотоутворювачем (2,5-3,5 %). Використовується для виготовлення південної простокваші та кумису.

Ацидофільна паличка належить до термофілів. Вона виробляє антибіотичні речовини, здатні негативно впливати на збудників кишкових захворювань. Застосовується у виробництві ацидофільного молока та інших продуктів.

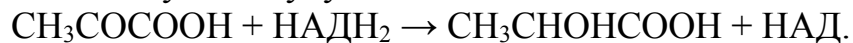
Дельбрюківська паличка не зброджує лактозу, а тому в молоці не розвивається. Її ще називають зерною. Цю термофільну бактерію застосовують у хлібопеченні та у виробництві молочної кислоти. Молочнокисла паличка є збудником бродіння під час квашення овочів і силосування кормів.

Гетероферментативне молочнокисле бродіння здійснюють бактерії родів *Leuconoctoc*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*. Представники роду *Leuconoctoc* найчастіше трапляються на рослинах. Серед них *L. mesenteroides*, *L. dextranicum*, *L. citrovorum* активно зброджують вуглеводи при квашенні огірків, капусти і силосуванні, надають сквашеному продуктові приємного смаку й аромату. Гетероферментативні лактобацили – *L. fermentati*, *L. brevis* – слабо зброджують молочний цукор. Їх часто виявляють на рослинних і хлібних заквасках. До роду *Bifidobacterium* належать неспорозні, анаеробні або мікроаерофільні палички, що живуть у кишках людини, тварин, комах тощо.

В. М. Шапошников (1968) встановив, що при зброджуванні вуглеводів гексоз у всіх бактеріальних видах бродіння можна розрізнити дві фази. Під час першої фази відбувається інтенсивний синтез білка та інших речовин клітин бактерій. У сумі ці речовини містять більше водню з розрахунку на один атом вуглецю, ніж вуглеводи, а тому біосинтез речовин тіла з вуглеводів завжди супроводжується утворенням у середовищі більш окиснених продуктів бродіння.

У другій фазі спостерігається сповільнення біосинтезу речовин клітин бактерій, що компенсується появою в середовищі більш відновлених продуктів. Отже, утворення молочної кислоти відстає від темпу розвитку бактерій, що є проявом двофазності бродіння.

Зі схеми хімізму гомоферментативного бродіння випливає значна схожість гомоферментативного і спиртового бродіння. Цукор розкладається за методом Ембдена – Мейєргофа – Парнаса до піровиноградної кислоти. Проте, на відміну від спиртового бродіння, остання не декарбоксілюється до оцтового альдегіду, а безпосередньо використовується як акцептор водню і утворює молочну кислоту. Вихід АТФ в обох випадках становить дві молекули АТФ на одну молекулу глюкози:



Реакція каталізується ферментом лактатдегідрогеназою.

Гетероферментативне молочнокисле бродіння – більш складний процес, ніж гомоферментативне. У найпростіших гетероферментативних бродіннях поряд з молочною кислотою утворюється приблизно така сама кількість оцтової кислоти та етилового спирту. При цьому бродінні бактерії спочатку інтенсивно розмножуються і в середовищі накопичується переважно оцтова кислота, потім розмноження бактерій уповільнюється і накопичується переважно молочна кислота. Отже, найшвидше розмноження бактерій збігається у часі з найшвидшим утворенням відносно окисленого продукту бродіння – оцтової кислоти, а не молочної.

Хімізм гетероферментативного бродіння досліджено менше, ніж гомоферментативного. Вважають, що у разі гетероферментного бродіння, як і в пентозофосфатному циклі, рибулозо-5-фосфат утворюється із 6-фосфоглюконової кислоти. У результаті епімеризації рибулозо-5-фосфат перетворюється на ксилулозо-5-фосфат. Останній розпадається на 3-фосфогліцеринувий альдегід і ацетилфосфат за участю фосфокетолази, коферментом якої є тіамініпрофосфат. Далі ацетилфосфат перетворюється на ацетил-КоА в реакції, яка каталізується фосфотрансацетилазою. Внаслідок наступного відновлення ацетил-КоА ацетальдегід- і алкогольдегідрогеназами утворюється етиловий спирт. 3-Фосфогліцеринувий альдегід, який утворився у фосфокетолазній реакції, перетворюється на молочну кислоту, як і під час гомоферментативного бродіння.

Молочнокисле бродіння широко застосовують для виготовлення молочних продуктів (кефір, простокваша, ряжанка, мацун, айран, курунга, йогурт, лебен, кумис тощо), у хлібопеченні, при квашенні овочів, силосуванні кормів, виготовленні деяких сортів ковбас. Цей вид бродіння

використовують і при обробці хутрових шкур та у виробництві молочної кислоти для потреб консервної, кондитерської промисловості, а також при виробництві безалкогольних напоїв.

Під час **комбінованого бродіння** паралельно відбуваються два процеси – молочнокисле й спиртове бродіння. Цей вид бродіння широко застосовують у практиці виготовлення таких молочнокислих продуктів, як кефір, кумис тощо. Наприклад, для виготовлення кефіру використовують закваску кефірних зерен, в якій є молочнокислі бактерії *Lactobacillus casei*, стрептококи і дріжджі *Saccharomyces kefir*. Бактерії і гриби перебувають у симбіотичних взаємовідносинах. Продуктами бродіння є молочна кислота і спирт. При температурі понад 20 °С інтенсивніше відбувається молочнокисле бродіння, а температура нижче за 15 °С сприяє інтенсивному спиртовому бродінню. Отже, змінюючи температуру можна регулювати співвідношення між молочною кислотою і спиртом, які накопичуються у кефірі.

Для виготовлення чорного (найчастіше житнього) хліба використовують закваску з тіста, яке містить дріжджі та молочнокислі бактерії. Кислуватий смак хліба зумовлений молочнокислим бродінням, а спиртове бродіння спричинює утворення пористості в хлібі. Тепер для розведення житніх заквасок використовують чисті культури дріжджів і молочнокислих бактерій. Це дає змогу скорочувати строки бродіння тіста.

Процес **квашення** овочів поділяється на три періоди:

1. Початковий період. Під час цього періоду відбувається дифузія цукрів у розсолі і починається молочнокисле бродіння. Спочатку тут розвивається мішана мікрофлора.

2. Середній період. У цьому періоді розвиваються тільки молочнокислі бактерії і накопичується молочна кислота.

3. Кінцевий період. Під час кінцевого періоду розвиток молочнокислих бактерій поступово припиняється внаслідок зростання концентрації молочної кислоти. Продукт цілком законсервовано. Квашені овочі треба зберігати без доступу повітря, бо інакше на розсолі розвивається грибок *Oidium lactis*, який призводить до зменшення концентрації молочної кислоти, внаслідок чого починають розвиватися гнильні мікроорганізми, які спричинюють гниття і псують квашені продукти.

Молочнокисле бродіння має широке застосування також при **силосуванні кормів**. Силосування зеленого корму дуже поширене, оскільки цей своєрідний спосіб консервування дає змогу зберігати соковиту рослинну масу за будь-якої погоди.

При силосуванні подрібнену зелену масу завантажують у траншеї, силосні башти або складають у наземні бурти. Є два способи силосування: гарячий і холодний. При гарячому способі силосування рослинну масу не трамбують під час закладання, а тому в ній розвиваються енергійні мікробіологічні і ферментативні процеси, внаслідок чого температура корму може підніматись до 50 °С. Цей спосіб силосування використовується в окремих випадках, коли на силос використовують грубостеблові і малоцінні корми.

Холодний спосіб силосування застосовують частіше. Рослинну масу подрібнюють і щільно трамбуєть, завдяки чому під час дозрівання силосу температура в ньому не піднімається вище 25-35°C.

До типових молочнокислих бактерій, які відіграють основну роль при силосуванні, належать із гомоферментативних *Streptococcus lactis*, *S. thermophilus*, *Lactobacillus plantarum*; із гетероферментативних – *Lactobacillus brevis*, *Betabacterium breve*.

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

- а) розвиток мішаної мікрофлори;
- б) домінантний розвиток молочнокислих бактерій (головне бродіння);
- в) припинення розвитку молочнокислих бактерій внаслідок накопичення молочної кислоти і зниження рН до 4-4,2.

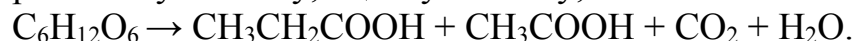
Отже, у третій фазі настає консервація силосу. Герметизація і кислотність силосу є основними факторами, які визначають його стійкість під час зберігання.

Ще в середині 30-х років вчений А. Н. Міхін науково обгрунтував виробничий спосіб силосування рослин з пониженою вологістю. Цей продукт тоді дістав назву «сухого», або прісного силосу. Тепер його називають сінажем.

На основі молочнокислих бактерій розроблено технологію одержання сухих біопрепаратів. Їх застосування є високоефективним для профілактики і лікування шлунково-кишкових захворювань сільськогосподарських тварин і для консервування силосу.

Пропіоновокисле бродіння

Пропіоновокисле бродіння – процес перетворення цукру або молочної кислоти на пропіонову кислоту, оцтову кислоту, CO₂ і H₂O:



Збудники цього бродіння належать до роду *Propionibacterium*. Це нерухливі, грампозитивні, неспороносні палички, дуже близькі до молочнокислих бактерій і часто разом з ними розвиваються. Вони є факультативними анаеробами; крім цукрів, можуть зброджувати піровиноградну кислоту, гліцерол та деякі інші сполуки. Зброджування вуглеводів відбувається за схемою Ембдена – Мейєргофа – Парнаса до піровиноградної кислоти. Залежно від умов остання може окиснюватися до CH₃COOH і CO₂, відновлюватися до молочної кислоти, карбоксилуватися до щавлевооцтової. Пропіонова кислота може утворюватися або відновленням піровиноградної і молочної, або декарбоксилуванням янтарної кислоти.

Пропіоновокисле бродіння має важливе значення при дозріванні сирів. Наявність у сирах пропіонової й оцтової кислот зумовлює їхній своєрідний гострий смак і запах, спричиняє утворення так званих сирних «вічок» – порожнинок.

Цінними властивостями пропіоновокислих бактерій *Propionibacterium acidi-propionici*, *Propionibacterium shermanii* є їхня здатність до біосинтезу ціанкобаламіну (Вітамін В₁₂).

Маслянокисле бродіння

Перетворення вуглеводів за анаеробних умов маслянокислими бактеріями з утворенням переважно масляної кислоти, а також СО₂ і Н₂О дістало назву маслянокислового бродіння. Рівняння маслянокислового бродіння має такий вигляд:



Крім основних продуктів, у процесі цього типу бродіння утворюються і такі проміжні продукти, як бутиловий спирт, ацетон, етанол і оцтова кислота.

Біологічну суть цього дуже поширеного в природі процесу відкрив Л. Пастер у 1861 році.

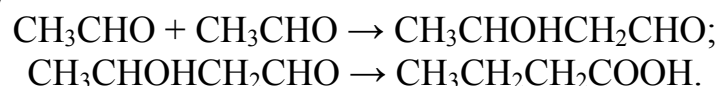
Типовими збудниками маслянокислового бродіння є маслянокислі бактерії, які належать до роду *Clostridium*. Це палички розміром 1-2 на 10 мкм з перитрихально розташованими джгутиками. У молодому віці вони дуже рухливі, набувають веретеноподібної форми і накопичують у клітині полісахарид гранульозу, яка з йодом утворює синє забарвлення.

Маслянокислі бактерії – облігатні анаероби, утворюють спори, які витримують кип'ятіння протягом кількох хвилин. Вони чутливі до кислотності середовища, оптимальне для них рН = 7,0-7,3. Як джерело вуглеводів ці бактерії можуть використовувати моно- і дисахариди, а деякі – полісахариди (крохмаль, декстрин тощо).

Серед маслянокислих бактерій є сапрофітні форми: *Clostridium butyricum*, *Clostridium pasteurianum*, *Clostridium felsineum*. До патогенних належать: *Clostridium botulinum*, *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*.

Представники *Clostridium* мають сильні протеолітичні властивості й здатні інтенсивно розкласти білки до амінокислот (*Clostridium sporogenes*, *C. putrificus*, *C. histolyticum*).

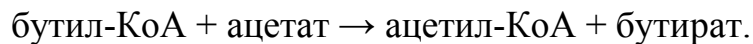
Маслянокисле бродіння, як і розглянуті раніше види бродіння, відбувається за схемою Ембдена-Мейєргофа-Парнаса до утворення піровиноградної кислоти, яка декарбоксілюється з утворенням оцтового альдегіду. Далі молекули оцтового альдегіду під дією ферменту карболігази конденсуються, і з двох молекул утворюється ацетальдоль (альдегід оксимасляної кислоти), який завдяки внутрішньомолекулярній перебудові перетворюється на масляну кислоту:



Отже, в процесі бродіння не тільки розривається ланцюг вуглецевих атомів збродженої речовини, а й відбуваються процеси синтезу.

Піровиноградна кислота розщеплюється до ацетил-КоА, СО₂ і Н₂О. Із ацетил-КоА через ацетилфосфат утворюється оцтова кислота, при цьому синтезується АТФ. Синтез масляної кислоти починається з конденсації двох

молекул ацетил-КоА з утворенням ацетоацетил-КоА, який відновлюється до бутирил-КоА. Масляна кислота утворюється при наступному перенесенні КоА на ацетат:



Деякі маслянокислі бактерії утворюють із цукрів додаткові нейтральні сполуки (бутанол, ацетон, ізопропанол) і невелику кількість етилового спирту.

Подібно до молочнокислого та інших видів бродіння В.М.Шапошников розрізняє в маслянокислому бродінні дві фази. У першій фазі паралельно з наростанням бактеріальної маси накопичується оцтова кислота. Масляна кислота утворюється переважно в другій фазі, коли уповільнюється біосинтез речовин клітини бактерії.

Маслянокисле бродіння має дуже велике значення у природі. Збудники його беруть безпосередню участь у процесах мінералізації органічних решток у ґрунті. Крім того, окремі представники маслянокислих бактерій можуть засвоювати атмосферний азот. Це *S. pasteurianum*, вперше виділений С. М. Виноградським у 1893 році.

Маслянокисле бродіння застосовують і для виробництва масляної кислоти, яку широко використовують у промисловості. Ефіри масляної кислоти мають приємний аромат; наприклад метиловий пахне яблуком, етиловий – грушею, аміловий ефір – ананасом тощо. Їх використовують як ароматичні речовини в кондитерській і парфумерній промисловості.

Проте маслянокисле бродіння може завдати й значної шкоди, зумовлюючи гниття картоплі та інших овочів, псування сиру, консервів, а також квашених овочів, силосу тощо.

Ацетобутилове бродіння

Цей вид бродіння близький до маслянокислого. Він має велике практичне значення, оскільки основними кінцевими продуктами перетворення вуглеводів є низка цінних продуктів: бутиловий спирт ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), ацетон (CH_3COCH_3), етиловий спирт ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), ізопропіловий спирт ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$), масляна кислота ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), оцтова кислота (CH_3COOH) та ін.

Збудники ацетобутилового бродіння – рухливі, анаеробні спороносні палички. Вони зброджують крохмаль та інші вуглеводи, крім клітковини. Найактивнішим збудником цього процесу є *Clostridium acetobutylicum*. У промисловості для зброджування використовуються крохмалиста сировина і м'яса. Після відгонки ацетону і спиртів барду, що залишаються від бражки, використовують для вилучення рибофлавіну, який продукується ацетобутиловими бактеріями. Барду також застосовують для вирощування метанових бактерій, які синтезують ціанкобаламін (Вітамін В₁₂).

Бродіння пектинових речовин

Цей процес також подібний до маслянокислого бродіння. Щороку в ґрунт потрапляє величезна кількість решток рослин. Швидкість розкладу цих

решток значною мірою залежить від руйнування пектинових речовин, що склеюють рослинні клітини в тканинах. Пектини знайдено у так званих серединних пластинках. Вони містяться у великій кількості також у шкірці і м'якуші яблук, груш, цитрусових, винограду, в листках і коренеплодах. Пектинові речовини належать до складних цукрів, в основі їхньої будови лежить ланцюг залишків молекул галактуранової кислоти, сполучених одна з одною 1,4-глюкозидними зв'язками.

Відомо три типи пектинових речовин:

1). Пропектин.

2). Пектин.

3). Пектинова кислота – водорозчинний полімер галактуранової кислоти, вільний від метилефірних зв'язків.

Бактерії мають здатність розкласти всі пектинові речовини. Вони синтезують три види екзоферментів: пропектиназу, яка розкладає пропектин до розчинного пектину; пектиназу, що гідролізує метилефірний зв'язок пектину з утворенням пектинової кислоти і метилового спирту; полігалактураназу, яка руйнує зв'язки між структурними одиницями галактуранової кислоти, пектину або пектинової кислоти.

Продукти розпаду пектинової кислоти (галактоза, арабіноза та ін.) окиснюються або зброджуються різними мікроорганізмами. У анаеробних умовах їх зброджують маслянокислі бактерії, що належать до роду *Clostridium* (*Clostridium pectinovorum*, *Clostridium felsineum*).

Бродіння пектину має важливе практичне значення. На ньому ґрунтується спосіб вимочування льону, конопель, кенафу та інших прядивних культур. Волокна клітковини прядивних рослин склеєні з навколишніми тканинами пектиновими речовинами. Щоб відокремити ці волокна, потрібно зруйнувати пектинові речовини. Для цього застосовують водяне або росяне вимочування прядивних культур. Під час водяного вимочування пектинові речовини розкладаються внаслідок життєдіяльності анаеробних мікроорганізмів (*C. pectinovorum*, *C. felsineum*, *Bacillus macerans*, *B. polymyxa*), при росяному – аеробних бактерій та цвілевих грибів (*Erwinia carotovora*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium* та ін.).

На льонозаводах здійснюють теплове вимочування прядивних рослин у чанах або басейнах при температурі 32-38 °С протягом 3-5 діб з використанням чистих культур бактерій, які розкладають пектинові речовини.

У разі неправильного зберігання та переробки в сировині, напівфабрикатах і готовій продукції харчової промисловості можуть розвиватися мікроорганізми, здатні розкласти пектинові речовини і викликати псування продуктів.

Аеробне окиснення органічних і неорганічних речовин

Відомо, що кисень атмосфери має біогенне походження. Він накопичувався завдяки процесам фотосинтезу, який здійснювали ціанобактерії та інші фотосинтезуючі прокаріоти. Виникнення аеробних організмів стало можливим при накопиченні кисню в атмосфері у концентрації не менше ніж

0,2%. Перехід прокариот до аеробного окиснення на певному етапі еволюції стало можливим лише тоді, коли у їх клітинах повністю сформувався дихальний ланцюг. При цьому також формувались різні специфічні типи енергетичних процесів.

Більшість бактерій у процесах метаболізму як джерело енергії використовують органічні сполуки, які в подальшому окиснюються до CO_2 і H_2O . Дихальні ланцюги прокариот значно різноманітніші, ніж у еукаріот. Вони відрізняються значно меншою ефективністю за енергетичним виходом, але кількість утвореної енергії дещо більша, ніж під час бродіння. Відомі також мікроорганізми, які здійснюють неповне аеробне окиснення органічних речовин. Прикладом таких організмів є оцтовокислі бактерії. Вони мають вигляд паличок і є дуже вимогливими до субстрату, потребують наявності у складі поживного середовища вітамінів (в першу чергу пантотенову кислоту). У молодому віці оцтовокислі бактерії рухливі. Неповне окиснення органічних речовин не має нічого спільного з процесами бродіння. Енергія у результаті цього процесу утворюється під час окиснювального фосфорилування. Певна її частина зберігається в недоокиснених кінцевих продуктах. Акцептором електронів у процесі окиснення завжди є кисень.

