МІКРОБІОЛОГІЯ

Том 1

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Київ — 2020

УДК 61 (477–25)"18/19"
Ц 565

Затверджено вченою радою
Київського національного університету імені Тараса Шевченка
11 грудня 2018 року

Рецензенти:

д-р біол. наук, проф., акад. НАН України **В. С. Підгорський**
(інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного)

д-р біол. наук, проф., член-кор. НАН України. **В. О. Іваниця**
(Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова)

к. б. н., проф. **С. О. Гнатуш**
(Львівський національний університет імені Івана Франка)

Автори: Сергійчук М. Г. Сківка Л. М., Сергійчук Т. М., Радченко О. С., Степура Л. Г., Сенчило Н. В., Юмина Ю. М., Домбровська І. В., Рудик М. П., Моложава О. С., Позур В. В., Файдюк Ю. В.

Мікробіологія. Том 1 : підручник / Сергійчук М. Г., Сківка Л. М., Сергійчук Т. М. та ін. — К. : ФОП Маслаков, 2020. — 500 с.

Підручник є третім виданням (1-е вид. — 2001 р., 2-е вид. — 2003 р.), яке складається з двох томів. Перший том охоплює історичні відомості про розвиток мікробіологічної науки, розділи, що стосуються морфології та будови бактеріальної клітини, метаболізму та закономірностей росту мікроорганізмів, генетики бактерій, систематики прокаріотів, екології мікроорганізмів та їх біогеохімічної діяльності , використання мікроорганізмів людиною, а також розділ санітарної мікробіології. Другий том присвячено основним напрямкам медичної мікробіології: механізмам взаємодії мікроорганізмів із макроорганізмом, характеристиці симбіотичної мікробіоти людини, її порушенням та корекції цих порушень, інфекції та інфекційному процесу, протиінфекційному імунітету, засобам лікування та профілактики інфекційних захворювань. У третьому виданні в цілому збережено логіку та послідовність викладення матеріалу у попередніх виданнях, проте окремі розділи суттєво доповнені та оновлені з урахуванням сучасних даних у галузі мікробіологічної науки. Розділи, що стосуються медичної мікробіології, у третьому виданні представлено вперше. Підручник призначений для студентів, аспірантів, викладачів та наукових співробітників — мікробіологів, а також спеціалістів суміжних галузей біології, медицини, сільського господарства та біотехнології.

ISBN 978-617-7862-21-4
ISBN 978-617-7862-22-1 (1 том)

© Автори розділів, 2020

МІКРОБІОЛОГІЯ. Том 1 / Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ 6

ВСТУП 7

РОЗДІЛ 1.
ВІДКРИТТЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА РОЗВИТОК
МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ НАУКИ (*М. Г. Сергійчук*) 10
Питання для самоконтролю 30

РОЗДІЛ 2.
МОРФОЛОГІЯ І БУДОВА БАКТЕРІАЛЬНОЇ КЛІТИНИ
(*М. Г. Сергійчук, Т. М. Сергійчук, Ю. В. Файдюк*) 32
2.1 Методи мікроскопічного дослідження мікроорганізмів 32
2.2 Морфологія бактерій 40
2.3 Ультраструктура прокаріотичної клітини 47
Питання для самоконтролю 97

РОЗДІЛ 3.
ЗАКОНОМІРНОСТІ РОСТУ МІКРООРГАНІЗМІВ
(*Т. М. Сергійчук, Л. Г. Степура*) 98
3.1 Поділ бактеріальної клітини. Клітинний цикл 98
3.2 Закономірності розвитку мікробної популяції в періодичній системі 105
3.3 Безперервне культивування мікроорганізмів 111
3.4 Розвиток мікробної біоплівки 114
Питання для самоконтролю 119

РОЗДІЛ 4.
ГЕНЕТИКА БАКТЕРІЙ (*Н. В. Сенчило*) 120
4.1 Організація генетичного матеріалу прокаріотів 120
4.2 Реплікація 122
4.3 Транскрипція 130
4.4 Регуляція транскрипції 135
4.5 Трансляція 138
4.6 Типи мінливості. Модифікації і мутації. Класифікація мінливості 144
4.7 Генетичні процеси, що забезпечують відносну стабільність геному 150
4.8 Плазміди 156
4.9 Мобільні генетичні елементи 162
4.10 Оновлення генетичної інформації в клітинах прокаріотів 170
4.11 Кон'югація 173
4.12 Трансдукція 175
Питання для самоконтролю 179

РОЗДІЛ 5.
МЕТАБОЛІЗМ МІКРООРГАНІЗМІВ (*О. С. Радченко, Ю. В. Файдюк*) 180
5.1 Особливості харчування мікроорганізмів 80

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

5.2 Катаболізм аеробних хемоорганотрофних мікроорганізмів 187
5.3 Катаболізм аеробних хемолітотрофних мікроорганізмів 204
5.4 Фотосинтез прокаріотів 214
5.5 Деякі процеси анаболізму у мікроорганізмів 231
5.6 Бродіння 248
5.7 Анаеробне дихання 269
5.8 Метаногенез 290
Питання для самоконтролю 298

РОЗДІЛ 6.
СИСТЕМАТИКА ПРОКАРІОТІВ (*М. Г. Сергійчук, Т. М. Сергійчук*) 300

6.1 Положення мікроорганізмів у системі живих істот 300
6.2 Таксономічна термінологія 303
6.3 Принципи класифікації бактерій 306
6.4 Коротка характеристика систематичних груп прокаріотів за дев'ятим виданням «Визначника бактерій Берджі» 310
6.5 Принципи створення другого видання «Систематики бактерій Берджі» 330
6.6 Коротка характеристика доменів прокаріотів 333
Питання для самоконтролю 345

РОЗДІЛ 7. МІКРООРГАНІЗМИ І ДОВКІЛЛЯ
(*М. Г. Сергійчук, Т. М. Сергійчук, О. С. Радченко*) 346

7.1 Вплив факторів довкілля на мікроорганізми 346
7.2 Мікроорганізми ґрунту 358
7.3 Мікроорганізми води 364
7.4 Мікроорганізми повітря 366
7.5 Взаємовідносини мікроорганізмів у природі 368
7.6 Взаємовідносини мікроорганізмів з рослинами 372
7.7 Взаємовідносини мікроорганізмів з безхребетними тваринами 379
7.8 Угруповання анаеробних мікроорганізмів 380
Питання для самоконтролю 392

РОЗДІЛ 8.
МІКРООРГАНІЗМИ — КАТАЛІЗАТОРИ РЕАКЦІЙ ГЛОБАЛЬНИХ БІОГЕОХІМІЧНИХ ЦИКЛІВ ЕЛЕМЕНТІВ (*Л. Г. Степура*) 393

8.1 Цикл Карбону 393
8.2 Цикл Нітрогену 402
8.3 Цикл Сульфуру 411
8.4 Цикл Фосфору 418
Питання для самоконтролю 421

РОЗДІЛ 9.
ВИКОРИСТАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ЛЮДИНОЮ (*Л. Г. Степура*) 422

9.1 Мікроорганізми в технологіях виготовлення харчових продуктів 422
9.2 Мікробний синтез 437
9.3 Мікробні технології в медичній галузі 446

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

9.4 Мікробні препарати для сільського господарства 448
9.5 Біогеотехнології 452
9.6 Біоремедіація довкілля 458
Питання для самоконтролю 465

РОЗДІЛ 10.
САНІТАРНА МІКРОБІОЛОГІЯ (*Ю. М. Юмина*) 467
10.1 Мікробіологічні показники санітарно-гігієнічної оцінки об'єктів навколишнього середовища 467
10.2 Санітарно-мікробіологічне дослідження ґрунту 472
10.3 Санітарно-мікробіологічне дослідження води 476
10.4 Санітарно-мікробіологічне дослідження повітря 481
10.5 Санітарно-мікробіологічний контроль лікарських препаратів 484
10.6 Санітарно-мікробіологічний контроль харчових продуктів 487
Питання для самоконтролю 491

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА 492

ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК 495

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

АДФ (ADP) — аденозиндифосфат
АМО — амоніймонооксигеназа
АМФ (AMP) — аденозинмонофосфат
АОМ — анаеробне окиснення метану
АТФ (ATP) — аденозинтрифосфат
АФС — аденозинфосфосульфат
БАР — біологічно-активні речовини
БГКП — бактерії групи кишкової палички
Бхл — бактеріохлорофіл
Бфф — бактеріофеофітин
ГДФ — гуанозиндифосфат
ГЕТПФ — гідроксіетилтіамінпірофосфат
ГТФ — гуанозинтрифосфат
ДНК — дезоксирибонуклеїнова кислота
ДФУ — державна фармакопея України
ЗМЧ — загальне мікробне число
КАА — крохмало-аміачний агар
КДФГ — 2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконова кислота
ККФК — казеїн-кальцій фосфатний комплекс
КУО — колонієутворювальні одиниці
ЛП — лікарські препарати
ЛПС — ліпополісахарид
МАФАнМ — мезофільні аеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми
МГД — молібдоптерингуаніндинуклеотид
МДГ — метанолдегідрогенази
ММО — метанмонооксигеназа
МПА — м'ясо-пептонний агар
МПБ — м'ясо-пептонний бульйон
МПЖ — м'ясо-пептонна желатина
мРНК — матрична РНК
НАД (NAD) — нікотинамідаденіндинуклеотид (Nicotinamide adenine dinucleotide)
НАДН (NADH) — відновлений нікотинамідаденіндинуклеотид
НАДФН (NADPH) — відновлений нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
ОВП — окисно-відновний потенціал
ПВ — пептонна вода
ПОМК — полі-β-оксимасляна кислота
ПХХ — піролохінолінхінон
РНК — рибонуклеїнова кислота
рРНК — рибосомальна РНК
РЦ — реакційні центри
СА — сусловий агар
СПМ — санітарно-показові мікроорганізми
тРНК — транспортна РНК
ТПФ — тіамінпірофосфат
ФАД — флавінаденіндинуклеотид
ФГК — фосфогліцеринова кислота
Фд — фередоксин
ФЕП — фосфоенолпіруват
ФКП — фекальні кишкові палички
ФМН — флавінмононуклеотид
ФМС — феназинметасульфат
Хл — хлорофіл
ЦПМ — цитоплазматична мембрана
ЦТК — цикл трикарбонових кислот

ANAMMOX — Anoxic (anaerobic) ammonium oxidation
CAP — Catabolite Activator Protein (білок — активатор катаболізму)
Cys — цистеїн
DAP — diaminopimelic acid (діамінопімелінова кислота)
EF — elongation factor (фактор елонгації)
GMP — Good Manufacturing Practice (належна виробнича практика, міжнародний стандарт)
GTP — Guanosine tri-phosphate (гуанозинтрифосфат)
His — гістидин
Hfr — High frequency recombination (штами з високою частотою рекомбінацій)
Ile — ізолейцин
IF — Initiation Factor (фактор ініціації)
IS-елементи — insertion sequences (інсерційні (вставні) елементи)
Leu — лейцин
lac-оперон — лактозний оперон
m-DAP — meso-diaminopimelic acid (мезо-діамінопімелінова кислота)
Met — метіонін
NTP — Nucleoside triphosphate (нуклеозидтрифосфат)
pH — pondus Hydrogenii (водневий показник)
RF — release factor (фактор термінації трансляції)
rNTP — рибонуклеозидтрифосфат
RRF — Ribosome Recycling Factor (фактор відновлення рибосоми)
RuBisCo — Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (рибулозо-1,5-біфосфаткарбоксилаза/оксигеназа)
SSB — single-strand binding protein (білки, що зв'язують одноланцюгову ДНК)
Tn — transposon, transposable genetic element (транспозони)
Trp — трипрофан
THF — тетрагідрофолієва кислота
Tyr — тирозин

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Серійчук М.Г. Квасніцька М. Серійчук Т.М. та ін

ВСТУП

Мікробіологія (грец. *mikros* — маленький, *bios* — життя, *logos* — наука) — це наука, що вивчає систематику, морфологію, ультраструктуру, фізіологію, біохімію, генетику, екологію та еволюцію мікроорганізмів, а також їх поширення у природі, значення в кругообігу речовин, патології людини, тварин і рослин, досліджує умови їх життєдіяльності та можливості використання на користь людства.

