

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Подільський державний аграрно-технічний університет
Кафедра агрохімії, хімічних та загальнобіологічних
дисциплін

МІКРОБІОЛОГІЯ

Навчально-методичний посібник для студентів
факультету агротехнологій і природокористування

Частина 1

Класифікація та будова мікроорганізмів

Кам'янець-Подільський, 2020

УДК 579.8

Мікробіологія. Навчально-методичний посібник для студентів факультету агротехнологій і природокористування: Пустова З.В., Пустова Н.В., Роговик Л.Й., Марек Остафін, Карол Бульські – 2020. – 147 с.

Рецензенти: **Любінська Л.Г.** доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри біології та методики її викладання Кам'янець-Подільського національного університету імені Івана Огієнка.

Трояновська О.М. провідний фахівець Хмельницької філії державної установи «Інститут охорони ґрунтів України».

Вахняк В.С. кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри землеробства, ґрунтознавства і захисту рослин Подільського державного аграрно-технічного університету.

Розглянуто і рекомендовано до друку на засіданні кафедри агрохімії, хімічних і загальнобіологічних дисциплін 7 травня 2020 року (прот. № 12).

Розглянуто і рекомендовано до друку на засіданні методичної комісії факультету агротехнологій і природокористування 12 травня 2020 року (прот. № 7).

Розглянуто і рекомендовано до друку на засіданні методичної ради університету 29 травня 2020 року (прот. № 3).

Посібник розроблений згідно робочої програми дисципліни «Мікробіологія» (2020) для студентів факультету агротехнологій і природокористування відповідно з освітньо-кваліфікаційними характеристиками та освітньо-професійними програмами підготовки фахівців відповідно до Стандарту вищої освіти України (бакалавр).

ЗМІСТ

Вступ	4
Структура навчальної дисципліни	6
Розділ 1. Класифікація та будова мікроорганізмів	
Тема 1. Поняття про мікробіологію, об'єкти досліджень	11
Тема 2. Морфологія та розмноження бактерій	28
Тема 3. Основи систематики мікроорганізмів	45
Тема 4. Особливості будови та розмноження неклітинних мікроорганізмів	56
Тема 5. Мікроорганізми та зовнішнє середовище	70
Тема 6. Метаболізм мікроорганізмів	88
Лабораторні роботи	
Правила роботи в мікробіологічній лабораторії	110
Лабораторна робота № 1	112
Лабораторна робота № 2	118
Лабораторна робота № 3	123
Лабораторна робота № 4	124
Контрольні питання з дисципліни «Мікробіологія»	132
Тестові питання для самоконтролю з дисципліни «Мікробіологія»	136
Рекомендована література	146

ВСТУП

Дисципліна «Мікробіологія» є теоретичною основою агрономічних дисциплін і в останні роки досягла значних успіхів у вирішенні проблем загальної біології, біотехнології, імунології, геронтології, генетики, охорони навколишнього середовища та ін.

Мікробіологія вивчає морфологію, систематику, фізіологію і біохімію найдрібніших і найбільш поширених в природі, невидимих для неозброєного ока живих організмів, які за своїми розмірами дістали назву мікроорганізмів, або мікробів. Завдяки діяльності мікроорганізмів відбувається кругообіг речовин у природі, обумовлюється родючість ґрунтів, забезпечується життєдіяльність людей, тварин і рослин.

Метою курсу є оволодіння теоретичними основами загальної і сільськогосподарської мікробіології, вивчення найважливіших мікробіологічних процесів, які відбуваються в природі, і зокрема, в ґрунті та при переробці сільськогосподарської сировини для того, щоб навчитися цілеспрямовано керувати діяльністю мікроорганізмів на користь людини; практично впливати на окремі біологічні групи бактерій для підвищення родючості ґрунтів та

продуктивності сільськогосподарських культур.

В результаті вивчення дисципліни студент повинен

знати:

-морфологію, ситематику фізіологію і біохімію мікроорганізмів;

-суть найважливіших мікробіологічних процесів, які відбуваються в природі;

-значення мікроорганізмів у виробництві, зберіганні та первинній переробці продукції рослинництва.

вміти:

-керувати мікробіологічними процесами, які проходять у ґрунті і впливають на його родючість;

-позитивно впливати на життєдіяльність корисних мікроорганізмів у посівах сільськогосподарських культур та при виробництві різних речовин, які базуються на промисловому використанні мікроорганізмів;

-керувати мікробіологічними процесами при одержанні біологічно активних речовин і енергії;

-застосовувати знання з курсу мікробіології при розробці заходів захисту сільськогосподарських культур від грибкових, бактеріальних і вірусних хвороб.

Структура навчальної дисципліни

Назва теми	Кількість годин	
	денна форма	заочна форма
Розділ 1. Класифікація та будова мікроорганізмів.		
Тема 1. Поняття про мікробіологію, об'єкти досліджень.	2	0,5
Тема 2. Морфологія та розмноження бактерій.	2	0,5
Тема 3. Основи систематики мікроорганізмів.	2	0,5
Тема 4. Особливості будови та розмноження неклітинних мікроорганізмів.	2	0,5
Тема 5. Мікроорганізми та зовнішнє середовище.	4	1
Тема 6. Метаболізм мікроорганізмів.	4	1
Разом за розділом 1	16	4

Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин	
		денна форма	заочна форма
1	Організація робочого місця, техніка безпеки. Будова мікроскопа.	2	-
2	Техніка мікроскопіювання. Виготовлення препаратів в “живій краплині”.	2	1
3	Виготовлення препарату “мазок”, його фіксація і фарбування. Фарбування за методом Грама.	4	1
4	Знайомство з морфологічними ознаками грибів і актиноміцет. Представники різних класів грибів.	2	2
5	Поживні середовища та їх приготування. Методи стерилізації.	4	-

Самостійна робота

№ з/п	Назва теми	Кількість годин	
		денна форма	заочна форма
1	Значення праць С.М.Виноградського, В.Л.Омелянського, С.П.Костичева, Н.Н.Худякова, В.С.Буткевича, Н.Г.Холодного, М.В.Федорова та інших вчених в розвитку сільськогосподарської мікробіології.	6	14
2	Генетика та селекція мікроорганізмів. Мікроорганізми – об'єкти генетичних досліджень. Практичне використання досягнень генетики та селекції мікроорганізмів у сільському господарстві.	6	14
3	Роль ферментів у життєдіяльності мікроорганізмів.	7	10
4	Взаємовідносини мікроорганізмів між собою та з іншими організмами.	7	12
5	Мікроорганізми, що розкладають клітковину в аеробних й анаеробних умовах. Значення цього процесу в природі та сільському господарстві.	6	12

6	Окислення мікроорганізмами жиру й високомолекулярних кислот жирного ряду та аліфатичних і ароматичних вуглеводів.	7	12
7	Особливості сучасного стану ґрунтової мікробіології – розвиток нового напрямку – ґрунтової біотехнології.	7	10
8	Вплив гербіцидів та інших пестицидів на ґрунтову мікрофлору. Розкладання мікроорганізмами пестицидів.	7	12
9	Інтенсифікація самоочищення ґрунту від паразитичних мікроорганізмів шляхом підбору різних видів рослин у сівозміні.	7	12
	Разом	60	108

Форми поточного та підсумкового контролю (залік)

Поточне тестування та самостійна робота												Сума
Розділ 1						Розділ 2						
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	100
5	5	5	5	5	15	15	15	15	5	5	5	

T1, T2,...T12 - теми розділів.

Засоби оцінювання

Засобами оцінювання та методами демонстрування результатів навчання з дисципліни є:

–тести для проміжного контролю;

– виготовлення мікробіологічних препаратів,
ідентифікація мікроорганізмів (робота з
мікроскопом).

Розділ 1. Класифікація та будова мікроорганізмів.

Тема 1. Поняття про мікробіологію, об'єкти досліджень.

1. Мікробіологія, як наука.
2. Вчені-мікробіологи та значення їх праць в розвитку сільськогосподарського виробництва.
3. Роль і завдання мікробіології в інтенсифікації сільськогосподарського виробництва.

1. Мікробіологія (від грецк. *micros* – малий, *bios* – життя, *logos* – наука) – наука про дуже малі за розмірами, не видимі неозброєним оком організми.

Об'єкт вивчення – мікроорганізми, до яких відносять найпримітивніші живі істоти.

Світ малих істот в природі дуже широко розповсюджений і дуже різноманітний. І об'єднання всіх цих істот в одну групу мікроорганізмів є в певній мірі умовним.

Значна частина мікроорганізмів являє собою одноклітинні примітивні організми, які називають *прокаріотами*, що дуже відрізняються від більш складних і досконалих *еукаріот*.

Групи мікроорганізмів, які відносяться до прокаріот:

- бактерії;
- актиноміцети;
- ціанобактерії (синьо-зелені водорості).

Групи мікроорганізмів, які відносяться до еукаріот:

- гриби;
- водорості, крім ціанобактерій.

Окремо мікробіологія вивчає такі ультрамікроскопічні організми як віруси та фаги, які ще більш примітивніші ніж еукаріоти і не мають клітинної будови.

Наука мікробіологія є частиною біології і дуже тісно пов'язана з нею. Різноманітність мікробного світу і відмінність груп мікроорганізмів один від одного дали поштовх до розвитку деяких галузей мікробіології, які в теперішній час представляють собою окремі науки, хоча існують в рамках біології:

- бактеріологія;
- мікологія;
- вірусологія;
- протозоологія;
- альгологія;
- епідеміологія, тощо.

2. Виникнення мікробіології як науки пов'язано із виникненням оптичних збільшувальних приладів. На початку ХУІІ ст. в 1610 р. Г.Галілеєм був сконструйований найпростіший мікроскоп з невеликим збільшенням. В 1590 р. шліфувальники скла Ганс і Захарій Янсени сконструювали прилад із збільшувальних лінз (потреба в оптичних приладах виникла у зв'язку з розвитком мореплавства, астрономії і ін.). У 1619 р. з'явився дволінзовий мікроскоп голандського фізика Корнелія Дреббеля. Так було винайдено прототип сучасного мікроскопа. У 40 - х роках ХУІІ ст. вчений - ізуїт, римський професор А. Кірхер, розглядаючи за допомогою збільшувальних скелець різні об'єкти побачив у них дрібних "черв'ячків". Очевидно це були мікроби. Але його дослідження мали випадковий характер. Більш ґрунтовні дані про світ мікробів були отримані голландським вченим Антоні ван Левенгуком. Його, по - праву називають батьком описової мікробіології. Його мікроскопи на той час були найбільш досконалими, вони збільшували об'єкт у 200 - 270 раз. Він вивчав зубний наліт, дощову воду, воду з колодязя, різні настої і виявив безліч дрібних різних за формою "живих звіряток". Більшу частину спостережень

Левенгук опублікував у 1695 році в книжці "Таємниці природи, відкриті А. Левенгуком". Отже, початок зародження мікробіології як науки пов'язане з ім'ям Антоні ван Левенгука.

Започаткування інтенсивного розвитку мікробіологічних досліджень на Україні пов'язане з іменем Д.К. Заболотного, який в 1928 р. організував у складі ВУАН інститут мікробіології, що тепер носить його ім'я. В інститут об'єдналися тоді три школи мікробіологів України: Київська (засновник В.К. Високович), Одеська - В.В. Підвисоцький і Харківська - Л.С. Ценковський).

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

Тепер Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.

Заболотного НАН України є провідним науковим і координаційним центром мікробіологічної науки в Україні . В ньому, а також у НДІ епідеміології та інфекційних хвороб (Київ), НДІ мікробіології вакцин і сироваток ім. І.І. Мечникова (Харків), Інституті молекулярної біології і генетики НАН України (Київ), Інституті сільськогосподарської мікробіології (Чернігів) та інших науково - дослідних установах, а також на кафедрах мікробіології університетів і медичних інститутів плідно працюють учні та послідовники Д.К. Заболотного.

Українські мікробіологи продовжують успішно вивчати біологію, біохімію, фізіологію й генетику мікроорганізмів і вірусів, закономірності їх мінливості та спадковості з метою одержання високопродуктивних мікробів - продуцентів біологічно активних речовин (антибіотиків, білків, ферментів, вітамінів, гормонів, стимуляторів, інгібіторів, токсинів тощо) та розробки теоретичних основ боротьби з бактеріальними, грибовими і вірусними інфекціями. Свої здобутки вони завжди намагалися впроваджувати в різні галузі народного господарства і охорону здоров'я.

Теоретичні дослідження мінливості мікроорганізмів і

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

За відкриття збудника дуже небезпечного захворювання коней - стахіботріотоксикозу і розробку заходів ефективної боротьби з цією хворобою В.Г. Дроботька, П.Є. Марусенка, Б.Ю. Айзман, Д.Г. Кудлай, П. Д. Ятеля та інших дослідників було нагороджено високими урядовими нагородами.

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

Підоплічка, Б.Ю. Айзенман, С.І. Залепухи, Д.Г. Затули, С.С. Смірновата ін.).

Дослідження О.І. Бершової, Л.Й. Рубенчика, К.І. Андріюк із загальної ґрунтової мікробіології, зокрема вільноживучих і симбіотичних азотфіксаторів, взаємовідносин між мікроорганізмами ризосфери і вищими рослинами та рекомендації щодо впровадження здобутих результатів у практику були відзначені премією імені Д.К. Заболотного.

Встановлення біогенної природи корозії підземних металічних і бетонних споруд та розробка методів її запобігання, створення лікувально-профілактичних препаратів на основі живих культур і організація промислового виробництва їх дістали високу оцінку, а їхні автори - К.І. Андріюк, В.Й. Білай, Л.Й. Рубенчик, С.Р. Резнік, В.В. Смірнов та інші - нагороджені Державною премією. За розробку наукових основ біосинтезу білка і дослідження біології та систематики промислово важливих груп мікроорганізмів Державну премію одержали також Є.І. Квасников, Ю.Р. Малашенко, О.А. Нестеренко та інші.

У галузі медичної мікробіології тривають інтенсивні дослідження з фундаментальних питань онкології й

ведуться пошуки речовин природного походження, що були б ефективними для лікування злоякісних пухлин (Д.Г. Затула, С.Р. Резнік та ін.), розробляються проблеми ешерихіозів (А.М. Касьяненко, Л.В. Григор'єва, А.Ю. Вершигора та ін.), вивчаються питання складу популяцій холерних вібріонів (А.Г. Сомова), систематики та ідентифікацій бактерій роду *Pseudomonas* (О.А. Кіпріанова та ін.) тощо.

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

проводяться під керівництвом І.Р. Гвоздяка.

На завершення короткого огляду розвитку мікробіології в Україні необхідно зазначити, що сучасний період, незважаючи на кризову ситуацію в економіці, характеризується помітним розширенням досліджень у царині технічної мікробіології, вірусології, генетики і генної інженерії, біотехнології та намаганням широко впроваджувати досягнення мікробіологічної науки в практику.

3. В епоху протерозою мікроорганізми були єдиними жителями Землі. Сучасний рівень наших знань дозволяє констатувати, що саме мікроорганізмам належить провідна роль у процесах кругообігу біогенних елементів (вуглецю, азоту, фосфору, сірки) в природі, який забезпечує можливість життя на Землі. Мікроорганізми забезпечують мінералізацію вуглецю, який зелені рослини в процесі фотосинтезу перевели в органічні сполуки і цим самим забезпечують рівновагу між процесами фіксації вуглекислого газу і мінералізації органічних сполук. Атмосферне повітря містить 0,03% вуглекислого газу. Фотосинтетична активність зелених рослин настільки велика, що запас CO_2 в атмосфері міг би вичерпатися за 40

років. Якщо враховувати і ресурси океану, то запасу вуглекислого газу повинно би вистачити приблизно на 2000 років.

Зеленим рослинам прийшлося би припинити фіксацію, якщо би нижчі тварини і мікроорганізми не забезпечували відновлення вуглекислого газу в процесі постійної мінералізації органічних речовин.

У процесі мінералізації мікроорганізми ґрунту і води не тільки переводять вуглець у CO_2 , але повертають в кругообіг речовин і інші біоеlementи. Азот і фосфор ще в більшій мірі, ніж CO_2 , лімітують ріст рослин, а відповідно й утворення біомаси на суші і в океані.

Азот може засвоюватися вищими рослинами у вигляді водних розчинів нітратних та амонійних солей. Найбільша кількість азоту у непридатній для засвоєння вищими рослинами формі міститься у повітрі - над кожним гектаром землі є понад 80 тис. т. молекулярного азоту. Значна кількість його є також у ґрунті у вигляді теж непридатних для засвоєння вищими рослинами органічних азотистих сполук. Численні мікроорганізми беруть участь у процесах розкладу і перетворенню органічного та мінерального азоту ґрунту. Одні розкладають білки до

поліпептидів та амінокислот, інші розкладають амінокислоти до аміаку, або засвоюють аміак (процеси гниття білкових сполук, або амоніфікація). Утворені при мікробіологічному розкладі білків аміак та його солі можуть далі окислюватися до нітратів (процес нітрифікації).

Важливе значення у забезпеченні вищих рослин придатними для засвоєння формами азоту належить ґрунтовим бактеріям, які здатні засвоювати азот з повітря (вільноживучі і симбіотичні азотфіксатори). Стало можливим штучне збільшення кількості азотфіксуючих мікроорганізмів у ґрунті шляхом внесення виготовленого з них добрива (Азотобактерин - азотобактер; нітрагін, ризоторгін, ризолігнін - бульбочкові бактерії; ризоаргін - для підвищення врожаю і якості зерна пшениці і рису - бактерії роду агробактеріум).