Різні представники оцтовокислих бактерій використовують різноманітні субстрати. Ними можуть бути:

1. 2-5 вуглецеві сполуки, одноатомні спирти, які бактерії окиснюють до кислот.
2. Багатоатомні сполуки, які окиснюються до альдоз або кетоз, сорбіт окиснюється до сорбоз, гліцерин – до діоксиацетону.

Оцтовокислі бактерії використовуються у промисловості для отримання оцту та аскорбінової кислоти.

Окиснення неорганічних речовин можуть здійснювати хемолітотрофні мікроорганізми. Їх дихальні ланцюги подібні до дихальних ланцюгів бактерій, які здійснюють окиснення органічних речовин. До складу ланцюгів можуть входити специфічні переносники, які розміщені на периферії ланцюга. Особливістю процесів окиснення неорганічних речовин є те, що електрони з окиснюючого субстрату включаються в дихальний ланцюг на різних рівнях: при окисненні заліза – на рівні цитохрому c, При окисненні NO_2 – на рівні цитохрому a. Тому перші ланки синтезу АТФ випадають і її синтезується менше. Бактерії, які здійснюють окиснення неорганічного субстрату, для отримання достатньої кількості енергії змушені окиснювати більше субстрату. Представниками таких організмів є нітрифікуючі бактерії, залізобактерії, тіонові бактерії, деякі водневі бактерії та карбоксидобактерії. Досить цікавими з цієї групи є карбоксидобактерії, які відрізняються високою лабільністю. Вони можуть бути автотрофами і використовувати карбон із чадного газу, а також гетеротрофами і використовувати карбон з органічних кислот та спиртів. Спосіб отримання енергії у цих бактерій є неефективним, оскільки 96% чадного газу використовується на біопотреби клітин і лише 4% – на реакції біосинтезу.

Відомо, що викиди чадного газу транспортом та промисловістю погано впливає на стан атмосферного повітря. Єдиним шляхом видалення чадного газу з атмосфери є утилізація його у процесах обміну речовин мікроорганізмів, які використовують його для процесів окиснення.

Анаеробне окиснення неорганічних сполук

Анаеробне окиснення неорганічних сполук можуть здійснювати тільки прокариоти. Цей процес характерний для організмів, які можуть переходити від аеробного до анаеробного способу життя. Кінцевими акцепторами електронів у електронно-транспортних ланцюгах цих організмів можуть бути: O_2 , NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} .

Анаеробне окиснення неорганічних сполук можуть здійснювати денітрифікуючі бактерії. Вони є хемоорганотрофами. У аеробних умовах вони здійснюють окиснення органічних речовин за циклом Кребса. У анаеробних умовах у них відбувається процес нітратного дихання. При цьому кінцевим акцептором електронів є NO_3^- . У електронно-транспортному ланцюзі таких організмів також приймає участь нітратредуктаза, яка є індукцебельним ферментом.

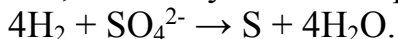
Процес денітрифікації відбувається із поступовою зміною ступенів окиснення атомів нітрогену у ланцюзі перетворень:



При цьому органічні речовини окиснюються до H_2O . Тому енергетичний вихід цього процесу приблизно рівний виходу енергії аеробного окиснення.

Крім того, анаеробне окиснення неорганічних сполук можуть здійснювати сульфатвідновлюючі бактерії. Вони представлені одним класом ниткоподібних форм бактерій. Джерелом карбону та енергії для них є органічні кислоти, цукри та органічні спирти. Енергію вони можуть отримувати декількома шляхами:

1. Шляхом бродіння органічних речовин.
2. Шляхом сульфатного дихання, яке відбувається в анаеробних умовах. При цьому кінцевим акцептором у ланцюзі електронів є.
3. Шляхом окиснення H_2 , яке відбувається за рівнянням:

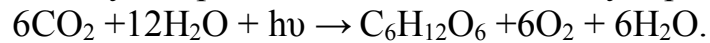


Наступними представниками, які можуть здійснювати анаеробне окиснення неорганічних сполук є метанутворюючі бактерії. Вони також окиснюють водень. Джерелом карбону та акцептором електронів для них є CO_2 . Процес відбувається за таким рівнянням: $CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$.

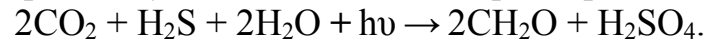
Використання енергії світла

Мікроорганізми, які використовують сонячну енергію для синтезу речовин свого тіла із CO_2 і таких неорганічних сполук, як H_2O , H_2S , S , тобто здійснюють процес фотосинтезу, є фотолітотрофами. До них належать зелені рослини, синьо-зелені водорості (ціанобактерії), зелені сіркобактерії, пурпурні сіркобактерії тощо.

Зелені рослини, які містять хлорофіли і каротиноїдні пігменти, здійснюють процес фотосинтезу в аеробних умовах за таким сумарним рівнянням:



Пурпурні сіркобактерії з родини *Chromatiaceae* містять бактеріохлорофіл і каротиноїди, за допомогою яких здійснюється бактеріальний фотосинтез в анаеробних умовах за таким сумарним рівнянням:



При бактеріальному фотосинтезі асиміляція CO_2 проходить за циклом Кальвіна, а утворення АТФ забезпечується циклічним фосфорилуванням. Відновник утворюється за рахунок H_2S , що окиснюється в анаеробних умовах до сульфату. Деякі пурпурні сіркобактерії можуть використовувати замість H_2S в ролі екзогенного донора електронів й інші неорганічні сполуки сірки (S , тіосульфат, сульфід).

Зелені сіркобактерії з родини *Chlorobiaceae* – облигатні анаероби – містять бактеріохлорофіл *c* або *d* і каротиноїди у везикулах (хлоробіум-везикулах). Вони також здатні до фотолітотрофної асиміляції CO_2 за присутності сульфиду і сірки, які окиснюються до сульфату. Цікаво, що в деяких штамів *Chlorobiaceae* виявлено фіксацію N_2 .

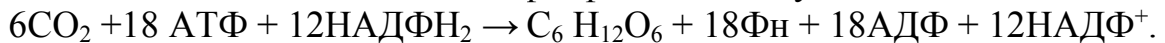
Отже, принциповою відмінністю між фотосинтезом зелених рослин і бактеріофотосинтезом є те, що останній відбувається в анаеробних умовах, кисень не виділяється, як джерело водню бактерії використовують не воду, а сірководень або інші сполуки.

Фотоорганотрофи – це мікроорганізми, які можуть використовувати для бактеріального фотосинтезу як сонячну енергію, так і органічні речовини (як джерело енергії). До них належать пурпурні несірчані бактерії з родини *Rhodospirillaceae*. Це переважно рухливі мікроаерофіли, які містять бактеріохлорофіл і каротиноїди пурпурного і коричневого кольору. Для фототрофного розвитку їм потрібні прості органічні речовини, які фотоасимілюються або є донорами електронів під час асиміляції CO_2 . Жоден із цих видів мікробів не здатний використовувати елементарну сірку як донор електронів і нагромаджувати та виділяти її в зовнішнє середовище.

Отже, у прокаріотів відомо три типи фотосинтезу: I – залежний від бактеріохлорофілу безкисневий фотосинтез, який здійснюється кількома групами зелених і пурпурних бактерій; II – залежний від хлорофілу кисневий фотосинтез, що його здійснює велика група ціанобактерій. Серед ціанобактерій є також види, у яких виявлена здатність до безкисневого фотосинтезу, що пов'язана з відключенням другої фотосистеми, при цьому перша фотосистема функціонує активно. Останнім часом виявлені фотосинтезуючі бактерії, які містять лише бактеріохлорофіл і невелику кількість каротиноїдів. Ці бактерії дістали назву геліобактерії. Вони є облигатними анаеробами, а тому здійснюють безкисневий фотосинтез. Нарешті, III – безхлорофільний тип фотосинтезу виявлено в деяких екстремальних галофільних архебактерій. Цей безкисневий фотосинтез здійснюється за участю бактеріородопсину – білка, який ковалентно зв'язаний з каротиноїдом. Він володіє здатністю до світлозалежного перенесення протонів

через мембрану, що приводить до синтезу АТФ. Досі це поки що єдиний відомий приклад, коли використання світлової енергії для створення трансмембранного градієнта протонів відбувається за допомогою бактеріородопсину і не пов'язано з перенесенням електронів по ЕТЛ.

Загальновізнано, що цикл Кальвіна є основним механізмом автотрофної асиміляції CO₂, у тому числі й у фотосинтезуючих прокариотів. У циклі Кальвіна акцептором CO₂ є речовина вуглеводної природи – активована молекула пентози – рибульозодифосфат. Для цього циклу унікальними є два ферменти – фосфорибулокіназа і рибульозодифосфаткарбоксілаза, які не беруть участі в інших метаболічних шляхах. Фосфорибулокіназа активує молекули акцептора шляхом вторинного фосфорилування, а другий фермент каталізує реакцію приєднання CO₂ до рибульозо-1,5-дифосфату і наступне гідролітичне розщеплення утвореної гексози на дві тріози, в одній із яких міститься вуглець із CO₂. Молекули тріоз (3-ФГК), які утворилися далі в циклі Кальвіна під дією ферментів, перетворюються на глюкозу. Загальне рівняння цього відновного пентозофосфатного циклу має такий вигляд:



Таким чином, вивчення різних типів катаболізму прокариот дає можливість припустити, що саме удосконалення способів одержання енергії клітиною є основою еволюції їх представників. Процеси катаболізму прокариот удосконалювались у такій послідовності:

- спочатку виникла найдавніша група анаеробних бактерій, які одержували енергію у процесах бродіння за рахунок субстратного фосфорилування з мінімальним енергетичним виходом;
- на наступному етапі з'явилися фототрофні бактерії, які використовували як джерело енергії сонячне світло, а як джерело карбону CO₂. Ці організми вже мали сформований ланцюг перенесення електронів, який забезпечував фотофосфорилування. Вони були майже незалежні від умов навколишнього середовища і забезпечили збагачення атмосфери на кисень;
- на наступному етапі виник новий спосіб отримання енергії – аеробне окиснення. При цьому виникає новий ланцюг перенесення електронів, який забезпечував окиснювальне фосфорилування.

На даний час у представників прокариотичних організмів відмічаються найрізноманітніші типи катаболізму. При цьому встановлено, що домінуючим і еволюційно пануючим є аеробне окиснення, яке проходить за участю численних донорів і акцепторів електронів.

Анаболізм прокариот.

Біосинтез основних речовин мікробною клітиною

Як уже зазначалось, основні компоненти мікробної клітини є органічними речовинами: складними вуглеводами, білками, нуклеїновими кислотами, ліпідами тощо. Ці сполуки, за винятком ліпідів, є полімерами. Утворенню полімерів передують синтез їхніх складових частин – мономерів. Такими для полісахаридів є різні моносахариди, для білків – амінокислоти, для

нуклеїнових кислот – нуклеотиди. Складниками ліпідів і ліпоїдів є жирні кислоти, спирти та інші сполуки. На біосинтез мономерів і реакції їх полімеризації витрачається велика кількість енергії, яку одержує клітина в процесах катаболізму.

Біосинтез вуглеводів. Прокаріоти мають здатність синтезувати як прості, так і складні біосахариди, а також інші сполуки, до складу яких входять вуглеводи. Автотрофи, зокрема фотосинтезуючі організми, утворюють моноцукри із CO_2 і H_2O (або із CO_2 і H_2S , H_2 та ін.), а гексози далі перетворюються на складні вуглеводи. Основні біосинтетичні процеси в автотрофів здійснюються у циклічних системах реакцій – відновному пентозофосфатному циклі, або циклі Кальвіна.

Гетеротрофи можуть синтезувати вуглеводи із C_2 - і C_3 -сполук, використовуючи для цього реакції гліколітичного шляху, але спрямовані у бік синтезу. Для тих процесів, які є необоротними, у гетеротрофів сформувалися спеціальні ферментні механізми. Цикл Кребса у гетеротрофів працює водночас як енергетичний і біосинтетичний механізм. Отже, якщо в автотрофів енергетичний і конструктивний обмін роз'єднані, то у гетеротрофів катаболізм і анаболізм поєднані.

Біосинтез амінокислот. Переважна більшість прокаріотів мають здатність синтезувати всі амінокислоти, які входять до складу клітинних білків. Автотрофні прокаріоти синтезують вуглецеві скелети амінокислот та інших сполук за допомогою спеціальних, пристосованих тільки для біосинтезу механізмів – циклів Кальвіна, Арнона і розірваного ЦТК. Гетеротрофи для цього використовують проміжні продукти різних енергетичних механізмів: гліколізу, шляхів пентозофосфатного і Ентера-Дудорова, циклу Кребса та його видозміни – гліюксилатного циклу.

Попередниками для синтезу амінокислот є різні проміжні продукти метаболізму, наприклад піровиноградна, α -кетоглутарова, щавлево-оцтова кислоти та ін. Джерелом азоту можуть бути аміак, нітрати, нітрити та молекулярний азот. Азот входить до молекули амінокислоти за допомогою реакцій амінування, амідування і переамінування. Шляхом прямого амінування утворюються амінокислоти: L-аланін, L-аспарагінова, L-глутамінова кислоти і амід – L-глутамін. Ці амінокислоти називають первинними. Решта амінокислот синтезуються шляхом переамінування, тобто перенесенням аміногрупи від первинних амінокислот на відповідні кетокислоти, які утворюються у процесі катаболізму. Піровиноградна кислота є основою для синтезу аланіну, валіну і лейцину:



Реакція каталізується ферментом аланіндегідрогеназа.

L-Кетоглутарова кислота є вихідним продуктом для глутаміну, глутамінової кислоти, проліну і аргініну. З щавлево-оцтової кислоти утворюються аспарагінова кислота і метіонін. Фосфоенолпіровиноградна кислота та еритрозофосфат є попередниками ароматичних амінокислот, а фосфогліцерінова кислота – серину, гліцину і цистеїну. Амінокислоти, що утворилися, використовуються у біосинтезі білків клітини.

Біосинтез нуклеотидів. За хімічною природою нуклеотиди – це сполуки, які складаються із азотистих основ, похідних пурину або піримідину, пентози і фосфорної кислоти. Вони є структурними блоками, з яких синтезуються ДНК і РНК. Нуклеотиди входять також до складу багатьох коферментів, і завдяки цьому беруть участь у здійсненні чималої кількості каталітичних функцій. Більшість прокаріотів здатна синтезувати мононуклеотиди *de novo* з низькомолекулярних попередників, наприклад, гліцину, аспарагінової, інозинової, гуанілової кислот тощо.

Головною ланкою біосинтезу мононуклеотидів є синтез пуринових і пуримідинових основ. Цей процес відбувається двома різними і незалежними шляхами. Синтез пуринових нуклеотидів починається взаємодією фосфорибозилпірофосфату й глютаміну і проходить до утворення інозинової кислоти. З останньої синтезуються аденілова і гуанілова кислоти. Синтез піримідинів починається взаємодією карбомаїлфосфату і аспартату. Першим піримідиновим нуклеотидом, який утворюється *de novo*, є оротидилова кислота, декарбоксілювання якої приводить до утворення уридиллової кислоти. Остання перетворюється на УТФ, яка амінується і перетворюється на ЦТФ. Рибозофосфатний залишок усіх нуклеотидів утворюється із спільного попередника – інтермедіату пентозофосфатного шляху – рибозо-5-фосфату. Синтезовані прокаріотами мононуклеотиди під впливом спеціальних ферментів полімеризуються у ДНК і РНК.

Біосинтез ліпідів. Прокаріоти мають здатність синтезувати різні ліпідні речовини: жири, воски, фосфоліпіди, гліколіпіди, сполуки стероїдної та ізопреноїдної природи тощо. Ліпіди входять до складу клітинних стінок, мембран, мітохондрій та інших органел, є компонентами пігментних систем і ЕТЛ, виконують роль запасних речовин. Склад ліпідів часто визначає термофільність, психрофільність, кислотостійкість, вірулентність та інші ознаки мікроорганізмів.

Як вихідні продукти для біосинтезу ліпідів прокаріоти використовують жирні кислоти, спирти, вуглеводи, фосфати тощо і синтезують з них різноманітні за складністю ліпіди. Реакції біосинтезу ліпідів у мікробній клітині досить складні. Вони перебігають при доступі кисню, участі багатьох ферментів і потребують великих затрат енергії.

Біосинтез вторинних метаболітів. Окрім основних метаболітів (вуглеводів, білків, нуклеїнових кислот, жирів тощо), які утворюються в процесі росту мікробної клітини, вторинні метаболіти починають з'являтися тільки з припиненням росту клітин. До них належать: антибіотики, вітаміни, алкалоїди, глікозиди, пігменти та інші сполуки.

Що стосується пігментів прокаріотів, які часто відносять до вторинних метаболітів, то нині добре відомо, що вони належать до різних класів органічних сполук: каротиноїдів, піролів, антоціанів, азахінонів та ін. Наприклад, жовте, помаранчеве, червоне забарвлення колоній бактерій: *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium* та інших родів, зумовлене наявністю у цитоплазматичній мембрані каротиноїдів. Пігмент продигіозин в яскраво-червоний колір забарвлює колонії палички *Serratia marcescens*. Синій пігмент

індигоїдин синтезують *Pseudomonas indigofera*, *Arthrobacter polychromozenes* та інші види бактерій. Грунтова бактерія *Chromobacterium violaceum* синтезує пігмент синьо-фіолетового кольору – віолацеїн, який є похідним індолу. Псевдомонади накопичують у своєму тілі пігменти піоціанін та іодинин, а галобактерії – бактеріородопсин.

Пігменти відіграють важливу роль у процесах дихання мікроорганізмів як акцептори водню, захищають їх від ультрафіолетової радіації, беруть участь у фотосинтезі тощо. Пігментоутворення у бактерій генетично детерміноване, а тому часто воно використовується при ідентифікації бактерій та інших мікробів. Все це ставить під сумнів твердження, що пігменти є вторинними метаболітами. Грунтове вивчення процесів вторинного метаболізму дасть змогу у майбутньому з'ясувати цю важливу проблему.

Слід також зазначити, що серед мікробів є багато видів, які утворюють і виділяють ароматичні речовини – складні ефіри (оцтово-етиловий та інші), леткі кислоти тощо. Продуцентами цих речовин є різні дріжджі, цвільові гриби, актиноміцети, маслянокислі і молочнокислі бактерії.

Практичний інтерес для молочної промисловості становлять ті бактерії, які надають харчовим продуктам (сиру, маслу) або напоям специфічний аромат (*Streptococcus citrovorus*, *S. practicovorus*, *Leuconostoc cremoris*).

ЛЕКЦІЯ 6.

Роль мікроорганізмів у процесах трансформації речовин

Роль мікроорганізмів у процесах колообігу речовин у природі

У природі відбувається постійний колообіг елементів. Це дає можливість забезпечити життя всіх організмів на нашій планеті. Визначальна роль у процесах колообігу речовин у природі належить прокаріотам. Наприклад, відомо, що концентрація CO_2 у складі атмосферного повітря становить 0,03%. Якщо б він не повертався у атмосферу після розкладання відмерлих рослинних і тваринних решток, то він би повністю був використаний рослинами у процесі фотосинтезу за 37-40 років. Встановлено, що 90% CO_2 повертається у атмосферу завдяки діяльності прокаріот і тільки 10% утворюється за рахунок дихання еукаріот і господарської діяльності людини. Крім CO_2 прокаріоти повертають у атмосферу H_2 , H_2S , S , N_2 , N_2O , CH_4 .