Мікроорганізми — узагальнена назва для живих істот, розміри яких знаходяться за межами роздільної здатності ока. Мікроорганізми — це переважно одноклітинні організми, видимі лише під мікроскопом. Їх виявляють у ґрунті, воді, повітрі, на поверхні та всередині організму людини, тварин та рослин, у льодах Антарктиди, на дні морів та океанів, у глибинах шахт та гейзерах, температура яких сягає 100 °С. Мікроорганізми — дивовижні трансформатори та акумулятори енергії і невичерпне джерело величезної різноманітності біологічно активних речовин.

Вік їх існування зіставляють з першими процесами зародження життя на планеті. Мабуть саме тому неможливо відокремити кругообіг речовин у природі та життєдіяльність мікроорганізмів. За їх участю відбувається мінералізація органічних решток та синтез складних сполук. Торф, кам'яне вугілля, нафта — теж продукти діяльності мікроорганізмів. За кількістю мікроорганізми являють собою найзначнішу і найрізноманітнішу групу організмів, які населяють біосферу.

Роль і безпосередню участь мікроорганізмів у нашому житті неможливо переоцінити. Вони справді всюдисущі, можуть існувати і розмножуватися на будь-яких субстратах, здатні утворювати астрономічну кількість клітин з неймовірною швидкістю, а при несприятливих умовах впадати в анабіоз.

У зв'язку з тією великою роллю, яку відіграють мікроорганізми в природі та житті людини, багатоплановими є й завдання мікробіології, які не можуть бути вирішені в межах однієї наукової дисципліни, спеціалістами одного профілю, тому відбулася диференціація мікробіології на ряд напрямів, які вивчають мікроорганізми в певній площині.

Загальна мікробіологія охоплює знання про систематику, морфологію, фізіологію, хімічний склад, структуру і біохімічні властивості різних груп мікроорганізмів, їхню роль у кругообігу речовин, поширення в природі, специфіку організації та реплікації генетичного апарату.

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук М.І., Сивка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Сільськогосподарська мікробіологія вивчає роль мікроорганізмів у родючості ґрунту, методи її підвищення; патогенні для рослин мікроорганізми та методи захисту рослин від інфекції; використання мікробів для боротьби зі шкідниками сільськогосподарських рослин. Дослідження мікрофлори та біохімії ґрунту дали змогу з'ясувати закономірності процесів ґрунтоутворення, формування родючості ґрунту, удосконалити систему його обробки, меліорації та рекультивації. Вивчення мікроорганізмів ґрунту дозволило створити низку бактеріальних препаратів, використання яких сприяє підвищенню врожайності сільськогосподарських рослин. Не менше значення мають дослідження мікробіології і для тваринництва: силосування кормів, створення цінних кормових добавок тощо.

Екологічна мікробіологія досліджує роль мікроорганізмів у природних екосистемах. При цьому *водна мікробіологія* вивчає заселення мікробами прісноводних та морських екосистем, їхню роль у кругообігу речовин, розробляє мікробіологічні методи очистки стічних побутових і промислових вод. *Геологічна мікробіологія* вивчає роль мікроорганізмів у кругообігу абіогенних елементів, утворенні корисних копалин, розробляє методи отримання з руд металів. Мікроорганізми використовують у геології як індикатори під час пошуків корисних копалин.

Технічна (промислова) мікробіологія вносить істотний внесок у вирішення таких глобальних соціальних проблем, як охорона здоров'я, забезпечення людини продовольством, охорона природи та енергозабезпечення. Технічна мікробіологія розробляє технології виробництва вина, пива, молочнокислих продуктів, сирів, а також методи запобігання корозії металів, захисту від пошкодження мікроорганізмами будівельних матеріалів та продуктів харчування. Мікробіотехнологія — основна галузь біотехнології — особливо бурхливо розвивається в останні два десятиліття. Це пов'язано з тим, що мікроорганізми мають помітні переваги перед рослинними і тваринними об'єктами: мають в сотні і тисячі разів більшу швидкість розмноження і синтезу біологічно активних речовин, швидкість адаптації до постійно змінюваних умов середовища існування, максимальну економію сировини та енергії. Мікробіотехнологію вважають наукою майбутнього людства.

Космічна мікробіологія вивчає вплив на мікроорганізми умов космосу, наявність мікробного населення на інших планетах, методи запобігання занесення мікроорганізмів із космосу на Землю.

Санітарна мікробіологія вивчає мікробіоту навколишнього середовища та ті процеси її життєдіяльності, які можуть негативно впливати на здоров'я людей та довкілля.

Медична мікробіологія вивчає хвороботворні (патогенні) та умовно-патогенні для людини мікроорганізми, а також розробляє методи мікробіологічної діагностики, специфічної профілактики та етіотропного лікування викликаних ними інфекційних захворювань. Розвиток медичної мікробіології нерозривно пов'язаний з розвитком імунологічної науки. Розшифрування молекулярних

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скіпка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

механізмів взаємодії мікробної клітини з клітинами тканин людини дозволило визначити важливість симбіотичної мікробіоти для розвитку фізіологічних систем в онтогенезі. Поглиблене дослідження молекулярних основ розпізнавання імунною системою мікробо-асоційованих молекулярних патернів за останні два десятиліття дало змогу не лише з'ясувати механізми формування стійкості до інфекційних хвороб, а й удосконалити створення вакцинних препаратів мікробного походження для профілактики захворювань інфекційної етіології, онкологічної патології та деяких інших хвороб. Вивчення імуномодуляторних властивостей мікроорганізмів та їх субклітинних компонентів створює основи для розробки ефективних лікарських засобів для відновлення порушеної імунної реактивності організму.

Даний підручник є колективною працею викладачів кафедри мікробіології та імунології ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Автори даного підручника використали найкращі досягнення своїх вчителів, доповнили його сучасними даними з мікробіології, викладеними у монографіях, періодичних фахових виданнях та іноземних учбових посібниках останніх років.

Сподіваємося, що підручник допоможе студентам успішно оволодіти основами мікробіології та буде корисним для широкого кола фахівців-біологів, які займаються проблемами мікробіології. Автори будуть вдячні за відгуки та пропозиції.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 1.
ВІДКРИТТЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА РОЗВИТОК МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ НАУКИ

Вже з перших кроків цивілізації, тобто задовго до відкриття мікроскопічного світу, людству були відомі деякі процеси, спричинені діяльністю мікроорганізмів. Писемні свідчення, які дійшли до нашого часу, вказують на те, що вже в ті далекі часи існував спосіб виготовлення спиртових напоїв (виноградного вина). Настільки ж давніми є відомості про скисання молока та виготовлення хліба — в основі яких також лежить діяльність мікроорганізмів. У книгах Мойсея згадується про якусь пошесну хворобу і є вказівки щодо заходів запобігання подальшому поширенню інфекції (спалювання трупів, одягу тощо). Епідемії чуми описані в «Іліаді» Гомера та в книгах Геродота і Фукідіда. Тобто, з давніх часів людина як використовувала мікроорганізми, так і потерпала від хвороботворних видів.

Протягом багатьох століть людина не могла встановити причини цих явищ, оскільки не могла бачити ті об'єкти, розміри яких знаходяться за межами роздільної здатності ока. Відомо, що людина з нормальним зором на оптимальній відстані (25–30 см) може бачити об'єкти розміром понад 100 мкм.

Спроби подолати створений природою бар'єр і розширити можливості ока людини робилися давно. Про це свідчить, зокрема, той факт, що під час археологічних розкопок у Давньому Вавилоні знаходили двоопуклі лінзи, виготовлені зі шліфованого гірського кришталю.

У подальшому можливість опуклого скла збільшувати предмети була використана у винаході перших окулярів, які були сконструйовані в Італії Сальвініо делі Арреаті у 1285 році. У XVI ст. Леонардо да Вінчі і Мауроліно показали, що малі об'єкти краще досліджувати за допомогою лупи. Тоді ж (у 1590 р.) в Нідерландах оптики Захарій та Ханс Янсени змонтували дві опуклі лінзи всередині однієї трубки, тобто показали, що збільшення одного опуклого скла можна підсилити за допомогою іншого. Їх оптичний прилад збільшував від 3 до 10 разів і був направлений не на дослідження мікросвіту (про який ще ніхто не знав), а на спостереження за небесними світилами. Відомий астроном, фізик та філософ Галілео Галілей розташував лінзи телескопу по-іншому і направив його на дослідження дрібних предметів. В 1609 році свій прилад, названий «occhiolino» («окіоліно») він продемонстрував в Академії деі Лінчеі. Термін «мікроскоп» запропонував німецький учений Афанасій (Атанасіус) Кірхер (1601–1680) у 1646 р. Саме він, професор Collegium Romanum і автор праць астрологічного характеру, вперше намагався зазирнути в живу матерію за допомогою власноруч сконструйованого оптичного приладу. Розглядаючи гній і кров людей, хворих на сифіліс, та досліджуючи загниваюче м'ясо, кисле молоко, оцет та інші субстрати, він виявив «живих черв'ячків». Проте нам невідомо, чи були то насправді

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук І.М., Сивка І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

мікроорганізми, чи лише личинки комах, оскільки А. Кірхер вважав, що все це розвинулося з безжиттєвих органічних матеріалів (шляхом самозародження).

Удосконалення мікроскопа дозволило англійському вченому Роберту Гуку (1635–1703) глибше зазирнути в таємниці природи. Фізик за освітою, винахідник за вдачею, він сконструював мікроскоп, який складався з двох двоопуклих лінз, і вперше використав його для тонких наукових досліджень (рис. 1.1). Вивчаючи будову рослин, Р. Гук помітив у тканині деревини комірки правильної форми і назвав їх клітинами (1665).

а б

Рис. 1.1. Мікроскоп Р. Гука (а) і А. ван Левенгука (б)

Першим, хто не лише побачив, а й детально описав мікроорганізми, був ***Антоні ван Левенгук*** (1632–1723). Молоді роки він провів у Амстердамі, де займався торгівлею тканинами, але його приваблювала наука. На гранильних фабриках Амстердама Левенгук навчився шліфувати скло і досягнув у цьому значних успіхів. Виготовляючи лінзи з 150–300-кратним збільшенням, він уперше спостерігав і дуже точно замалював ряд найпростіших, сперматозоїди, бактерії, еритроцити та їх рух у капілярах. Без знання відповідних методів фарбування, ним були описані практично всі відомі нам морфологічні групи бактерій (палички, коки, нитчасті, зіркоподібні, звивисті форми).

Антоні ван Левенгук

Результати своїх досліджень Антоні ван Левенгук почав публікувати у вигляді листів до Лондонського Королівського Товариства — провідного наукового товариства Великобританії, заснованого в 1660 р. Всього він написав 170 листів.