Фосфор, який міститься в органічних речовинах ґрунту, не засвоюється вищими рослинами. Мікроорганізми перетворюють складні органічні сполуки фосфору на придатні для засвоєння вищими рослинами солі фосфорної кислоти та сприяють розчиненню важкорозчинних мінеральних фосфорних сполук у ґрунті.

Важливе значення має діяльність сіркобактерій, які

окислюють сірководень, утворений під час розкладу органічних речовин. При цьому сірководень перетворюється в легкорозчинні і придатні для засвоєння вищими рослинами солі сірчаної кислоти.

Поряд з корисними для вищих рослин мікроорганізмами існують і такі, які можуть перехопити для власного живлення мінеральні сполуки, що засвоюються вищими рослинами. Діяльність таких мікроорганізмів приводить до збіднення ґрунту джерелами мінерального живлення вищих рослин. Прикладом можуть бути денітрифікуючі бактерії, які перетворюють азот нітратів у вільний, газоподібний.

Корисне значення мікроорганізмів ґрунту полягає також в їх участі у процесах утворення перегною, наявність якого зумовлює структуру та родючість ґрунту.

Людство з давніх давен використовує мікроорганізми: в пивоварінні, виноробстві, хлібопеченні - дріжджі, за допомогою молочнокислих бактерій виготовляють різні молочнокислі продукти, квасять овочі і фрукти, силосують корми; столовий оцет отримують за допомогою оцтовокислих бактерій; в Японії і Індонезії для обробки соєвих бобів використовують плісняві гриби. Під

час першої світової війни спиртове бродіння в присутності сульфїту натрію слугувало для отримання гліцерину. Молочну і лимонну кислоту отримують за допомогою молочнокислих бактерій і пліснявого гриба аспергілу (*Aspergillus niger*). Із дешевих, багатих на вуглеводи відходів можна в результаті бродіння, викликаного клостридіями І бацилами, отримувати ацетон, ізопропанол, бутадіол і інші хімічні речовини.

В.М. Омелянський писав, що вивчення різних хімічних речовин, що утворюються в результаті життєдіяльності мікробів, може давати хімікам нові шляхи для створення численних корисних хімічних речовин у штучних умовах, у хімічних лабораторіях.

Мікроорганізми можуть бути використані не тільки як продуценти хімічних речовин, а й як точні хімічні реагенти, помічники хіміків і біологів у визначенні наявності тих чи інших речовин. Так, один із видів зеленої плісені пеніциліум бревїкауле - має здатність відкривати наявність сполук миш'яку в речовині (вже на другий день росту на цьому субстраті чути часниковий запах) до однієї мільйонної міліграма, а спори іншого плісеневого гриба - аспергілюс нігер - дуже чутливі до наявності в середовищі

сполук срібла.

Нова епоха в медицині і фармакології почалася з появою антибіотиків. Відкриття пеніциліну і інших продуктів життєдіяльності грибів, актиноміцетів і бактерій озброїло медицину високоефективними засобами для боротьби з бактеріальними інфекціями.

Біфідобактерії використовуються для лікування лупи оскільки вони конфліктують з грибками, що викликають лупу.

Російські вчені використовують морську бактерію *Vibrio diabolicus* для лікування переломів кісток. Досліди проводили, на білих мишах і кролях. У кістках лабораторних мишей просвердлювали отвори і поміщали туди бактерії. Через 15 днів від експериментальних дірок не було і сліду.

Американські вчені методами біотехнологій створили бактерію, яка живиться їдкими речовинами і потом. Якщо ці бактерії помістити на одягу, то її не потрібно прати. Якщо речі людина не буде носити, то бактерії впадають у сплячку і пробуджуються лише тоді, коли в тканину будуть поступати поживні речовини. Досліди вчені проводили на солдатах спецназу, які

виконували місію в Афганістані. Цілий місяць солдати не прали штани, але вони як нові.

Вчені встановили, що головна біль має інфекційну природу. Збудником виявилась бактерія *Helicobacter pylori*, яка також є збудником язви. Для боротьби з цим мікроорганізмом використовують лактобактерії, які містяться в молочнокислих продуктах.

В недалекому майбутньому замість бормащини будуть лікувати карієс *Lactobacillus Zeae*. Дослідження проводяться у Флоридському університеті.

Із культур мікроорганізмів отримують ферменти : амілази для гідролізу крохмалю, протеїнази для обробки шкір, пектинази для освітлення фруктових соків і інших ферментів.

За допомогою мікроорганізмів виготовляють кормовий білок, амінокислоти, вітаміни, біологічні засоби захисту рослин, органічні кислоти і розчинники, стимулятори росту рослин.

Важливе значення мають анаеробні бактерії, які беруть участь у розкладі пектинових речовин. Руйнування цих речовин дуже потрібне, наприклад, при обробці волокнистих рослин (вимочування льону) - досліджував

талановитий вчений Василь Леонідович Омелянський.

Вивчення життєдіяльності бактерій морів має значення у створенні розвитку рослинності. Б.Л. Ісаченко вказував, що кругообіг речовин у морях тісно пов'язаний з діяльністю бактерій. Він вперше в науці встановлює роль окремих видів бактерій у процесі утворення "чорного мулу", лікувальних грязей. Він виявив сірководневі бактерії в кримських, кавказьких озерах, одеських лиманах.

Борис Лаврентійович Ісаченко досліджував гарячі джерела П'ятигорська і виявив участь мікроорганізмів в утворенні кальцитів в гарячих джерелах П'ятигорська, Вірменії, Севану, Тамбухану і ін.

Ісаченко Б.Л. вивчав геологічну діяльність мікроорганізмів і встановив їх роль в утворенні карбонатів двосірчистого заліза, нафти, торфу, кам'яного вугілля та інших горючих копалин, покладів міді, марганцю, сірки, фосфоритів.

Але поряд з корисною діяльністю мікроорганізмів вони виступають і як вороги людини. Мікроорганізми спричиняють псування продуктів харчування, викликають процеси гниття, пошкоджують залізні конструкції, викликаючи їх корозію. Залізобактерії, надмірно

розвиваючись у водопровідних і дренажних трубах, можуть утворюваним слизом закупорювати труби чи погіршувати прохід води.

Мікроорганізми є збудниками хвороб рослин, людини і тварин.

Збудниками хвороб рослин можуть бути різні мікроби: гриби, бактерії, простіші тваринні організми, мікоплазми, віруси. Найважливіші хвороби злакових: сажка, іржа, білоколосість, мучниста роса, плямистість листя, гнилизна стебла, колосся, зерна, кореня; картоплі - картопляна гнилизна, мокра кільцева та суха гнилизна, скручування, кучерявість, плямистість, мозаїчність листя, різна короста, рак картопляних бульб; помідорів - бура плямистість, гнилизна плодів.

Серед рослин дуже поширені вірусні захворювання мозаїки і жовтяниці (Івановський Д.Й.)

Мікроорганізми є збудниками хвороб людини: бактерії - туберкульоз, холера (1883р. Р.Кох відкрив холерний вібріон), стафілококова інфекція - запалення легень, плеврит, менінгіт, енцефаліт, абсцес мозку, ентероколіти, сибірка, дифтерія; віруси - грип, поліомієліт, натуральна віспа, рак, СНІД, вірусний гепатит.

Мікроорганізми є збудниками хвороб тварин: сибірка, сап, правець, туберкульоз, «куряча холера», ящур, сказ.

Тема 2. Морфологія та розмноження бактерій.

1. Форма та розмір бактерій.
2. Внутрішня будова бактеріальної клітини (зовнішні структури, внутрішні структури).
3. Розмноження бактерій.

1. За формою клітини бактерії можна розділити на головні групи: сферичні або кулясті (коки), паличкоподібні (циліндричні) та спіралеподібні (звивисті), але відомі бактерії, які мають ниткоподібну, трикутну, зірчасту форми. Розміри бактерій коливаються від 0,2 до 10 мкм (мікрометрів). Розміри та форма тіла бактерій можуть змінюватися під впливом різноманітних факторів зовнішнього середовища - під дією антибіотиків, дезінфікуючих засобів, при зміні умов культивування та ін.

Сферичні бактерії або коки (від грецького *coccus* - ягода, зерно) звичайно мають форму кулі, але бувають у формі боба чи ланцетоподібні. Клітини можуть

розташовуватися хаотично або утворювати скупчення, форма яких залежить від характеру їх поділу. За характером взаєморозташування коки поділяють на:

Мікрококи (від грецького *micros* - малий) діляться в одній площині, розташовуються хаотично, поодинокі.

Диплококи (від грец. *diplos* - подвійний) також діляться в одній площині, але утворені пари клітин не розходяться.

Стрептококи (від грец. *streptos* - намисто, ланцюжок) діляться в одній площині, але зв'язок між клітинами зберігається, і утворюються ланцюжки різної довжини, які нагадують намисто. Серед стрептококів є представники збудників молочно - кислого бродіння - *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremosis*.

Тетракоки (від грец. *tetra* - чотири) діляться в двох взаємоперпендикулярних площинах з утворенням тетрад. Вони переважно складають мікрофлору повітря.

Сарцини (від лат. *sarcina* - поєдную, тюк) діляться в двох взаємоперпендикулярних площинах з утворенням "пакунків" з 8, 16, 32, 64 клітин, які розміщуються кількома ярусами. Особливо часто сарцини зустрічаються у повітрі і є пігментоутворюючими.

Стафілококи (від грец. *staffile* - гроно) діляться в декількох площинах, клітини розташовуються у вигляді виноградного грона. Зустрічаються у повітрі, ґрунті, в організмі людини і тварини.

Паличкоподібні бактерії. Паличкова форма є самою численною і різноманітною групою бактерій. Клітинна стінка паличкоподібних бактерій являє собою тверду, нееластичну трубку. Тому вони ростуть переважно в довжину, а коливання товщини відносно невеликі (переважно в межах 0,5-1 мкм). По довжині паличкові поділяють на дрібні (до 1 мкм), середні (2-4 мкм), великі (більш ніж 4 мкм). По товщині паличкові бактерії поділяють на тонкі (до 1 мкм) і товсті (>1 мкм). Форма кінців у паличкових буває закруглена, загострена, обрубана.

По здатності до спороутворення паличкоподібні форми бактерій підрозділяються на три роди: р. *Bacterium* (бактерії), р. *Vacillus* (бацили), р. *Clostridium* (клостридії).

р.*Bacterium* - це паличкоподібні бактерії, що, як правило, не утворюють спор. Типовим представником є кишкова паличка (*Escherichia coli*), яка завжди міститься в кишечнику людини та тварин.

p.*Bacillus* - це споротворні паличкоподібні бактерії. Діаметр спор не перевищує у них поперечного розтину палички тому спороутворення у бацил не призводить до зміни форми клітини. Прикладом сапрофітних форм бацил є *Bacillus subtilis* ("сінна" паличка), *Bacillus licheniformis* («картопляна» паличка).

p.*Clostridium* - це споротворні паличкоподібні бактерії, у яких спора за своїм розміром перевищує поперечний розтин палички. При цьому змінюється зовнішня форма палички і вона може нагадувати веретено або ракетку.

За взаємним розташуванням паличкови розподіляються на три підгрупи:

а) поодинокі палички - розміщуються хаотично. Така форма взаємного розташування клітин характерна для переважної більшості паличкових.

б) диплобактерії та диплобацили - клітини бактерій або бацил розташовані попарно.

в) стрептобактерії та стрептобацили - клітини бактерій або бацил утворюють ланцюжки різної довжини.

Звивисті бактерії. Вони як правило грамнегативні, рухомі, більшість належить до сапрофітів. Але

зустрічаються і патогенні форми - збудники інфекційних хвороб. Звивисті бактерії відрізняються між собою кількістю завитків та товщиною тільця.

В залежності від цього відрізняють:

- вібріони. Клітини мають один завиток і товсте тільце. Представником є холерний вібріон - збудник холери, водні вібріони.

- спірили. Клітини мають від 4 до 6 завитків спіралі і товсте тільце.

- спірохети. Клітини мають від 6 до 15 і більше завитків спіралі та тонке тільце. Довжина їх може бути великою (300-500 мкм). Представником є збудник венеричного захворювання - сифілісу (*Treponema pallidum*).

2. Ультраструктура бактеріальної клітини

В 1937 р. Е.Шаттоном було запропоновано поділяти всі живі істоти за будовою клітин на прокаріоти та еукаріоти.

Згідно з цією класифікацією до прокаріотів (грец. *procaruotae*- доядерні) відносяться бактерії, до еукаріотів (грец. *eucaruotae*- ядерні) - найпростіші, гриби, водорості, рослини та тварини.

Основні відмінності прокаріотів та еукаріотів

полягають в тому, що прокаріоти мають тільки одну внутрішню порожнину, яка утворена цитоплазматичною мембраною (ЦПМ), що розміщена під клітинною стінкою. Їхній ядерний апарат (нуклеоїд) не відособлений від цитоплазми. Він складається з однієї хромосоми, яка має вигляд замкненої в кільце молекули ДНК, та розміщена безпосередньо в цитоплазмі. Рибосоми прокаріотів мають незначні розміри та розсіяні в цитоплазмі.

В клітинах еукаріотів є вторинні порожнини, утворені ЦПМ - ядро та органели. Ядро містить ДНК у вигляді однієї або більше хромосом та ядерце. Органели представлені мітохондріями, хлоропластами, лізосомами, ендоплазматичною сіткою, апаратом Гольджи та інш. структурами. Рибосоми еукаріотів більші за рибосоми прокаріотів та розміщені переважно на поверхні ендоплазматичної сітки.

Анатомія бактерій вивчає за допомогою електронного мікроскопу внутрішню будову клітин. Клітина - біологічна система, у якій кожній структурі належить певна функція. Всі структури взаємопов'язані та взаємообумовлені.

Основні структури клітин бактерій:

- ядерний матеріал - нуклеоїд
- клітинна стінка
- цитоплазматична мембрана (ЦПМ)
- цитоплазма з органоїдами і включеннями
- структурні елементи клітини (рибосоми, мезосоми, плазміді, внутрішньоклітинні мембранні утворення, включення)

Додаткові структури:

- капсула
- слиз
- пілі
- джгутики
- фімбрії

Ядерний матеріал клітин бактерій

У прокаріотів ядерний матеріал розміщений у центральній частині цитоплазми. Нуклеоїд бактерій на відміну від еукаріотів не має мембрани і складається з ДНК, яка замкнута у кільце. Приймає участь в передачі спадкової інформації. Без нього клітина нежиттєздатна.

Багато бактерій разом з нуклеоїдом мають позахромосомні передавачі спадкової інформації. Їх

називають плазмідни або епісоми. За будовою це нуклеїнова кислота.

Клітинна стінка.

Клітинна стінка - обов'язковий структурний елемент бактеріальної клітини. Клітинна стінка надає бактеріям певну форму. Вона є пружною, але разом з цим еластичною і може вигинатися. Клітинна стінка виконує роль механічного бар'єру між зовнішнім середовищем та протопластом.

Вона захищає вміст клітини від впливу довкілля. В нормальних умовах концентрація солей в клітині вища, ніж у навколишньому середовищі, тому між ними існує велика різниця в осмотичному тиску. Клітинна стінка захищає клітину від проникнення до неї надлишку води.

Таким чином функції клітинної стінки наступні:

- захист від шкідливих факторів
- транспорт речовин в процесі живлення
- участь у формуванні капсул і антигенів

Товщина клітинної стінки знаходиться в межах від 10 до 80 нм, на її долю припадає від 5% до 50% сухої речовини клітини. Хімічний склад і будова клітинної стінки є постійними для певного виду бактерій. Клітинна стінка

відповідальна за сприйняття забарвлення за Грамом.

До складу клітинної стінки бактерій входить мурен, він є гетерополімером, який побудований з N-ацетилглюкозамін, N-ацетилмурамової кислоти. Вони утворюють ланцюги, які пов'язані пептидними зв'язками і утворюють муреїнову сітку. У грампозитивних бактерій клітинна стінка складається з багатошарового мурену (до 90% її маси), тейхоевих кислот, лізіну і невеликої кількості ліпідів, полісахаридів, білків. У грамнегативних бактерій клітинна стінка значно тонша, вона містить одношаровий мурен (до 10%), ліпополісахариди, ліпопротеїди, фосфоліпіди, діамінопімелінову кислоту.

Деякі мікроорганізми на поверхні клітин утворюють слизовий шар або капсулу. Хімічний склад шару полісахариди, поліпептиди. Слиз можуть утворювати бактерії *Leuconostoc*, викликає псування фруктових сиропів.

Функції слизу і капсул - захисна. У патогенів капсула надає стійкість і підвищує вірулентність - ступінь патогенності.

Рухомість бактерій

Рухомість бактерій пов'язана з наявністю джгутиків.

Тип джгутикування є систематико - діагностичною ознакою і генетично запрограмований. Кількість і локалізація джгутиків, їх розміри - характерні визначеному виду.

Залежно від розташування джгутиків рухливі бактерії поділяють на наступні групи: а) монотрихи - мають один джгутик на кінці

б) амфітриси - мають два полярно розташовані джгутики

в) лоботрихи - мають пучок джгутиків на одному кінці

г) амфілоботрихи - мають два пучки полярно розташованих джгутиків

д) перитрихи - мають хаотично розташовані джгутики по всій поверхні клітини

Швидкість руху бактерії залежить від кількості та характеру розташування джгутиків, від віку і факторів зовнішнього середовища.