Окрім санітарної ролі, яку виконують прокаріоти під час розкладання органічних речовин, вони також регулюють газовий склад атмосфери, приймають активну участь у процесах утворення гумусу, руйнуванні мінералів із звільненням фосфору, калію та інших елементів. Важлива роль прокаріот у процесах колообігу речовин у природі пов'язана з:

1. Їх великою чисельністю.
2. Їх широкою розповсюдженістю.
3. Універсальністю ферментативних апаратів прокаріотичних клітин, які можуть переробляти будь-які речовини.

У більшості випадків речовини субстрату переробляються не одним видом мікроорганізмів, а певною групою, які пов'язані загальною функцією. Такі групи мікроорганізмів називають фізіологічними групами.

Процеси трансформації карбоновмісних речовин

Карбон – це основний складовий елемент всіх органічних сполук. Процеси транспорту карбоновмісних сполук об'єднують всі живі організми у один єдиний цикл. У цьому циклі виділяють дві ланки:

1. Фіксація CO_2 і його відновлення до органічних сполук у процесах хемосинтезу та фотосинтезу. Головну роль у цих процесах відіграють рослини.
2. Мінералізація органічних сполук різними групами мікроорганізмів. При цьому CO_2 звільняється в атмосферу.

Паралельно транспорту сполук карбону живі організми забезпечують транспорт кисню. Так при фотосинтезі кисень виділяється у навколишнє середовище, а при диханні навпаки – використовується організмами з атмосферного повітря.

За деякими даними живі організми щорічно утворюють $33 \cdot 10^{11}$ кг органічних речовин. За розчинністю ці сполуки поділяються на:

1. Розчинні у воді (цукри, органічні кислоти, спирти);
2. Малорозчинні у воді (геміцелюлоза);

3. Нерозчинні у воді (крохмаль, пектин, целюлоза, воски, жири, смоли, лігнін).

До розкладання органічних карбоновмісних сполук здатні: бактерії, гриби, деякі безхребетні (молюски, протисти). Основна роль у процесах розкладання органічних сполук належить мікроорганізмам. Різноманітний хімічний склад рослинних залишків, стійкість їх до дії ферментів прокаріотичних клітин обумовлюють поступове розщеплення окремих компонентів. Найшвидше і найлегше розкладаються водорозчинні сполуки (моно- або дицукри). У аеробних умовах із цих сполук утворюються CO_2 і H_2O , а в анаеробних – органічні кислоти, спирти, газ.

Розщеплення целюлози. Целюлоза – найбільш розповсюджена органічна сполука на нашій планеті. У своєму складі вона містить 50 % всього органічного карбону. Синтезують целюлозу вищі рослини (містять 40-70 % целюлози від загальної маси), деякі гриби, а серед прокаріот – окремі види оцтовокислих бактерій. Розкладання целюлози зумовлює повернення основної кількості CO_2 у атмосферу. З цим процесом пов'язане утворення гумусу і формування ґрунтових структур.

Целюлоза – високомолекулярний гомополісахарид β -D-глюкози. Її молекули утворюють мікро- та макрофібрили. Розщеплення целюлози відбувається ферментативним гідролізом. Цей процес багатоступеневий. Спочатку целюлоза розкладається до целобіози, а потім – до β -D-глюкози. Фермент, який забезпечує розщеплення целюлози – β -глікозидаза. У аеробних умовах її розкладають мікроорганізми різних груп. У кислих лісових ґрунтах у розкладанні целюлози в першу чергу беруть участь гриби (*Fuzarium*, *Penicillium*). У степових і лучних ґрунтах – міксобактерії, цитофаги та інші. Здатні до розкладання целюлози і актиноміцети. У анаеробних умовах розкладання целюлози відбувається до органічних кислот (оцтова, янтарна, масляна) або до етилового спирту, CO_2 і H_2 . За цих умов розщеплення відбувається тільки бактеріями, в основному роду *Clostridium*. Типовим представником цього роду бактерій є *Cl. omelianskii* (виділений у чисту культуру В.М.Омелянським). Ці бактерії мають вигляд тонкої довгої палички, рухливі у молодому віці, старіючи, утворюють спори, які мають форму барабанної палички. Оптимальною температурою для культивування цих бактерій є 30-40°C. Серед представників роду є і термостійкі види, які можуть існувати при температурі 60-65°C. Ці бактерії можуть жити у травному тракті жуйних тварин.

Велика різноманітність мікроорганізмів дає можливість руйнувати целюлозу за різних температур, вологості, в умовах наявності або відсутності кисню, як у кислих, так і лужних ґрунтах.

Розщеплення геміцелюлози. Геміцелюлоза займає друге місце серед природних сполук за кількістю карбону у своєму складі після целюлози. Вона входить до складу міжклітинної речовини і є опорним компонентом деревини. Листяні породи дерев містять у своєму складі до 25 % геміцелюлози, а хвойні – близько 12 %. Здатні до синтезу геміцелюлози рослини та деякі нижчі організми.

Геміцелюлоза – це складний полісахарид, який містить пептози, гексози, уронові кислоти. Розкладають геміцелюлозу мікроорганізми, які синтезують фермент ксиланазу. До цього здатні дріжджі, гриби, більшість руйнівників целюлози.

Геміцелюлоза, яку синтезують рослини дуже різноманітна. Тому розкладання її у ґрунті відбувається із різною швидкістю і залежить від умов навколишнього середовища (температури, вологості, значення рН, наявності кисню).

Розщеплення лігніну. Лігнін посідає третє місце серед природних сполук за кількістю карбону у своєму складі після целюлози та геміцелюлози. Його синтезують тільки вищі рослини. Лігнін – основний компонент вторинної клітинної стінки. У молодих трав'янистих рослин його міститься 3-6 % від загальної маси рослини. У деревині листяних порід його 20-30 %, хвойних – до 50 %. Лігнін забезпечує здерев'яніння клітинних стінок. За хімічним складом лігнін різних рослин неоднорідний. Ця сполука не розчинна у воді та органічних розчинниках. Розщеплювати лігнін можуть вищі базидіоміцетні гриби, грамнегативні бактерії роду *Pseudomonas* та інші представники, які здатні до утворення ферменту поліфенолоксидази. Розщеплення лігніну у ґрунті відбувається досить повільно, тому він і продукти його розщеплення накопичуються. Це відіграє позитивну роль, оскільки цей процес веде до накопичення гумусних речовин у ґрунті.

Розщеплення пектину. Пектин – є основним компонентом серединних пластинок клітин рослин. Найбільша його кількість знаходиться у плодах (яблука сорту Антонівка містять до 30 % пектину). Пектин – полімер галактуранової кислоти. Розрізняють три групи пектинових речовин:

1. Пектинова кислота – сполука, яка добре розчиняється у воді, тому підлягає швидкому розкладанню.
2. Протопектин – нерозчинний у воді (містить солі кальцію).
3. Пектин – розчинний у воді.

Відповідно до цих груп існують три групи екзоферментів, які синтезують клітини мікроорганізмів:

1. Полігалактуранази – розкладають пектинові кислоти при наявності води до галактуранової кислоти, галактози, ксилози, арабінози та інших сполук.
2. Протопектинази – розщеплюють протопектини до розчинного у воді пектину.
3. Пектинестерази – перетворюють пектини до пектинової кислоти та метанолу.

Галактоза, ксилоза, арабіноза у аеробних умовах окислюються за участю мікроорганізмів до CO_2 і H_2O , а в анаеробних умовах – підлягають маслянокислому бродінню, з утворенням кінцевих продуктів – масляної, оцтової кислот, CO_2 і H_2 .

До розкладання пектинових речовин здатні різні групи бактерій, плісняві та дріжджові гриби. Деякі мікроорганізми, які здатні до розкладання пектину

використовують у промисловості для одержання льону, конопель, кенафа, джута та інших лубоволокнистих матеріалів.

Трансформація вуглеводнів. Найстійкішими до розкладання карбоновмісними сполуками є архейські моноциклічні вуглеводні. Їх розпад у аеробних умовах можуть здійснювати аеробні бактерії, нокардії, гриби (наприклад, дріжджі). Проміжними продуктами при цьому є спирти, органічні кислоти, ефіри та інші сполуки.

Аліфатичні вуглеводні розкладаються простіше. При температурі 16-34°C вони окиснюються до кінцевого вуглецю за дії ферментів оксигеназ і далі окиснюються за типом окиснення жирних кислот. За нестачі кисню можуть накопичуватись проміжні сполуки – жирні кислоти. Такі процеси здатні забезпечувати корінебактерії, нокардії, псевдомонади, дріжджі.

У коолобіг сполук карбону включаються і газоподібні речовини (CH₄, C₂H₆, C₃H₈, C₄H₁₀). Газоподібні вуглеводні можуть використовувати у процесах життєдіяльності метилотрофні мікроорганізми.

Частина карбону не бере участі у процесах коолобігу. Це умовно похований карбон гумусу ґрунту, горючих сланців, вапняку і торфу, газу і кам'яного вугілля. Але деякі сполуки (наприклад, гумус ґрунту) хоч і дуже повільно, але розкладаються. Нафта, торф і газ, потрапляючи на поверхню землі, можуть піддаватись розкладанню за участю мікроорганізмів.

Господарська діяльність людини спричиняє розкладання вуглеводнів при їх спалюванні. При цьому відбувається швидка мінералізація вуглецевмісних речовин. Карбон горючих сланців і вапняку піддаються вивітрюванню і також приймають участь у процесах ґрунтоутворення. Таким чином, вони теж включаються у загальний коолобіг карбону у природі.

Процеси трансформації нітрогеновмісних речовин

Продуктивність будь-якого ценозу залежить від родючості ґрунту, яка визначається вмістом у ньому мінеральних речовин. У більшості ґрунтів першого мінімального значення набуває азот. Більшість нітрогеновмісних сполук знаходяться у недоступній формі для рослин. У процесах трансформації нітрогену одну із визначних ролей відіграють мікроорганізми. Цикл трансформації нітрогеновмісних сполук включає ряд взаємопов'язаних процесів:

1. Амоніфікація – це процес мінералізації органічних нітрогеновмісних сполук, який супроводжується виділенням аміаку. Цей процес забезпечують різні групи мікроорганізмів. При цьому частина складних нітрогеновмісних речовин запасається у вигляді гумусу. Амоніфікація – це процес очищення планети від органічних залишків.

2. Нітрифікація – це процес окиснення аміаку до нітритів і нітратів. Його здійснюють нітрифікуючі бактерії у строго аеробних умовах.

3. Денітрифікація – це процес відновлення нітритів і нітратів денітрифікуючими бактеріями до молекулярного азоту.

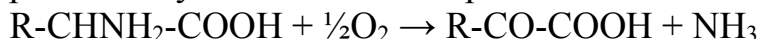
4. Біологічна фіксація молекулярного азоту вільноживучими і симбіотичними мікроорганізмами. Ці процеси забезпечують основне

поповнення нітрогену в ґрунті. Підраховано, що мікроорганізми, які здійснюють біологічну фіксацію молекулярного азоту, поповнюють водні системи на 190 млн. тон азоту на рік, а наземні ґрунти – на 130 млн. тон.

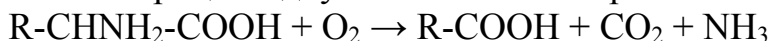
Амоніфікація. У складі органічних сполук міститься 99 % всього нітрогену ґрунту. Перше місце серед органічних сполук за вмістом у них нітрогену займають білки. Вони містять близько 50 % органічного нітрогену. Амоніфікацію білків здійснюють амоніфікуючі бактерії, які синтезують протеолітичні екзоферменти. Ці ферменти розщеплюють пептидні зв'язки з утворенням полі- або олігопептидів. Олігопептиди легко проникають у клітини прокариот, де розщеплюються внутрішньоклітинними ферментами пептидазами до амінокислот. Амінокислоти включаються у біосинтетичні процеси або є джерелом субстратів для процесів катаболізму.

Руйнування амінокислот починається із дезамінування, у результаті якого виділяється аміак. Дезамінування може відбуватись декількома шляхами:

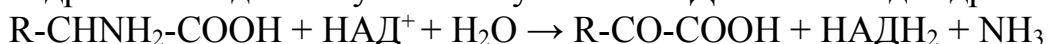
1. Найчастіше спостерігається окиснювальне дезамінування амінокислот за участю O_2 . Процес відбувається за таким рівнянням:



2. Іноді окиснювальне дезамінування амінокислот супроводжується декарбоксілюванням. Процес відбувається за таким рівнянням:



3. Гідролітичне дезамінування за участю НАД-залежних дегідрогеназ.



Органічний залишок після дезамінування використовується по різному:

1. Піровиноградна, α -кетоглутарова, щавелево-оцтова кислоти включаються у метаболізм клітини.

2. Більшість органічних кислот підлягають наступній трансформації.

В аеробних умовах дезамінування амінокислот відбувається до CO_2 , H_2O та сульфатів. В анаеробних умовах дезамінування відбувається із декарбоксілюванням, внаслідок чого утворюються CO_2 і первинні аміни, такі як кадаверин, путресцин, агматин, які є трупними отрутами. Анаеробне бродіння амінокислот відбувається із утворенням і накопиченням специфічних речовин із різким запахом (NH_3 , H_2S , індолу і скатолу). У побуті цей процес називають гниттям.

У процесах амоніфікації беруть участь різні мікроорганізми, які змінюють один одного. В аеробних умовах амоніфікацію забезпечують бактерії, мікобактерії, плісняві гриби. Продовжують процес бацили, а завершують – актиноміцети. В анаеробних умовах його можуть забезпечувати бактерії роду *Clostridium*. Амоніфікація складних білків відбувається поетапно.

Амоніфікація ДНК та РНК здійснюється у результаті гідролітичного розщеплення до мононуклеотидів. Після цього відбувається відщеплення залишку H_3PO_4 , а потім вуглевода. Нітрогеновмісна речовина розкладається до сечовини та амінокислоти, яка у свою чергу утворює NH_3 та H_2O . У анаеробних умовах відбувається повільне бродіння.

Амоніфікація нітрогеновмісних сполук небілкової природи (сечовини, сечової та гіпурової кислот) відбувається за участю ферментів. Фермент уреаза, який виділяється мікробами, сприяє розщепленню сечовини до NH_3 , CO_2 та H_2O . Його синтезують уробактерії, які існують у середовищі із значенням кислотності на рівні 9-10.

Нітрифікація. Вперше про мікробіологічну природу нітрифікації сказав С.М.Виноградський. У 1890-1892 роках він виділив нітрифікуючі бактерії у чисту культуру і довів існування двох фаз нітрифікації.

1 фаза – окиснення аміаку або солей амонію до нітритів. Цей процес забезпечують нітрозні бактерії. Найбільш вивченими серед них є *Nitrosomonas europaea*. Вони мають вигляд коротких рухливих або нерухливих паличок, які іноді утворюють короткі ланцюги. Енергію вони можуть запасати у вигляді АТФ і використовувати її для процесів фіксації CO_2 та для біосинтетичних процесів.

2 фаза – окиснення нітритів до нітратів. Її забезпечують нітратні бактерії. Найкраще вивченими серед них є *Nitrobacter winogradskyi*. Вони мають грушовидну форму, розмножуються брунькуванням, дочірні клітини мають джгутик, за допомогою якого вони рухаються.

Всі нітрифікуючі бактерії – облигатні аероби. Більшість із них хемолітоатотрофи. Наявність органічних речовин у складі середовища гальмує їх ріст. Оптимальною температурою для розвитку нітрифікуючих бактерій є 25-30°C, а значення рН – 7,5-8. При цьому вони живуть в усіх ґрунтах, у морських і прісних водоймах, озерах та океанах.

До нітрифікації також здатні і деякі хемоорганогетеротрофи.

Отже, нітрифікація є другою ланкою у циклі трансформації нітрогеновмісних речовин. Накопичення нітритів і нітратів у ґрунті спричиняє його підкиснення. Це підвищує розчинність деяких речовин (наприклад, фосфору та заліза) і сприяє кращому засвоєнню їх рослинами.

Денітрифікація. Нітрати можуть використовуватись у процесах життєдіяльності рослин і мікроорганізмів. Частина їх вимиваються із ґрунтів, а інша частина – відновлюється до газоподібних форм нітрогену (NO , N_2O , N_2), тобто підлягає процесу денітрифікації. Денітрифікація буває двох типів:

1. Пряма денітрифікація – це біологічне відновлення нітритів і нітратів до газоподібного нітрогену за участю мікроорганізмів.

2. Непряма (побічна) денітрифікація – це хімічний процес взаємодії нітритів з амінокислотами, з утворенням N_2 , який виділяється у повітря. Цей процес відбувається у кислих ґрунтах при значенні рН 5,5.

У природі більш розповсюдженою є пряма денітрифікація. Вона поділяється на:

1. Асиміляційну. У цьому процесі нітрати є джерелом нітрогену, який відновлюється до аміаку і використовується клітиною для біосинтетичних реакцій. Асиміляційну денітрифікацію можуть здійснювати рослини і багато представників бактерій.

2. Дисиміляційну. Нітрити і нітрати виступають у ролі акцептора електронів у реакціях катаболізму. Її можуть здійснювати хемоорганогетеротрофи.

гетеротрофні та деякі хемолітоавтотрофні бактерії. Останні у анаеробних умовах отримують енергію у процесі окиснення сірки, відновлюючи при цьому нітрати до молекулярного нітрогену.

Кінцеві продукти денітрифікації (NO , N_2O , N_2) залежать від виду мікроорганізмів, які здійснюють цей процес.

Клітини денітрифікуючих бактерій мають удосконалений дихальний ланцюг, що дає їм змогу здійснювати катаболізм як у аеробних, так і анаеробних умовах. Один із важливих ферментів денітрифікуючих бактерій – нітратредуктаза (переносить електрони на нітроген нітратів) синтезується лише у анаеробних умовах при наявності нітратів у середовищі. Денітрифікуючі бактерії широко розповсюджені у різних типах ґрунтів, у прісних і солоних водоймах.

Дисиміляційна денітрифікація наносить збитки сільському господарству, оскільки веде до зниження запасів нітрогену в ґрунті та водоймах. Для боротьби з денітрифікацією рекомендується проводити розпушування ґрунтів, щоб забезпечити небажані аеробні умови для денітрифікуючих бактерій.

Біологічна фіксація атмосферного нітрогену. Над кожним гектаром земної поверхні у складі атмосферного повітря міститься такий запас нітрогену, який може забезпечити високі врожаї рослин на мільйони років. Але нітроген атмосфери не використовується рослинами і тваринами. Процеси азотфіксації притаманні лише прокариотичним організмам. До фіксації атмосферного нітрогену здатні синьо-зелені водорості, деякі аеробні та анаеробні бактерії та деякі актиноміцети.

Серед азотфіксуючих бактерій розрізняють:

1. Вільноживучі бактерії, які живуть у ґрунті і можуть засвоювати 15-18 кілограмів нітрогену на 1 гектар.

2. Симбіотичні азотфіксуючі бактерії, які утворюють симбіоз із вищими рослинами і можуть фіксувати 70-80 кілограмів нітрогену на 1 гектар посівів бобових культур.