Перший лист А. ван Левенгука, відправлений до Лондонського Королівського Товариства у 1673 р., був присвячений опису цвілей (рис. 1.2).

Рис. 1.2. Малюнок цвілей, зроблений А. ван Левенгуком (1673) у листі до Лондонського Королівського Товариства

9 жовтня 1676 р. у листі до Лондонського Королівського Товариства за № 17 він наводить не тільки малюнок, а й опис бактерій (рис. 1.3). У цьому листі Левенгук писав: «24 квітня 1676 р. я подивився на воду під мікроскопом і з великим здивуванням побачив у ній величезну кількість дрібненьких тваринок. Довжина деяких була разів у три-чотири більша, ніж ширина, хоча вони і не були товстішими від волосків, які покривають тіло воші. Інші мали правильну овальну форму. Був там і третій тип організмів — найчисельніший — маленькі істоти з хвостиками».

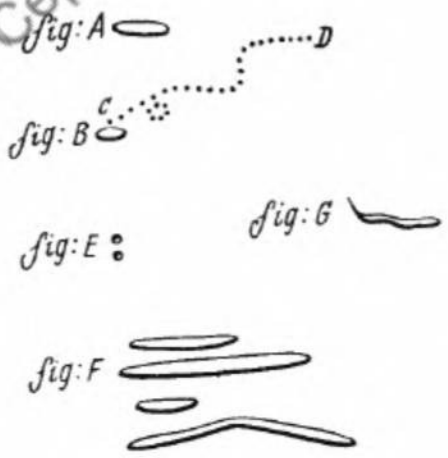


Рис. 1.3. Малюнок бактерій, зроблений А. ван Левенгуком (1676)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Сівкіна Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Левенгук вважав, що відкриті ним об'єкти — це тварини, тому він і назвав їх «animalculus». Свої спостереження він видав згодом окремою книгою «Arcana naturae detecta ab Antonio van Leeuwenhoek» («Таємниці природи, відкриті Антоні ван Левенгуком»), яка вийшла у 1695 р. Відкриття Левенгука були настільки фантастичними, що протягом наступних 50 років викликали загальне здивування й захоплення і дали поштовх до вивчення мікросвіту.

Одним з перших вітчизняних біологів-експериментаторів був ***Мартин Матвійович Тереховський*** (1740–1810). Народився Мартин Матвійович у місті Гадячі під Полтавою. Освіту здобув у Київській академії, де студенти вивчали не лише богослов'я, а й давні та західні мови, російську риторику, історію, географію, архітектуру, основи медицини. Багато випускників академії продовжували своє навчання в інших навчальних закладах, щоб отримати спеціальність інженера, військового, медика. Тереховський став учнем Санкт-Петербурзького генерального (навчального) сухопутного шпиталю, який готував лікарів. У 1770 р. він подав прохання на ім'я Катерини II, в якому висловив бажання поїхати за кордон для подальшого вивчення медицини, щоб згодом принести користь вітчизні. Діставши дозвіл, М. Тереховський поїхав до Страсбурга, де в 1775 р. опублікував докторську дисертацію на тему: «О наливочном хаосе Линнея». У ній він висловлює свої міркування про живу природу, відзначає різноманітний характер життєдіяльності мікроорганізмів, виступає противником теорії самозародження. У другій частині своєї дисертації вчений доводить тваринну природу наливкових анімалькул. Змінюючи умови досліду, М. Тереховський приходить до висновку, що «при зберіганні цієї настоянки в помірному теплі протягом деякого часу в ній виявляються якісь молекули, що рухаються подібно дрібним тваринкам». Паралельно він вказує, що найшвидше анімалькули розвиваються при температурі тіла людини, а кип'ятіння діє на них згубно.

Варто назвати і ***Данила Самійловича Самойловича*** (1744–1805), який першим висловив здогадку про живу природу збудника чуми й організував ефективні заходи для боротьби з цією хворобою під час епідемії в Москві у 1770–1772 рр. У 1792 р. він опублікував працю «Краткое описание микроскопических исследований о существе яда "язвенного"». Самойловича, за успіхи у вивченні чуми, було обрано членом 12 іноземних академій.

Висловлені Д. Самойловичем міркування про причини чуми відіграли значну роль у подальшій розробці теоретичних і практичних питань профілактики цієї хвороби та інших інфекційних захворювань.

Справжній переворот у боротьбі з натуральною віспою знаменувало відкриття англійського лікаря ***Едварда Дженнера*** (1749–1823), який запропонував для запобігання віспи робити здоровим людям щеплення, використовуючи матеріал від хворих корів. У своїй лікарській практиці Е. Дженнер помічав, що доярки, які заразилися від хворих на віспу корів, переносили захворювання в легкій формі і після цього ніколи вже не хворіли на натуральну віспу. Це наштовхнуло його на думку провести сміливий експеримент. 14 травня 1796 р. Е. Дженнер вніс у надріз

Мікробіологія (том 1, Єгоричук М.І., Скіканюк М.І., Єгоричук Т.М. та ін

на лівому плечі восьмирічного хлопчика рідину з пухирця молодої доярки, яка перед цим заразилася віспою від хворої корови. На місці щеплення в хлопчика з'явились типові віспини, від яких через два тижні залишились два невеличких шрами. Щоб визначити, чи став організм хлопчика стійким до натуральної віспи, Е. Дженнер через півтора місяця ввів йому високоінфекційний матеріал з віспяного пухирця важкохворої людини. Минуло кілька тижнів, але хлопчик не захворів. Не постраждав він і під час епідемії, що невдовзі сталася в тих місцях. Протягом двох наступних років Е. Дженнер зробив десятки щеплень з незмінним успіхом. Так народилася вакцинація (лат. *vacca* — корова). У подальшому він усе ретельно аналізує, перевіряє і, нарешті, підсумовує результати своїх досліджень у статті до Лондонського Королівського Товариства, та «вчені мужі» не визнали повідомлення сільського лікаря вартим уваги. І лише згодом Дженнера стали вважати засновником віспощеплення. Слід, однак, зазначити, що відкриття Е. Дженнера мало чисто емпіричний характер, суть якого залишалася неясною до появи робіт Л. Пастера.

Едвард Дженнер робить противіспяну вакцинацію восьмирічному хлопчику

Таким чином, від часу відкриття мікроорганізмів і майже впродовж наступних 200 років, усі дослідники вивчали лише їхню морфологію. Але якими б не були успіхи у вивченні морфології мікроорганізмів, загадковою залишалась роль, яку відіграють ці маленькі істоти в природі. Учені-бактеріологи вивчали тільки зовнішній вигляд мікроорганізмів і особливості їх будови, не торкаючись хімічних процесів, пов'язаних з їхньою життєдіяльністю, а отже — тієї ролі, яку вони відіграють у довкіллі та в нас самих. Така одностороння спрямованість досліджень у цей перший, *морфологічний,* період розвитку мікробіології поз-

бавляла її внутрішнього змісту, і вона ще довго існувала, не виходячи за межі цього зачарованого кола.

За словами французького мікробіолога П'єра Еміля Дюкло, «явища бродіння давні як світ». Термін «бродіння» запропонував голландський природодослідник Ян Баптист ван Гельмонт (1579–1644) для позначення процесів, які протікають з виділенням газу. Він помітив подібність газу, який виділяється в процесі зброджування виноградного соку, і газу, що утворюється при спалюванні вугілля. На цій підставі Я. Гельмонт зробив припущення, що ці хімічні перетворення мають однакову природу. Пізніше бродіння стали виділяти з групи процесів, які супроводжуються виділенням газу. Початково для позначення рушійної сили бродіння використовували термін «фермент». Німецький хімік і лікар Георг Ернст Шталь (1659–1734) висловив думку, що бродіння і гниття — це суто хімічні процеси, що відбуваються під впливом молекул «ферментів», які передають властивий їм внутрішній активний рух молекулам речовини, що зброджується, тобто виступають як каталізатори реакції.

Одна з перших здогадок про зв'язок відкритих А. ван Левенгуком «тваринок» з явищами бродіння й гниття належить французькому природодослідникові Жоржу Луї Леклерку де Бюффону (1707–1788). Досить близько підійшов до розуміння цього питання французький хімік Антуан-Лоран Лавуазьє (1743–1794). Проте його ідеї про біологічну природу «ферменту» бродіння не отримали визнання.

Людиною, яка своїми роботами заклала підвалини сучасної мікробіології, став видатний французький вчений ***Луї Пастер*** (1822–1895). Він вперше довів, що мікроорганізми відрізняються один від одного не тільки зовнішнім виглядом, а й певними особливостями метаболізму. З цього часу розпочався новий етап у вивченні мікроорганізмів — *фізіологічний*. Отже, якщо А. ван Левенгука вважають основоположником мікрографії, то Луї Пастер є засновником сучасної мікробіології.

За освітою Л. Пастер був хіміком, тож і свою наукову роботу він почав з вивчення кристалічної асиметрії виннокислих солей. Ним було встановлено, що при перекристалізації солей оптично неактивної винної кислоти утворюється два типи кристалів. Розчин, виготовлений з кристалів одного типу, обертає площину поляризованого світла вправо, а розчин, виготовлений з кристалів другого типу,— вліво. Згодом він помітив, що гриб, який виріс у розчині рацемічної винної кислоти, асимілює лише одну з її ізомерних форм — правообертаючу. Це дозволило Л. Пастеру зробити висновок про специфічну дію мікроорганізмів на субстрати і послужило теоретичною основою для подальшого вивчення фізіології мікроорганізмів.

Луї Пастер

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук М. Сквага І.М., Сергійчук Т.М. та ін

У 1854 р. Л. Пастер обійняв посаду професора Лільського університету, де і розпочав свої дослідження з мікробіології. Поштовхом до цього стало звернення лільських фабрикантів з проханням допомогти з'ясувати причини систематичних невдач при зброджуванні бурякового соку для отримання спирту. Перші результати досліджень, опубліковані в 1857 р., доводили, що процес спиртового бродіння спричиняється діяльністю мікроорганізмів (дріжджів) і протікає в анаеробних умовах. Майже одночасно з вивченням спиртового бродіння Л. Пастер приступив почав досліджувати молочнокисле бродіння і показав, що цей процес також є результатом діяльності мікроорганізмів.

Пізніше, вивчаючи збудників маслянокислого бродіння, Л. Пастер встановив, що повітря згубне для цих мікроорганізмів і що вони можуть жити лише за відсутності кисню. Так були відкриті облігатні анаероби.

Відкриття Л. Пастером безкисневого життя викликало хвилю протестів з боку інших учених, оскільки вважалося, що кисень —«життєвий газ», без якого існування живих організмів неможливе.

Вивченню проблеми бродіння Л. Пастер присвятив майже 20 років. У 1876 р. він публікує «Дослідження про пиво, його хвороби, їх причини, способи зробити його стійким, з додатком нової теорії бродіння». В цій праці він робить деякі узагальнення щодо процесів бродіння: будь-яке бродіння супроводжується діяльністю мікроорганізмів; кожен тип бродіння викликається певною групою мікроорганізмів; бродіння — це життя без кисню.

У подальшому, під час вивчення оцтовокислого бродіння, Л. Пастер помітив особливий тип перетворення органічних речовин мікроорганізмами, яке було названо окиснювальним бродінням. Дослідження Л. Пастера мали не лише наукове, а й практичне значення. Так, з питань бродильного виробництва (виноробство, пивоваріння й одержання оцту) він опублікував три монографії, в яких були цінні рекомендації щодо покращення технології цих виробництв. Л. Пастер довів також, що хвороби вина й пива теж спричиняють мікроорганізми.