Джгутик має вигляд спіральної нитки товщиною 10-20 нм і довжиною до 10 мкм, їх хімічна природа - білок флагелін. Рухомість бактерій визначають методами «висячої» і «роздавленої» краплин. Бактерії рухаються хаотично зі швидкістю до 100 мкм/сек, але здатні до

таксисів - спрямованих рухів. Відомі хемо- , аеро- , фототаксис, вони залежать від концентрації хімічних речовин, кисню, ступені освітлення відповідно.

На поверхні клітинної стінки деяких мікроорганізмів без джгутиків розміщуються або фімбрії, або пілі - довгі, прямі нитки діаметром 5 нм, довжиною 12 мкм. Їх кількість коливається і може досягати декількох тисяч. Вони бувають загального типу для прикріплення і «статевого» в процесі кон'югації. Хімічна природа цих структур - білок пілін. Фімбрії також мають вигляд довгих тонких прямих ниток, а їх хімічна природа - вуглеводозв'язувальні білки лектини.

Цитоплазматична мембрана.

Під клітинною стінкою розташована цитоплазматична мембрана (ЦПМ), яка є обов'язковим структурним елементом клітини і оточує цитоплазму. Бактеріальна клітина втрачає життєздатність при порушенні її цілісності. На долю ЦПМ припадає всього 8-15 % сухої речовини клітини. Загальна товщина приблизно 5-10 нм. У більшості прокариотів ЦПМ єдина мембрана.

ЦПМ утворена двома шарами ліпідів (ліпідний бішар), в які включені білки, а зовні розташовані периферичні білки. За хімічним складом вона містить 50-

75% білків, 15-45% ліпідів та незначну кількість вуглеводів.

ЦПМ відіграє найважливішу роль в метаболізмі бактеріальної клітини. Вона є осмотичним бар'єром і регулює осмотичний тиск в клітині, контролює транспорт речовин в клітину та виведення метаболітів назовні. У бактерій ЦПМ виконує енергетичну функцію. ЦПМ бактерій - структура, де відбуваються окисно-відновні процеси. ЦПМ - енергетичні станції з ферментами окислювального фосфорилування. ЦПМ приймає участь в поділі нуклеоїду, оскільки молекула ДНК при цьому процесі прикріплюється до неї. Вона бере участь у синтезі компонентів клітинної стінки та капсули.

Цитоплазма

Цитоплазма являє собою колоїдну систему, яка складається з двох фракцій: цитозоль та структурні елементи.

Цитозоль - це фракція цитоплазми, яка має гомогенну консистенцію. У молодих вегетативних клітин міститься 85% води. В воді утворюється колоїдна система з білків, нуклеотидів, БАР, вітамінів, осмотично-активних речовин, вуглеводів, мінеральних елементів, токсинів. Друга фракція включає різноманітні структурні елементи

клітини: генетичний апарат, плазмідм, рибосоми, мезосоми, включення, внутрішньоклітинні структури, вакуолі.

Рибосоми - це органоїди, мають 10-20 нм в діаметрі і складаються з РНК (60%) та білка (40%). Кожна бактерія містить від 5000 до 50000 рибосом, які виконують важливу фізіологічну функцію - синтез білків. Під час активного синтезу білків рибосоми утворюють специфічні ланцюги - полісоми. Синтез білка йде в 2 етапи: за один етап нова молекула білка збільшується на одну молекулу амінокислоти.

Багато бактерій разом з хромосомною ДНК мають в цитоплазмі позахромосомні кільцеві або лінійні ДНК дуже невеликого розміру, які називають плазміди. В плазмідах закодована важлива інформація, що визначає життєдіяльність клітини в певних умовах, в тому числі хвороботворність, структуру ферментів, які дозволяють клітині знешкоджувати деякі антибіотики та інше.

Мезосоми - це тільця розміром 100 А, вони утворюються з ЦПМ. У ЦПМ існують інвагінації - складки. Вони мають форму бульбашок, можуть нагадувати сітку, можуть бути трубчасті, пластинчасті. Там локалізовані окисно-відновні ферменти, тобто енергетичний обмін.

Поруч з цим мезосоми - місце прикріплення плазмід, синтезу ферментів.

Внутрішньомембранні структури виконують різноманітні функції. У прокариот вони забезпечують дихання, захист від УФ променів, фотосинтез, окисно-відновні процеси. В них містяться бактерії, хлорофіл, каротин та інші пігменти.

Включення - гранули різної форми та розмірів або краплі. Наявність їх в клітині не можна вважати за постійну ознаку мікроорганізму, оскільки включення зв'язані з фізичними та хімічними умовами середовища існування та можуть розглядатися як запасні джерела енергії та поживних речовин.

Спори бактерій - ендоспори - внутрішньоклітинні утворення круглої або овальної форми. При забарвленні бактерій за Грамом клітина - синя, а спора прозора. Продукція спор - стадія циклу розвитку паличкоподібних грам позитивних *Bacillus* та *Clostridium* (виняток *Lactobacillus*), яка виробилась в процесі еволюції в боротьбі за збереження виду. Функція спор бактерій - захист. Спори знаходяться в стані анабіозу - не розвиваються, не розмножуються, але зберігають життєздатність. При

потраплянні в сприятливі умови одна спора проростає в одну вегетативну клітину.

Спори утворюються в несприятливих умовах, під впливом фізичних та хімічних факторів: низька вологість, температура, висока концентрація речовин, радіація, УФ промені. Процес спороутворення йде від 18 до 72 годин і відбувається по стадіям. Спочатку утворюється спорогенна зона і проспора, потім йде дозрівання спори. На 1 етапі втрачається вода, розпадаються материнські білки, синтезується специфічна лише для спори діпіколінова кислота, активно поглинається кальцій, який з нею дає хелатні комплекси. На 2 етапі йдуть формування багат шарової оболонки і всіх структур. Спора відрізняється від вегетативної клітини підвищеною стійкістю до несприятливих умов.

Властивості спор:

- термостійкість. В той час, коли вегетативні клітини гинуть при 80 °С за 10 хвилин, спори гинуть при автоклавуванні протягом 24 хвилин при температурі 120°С при тиску 1 атм ($1,61 \cdot 10^3$ Па). У висушеному стані вони гинуть при нагріванні до 150-160°С протягом декількох годин.

Терморезистентність спор обумовлена низьким

вмістом води (до 40%, вона знаходиться у зв'язаному стані) та вмістом дипіколінату кальцію.

- хімічна стійкість спор обумовлена непроникністю багат шарової оболонки.

- стійкість до радіації, УФ-променів пов'язана зі значною концентрацією сірковмісних амінокислот (цисті, цистеїн).

В зовнішньому середовищі спори можуть зберігатись тисячі років.

3. Бактерії розмножуються, як правило, безстатевим шляхом -- поділом материнської клітини на дві дочірні. Поділ відбувається дуже швидко і йому передують реплікація ДНК. За сприятливих умов деякі бактерії діляться кожні 20-30 хв. Іноді дві бактерії зливаються одна з одною. Під час такого злиття між ними утворюється цитоплазматичний місток, по якому речовини однієї клітини переходять в іншу. Такий процес нагадує статеве розмноження.

За несприятливих умов (нестача їжі, погодні умови, отруєння середовища продуктами життєдіяльності бактерій) багато бактерій здатні стискатися, втрачати воду і переходити в стан спокою до настання сприятливих умов. Деякі види бактерій за несприятливих умов формують

спори, які характеризуються значною стійкістю. Ці форми бактерій витримують тривале кип'ятіння, висушування, заморожування, дію різних хімічних речовин.

Після досягнення певних параметрів клітини, що виражаються необхідним співвідношенням обсягів цитоплазми та ядра, бактерії починають розмножуватися безстатевим і статевим способом. Багато бактерій позбавлені статевого процесу, і розмноження у них протікає тільки шляхом поділу або брунькування. Так, практично всім видам бактерій притаманне множинний рівновеликий бінарний поділ, що є рядом послідовних простих розподілів кожної клітини за короткий відрізок часу на дві ідентичні клітини. Розподіл грампозитивної бактеріальної клітини здійснюється після реплікації ДНК. Мезосоми формують поперечну перегородку в клітці бактерії від периферії до центру. Особливість безстатевого способу розмноження грамнегативних бактерій полягає в тому, що розподіл відбувається шляхом формування перетяжки при втягуванні мембрани і клітинної стінки всередину клітини. Брунькування є процес утворення і росту бруньки на одному з полюсів материнської клітини, яка проявляє ознаки старіння і не дає більше чотирьох

дочірніх клітин.

Статеве розмноження у бактерій здійснюється в примітивній формі. У бактерій не утворюються гамети, і немає злиття клітин. Однак найважливіша подія статевого процесу відбувається - це обмін генетичним матеріалом, що називається генетичною рекомбінацією. При статевому процесі частина ДНК бактеріальної клітини донора транспортується в клітину реципієнта і заміщає аналогічну частину ДНК реципієнта під впливом необхідних ферментів. Новостворена рекомбінантна ДНК бактерії містить гени обох батьківських клітин. Особливістю клітин, утворених при статевому розмноженні, є те, що у них спостерігається різноманітність ознак, завдяки з'єднанню генів різних організмів. Це є основою еволюційних перетворень і появи нових видів бактерій. Вивчено три способи утворення рекомбінантів: трансформація, трансдукція та кон'югація.

Тема 3. Основи систематики мікроорганізмів.

1. Принципи систематики бактерій.
2. Характеристика основних груп прокариот.
3. Морфологія та розмноження еукаріот: класифікація

грибів, характеристика інших груп мікроорганізмів.

1. Мікроорганізми - це найбільша за кількістю та дуже різноманітна за рівнем організації частина організмів, які населяють біосферу Землі. Об'єднують їх тільки малі розміри, тому систематизувати їх дуже складно. Мікроорганізми поділяють на **неклітинні** (віруси та пріони) і **клітинні** організми. Останні поділяють на 2 великі групи: **прокаріоти** (доядерні) та **евкаріоти** (ядерні).

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

Загально визнаною та найбільш поширеною є класифікація бактерій Д.Берджі. Згідно з визначником, виданим у 1993 р., бактерії поділяють за будовою клітинної стінки та забарвленням за Грамом на такі відділи: Gracilicutes - тонкошкірі (грамнегативні); Firmicutes - товстошкірі (грампозитивні), Tenericutes - не мають клітинної стінки (мікоплазми), Mendosicutes - архебактерії.

Для зручності відділи описують за групами, які включають родини, роди та види. Там, де вони об'єднані в порядки і класи, вказується їх назва.

Основною номенклатурною та таксономічною одиницею є **вид**. Визначення виду мікроорганізмів (ідентифікацію) проводять за морфологічними, тинкторіальними, фізіологічними, антигенними та молекулярно-біологічними та іншими ознаками.

Морфологічні ознаки характеризують форму, рухливість, спороутворення, наявність капсули.

Тинкторіальні ознаки - це відношення до барвників.

Фізіологічні ознаки - це культуральні та біохімічні властивості мікроорганізмів.

Культуральні ознаки - це характер росту мікроорганізмів на живильному середовищі. Мікроби, що виростили на живильному середовищі, називають культурою. Мікроби одного виду - це чиста культура.

Біохімічні ознаки - здатність мікроорганізмів виділяти ферменти.

Антигенні ознаки - антигенна структура мікроорганізмів, яку визначають за допомогою серологічних реакцій.

Молекулярно-генетичні ознаки - індивідуальність ДНК. Порівнюють ДНК досліджуваного мікроорганізму з еталонною для даного виду ДНК. Якщо подібність

становить 90 % і більше, то мікроби належать до одного виду. На цьому ж принципі ґрунтується застосування молекулярних зондів, за допомогою яких у досліджуваному матеріалі визначають ДНК і встановлюють діагноз захворювання. Якщо бактерії мають деякі відмінності від видових ознак, то такі мікроорганізми розглядають як **підвид**.

Мікроорганізми, що відрізняються незначними спадковими властивостями, називаються **варіантами**.

Морфовар - мікроорганізми, що відрізняються морфологічними ознаками, біовар - фізіологічними, серовар - антигенними, хемовар -хімічними, фаговар - відношенням до фага.

Штам - культура мікробів, виділена з конкретного джерела (організму людини, тварини, зовнішнього середовища). Штам можна вважати найнижчою таксономічною одиницею мікроорганізмів. Як правило, штами позначають протокольними номерами, або за джерелом виділення, або за місцевістю, де він був виділений (наприклад, вірус грипу Сингапур).

Клон - нащадки однієї мікробної клітини.

Колонія - видиме скупчення мікроорганізмів на

живильному середовищі.

Мікроорганізми називають за бінарною номенклатурою, кожний вид має видову і родову назви. Родову назву пишуть з великої літери (латинською мовою), видову - з малої. Наприклад: збудник правця – *Clostridium tetani*, сінна паличка - *Bacillus subtilis*. Допускаються скорочення родової назви (*Bac. subtilis*).

2. Представники деяких груп бактерій відрізняються будовою бактеріальної клітини, умовами існування, дією на макроорганізм та іншими ознаками.

Спірохети - це спіральне-звивисті рухливі бактерії, що мають розміри 0,1-3 мкм 5-25 мкм (до 500 мкм). Не утворюють спор та капсул. Тіло спірохет являє собою спіралеподібний цитоплазматичний циліндр, оточений клітинною стінкою, що складається переважно з пептидоглікану. Він утворює постійні завитки першого порядку, їх кількість, тип, величина та кут нахилу у різних видів різні. Ці ознаки мають діагностичне значення. Вторинні завитки утворені вигинами всього тіла (наприклад, лептоспіри бувають S- і C-подібної форми). Між циліндром і поверхневою мембраною розміщуються ендоджгутики. Одним кінцем вони прикріплені до середини

цитоплазматичного циліндра, другим - до полюсів, що обумовлює рухливість спірохет. Погано забарвлюються за Грамом, тому використовують мікроскопію в темному полі зору.

Актиноміцети займають проміжне місце між грибами та бактеріями. Вони мають розгалужений міцелій, який може розпадатись, утворюючи паличкоподібні форми. Постійно населяють ґрунт, організми людей і тварин, повітря. З них отримують антибіотики (стрептоміцин, мономіцин). Патогенні актиноміцети спричиняють актиномікози.

3. Гриби (мікроміцети).

Гриби - це численна та різноманітна група, яка включає до 100 тисяч видів. Вони дуже поширені у природі і зустрічаються майже в усіх кліматичних зонах. Найбільш розповсюджені у ґрунтах, а також у водоймищах. Утворюють на поверхні субстратів цвіль різного кольору, тому їх називають плісневими грибами.

За типом дихання - аероби і розвиваються переважно на поверхні субстрату. Але є і мікроаерофіли, які розвиваються при невисоких концентраціях кисню (<5%) і здатні проростати в середину субстрату.

За типом живлення гриби - хемогетеротрофи. Джерелом вуглецю для них можуть бути вуглеводи, органічні кислоти, білки.

Джерелом азоту для плісневих грибів є амінокислоти, білки, а також неорганічні речовини.

Таким чином, субстратом для розвитку грибів можуть бути як харчові продукти, сировина і корми, так і технічні матеріали (целюлоза, резина, фарби).

Псування продуктів, що викликають плісневі гриби, називається пліснявінням.

Більшість грибів є мезофілами і віддають перевагу середнім температурам 16-27°C. Температурний оптимум у грибів нижчий, ніж у бактерій, є холодолюбиві види, які відносяться до психрофілів. Найбільш холодостійкі види - *Cladosporium gerbarum*, *Thamnidium elegans*. Гриби здатні розвиватися при вологості повітря 70-100%. Серед них є і ксерофіти, які розвиваються при вологості до 65%. Вони псують солодку продукцію з низьким вмістом води (мармелад, джем, пастилу).

Для запобігання ураження плісневими грибами загальноприйняті технології зберігання сировини доповняють обробкою спеціальними хімічними

препаратами - плісневими інгібіторами, які містять органічні кислоти та їх солі.

Плісневі гриби мають і позитивне значення для харчової промисловості. Деякі гриби використовують у заквасках для виробництва кисломолочних продуктів і сирів, для одержання ряду органічних кислот (лимонної, щавлевої, яблучної), антибіотиків, вітамінів, ферментів.

Плісневі гриби можуть синтезувати різні вторинні метаболіти, багато з яких володіють біологічною активністю. Метаболіти грибів, які здатні викликати токсичну дію у людей і тварин, називають мікотоксинами.

Морфологія та будова клітин міксоміцетів.

Вегетативне тіло грибів називається міцелієм або грибноцею. Міцелій являє собою систему розгалужених ниток-гіфів, що складаються з довгих клітин, які розміщені в один ряд. Міцелій буває двох типів: септований і несептований. Септи являють собою поперечні перегородки, які поділяють міцелій на ряд окремих клітин.

Септи мають центральну пору, через яку з клітини в клітину вільно перетікають цитоплазма і ядра. Більша частина гіфів розвивається над поверхнею субстрату і називається повітряним або поверхневим міцелієм. Саме

тут розташовані органи розмноження. Гриби мають еукаріотну будову клітини, яка подібна до будови рослинних клітин.