Вільноживучі азотфіксуючі бактерії – це представники родів *Azotobacter* та *Clostridium*. Найактивнішим азотфіксатором із роду *Clostridium* є *Cl. pasterianum*, який був виділений у чисту культуру С.М. Виноградським у 1893 році. Вони мають великі за розміром паличковидні клітини. У молодому віці вони рухливі перитрихи. Під час старіння утворюють спорангії кластридального типу. За типом живлення – хемоорганотрофи. Як джерело карбону можуть використовувати різні органічні сполуки, як джерело нітрогену – солі амонію, нітрати та органічні нітрогеновмісні сполуки. За дефіциту нітрогену ці мікроорганізми переходять до фіксації нітрогену повітря. Енергію для процесів життєдіяльності можуть накопичувати при маслянокислому бродінні. Живуть такі бактерії у слабкоаерованих ґрунтах, які періодично затоплюються водою.

Іншими вільноживучими азотфіксаторами є представники роду *Azotobacter*, які були виділені у чисту культуру Мартином Бейеринком у 1901 році із садового ґрунту. Вони мають поліморфні клітини, які бувають паличковидної або кокоподібної форми. Часто їх клітини вкриті великою

слизовою капсулою. За несприятливих умов ці бактерії можуть утворювати цисту. Як джерело карбону використовують органічні речовини (вуглеводи, спирти, органічні кислоти. Як джерело нітрогену – мінеральні солі або амінокислоти. За нестачі нітрогену у середовищі представники роду *Azotobacter*, переходять до фіксації молекулярного нітрогену за рахунок енергії аеробного окиснення органічних сполук. Активатором фіксації нітрогену для них є молібден, який входить до складу ферментів. Живуть такі бактерії у родючих, добре аерованих і вологих ґрунтах.

Останнім часом азотфіксатори відкрили і серед псевдомонад, спірил, ентеробактерій, мікобактерій, актиноміцетів та інших груп прокариот. Особлива увага зараз приділяється вивченню автотрофних азотфіксуючих бактерій, які як джерело карбону використовують CO_2 , а нітрогену – N_2 . Такі бактерії є незалежними від речовин субстрату. Серед синьо-зелених водоростей азотфіксацію можуть здійснювати більше ніж 40 видів організмів.

Симбіотичними азотфіксаторами є бульбочкові бактерії роду *Rhizobium*. Вони були вперше виявлені у бульбочках люпину і описані у 1866 році М.С. Вороніним. Представники роду *Rhizobium* живуть у ґрунтах. Вони мають форму паличок і є рухливими у молодому віці. При старінні стають нерухливими і переходять у стадію оперізованої палички. За рахунок жирових включень у клітинній стінці спостерігається чергування забарвлених і незабарвлених ділянок. Після стадії оперізованої палички настає стадія бактероїда, у результаті чого клітини галузяться і набувають форми коралів. Ці бактерії за типом живлення є хемоорганотрофами. Джерелом карбону для них є вуглеводи, органічні кислоти, багатоатомні спирти. Джерелом нітрогену є солі амонію, нітрати та амінокислоти. Енергію клітини цих прокариот отримують від процесів аеробного окиснення органічних речовин. Симбіотичні азотфіксатори є високоспецифічними до рослин, з якими вони утворюють симбіоз. У деяких випадках спостерігається не тільки видова, а і сортова специфічність.

Зараження клітин коренів рослин симбіотичними азотфіксаторами відбувається під час проростання насіння. У присутності клітин бактерій кореневі волоски згинаються у формі гачка. Бактерії виділяють поліцукри, а кореневі волоски виділяють фермент полігалактураназу, який розчиняє оболонку клітини і відкриває ворота для проникнення інфекції. Бульбочкові бактерії активно розмножуються, виділяють слиз і у вигляді інфекційної нитки рухаються по кореновому волоску у клітини кори кореня. Клітини кореня інтенсивно діляться, утворюючи тканину бульбочок. Бульбочкові бактерії при цьому переходять у стадію оперізованої палички і перетворюються у бактероїд.

Бактероїди оточені клітинною мембраною утворюють азотфіксуючу одиницю. У просторі між бактероїдом і мембраною локалізується леггемоглобін, який є переносником O_2 до бактероїду. По закінченню фази цвітіння у бобових культур відбувається дегенерація бульбочок. Бактероїд лізується. Передача зв'язаного нітрогену відбувається і під час життєдіяльності клітин бактерій, і після їх лізису у формі амінокислот. Деяка кількість

амінокислот потрапляє у ґрунт. На симбіоз бульбочкових бактерій та бобових рослин впливає комплекс факторів: аерація ґрунту, температура, вологість, значення рН, наявність мікро- та макроелементів, атмосферний тиск.

Хімізм процесів азотфіксації однаковий у різних групах прокариот і здійснюється шляхом відновлення. Розривання потрійного зв'язку між атомами нітрогену і введення гідрогену відбувається за участю ферментативної системи – нітрогенази, який складається із двох субодиниць. Одна із них містить атом молібдену і атом заліза і називається молібденоферредоксин, який дезактивується киснем. Друга субодиниця називається азоферредоксин. Для функціонування нітрогенази необхідна наявність енергії АТФ, іонів Mg^{2+} і відновника (ферредоксина). Гідроген метаболізму бактеріальних клітин активується ферредоксином і передається на Fe-білок нітрогенази. Відновлений Fe-білок утворює комплекс з іонами Mg^{2+} і АТФ, що веде до зрушення окисно-відновного потенціалу його активного центру. Далі відбувається перенесення гідрогену на молібденоферредоксин. Перенос одного електрону на молібденоферредоксин супроводжується гідролізом двох молекул АТФ. У активному центрі молібденоферредоксину відбувається поетапне відновлення N_2 до $NH\equiv NH$, а потім до гідразину NH_2-NH_2 і до NH_3 .

Для відновлення N_2 до NH_3 витрачається не менше 12 молекул АТФ. При цьому використовується АТФ із мітохондрій клітин рослини-хазяїна. Вільноживучі азотфіксуючі бактерії використовують АТФ із реакцій катаболізму бактеріальних клітин. Утворений NH_3 реагує із кетокислотами, що веде до синтезу амінокислот. У вигляді амінокислот фіксований нітроген використовується мікробною клітиною, клітинами рослини-хазяїна або потрапляє у ґрунт.

У наш час ведуться роботи промислового способу хімічної фіксації молекулярного нітрогену через моделювання функціонування нітрогеназної системи. Іншим напрямком відтворення молекулярної фіксації нітрогену є генна інженерія, яка передбачає введення гену бактерій, який відповідає за азотфіксацію, у клітини рослин.

Процеси трансформації сполук фосфору

У складі земної кори міститься 0,12 % фосфору. У ґрунтах його вміст становить 0,10-0,18 %. У живленні рослин фосфор займає друге місце за значенням після нітрогену. Більша частина ґрунтового фосфору знаходиться у недоступній формі для рослин. Це фосфор органічних речовин рослинного і тваринного походження та $Ca_3(PO_4)_2$. Роль мікрофлори полягає у мінералізації фосфорорганічних сполук та переведенні неорганічної форми фосфору у доступну форму для живлення рослин.

Органічні сполуки фосфору містяться у гумусі, рослинних і тваринних залишках, входять до складу торфу та гною. Перше місце за кількістю органічного фосфору у своєму складі посідає фітин та його похідні (40-80 %). Друге місце належить нуклеїновим кислотам (10 %). Третє – фосфоліпідам (3 %). Розщеплення фосфорорганічних сполук відбувається за участю

ферментів, які синтезують мікроорганізми. Так нуклеопротеїди розщеплюються ферментом фосфатазою шляхом дефосфорилування з утворенням неорганічних фосфатів. Нуклеїнові кислоти розщеплюються нуклеазами досить швидко, а продукти обміну при цьому можуть накопичуватись. Фітин та його похідні розщеплюється повільно ферментом фітазою, який синтезують мікроорганізми. Лецитин та інші фосфоліпіди розщеплюються ферментом фосфоліпазою.

Руйнівниками сполук фосфору є бактерії родів *Pseudomonas* і *Bacillus*, деякі актиноміцети, дріжджі та інші гриби.

Неорганічні сполуки фосфору містяться у складі породоутворюючих мінералів або у нерозчинній формі у вигляді фосфатів алюмінію, кальцію та заліза. Ці сполуки є недоступними для живлення рослин. Значення мікроорганізмів полягає у мінералізації та переведенні нерозчинних форм неорганічного фосфору у розчинний стан, який є доступним для живлення рослин. Ці функції виконують мікроорганізми родів *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, а також актиноміцети і плісняві гриби. Перетворення неорганічних сполук фосфору пов'язане із здатністю мікроорганізмів утворювати мінеральні та органічні кислоти, зокрема такі як:

- вугільна кислота – H_2CO_3 ;
- азотна (HNO_3) та сірчана (H_2SO_4) кислоти – більш сильні за дією. Їх продукують нітрифікуючі та тіонові бактерії;
- органічні кислоти та кетокислоти, які утворюються у клітинах мікроорганізмів у процесах бродіння і неповного аеробного окиснення вуглеводів;

У процесах перетворення сполук фосфору активну участь приймають також органічні кислоти, які містяться у ґрунті. Це лимонна, оцтова, молочна та інші кислоти. Розчинні фосфати частково вимиваються у моря та океани. Перетворення фосфатів у розчинну форму доступну для живлення рослин – це основна рушійна ланка введення фосфору у біологічний процес кругообігу.

Процеси трансформації сполук сульфуру

Сульфур входить до складу трьох амінокислот, білків, деяких масел та алкалоїдів. У природі сульфур міститься:

- у неорганічній формі – сульфати (SO_4^{2-}), сульфіти (SO_3^{2-}) – окиснена форма сульфуру; сірководень (H_2S) та сульфіди – відновлена форма сульфуру;
- у органічній формі – амінокислоти, білки, тіосечовина, алкалоїди.

Цикл трансформації сполук сульфуру включає окиснювальну та відновну ланки. Основна роль у процесах трансформації сполук сульфуру належить мікроорганізмам.

Органічні залишки містять 50-70 % всього сульфуру. Мінералізацію цих речовин здійснюють гетеротрофні мікроорганізми, які продукують протеолітичні ферменти. Це представники родів *Proteus*, *Bacillus*, *Arthrobacter* та гриби родів *Aspergillus*, *Microsporium*.

Амоніфікація білків у аеробних умовах супроводжується виділенням H_2S , S , SO_4^{2-} . H_2S і леткі меркаптани – це основні продукти, які містять сульфур. Вони утворюються при розкладанні білків. У процесі мінералізації частина сульфуру фіксується у цитоплазмі мікроорганізмів. Цей процес називається іммобілізацією.

Виділяють два основні способи перетворення сульфуровмісних речовин:

1. Окиснення H_2S , S та інших недоокиснених сполук сульфуру. Цей процес ще має назву сульфофіксації. Він відбувається у автотрофних мікроорганізмів. У аеробних умовах його здійснюють безбарвні сірчані та тіонові бактерії, у анаеробних – фотосинтезуючі сірчані пурпурні та зелені бактерії.

Безбарвні сірчані бактерії живуть у водоймах, де перетворюють H_2S на S . При цьому вони відкладають сульфур у клітинах як запасну речовину. Енергія, яка при цьому утворюється витрачається на відновлення CO_2 та біосинтетичні процеси. Для їх існування необхідне одночасне забезпечення клітин H_2S та O_2 . Тому вони локалізуються на межі аеробної та анаеробної зон. При нестачі H_2S вони здатні окислювати S до H_2SO_4 , яка у подальшому реагує з бікарбонатом кальцію із утворенням гіпсу, який виділяється у навколишнє середовище.

Тіонові бактерії здатні окислювати H_2S , S , SO_4^{2-} , тіосульфати, тетратіонати і відкладати сульфур поза клітиною. Енергію, яку отримують при цьому вони витрачають на біосинтез органічних речовин із CO_2 . Тіонові бактерії були виділені у чисту культуру у 1904 році М. Бейеринком.

Зустрічаються види, у яких акцептором гідрогену при окисненні сполук сульфуру в аеробних умовах є кисень, а в анаеробних – нітроген нітратів. У промисловості такі бактерії застосовують при видаленні металів із руд, шляхом окиснення S^{2-} . Вони дають можливість добувати метали із бідних руд при мінімальних енерговитратах.

Фотосинтезуючі сірчані пурпурні та зелені бактерії – це жителі анаеробної зони водойм та ґрунтів, які заливаються водою. Вони окиснюють H_2S .

2. Десульфофікація – це процес відновлення SO_4^{2-} , SO_3^{2-} до H_2S , який відбувається в анаеробних умовах. Цей процес має місце у ґрунтах, які періодично затоплюються, торф'яних болотах, деяких лиманах та морях, а також у пластових водах. Завдяки цьому процесу може руйнуватись матеріал, який є нестійким до H_2S . 50 % корозії підземних трубопроводів відбувається завдяки діяльності мікроорганізмів, які здатні до десульфофікації. Крім того, накопичення H_2S , який є токсичною речовиною для живих організмів, негативно впливає на життєдіяльність рослин і тварин. Позитивна роль цього процесу полягає у тому, що завдяки накопиченню сірководню, відбувається утворення покладів сульфуру та сульфідних руд.

Процеси трансформації сполук заліза

Залізо необхідне всім живим організмам, оскільки цей елемент входить до складу життєво важливих ферментів – каталази, пероксидази, а також гемоглобіну, леггемоглобіну, цитохромів. Органічні сполуки (амінокислоти,

оксикислоти, спирти) утворюють хелатні комплекси із залізом. У ґрунті залізо міститься:

- у неорганічній формі – у складі мінералів або комплексів із гумусом;
- в органічній формі входить до складу лігніну, білків – залізолігнін, залізопротеїди.

Вміст Fe_2O_3 у ґрунті – 1-6 % (рідко перевищує 10 %). Основну роль у міграції Заліза у ґрунті відіграє значення рН оточуючого середовища. Залізо може змінювати валентність і при цьому змінюється його рухливість, залежно від кислотності середовища. У цих процесах активну участь приймають залізобактерії та неспеціалізовані мікроорганізми.

Поняття «залізобактерії» було введено С.М. Виноградським для хемолітотрофних бактерій, які окиснюють Fe^{2+} до Fe^{3+} , використовуючи енергію для відновлення CO_2 . Окиснення заліза – це одна із основних функцій клітин цих бактерій. Вони відкладають оксиди заліза на поверхні клітини. Участь залізобактерій у окисненні заліза може бути пряма і побічна. Органічні залишки мінералізуються гетеротрофними мікроорганізмами із виділенням оксидів заліза. У подальшому оксиди заліза при участі води у лужному середовищі при наявності кисню окиснюються до Fe_2O_3 . При значенні рН менше ніж 4,5 Fe^{2+} перетворюється до Fe^{3+} за участю ацидофільних груп хемолітотрофних бактерій. Для відновлення однієї молекули CO_2 залізобактерії окиснюють більше 20 молекул Fe^{2+} до Fe^{3+} . Fe_2O_3 концентрується у капсульних чохлах, які містяться навколо бактеріальної клітини.

Залізобактерії розповсюджені в усіх типах ґрунтів та водоймах. Ацидофільні залізобактерії виділяють із водних джерел, підземних вод сульфідних покладів. Залізобактерії як геологічні агенти беруть участь в утворенні покладів заліза, формуючи осадові залізні руди. У народному господарстві залізобактерії, утворюючи Fe_2O_3 закупорюють водопровідні труби. Деякі залізобактерії паралельно із оксидом заліза здатні окиснювати і сполуки мангану.

ЛЕКЦІЯ 7. Основи вірусології

Специфічність та походження вірусів

Віруси – це група неклітинних форм життя, яким властивий строгий паразитизм на молекулярному, а часто і на молекулярно-генетичному рівні. За період свого життя вірус проходить дві фази онтогенезу:

1. Позаклітинна – коли вірус знаходиться у стані спокою і називається віріоном.
 2. Внутрішньоклітинна – це цикл репродукції вірусу в клітині хазяїна.
- Віруси мають принципові відмінності від інших організмів:

1. Особливості будови. Віруси не мають клітинних структур. Віріон складається з двох компонентів: нуклеїнової кислоти та білка. Це неклітинна форма існування вірусу. До складу будь-якого організму обов'язково входить 2 типи нуклеїнових кислот – ДНК та РНК, а у віріонів – тільки одна з двох, ДНК або РНК. Нуклеїнові кислоти вірусів можуть бути одно- або дволанцюговими.

2. Відсутність власного метаболізму. Віруси не мають рибосом. У них відсутній механізм синтезу АТФ. Їх називають ультрапаразитами через те, що вони паразитують на генетичному рівні.

Вірус проникає у клітину, вбудовує свій геном у вигляді ДНК або РНК і цим пригнічує діяльність геному хазяїна. З цього моменту метаболічний апарат клітини хазяїна починає працювати повністю на вірус під контролем вірусного геному. Особливістю вірусів також є те, що навіть на самих складних поживних середовищах вони не культивуються.

Вірусам притаманні такі критерії життя:

1. Здатність до розмноження. Потрапляючи у клітину, вірус змушує працювати її на утворення багаточисельного потомства.
2. Спадковість. Симптоми вірусних інфекцій (таких як віспа, поліомієліт, сказ) зберігаються тисячоліттями. Клінічна картина симптомів захворювань не змінюється здавна. Про стійкість спадкового коду вірусів говорить і спектр хазяїв, які не змінюються для кожного з вірусів протягом багатьох років.
3. Мінливість. Її можна простежити на прикладі вірусу грипу типу А. Невеликі зміни синглетної структури відбуваються у цих вірусів щорічно, суттєві зміни антигенів (білків білкової оболонки вірусів) спостерігається 1 раз на 10-15 років. Кожна пандемія грипу типу А в ХХ столітті була викликана новою різновидністю вірусу.
4. Здатність до адаптації. Середовищем існування вірусів є організм хазяїна, коло яких строго визначене у кожного з них. Коло хазяїв для вірусів може бути вузьким (деякі бактеріофаги) або дуже широким (вірус сказу). Завдяки цьому віруси займають певні екологічні ніші у біосфері.

Таким чином, віруси є автономними генетичними структурами, яким притаманні здатність до розмноження, спадковість, мінливість та адаптації. Вони не мають власного метаболізму і не здатні до самостійної репродукції поза клітиною хазяїна.

Походження вірусів

Існує декілька теорій походження вірусів.

1. Деякі вчені вважають, що віруси – це примітивні доклітинні форми життя. Логічні докази цієї теорії відсутні, оскільки для репродукції вірусам необхідна клітина. Рівень організації нуклеїнових кислот та білків вірусів не поступається такому, як у клітинних організмів. Нуклеїнові кислоти мають такий же склад як і у клітин. Генетичний код вірусів аналогічний коду клітини.

2. Віруси – результат деградації клітинних організмів. При цьому їх еволюція відбувалась по шляху облігатного паразитизму, з втратою автономної АТФ, рибосом, цитоплазматичної мембрани. Еволюція геному вірусів за цією теорією відбувалась двома шляхами:

- за шляхом зменшення об'єму генетичної інформації – з дволанцюгових ДНК до одноланцюгових;
- за шляхом спрощення репродукції, виключення транскрипції з ДНК на РНК. Тому залишилась тільки одна РНК, спочатку у формі дволанцюгової ДНК, а потім тільки одноланцюгової РНК.