Методи *стерилізації*, розроблені Л. Пастером, мали великий вплив на подальший розвиток медицини, зокрема хірургії. На підставі його досліджень англійський хірург Джозеф Лістер (1827–1912) запропонував антисептичний метод, розвинутий у подальшому в асептичний метод, який зробив справжню революцію в хірургії, оскільки з'явилась реальна можливість запобігати інфікуванню післяопераційних ран. Для стерилізації продуктів бродіння (пива, вина), а потім і молока, Л. Пастер запропонував більш м'який метод стерилізації, названий пізніше на його честь *пастеризацією*.

Проблеми виникнення життя на Землі хвилювали природодослідників багатьох поколінь. За допомогою добре продуманих, ретельно перевірених і по суті дуже простих дослідів Л. Пастер спростував твердження про самозародження живих організмів з безжиттєвих органічних матеріалів.

Наступний етап досліджень Л. Пастера був присвячений вивченню збудників захворювань людини. Неперевершений майстер експерименту, який мав дар

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук Т.М., Сквірська Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

наукового передбачення, Л. Пастер почав вивчати бактерії, виділені Адольфом Арнольдом Поллендером, Казиміром Давеном та Фридріхом Августом Брауеллем від хворих на сибірку, і шляхом експериментального зараження довів, що саме ці бактерії є збудниками цього захворювання. Він знайшов спосіб боротьби з сибіркою — запобіжні щеплення. Раніше, експериментуючи зі збудниками курячої холери, вчений помітив, що після введення ослабленої культури збудника організм стає несприйнятливим до захворювання. Цей принцип він використав і для профілактики сибірки у тварин. Л. Пастер вирощував збудника даної хвороби при підвищеній температурі (42–43 °С), що знижувало його хвороботворні властивості (*атенуація*). Після щеплення такою ослабленою культурою організм тварини набував стійкого імунітету.

Ефект імунітету був продемонстрований на одній з ферм. Стадо з 60 овець і 10 корів розділили на дві групи. Тваринам першої групи зробили щеплення, а другої (контрольної) — ні, а потім ввели живі клітини збудника сибірки всім тваринам. Результат був вражаючим: через декілька днів контрольні тварини загинули, вакциновані — залишилися живими.

У подальшому Л. Пастер виділив стафілококи від хворих на фурункульоз та остеомієліт і дійшов висновку, що один і той же мікроорганізм може бути причиною обох захворювань, різних за своїм клінічним перебігом. Досліджуючи кров породілей, хворих на пологову гарячку, Л. Пастер виділив стрептококи, які виявилися збудниками даного захворювання. Повідомлення Л. Пастера про природу цих захворювань викликало спочатку недовіру, однак ідея про мікробну природу інфекційних захворювань завойовувала дедалі більше прихильників і стала основою для розробки профілактичних та лікувальних заходів.

Вершиною наукової діяльності Л. Пастера було дослідження сказу. На перших етапах вивчення цього питання виникли серйозні проблеми, оскільки не вдавалося ані виділити збудник сказу в чистій культурі на штучних поживних середовищах, ані розглянути об'єкт під мікроскопом. Тому як матеріал для виготовлення вакцини Л. Пастер використав мозок кроликів, попередньо інфікованих витяжкою з мозку хворої на сказ собаки. Шляхом багаторазових пасажів через мозок кролика він отримав матеріал зі стабільними ознаками, з якого потім виготовляв антирабічні (лат. *rabies* — сказ) вакцини. Досліди по запобіганню сказу в собак з використанням виготовлених таким чином вакцин дали хороший результат.

Ідея захисту людей від заразних захворювань не була новою, але тільки Л. Пастеру судилося втілити її в життя. Коли його роботи стали широковідомими, до вченого почали приходити люди, покусані хворими на сказ собаками. Він довго не наважувався зробити запобіжне щеплення людині, оскільки добре усвідомлював, що в разі найменшої невдачі можуть бути зведені нанівець усі його надбання. І все ж таки він наважився зробити щеплення дитині, покусаній хворим собакою, оскільки це був єдиний шанс врятувати її від неминучої смерті.

Мікробіологія. Том 1. Сергійчик І.М., Скіпка П.М., Сергійчик Т.М. та ін

Наукова діяльність Л. Пастера була високо оцінена співвітчизниками та визнана вченими всього світу. У 1862 р. він став членом Паризької академії наук, у 1873 р.—Французької академії медицини, а в 1881 р. прийнятий до найпочеснішої — Французької академії, об'єднання визначних представників національної культури, науки та політичних діячів Франції.

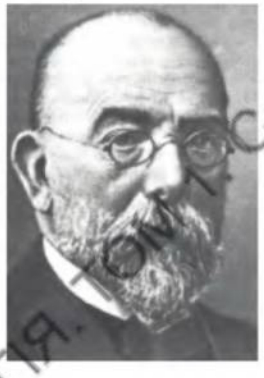
Свої дослідження Л. Пастер проводив у невеличкій лабораторії, яка містилася на горищі Вищої Нормальної школи в Парижі. З цього приводу в 1871 р. він писав, що його лабораторія була нікудишньою, а він мав великі плани роботи, для здійснення яких не вистачало освітлення, повітря й місця.

У 1888 р. на кошти, зібрані за міжнародною підпискою, був заснований Пастерівський інститут, який і нині є центром мікробіологічних досліджень.

У міру розвитку мікробіології фахівці дедалі глибше усвідомлюють значення досліджень Л. Пастера. Здається, що немає такої галузі в сучасній бактеріології, немає такого питання, над яким не замислювався би цей геній. Щоб оцінити титанічну наукову роботу Л. Пастера, достатньо навести лаконічний напис на меморіальній дошці, встановленій на фасаді будинку, де була розташована його лабораторія: «Тут була лабораторія Пастера»:

- 1857 р.— бродіння;
- 1860 р.— самозародження;
- 1865 р.— хвороби пива й вина;
- 1868 р.— хвороби шовковиків;
- 1881 р.— зараза й вакцина.

Одним із засновників медичної мікробіології є німецький мікробіолог ***Роберт Кох*** (1843–1910). Його роботи були присвячені вивченню збудників інфекційних захворювань та розробці методів боротьби з ними. Свої дослідження вчений розпочав з вивчення сибірки, коли він ще був рядовим санітарним лікарем у невеликому містечку Вольштейн. Не маючи лабораторії, Р. Кох проводив досліди в себе на квартирі. Поставивши серію ретельно продуманих експериментів із зараженням мишей культурами, виділеними від хворих тварин, він довів етіологічне значення мікроорганізмів у виникненні сибірки. Кох уперше виділив чисту культуру збудника сибірки — *Bacillus anthracis*, а в 1877 р. опублікував результати своїх досліджень з вивчення його біології.



Роберт Кох

Пізніше увагу вченого привернуло інше поширене захворювання — туберкульоз. У 1882 р. він повідомив про відкриття збудника туберкульозу, який на його честь було названо «*паличкою Коха*». У 1905 р. Р. Коху за серію робіт з вивчення біології збудника туберкульозу було присуджено Нобелівську премію. Йому належить також відкриття у 1883 р. збудника холери.

Біологія. Сергійчук М.Г., Сківка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін.

У подальшому відкриття збудників інфекційних захворювань відбувалися одне за одним. Цьому сприяли сформульовані попередньо в загальній формі Фрідрихом Густавом Яковом Генле (1809–1885) й обґрунтовані експериментально Р. Кохом вимоги, яким має відповідати мікроорганізм, визнаний збудником захворювання. Ці вимоги, відомі під назвою «*тріада Генле-Коха*», такі:

- підозрюваний збудник захворювання має завжди виявлятись у хворих людей;
- цей мікроорганізм має виділятись у чистій культурі;
- при зараженні тварин мікроорганізм має викликати захворювання, яке за клінічним перебігом мусить бути аналогічним відповідному захворюванню людини.

Тим часом було встановлено, що збудники інфекційних захворювань у багатьох випадках не відповідають положенням «класичної» тріади. У здорових людей і після перенесення захворювання часто виявлялися патогенні мікроорганізми. При інфікуванні тварин не завжди вдавалося викликати патологічний процес, який відповідає захворюванню людини. Також не завжди вдавалося культивувати патогенні мікроорганізми на штучних поживних середовищах.

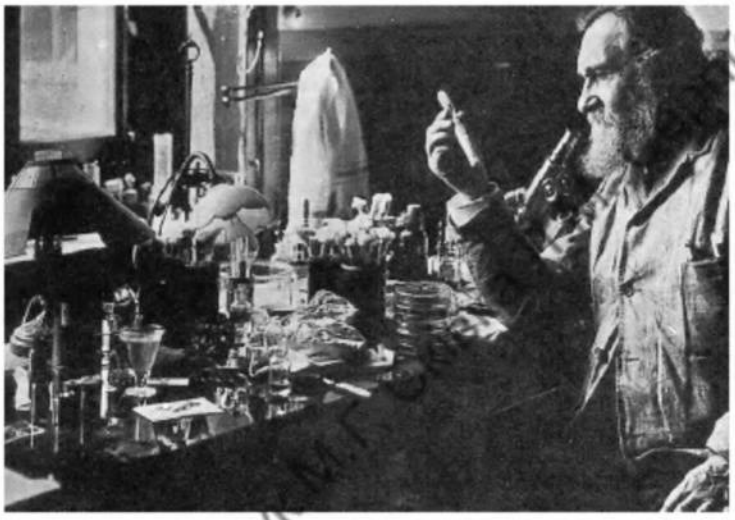
Значну увагу приділяв Р. Кох розробці методів дослідження. Він вперше сконструював освітлювальний апарат до мікроскопа, розробив метод мікрофотографії бактерій, засоби забарвлювання бактеріальних клітин фарбами анілінового ряду, запропонував метод вирощування бактерій на щільних поживних середовищах. Отримання чистих культур мікроорганізмів відкрило нові підходи до дослідження їх властивостей і стало поштовхом до більш інтенсивного розвитку мікробіології.

Глобальними за своїм значенням для медичної мікробіології стали дослідження нашого співвітчизника ***Іллі Ілліча Мечнікова*** (1845–1916). Народився майбутній учений в с. Іванівка Куп'янського повіту Харківської губернії. У дитинстві відзначався великою допитливістю і дуже любив природу. Всі процеси, які хлопець спостерігав, він намагався зрозуміти й пояснити. Спостережливість, старанність і природний талант сприяли тому, що за шість років здібний юнак закінчив із золотою медаллю Харківську класичну гімназію (1862 р.) й одразу без іспитів вступив до Харківського університету на природниче відділення фізико-математичного факультету. Ще навчаючись у гімназії, він регулярно відвідував лекції професорів цього університету, тому за рівнем знань набагато випереджав однокурсників. Зважаючи на це, згідно з його проханням, І. Мечнікова було відраховано з університету, який він через два роки закінчив як вільний слухач.

У 1869 р. Ілля Ілліч Мечніков був запрошений на посаду доцента Петербурзького університету, однак через відсутність умов для дослідницької роботи він переходить до Новоросійського (нині Одеського) університету, де на той час був досить потужний професорсько-викладацький склад. Але у 1873 р. померла дружина І. Мечнікова, і в нього почалася душевна та творча криза, яка підси-

МІКРОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1, Сергійчук М.І., Сквіра І.М., Сергійчук Т.М. та ін

лювалася атмосферою нетерпіння до прогресивних професорів в університеті. З часом він переїхав жити в маєток свого померлого тестя на Київщині (с. Попівка Черкаського повіту Київської губернії). Тут, спостерігаючи, як хлібний жук знищував посіви зернових, і знайшовши загиблих від невідомої хвороби шкідників, Мечніков виділив з них мікроскопічний грибок, який з успіхом застосував для боротьби з цим же шкідником. Так був започаткований новий підхід до боротьби зі шкідниками сільськогосподарських культур — біологічний метод захисту рослин.