Зовні клітина грибів покрита багат шаровою стінкою, яка на 80-90% складається з полісахаридів (хітин, целюлоза). Під стінкою розташована ЦПМ, яка оточує цитоплазму. В цитоплазмі містяться ядра (від 1 до 30). Ядро оточене власною ядерною мембраною з порами, містить ядерце і хромосоми. В ядерці відбувається синтез попередників рибосом, які транспортуються через пори ядра в цитоплазму. В цитоплазмі містяться 30-50 тисяч рибосом. В клітинах грибів є система внутрішньо - клітинних елементарних мембран.

Клітини грибів містять органоїди: ядро, мітохондрії, ендоплазматичну сітку, апарат Гольджи, лізосоми.

Мітохондрії - багатокамерні трубочки з еластичними стінками. Вони є енергетичним центром клітини.

Ендоплазматична сітка - мембранна система, в якій розташовані ферменти, що відповідають за біосинтез вуглеводів, ліпідів і транспорт речовин всередині клітини.

Апарат Гольджі - здійснює транспортування речовин, що синтезуються в ендоплазматичній сітці, і вилучення

продуктів обміну.

Лізосоми - розщеплюють білки, ліпіди, полісахариди до простих сполук. У випадку пошкодження лізосом ферменти виходять в цитоплазму і здійснюють лізис (розчинення усіх органоїдів).

Способи розмноження грибів.

Міцеліальні гриби розмножуються вегетативно та за допомогою спор.

Вегетативне розмноження відбувається за допомогою шматочків гіфів та міцелію. Будь-яка частина міцелію здатна до росту. Шматочки міцелію відриваються від гриба та разносяться вітром, попадають на відповідний субстрат, проростають і утворюють новий організм.

Спори в еукаріотичних організмах виконують подвійну функцію - розмноження та збереження виду. Спороутворення може відбуватися статевим і безстатевим шляхом.

Безстатеве спороутворення зв'язане з утворенням спеціалізованих репродуктивних органів без попереднього злиття клітин. Безстатеве розмноження нижчих грибів здійснюється внутрішніми спорами або ендоспорами, вищих грибів - зовнішніми спорами або екзоспорами.

Ендоспори утворюються в середині особливої клітини, яка називається спорангієм. При дозріванні оболонка під впливом ферментів грибів і вологи розпливається і спори висипаються у зовнішнє середовище.

Екзоспори прийнято називати конідіями або конідієспорами, а плодоносний гіф - конідієноцем. Конідії розповсюджуються повітряними потоками і в сприятливих умовах проростають, утворюючи новий міцелій.

Статеве розмноження грибів обов'язково включає злиття двох ядер. У нижчих грибів спочатку відбувається злиття двох багатоядерних гіфів міцелію. Потім відбувається попарне злиття ядер. Процес закінчується утворенням зигоспори, яка згодом проростає і утворює органи плодоношення.

У вищих грибів в залежності від класу розмноження відбувається по різному.

В аскоміцетів - злиття ядер і вмісту двох клітин різних гіфів, потім відбувається ділення ядра.

Утворення аскоспор. Навколо нових ядер концентрується цитоплазма і утворюється спорова оболонка. Материнська клітина покривається товстою оболонкою і перетворюється в аск (сумку). В середині може

бути від 2 до 8 аскоспор.

Зверху сумка покривається переплетенням гіфів. При цьому відбувається утворення плодового тіла.

Систематика грибів. Мікроміцети поділяють на шість класів: хітридіоміцети, ооміцети, зигоміцети, аскоміцети, базидіоміцети та дейтеромицети.

Тема 4. Особливості будови та розмноження неклітинних мікроорганізмів.

1. Історія відкриття вірусів, їх роль та значення в природі.
2. Хімічний склад та фізична структура вірусів.
3. Розмноження вірусів.

1. Вірусологія, як самостійна наука, сформувалася порівняно нещодавно. Починаючи з другої половини ХІХ ст. вивчення біологічних особливостей збудників інфекційних захворювань дістало найбільш глибокого розвитку. Проблему боротьби з епідеміями паралельно вирішували в медицині, ветеринарії та фітопатології. Було доведено, що будь-яка інфекція обов'язково спричиняється збудником хвороби людини, тварини чи рослини.

Однак вже Л.Пастер зіткнувся з захворюваннями, "винуватців" яких не вдалося виділити з тваринного організму і охарактеризувати за класичними показниками, прийнятими в бактеріології. Список подібних хвороб швидко розширювався (сказ, поліомієліт, ящур та ін.). це призвело до відомої кризи в уявленні про інфекційний процес, оскільки діагностика багатьох хвороб залишалася невстановленою.

Незабаром у 1892 році російський ботанік Дмитро Йосипович Івановський експериментально довів існування нового світу - світу вірусів. Слід відзначити, що ще у 1886 році видатний вітчизняний вчений М.Ф.Гамалія довів, що в крові хворої на чуму рогатої худоби міститься збудник захворювання, який може проходити крізь бактеріальні фільтри, які, як відомо, використовуються для стерилізації розчинів з метою звільнення їх від бактеріальної флори.

Через рік після дослідів М.Ф.Гамалії Д.М.Івановський, у той час ще студент Петербурзького університету, за завданням товариства природознавців, виїздить у Крим, Бессарабію, Україну для вивчення причин виникнення мозаїчної хвороби тютюну, яка завдавала в ті роки великої шкоди тютюнництву країни.

На листках рослин з'являлися строкаті жовті плями, після чого листя зморщувалося і ставало непридатним для використання його як сировини у виробництві тютюну.

Д.М.Івановський з властивою йому ретельністю і запалом молодого вченого приступив до дослідження невідомого збудника хвороби. Він профільтрував сік хворих рослин крізь бактеріальний фільтр (фільтр Шамберлана), потім "стерильний" фільтрат ввів у міжвузля здорових рослин. Профільтрований сік виявився "заразним", але під мікроскопом збудник залишався невидимим. Після невдалих спроб виростити мікроб на штучних живильних середовищах Д.М.Івановський здійснив напрочуд простий і геніальний за задумом дослід, який однозначно відповів на запитання: збудник хвороби є отрутою хімічного походження чи живою істотою? Вчений профільтрував крізь бактеріальні фільтри клітинний сік, одержаний від хворих рослин, і наніс його на листя здорової рослини тютюну. Коли з'явилися вже знайомі прояви захворювання, Д.М.Івановський узяв краплину соку з рослини, що захворіла, і наніс її на листи ще однієї здорової рослини. І знову те саме: рослина тютюну захворіла. Багаторазові повторення дослідів дали однакові

результати. Висновок міг бути тільки один: збудник - живий організм, який здатний розмножуватися. Через шість років, у 1898 році, відкриття Д.М.Івановського було підтверджене голландським мікробіологом М.Бейєринком. За д'Ерелем, ці найдрібніші істоти дістали назву вірусів. Отже, Д.М.Івановський є засновником вчення про віруси.

Вірусологія - біологічна наука, яка займається вивченням вірусів та хвороб, які викликають віруси.

Віруси свою назву одержали в стародавні часи, коли рахували, що хвороба від укусу змії та сказаної собаки має однакову причину - попадання в організм отруйної речовини, т. б. вірусу.

Слово «вірус» перекладається як отрута тваринного походження.

Така назва була дана, коли ще не знали, що віруси - живі істоти. Зараз накопичено багато матеріалів, які підтверджують, що з біологічної точки зору віруси являють собою найпростіші форми життя, в яких основні життєві процеси відбуваються на молекулярному рівні. Віруси здатні розмножуватися в живих клітинах, передавати ознаки по спадковості та змінюватися під впливом зовнішніх умов. Виходячи з цього віруси - це особлива

група живих істот, найпростіша неклітинна форма життя. Серед всіх істот, які живуть на Землі, найбільш просто організовані віруси. Вони займають особливе положення в біосфері, знаходячись на границі живої та неживої природи.

Один з провідних радянських вірусологів академік В.М.Жданов вважає, що сучасні віруси є нащадками найпростіших живих організмів, які на певних стадіях еволюції пристосувались до існування за рахунок клітинних організмів та стали внутрішньоклітинними паразитами.

Зараз відомо більше 3000 вірусів, в т.ч. більше 500, які уражають людину та тварин.

Швидкий прогрес вірусології в останні десятиліття пов'язаний передусім з появою електронного мікроскопа, який дозволив детально вивчити морфологію вірусних частинок та окремих макромолекул.

Вивчення природи вірусів показало, що вони являють собою сукупність дуже мілких елементарних частинок (віріонів), кожна з яких складається з однієї єдиної молекули нуклеїнової кислоти (ДНК чи РНК), яка одягнена молекулами специфічних білків, які забезпечують її захист від дії різних факторів середовища. Така часточка здатна

проникати в живу клітину, де її нуклеїнова кислота звільняється від білку і на основі записаної на молекулі ДНК або РНК генетичної інформації клітина зі своїх матеріалів та своїми системами синтезує нові молекули вірусної нуклеїнової кислоти та вірусного білку. Останні під дією міжмолекулярних сил агрегуються в нові віріони і залишають клітину. Віруси здатні репродукуватися тільки в живих клітинах, в які вони вносять лише генетичну інформацію. Тому їх можна вважати облігатними внутрішньо клітинними паразитами. Але цей паразитизм незвичайний, він проявляється тільки на генетичному рівні.

Віруси відносяться до органічної природи.

Вони подібні до тварин та рослин тим, що:

а) містять одні й ті ж основні біополі мери (нуклеїнові кислоти та білки);

б) їх нуклеїнова кислота виконує роль генетичного апарату;

в) їм властива мінливість та спадковість.

Але віруси відрізняються від тварин та рослин тим, що:

а) мають дуже просту організацію;

б) в них носієм генетичної інформації можуть бути

любі форми нуклеїнових кислот (а не тільки 2-ниткова ДНК);

в) в них відсутня власна система синтезу білків, внаслідок чого вони не живляться, не дихають та нічого не виділяють;

г) вони мають вкрай своєрідний спосіб розмноження;

д) можуть щезати, ставши частиною клітини;

е) можуть мимоволі відновлюватись із суміші молекули відповідних білків та нуклеїнових кислот.

Віруси можна рахувати як особливу форму існування органічної матерії на Землі і їх виділяють в третє (після тварин та рослин) царство "Vira".

2. Дуже важливим є вірно уявити фізичну структуру вірусів. Віруси являють собою сукупність вірусних часток - віріонів, які дезинтегруються при репродукції вірусу в живій клітині. Кожний віріон містить тільки одну молекулу ДНК або РНК (іноді фрагментовану), яка щільно одягнена капсомерами - морфологічними одиницями, які складаються з однієї або декількох білкових молекул. Сума капсомерів, які складені в певному порядку (за рахунок міжмолекулярних зв'язків), складає капсид, а разом з нуклеїновою кислотою - нуклеокапсид. Деякі віруси крім

нуклеокапсида мають також зовнішню оболонку, яка утворюється шляхом захвату частини оболонки клітини при виході з неї віріонів. Оболонка відіграє захисну роль, коли вірус знаходиться за межами клітини-господаря або приймає участь в процесі зараження.

Більшість фітопатогенних вірусів можна віднести до п'яти морфологічних груп:

-паличкоподібну, при якій вірус має вид прямого циліндра (вірус тютюнової мозаїки;

-ниткоподібну, яка являє собою еластичні вигнуті нитки (віруси рослин та бактерій);

-сферичну, подібну до багатогранної фігури (віруси тварин та людини);

-кубоподібну, яка має вигляд паралелепіпеда з округленими краями (віруси тварин та людини);

-булавоподібну, яка характеризується наявністю головки та відростка (віруси бактерій та актиноміцет).

Віруси, в яких капсоміри складені по спіралі кругом нуклеїнової кислоти (спіральний тип симетрії), мають паличкоподібну форму та в них немає зовнішніх оболонок (більшість вірусів рослин). Але зустрічаються віруси, в яких нуклеокапсид з спіральним типом симетрії не

витагнутий, а скручений в клубок та одягнений в зовнішню оболонку.

Більшість вірусів тварин мають нуклеокапсид, в якому капсомери складені по кубічному типу симетрії та утворюють багатогранну фігуру (частіше іксаедр).

Складання капсомерів по спіральному та кубічному типам симетрії утворює єдино можливі фігури з найменшим рівнем вільної енергії і цим забезпечується їх стійкість (всі інші способи складання дають нестійкі фігури і вони розпадаються).

Для багатьох вірусів бактерій (фагів) є характерним так званий складний тип симетрії: головка фага являє собою багатогранник (кубічна симетрія), а хвостовий відросток має форму циліндра (спіральна симетрія).

Розміри віріонів різних вірусів коливаються в доволі широких межах - від 15-18 до 300-400 нм. Розміри вірусів встановлюють різними методами: по розмірам пор фільтрів, які пропускають віруси, по швидкості осідання вірусів при центрифугуванні та за допомогою фотографій, одержаних в електронному мікроскопі. Так, вірус тютюнової мозаїки має віріони, які представляють собою палички довжиною 300 нм, діаметром біля 16 нм. Існує доволі багато кулеподібних

вірусів діаметром від 17 до 75 нм, є також подовжені форми самих різних розмірів - від гнучких ниток (2000x10 нм) до бацилоподібних частинок (250x70 нм). В звичайний світловий мікроскоп окремі вірусні частинки не є видимими, але в уражених вірусом клітинах часто можна розрізнити "тільця-включення", які представляють собою величезні колонії вірусів.

При вивченні хімічного складу вірусів необхідно звернути увагу на те, що віруси складаються головним чином з нуклеїнових кислот та білків, т. б. з тих же біополімерів, які є основними в складі любого живого організму.

Важливо відмітити, що в клітинах тварин та рослин ДНК завжди складається з двох компліментарно з'єднаних ниток, а РНК - з однієї. Віруси ж зустрічаються з дво- та одноститковою ДНК, а також з кільцевою; РНК - також одно- та двониткова. Кожний вірус містить лише одну нуклеїнову кислоту - ДНК або РНК. На відміну від нуклеїнових кислот клітин ДНК та РНК вірусів мають меншу молекулярну масу, ланцюги їх коротші. Нуклеїнові кислоти вірусів виконують функцію носіїв генетичної інформації.

Віруси рослин відрізняються по кількісному вмісту

нуклеїнової кислоти: в ізометричних вірусах її 15-45 % маси, в паличкоподібних - біля 5, в бацило подібних - біля 1%. Остання частина в більшості вірусів складається з білку, в деяких присутні ліпіди, вміст яких може складати до 20%.

Білкова оболонка оточує та захищає нуклеїнову кислоту. Молекула білку містить приблизно 20 різних амінокислот.

Потрібно твердо засвоїти роль вірусних білків:

-захист молекули нуклеїнової кислоти від дії зовнішніх факторів;

-первинна взаємодія вірусу з поверхнею клітини;

-визначення антигенних властивостей вірусу.

В деяких вірусів містяться білки, які мають ферментативну активність (нейрамінідаза, ДНК- та РНК-полімерази).

Існуючі в наявності деяких вірусів ліпіди та вуглеводи з'являються при проходженні вірусу через клітинну оболонку і беруть участь в утворенні зовнішніх оболонок віріонів.

3.Віруси можуть розмножуватись тільки в живій клітині. По способу розмноження(реплікації) вони

відрізняються від клітинних мікроорганізмів. Так, бактерії розмножуються бінарним діленням дорослих клітин. При цьому їх клітини зберігають цілісність на всіх стадіях розмноження. Віруси ж мають роздільний (дис'юнктивний) тип розмноження, т.б. Як тільки вірус потрапляє в клітину-господаря, він розпадається на білок та нуклеїнову кислоту. Білкові оболонки, які раніше захищали нуклеїнову кислоту, в середині клітини стають на заваді дії паразита на її структури. Тому нуклеїнова кислота вірусу звільняється від білкової оболонки, після чого клітина-господар починає продукувати вірусний білок та вірусну нуклеїнову кислоту за рахунок своїх запасів та матеріалів, але синтезуються вони в різних частинах клітини (т. б. роздільно), а потім проходить їх компанація (з'єднання, зборка) і утворюється нова вірусна частинка - віріон.

Виходячи з цього, для розмноження вірус повинен проникнути в живу клітину. Перше «знайомство» клітини з вірусною частинкою має випадковий характер: внаслідок броунівського руху віруси зустрічаються з клітиною і прикріплюються її поверхні. Процес проникнення вірусів в клітину у різних вірусів проходить по різному. Так, бактеріофаги (віруси бактерій) спочатку прикріплюються

до оболонки бактерії, а потім ферментують оболонку в місці прикріплення і уприскують в клітину свою нуклеїнову кислоту. Інші віруси проникають в клітину за рахунок піноцитоза (віропексіс), т. б. фагоцитуються клітиною як стороння речовина, замаскована білком. В середині клітини білок ферментується і вірусна нуклеїнова кислота вивільняється. Як в першому випадку, так і в другому важливим є те, щоб в клітину потрапила вірусна нуклеїнова кислота. Потрапивши в клітину вірусна нуклеїнова кислота блокує клітинну нуклеїнову кислоту (зокрема ДНК) і змушує працювати клітину на себе. Клітина з своїх резервів починає продукувати вірусну нуклеїнову кислоту та вірусний білок. Вірусний білок утворюється, як правило, в рибосомах клітини, а вірусна нуклеїнова кислота в ядрі або цитоплазмі клітини. Потім вони з'єднуються за принципом компліментарності і формується новий вірус (найчастіше біля цитоплазматичної мембрани клітини). Кожна заражена клітина продукує біля 1000 нових вірусів, здатних заразити сусідні здорові клітини.