3. Віруси – група генів, які вийшли з під контролю геному клітини. Вони отримали автономію на певному етапі еволюції, набули захисну білкову оболонку і деякі специфічні вірусні білки. Доказом цього є спорідненість ДНК вірусів з ДНК клітини і можливість включення ДНК вірусів у геном клітини. За цією гіпотезою віруси є фрагментами живих організмів, які втратили здатність до самостійної репродукції, але зберегли деякі суттєві критерії живих організмів: спадковість, мінливість та адаптацію.

Структурна організація вірусів

Форми віріонів можуть бути різними (паличкоподібні, ниткоподібні, сферичні, кулеподібні, булавовидні). Розміри також різноманітні (від 10-20 до 300-350 нм). Віріони найпростіших вірусів складаються з нуклеїнової кислоти і білкової оболонки, яка має назву капсид. Віріони деяких найскладніше організованих вірусів на поверхні білкового капсиду мають додаткову зовнішню оболонку – суперкапсид.

Капсид

Капсиди вірусів можуть бути утворені білковими субодинамиціями, які укладені певним чином. Капсиди різних вірусів як правило побудовані за одним планом, у основі якого лежить геометричний принцип – спіральна або ізометрична симетрія. Відповідно до цього розрізняють два типи капсидів:

- спіральний капсид, у якого білкові субодинамиці укладені по спіралі навколо осі. Найкраще вивчений вірус з капсидом такого типу є вірус

тютюнової мозаїки. Він має форму палички діаметром 15-17 нм, довжиною 300 нм. У капсиді на кожні три витки спіралі припадає 49 білкових субодиниць. Кожна субодиниця представлена однією молекулою білка. У середині капсиду міститься порожнистий канал діаметром 4 нм. Генетичний матеріал представлений одноланцюговою РНК, яка щільно укладена в жолобі спірального капсиду. Одна субодиниця білка пов'язана з трьома нуклеотидами РНК. Для віріонів, які мають такий капсид вміст білка становить 90-98 % по відношенню до нуклеїнової кислоти;

- ізометричний капсид, форма якого має вигляд симетричного багатогранника, найчастіше ікосаедра, який має 12 вершин, 20 трикутних граней, 30 ребер. Поверхня ізометричних капсидів утворена окремими елементами зі строгою періодичністю. Елементи складаються з 2-6 білкових субодиниць, які називаються капсомерами. Кількість капсомерів може дорівнювати 60, або кратна 60. Кількість капсомер – величина постійна.

Розміщення нуклеїнової кислоти у капсиді до кінця не вивчене. Для вірусу жовтої мозаїки турнепса РНК утворює виступи, які симетрично розміщені по відношенню до капсомерів капсиду. На поверхні капсидів містяться різні вирости (шипи), волоски, якими вони закріплюються на поверхні клітин.

Капсид вірусу виконує наступні функції:

1. Захисна. Капсид захищає нуклеїнову кислоту від фізичних та хімічних впливів (наприклад, від ферментів нуклеаз).

2. Рецепторна. Білки капсиду мають рецептори, які комплементарні рецептору клітин, які вражаються. Капсид відповідає за хемосорбцію вірусу на поверхні клітини.

У процесі еволюції у вірусів виробилась унікальна вибірковість – вражати певне коло хазяїв, а в організмі хазяїна – певний тип клітин.

Нуклеїнові кислоти вірусів

Віруси містять одну із двох нуклеїнових кислот: або ДНК, або РНК. За цією ознакою віруси поділяються на ДНК-геномні та РНК-геномні.

Будь-яка нуклеїнова кислота вірусу виконує функцію і ДНК, і РНК. Нуклеїнові кислоти вірусів можуть бути як одноланцюговими, так і дволанцюговими. РНК вірусів зберігає спадкову інформацію, як і ДНК. Одноланцюгові ДНК можуть бути лінійними чи кільцевими. Дволанцюгові ДНК мають віруси, які вражають людину, тварини та бактерії (бактеріофаги). Одноланцюгову ДНК мають віруси тварин, комах та дрібні фаги.

РНК-геномні віруси можуть мати як одноланцюгову, так і дволанцюгову РНК. Найчастіше вони мають лінійну форму.

У ДНК-геномних вірусів ДНК тотожна одній хромосомі. Серед РНК-геномних вірусів існують групи багатохромосомних вірусів або віруси з фрагментованим геномом. Геном багатохромосомних вірусів представлений декількома молекулами РНК (мінімум двома). Багатохромосомні віруси поділяють на:

- ковіруси – це віруси, у яких фрагменти геному розподілені між декількома віріонами;
- моновіруси – це віруси, у яких повний набір геному міститься в одному віріоні.

Спосіб передачі генетичної інформації у вірусів тісно пов'язаний з біологією роду.

Зовнішня оболонка віріона

Зовнішня оболонка віріона має назву суперкапсид. Це мембрана, яка складається з 2-х шарів ліпідів і зануреного у них шару білків. Суперкапсид має клітинне походження. Він не кодується геномом, а є модифікаційною ділянкою мембрани клітини хазяїна, якої вірус набуває у момент виходу віріона із враженої клітини. У деяких вірусів (наприклад, вірус герпесу) суперкапсид формується з ядерної мембрани.

Крім ліпідів і білків до складу суперкапсиду віріона входять також цукри. Їх вміст залежить від клітини, у якій паразитує вірус. Тому один і той же вірус, який розвивається на різних клітинах може мати різні цукри.

Цикл репродукції вірусів

Залежно від властивостей вірусу і сприйнятливості клітини, а також від умов зовнішнього середовища, розрізняють такі основні типи взаємодії вірусів із клітиною:

- Продуктивна інфекція. Цикл репродукції вірусу при такій взаємодії закінчується утворенням багаточисельного покоління у клітині хазяїна і супроводжується загибеллю клітини.

- Абортивна інфекція. Цикл репродукції вірусу може перериватись на одній із стадій. При цьому вражена клітина зберігає життєдіяльність.

- Вірогенна інфекція. При такій взаємодії вірусна нуклеїнова кислота вбудовується в нуклеїнову кислоту клітини хазяїна, при цьому відбувається синхронний синтез нуклеїнових кислот, які передаються у дочірні клітини. Через деякий час, за певних умов, у клітині може початися розмноження вірусу, яке призводить до загибелі клітин.

Віруси бінарним діленням не розмножуються. Розмноження вірусів відбувається шляхом репродукції у клітині хазяїна. Репродукція нуклеїнової кислоти і білків вірусу може відбуватись у різних ділянках клітини і в різний час.

Віруси не мають автономного обміну речовин, тому ферменти їм не потрібні. Але останнім часом було виявлено утворення деяких ферментів вірусами. Функціонально ці ферменти поділяють на:

- ферменти, які допомагають проникненню нуклеїнової кислоти вірусів у клітини і виходу нових віріонів із клітини;
- ферменти, які беруть участь у транскрипції та реплікації вірусної нуклеїнової кислоти.

Ферменти містяться або у віріоні, або синтезуються на рибосомах клітини за геномом вірусів.

При продуктивній інфекції розмноження вірусу відбувається шляхом послідовного перебігу таких стадій:

1. Хемосорбція на поверхні клітини хазяїна. Вона можлива при наявності на поверхні чутливих рецепторів, комплементарних до рецепторів вірусів. Роль рецепторів у простоорганізованих вірусів виконують ліпопротеїди, які сполучають білкові субодиниці. У складноорганізованих вірусів суперкапсид має спеціальні вирости у вигляді шипів та ворсинок, завдяки яким вірус прикріплюється до поверхні клітини.

2. Проникнення у клітину хазяїна. Відбувається за різними механізмами (наприклад, піноцитоз, за рахунок злиття клітинних і внутрішньоклітинних мембран, або за рахунок часткового руйнування оболонки клітини). Внаслідок проникнення у клітину звільняється нуклеїнова кислота віруса.

3. Депротейнізація віруса. Під час цього етапу відбувається вивільнення нуклеїнової кислоти із білкового капсиду. У деяких вірусів цей процес відбувається паралельно з першою і другою стадіями. Після проникнення віруса у клітину спостерігається період екліпса, або так званий прихований період. При цьому нуклеїнова кислота рухається до ядра враженої клітини. Час екліпса різний для окремих вірусів і може тривати від декількох хвилин до декількох годин.

4. Синтез компонентів віруса. Як правило він відбувається у декілька етапів.

Перший етап – підготовчий. Має дві мети:

- пригнічення функціонування генетичного апарату клітини, синтезу білків, нуклеїнових кислот та переведення білоксинтезуючого апарату клітини під контроль геному віруса;

- підготовка умов для реплікації нуклеїнової кислоти і синтезу білків капсиду віруса.

Другий етап – реплікація нуклеїнової кислоти. Відбувається за різними механізмами, залежно від нуклеїнової кислоти, яка входить до складу віруса. Для дволанцюгових ДНК-геномних вірусів після реплікації ДНК відбувається синтез і-РНК, яка в подальшому рухається на вірус-полісому, де відбувається синтез вірусних білків. Реплікація ДНК відбувається у ядрі клітини, у поодиноких випадках – у цитоплазмі (наприклад, у віруса віспи).

Для одноланцюгових ДНК-геномних вірусів спочатку відбувається синтез комплементарної пари ДНК, а далі аналогічно до дволанцюгових ДНК-геномних вірусів.

Для РНК-геномних вірусів молекули РНК є генетичним матеріалом і виконують також функцію і-РНК. Таким чином, РНК у них є матрицею для синтезу білків. У онкогенних РНК-вірусів на РНК утворюється ДНК одноланцюгова копія. Після чого ця копія реплікується з утворенням дволанцюгових форм. Після цього така форма може включатись у геном клітини, за яким утворюється РНК для наступного покоління.

У дволанцюгових РНК-геномних вірусів спочатку відбувається транскрипція вірусної і-РНК для синтезу білків, а потім її реплікація.

Третій етап – синтез білків капсиду. Відбувається після реплікації у ядрі або в цитоплазмі. У ДНК-геномних вірусів матрицею для синтезу білків капсиду є і-РНК, а у РНК-геномних – вірусна РНК або вірусоспецифічна і-РНК.

5. Складання віріонів або морфогенез вірусу. Починається після досягнення певної концентрації білків і нуклеїнових кислот. У простоорганізованих вірусів білкові субодиниці розміщуються навколо нуклеїнової кислоти. У складноорганізованих у складанні віріонів беруть участь клітинні структури – ядерна і цитоплазматична мембрана.

6. Вихід вірусів із клітини. У різних вірусів цей етап відбувається по-різному. У ДНК-геномних вірусів при цьому відбувається лізис клітин. У деяких представників віріони виходять з клітини з ділянками цитоплазматичної мембрани шляхом брунькування, набуваючи суперкапсиду. При цьому клітина деякий час живе, а потім гине. Віріони можуть тривалий час залишатись у клітинах і передаватись дочірнім клітинам (наприклад, у віруса герпесу).

Найчастіше цикл репродукції закінчується продуктивною інфекцією, внаслідок якої утворюється багаточисельна популяція (100-200 віріонів) і клітина гине.

Культивування вірусів

Існує три основні методи культивування вірусів:

1. Культивування вірусів у організмі лабораторних тварин. Через вузьке коло організмів, які можуть вражатись окремими вірусами цей метод має значні технічні труднощі, які затримують прогрес в області вивчення вірусів.

2. Культивування у курячому ембріоні. Цей метод використовується з 1931 року. Репродукцію вірусу визначають за загибеллю курячого ембріона.

3. Вирощування у культурі клітин на поживному середовищі. Цей метод використовується з 1949 року і широко застосовується у сучасній практиці. Клітини культури готують з ембріональних тканин людини і тварин, які поміщають на поживне середовище. Після цього проводять посів суспензії вірусів. Цей метод дав змогу за короткий час відкрити сотні нових вірусів, а також здійснити промислове виробництво противірусних вакцин.

Вірусний канцерогенез

Здатність вірусів викликати утворення пухлин була виявлена на початку 20 століття. У 1997 році дослідником Гюйффо було доведено можливість передачі бородавок від людини до людини. У 1908 році Еллерман і Банг встановили, що лейкоз курей передається через плазму. До 1970 року накопичувались факти, за якими було встановлено, що для трансформації нормальної клітини в онкогенну та розвитку пухлини (канцерогенез) достатньо лише частини геному віруса – онкогена. Онкоген – це специфічний ген пухлинородного вірусу, продукти якого відповідають за трансформацію клітин.

Експериментальні докази на користь вірусних онкогенів були отримані на прикладі РНК-геномних ретровірусів, які мають одноланцюгову РНК з трьома генами, які необхідні для репродукції. Допускають, що онкогени РНК-геномних вірусів мають клітинне походження. Це означає, що передача гена на інший вірус, викликає пухлиноздатність останнього, яка в еволюції може закріплюватись або ні.

Віруси, які не містять онкогену, можуть індукувати пухлинний ріст клітин іншими шляхами: наприклад, за рахунок підвищення чутливості клітин до канцерогенів, пригнічення імунної системи, або набуття онкогенну шляхом рекомбінації геному віруса з генетичним матеріалом клітини.

За здатністю викликати злоякісні перетворення клітин всі пухлинородні віруси поділяються на три групи:

1. Високоонкогенні віруси. При враженні клітин такими вірусами (вірус поліоми ОВ-40, аденовірус підгрупи А, вірус саркоми Рауса) частина трансформованих клітин набуває злоякісних властивостей.

2. Віруси, які викликають трансформацію клітин і накопичення їх популяції в організмі, що створює середовище для переродження поодиноких клітин у злоякісні (вірус лейкоза Раушера і Френда, вірус поліоми, вірус фіброми Шоупа, лімфотропні герпесвіруси).

3. Віруси, які мають трансформуючу активність, але зовсім не мають онкогенних властивостей (аденовіруси підгруп С і D).

Таким чином, віруси є не єдиною універсальною причиною виникнення пухлин. Вивчення онкогенних вірусів створює шлях до вивчення механізму переродження клітин.

Частина 2.

ЛАБОРАТОРНИЙ ПРАКТИКУМ

Інструкція із техніки безпеки при проведенні лабораторних досліджень

1. Дотримання вимог інструкції обов'язкове для студентів та викладачів.
2. Перебування сторонніх осіб в аудиторії в момент проведення експерименту можливе тільки з дозволу викладача.
3. Під час заняття студенти повинні бути у білих халатах.
4. До проведення лабораторної роботи студент допускається у разі здачі теоретичної частини даної теми.
5. При проведенні роботи забороняється використовувати прилади, які вийшли з ладу або мають пошкодження, а також прилади, що не мають прямого відношення до виконуваної роботи. При використанні конкретного приладу слід дотримуватись правил техніки безпеки при роботі з ним.
6. У лабораторії категорично забороняється: вживати їжу, захарашувати проходи особистими речами, виносити будь-які реактиви та обладнання.
7. При травмуванні (порізи, опіки), а також при поганому самопочутті студенти повинні негайно сповістити про це викладача або лаборанта.
8. Забороняється виливати в каналізацію робочі розчини та органічні рідини, вони повинні зливатись у призначений спеціально для цього посуд. Використані препарати прибираються у спеціально відведені місця.
9. Черговий повинен отримати у лаборанта реактиви та обладнання і підготувати лабораторію до заняття.
10. Після закінчення експерименту проводиться прибирання робочих місць.
11. При виникненні у лабораторії під час заняття аварійної ситуації (пожежа, сторонні запахи, аварії водогону, тощо) не допускати паніки і дотримуватись вказівок викладача.

Надання першої медичної допомоги

В залежності від ситуації, перша медична допомога полягає у наступному:

Отруєння розбавленими розчинами кислот:

- а) випити 4-5 склянок теплої води і викликати блювання,
- б) випити стільки ж розчину оксиду магнію у воді і знову викликати блювання,
- в) зробити два промивання шлунку чистою теплою водою (не менше 6 л).

Отруєння концентрованими розчинами кислот:

При потраплянні всередину концентрованих кислот і при втраті свідомості забороняється викликати штучне блювання, застосовувати карбонати та гідрокарбонати як протиотруту (замість оксиду магнію). У цьому випадку необхідно терміново викликати лікаря.

Отруєння лугами:

- а) випити 4-5 склянок теплої води і викликати блювання,
- б) випити стільки ж водного розчину оцтової кислоти (2%),
- в) зробити два промивання шлунка.

Опіки:

При будь-яких опіках забороняється користуватись жирами для обробки обпеченої ділянки та застосовувати фарбуючі речовини (розчини перманганату калію, брильянтову зелень, йодну настоянку).

Опік I ступеня обробляють етиловим спиртом і накладають суху стерильну пов'язку. У всіх інших випадках після охолодження місця опіку накладають стерильну пов'язку і звертаються за медичною допомогою. При опіках їдкими речовинами останні видаляють зі шкіри струшуванням або знімають пінцетом, сухим папером, скляною паличкою.

При опіках розчинами кислот або лугів останні змивають після струшування видимих краплин широким струменем прохолодної води (забороняється обробляти пошкоджену ділянку зволоженим тампоном). Після видалення зі шкіри травмуючої речовини пошкоджену ділянку обмивають розчинами оцтової кислоти або гідрокарбонату натрію (2%), потім споліскують водою і накладають пов'язку з ріванолом або фурациліном.

Порізи:

Необхідно зупинити кровотечу за допомогою медичного турнікета або перетискання судин іншим способом. Якщо рана забруднена, бруд видаляється тільки навколо місця пошкодження, але ні в якому разі не з глибоких шарів рани. Шкіру навколо рани знезаражують розчином йоду або брильянтовою зеленню і звертаються до медпункту. Якщо після накладання турнікета кровотеча продовжується, на рану накладають стерильний тампон, який змочують розчином перекису водню (3%), потім стерильну салфетку і туго бинтують.

Потрапляння до очей їдких рідин:

Очі промивають водою, потім розчином борної кислоти або гідрокарбонату натрію, у залежності від характеру речовини, що потрапила до очей. Після промивання очей чистою водою під повіки слід ввести 2-3 краплі розчину альбуциду (30%).

Після надання першої медичної допомоги потрібно звернутися до лікарні.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

Методи мікроскопічного дослідження. Морфологія мікроорганізмів та розгляд їх у живому та фіксованому станах

Основні відомості

Повне уявлення про форму, розміри і рух бактеріальних клітин можна одержати при вивченні їх у живому стані. Для цього використовують методи одержання препаратів «роздавлена крапля», «висяча крапля» та «відбиток».

Препарат *«роздавлена крапля»* використовують для встановлення форми клітин мікроорганізмів, їх розмірів і взаєморозташування, способу споротворення, наявності або відсутності рухливості.

Для спостереження за розмноженням мікроорганізмів, утворення спор, рухом та реакцією клітин на хімічні реактиви застосовують метод *«висячої краплі»*.

Препарат *«відбиток»* застосовують для вивчення природнього розміщення клітин у колонії мікроорганізмів. Із середовища, на якому досліджували мікроорганізми ростуть суцільним газonom або у вигляді окремих колоній, вирізають скальпелем невеликий кубик і переносять його на предметне скло так, щоб поверхня з мікроорганізмами була обернена догори. Потім до колонії або газону прикладають чисте покривне скло, злегка притискають його голкою або пінцетом і відразу ж знімають, намагаючись не зсунути його вбік. Одержаний препарат кладуть відбитком донизу в краплину води або метиленового синього (1:40) на предметне скло. Відбиток можна одержати і на предметному склі, якщо торкатися ним поверхні газону або колонії.