Ілля Мечніков у своїй лабораторії

У 1886 р. І. Мечнікова було призначено директором першої в Росії (і другої у світі) Пастерівської станції в Одесі, де вирішувалися науково-практичні питання — проводилися щеплення проти сказу, виготовлялася вакцина сибірки, розроблялися біологічні методи боротьби з хом'яками та ховрахами за допомогою бактерій — збудників холери курей. Однак у більшості випадків свою енергію він спрямовував на розробку питань імунітету, що викликало нарікання з боку осіб, від яких залежало фінансування, тому І. Мечніков залишає роботу на станції і назавжди переїжджає до Парижа, де з 1888 до 1905 р. працює в Пастерівському інституті. Французький мікробіолог П'єр Поль Еміль Ру, який також працював у Пастерівському інституті, справедливо назвав І. Мечнікова «поетом мікробіології». Адже він, як справжній поет, що знаходить все нові барви слова, перебував у постійному пошуку. Одним з найвищих надбань І. Мечнікова є створення вчення про імунітет. Несприйнятливість організму людини до повторного зараження після перенесеного інфекційного захворювання була відома ще в давні часи. Проте суть цього явища залишалася невідомою навіть тоді, коли вже були відкриті й застосовувалися на практиці запобіжні щеплення проти віспи, курячої холери,

сказу та сибірки. І. Мечніков одним з перших установив, що захист організму від патогенних мікробів — це складна біологічна реакція, яка зумовлюється насамперед фагоцитарним процесом. У 1892 р. учений опублікував свої лекції «О сравнительной патологии воспаления», а в 1901 р.— класичну монографію «Невосприимчивость в инфекционных болезнях», яка стала настільною книгою для мікробіологів та медиків. У цій праці він послідовно виклав результати досліджень, в яких вивчалися запальні процеси, захисні реакції організму та роль фагоцитозу в подоланні запалень, обґрунтував фагоцитарну теорію імунітету.

Одночасно з І. Мечніковим механізми несприйнятливості до інфекційних захворювань вивчав німецький дослідник Пауль Ерліх (1854–1915), який розробив теорію гуморального імунітету. Навколо цієї теорії виникла тривала дискусія, яка розділила вчених на два табори — прихильників П. Ерліха та його противників на чолі з І. Мечніковим.

Ця полеміка спровокувала бурхливий потік досліджень з питань імунітету і дала великі практичні результати: було розроблено більш сучасні методи лабораторної діагностики інфекційних захворювань, одержано вакцини проти черевного тифу, холери, чуми та деяких інших захворювань. Завдяки широкій дискусії і чисельним дослідженням було встановлено, що несприйнятливість організму до інфекційних захворювань залежить як від клітинного, так і від гуморального факторів. У 1908 р. І. Мечнікову разом з П. Ерліхом за розробку вчення про імунітет було присуджено Нобелівську премію.

І. Мечніков вивчав також біологію збудника холери і холероподібних вібріонів, очолив експедицію в охоплені холерою країни Європи, довів можливість зараження шимпанзе сифілісом і запропонував метод лікування цього захворювання каломельною маззю, з'ясовував причини старіння.

У 1905 р. І. Мечніков розпочав вивчення мікрофлори шлунково-кишкового тракту людини і висунув ідею мікробного антагонізму та використання окремих бактерій для боротьби з патогенною мікрофлорою. Особливого значення він надавав молочнокислим бактеріям як мікробам-антагоністам, що корисні для людини. Суміш різних культур цих бактерій вчений запропонував використовувати для заквaски молока як засіб боротьби з гнильними процесами в кишечнику. За допомогою цих заквасок і досі виготовляються такі лікувальні препарати, як лактобацилін (або йогурт), кефір та «кисле молоко за Мечніковим». Усі ці препарати були мультикомпонентними за кількістю видів мікроорганізмів, які входили до їх складу. Такий принцип і нині використовується при створенні лікувальних препаратів на основі живих бактерій, які тепер називають *пробіотиками*.

Великий внесок у подальший розвиток мікробіології зробили голландський ботанік і мікробіолог ***Мартинус Віллем Бейєринк*** (1851–1931) та російський мікробіолог ***Сергій Миколайович Виноградський*** (1856–1953). Обидва вони довгі роки наполегливо й плідно працювали в різних напрямках мікробіології.

Варто зауважити, що Росія вважає Сергія Миколайовича Виноградського російським ученим, Франція — французьким, але народився він 1 вересня 1856 р.

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

в Києві і тут провів свої юнацькі роки. Закінчивши в 1873 р. Другу київську гімназію із золотою медаллю, він не відразу визначив свій життєвий шлях. Спочатку вступив на юридичний факультет Київського університету, потім перейшов на фізико-математичний, який згодом змінив на Санкт-Петербурзьку консерваторію. Пізніше С. Виноградський остаточно зупинив свій вибір на природничому факультеті Петербурзького університету, який блискуче закінчив у 1881 р. Доказом високої оцінки здібностей випускника С. Виноградського стало присвоєння йому першого наукового ступеня та пропозиція працювати на кафедрі фізіології рослин цього навчального закладу.

Сергій Виноградський

Сергій Миколайович, безумовно, був щедро обдарованою людиною і в кожній з тих далеких одна від одної дисциплін, які він обирав, міг би стати помітною особистістю, але віддав перевагу професії мікробіолога. С. Виноградський першим зрозумів роль мікроорганізмів у природі і разом з тим встановив їхню фізіологічну різноманітність. Він вважав, що з'ясувати участь бактерій у тих чи інших процесах можна тільки після врахування їхньої фізіології та екології. Тому в кожному окремому випадку для виділення бактерій потрібні такі елементи живлення, які відповідають їхнім фізіологічним властивостям. Розвиваючи ідеї наукових шкіл Л. Пастера та Р. Коха, він не піддався абсолютному та сліпому наслідуванню їх методології.

У 1887–1893 рр. використання елективних поживних середовищ дозволило відкрити сірко-, залізо- та нітрифікуючі бактерії. Всі досліди С. Виноградського вказували на невідомий тоді факт — використання бактеріями енергії окиснення відновлених неорганічних сполук для асиміляції неорганічного вуглецю (CO_2). Вуглець органічних сполук виявився для цих бактерій не тільки недоступним, але й токсичним. Це було повною несподіванкою.

Проаналізувавши одержані дані, учений дійшов висновку, що крім фототрофних бактерій, які використовують світло як джерело енергії, існують хемотрофні мікроорганізми, які використовують енергію, одержану при окисненні неорганічних сполук. Так, С. Виноградським були відкриті автотрофні хемосинтезуючі мікроорганізми, які він назвав «аноргоксидентами». До його робіт було відомо, що в клітинах сіркобактерій накопичується сірка, що ці бактерії здатні відновлювати сульфати; припускалося також, що вони окиснюють сірководень. Але відкриття *хемосинтезу*, з'ясування ролі сірки в житті бактерій — це цілковита заслуга С. Виноградського.

Виявлення *автотрофії* в мікроорганізмів знаменувало собою відкриття не тільки мікробіології, але й біології в цілому. Недаремно після цих досліджень Л. Пастер двічі запрошував С. Виноградського до співпраці у своєму інституті, але той вибрав завідування кафедрою загальної мікробіології в новостро-

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук М.І., Скібіцький О.М., Сергійчук Т.М. та ін

реному Імператорському інституті експериментальної медицини в Санкт-Петербурзі, де працював з 1893 до 1905 р. (у 1902–1905 рр.— директор цього інституту). Під час роботи в інституті С. Виноградський зробив нове відкриття: у 1893 р. він уперше виділив з ґрунту бактерії, які самостійно фіксують азот повітря. Ці анаероби були названі *Clostridium pasteurianum*. Відкриттю анаеробної азотфіксації сприяли ті ж фактори, які свого часу привели вченого до відкриття хемосинтезу, а саме — використання елективних поживних середовищ.

Мартинус Бейєринк

С. Виноградський понад 60 років вивчав екологію та фізіологію ґрунтових мікроорганізмів і по праву вважається засновником ґрунтової мікробіології.

Мікроекологічний принцип був успішно розвинутий ***Мартинусом Віллемом Бейєринком*** (1851–1931) і використаний для виділення різних фізіологічних груп мікроорганізмів. Коло наукових інтересів цього вченого було дуже широким, але найбільше уваги він приділяв вивченню фіксаторів молекулярного азоту. Так, у 1888 р. М. Бейєринк виділив у чистій культурі симбіотичних азотфіксаторів — бульбочкові бактерії, а в 1901 р.— вільноживучий аеробний фіксатор азоту — *Azotobacter chroococcum*. Йому належать роботи з вивчення фізіології бульбочкових бактерій, процесів денітрифікації та сульфатредукції, а також ферментів різних груп мікроорганізмів.

С. Виноградський і М. Бейєринк вважаються засновниками *еколого-фізіологічного* напряму в розвитку мікробіології, пов'язаного з вивченням ролі мікроорганізмів у природних умовах та їх участі в кругообігу речовин у природі.

Високою оцінкою відкриття С. Виноградським автотрофних бактерій стало присудження йому в 1892 р. в Харківському університеті наукового ступеня доктора наук без офіційного захисту дисертації. Після відкриття анаеробних азотфіксаторів Петербурзька академія наук присвоїла йому в 1893 р. звання члена-кореспондента, а в 1923 р. Російська Академія Наук — звання почесного академіка. З 1902 р. С. Виноградський — член-кореспондент Французької Академії природничих наук, член Лондонського королівського товариства.

Василь Омелянський

С. Виноградський виховав багато науковців, які згодом стали видатними вченими. Серед них насамперед необхідно відзначити російського мікробіолога ***Василя Леонідовича Омелянського*** (1867–1928). Народився Василь Леонідович у Полтаві. Освіту здобув у класичній гімназії в Житомирі, а потім продовжив навчання в Пе-

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. серійний УМЛ, скачати М. серійний Т.М. та ін

тербурзькому університеті на природничому відділенні фізико-математичного факультету.

Його основні наукові праці присвячені з'ясуванню ролі мікроорганізмів у кругообігу речовин у природі, анаеробному розкладенню клітковини. Він першим указав на можливість застосування бактерій як біологічних індикаторів. В. Омелянський був визнаний як чудовий педагог і популяризатор науки. Він підготував до друку підручник «Основы микробиологии» (1909), який витримав 10 видань; опублікував рекомендації до практичних занять з мікробіології (1922), монографію «Связывание атмосферного азота почвенными микробами» (1923).

Для розвитку медичної мікробіології важливе значення мали роботи ***Данила Кириловича Заболотного*** (1866–1929). Будучи ще студентами медичного факультету Київського університету Св. Володимира, Д. Заболотний і його однокурсник Іван Григорович Савченко провели на собі необачний дослід: прийняли попередньо протихолерну вакцину, а потім випили живу вірулентну культуру холерного вібріона (захворювання при цьому не виникло). Тим самим вони довели можливість запобіжних щеплень проти холери вбитими вібріонами при введенні їх через рот.