Таким чином, на деяких етапах реплікації неможливо віднайти зрілі вірусні частинки в клітині-господаря, так як після потрапляння в клітину вірус (точніше його форма

спокою - віріон) щезає; вірусна нуклеїнова кислота репродукується в одних частинах клітини, вірусні білки - в інших, а зборка цілих частин - в третіх. Так, в вірусу тютюнової мозаїки реплікація РНК пов'язана з ядром та ядерцями, структурний білок синтезується головним чином в цитоплазмі на рибосомах, зборка вірусів зазвичай проходить в цитоплазмі, але може відбуватися і в інших ділянках клітини. Місце реплікації РНК вірусів залежить від виду вірусу.

В результаті зборки утворюються дорослі віріони, в яких молекули РНК оточені білковою оболонкою. В цьому стані багато вірусів утворюють в клітині різні включення. Існує дві форми вірусних включень - кристалічна та аморфна. Вірусні включення частіше всього спостерігаються в цитоплазмі, де формуються віріони, але можуть з'являтися в ядрах та вакуолях.

В процесі реплікації віріонів, т.б. репродукції фітопатогенних вірусів, виникають генетично змінені форми, що має велике значення в еволюції вірусів. Змінені форми називають штамми вірусів. Через виникнення нових штамів вірусів раніше стійкі до них організми (сорти культурних рослин) стають прийнятними до вірусних

хвороб. В багатьох фітопатогенних вірусів виявлено велику кількість штамів. В ВТМ - більше 200 штамів, які розрізняються по здатності заражати окремі сорти і види рослин, по симптомам ураження, фізичним та хімічним властивостям і т. п.

Знання молекулярних основ зміни спадкових властивостей та розв'язання інших питань з біології вірусів можуть дати дослідникам могутню зброю в пошуку ефективних засобів боротьби з вірусними захворюваннями.

Тема 5. Мікроорганізми та зовнішнє середовище.

1. Фізичні фактори, їх дія на мікроорганізми.
2. Дія хімічних факторів на мікроорганізми.
3. Взаємовідносини між мікроорганізмами.

1. Волога. Активна життєдіяльність бактерій можлива лише в умовах достатнього зволоження. Надходження поживних речовин у клітину та виділення продуктів обміну в зовнішнє середовище можливі тільки при достатньому вмісті води. Найменша кількість води, при якій ще можливий розвиток прокаріотів, становить 20-30 % загальної маси організму. Менш вимогливі до умов

зволоження цвілеві гриби. Вони можуть розвиватися навіть тоді, коли вміст вологи в субстраті дорівнює 10-15 %.

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

Температура. Мікроорганізми не регулюють температуру свого тіла, а тому існування їх визначається температурою оточуючого середовища. Розрізняють три основні температурні зони, які мають вирішальне значення для розвитку бактерій: мінімум, оптимум і максимум. Найменша температура, при якій можуть розвиватися дані мікроби, називається мінімальною. Найвища температура, при якій ці самі організми ще можуть жити, називається

максимальною. Між двома крайніми точками є температура, при якій прокаріоти розвиваються найкраще. Така температура дістала назву оптимальної. Кардинальні температурні точки для деяких мікроорганізмів наведено в табл. 3. Ці точки, хоча і є характерними для кожного виду мікроба, але вони можуть змінюватися під впливом інших чинників зовнішнього середовища.

Щодо температурних умов, усі мікроорганізми прийнято поділяти на три групи: психрофіли, мезофіли, термофіли. Психрофіли -- холодолюбні мікроби. Мінімальні температури для них - у межах від -10 до 0°C , оптимальні - від 10 до 15°C і максимальні - близько 30°C . Психрофіли живуть у ґрунтах полярних країн, холодних морях і океанах, льодах, на заморожених продуктах тощо.

Мезофіли - мікроорганізми, мінімальні температури для яких перебувають у межах від 0 до 10°C , оптимальні - близько $25-35^{\circ}\text{C}$, максимальні - $40-50^{\circ}\text{C}$. До них належать більшість сапрофітних і патогенних мікроорганізмів, наприклад, кишкова паличка, протей, стафілокок та інші.

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

Природа термофілії досі ще не розкрита.

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

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

Низькі температури мікроби витримують порівняно легко. Наприклад, деякі види бактерій не втрачають життєздатності навіть при температурі рідкого водню (-253°C). При дії низьких температур прокаріоти можуть впадати в анабіотичний стан, зберігаючи тривалий час свою

життєдіяльність. Низькі температури широко використовуються для зберігання різних продуктів, які швидко псуються. Використовують два способи зберігання продуктів на холоді: в охолодженому стані при температурі від 10°C до -2 °C і в замороженому стані при температурі від -12 до -30°C.

Кисень. Трапляється в природі як у вільному, так і в зв'язаному стані; є обов'язковим компонентом будь-якої клітини. Переважна більшість живих організмів використовують обидві форми кисню. За відношенням до молекулярного кисню серед мікроорганізмів розрізняють: облігатні аероби, облігатні анаероби, факультативні анаероби і мікроаерофіли. Різне відношення бактерій до кисню залежить від їхніх фізіологічних особливостей (М.В.Гусєв, 1992).

Ступінь аеробності або анаеробності середовища можна кількісно охарактеризувати за допомогою окисно-відновного потенціалу (редокс-потенціалу), який виражається символом Eh. Цей індекс аналогічний рН. Тільки рН виражає ступінь кислотності і лужності середовища, а Eh - ступінь аеробності і анаеробності. У водному розчині, повністю насиченому киснем, $E_h = 41$, а

при повному насиченні середовища воднем $E_h = 0$. Отже, шкала від 0 до 41 характеризує будь-який ступінь аеробності.

Кисень трапляється в природі як у вільному, так і в зв'язаному стані; є обов'язковим компонентом будь-якої клітини. Переважна більшість живих організмів використовують обидві форми кисню. За відношенням до молекулярного кисню серед мікроорганізмів розрізняють: облигатні аероби, облигатні анаероби, факультативні анаероби і мікроаерофіли. Різне відношення бактерій до кисню залежить від їхніх фізіологічних особливостей.

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

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

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

Іонізуюче випромінювання на мікроорганізми може діяти згубно (бактерицидна дія) або викликати мутагенний

ефект. Ефективність дії іонізуючої радіації залежить від виду, дози і об'єкту опромінення. Наприклад, прокаріоти набагато витриваліші до дії ядерних випромінювань, ніж вищі організми. Тіонові бактерії, які живуть у покладах уранових руд, мають високу стійкість до радіації. Бактерії знаходили у воді атомних реакторів, де концентрація іонізуючої радіації перевищувала 20-30 тис. Гр (2-3 млн рад).

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

Ультразвук. Ультразвукові хвилі мають частоту коливання понад 16000 Гц. Вони виявляють згубну дію на різні мікроорганізми: зумовлюють розпад високомолекулярних сполук, коагуляцію білка,

інактивують ферменти, токсини, спричинюють розрив клітинної стінки тощо. Досі ще не розкрито механізм дії ультразвукових хвиль. Його зв'язують з кавітацією (від лат. *cavitas* -- порожнина), тобто утворенням у рідині порожнин, при закриванні яких виникають гідравлічні удари, що руйнують клітини мікроорганізмів.

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

Осмотичний тиск. Важливе значення для життя прокаріотів має осмотичний тиск, величина якого визначається концентрацією розчинених речовин у

середовищі. Цитоплазматична мембрана бактеріальної клітини регулює проникнення в клітину і вихід із неї води і розчинених речовин, зберігаючи при цьому осмотичну рівновагу. Надходження води з довкілля у клітину можливе лише в тому випадку, коли осмотичний тиск в клітині буде більшим, ніж тиск зовнішнього розчину. При високому осмотичному тиску в середовищі клітина втрачає здатність поглинати з нього воду, що згубно діє на неї. Нормальний осмотичний тиск у клітині визначається в межах від 3 до 7 атм.

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

Гідростатичний тиск. Прокаріоти по-різному

реагують на дію гідростатичного тиску. Наприклад морські бактерії, що мешкають на глибині 1000-10000 м, можуть витримувати тиск до 900 атм. Деякі бактерії, дріжджі, цвільові гриби витримують тиск до 3000 атм, а фітопатогенні віруси - до 5000 атм. Бактерії, які ростуть при звичайному та підвищеному тиску, називають баротолерантними.

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

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

Реакція середовища (рН). Ступінь кислотності або лужності середовища справляє великий вплив на життя мікроорганізмів. Фізіологічне діючою основою в кислих і лужних субстратах є концентрація гідроксильних і водневих іонів (OH^- і H^+). До найбільш кислих природних середовищ належать гарячі кислі джерела і їхні ґрунти, рН у них іноді може сягати 1. З цих місць виділено бактерії, які

водночас є ацидофілами і термофілами. У природі також трапляються такі лужні джерела і озера, рН яких може сягати 8-11. З них виділено бактерії, які можуть добре рости при рН = 8 ... 10 (ціанобактерії та інші).

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

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

зберігання деяких харчових продуктів у квашеному й маринованому вигляді.

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

За характером дії хімічні речовини поділяють на кілька груп:

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

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

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

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

д) солі важких металів (мідь, срібло, свинець, цинк,

ртуть та інші).

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

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

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

Упродовж еволюції в живій природі виникли

різноманітні взаємовідносини як між мікроорганізмами, так і між мікро- та макроорганізмами.

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

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

Коменсалізм - форма симбіозу, при якій має вигоду тільки один партнер, не завдаючи ані шкоди, ані користі іншому. Прикладом цього може бути симбіоз організму людини з нормальною мікрофлорою її тіла (сапрофітна мікрофлора шкіри, травного каналу тощо).

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

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

Антагонізм.

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

Фітонциди

Про лікувальні властивості вищих рослин було відомо ще в глибоку давнину, проте бактерицидну

властивість рослинних виділень вперше було засвідчено Б.П.Токіним у 1928 р. Ці рослинні виділення було названо фітонцидами. Фітонциди - біологічно активні речовини, які виділяються рослинами і характеризуються бактерицидними, фунгіцидними і протистоцидними властивостями. Б. П. Токін вперше звернув увагу на те, що фітонциди володіють антибіотичними властивостями. Разом з В.Г.Дроботько, Б.Ю.Айземан та іншими дослідниками він науково обґрунтував доцільність використання фітонцидів у медицині та інших галузях народного господарства.

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

Чимало антибіотичних препаратів рослинного

походження широко використовуються в медицині, сільському господарстві та інших галузях: аліцин, добутий із часнику; аренарін, виділений із цмину піскового; берберин, який одержують з багатьох видів рослин з родини жовтецевих. Ці препарати виявляють бактерицидну дію на стрептококи, стафілококи, дифтерійну паличку, гонококи і сальмонели. Фітонциди іманін і новоіманін, виділені зі звіробою звичайного, виявилися високо активними проти бактерій і вірусів рослин. Виділений з бавовника антибіотичний препарат госіпол застосовується для лікування оперізуючого лишая, псоріазу та інших вірусних захворювань.

Серед інших рослинних антибіотиків, які виявляють антимікробну дію, слід назвати: лютенарин, виділений з кореневищ глечиків жовтих; ксантин - із коноплі посівної; рафін - із редьки чорної; сальвій - із шавлії лікарської; хінін - з кори хінного дерева і хлоро-філіпт - з листків евкаліпту. Вважають, що фітонциди є одним із факторів імунітету рослин, також вони відіграють важливу роль у взаємовідносинах організмів у біоценозах. Великий внесок стосовно вивчення і впровадження в практику фітонцидних препаратів зробили вчені Інституту мікробіології і

вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Тема 6. Метаболізм мікроорганізмів.

1. Потреба мікроорганізмів в елементах живлення і їх джерела. Загальна характеристика різних типів живлення.
2. Процеси конструктивного і енергетичного обміну.
3. Способи одержання енергії мікроорганізмами (бродіння, дихання, фотосинтез).

1. Типи живлення. На базі трьох критеріїв розглядається кілька типів живлення:

щодо джерела вуглецю (автотрофія, гетеротрофія);

щодо донора електронів (органотрофія, гетеротрофія);

щодо джерела енергії (хемотрофія, фототрофія).

За відношенням до джерела вуглецю мікроорганізми поділяються на автотрофи та гетеротрофи. Автотрофи застосовують CO_2 і самі синтезують органічні речовини. Донором електронів в них є неорганічні сполуки: H_2 , NH_3 , H_2S , S , Fe^{2+} . В залежності від донора бактерії мають назву: водневі, нітрифікуючі, сіркобактерії, залізобактерії. Їх назва - літоавтотрофи. Більшість з них виконує важливі

функції в кругообігу речовин в природі. С.М.Виноградський відкрив новий тип живлення - хемосинтез, коли окислення молекулярного водню, NH_3 , H_2S і заліза є джерелом енергії аеробних бактерій.

Джерело енергії	Джерело електронів	Джерело вуглецю	Група мікроорганізмів
Світло	Неорганічні сполуки	CO_2	Фотолітоавтотрофи
Світло	Неорганічні сполуки	Органічні сполуки	Фотолітогетеротрофи
Світло	Органічні сполуки	CO_2	Фотоорганавтотрофи
Світло	Органічні сполуки	Органічні сполуки	фотоорганогетеротрофи
Хімічні реакції	Неорганічні сполуки	CO_2	Хемолітоавтотрофи
Хімічні реакції	Неорганічні сполуки	Органічні сполуки	Хемолітогетеротрофи
Хімічні реакції	Органічні сполуки	CO_2	Хеморганавтотрофи
Хімічні реакції	Органічні сполуки	Органічні сполуки	Хемоорганогетеротрофи

Серед автотрофів відомі ціанові, пурпурові, зелені бактерії, які використовують сонячну енергію і проводять фотосинтез.

Гетеротрофи - це мікроорганізми, які для живлення потребують органічні сполуки: амінокислоти, білки, вуглеводи, ліпіди. Їх сучасна назва -

хемоорганогетеротрофи. У цих організмів вуглецева сполука є єдиним джерелом вуглецю, електронів і енергії. Це найбільш досліджена група мікроорганізмів, широко розповсюджена в природі. Вони поділяються на сапрофіти і паразити.

Враховуючи три критерії виділяють 8 груп мікроорганізмів, що різняться за типом живлення

Механізм транспорту поживних речовин до клітини.

Мікроорганізмам властивий голофітний тип живлення. Вони не мають органів травлення, а поживні речовини надходять у водному розчині різними механізмами. Особлива регуляторна роль в транспорті поживних речовин до середини клітини і виведенні метаболітів назовні належить цитоплазматичній мембрані. ЦПМ має пори малого діаметру, які характеризуються вибірковою напівпроникністю. В ЦПМ локалізовані пермеази - білки переносу із суворою специфічністю до субстратів. Їх кількість буває значною.

Розрізняють такі типи транспорту:

активний транспорт - коли з середовища із низькою концентрацією поживних речовин у клітину поступають

харчові речовини за допомогою пермеаз і енергії АТФ.

полегшена дифузія - коли із середовища з високою концентрацією речовини транспортуються за допомогою пермеаз без затрат енергії.

пасивна дифузія - коли із середовища речовини рухаються з зони високої концентрації в зону низької концентрації в клітину за градієнтом концентрації або електростатичного потенціалу.

2. Види обміну речовин у мікроорганізмів.

Метаболізм - сукупність процесів, що відбуваються у клітинах в процесі життєдіяльності. Він складається з двох різноспрямованих потоків реакцій: конструктивного та енергетичного метаболізму.

Конструктивний обмін (**анаболізм**) має місце, коли з речовин, що надходять зовні, та енергії синтезуються речовини клітини.

Енергетичний обмін (**катаболізм**) - реакції розкладання органічних субстратів з утворенням макроергічних зв'язків АТФ. Енергетичний та конструктивний метаболізми одночасні, тісно пов'язані. Виділення енергії відбувається в процесі дихання під впливом окисно-відновних ферментів.

Усі бактерії за типом дихання діляться на аеробів та анаеробів.

Аероби - бактеріальні клітини, які окислюють органічні субстрати з виділенням енергії за реакцією: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \Rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + Q$. Енергія, яка вивільняється, застосовується бактеріями на біосинтез, структур клітини, механічну роботу або виділяється у вигляді світлової та теплової енергії. Анаероби - бактерії, які не можуть застосовувати атмосферний кисень. Для одержання енергії вони використовують анаеробні дегідрогенази. Цей тип відкрив Пастер і дав назву бродіння (спиртове, маслянокисле).

Розрізняють підтипи: облігатні, факультативні типи дихання.

3. Бродіння - біохімічний процес розкладу вуглеводів, що відбувається під впливом мікроорганізмів або їх ферментів:

- **Бродіння** (також зброджування, ферментація), це анаеробний метаболічний розпад молекул (наприклад, глюкози) за допомогою мікроорганізмів. Найчастіше, кажучи про бродіння, мають на увазі перетворення цукру на спирт за допомогою дріжджів, але, наприклад,

при виробництві кефіру використовується бродіння за допомогою інших бактерій.