Для виявлення ряду морфологічних ознак, кількісного обліку мікроорганізмів, а також для перевірки чистоти культури використовують фіксовані зафарбовані препарати. Ці препарати зручні тим, що можуть зберігатися тривалий час. Їх виготовлення включає такі етапи:

- 1) виготовлення мазка,
- 2) висушування,
- 3) фіксація,
- 4) фарбування.

Виготовлення мазка. На підігріте чисте предметне скло у краплину води вносять невелику кількість культури мікроорганізмів, переміщують і рівномірно розмазують петлею або краєм покривного скла на площі 1-2 см² якомога тоншим шаром.

Висушування мазка. Препарат висушують при кімнатній температурі на повітрі. Для прискорення процесу можна підсушувати препарат високо над полум'ям спиртівки мазком догори. Підсушувати потрібно обережно, не допускаючи перегрівання мазка, оскільки при цьому може відбуватися денатурація білків цитоплазми бактеріальних клітин, що порушить їх структуру і призведе до деформації клітин.

Фіксація. Дана операція має таку мету:

- забезпечити прикріплення клітин до скла і тим самим запобігти змиванню препарату;

- зробити мазок більш сприйнятливим до фарбування, оскільки мертві клітини зафарбовуються краще, ніж живі;

- зробити безпечною подальшу роботу з мазком, що особливо важливо, якщо досліджувані мікроорганізми є патогенними.

Найзручніший спосіб фіксації – термічний. Препарат тричі швидко проводять через гарячу частину полум'я спиртівки, тримаючи предметне скло мазком доверху. Не слід перегрівати мазок.

Фарбування. Фіксований мазок на 1-2 хв покривають розчином анілінового барвника (метиленового синього або фуксину). Слідкують, щоб при фарбуванні барвник на препараті не підсихав. При необхідності на мазок ще наносять порцію барвника. Після фарбування препарат промивають водою, доки вода, що стікає, не стане безбарвною. Потім препарат висують на повітрі або обережно промокають фільтрувальним папером.

У правильно зафарбованому і добре промитому препараті фон залишається чистим, а зафарбованими є лише клітини мікроорганізмів.

Фіксувати і зафарбовувати можна також і препарат «відбиток».

Розгляд фіксованих і зафарбованих препаратів під мікроскопом за допомогою імерсійної рідини. На сухий фіксований зафарбований препарат наносять краплину імерсійної оливи. Встановлюють об'єктив 90 і, дивлячись збоку, обережно опускають тубус мікроскопа до занурення об'єктива в оливу. Слідкують за тим, щоб фронтальна лінза об'єктива не доторкнулася до предметного скла. Потім, спостерігаючи в окуляр, макрогвинтом повільно піднімають тубус і фокусують об'єктив. Тонке фокусування проводять за допомогою мікрометричного гвинта.

Після закінчення дослідження піднімають тубус, знімають препарат і обережно протирають фронтальну лінзу об'єктива спочатку сухим бинтом, а потім змоченим у очищеному бензині або ксилолі.

Класифікація мікроорганізмів за їх формою.

За формою мікроорганізми поділяють на 3 основні групи: кулясті (коки), паличковидні, звивисті.

Залежно від площини поділу клітин і характеру їх взаєморозміщення серед коків виділяють:

- мікрококи – поділ клітин відбувається в одній площині. Після поділу клітини розміщуються поодинокі;

- стафілококи – поділ клітин відбувається в одній площині, але клітини утворюють неправильні скупчення у вигляді виноградного грона;

- диплококи – поділ клітин відбувається в одній площині і клітини розміщуються попарно;

- стрептококи – поділ клітин відбувається в одній площині, клітини утворюють ланцюжки різної довжини;

- тетракоки – поділ клітин відбувається у двох взаємоперпендикулярних площинах, клітини розміщуються у вигляді тетрад (по чотири);

- сарицини – поділ клітин відбувається у декількох взаємоперпендикулярних площинах, клітини утворюють пакети з 8, 16, 32 і т.д. штук,

Паличковидні мікроорганізми мають циліндричну форму тіла. Клітини відрізняються одна від одної довжиною, площею поперечного перерізу, співвідношенням цих величин, нерівномірним потовщенням. Дані мікроорганізми можуть розміщуватися як поодинокі, так і утворювати короткі чи довгі ланцюги. Паличковидні мікроорганізми, які здатні утворювати спори, називають бацилами, а не здатні до спороутворення – бактеріями.

Звивисті мікроорганізми відрізняються за ступенем зігнутоності клітин і за кількістю витків. Серед них виділяють:

- вібріони – це клітини, які мають вигляд коми або півмісяця;
- спірили – це клітини, які мають 4-6 витків;
- спірохети – це клітини, які мають 6-12 витків.

Хід роботи

1. Приготування препарату «роздавлена крапля».

На чисте сухе предметне скло нанести краплину розсолу квашеної капусти чи огірків (або краплину води, у яку додати невелику кількість дріжджів та розмішати), накрити покривним склом. Якщо досліджуються негусті суспензії середовищ на наявність мікробних клітин, то краплину води на предметне скло можна не наносити. Надлишок рідини з-під предметного скла слід видалити фільтрувальним папером.

2. Приготування препарату «висяча крапля».

Взяти предметне скло з заглибиною (лункою) у центрі і змастити вазеліном краї лунки. Далі, на чисте покривне скло нанести краплину розсолу квашеної капусти чи огірків (або інший досліджуваний матеріал), накрити предметним склом, швидко перевернути препарат. Крапля повинна вільно звисати, не торкаючись країв і дна лунки. Крапля стає герметизованою у вологій камері, що надає можливість спостерігати за препаратом навіть декілька днів.

3. Дослідження зубного нальоту під мікроскопом.

На предметне скло нанести краплину досліджуваної рідини, додати краплину барвника і приготувати препарат за методикою «роздавленої краплі». Розглянути мікроорганізми у живому стані та замалювати їх у лабораторний журнал.

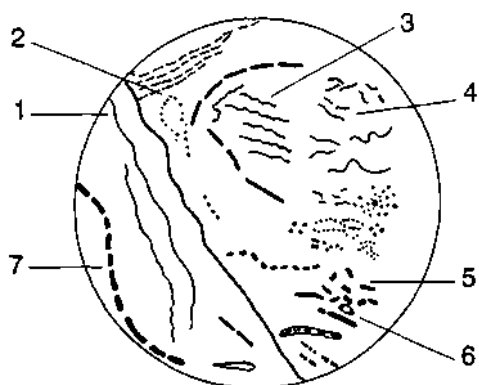


Рис. 1. Мікрофлора зубного нальоту: 1 – Leptothrix; 2 – Diplostreptococcus; 3 – Borrelia buccalis; 4 – Treponema microdentinum; 5 – Diplococcus; 6 – Borrelia fasiforme; 7 – Borrelia maximum buccalis.

4. Дослідження мікрофлори мулу водойми.

На предметне скло нанести краплину води, потім сірником взяти невелику кількість зубного нальоту, змішати з краплиною води і виготовити фіксований зафарбований препарат. Під мікроскопом розглянути різні форми мікроорганізмів.

Визначити морфологічні типи мікроорганізмів і замалювати їх форму в лабораторний журнал.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2 **Посів мікрофлори повітря, води та ґрунту**

Основні відомості

Будь-які мікробіологічні дослідження, а отже, виконання будь-якого лабораторно-практичного завдання, пов'язані з виготовленням поживного середовища для вирощування мікроорганізмів.

Поживні середовища необхідні для накопичення, виділення і збереження мікроорганізмів, а також для вирощування культур з метою дослідження їх обміну речовин або одержання цінних продуктів метаболізму. Середовище повинно включати всі компоненти, необхідні для конструктивних і енергетичних процесів клітини – джерела Карбону, Гідрогену, Оксигену, мінеральні елементи та мікроелементи. У мікробіологічній практиці використовують різні поживні середовища (як рідкі так і тверді).

Середовища для культивування за **складом** поділяють на три групи.

1. Природні середовища. Вони складаються з природних продуктів рослинного та тваринного походження. Це фруктові або овочеві соки, тваринні тканини, розбавлена кров, молоко, вода морів, озер і мінеральних джерел, а також відвари або екстракти м'яса, гною, ґрунту та частин рослин. На природних середовищах добре розвиваються більшість мікроорганізмів, оскільки у них містяться всі компоненти, що необхідні для росту і розвитку мікроорганізмів. Але ці середовища мають складний і непостійний хімічний склад і мало придатні для дослідження фізіології обміну речовин мікроорганізмів. Природні середовища використовують, головним чином, для підтримання культур мікроорганізмів, накопичення їх біомаси та з діагностичною метою.

2. Штучні середовища. Вони складаються з різних хімічних речовин із додаванням природних продуктів невизначеного складу. До таких середовищ належать м'ясо-пептонний бульйон, м'ясо-пептонний желатин, бобово-пептонний агар тощо.

3. Синтетичні середовища. Вони складаються з певних хімічних речовин, взятих у точно вказаних концентраціях (наприклад, середовище Ешбі). Вони найзручніші для дослідження обміну речовин мікроорганізмів.

За **призначенням** розрізняють елективні та диференціально-діагностичні (індикаторні) середовища.

Елективні середовища – це такі, що забезпечують розвиток переважно одного виду чи фізіологічної групи мікроорганізмів і менш придатні або, навіть, зовсім не придатні для розвитку інших груп мікроорганізмів. Ці середовища застосовують, головним чином, для виділення мікроорганізмів із місць їх природнього існування або для одержання накопичувальних культур.

Диференціально-діагностичні (індикаторні) середовища – це такі, що дозволяють досить швидко відрізнити одні види мікроорганізмів від інших. Склад цих середовищ підбирають з таким розрахунком, щоб він дозволив чітко виявити найхарактерніші властивості певного виду. Індикаторні середовища застосовують у клінічній бактеріології, при генетичних дослідженнях, а також для ідентифікації мікроорганізмів.

За **агрегатним станом** розрізняють рідкі, щільні та сипучі середовища.

Рідкі середовища застосовують для вивчення фізіолого-біохімічних особливостей мікроорганізмів, для накопичення біомаси або продуктів обміну, а також підтримання і зберігання багатьох мікроорганізмів, що погано розвиваються на щільних середовищах.

Щільні середовища використовують для виділення чистих культур (одержання ізольованих колоній) з діагностичною метою (встановлення морфології колоній, особливостей росту тощо), для зберігання культур, кількісного обліку мікроорганізмів тощо.

Сипучі середовища застосовують у промисловій мікробіології. До них належать, наприклад, розварене пшоно, висівки, кварцевий пісок, які просякнуті поживним розчином.

Хід роботи

1. Приготування м'ясо-пептонного агару (МПА).

Спочатку потрібно приготувати м'ясо-пептонний бульйон (МПБ). Для цього використовують яловичину, повністю очищену від кісток, плівок та жиру. М'ясо дрібно нарізають або пропускають через м'ясорубку, заливають водою (на 200 г м'яса - 400 г води) і залишають настоюватися на холоді протягом доби. Одержаний настій кип'ятять до освітлення бульйону, відфільтровують через чисту вату або марлю. Далі з розрахунку на 100 мл фільтрату додають 0,5 г NaCl, 1 г пептону та 2 г агар-агару. Суміш нагрівають до повного розчинення агар-агару.

Пептони – це суміш поліпептидів (продуктів неповного розкладання білку) з певним вмістом вільних амінокислот, ферментів, нуклеїнових кислот і деяких вітамінів.

Агар-агар – це складний полісахарид, який одержують із червоних водоростей. Він зручний тим, що більшість мікроорганізмів не використовують його як поживне середовище. У воді агар-агар утворює гелі, які зріджуються при 100 °С, а тверднуть при 40 °С. Тому на агаризованих середовищах можна культивувати мікроорганізми при оптимально придатній для їх росту температурі. МПА є універсальним щільним середовищем.

2. Посів мікрофлори повітря.

Для одержання стерильного посуду загортають його у папір і витримують 1,5-2 години у сушильній камері при 160 °С. У простерилізовані

чашки Петрі розливають охолоджений до 60 °С МПА. При цьому кришку чашки відкривають якнайменше. Верхню частину колби або пробірки з МПА при розливанні обпалюють над полум'ям спиртівки. Для одержання рівномірного шару середовища чашки розміщують на горизонтальній поверхні і переміщують по столу коловими рухами до застигання середовища.

У приміщення, що використане для аналізу мікрофлори повітря, чашки Петрі ставлять на горизонтальну поверхню і відкривають кришку на 10-15 хвилин. Дослідник при цьому повинен знаходитися від чашок Петрі на відстані не ближче 2-3 метрів. Потім чашки Петрі закривають кришкою, позначають дослід маркером, перевертають дном догори і поміщають в термостат при температурі 20 °С. Через 2-3 доби з окремих клітин мікроорганізмів, які осіли на поверхні МПА, утворяться колонії.

3. Посів мікрофлори води.

Для посіву мікрофлори води необхідно використовувати стерильний посуд. Пробу води збовтують і 1 мл розчину піпеткою виливають на дно чашки Петрі при цьому кришку відкривають якнайменше. Далі наливають розтопленій на водяній бані МПА, який перемішують з водою обертальними рухами чашки Петрі по поверхні столу. У результаті чого м'ясо-пептонний агар повинен рівномірно розподілитися по всьому дну чашки Петрі тонким шаром без пухирців повітря. Крім того, необхідно простежити, щоб МПА не потрапив на стінки чашки Петрі, оскільки для підрахунків кількості колоній таку чашку Петрі використовувати на можна. Після закінчення посіву закриті чашки Петрі поміщають на горизонтальну поверхню для застигання МПА. Через годину після цього чашки Петрі перевертають догори дном, дослід позначають маркером і розміщують у такому положенні в термостат при температурі 20 °С для утворення колоній мікроорганізмів. Розрахунки проводять через 7 діб.

4. Посів мікрофлори ґрунту.

Для посіву мікрофлори ґрунту необхідно використовувати стерильний посуд та інструменти. Для того, що взяти зразки ґрунту необхідно ножем, зняти його верхній шар на 1,5-2 см, який може бути забруднений сторонньою мікрофлорою, і відібрати 50-100 г ґрунту з нижнього шару у скляні колби, закриті ватно-марлевими пробками. Ґрунтові зразки бажано досліджувати у той же день, оскільки кількість мікроорганізмів у них може змінитися.

Для приготування ґрунтової суспензії відважити на технічних терезах 1 г ґрунту і розбавити послідовно в 100, 1000, 10 000, 100 000 разів у прокип'яченій дистильованій воді для одержання ґрунтової суспензії при розбавленні 1:100 000.

Розбавлення проводити таким чином: 1 г ґрунту внести у колбу з 99 мл прокип'яченої дистильованої води та перемішувати протягом 3 хвилин. Після відстоювання протягом 1,5 хв. піпеткою взяти 1 мл суспензії при розбавленні 1:100 і внести в пробірку № 1 з 9 мл прокип'яченої дистильованої води.

Після розмішування (1 хв.) та відстоювання (0,5 хв.) ґрунтової суспензії взяти 1 мл суспензії при розбавленні 1:1000 і внести в пробірку № 2 з 9 мл прокип'яченої дистильованої води. Далі 1 мл ґрунтової суспензії при

розбавленні 1:10 000 внести в пробірку № 3 (з 9 мл прокип'яченої дистильованої води) і одержати ґрунтову суспензію при розбавленні 1:100000.

Піпетки при кожній новій концентрації ґрунтової суспензії необхідно замінювати.

Набрати піпеткою 1 мл одержаної суспензії, внести у чашку Петрі, а далі дослід проводити аналогічно до посіву мікрофлори води.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

Аналіз посівів мікрофлори повітря, води та ґрунту

Хід роботи

1. Аналіз мікрофлори повітря.

Кількісний аналіз. Для кількісного аналізу мікроорганізмів потрібно підрахувати кількість колоній у чашці Петрі і розрахувати кількість мікроорганізмів у 1 м³ повітря.

Для цього необхідно:

- визначити площу чашки Петрі за формулою $S = \pi r^2$;
- вирахувати кількість колоній на площі 1 дм², що відповідає 100 см² (за пропорцією, враховуючи кількість колоній у чашці Петрі);
- перерахувати кількість бактерій на 1 м³ повітря. Розрахунки провести за формулою: $A = n \cdot 10000/S$, де n – кількість колоній в чашці Петрі, S – площа чашки Петрі. При цьому припустити, що кожна колонія виростає з 1 клітини або спори.

Якісний аналіз. Описати окремі колонії мікроорганізмів. Для цього обрати одну з них, покласти чашку Петрі дном догори на столик мікроскопа і розглянути при малому збільшенні. Описати колонію за такими ознаками:

- форма колонії (округла, овальна, ниркоподібна, сплющена, ризоїдна, амебоподібна, ниткоподібна, складчаста, неправильна, концентрична, складна);
- профіль колонії (зігнутий, катероподібний, горбкуватий, врослий в субстрат, плескатий, опуклий, краплеподібний, конусоподібний);
- край колонії (гладенький, хвилястий, зубчастий, лопатевий, неправильний, війчастий, нитчастий, ворсинчастий, галузистий);
- структура колонії (однорідна, дрібнозерниста, крупнозерниста, струминчаста, волокниста);
- колір колонії;
- блиск колонії (блискуча, матова, прозора);
- центр колонії (є або відсутній);
- поверхня колонії (плоска, опукла, увігнута, складчаста, зерниста).

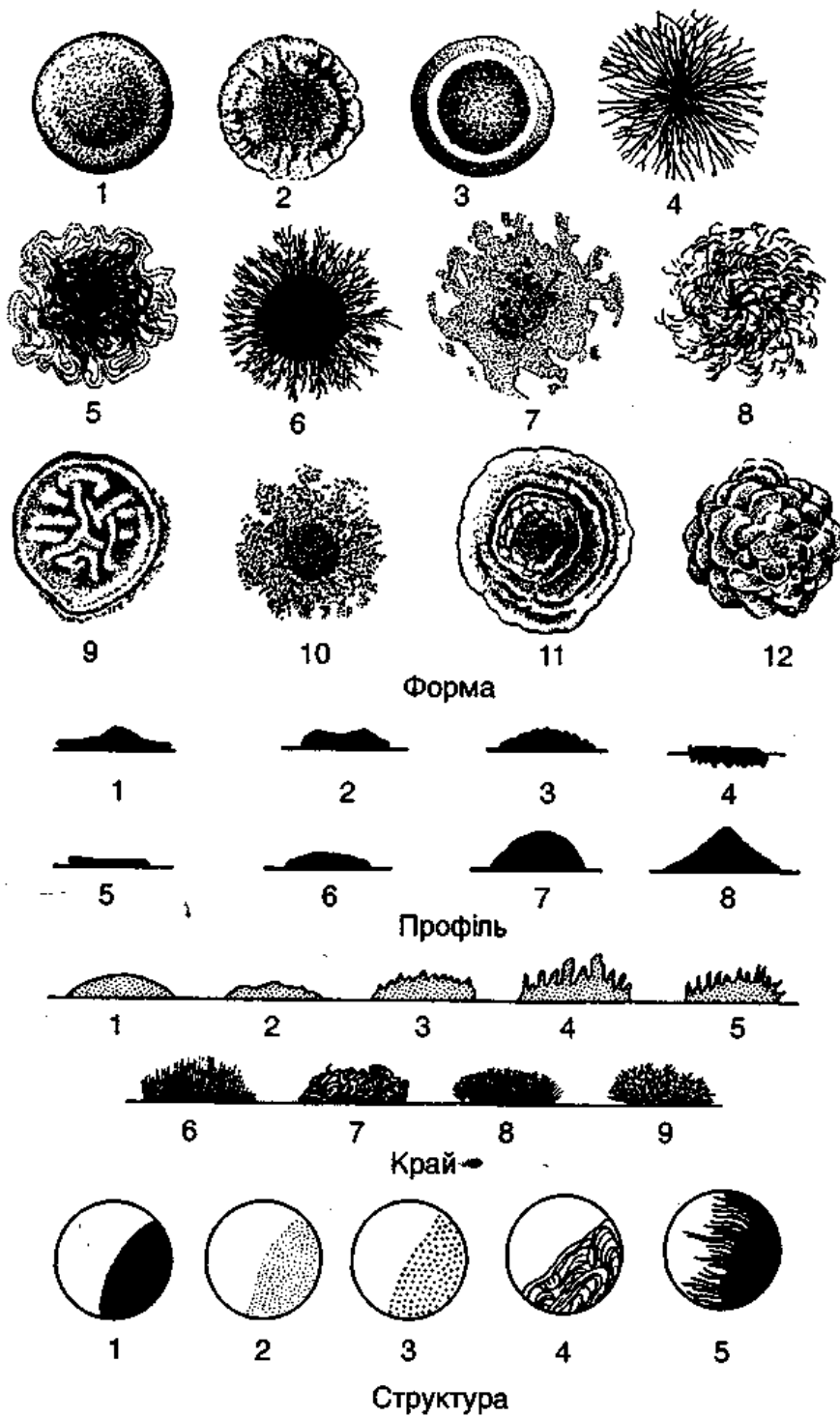


Рис. 2. Характеристика колоній мікроорганізмів

Форма колонії: 1 – округла; 2 – округла з фестончастим краєм; 3 – округла з валиком; 4, 5 – ризоїдна; 6 – з ризоїдним краєм; 7 – амебоподібна; 8 – ниткоподібна; 9 – складчаста; 10 – неправильна, 11 – концентрична; 12 – складна.