Данило Заболотний

У 1898 р. Д. Заболотного обирають завідувачем першої в Росії кафедри бактеріології в Жіночому медичному інституті (пізніше Перший Ленінградський медичний інститут), якою він керував майже 30 років. Відомі роботи Данила Кириловича з вивчення збудника чуми, для ліквідації епідемій якої в Індії, Монголії, Маньчжурії, на Близькому Сході він залучав не лише своїх співробітників, а й студентів. Результати цих досліджень були підсумовані в книзі «Легочная чума в Маньчжурии в 1910–1911 гг.» (1915). У 1910 р. він був організатором боротьби з епідемією холери в Петербурзі.

Д. Заболотний є одним із засновників епідеміології в Росії. Він організував першу в Росії кафедру епідеміології у Військово-медичній академії, а згодом курс епідеміології став обов'язковим в усіх вищих медичних закладах.

У 1928–1929 рр. Д. Заболотний був президентом Всеукраїнської академії наук (ВУАН), в цей же час за його ініціативою створюється Інститут мікробіології і вірусології, який зараз носить його ім'я.

Від 1968 р. Національна Академія наук України щорічно присуджує премію імені Д. Заболотного за видатні досягнення в галузі мікробіології, вірусології, епідеміології та зоології, яку той чи інший вчений може одержати лише раз у житті. Першим (1968) лауреатом цієї премії став видатний український мікробіолог, академік АН України Віктор Григорович Дроботько за цикл робіт «Фітонциди — антибіотичні речовини з вищих рослин».

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук Т.М. та ін.

Уперше курс лекцій з мікробіології в Київському університеті Св. Володимира був прочитаний у 1909 р. на природничому відділенні фізико-математичного факультету. Декілька таких лекцій провів видатний український вчений ***Микола Григорович Холодний*** (1882–1953), якому з часом було запропоновано читати повний курс мікробіології. З метою підготовки до читання цього курсу М. Холодний у квітні 1912 р. поїхав до Петербурга в лабораторію загальної мікробіології Інституту експериментальної медицини, якою керував Василь Леонідович Омелянський. Восени 1912 р. він повернувся до Київського університету, де займався викладацькою та науковою діяльність майже 40 років. У 1919 р. М. Холодний отримує ступінь магістра ботаніки, захистивши дисертацію на тему: «Вплив іонів металів на процеси подразливості у рослин», а в 1926 р. йому присуджують ступінь доктора ботаніки honoris causa за монографію «Залізобактерії», надруковану німецькою мовою (1925).

У 1953 р. цю монографію було перекладено російською мовою. У передмові до монографії відомий російський мікробіолог Олександр Олександрович Імшенецький писав: «Все в ній бездоганно: критичний аналіз проблеми, стиль викладення, власні мікрофотографії автора». Дослідження залізобактерій є актуальними і в наш час, оскільки вони переросли у роботу із запобігання корозії металевих конструкцій, що стало особливо важливим при будівництві Київського метрополітену. Справа в тому, що тіонові бактерії створюють дуже кисле (агресивне) середовище (0,1 N розчину H_2SO_4), в якому болти для кріплення, розраховані на 100 років, за короткий час «роз'їдалися» і ставали непридатними.

Микола Холодний

У 1933 р. в Київському університеті було створено кафедру мікробіології, завідувачем якої призначили М. Холодного.

М. Холодний плідно працював у різних напрямках: вивчав залізобактерії; займався питаннями ґрунтової мікробіології; досліджував засвоєння мікроорганізмами ґрунту і повітря летких органічних сполук та ін.

Значний внесок у розвиток мікробіології зробив професор, член-кореспондент АН України ***Лев Йосипович Рубенчик*** (1896–1988). Народився Лев Йосипович в Одесі, де у 1922 р. закінчив Інститут народної освіти. Ще під час навчання в інституті його цікавила мікробіологія. Спочатку він працював лаборантом Одеського губернського відділу охорони здоров'я, потім — асистентом Інституту народної освіти, а з 1927 р.— професором. У 1931 р. Л. Рубенчик захищає докторську дисертацію, а в 1932 р. його обирають завідувачем кафедри мікробіології Одеського університету.

З 1941 по 1968 р. Л. Рубенчик очолював відділ загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології АН України. У своїх ранніх роботах учений багато уваги приділяв проблемам біологічної очистки стічних

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук І.М., Сквіра Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

вод. Він вперше показав, що життєдіяльність мікроорганізмів не зупиняється в ґрунті полів зрошення навіть при температурі нижче 0 °С. З часом його зацікавили дослідження на стику загальної, водної та геологічної мікробіології, які мали наукове і практичне значення. Вивчаючи кругообіг речовин у солоних озерах, він встановив особливості життєдіяльності різних груп мікроорганізмів у специфічних умовах високого гідростатичного тиску і високої солоності середовища. Розкриття природи і генезису лікувальної грязі, яка залягає на дні одеських лиманів, дало можливість розробити теоретичні основи і запропонувати технологію штучного синтезу цієї біогенної породи. Широко відомі роботи Л. Рубенчика, пов'язані з вивченням геохімічної діяльності бактерій циклу сірки, в тому числі сульфатредукуючих бактерій, як основних агентів утворення сірководню в морях, мінеральних джерелах, пластових водах нафтових родовищ, ґрунтах. Одна з цих бактерій була названа *Vibrio rubentschikii*.

Серія робіт ученого була присвячена вивченню ролі бактерій циклу сірки в корозії бетонів і металів. Ці дослідження були узагальнені в багатьох статтях та монографіях («Сульфатредуцирующие бактерии», 1947; «Микроорганизмы и микробиальные процессы в соленых водоемах УССР», 1948; «Микроорганизмы как фактор коррозии бетонов и металлов», 1950).

Працюючи у відділі загальної та ґрунтової мікробіології, Лев Йосипович разом зі своїми співробітниками протягом багатьох років вивчав взаємозв'язки ґрунтових мікроорганізмів з вищими рослинами. Особлива увага приділялася вільноживучим і симбіотичним азотфіксуючим мікроорганізмам. Деякі виділені й вивчені штами азотфіксаторів були використані у виробництві бактеріальних добрив. Підсумком цих досліджень стала монографія «Азотобактер и его применение в сельском хозяйстве» (1960).

Багаторічні дослідження дали можливість створити реальну основу для використання мікроорганізмів як біологічних індикаторів при вирішенні ряду питань у ґрунтознавстві, промисловості, медицині, геології, океанології. Ці роботи були узагальнені у книзі «Микроорганизмы — биологические индикаторы» (1973), яка була відзначена премією ім. Д. К. Заболотного.

Таким чином, на кінець XIX ст. мікробіологія стала самостійною наукою з власним теоретичним фундаментом і методами дослідження. Завдяки появі нових методів дослідження перша половина XX ст. ознаменувалася відкриттям великого різноманіття форм, структури і типів метаболізму, тобто різноманіттям типів життя відкритих мікроорганізмів.

У другій половині XX століття професор, завідувач кафедри мікробіології Київського університету Михайло Миколайович Ротмістров відмічав серед найдивовижніших таємниць природи грандіозність деяких явищ, зокрема невідповідність між розмірами мікробів і тими процесами, які вони спричиняють. Доведено, що утворення ґрунту, нафти, кам'яного вугілля, покладів корисних копалин пов'язане з діяльністю різноманітних груп мікроорганізмів. Більше того, мікроорганізми утворюють фундамент усієї піраміди життя, вершиною

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

якої є людина. Сучасний російський мікробіолог Георгій Олександрович Заварзін писав: «…мікроорганізми можуть існувати без вищих організмів. Зворотне, очевидно, не вірне: вищі організми без бактерій на Землі існувати не зможуть, оскільки біогеохімічні цикли будуть непоправно порушені».

У 30-ті роки XX ст. учень М. Бейєринка Альберт Ян Клюйвер та його наукова школа в результаті досліджень далеких фізіологічно різних груп мікроорганізмів показали, що надзвичайне різноманіття типів життя поєднується за подібністю біохімічних процесів, або, інакше кажучи, за біохімічною єдністю життя. Воно проявляється в єдності структури основних речовин — білків, жирів, вуглеводів і нуклеїнових кислот; енергетичних та конструктивних процесів у мікроорганізмів, рослин і тварин.

У 40-х роках розпочалися генетичні дослідження на бактеріях. Було описано механізми передачі генетичної інформації, доведено, що спадковою речовиною є ДНК. Пізніше було встановлено принципову єдність в організації генетичного матеріалу, генетичного коду і в механізмах передачі інформації в бактерій, рослин та тварин. Розвиток біохімії еукаріотів і прокаріотів дозволив виявити спільність за всіма біологічними ознаками для всього органічного світу. На основі досягнень молекулярної біології суттєві здобутки досягнуті і в систематиці мікроорганізмів. Світ мікробів поділений на еукаріоти й прокаріоти, які відрізняються між собою за розмірами, фізико-хімічною структурою, організацією геному та клітини. У самостійні групи прокаріотів виділені ціанобактерії — мікроскопічні водорості, які не мають істинного ядра, але, як і рослини, містять хлорофіл та здійснюють оксигенний фотосинтез, і бактерії, які не мають ні справжнього ядра, ні хлорофілу. Було доведено, що метаногенні, галофільні і термофільні бактерії за деякими ознаками відрізняються від інших бактерій. Вони, за пропозицією С. Вуза (1974), були названі *архебактеріями*.

У другій половині XX ст. біологія збагатилася видатними відкриттями: було встановлено фізико-хімічну структуру спадкової речовини, її універсальність для всієї живої природи, розшифровано генетичний код, доведено його універсальність і принципову подібність механізмів реплікації генетичного матеріалу.

Більшість даних молекулярної біології значною мірою були отримані на бактеріях. Це зумовило злиття молекулярної біології з молекулярною генетикою, біохімією, вірусологією та імунологією. Виявилося, що концепції та методи загальної біології цілком можуть бути використані в мікробіології.

Значних успіхів досягла мікробіологія у вивченні субмікроскопічної структури мікробних клітин, фізико-хімічної структури мікробних речовин, ролі мікроорганізмів у кругообігу речовин у природі, механізмів еволюції й адаптації мікроорганізмів, процесів метаболізму і біосинтезу. В систематиці мікроорганізмів використовуються методи молекулярної біології, які дозволяють повернутися до можливої побудови філогенетичної таксономії бактерій. Розроблені методи безперервного культивування мікроорганізмів як у лабораторних умовах, так і в промисловості.