- **Спиртове бродіння** - ферментативний процес неповного окислення гексоз з утворенням спирту.
- **Молочнокисле бродіння** - процес анаеробного окислення вуглеводів, кінцевим продуктом при якому виступає молочна кислота
- **Метанове бродіння** - метод біотехнології, здатний перетворювати більшість полімерних та інших органічних матеріалів на метан і вуглекислий газ за анаеробними умовами.
- **Пропіоновокисле бродіння** - шлях анаеробного окиснення вуглеводів, що здійснюється бактеріями родини *Propionibacteriaceae*, кінцевими продуктами є пропіонова та оцтова кислоти, а також вуглекислий газ.
- **Маслянокисле бродіння** - шлях анаеробного окиснення вуглеводів, що здійснюється бактеріями родів *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium* та *Fusobacterium*, кінцевими продуктами є масляна та оцтова кислоти, етанол, ацетон, ізопропанол, бутанол, а також вуглекислий газ і водень.
- **Лимоннокисле бродіння** - окислення вуглеводів, деяких

спиртів і органічних кислот до лимонної кислоти плісневими грибами з родів *Aspergillus* і *Penicillium*.

•**Оцтове бродіння** - це окислення бактеріями етилового спирту у оцтову кислоту. Оцтова кислота використовується у харчовій та хімічній промисловості, у с.-г. та ін. галузях.

Дихання мікроорганізмів. Водночас з процесами живлення у мікроорганізмів відбуваються процеси дихання, суть яких полягає в окисленні складних органічних сполук до простих з одночасним виділенням енергії, яка використовується мікроорганізмами для росту, розвитку, розмноження та інших процесів життєдіяльності.

Більшість мікроорганізмів (як і вищі рослини та тварини) для дихання використовують молекулярний кисень атмосфери. Натомість ще в 1861 р. Л.Пастер відкрив, що деякі дріжджі і бактерії можуть жити без доступу атмосферного кисню. Енергію, потрібну для життя, вони дістають завдяки процесам бродіння. Для визначення життя в без кисневому середовищі Л.Пастер запропонував термін анаеробіоз.

За типом дихання або ставлення до кисню повітря всі мікроорганізми поділяють на облігатних аеробів,

мікроаерофілів, факультативних анаеробів і облигатних анаеробів.

Облігатні аероби добре розвиваються, якщо в атмосфері близько 20% кисню (сарцини, сінна паличка, туберкульозні палички, холерні вібріони та ін.).

Мікроаерофіли потребують для свого розвитку значно менше кисню, оскільки висока концентрація його хоч і не вбиває, але пригнічує їхній ріст (молочнокислі бактерії, актиноміцети, лептоспіри тощо).

Факультативні анаероби можуть жити як в аеробних, так і в анаеробних умовах, тобто за наявності й за відсутності молекулярного кисню (більшість сапрофітних і патогенних мікробів).

Облігатні анаероби за присутності молекулярного кисню повітря розвиватися не можуть. Для них він є шкідливим чинником. До цієї групи належать збудники маслянокислого бродіння, клостридії правця, ботулізму та ін.

Аеробне дихання мікроорганізмів. Кінцеві продукти кожної стадії приведені в рамці

Загальна схема процесу дихання. На рис.1 представлена загальна схема процесу дихання. Ацетильні

групи, утворені із вуглеводів, жирів і амінокислот на другій стадії катаболізму, вступають в третю стадію, тобто **цикл трикарбонових кислот** (його ще називають **циклом лимонної кислоти** або **циклом Кребса**) - загальний кінцевий шлях окислювального катаболізму всіх видів клітинного палива в аеробних умовах. В цьому циклі ацетильні групи розщепляються з вивільненням CO₂ із атомів водню. Наслідки (або відповідні їм електрони) включаються в дихальний ланцюг, що складається із серії переносників електронів. Процес переносу електронів по дихальному ланцюгу к кінцевому акцептору електронів - молекулярному кисню - супроводжується дуже великим зменшенням вільної енергії. Значна частина цієї енергії запасається у формі АТФ, що утворюється в результаті зв'язаного з окисненням фосфорилування АДФ. Сумарна реакція циклу трикарбонових кислот описується наступним рівнянням:



Із цього рівняння видно, що в циклі не залучається ні молекулярний кисень, ні неорганічний фосфат, ні АТФ. Головна функція циклу - це дегідруванні оцтової кислоти, яка в кінцевому випадку призводить до утворення двох

молекул CO_2 і чотирьох пар атомів водню. Цей процес включає ряд послідовних ферментативних реакцій, замкнутих в цикл (на відміну від реакцій гліколітичного ряду, які слідують одна за одною в лінійному порядку). При кожному оберті циклу молекула оцтової кислоти (два атома вуглецю) взаємодіють з молекулою чотирьохвуглецевої сполуки - щавлевооцтовою кислотою, - утворюючи шестивуглецеву сполуку - лимонну кислоту. Потім лимонна кислота руйнується з утворенням двох молекул CO_2 і чотирьохвуглецевої сполуки - янтарної кислоти. Остання в кінцевому випадку окислюється до щавлевооцтової кислоти, яка може знову включатися в цикл. При кожному оберті в цикл залучається одна молекула щавлевооцтової кислоти і утворюється дві молекули CO_2 . Одна молекула щавлевооцтової кислоти використовується для утворення лимонної кислоти, але в кінці циклу регенерує. Тому практично щавлевооцтова кислота в циклі не витрачається: однієї її молекули достатньо для окислення неорганічного числа молекул оцтової кислоти.

Таким чином, цикл трикарбонних кислот являється каталітичним у двох відношеннях: по-перше, кожний

окремий етап циклу каталізується специфічним ферментом (як це характерно для всіх в цілому ферментних систем); і, по-друге, на цей рівень каталізу накладається каталітичний ефект самих проміжних продуктів циклу: одна молекула будь-якого проміжного продукту циклу каталізує розщеплення багатьох молекул оцтової кислоти.

Друга фаза аеробного дихання мікроорганізмів складається з реакцій окислення атомів водню, які звільнилися в циклі трикарбонових кислот, киснем повітря з утворенням АТФ. У мікробів (як і у вищих організмів) є особливий апарат - електронно-транспортний ланцюг, за допомогою якого водень (електрони і протони) переноситься від НАД·Н⁺ Н⁺ через низку етапів аж до кінцевого акцептора - кисню повітря. Рухомою силою транспорту водню в дихальному ланцюзі є різниця потенціалів. На початку ланцюга міститься НАД, що має найбільшу величину окисно-відновного потенціалу (О/В = - 0,32 В), а в кінці - кисень, в якого найвища позитивна величина О/ВП = +0,82 В. Решта переносників розміщуються між ними в порядку послідовного зростання позитивного О/ВП. Цей й дає змогу електронам рухатися за

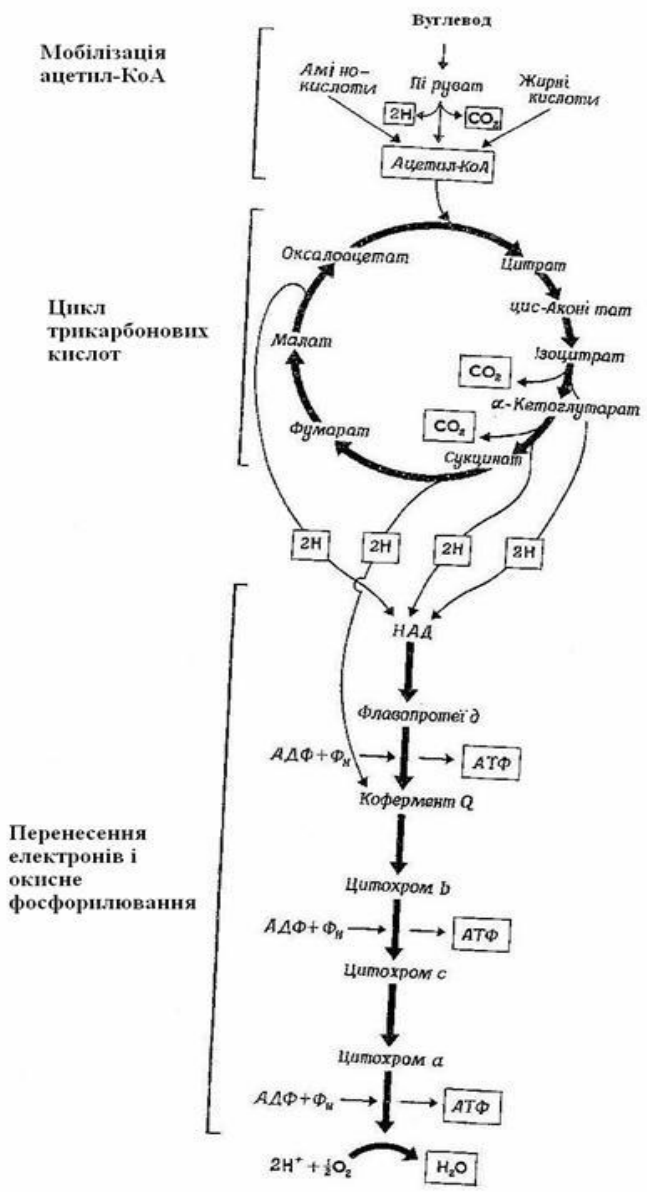
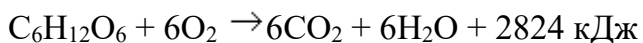


Рис.1 Схема дихання.

електронно-транспортним ланцюгом до кисню. Саме в процесі передачі по ЕТЛ електронів енергія частково нагромаджується в АТФ. Процес нагромадження енергії окислення в АТФ при русі електронів по ланцюгу переносників (якими переважно є ферменти класу оксидоредуктаз) дістав назву окислювального фосфорилування.

У результаті окислювального фосфорилування більша частина енергії пірвиноградної кислоти стає доступною для мікроорганізмів. Сумарно повне окислення глюкози можна зобразити таким рівнянням:



Отже, дихання - це процес, при якому атоми водню (електрони) переносяться від органічних речовин на молекулярний кисень. Слід зазначити, що питання про характер зв'язку між транспортом електронів, з одного боку, і перетворенням фосфорних сполук, з другого, тривалий час залишалося неясним, зокрема невідомим був молекулярний механізм фосфорилування, спряжений з електронним транспортом.

Тривалий час вважалось, що АТФ і подібні їй високо енергетичні сполуки є єдиною формою енергії, яка може

використовуватися клітинами в усіх енергозалежних процесах. Проте пізніше стало відомо, що мікробна клітина використовує ще одну форму енергії - трансмембранний електрохімічний градієнт H^+ , який позначається символом $\Delta\mu_{H^+}$.

Відкриття цієї форми енергії належить англійському біохіміку П.Мітчелю, авторові хеміосмотичної теорії окислювального фосфорилування. Суть цієї теорії полягає в тому, що при перенесенні електронів по ЕТЛ, локалізованому в певних мембранах, які називають енергоперетворюючими, відбувається нерівномірне розподілення H^+ , але й орієнтованого впоперек мембрани електричного поля, тобто виникає трансмембранний електрохімічний градієнт H^+ . Згідно з головним постулатом хеміосмотичної теорії, у мембрані міститься орієнтована АТФ-аза, яка використовує вільну енергію протонного градієнта для синтезу АТФ. Ця реакція поєднана з транспортом H^+ за градієнтом $\Delta\mu_{H^+}$, внаслідок чого відбувається його розрядка. Реакція гідролізу АТФ супроводжується перенесенням H^+ проти градієнта, в результаті чого ззовні мембрани нагромаджується H^+ і

утворюється $\Delta\mu_{x^+}$. Так відбувається взаємне перетворюється $\Delta\mu_{x^+} \Leftrightarrow \text{АТФ}$.

Хемосинтез і фотосинтез.

Як вам відомо, автотрофні організми залежно від джерела енергії поділяють на хемосинтезуючі і фотосинтезуючі.

Хемосинтез. Хемосинтезуючі організми (хемотрофи) для синтезу органічних сполук використовують енергію, яка вивільнюється під час перетворення неорганічних сполук. До цих організмів належать деякі групи бактерій: нітрифікуючі, безбарвні сіркобактерії, залізобактерії тощо.

Нітрифікуючі бактерії послідовно окислюють аміак (NH_3) до нітритів (солі HNO_2), а потім -- до нітратів (солі HNO_3). Залізобактерії одержують енергію за рахунок окиснення сполук двовалентного заліза до тривалентного. Вони беруть участь в утворенні покладів залізних руд. Безбарвні сіркобактерії окиснюють сірководень та інші сполуки сірки до сірчаної кислоти (H_2SO_4).

Процес хемосинтезу відкрив у 1887 році видатний російський мікробіолог С.М.Виноградський. Хемосинтезуючі мікроорганізми відіграють виняткову роль у процесах перетворення хімічних елементів у

біогеохімічних циклах. Біогеохімічні цикли (біогеохімічний колообіг речовин) - це обмін речовинами та забезпечення потоку енергії між різними компонентами біосфери, внаслідок життєдіяльності різноманітних організмів, що має циклічний характер.

Фотосинтез. Фототрофи використовують для синтезу органічних сполук енергію світла. Процес утворення органічних сполук із неорганічних завдяки перетворенню світлової енергії в енергію хімічних зв'язків називають фотосинтезом. До фототрофних організмів належать зелені рослини (вищі рослини, водорості), деякі тварини (рослинні джгутикові), а також деякі прокаріоти - ціанобактерії, пурпурові та зелені сіркобактерії.

Основними з фотосинтезуючих пігментів є хлорофіли. За своєю структурою вони нагадують гем гемоглобіну, але в цих сполуках замість заліза присутній магній. Залізо потрібне рослинним організмам для забезпечення синтезу молекул хлорофілу (якщо в рослину залізо не надходить, то в неї утворюються безбарвні листки, нездатні до фотосинтезу).

Більшість фотосинтезуючих організмів має різні хлорофіли хлорофіл **a** (обов'язковий), хлорофіл **b** (у зелених

рослин), хлорофіл **c** (у діатомових і бурих водоростей), хлорофіл **d** (у червоних водоростей). Зелені й пурпурові бактерії містять особливі бактеріохлорофіли.

В основі фотосинтезу лежить окиснювально-відновний процес, пов'язаний із перенесенням електронів від сполук постачальників електронів (донорів) до сполук, які їх сприймають (акцепторів), з утворенням вуглеводів і виділенням в атмосферу молекулярного кисню. Світлова енергія перетворюється на енергію синтезованих органічних сполук (вуглеводів) в особливих структурах - реакційних центрах, що містять хлорофіл **a**.

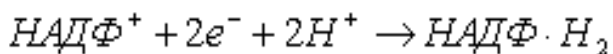
У процесі фотосинтезу у зелених рослин і ціанобактерій беруть участь дві фотосистеми - перша (I) та друга (II), які мають різні реакційні центри та пов'язані між собою через систему перенесення електронів.

У процесі фотосинтезу у зелених рослин і ціанобактерій беруть участь дві фотосистеми -- перша (I) та друга (II), які мають різні реакційні центри та пов'язані між собою через систему перенесення електронів.

Процес фотосинтезу відбувається в дві фази - світлову та темнову. У світлову фазу, реакції якої перебігають у мембранах особливих структур хлоропластів

- тилакоїдів за наявності світла фотосинтезуючі пігменти вловлюють кванти світла (фотони). Поглинання фотонів приводить до «збудження» одного з електронів молекули хлорофілу, який за допомогою молекул - переносників електронів переміщується на зовнішню поверхню мембрани тилакоїдів, набуваючи певної потенційної енергії.

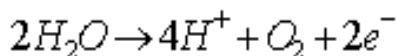
У фотосистемі I цей електрон може повертатись на свій енергетичний рівень і відновлювати її, а може передаватись такій сполуці, як НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат). Електрони, взаємодіючи з іонами водню, які є в навколишньому середовищі, відновлюють цю сполуку:



Нагадаймо, що коли певна сполука віддає електрон - вона окислюється, а коли приєднує - відновлюється. Відновлений НАДФ (НАДФ•H₂) згодом постачає водень, потрібний для відновлення атмосферного CO₂ до глюкози (тобто сполуки, в якій запасається енергія).

Подібні процеси відбуваються й у фотосистемі II. Збуджені електрони, повертаючись на свій енергетичний рівень, можуть передаватись фотосистемі I і таким чином п

відновлювати. Фотосистема II відновлюється за рахунок електронів, які постачають молекули води. Під дією світла за участю ферментів молекули води розщеплюються (фотоліз води) на протони водню та молекулярний кисень, який виділяється в атмосферу, а електрони використовуються на відновлення фотосистеми II:



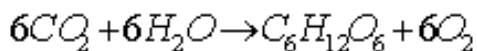
Енергія, вивільнена при поверненні електронів із зовнішньої поверхні мембрани тилакоїдів на попередній енергетичний рівень, запасається у вигляді хімічних зв'язків молекул АТФ, які синтезуються під час реакцій в обох фотосистемах. Деяка її частина витрачається на випаровування води. Таким чином, під час світлової фази фотосинтезу утворюються багаті на енергію (яка запасається у вигляді хімічних зв'язків) сполуки: синтезується АТФ і відновлюється НАДФ. Як продукт фотолізу води в атмосферу виділяється молекулярний кисень.

Реакції темної фази фотосинтезу перебігають у внутрішньому середовищі (матриці) хлоропластів як на світлі, так і за його відсутності. Як згадувалося раніше, в ході реакцій темної фази CO_2 відновлюється до глюкози

завдяки енергії, що вивільнюється при розщепленні АТФ, та за рахунок відновленого НАДФ.

Сполукою, яка сприймає атмосферний CO_2 , є рибульозобіфосфат (п'ятивуглецевий цукор, сполучений із двома залишками фосфорної кислоти). Процес приєднання CO_2 каталізує фермент карбоксилаза. Внаслідок складних і багатоступеневих хімічних реакцій, кожену з яких каталізує свій специфічний фермент, утворюється кінцевий продукт фотосинтезу - глюкоза, а також відновлюється акцептор CO_2 , - рибульозобіфосфат. З глюкози в клітинах рослин можуть синтезуватися полісахариди -- крохмаль, целюлоза тощо.