Профіль колонії: 1 – зігнутий; 2 – катероподібний; 3 – горбкуватий; 4 – врослий в субстрат; 5 – плескатий; 6 – опуклий; 7 – краплеподібний; 8 – конусоподібний).

Край колонії: 1 – гладенький; 2 – хвилястий; 3 – зубчастий; 4 – лопатевий; 5 – неправильний; 6 – війчастий; 7 – нитчастий; 8 – ворсинчастий; 9 – галузистий.

Структура колонії: 1 – однорідна; 2 – дрібнозерниста; 3 – крупнозерниста; 4 – струминчаста; 5 – волокниста.

З описаної колонії, приготувати мікропрепарати: «роздавлена крапля» або «висяча крапля» та фіксований зафарбований мазок.

Розглядаючи препарати, відмітити форму клітин, їх рухливість, наявність або відсутність спор. Дослідження повторити і на інших колоніях.

Результати роботи занотувати в лабораторний журнал.

2. Аналіз мікрофлори води.

Підрахувати кількість колоній у чашці Петрі, що становитиме кількість мікроорганізмів у 1 мл води.

Ступінь забрудненості водойм органічними речовинами і наявність у них мікроорганізмів відповідають певним зонам сапробності. Розрізняють три зони сапробності води:

- олігосапробна зона – зона, в 1 мл води якої міститься не більше 1 тис. клітин бактерій;

- мезосапробна зона включає (α -підзону (в 1 мл води міститься від 1 тис. до 100 тис. бактерій) та β -підзону (в 1 мл води міститься від 100 тис. до 1 млн. бактерій);

- полісапробна зона – зона, в 1 мл води якої міститься більше 1 млн. бактерій.

Визначити зону сапробності досліджуваної води. Результати роботи занотувати в лабораторний зошит.

3. Аналіз мікрофлори ґрунту.

Якщо, поживне середовище прозоре, підрахунки провести із дна чашки Петрі. Для зручності даного підрахунку тильну сторону дна чашки Петрі по склу розділити на сектори. Обліковані колонії відмічати крапками на склі. Якщо середовище непрозоре – підрахунки провести безпосередньо з поверхні агару. Для підрахунків дрібних колоній можна скористатися лупою.

Підрахувавши кількість колоній, визначити кількість мікроорганізмів у 1 г повітряно-сухого ґрунту за формулою:

$$A = B \cdot 100\,000,$$

де А – кількість клітин мікроорганізмів у 1 г повітряно-сухого ґрунту;

Б – кількість колоній у чашці Петрі;

100 000 – відповідне розбавлення.

Результати роботи занотувати у лабораторний зошит.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

Перетворення мікроорганізмами сполук Карбону (виращування бактерій різних типів бродіння)

Основні відомості

Бродіння – еволюційно найдавніший та примітивний спосіб одержання енергії. Найрозповсюдженішими типами бродіння є спиртове, молочнокисле, маслянокисле, оцтовокисле та бродіння пектинових речовин.

Спиртове бродіння. Збудники даного типу бродіння дуже поширені в природі (дріжджеві гриби родів *Forula*, *Microderma*, цвільові гриби родів *Micor*, деякі бактерії). У культурних дріжджів роду *Saccharomyces* процес бродіння більш інтенсивніший.

Сумарно процес бродіння можна виразити таким рівнянням:



Молочнокисле бродіння. Молочнокисле бродіння – це анаеробний процес розкладання вуглеводів ферментами молочнокислих бактерій з утворенням молочної кислоти та деяких інших продуктів. Розрізняють гомоферментативне молочнокисле бродіння, при якому молочний цукор утворює лише молочну кислоту:



При гетероферментативному молочнокислому бродінні, крім молочної кислоти, утворюються інші продукти (летючі кислоти, спирти, естери).

Збудники гомоферментативного молочнокислого бродіння: *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacterium bulgaricum* (болгарська паличка), *Lactobacterium acidophilum* (ацидофільна паличка), *Lactobacterium cucumeris* (огіркова паличка).

Збудники гетероферментативного молочнокислого бродіння: *Lactobacterium brassica* (капустяна паличка), *Betabacterium breve*, *Leuconostos mesenteroides* тощо.

Молочнокислі бактерії досить поширені в природі. Вони завжди є в ґрунті, на поверхні рослин і тому постійно з'являються в молочних та інших продуктах.

Маслянокисле бродіння. Маслянокисле бродіння – це складний процес перетворення вуглеводів до масляної кислоти та інших речовин:



Даний процес характерний для групи анаеробних спороносних бактерій. Представником збудників маслянокислого бродіння є *Clostridium pasterianum*.

Оцтовокисле бродіння. Даний тип бродіння має аеробний характер, на відміну від інших видів бродіння. Він притаманний групі бактерій, які є облигатними аеробами. Будь-яке середовище, що містить невелику кількість спирту і не ізольоване від атмосфери, є сприятливим субстратом для розвитку оцтовокислих бактерій, які потрапляють до нього з повітря. Представниками оцтовокислих бактерій є *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasterianum*, *Acetobacter xylinum*, *Acetobacterium kutzianum* тощо.

Бродіння пектинових речовин. Пектинові речовини складають основу серединних пластинок, що склеюють клітини в тканинах. Розрізняють 3 типи пектинових речовин:

- пектинова кислота – ланцюжки з 5–100 залишків галактуранової кислоти, що утворюються при окисненні гексоз;
- пектин – ланцюжки галактуранової кислоти, деякі карбоксильні групи якої метильовані;
- протопектин – декілька ланцюжків пектинової кислоти, які сполучені кальцієм.

Процес руйнування пектинових речовин відбувається у результаті ферментативного гідролізу, що спричиняється бактеріями, грибами та актиноміцетами. Вуглеводи, що утворюються в анаеробних умовах зброджуються за типом маслянокислого бродіння.

Пектинове бродіння лежить в основі промислового одержання волокна із технічних культур – льону, конопель, джгута, кенафа. Найактивніше бродіння пектинових речовин спричиняють бактерії роду *Clostridium*.

Хід роботи

1. Вирощування культури бактерій спиртового бродіння.

У колбу об'ємом 200-250 мл налити 50 мл 10% розчину цукру і додати 10 г дріжджів. Колбу закрити ватним тампоном. На наступному занятті провести реакцію на виявлення спирту.

2. Вирощування культури бактерій маслянокислого бродіння.

Розвиток маслянокислих бактерій можна одержати на картопляному середовищі. Для цього чисту неочищену бульбу картоплі нарізати, дрібними шматочками, помістити у колбу на 1/3 об'єму, додати 0,5 г крейди, залити майже доверху водою, закрити ватною пробкою і поставити у термостат при 30-35 °С. Через 2-3 доби в рідині можна виявити бактерії маслянокислого бродіння, серед яких переважає *Clostridium pasterianum*.

3. Вирощування культури бактерій оцтовокислого бродіння.

Для вирощування оцтовокислих бактерій у конічну колбу налити тонкий шар пива (0,5-1 см). Товщина шару пива має велике значення, оскільки для оцтовокислих бактерій потрібно створити аеробні умови. До пива додати 0,5 мл етилового спирту, закрити колбу пробкою і поставити в термостат при температурі 30-35 °С на декілька діб.

Через декілька діб на поверхні середовища розвиваються оцтовокислі бактерії:

- *Acetobacter aceti* – коротка нерухома паличкоподібна бактерія, що не утворює спор. Її клітини утворюють ланцюжки. Під дією йоду клітини набувають жовтого кольору. При інтенсивному розмноженні бактерії утворюють слизову плівку на поверхні пива, яка не заповзає на стінки колби;

- *Acetobacter pasterianum* – це бактерії, які морфологічно близькі до попередніх, але під дією йоду забарвлюються в синій колір. Вони утворюють суху зморшкувату плівку;

- *Acetobacter xylinum* – це бактерії, які на середовищі утворюють грубу зморшкувату товсту плівку. Під дією йоду клітини набувають синього

кольору. Оцтову кислоту, що утворюється, окиснюють до вуглекислого газу і води. Ці бактерії є компонентом «чайного гриба», який вирощують у побуті для одержання охолоджувального напою;

- *Acetobacterium kutzinianum* – це бактерії, які утворюють плівку, що заповзає на стінки колби. Під дією йоду клітини бактерій забарвлюються у синій колір.

4. Вирощування культури бактерій бродіння пектинових речовин.

Для вирощування пектиноруйнуючих бактерій використовують льняне середовище. 10-20 стебел льону довжиною 5-7 см і потрібно зв'язати нитками у маленькі снопики. Покласти їх у велику колбу, залити водою і кип'ятити 10-15 хв (для видалення екстрактивних речовин, що можуть бути джерелом Карбону для супутніх маслянокислих бактерій). Воду злити, снопики залити новою порцією води, закрити колбу ватною пробкою і поставити у термостат при 30-35 °С.

Через 4-5 діб у колбі почнеться процес пектинового бродіння, рідина помутніє і почне пінитись. Газу, що виділяються, піднімають снопики на поверхню середовища.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

Перетворення мікроорганізмами сполук Карбону (дослідження різних типів бродіння)

Хід роботи

1. Реакція на виявлення спирту при спиртовому бродінні.

У пробірку налити 10 мл рідини культури спиртових бактерій, додати 1-2 мл 10% розчину NaOH і підігріти на спиртівці, не доводячи до кипіння. Потім вкинути декілька кристаликів йоду і продовжити нагрівання. При наявності спирту випадає осад йодоформу згідно рівняння:



Йодоформ можна визначити за характерним запахом.

2. Дослідження культури бактерій молочнокислого бродіння.

Приготувати фіксований зафарбований препарат культури бактерій молочнокислого бродіння, використавши кисле молоко, кефір, розсіл квашеної капусти або огірків. Розглянути фіксовані мікроорганізми через імерсійну систему мікроскопа.

Результати досліджень занотувати в лабораторний журнал.

3. Дослідження культури бактерій маслянокислого бродіння.

Краплину рідини культури маслянокислих бактерій розмістити на предметне скло і додати до неї краплину йоду в калій йодиді. Йод зафарбовує крохмалоподібну речовину гранульозу мікроорганізмів. Це допомагає розпізнати мікроорганізми. Спори ж бактерій на препараті лишаються не зафарбованими.

Провести якісну реакцію на масляну кислоту, використовуючи культуральну рідину. Для цього до 5 мл рідини додати 2 мл 5% ферум (III) хлориду. При нагріванні утворюється ферум маслянокислий коричневого кольору.

Результати досліджень занотувати в лабораторний журнал.

4. Дослідження культури бактерій оцтовокислого бродіння.

Розглянути колбу з культурою оцтовокислих бактерій, описати характер плівки, що утворилася. Виготовити прижиттєві та фіксовані мікропрепарати бактерій, розглянути їх з використанням різних збільшень мікроскопа.

Провести якісну реакцію на ацетатну кислоту. Для цього в пробірку налити 5 мл культуральної рідини, нейтралізувати її 10% розчином соди і додати невелику кількість розчину ферум (III) хлориду (довільної концентрації). Суміш нагріти. При наявності ацетатної кислоти з'явиться червоне забарвлення, внаслідок утворення ферум ацетату.

Результати досліджень занотувати в лабораторний журнал.

5. Дослідження культури бактерій бродіння пектинових речовин.

Для вивчення морфології бактерій пектинового бродіння приготувати прижиттєві препарати. Снопик соломи льону витягнути з колби, видавити краплину рідини на предметне скло, додати краплину йоду в калій йодиді, накрити покривним склом і розглянути під мікроскопом бактеріальні клітини зі спорами на кінцях. Під дією йоду клітини набувають синього забарвлення.

Результати досліджень занотувати в лабораторний журнал.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

Перетворення мікроорганізмами азотистих сполук (приготування культур мікроорганізмів)

Основні відомості

Амоніфікація – це процес розкладання речовин з виділенням аміаку, що спричиняється бактеріями, грибами, актиноміцетами. Цей процес відбувається як в аеробних, так і в анаеробних умовах.

В аеробних умовах амоніфікація білку починається з його гідролізу під дією протеолітичних ферментів, які виділяють мікроорганізми, з послідовним утворенням пептонів, поліпептидів, дипептидів та амінокислот. Деякі амінокислоти шляхом дезамінування руйнуються з утворенням аміаку і різних органічних сполук. Основними кінцевими продуктами аеробної мінералізації білку є аміак, вуглекислий газ, вода, солі сульфатної та фосфатної кислот.

При руйнуванні білка в анаеробних умовах, крім аміаку і вуглекислого газу, накопичуються різні органічні сполуки: органічні кислоти, спирти, сірководень та його похідні, токсичні сполуки (наприклад, діаміни: кадаверин, путресцин, агматин тощо, а також індол і скатол, які спричиняють неприємний запах).

При вирощуванні культури амоніфікуючих бактерій на поверхні м'ясопептонного агару розвиваються такі основні колонії мікроорганізмів:

- *Baccillus mesenterius* – це бактерії, клітини яких паличкоподібні, рухливі, часто об'єднуються у ланцюжки. Дані мікроорганізми в будь якій частині клітини можуть утворювати овальні спори;

- *Baccillus mycoides*, *Baccillus subtilis*, *Baccillus cereus* – це бактерії, клітини яких також паличкоподібні, рухливі, розміщуються поодинокі або об'єднані в ланцюжки. Дані мікроорганізми утворюють овальні спори, які в клітині розміщуються ексцентральні.

Крім бацил, на поверхні середовища розвиваються колонії інших бактерій:

- *Pseudomonas fluorescens* – бактерії, клітини яких мають вигляд дрібних рухливих паличок;

- *Proteus vulgaris* – бактерії, клітини яких у молодому віці дрібні і рухомі, а на подальших етапах розвитку культури виникають ниткоподібні форми клітин.

Нітрифікація – це окиснення аміаку до нітратної кислоти, у процесі якого мікроорганізми одержують енергію для своєї життєдіяльності. Окиснення супроводжується асиміляцією вуглекислого газу.

Процес нітрифікації спричиняють дві групи нітрифікуючих бактерій. Він відбувається в дві фази.

Перша фаза полягає в окисненні аміаку або солей амонію до нітритів. Вона здійснюється нітрозними бактеріями родів *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*, *Nitrospira*.

Друга фаза полягає в окисненні нітритів до нітратів і здійснюється за участю нітратних бактерій родів *Nitrosobacter*, *Nitrospina*, *Nitrosococcus*:

Усі нітрифікуючі бактерії є облигатними аеробами, більшість з яких хемолітоавтотрофи. Вони живуть в усіх типах ґрунтів, а також у морській і прісній водах.

Поповнення запасів Нітрогену в ґрунті відбувається за рахунок *фіксації молекулярного азоту повітря* мікроорганізмами. Найактивнішими вільноживучими в ґрунті азотофіксаторами є бактерії роду *Azotobacter* та бактерії маслянокислого бродіння – *Clostridium pasteurianum*.

Azotobacter – облигатні аероби, для яких джерелом Нітрогену є молекулярний азот повітря, а Карбону – органічні кислоти, вуглеводи, спирти.

В анаеробних умовах фіксацію молекулярного азоту проводить *Clostridium pasteurianum*, для якого джерелом Карбону є вуглеводи та органічні кислоти.

Фіксують молекулярний азот повітря і симбіотичні бульбочкові бактерії роду *Rhizobium*. Вони живуть у симбіозі з кореневою системою бобових рослин. Форма і розміри бульбочкових бактерій змінюються в залежності від стадії їх розвитку. У молодому віці це короткі рухливі палички, з часом вони втрачають рухливість і переходять в стадію, так званих, оперізувальних паличок. При старінні вони переходять у стадію бактероїдів, клітини яких галузяться.

Хід роботи

1. Приготування культури амоніфікуючих бактерій.

Для приготування культури амоніфікуючих бактерій у колбу наливають 30-50 мл м'ясо-пептонного бульйону (МПБ) і додають 3% пептону. Потім в колбу опускають грудочку ґрунту і, закривши ватною пробкою, поміщають в термостат при температурі 25-30 °С на 7 діб.

Для виявлення аміаку під пробку підвішують смужечку червоного лакмусового папірця та смужечку фільтрувального папірця, змоченого розчином плюмбум ацетату.

2. Приготування культури нітрифікуючих бактерій.

Культуру нітрифікуючих бактерій одержують на поживному середовищі С.М.Виноградського.

Склад середовища для першої фази нітрифікації (в г на 100 мл дистильованої води): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,2 г, K_2HPO_4 – 0,1 г, MgSO_4 – 0,05 г, NaCl – 0,2 г, FeSO_4 – 0,04 г та CaCO_3 – 0,5 г.

Відважити вказані кількості солей, висипати в колбу і залити 100 мл дистильованої води. Вміст колби перемішати, внести грудочку парникового ґрунту, закрити ватною пробкою і поставити в термостат при температурі 25-30 °С на 15 діб.

Склад середовища для другої фази нітрифікації (в г на 100 мл дистильованої води): NaNO_2 – 0,1 г, Na_2CO_3 – 0,1 г, K_2HPO_4 – 0,05 г, MgSO_4 – 0,05 г, NaCl – 0,05 г та FeSO_4 – 0,04 г.

Приготування культури бактерій провести як і для першої фази нітрифікації.

3. Приготування культури азотобактеру.

Перемішати ґрунт і маніт у співвідношенні 100:1, змочити водою до кашоподібної маси. Після цього суміш перенести в дві чашки Петрі, розмістивши рівним тонким шаром, загладивши поверхню. Чашки Петрі помістити в термостат при температурі 25-30 °С на 2-3 доби.