Том 1. Сегінчук І.М., Скіпка Т.М., Сегінчук Т.М. та ін

Лауреати Нобелівської премії, чиї відкриття пов'язані з мікробіологією

Рік	Портрет	Країна, лауреат	Обґрунтування нагороди
1901		Німецька імперія, Еміль Адольф фон Беринг (1854–1917)	За роботу з використання сироватки у лікуванні дифтерії, що відкрило нові шляхи в медичній науці та дало у руки лікарів переможну зброю проти хвороби та смерті
1905		Німецька імперія, Роберт Кох (1843–1910)	За дослідження та відкриття, що стосуються терапії туберкульозу
1908		Російська імперія, Ілля Ілліч Мечніков (1845–1916)	За праці з імунітету
		Німецька імперія, Пауль Ерліх (1854–1915)	
1928		Франція, Шарль Ніколь (1866–1936)	Встановлення переносника висипного тифу — платтяної воші

Мікробіологія. Том 1 / Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Рік	Портрет	Країна, лауреат	Обґрунтування нагороди
1939		Німеччина, Герхард Домагк (1895–1964)	За відкриття антибактеріального ефекту пронтозилу (червоного стрептоциду)
1945		Великобританія, Александер Флемінг (1881–1955)	За відкриття пеніциліну та його цілющого впливу за різних інфекційних хвороб
		Великобританія, Ернст Борис Чейн (1906–1979)	
		Австралія, Хоуард Уолтер Флорі (1898–1968)	
1952		США, Зельман Ваксман (1888–1973)	За відкриття стрептоміцину — першого антибіотику, ефективного в лікуванні туберкульозу

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1 ... Сківка Л.М., Серкучук Т.М. та ін

Рік	Портрет	Країна, лауреат	Обґрунтування нагороди
1958		США, Джошуа Ледерберг (1925–2008) (1/2 премии)	За відкриття, що стосуються генетичної рекомбінації та організації генетичного матеріалу у бактерій
2005		Австралія, Баррі Маршалл (1951)	За роботи з вивчення впливу бактерії *Helicobacter pylori* на розвиток гастриту, виразки шлунка та дванадцятипалої кишки
		Австралія, Робін Уоррен (1937)	

Питання для самоконтролю

1. Кому і коли належить честь відкриття мікроорганізмів?
2. Коротко опишіть основні етапи створення мікроскопу.
3. Ким і в якому році вперше було використано термін «мікроскоп»?
4. Хто вважається першим вітчизняним мікробіологом експериментатором?
5. Які дослідники зробили внесок у розвиток морфологічного етапу в мікробіології?
6. Назвіть основні напрями досліджень Луї Пастера.
7. Якими роботами відзначився в медичній мікробіології Роберт Кох?
8. Назвіть основні відкриття Іллі Мечнікова.
9. Які вчені вважаються засновниками еколого-фізіологічного напряму розвитку мікробіології?
10. Назвіть вчених, що зробили вагомий внесок у розвиток медичного напрямку в мікробіології.
11. Назвіть основні напрямки досліджень Д. К. Заболотного.

Мікробіологія. Гоміна І.Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

12. Ким були вперше прочитані лекції з мікробіології у Київському університеті Св. Володимира?
13. В якому році в Київському університеті було створену кафедру мікробіології? Хто її очолював?
14. Назвіть вітчизняних вчених, які зробили вагомий внесок у розвиток мікробіології.
15. Назвіть Нобелівських лауреатів та їх відкриття, що стосуються розвитку мікробіологічної науки.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г, Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 2.
МОРФОЛОГІЯ І БУДОВА БАКТЕРІАЛЬНОЇ КЛІТИНИ

2.1. Методи мікроскопічного дослідження мікроорганізмів

Основним інструментом для вивчення будови бактеріальної клітини є мікроскоп. ***Світловий мікроскоп*** — це складний оптичний прилад, призначений для вивчення дрібних предметів, організмів і структур тканин, тобто таких об'єктів, яких не видно неозброєним оком. Сучасний мікроскоп забезпечує можливість вивчати об'єкти в променях світла, що проходить крізь систему лінз та об'єкт, проводити фазово-контрастне, люмінесцентне, інтерференційно-поляризаційне та інші види мікроскопічних досліджень.

Основними елементами конструкції світлових мікроскопів є механічна й оптична частини та система освітлення (рис. 2.1).

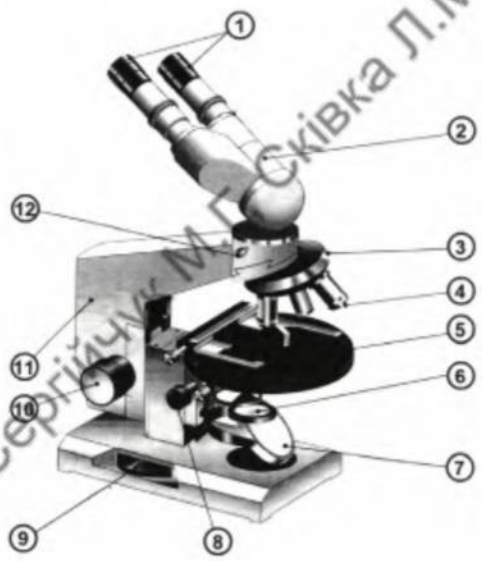


Рис. 2.1. Мікроскоп з бінокулярною насадкою і дзеркалом:
1 — окуляри; 2 — бінокулярна насадка; 3 — револьвер; 4 — об'єктив; 5 — предметний столик; 6 — конденсор; 7 — дзеркало; 8 — гвинт для переміщення кронштейна кондесора; 9 — механізм точного фокусування; 10 — механізм грубого фокусування; 11 — тубусотримач; 12 — гвинт для закріплення насадки

Сучасні об'єктиви — це багатолінзові системи (рис. 2.2), від якості яких залежить зображення об'єкта. Порядок розташування лінз в об'єктивах такий, що лише маленька лінза, звернута до об'єкта (так звана фронтальна лінза), дає дійсне збільшення. Усі інші лінзи є корекційними, вони корегують аберації, які мають місце в оптичних приладах. Чим сильніший об'єктив, тим меншу фоку-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчик М.Г., Сківка Л.М., Сергійчик І.М. та ін

сну відстань має його фронтальна лінза, а тому зі зростанням збільшувальної здатності вона набуває все більш сферичної форми. Чим менша фронтальна лінза, тим вища збільшувальна здатність об'єктива.

Рис. 2.2. Конструкція об'єктива [https://ru. wikipedia. org/wiki/]

Одним із недоліків оптичних систем є аберація. Розрізняють хроматичну й сферичну аберацію.

При хроматичній аберації зображення, яке створюється зеленими променями, не збігається із зображенням, яке створюється червоними й синіми променями. У результаті утворюється зафарбоване зображення безбарвного об'єкта (рис. 2.3).

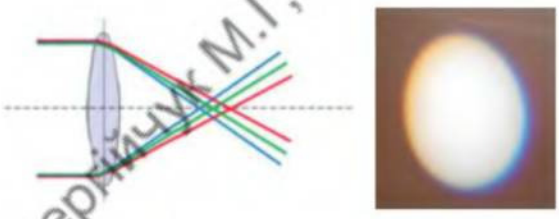


Рис. 2.3. Хроматична аберація

Сферична аберація супроводжується тим, що точка предмета проектується не у вигляді точки, а у вигляді кола більшого чи меншого діаметра. При цьому зображення розпливається, стає нечітким, оскільки поле зору викривляється й неможливо бачити одночасно центр і краї зображення предмета (рис. 2.4).

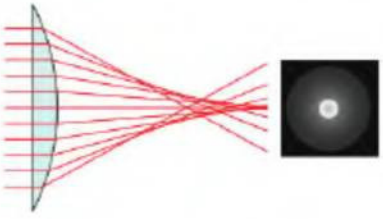


Рис. 2.4. Сферична аберація

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Основні характеристики об'єктива — збільшення й апертура. Від апертури об'єктива залежить роздільна здатність оптичного мікроскопа. Апертура (*A* — числова апертура) об'єктива — це синус половини отвірного кута (sin α/2) при вершині конуса світлового потоку, який проходить через об'єкт (рис. 2.5): $A = \sin \alpha / 2$.

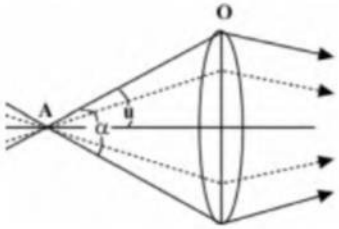


Рис. 2.5. Схема ходу променів при різній величині кута u: A — об'єкт; O — об'єктив; α — отвірний кут; u — половина отвірного кута

Таке рівняння буде правильним, якщо між об'єктом і фронтальною лінзою об'єктива знаходиться повітря ($n = 1$). Для збільшення апертури об'єктива запропоновано заповнювати простір між фронтальною лінзою об'єктива і об'єктом речовиною, яка має $n > 1$, тоді: $A = n \sin \alpha / 2$. Ці речовини називають імерсійними (рис. 2.6.). Вперше вони були запропоновані Де-Амічі у 1840 р. Останніми роками виготовляють об'єктиви, які потребують різних імерсійних середовищ (табл. 2.1).

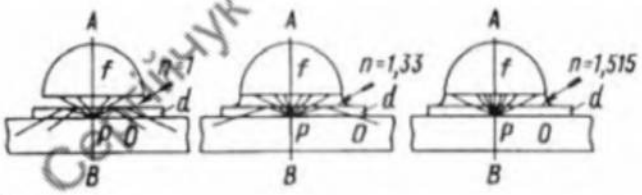


Рис. 2.6. Хід променів у сухому (а), водному (б), масляно-імерсійному (в) об'єктиві: n — показник заломлення; PO — препарат; f — фронтальна лінза об'єктива; d — покривне скло

Таблиця 2.1.

Показники заломлення різних середовищ

Речовина	Показник заломлення	Апертура, яка досягається
Вода	1,33302	1,25
Гліцерин	1,47158	1,35
Кедрова олія	1,51525	1,40
Монобромфталеїн	1,65820	1,60

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сергійчук Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Окуляр складається, як правило, з двох лінз: одна з них направлена до об'єкта, а друга — до ока. Вибір окулярів для роботи залежить від типу об'єктива, який використовується в роботі. Окуляри відрізняються за збільшенням та будовою.

Система освітлення оптичного мікроскопа складається з конденсора, дзеркала та джерела світла. Вона призначена для найкращого освітлення препарату. Конденсор закріплений над дзеркалом і складається з декількох лінз. Він збирає паралельні промені, відбиті дзеркалом від джерела світла в одній точці — фокусі, який має міститися в площині препарату. Конденсор разом з оправою може вертикально переміщатися в межах 20 мм за допомогою спеціального гвинта. Дзеркало, ввігнуте з одного боку і плоске з другого, закріплене в основі штатива. При роботі з конденсором, який розрахований на фокусування паралельних пучків світла, користуються лише плоскою стороною. Ввігнуте дзеркало використовують у тих випадках, коли працюють без конденсора. В цьому разі дзеркало збирає пучок паралельних променів, які йдуть від джерела світла, і фокусує його в площині препарату.

У більшості сучасних мікроскопів система освітлення є частиною самого мікроскопа.

Роздільна здатність оптичного мікроскопа — це та найменша відстань між двома крапками (чи рисками), за якою вони спостерігаються роздільно (не зливаються). Ця характеристика залежить від числової апертури об'єктива (A_1), освітлювальної системи (A_2) мікроскопа та довжини хвилі світла (λ):

$$R_0 = \frac{1,22\lambda}{A_1 + A_2}$$

Довжина хвилі світла, яке сприймається оком людини, становить 0,4–0,7 мкм (середнє значення λ — 0,55 мкм).

З рівняння видно, що роздільна здатність мікроскопа збільшується зі зменшенням довжини хвилі світла, яке використовується для освітлення об'єкта, і збільшенням числової апертури об'єктива та освітлювальної системи.

Найменшу довжину хвилі мають ультрафіолетові промені — вона у них удвічі менша, ніж у денного світла. Базуючись на цьому, Кьолєр і Рор сконструювали мікроскоп для ультрафіолетових променів. Оскільки звичайне скло майже не пропускає таких променів (λ — 0,4 мкм), лінзи мікроскопа довелось виготовляти з кварцу й флюориту. Невидиме для ока зображення сприймається при цьому на фотографічну пластинку.

Інша ідея лежить в основі ультрамікроскопа Жигмонді й Зідентопфа. Відомо, що найдрібніші пилинки в повітрі можна розглянути, якщо пропустити в темній кімнаті боковий промінь світла крізь невеликий отвір. Виходячи з цих спостережень, вони застосували принцип потужного бічного освітлення в темному просторі. Завдяки такому освітленню на темному фоні препарату чітко видно яскраво освітлені контури об'єкта. Роздільна здатність при цьому збільшується на один і більше порядків.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сквіка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

При зменшенні довжини хвилі світла зменшуються порушення в дрібних структурах об'єкта, які визначаються дифракційними явищами.