Підсумкове рівняння процесу фотосинтезу у зелених рослин має такий вигляд:



У фотосинтезуючих прокариот є певні відмінності у перебігу світлової та темної фаз фотосинтезу. У прокариот відсутні пластиди, тому фотосинтезуючі пігменти розташовані на внутрішніх виростах цитоплазматичної мембрани, де і відбуваються реакції світлової фази. У зелених і пурпурових бактерій, на відміну від ціанобактерій, немає фотосистеми II, постачальником

електронів є не вода, а сірководень, молекулярний водень та деякі інші сполуки. Внаслідок цього у цих груп бактерій під час фотосинтезу кисень не виділяється.

Значення фотосинтезу для біосфери важко переоцінити. Саме завдяки цьому процесові вловлюється світлова енергія Сонця. Фотосинтезуючі організми перетворюють її на енергію хімічних зв'язків синтезованих вуглеводів, а потім по ланцюгах живлення вона передається гетеротрофним організмам. Отже, не буде перебільшенням вважати, що саме завдяки фотосинтезу можливе існування біосфери. Зелені рослини та ціанобактерії, поглинаючи вуглекислий газ і виділяючи кисень, впливають на газовий склад атмосфери. Увесь атмосферний кисень має фотосинтетичне походження. Щорічно завдяки фотосинтезу на Землі синтезується близько 150 млрд тонн органічної речовини і виділяється понад 200 млрд тонн вільного кисню, який не тільки забезпечує дихання організмів, але й захищає все живе на Землі від згубного впливу короткохвильових ультрафіолетових космічних променів (озоновий екран атмосфери).

Але загалом процес фотосинтезу малоефективний. У синтезовану органічну речовину переводиться лише 1-2%

сонячної енергії. Це пояснюється неповним поглинанням світла рослинами, а також тим, що частина сонячного світла відбивається від поверхні Землі назад у космос, поглинається атмосферою тощо.

ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ

ПРАВИЛА РОБОТИ В МІКРОБІОЛОГІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

1. У приміщенні лабораторії необхідно підтримувати зразкову чистоту і порядок.
2. Студенти, які не мають білих халатів, до занять не допускаються.
3. В приміщенні лабораторії забороняється їсти, пити, палити, не дозволяються зайві розмови та переміщення по лабораторії.
4. Студенти несуть повну відповідальність за закріплені за ними на робочому місці мікроскопи, обладнання, реактиви та посуд.
5. При роботі з мікроскопами не можна без потреби їх переносити з місця на місце. Категорично забороняється без потреби крутити макро- і мікрогвинтами. Пам'ятайте, що найголовніша частина мікроскопу – це його оптика, яку понад усе слід берегти.
6. Слід суворо дотримуватись правил користування хімічними реактивами, фарбами, легкозаймистими речовинами.

7. Щоб запобігти опікам, посуд з гарячими речовинами при перенесенні обгортають рушником, пам'ятаючи правила безпеки при користуванні з електроприладами.
8. Для попередження розсіювання мікроорганізмів не можна залишати відкритими пробірки, колби, чашки з культурами мікроорганізмів.
9. Після роботи металеві інструменти (пінцети, скальпелі, мікробіологічні петлі) необхідно прожарити на вогні.
10. Після користування скляні піпетки, предметні і покривні скельця з живими препаратами, шпателі ретельно миють з дезінфікуючою рідиною.
11. У кінці заняття студенти миють посуд, прибирають робоче місце.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

Організація робочого місця, техніка безпеки. Будова мікроскопа, техніка мікроскопіювання. Виготовлення препарату в «живій краплині». Знайомство з мікроорганізмами в різних субстратах.

Література: 1 – с. 17-21. 2 – с. 3-23.

Ключові слова: оптична та механічна частини мікроскопу, мікроскопіювання, препарат “жива краплина”, предметні скельця, покривні скельця.

Мета роботи.

1. Ознайомитися з приміщеннями учбової мікробіологічної лабораторії та оснащенням робочого місця, з охороною праці та технікою безпеки.
2. Вивчити будову мікроскопу, правила користування ним в мікробіологічній практиці. Встановити правильне освітлення мікроскопу.
3. Для спостереження живих мікроорганізмів виготовити препарат “жива краплина”. Ознайомитися з мікроорганізмами в різних субстратах. Зробити малюнки. Написати

ВИСНОВОК.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Основні правила техніки безпеки при роботі в мікробіологічній лабораторії.
2. З яких основних частин складається механічна та оптична частини мікроскопу.
3. Назвіть правила користування мікроскопом.
4. Послідовність дій при виготовлені препарату живих клітин мікроорганізмів.
5. Особливості препаратів з живих мікроорганізмів.

ХІД РОБОТИ:

- вивчити

1. Обладнання робочого місця

1. **Штатив** для пробірок.
2. **Промивачка** (колба з трубкою) - для промивання препаратів.
3. **Чашка Петрі** (дві скляних складених чашки) – в якій зберігаються:
марлеві серветки для протирання;
паперові серветки (з фільтрувального паперу)
для виготовлення препаратів.
4. **Спиртівка** для прожарювання препаратів.

5. **Чашка з містком** на якому знаходяться **предметні скельця**. Над чашкою промивають предметні скельця при виготовленні препаратів.

6. **Скляна паличка** для нанесення препаратів на предметне скельце.

7. **Підставка для барвників:**

фуксин – червоний барвник;

метиленова синька – синій барвник;

імерсійна олія – для роботи з імерсійним об'єктивом мікроскопу;

етиловий спирт для виготовлення препаратів.

8. **Світловий мікроскоп.**

2. Будова світлового мікроскопа

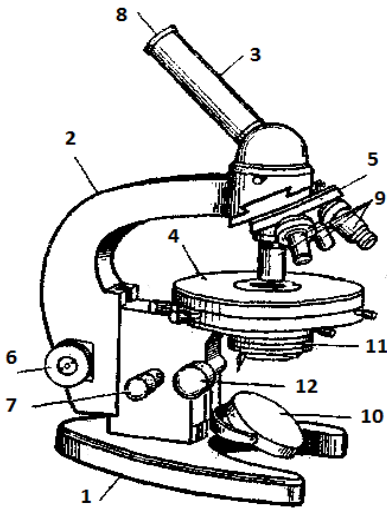
Світловий мікроскоп (марки МБІ- 1, МБР- 1, Біолам) складається з механічної, освітлюваної та оптичної частин (систем).

Механічна частина складається з :

1 – **підставка** на якій мікроскоп стоїть;

2 – **штатив** (тримач) підтримує оптичну частину;

3 – **тубус** (труба) в якому знаходиться окуляр;



4 – **предметний столик** на якому розміщують препарат;

5 – **револьвер** в якому знаходяться об'єктиви;

6 – **макрогвинт** служить для грубого налаштування об'єктива на об'єкт;

7 – **мікрогвинт** служить для наведення більш чіткого

зображення об'єкта.

Оптична частина складається:

8 – **окуляр** (око) збільшує зображення в 7, 10, 15 разів;

9 – **об'єктиви** збільшують зображення в 8, 40, 90 разів.

8 і 40 кратні об'єктиви – сухі об'єктиви;

90 кратний – імерсійний (занурений) об'єктив (працює при наявності імерсійної олії).

Робоча відстань об'єктива – це відстань між об'єктивом і об'єктом на предметному скельці, при якій в окуляр видно чітке зображення об'єкта.

Робоча відстань об'єктивів становить: 8 кратний –

13,8 мм, 40 кратний – 0,6 мм, 90 кратний – 0,12 мм.

Освітлювана частина мікроскопа:

10 – **дзеркало** складається з плоского та увігнутого дзеркал, служить для вловлювання променів світла і спрямовування їх в конденсор;

11 – **кондénсор** складається з системи лінз, служить для згущування (конденсації) променів світла в одній точці (фокус) і спрямування їх на досліджуваній об'єкт;

12 – **гвинт кондénсора** переміщує конденсор регулюючи інтенсивність освітлення об'єкта.

3. Правила роботи з мікроскопом

1. За допомогою револьверу встановити об'єтив який збільшує у 8 раз.
2. Конденсор встановити в середнє положення.
3. Дивлячись в окуляр за допомогою плоского дзеркала встановити світло.

Світло вважається встановленим, коли в окуляр видно **чисте, біле поле зору** без затемнень.

4. На предметний столик встановити препарат.
5. Шукати зображення:

а) дивлячись на об'єтив з **боку** опустити його нижче

робочої відстані за допомогою макрогвина;

б) дивлячись в окуляр **піднімати повільно об'єктив макрогвинтом** (обертати до себе) до тих пір поки не з'явиться зображення (на висоту робочої відстані). Якщо зображення не з'явилося і об'єктив піднятий вище робочої відстані повторюємо пункт **а**).

6. Знайшовши зображення для кращого розглядання препарату користуємось мікрогвинтом.

4. Виготовлення препарату з живих мікроорганізмів

Препарат з живих мікроорганізмів виготовляють використовуючи метод „роздавлених” краплі.

Порядок виготовлення:

1. На чисте предметне скельце наносимо досліджувану рідину (1-2 краплини на центр скельця).
2. Накриваємо краплину накривним скельцем запобігаючи утворенню пухирців повітря.
3. Паперовою серветкою акуратно видаляємо вологу, яка виділилась навкруги накривного скельця. Вірно виготовлений препарат не повинен текти, накривне скельце не повинно плавати в краплині.

4. Встановлюємо препарат на предметний столик і розглядаємо через об'єктиви 8 та 40 кратний. Робимо малюнки побачених мікроорганізмів при різних збільшеннях у зошиті.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

Виготовлення препарату “мазок”, його фіксація і фарбування. Знайомство з основними формами бактерій. Фарбування за методом Грама.

Література: 1 – с. 32-51. 2 – с. 27-51.

Ключові слова: препарат “мазок”, фіксація та фарбування препарату, форми бактерій, методика фарбування за Грамом.

Мета роботи.

1. Переваги імерсійного методу дослідження мікроскопічних препаратів.
2. Приготувати та зафарбувати препарати за методом “мазок”, розглянути з імерсійною системою.
3. Особливості виготовлення та фарбування

препаратів за методом Грама, розглянути з імерсійною системою.

4. Ознайомитися з основними формами бактерій: кулястими, паличкоподібними, звивистими та ниткоподібними. Замалювати малюнки. Написати висновок.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Послідовність дій при виготовленні фарбованих препаратів.
2. Якими фарбами користуються в мікробіології.
3. Форми кулястих мікроорганізмів.
4. Чим бацили відрізняються від бактерій.
5. Як відрізнити спірилу від спірохети.
6. Як поділяються мікроорганізми по відношенню до фарбування за Грамом.
7. У чому вбачають причину різного зафарбовування за Грамом.
8. Яка послідовність операцій при фарбуванні за Грамом.

ХІД РОБОТИ:

- ВИВЧИТИ

1. Виготовлення фіксованих фарбованих

препаратів

Фіксовані фарбовані препарати виготовляють використовуючи метод „мазок”.

Порядок виготовлення:

1. На чисте предметне скельце наносимо досліджувану рідину (1-2 краплини на центр скельця).
2. Висушуємо препарат на повітрі або **високо** (15-20 см) над полум'ям спиртівки до повного висихання.
3. Фіксуємо препарат: 3-4 рази проводимо в полум'ї спиртівки стороною, на якій немає мазка. Зафіксований препарат кладуть на місток над чашкою.

Фіксація проводиться для:

- кращого прилипання мікроорганізмів до скла;
 - кращого проникнення барвника;
 - знезараження препарату.
4. Проводимо фарбування препарату: на охолоджений препарат наносимо 2-3 краплини барвника на всю площу препарату, витримуємо 1-2 хвилини.
 5. Промиваємо препарат водою з промивачки. Препарат вважається промитим, коли вода яка стікає з нього прозора.

6. Висушуємо препарат: крупні краплі води на скельці видаляємо паперовою серветкою не торкаючись препарату, висушуємо препарат на повітрі або **високо** (15-20 см) над полум'ям спиртівки до повного висихання.
7. На центр препарату наносимо 1-2 краплини імерсійної олії і розглядаємо через об'єктив 90 кратний. Робимо малюнок побачених мікроорганізмів у зошиті.

2. Фарбування препаратів за методом Грама (модифікація Сіньова)

Метод заснований на особливостях будови клітин бактерій та кількості муреїну в клітинній стінці: грампозитивні (50-90 %), грамнегативні (1-10 %).

Методику запропоновано Крістіаном Грамом.

Порядок виготовлення:

1. На висушений фіксований препарат наносимо папірець з барвником генціан-віолет, додаємо декілька крапель води для того, щоб барвник з папірця вимився і проник в препарат. Витримуємо 2-3 хвилини. Знімаємо папірець скляною паличкою.

2. Не промиваючи препарат наносимо 1-2 краплини розчину Люголя для закріплення барвника витримуємо 1-2 хвилини.
3. Не промиваючи препарат наносимо 1-2 краплини етилового спирту для знебарвлення грамнегативних бактерій витримуємо 30 секунд і зразу ж промиваємо водою з промивачки.
4. На промитий препарат наносимо барвник фуксин 2-3 краплини на всю площу препарату на 1-2 хвилини для забарвлення грамнегативних бактерій.
5. Промиваємо препарат водою з промивачки. Препарат вважається промитим, коли вода яка стікає з нього прозора.
6. Висушуємо препарат: крупні краплі води на скельці видаляємо паперовою серветкою не торкаючись препарату, висушуємо препарат на повітрі або високо (15-20 см) над полум'ям спиртівки до повного висихання.
7. На центр препарату наносимо 1-2 краплини імерсійної олії і розглядаємо через об'єктив 90 кратний. Робимо малюнок побачених мікроорганізмів у зошиті.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

Знайомство з морфологічними ознаками грибів і актиноміцет. Представники різних класів грибів, їх роль у природі та агрономії.

Література: 1 – с. 44-46, 58-62. 2 – с. 27-43.

Ключові слова: гриби, актиноміцети, міцелій, спороносці, спори, конідії, конідієносці.

Мета роботи.

1. Розглянути посіви мікроорганізмів на живильних середовищах, знайти колонії грибів та актиноміцет.
2. Розглянути колонії грибів та актиноміцет відмітити спільне та відмінне між ними. Звернути увагу на розміри міцелію, багатоклітинність чи одноклітинність, форми спороносців. Замалювати в зошит малюнки.
3. Приготувати живі культури грибів та актиноміцет, вивчити будову одноклітинного та багатоклітинного міцелію та органи безстатевого розмноження в грибів та актиноміцет *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*.
4. Замалювати мікроскопічну картину всіх

досліджуваних препаратів.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Що спільне та відмінне у актиноміцет та бактерій, актиноміцет та грибів.
2. Особливості зовнішньої та внутрішньої будови вищих та нижчих грибів.
3. Класи нижчих та вищих грибів принципи класифікації.
4. Спільні та відмінні ознаки прокариот та еукариот.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

Поживні середовища та їх приготування. Методи стерилізації. Техніка посіву мікроорганізмів.

Література: 1 – с. 88-98. 2 – с. 53-62.

Ключові слова: поживні середовища, стерилізація, посів мікроорганізмів, м'ясо-пептонний бульйон, м'ясо-пептонний агар.

Мета роботи.

1. Ознайомитись з різними видами поживних середовищ для вирощування мікроорганізмів, приготувати одне з них.
2. Простерилізувати невеликі предмети

- (шпателі, петлі, скальпелі) в полум'ї спиртівки.
3. Завернути чашки Петрі, піпетки та пробірки в папір, покласти в піч Пастера для стерилізації.
 4. Підготувати автоклав до роботи.
 5. Наповнити три пробірки поживним середовищем по 9 мл та помістити в автоклав для стерилізації.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Для чого призначені живильні середовища.
2. Охарактеризуйте природні та синтетичні середовища, наведіть приклади.
3. Призначення елективних середовищ. Наведіть приклади.
4. Як приготувати тверді живильні середовища.
5. Способи термічної стерилізації, їх переваги та недоліки.
6. Перелічіть послідовність операцій при автоклавованні.
7. В яких випадках користуються тиндалізацією, пастеризацією, дезінфекцією.

8. Яким методом стерилізації можна вбити спори.

ХІД РОБОТИ:

- вивчити

1. Живильні середовища

Для вирощування бактерій в лабораторних умовах, дослідження їх різноманітних властивостей, тривалого зберігання використовують живильні середовища. Вони повинні відповідати певним стандартам, створюючи оптимальні умови для росту, розмноження й життєдіяльності мікроорганізмів.

Бактерії потребують наявності в живильному середовищі азоту, вуглецю та водню для побудови власних білків. Водень і кисень для клітин постачає вода. Середовища повинні бути збалансованими за мікроелементами і містити іони заліза, міді, марганцю, цинку, кальцію, натрію, калію, неорганічні фосфати.

Важливим є стабілізація рН середовища, високої буферності. Середовища повинні мати певну в'язкість, густину, бути прозорими й обов'язково стерильними.

Численні потреби мікроорганізмів зумовлюють велике розмаїття живильних середовищ, які розрізняються за походженням, консистенцією, складом та призначенням.