4. Приготування культури вільноживучих азотфіксаторів.

Для приготування використати поживне середовище Ешбі. Склад середовища (в г на 100 мл дистильованої води): сахароза – 2 г, K_2HPO_4 – 0,02 г, MgSO_4 – 0,02 г, NaCl – 0,02 г, K_2SO_4 – 0,01 г та CaCO_3 – 0,05 г.

Відважити вказані кількості солей і залити 100 мл дистильованої води. Середовище залити в колбу шаром 1-1,5 см, додати грудочку ґрунту. Колбу закрити ватною пробкою і помістити у термостат при температурі 25-30 °С на 10-14 діб.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

Перетворення мікроорганізмами азотистих сполук (дослідження культур мікроорганізмів)

Хід роботи

1. Дослідження культури амоніфікуючих бактерій.

Наявність амоніфікуючих бактерій виявляють за виділенням сірководню та аміаку. Посиніння червоного лакмусового папірця та почорніння фільтрувального папірця, змоченого розчином плюмбум ацетату, свідчать про виділення вказаних газів.

Приготувати фіксовані зафарбовані мікропрепарати амоніфікуючих бактерій, розглянути під мікроскопом та замалювати.

Результати досліджень занотувати в лабораторний журнал.

2. Дослідження культури нітрифікуючих бактерій.

У колбі з середовищем для першої фази нітрифікації перевірити наявність аміаку реактивом Неслера і азотистої кислоти дією цинк-йод-крохмалю. Реакції можна проводити на предметних скельцях із заглибинами. Для проби на аміак у заглибину внести декілька краплин реактиву Неслера і додати краплину культуральної рідини. При наявності аміаку блідорожевий колір реактиву зміниться на жовтогарячий чи коричнево-червоний.

Пробу на нітритну кислоту проводити за такою методикою: у заглибину предметного скла внести 3-4 краплі цинк-йод-крохмалю, одну краплину 20% розчину H_2SO_4 і додати краплину культуральної рідини.

У колбі з середовищем другої фази нітрифікації перевірити наявність нітратної кислоти реакцією з дифеніламіном. Нітритна кислота з дифеніламіном дає таку ж реакцію, як і нітритна. Тому, беручи всі проби на присутність нітратної кислоти з розчином цинк-йод-крохмалю, спочатку потрібно прокип'ятити культуральну рідину з декількома мл 10% NH_4Cl для видалення нітритної кислоти, а потім провести реакцію з дифеніламіном. Для цього в заглибину предметного скла внести 3-4 краплі концентрованої сульфатної кислоти і помістити декілька краплин дифеніламіну. Коли дифеніламін розчиниться, внести одну краплину культуральної рідини. У присутності нітратної кислоти рідина забарвиться в синьо-фіолетовий колір з переходом до темно-синьої хмари.

3. Дослідження культур азотфіксуючих бактерій.

Зі слизових колоній азотобактеру, що утворилися на поверхні ґрунтових пластинок, приготувати фіксовані зафарбовані препарати. Розглянути під мікроскопом і замалювати в лабораторний журнал різні види *Asotobacter*:

- *Asotobacter chroococcum* – бактерії з паличкоподібними клітинами;
- *Asotobacter agili* – бактерії з кулястими або злегка овальними клітинами.

Приготувати фіксовані зафарбовані препарати вільноживучих азотфіксаторів із:

- коричнево-бурої плівки, що утворюється на поверхні середовища – бактерії роду *Asotobacter*;

- рідини середовища – бактерії роду *Clostridium*.

Одержані препарати розглянути під мікроскопом і замалювати бактерії в лабораторний журнал.

4. Дослідження культури бульбочкових бактерій.

Для дослідження можна використати фіксовані корені з бульбочками бобових рослин (люпину, конюшини, гороху). Бульбочки розрізати гострим лезом і видавити краплину рідини на предметне скло. Краплину розвести дистильованою водою і виготовити фіксований зафарбований мікропрепарат. Розглянути його під мікроскопом. Звернути увагу на різну форму та розміри бульбочкових бактерій: дрібні палички, оперізувальні палички та бактероїд. Результати спостережень замалювати в лабораторний журнал. За переважанням тієї чи іншої форми визначити вік бульбочкових бактерій та фазу розвитку бобової рослини.

Результати досліджень занотувати в лабораторний журнал.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

Дослідження мікрофлори тіла людини

Основні відомості

До складу мікрофлори тіла людини належать такі найпоширеніші представники мікросвіту: *Sarcina*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* (шкіра), *Neisseria*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Spirillum*, *Spirochaeta* (ротова порожнина), *Staphylococcus*, *Pneumococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* (дихальні шляхи), *Sarcina*, *St. faecalis*, *Bacteroides*, *Escherichia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium perfringens*, *Candida* (шлунково-кишковий тракт) та багато інших.

Ознайомлення з мікрофлорою тіла людини має дуже важливе значення, оскільки порушення санітарно-гігієнічного режиму є причиною різних важких захворювань, особливо шлунково-кишкових (дифтерія, холера та інші).

Мікрофлору тіла людини можна визначати різними методами. Для цього роблять посіви з пальців рук, зіву, випорожнень тощо.

Хід роботи

Розплавлене на водяній бані поживне середовище з пробірок виливають у стерильні чашки Петрі, які залишають на 5 хв для застигання. Найпростіший посів здійснюється доторканням пальців до поверхні поживного середовища (утворення так званих «відбитків»). Частіше посів на поверхні середовища проводять за допомогою бактеріологічної петлі зі змиву рук. Щоб отримати змив, пінцетом беруть стерильний ватний тампон, змочують його в 0,85 %-му розчині NaCl і протирають шкіру між пальцями, нігті тощо. Після цього тампон кладуть у пробірку зі стерильним глюкозо-пептонним середовищем і перемішують деякий час, обережно обертаючи пробірку між долонями.

Засіяні чашки Петрі розміщують у термостаті при температурі 37 °С на 24 год. Виймають чашки і витримують їх протягом 2-3 днів при кімнатній температурі. За цей час утворюються колонії сарцин, стафілококів, різних пігментних бактерій, цвілевих і дріжджових грибів тощо. З метою ідентифікації найпоширеніших мікроорганізмів вивчають їхні культуральні, морфологічні та інші властивості.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9

Мікробіологічний контроль хлібобулочних виробів

Основні відомості

Санітарно-мікробіологічний контроль об'єктів довкілля і особливо продуктів харчування людини є одним із найважливіших завдань державного санітарного нагляду. Він проводиться з метою профілактики інфекційних захворювань людини, насамперед мікробної природи, адже різні об'єкти довкілля – вода, ґрунт, повітря, одяг, посуд, харчові продукти тощо, забруднені збудниками інфекції, можуть спричинити виникнення спалахів дифтерії, холери, сальмонельозних токсикоінфекцій, сифілісу та інших важких захворювань.

Кількість патогенних мікроорганізмів у довкіллі не є сталою, їх значно менше, ніж сапрофітних. Тому вчені вимушені шукати об'єктивні показники зараження довкілля хвороботворними мікробами. Такими індикаторами забруднення вважаються санітарно-показові мікроорганізми – представники нормальної мікрофлори організму людини і тварин, які виділяються з екскрементами в зовнішнє середовище.

У довкілля можуть потрапляти патогенні мікроби, епідеміологічно пов'язані з відповідними виділеннями. Тому наявність санітарно-показового мікроорганізму побічно вказує на вірогідність наявності збудника інфекції.

До санітарно-показових мікроорганізмів відносять кишкову паличку, клостридій перфрінгенс, ентерококи, картопляну паличку, протеї, паличку синього гною, кишковий бактеріофаг. При санітарній оцінці повітря такими бактеріями-індикаторами є гемолітичні стрептококи, стафілококи тощо. У випадку загрози виникнення епідемії інфекційного захворювання проводяться спеціальні мікробіологічні дослідження для виявлення збудника інфекції.

У навчальних лабораторіях оцінюють санітарний стан повітря, води, ґрунту та інших об'єктів за двома основними бактеріологічними показниками: загальній кількості мікроорганізмів на одиницю об'єму або площі, а також за наявністю у середовищі санітарно-показових мікробів.

У хлібопекарному виробництві мікроорганізми мають важливе значення. Наприклад, такі мікроби, як дріжджі та молочнокислі бактерії, спеціально використовуються для виготовлення тіста. Інші види мікроорганізмів, які потрапляють у сировину із зовнішнього середовища, можуть знижувати

якість сировини, викликати псування готової продукції і бути причиною харчових отруєнь.

Сировина, яка використовується в хлібопеченні, завжди буває засіяна мікробами. Так, мікрофлора борошна походить переважно від мікрофлори зерна. Кількісний і якісний склад мікроорганізмів борошна залежить від ступеня зараженості зерна, способу його розмелювання та очистки. Загальна кількість мікробів у 1 г борошна може доходити до 3 млн. Проте ця цифра міняється залежно від вмісту вологи, тривалості зберігання тощо.

Якість борошна значною мірою визначає вміст у ній неспорозносних *Erwina herbicola* і спорозносних *Bacillus mesentericus* та *Bacillus subtilis* мікробів. Картопляна і сінна палички є найпоширенішими збудниками мікробного процесу псування хліба, хвороби, яку ще називають картопляною. Спори цих бактерій дуже термостійкі, завдяки чому вони зберігаються в хлібі під час його випікання. При повільному охолодженні такого хліба, створюються сприятливі умови для проростання спор, що спричинює в ньому гнильні процеси. У цьому випадку м'якуш хліба стає липким і набуває неприємного запаху. Такий хліб не придатний для споживання. Картопляна хвороба найчастіше вражає пшеничний хліб влітку. Пшеничний і житній хліб часто уражується також і так званою крейдянною хворобою, при якій на м'якуші хліба з'являється білий мучнистий наліт. Це міцелій цвілевих грибів і дріжджеподібних мікроорганізмів.

Хід роботи

Для виявлення спор картопляної і сінної паличок розводять досліджуване борошно (від 1:102 до 1:105) у простерилізованій водогінній воді. Суміш старанно збовтують і нагрівають при температурі 95-97 °С протягом 10 хв. При цьому вегетативні клітини бактерій гинуть, а спори залишаються живими. 1 мл розведеного борошна висівають у МПА, і засіяні чашки Петрі розміщують у термостаті при температурі 37 °С на 1-2 доби.

По закінченні інкубації оцінюють якість борошна. Для цього вивчають морфологічні й культуральні властивості мікроорганізмів, які виростили на агарових пластинках, та, користуючись альбомами-визначниками, виявляють серед них картопляну і сінну палички. Підраховують кількість колоній цих спорозносних бактерій (при цьому беруть до уваги, що кожна колонія утворилася з однієї спори) і визначають кількість спор у 1 г борошна (число колоній множать на розведення борошна).

При наявності в 1 г борошна до 200 спор якість його вважається нормальною, якщо кількість спор є в межах від 200 до 1000 – сумнівною, а понад 1000 – таке борошно непридатне для використання.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10

Бактеріологічний аналіз молока

Основні відомості

Молоко є найпоширенішим продуктом харчування людини. В ньому містяться білки, амінокислоти, вуглеводи, молочний жир, вітаміни А, С, D, групи В, Е, РР та збалансований склад мінеральних речовин тощо.

Молоко – 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 спричинити 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.

Хід роботи

Проби молока для мікробіологічних досліджень відбирають, керуючись в основному вимогами ГОСТу 9225-68. Об'єм проби молока повинен бути не меншим за 50 мл. Посуд, в який відбирають пробу, має бути стерильним. Пробу молока необхідно досліджувати одразу 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 (метод Бріда). Для цього готують мазок молока, фіксують його, фарбують і вивчають під мікроскопом.

Існує шкала оцінки 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 пробю 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, 2 год 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 молока (див. табл. «Визначення класу молока»).

Таблиця

Визначення класу молока

Показник	Клас			
	I	II	III	IV
Час, затрачений на знебарвлення, год	1/2	1/2	1/3	1/3
Кількість мікробів в 1 мл молока, млн	~ 0,5	0,5-4	4-20	>20
Якість молока	Добра	Задовільна	Сумнівна	Незадовільна

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 11 Мікробіологічне дослідження м'яса

Основні відомості

У 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 із 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 аналізу.

Якщо м'ясо зберігається при температурі, яка сприяє розвитку 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 почи-

нають 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.

Цвілеві гриби утворюють на м'ясі осередки зараження у вигляді плям різного кольору: зелені, бурі, темно-брунатні, чорні тощо. Вони спричинюють підвищення рН м'яса, що сприяє розвиткові гнильних бактерій.

Санітарний і санітарно-бактеріологічний контроль м'яса і м'ясних продуктів здійснюється ветеринарними та медичними установами. У 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'яса в мазку-відбитку, а також визначення загальної кількості (мікробного числа) мікробів у м'ясі шляхом підрахунку колоній, які виростили на твердому поживному середовищі.

Хід роботи

Виготовлення мазків-відбитків для мікроскопічного дослідження м'яса. Стерильними ножицями або скальпелем з поверхні та з середини зразка вирізують шматочки м'яса завбільшки 2,0-2,5 см. Для виготовлення мазків-відбитків шматочки зрізаною стороною притискають 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 зразка, в 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 мікроскопування визначають середню кількість мікробів у 20-30 полях зору і результати зіставляють з даними таблиці.

Таблиця

Ознаки свіжості м'яса

Якість м'яса	Дані мікроскопування
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.

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 температурі 37 °С на дві доби. По закінченні інкубації підраховують кількість колоній, які виростили на поживному середовищі, та перераховують їх на 1 г м'яса, враховуючи розведення.

Порівнюючи результати мікробіологічних досліджень з даними, наведеними в таблиці «Ознаки свіжості м'яса», можна приблизно визначити ступінь свіжості м'яса.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 12

Санітарно-мікробіологічний контроль у закладах методом змивів

Основні відомості

У 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, інвентаря, одягу, рук персоналу.

Основними тестами мікробної забрудненості предметів є загальна кількість мікроорганізмів на одиницю поверхні досліджуваного предмета (мікробне число) і наявність на предметах санітарно-показникових мікроорганізмів *E. coli* і *C. perfringens*, як показників фекального забруднення.

Хід роботи

Основним методом відбору 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 зі стерильною водою. Обережно збовтують суміш для десорбції мікроорганізмів і одержану суспензію використовують для аналізу. У 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 визна-

чають за методом Коха і виражають на одиницю поверхні досліджуваного об'єкта, найчастіше на 1 см².

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:

$$M = n \cdot 10 / S$$

де M – мікробне число; n – кількість мікроорганізмів, які містяться в 1 мл вихідного розведення змиву (для визначення цієї кількості число колоній, які виростили на МПА в чашках, перераховують з огляду на розведення); 10 – кількість рідини, яка використовувалася для десорбції мікрофлори, мл; S – площа, з якої зроблено змив, см².

Санітарний стан поверхні досліджуваного об'єкта вважається дуже добрим, якщо загальна кількість мікробів на 1 см² складає не більше 100, добрим – якщо їх від 100 до 1000, задовільним – якщо мікробів 1000, поганим – якщо їх більше 10000.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балаклієць Н. І., Циганенко А. Я., Мінухін В. В. Загальна мікробіологія. Харків, 2002.
2. Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології. Київ: Либідь, 2001. 312 с.
3. Векірчикт К. М. Практикум з мікробіології: навч. посібник. Київ: Либідь, 2001. 144 с.
4. Гудзь С. П., Гнатуш С. О., Білінська І. С. Мікробіологія: підручник для студентів вищих навчальних закладів. Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2009. 360 с.
5. Дикий І. Л., Холупяк І. Ю., Шевелева Н. Ю. Мікробіологія: підручник для студентів вищих навчальних закладів. Харків: Вид-во НфаУ, Оригінал, 2006. 432 с.
6. Климяк С. І., Ситник І. О., Ширококов В. П. Практична мікробіологія: навчальний посібник / за заг. ред. В. П. Широкова, С. І. Климяка. Вінниця: Нова книга, 2018. 576 с.
7. Климяк С. І., Ситник І. О., Творко М. С., Ширококов В. П. Практична мікробіологія. Тернопіль: Укрмедкнига, 2004.
8. Мікробіологія, вірусологія, імунологія, інфекційні хвороби: словник / за ред. Г. К. Палія, В. Г. Палія. Київ: Здоров'я, 2004. 296 с.
9. Сенченко Г. Г., Солдатова І. М. Лабораторний практикум з мікробіології: навчально-методичний посібник. Ніжин: НДПУ, 2000. 36 с.
10. Скибіцький В. Г. та ін. Мікробіологія молока та молочних продуктів: підручник / В. Г. Скибіцький, В. В. Власенко, І. Г. Власенко, Ф. Ж. Ібатулліна, Г. В. Козловська, А. М. Соломон, М. В. Мельник. Вінниця: «Едельвейс і К», 2008. 412 с.

ЗМІСТ

Передмова	3
Частина 1. Курс лекцій	4
Лекція 1. Вступ. Мікробіологія як наука	4
Лекція 2. Структурна організація прокаріотичної клітини.....	10
Лекція 3. Ріст та розмноження прокаріот.....	27
Лекція 4. Екологія прокаріот. Взаємовідносини мікроорганізмів	30
Лекція 5. Фізіологія прокаріот	42
Лекція 6. Роль мікроорганізмів у процесах трансформації речовин.....	70
Лекція 7. Основи вірусології	82
Частина 2. Лабораторний практикум	89
Лабораторна робота № 1. Методи мікроскопічного дослідження. Морфологія мікроорганізмів та розгляд їх у живому та фіксованому станах	91
Лабораторна робота № 2. Посів мікрофлори повітря, води та ґрунту	94
Лабораторна робота № 3. Аналіз посівів мікрофлори повітря, води та ґрунту	97
Лабораторна робота № 4. Перетворення мікроорганізмами сполук Карбону (вирощування бактерій різних типів бродіння)	100
Лабораторна робота № 5. Перетворення мікроорганізмами сполук Карбону (дослідження різних типів бродіння)	102

Лабораторна робота № 6.	
Перетворення мікроорганізмами азотистих сполук (приготування культур мікроорганізмів).....	103
Лабораторна робота № 7.	
Перетворення мікроорганізмами азотистих сполук (дослідження культур мікроорганізмів).....	106
Лабораторна робота № 8.	
Дослідження мікрофлори тіла людини	107
Лабораторна робота № 9.	
Мікробіологічний контроль хлібобулочних виробів.....	108
Лабораторна робота № 10.	
Бактеріологічний аналіз молока	110
Лабораторна робота № 11.	
Мікробіологічне дослідження м'яса.....	111
Лабораторна робота № 12.	
Санітарно-мікробіологічний контроль у закладах методом змивів	113
Література	115

Навчальне видання

**ПРИПЛАВКО С. О.,
ГАВІЙ В. М.**

ЗАГАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ

Навчальний посібник

Технічний редактор – І. П. Борис
Верстка, макетування – О. В. Борщ

Книга друкується в авторському редагуванні.

Підписано до друку 09.11.23 р.
Гарнітура Times
Замовлення № 846

Формат 60x84/16
Обл.-вид. арк. 7,08
Ум. друк. арк. 6,86

Папір офсетний
Електронне вид-ня



Ніжинський державний університет
імені Миколи Гоголя.
м. Ніжин, вул. Воздвиженська, 3^А
(04631) 7–19–72
E-mail: vidavn_ndu@ukr.net
www.ndu.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи
ДК № 2137 від 29.03.05 р.