Класифікація живильних середовищ

<i>- за походженням:</i>			
природні		штучні	
		<i>підвид</i> - синтетичні	
<i>- за консистенцією:</i>			
рідкі	напіврідкі	тверді	
<i>- за призначенням:</i>			
звичайні	спеціальні	елективні	диференціально- діагностичні

За *походженням* живильні середовища поділяють на **природні** та **штучні**.

Природні середовища являють собою натуральний продукт – відвари та настої з молока, яєць, овочів, м'яса, риби, дріжджів, картоплі, бобових та ін.

Штучні середовища виготовляють за певними рецептами з різних настоїв або відварів тваринного або рослинного походження з додаванням неорганічних солей, вуглеводів та азотистих речовин.

Синтетичні середовища (особлива група штучних середовищ) готують з хімічно чистих речовин (солей, вуглеводів, амінокислот, вітамінів та ін.), які беруть у точно встановленій кількості, на основі дистильованої води.

За *консистенцією* розрізняють середовища **рідкі, напіврідкі, тверді.**

Рідкі середовища складаються з води та розчинених в ній речовин (м'ясна вода, м'ясо-пептонний та бобово-пептонний бульйон та ін.).

Тверді середовища готують шляхом додавання до рідких желатини (10-15 %) або агару (1-2 %).

Напіврідкі середовища готують з додаванням агару або желатини тільки у меншій кількості (0,2-0,3 %).

Желатина – кислий азотовмісний продукт, який добувають при виварюванні кісток та хрящів.

Агар – рослинна желеподібна речовина, яку одержують з морських водоростей. Складається в основному з поліцукрів.

За *призначенням* розрізняють середовища: **звичайні, спеціальні, елективні, диференціально-діагностичні.**

Звичайні середовища використовують для вирощування більшості мікроорганізмів. До них належать м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), м'ясо-пептонний агар (МПА), м'ясо-пептонна желатина (МПЖ) та ін.

Спеціальні середовища застосовуються тоді, коли мікроорганізми не ростуть на простих. Використовують для

виділення та культивування окремих груп або видів мікроорганізмів. Наприклад, середовище Чапека – для культивування грибів та ін.

Елективні середовища використовують для цілеспрямованого виділення та накопичення бактерій з матеріалу, який містить багато сторонніх мікроорганізмів. Створюючи такі середовища враховують біологічні особливості бактерій певного виду, які відрізняють їх від інших. До таких середовищ належать накопичувальні середовища С.М. Виноградського для більшості ґрунтових мікроорганізмів.

Диференціально-діагностичні середовища дозволяють визначати певні біохімічні властивості мікроорганізмів і проводити їх первинну диференціацію. За їх допомогою виявляють ензими, що виділяють мікроорганізми, одні з яких розкладають білки та вуглеводи, а інші викликають реакції окислення та відновлення.

2. Методи стерилізації

Стерилізація (лат. sterilis – безплідний) знепліднення – повне знищення зародків мікроорганізмів в

живильних середовищах, посуді та іншому.

В основному використовують стерилізацію нагріванням.

Прожарювання проводять в полум'ї спиртівки або газового пальника. Прожарюють безпосередньо перед використанням петлі, голки, шпатель, мілкі металеві предмети (ножиці, пінцети), а також скляні палички, предметні, накривні скельця та інше.

Стерилізація сухим жаром. Використовують для стерилізації посуду та сухих речовин (крохмалю, крейди) нагріванням в сушильній шафі при температурі 170°C протягом 2 годин.

Перед стерилізацією колби, пробірки закривають ватно-марлевими корками, чашки Петрі, піпетки загортають в папір, щоб після стерилізації зберігати посуд стерильним.

Стерилізація текучою парою. Стерилізують посуд, а також деякі живильні середовища, які псуються від температури вищої за 100°C (середовища з вуглеводами, желатиною, картоплею, молоком). Стерилізацію проводять в кип'ятильнику Коха. **Роздрібнена стерилізація** живильних середовищ проводиться по 30 хвилин протягом

трьох діб щоденно. При нагріванні гинуть вегетативні клітини, спори більшості мікроорганізмів залишаються життєздатними. Після нагрівання середовище переносять в термостат на добу при температурі 28-30°C. Спори при цьому проростають у вегетативні клітини, які гинуть при наступному нагріванні в кип'ятильнику Коха. Такі дії повторюють три рази.

Пастеризація (метод запропонований Л.Пастером). Це неповна або часткова стерилізація. Живильні середовища або продукти (молоко, пиво, вина) нагрівають до температури 65-80°C протягом 30 хвилин (гинуть вегетативні клітини, спори більшості мікроорганізмів залишаються життєздатними) з наступним швидким охолодженням та зберіганням при температурі 10-11°C.

Стерилізація насиченою парою під тиском. Метод повної стерилізації при якому гинуть вегетативні клітини та спори мікроорганізмів. Стерилізують живильні середовища, посуд. Проводиться в автоклаві при температурі 120°C, тискові 1 атм протягом 20 хвилин.

Стерилізація фільтруванням. Метод холодної стерилізації. Проводиться через дрібнопористі фільтри. Використовується для стерилізації живильних середовищ,

які швидко руйнуються при нагріванні (мінеральні води, соки). Фільтри виготовляють з каоліну, целулоїду, нітроцелюлози. Через фільтри проходять молекули речовини, віруси, бактеріофаги.

Контрольні питання з дисципліни «Мікробіологія»

1. Роль вітчизняних вчених у розвитку мікробіології (С.Н. Виноградського, Д.К. Заболотного та інших).
2. Роль зарубіжних вчених у розвитку мікробіології (роботи А. Левенгука, Л. Пастера, Р. Коха, Е. та інших).
3. Класифікація живильних середовищ.
4. Методи стерилізації.
5. Типи рухливості у бактерій.
6. Принципи систематики мікроорганізмів.
7. Морфологічні типи прокаріотів.
8. Особливості організації прокаріотичної клітини.
9. Спороутворення у бактерій.
10. Роль праць Івановського Д.Й. у розвитку вірусології.
11. Фізична структура та хімічна будова вірусів та фагів.
Малюнок.
12. Проникнення вірусів та фагів в живі організми, їх репродукція, методи досліджень.

13. Фази росту бактеріальної культури на поживному середовищі. Вказати назви, надати малюнок.
14. Вплив на мікроорганізми факторів оточуючого середовища. Відношення мікроорганізмів до температури.
15. Класифікація мікроорганізмів за відношенням до кисню. Наведіть приклади.
16. Вплив на мікроорганізми хімічних речовин: лугів, кислот, спиртів, фенолів, солей важких металів та використання їх для захисту рослин від хвороб.
17. Вплив на мікроорганізми факторів реакції середовища (рН) та використання цих знань при консервації продуктів, в квашенні овочів та силосуванні кормів.
18. Симбіоз, метабіоз. Суть цих відносин. Приклади цих взаємовідносин серед мікроорганізмів та між мікробами та рослинами.
19. Антагонізм. Його суть. Конкретні приклади. Використання антагоністів в сільському господарстві.
20. Сучасні досягнення мікробіології та введення їх до практичного використання в сільське господарство.
21. Фізіологічний період розвитку мікробіології. Відкриття Л. Пастера.

22. Значення мікробіології для сільського господарства та практичної діяльності агронома.
23. Розвиток мікробіологічної науки в Україні. Значення праць Мечнікова І.І., Виноградського С.М., Омелянського В.Л., Заболотного Д.К., Гамалії М.Ф.
24. Основні групи мікроорганізмів, їх класифікація. Особливості будови клітин прокариот та еукаріот.
25. Гриби, морфологічні особливості, будова та розмноження. Класи грибів, їх характеристика. Малюнки.
26. Використання продуктів метаболізму грибів у виробництві та сільському господарстві.
27. Особливості будови, роль та значення структур прокариотичної клітини. Малюнок.
28. Класифікація бактерій за формою, розміщенням спор у клітинах, типами розташування джгутиків. Малюнок.
29. Способи розмноження прокариотичних мікроорганізмів, їх характеристика.
30. Паразитизм. Хижацтво. Їх конкретні приклади. Використання цих знань в захисті рослин.
31. Взаємостосунки мікроорганізмів з рослиною. Епіфітна та ризосферна мікрофлора.

32. Хімічний склад клітин мікроорганізмів.
33. Механізми надходження поживних речовин в мікробну клітину.
34. Класифікація мікроорганізмів за способами живлення. Суть автотрофного та гетеротрофного живлення.
35. Фотоавтотрофи. Пурпурові та зелені бактерії. Їх будова та фізіологічні особливості. Значення.
36. Хемоавтотрофи. Основні представники. Їх морфологічні та фізіологічні особливості. Значення. Роль робіт Виноградського С.М. у вивченні цих мікроорганізмів.
37. Гетеротрофний тип живлення. Сапрофіти та паразити. Навести приклади.
38. Висвітлити суть обміну речовин у мікроорганізмів, його основних складових анаболізму та катаболізму.

**Тестові питання для самоконтролю
з дисципліни «Мікробіологія»**

1. Класи нижчих грибів:

1. Базидіоміцети.
2. Дейтероміцети.
3. Ооміцети.
4. Хітридіоміцети.
5. Зигоміцети.

2. Відмінні від рослин і тварин властивості вірусів:

1. Генетична інформація міститься в ДНК.
2. Мають дуже просту організацію.
3. Відсутня система синтезу білків.
4. Роздільний спосіб розмноження.

3. Між “імерсійним” об’єктивом мікроскопа та препаратом повинно знаходитись:

1. Олія.
2. Повітря.
3. Вода.
4. Накривні скельця.

4. Доберіть продовження визначення мікробіологічного поняття культура – це ...

1. Структурні особливості мікроорганізмів.
2. Мікроорганізми, які вирощено на живильному середовищі.
3. Морфологічна та фізіологічна ознака.

5. Функція, які виконують спори актиноміцет:

1. Руху.
2. Захисту від несприятливих умов середовища.
3. Накопичення запасних поживних речовин.
4. Розмноження.

5. Прикріплення до субстрату.

6. Відмітьте основні особливості актиноміцет:

1. Займають проміжне положення між дріжджами та грибами.
2. Займають проміжне положення між бактеріями та грибами.
3. Розмножуються спорами.
4. Не мають міцелію.

7. Досягнення вченого-мікробіолога А.Левенгука...

1. Відкриття автотрофії.
2. Відкриття вірусів.
3. Описова мікробіологія.
4. Відкриття анаеробного дихання.

8. Функції капсули бактеріальної клітини:

1. Захист від механічних пошкоджень.
2. Осмотичний бар'єр.
3. Роль при рості та ділені бактерій.
4. Роль в розподілі генетичного матеріалу.

9. Розмноження вірусів відбувається:

1. Діленням.
2. Роздільно.
3. Брунькуванням.

4. Спорами.

10. Мікробіологічне поняття штаму означає...

1. Спосіб розмноження мікроорганізмів.
2. Культура одного й того ж виду, яку виділено з різних джерел.
3. Колір колонії мікроорганізмів.

11. Кількість спор, яка формується в клітині бактерій:

1. Одна.
2. Дві.
3. Багато.

12. Вчені, які досліджували ґрунтову мікрофлору:

1. Виноградський С.М.
2. Гамалея М.Ф.
3. Заболотний Д.К.
4. Омелянський В.Л.
5. Холодний М.Г.

13. Генетичний матеріал бактерій знаходиться у:

1. Хлоропластах.
2. Мітохондріях.
3. Нуклеоїді.
4. Рибосомах.

14. Мікробіологічне поняття чисті культури – це...

1. Морфологічна та фізіологічна ознака.
2. Скупчення клітин різних видів.
3. Скупчення клітин одного виду.

15. Елементарна структурна одиниця вірусів:

1. Віріон.
2. Клітина.
3. Молекула ДНК.
4. Молекула білка.

16. Кулясті бактерії з'єднані в ланцюжок:

1. Монококи.
2. Тетракоки.
3. Стрептококи.
4. Стафілококи.
5. Сарцини.

17. Функція джгутиків бактеріальної клітини:

1. Засіб розмноження.
2. Засіб руху.
3. Прикріплення до субстрату.

18. Представники мікроорганізмів еукаріотів:

1. Гриби.
2. Бактерії.
3. Водорості.

4. Протіші.
5. Синьо-зелені водорості.

19. Нуклеїнова кислота вірусу синтезуються клітиною-господарем у:

- 1 Рибосомах.
- 2 Ядрі.
- 3 Цитоплазмі.
- 4 Вакуолях.
- 5 Мітохондріях.
- 6 Хлоропластах.

20. Нуклеокапсид може складатися з:

1. ДНК.
2. РНК.
3. ДНК та РНК.
4. Білків.
5. Вуглеводів.

21. До складу клітин прокаріотів належать:

1. Істинне ядро.
2. Нуктеоїд.
3. Целюлоза, хітин.
4. Пептидоглікан (муреїн).
5. Мітохондрії.

6. Капсула.

22. До вищих грибів належать класи...

1. Базидіоміцети.
2. Дейтеромицети.
3. Ооміцети.
4. Хітридіоміцети.
5. Аскоміцети.
6. Зигоміцети

23. Вірусний білок синтезується клітиною-господарем у:

1. Рибосомах.
2. Ядрі.
3. Цитоплазмі.
4. Вакуолях.
5. Мітохондріях.
6. Хлоропластах.

24. Функції, які виконують спори бактерій:

1. Руху.
2. Захисту від несприятливих умов середовища.
3. Накопичення запасних поживних речовин.
4. Розмноження.
5. Прикріплення до субстрату.

25. Характерне для „сухих” об’єктів збільшення:

1. 90 х.
2. 40 х.
3. 8 х.

26. Представники мікроорганізмів прокаріотів:

1. Гриби.
2. Бактерії.
3. Водорості.
4. Протисті.
5. Синьо-зелені водорості.

27. Функції фімбрій бактеріальної клітини:

1. Засіб розмноження.
2. Засіб руху.
3. Прикріплення до субстрату.

28. До складу клітин еукаріотів належать:

1. Істинне ядро.
2. Нуклеоїд.
3. Целюлоза, хітин.
4. Пептидоглікан (муреїн).
5. Мітохондрії.
6. Капсула.

29. Функції пілей бактеріальної клітини:

1. Засіб розмноження.

2. Засіб руху.

3. Прикріплення до субстрату.

30. Кулясті бактерії об'єднані у вигляді „грона винограду”:

1. Монококи.

2. Тетракоки.

3. Стрептококи.

4. Стафілококи.

5. Сарцини.

31. Мікробіологічне поняття колонія – це:

1. Спосіб розмноження бактерій.

2. Видиме неозброєним оком накопичення клітин одного виду.

3. Культура одного й того ж виду, яку виділено з різних джерел.

32. Досягнення вченого-мікробіолога Л.Пастера...

1. Відкриття автотрофії.

2. Відкриття вірусів.

3. Описова мікробіологія.

4. Відкриття анаеробного дихання.

33. Спільним між бактеріями та актиноміцетами є:

1. Розмноження спорами.

2. Джгутики.
3. Одноклітинність.
4. Багатоклітинність.

34. Пастеризація проводиться при температурі...

1. 65-800С.
2. 100-1200С.
3. 0-100С.
4. 150-1700С.

35. Облігатними аеробами називаються мікроорганізми, які:

1. Не потребують молекулярний кисень.
2. Обов'язково потребують вільний кисень.
3. Гинуть за наявності кисню в середовищі.

36. Мікроорганізми, які поселяються на живому організмі і живуть за його рахунок:

1. Сапрофіти.
2. Антагоністи.
3. Паразити.
4. Симбіонти.

37. Мікроорганізми, які тривалий час існують взаємно разом...

1. Паразити.

2. Антагоністи.
3. Коменсали.
4. Симбіонти.
5. Сапрофіти.

38. Облігатними анаеробами називають мікроорганізми, які:

1. Наявність кисню не заважає.
2. Не потребують молекулярний кисень.
3. Обов'язково потребують вільний кисень.
4. Гинуть за наявності кисню в середовищі

39. Співіснування мікроорганізмів при якому продукти життєдіяльності одного є джерелом енергії для іншого...

1. Асоціативні.
2. Метабіоз.
3. Симбіоз.
4. Антагонізм.

40. Процес бродіння це:

1. Використання сонячного світла.
2. Окисно-відновний процес при якому роль донора і акцептора атомів водню відіграють органічні сполуки.
3. Окисно-відновний процес при якому донор атомів водню – органічні та мінеральні сполуки, акцептор –

неорганічні сполуки.

Рекомендована література

Основна

1. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология М.:Колос,1987.
2. Теппер Е.З.,Шильникова В.К.,Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии.-М.:Колос,1987.
3. Харченко С.М. Мікробіологія. – К.: Сільгоспосвіта, 1994.
4. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія. – К.: НУХТ, 2004. – 471 с.

Додаткова

1. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. - М. :Изд-во МГУ,1991.
2. Биологические основы плодородия почв. /Под ред. Берестецкого О.А. - М.:Колос,1984.
3. Ежов Г.И. Руководство к практическим занятиям по сельскохозяйственной микробиологии М.: Высшая школа, 1981.
4. Емцев В.Т, Микробы, почва, урожай.- М.:Колос,1980.

5. Круглов Ю.В. Микрофлора почвы и пестициды. М.: Агропромиздат, 1991.
6. Муромцев П.С. и др. Основы сельскохозяйственной биотехнологии М.: Агропромиздат, 1990.
7. Основи біологічного методу захисту рослин. / За ред. М.П.Дяченка.-К.:Урожай,1990.