Збільшення апертури об'єктива дозволяє збирати промені, які розсіюються під великим кутом, дрібними деталями об'єкта.

Таким чином, роздільну здатність мікроскопа можна посилити шляхом зменшення довжини хвилі світла, яке проходить крізь мікроскоп (використання синіх світлофільтрів), і збільшення апертури оптичної системи.

Загальне збільшення мікроскопа (V) визначається добутком збільшення об'єктива ($V_{об.}$) на збільшення окуляра ($V_{ок.}$): $V = V_{об.} \cdot V_{ок.}$. Якщо об'єктив дає збільшення 100^x, а окуляр — 15^x, то загальне збільшення становить 1500. Для повного використання роздільної здатності мікроскопа і найкращого розгляду об'єкта необхідно використати оптимальне сполучення об'єктива й окуляра, яке дає так зване корисне збільшення. Встановлено, що корисне збільшення мікроскопа не може перевищувати числову апертуру об'єктива більш як у 1000 разів. Виходячи з корисного збільшення, підбирають окуляр, який оптимально відповідає даному об'єктиву.

В цілому, коли йдеться про мікроскопію у світлому полі, то роздільна здатність сучасного оптичного мікроскопа становить 0,2 мкм.

В основі методу ***мікроскопії в темному полі*** лежить явище Тіндаля — освітлення об'єкта косими високоапертурними бічними променями світла. Це досягається використанням спеціальних параболоїд-конденсорів, конденсорів темного поля або звичайного конденсора Аббе із затемненою центральною частиною. В таких конденсорах центральна частина паралельного пучка променів затримується і не потрапляє в об'єктив. Поле зору залишається неосвітленим, темним. Бічні промені, проходячи крізь кільцеву щілину конденсора, розташовану між його центральною частиною й краєм, потрапляють на бічну поверхню лінзи, відбиваються від неї, направляються під кутом у площину препарату і фокусуються на ньому. Якщо на шляху косого відбитка променя нема ніяких частинок, то він, заломлюючись, виходить за межі площини препарату, не потрапляючи в об'єктив (рис. 2.7). Поле зору залишається темним.

Якщо в препараті містяться які-небудь частинки (об'єкти), то косі промені, відбиті конденсором, зустрічаються з цими частинками і заломлюються на них, утворюючи хвилі дифрагованого світла. Ці дифраговані промені поширюються під кутом у різних напрямках, і частина їх потрапляє в об'єктив. Як результат — на темному фоні поля зору видно частинки, які яскраво світяться.

Для дослідження в темному полі препарат готують за методом «роздавленої краплі» (товщина предметного скла має бути не більше 1,1 мм, а покривного — 0,17 мм).

Мікроскопія в темному полі належить до ультрамікроскопічних методів, оскільки має більшу роздільну здатність (до 0,06–0,02 мкм). Вона дозволяє спостерігати за рухом мікробних клітин, виявляти збудників деяких захворювань (лептоспірозів), вивчати мікроорганізми, розміри яких лежать за межами роз-

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М., Сквіра П.М., Сергійчук Т.М. та ін.

дільної здатності світлового мікроскопа. Проте в темному полі зору неможливо добре вивчити форму клітини, а надто її внутрішню будову.

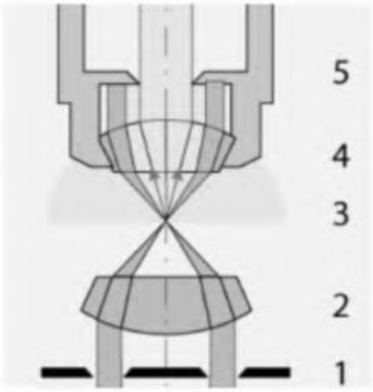


Рис. 2.7. Хід променів при мікроскопії в темному полі [http://dmicro. ru/articles/metodiki-kontrastirovaniya/]: 1 — темнопольна вставка в конденсор; 2 — лінза конденсора; 3 — зразок (препарат); 4 — об'єктив; 5 — апертурна діафрагма

Фазово-контрастна мікроскопія. Око людини розрізняє тільки довжину (колір) і амплітуду (інтенсивність, контрастність) світлової хвилі, але не сприймає різниці у фазі.

Майже всі живі клітини прозорі, оскільки промені світла, проходячи крізь них, не змінюють своєї амплітуди. Але відомо, що контрастність зображення прямолінійно залежить від ступеня поглинання світла різними структурними елементами об'єкта. Якщо в об'єкті чергуються ділянки, які сильно й слабо поглинають світло, то воно, проходячи крізь різні ділянки такого об'єкта, буде різним. Перетворити «фазовий» (неконтрастний) препарат в «амплітудний» (контрастний) можна шляхом забарвлення об'єкта (для живих клітин цей спосіб малопридатний) або зниження апертури конденсора, для чого прикривають його діафрагму, що знижує роздільну здатність мікроскопа.

Метод фазово-контрастної мікроскопії розроблений для спостереження за прозорими об'єктами. Він базується на перетворенні за допомогою певного оптичного пристрою фазових змін, які мають місце при проходженні світлової хвилі крізь об'єкт, у видимі амплітудні (рис. 2.8).

Якщо в об'єктив звичайного мікроскопа вмонтувати спеціальний диск — фазову пластинку з кільцем (її отримують шляхом напилення диска солями рідких металів завтовшки в декілька десятих мікрометрів), а в конденсор — кільцеву діафрагму (непроникну для променів світла пластинку з прозорою щілиною у вигляді кільця) так, щоб крізь конденсор і об'єктив проходило лише кільце світла, яке потім суміщають з кільцем фазової пластинки об'єктива, то фази світла, що проходить, зсуваються (як правило, на ¼ довжини хвилі), фазові зміни переходять в амплітудні, а препарат стає контрастним. Прозорі

ОБІОЛОГІЯ Том 1 Сергійчук І.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

у світлому полі зору препарати стають різко контрастними на світлому фоні (позитивний фазовий контраст) або блискучими на темному фоні (негативний фазовий контраст).

Рис. 2.8. Хід променів у фазово-контрастному мікроскопі

Промінь світла, який потрапляє на прозорий об'єкт, розщеплюється на два промені — прямий і дифрагований. Прямий промінь ***А*** (див. рис. 2.8) йде з кільцевої діафрагми, проходить крізь частинки об'єкта і фокусується на кільці фазової пластинки. Дифрагований промінь ***Б***, проходячи крізь об'єкт, не потрапляє на фазову пластинку. Оптичні шляхи цих двох променів різні. Між ними створюється різниця фаз, і неозброєним оком це зміщення не сприймається. Фазовою ж пластинкою ці фазові зміни перетворюються на амплітудні, які сприймаються оком.

Фазово-контрастна мікроскопія не збільшує роздільної здатності оптичної системи мікроскопа, але вона дозволяє розглядати тонкі структури живих клітин мікроорганізмів, вивчати стадії їх розвитку і процес поділу клітини, виявляти вплив хімічних речовин на мікробну клітину, вимірювати її прижиттєві розміри.

Люмінесцентна мікроскопія. Ідея Ернста Аббе, про можливість використання ультрафіолетових променів з метою підвищення роздільної здатності мікроскопу, була реалізована у 1904 р. співробітниками фірми «Карл Цейсс» Р. Келером і М. Рором при конструюванні люмінесцентного мікроскопу. Зображення в люмінесцентному мікроскопі виникає за рахунок світіння (люмінесценції) досліджуваного об'єкта при його освітленні короткохвильовими (λ = 300–460 нм) променями.

Люмінесценцією називають явище світіння збуджених систем, тобто систем, що утворюються внаслідок поглинання атомами речовин, які входять до неї, різних видів енергії. Залежно від виду енергії, яка поглинається, розрізняють термо-, хемі-, електро- і фотолюмінесценцію.

Фотолюмінесценцією називають люмінесценцію, яка виникає після попереднього поглинання квантів світлового випромінювання. Частинка починає

ОБІОЛОГІЯ» ТОМ 1 Сергійчук Т.М., Сива Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

інтенсивно світитися в результаті поглинання квантів збуджуючого світла. Повертаючись до вихідного стану, система віддає отриману енергію у вигляді світла, довжина хвилі якого більша за довжину хвилі збуджуючого випромінювання.

Енергія квантів випромінювання обернено пропорційна довжині хвилі, тому кванти збуджуючого випромінювання завжди містять більше енергії, ніж кванти люмінесцентного світіння.

При феномені люмінесценції проходить певний проміжок часу між поглинанням збуджуючої енергії та емісією люмінесцентного світіння. Якщо цей проміжок часу перевищує 10^{-4} с, то таке явище називається *фосфоресценцією*; світіння, яке виникає за коротший проміжок часу, називають *флюоресценцією*. Світіння самої речовини об'єкта, опроміненого ультрафіолетовими променями, називають первинною флюоресценцією, або аутофлюоресценцією (власною флюоресценцією). Якщо ж світіння виникає в спеціальній субстанції (у так званих флюорохромах), якою насичений досліджуваний об'єкт, його називають вторинною флюоресценцією. При флюоресценції об'єкти (наприклад, клітини) нібито світяться на темному фоні поля зору мікроскопа.

Препарати, оброблені флюорохромами, випромінюють у середовищах, які не виявляють люмінесценції під дією короткохвильових променів, таких як вода, гліцерин, вазелінова олія або фізіологічний розчин.

Люмінесцентна мікроскопія дозволяє спостерігати об'єкти, розміри яких перебувають за межами роздільної здатності оптичного мікроскопа. Крім того, вона дає можливість вивчати зміни окремих структур клітини при різних функціональних станах.

Електронна мікроскопія. Одним із суттєвих досягнень прикладної фізики XX ст. є створення електронного мікроскопу, яке привело до перевороту в уявленні вчених про біологічні структури. Принцип електронної мікроскопії полягає в тому, що електромагнітне поле впливає на пучок електронів аналогічно до того, як скляна лінза впливає на промінь світла (рис. 2.9). Електронний промінь характеризується властивостями електромагнітного випромінювання з дуже малою довжиною хвилі. Якщо електрони прискорені в електричному полі з напругою 100 кВ, то довжина хвилі буде лише 0,04 нм, тобто приблизно в 10 000 разів менше, ніж у видимого світла. Відповідно і роздільна здатність електронного мікроскопу на декілька порядків вища, ніж у світлопольного (див. рівняння визначення роздільної здатності оптичного мікроскопу).

Шлях електронів в трансмісивному (просвічуючому) електронному мікроскопі подібний до шляху променів видимого світла у світловому мікроскопі. Пучок електронів, що виходить з електронної пушки, проходить через ряд електромагнітних лінз. Конденсорна лінза збирає пучок електронів на препараті, а декілька збільшувальних лінз створюють збільшене зображення, яке проектується на екран. Оскільки повітря перешкоджало б руху електронів, весь шлях електронного пучка відбувається у високому вакуумі. Через низьку здатність

Біологія. Том 1. Сергійчук М.І., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін.

проникнення елекронів в електронному мікроскопі досліджують лише ультратонкі зрізи товщиною до 100 нм.

В трансмісійному електронному мікроскопі контраст зумовлюється тим, що електрони по-різному розсіюються на різних ділянках препарату, причому ефективність їх розсіювання залежить від кількості атомів та їх маси. Оскільки до складу біологічних матеріалів входять переважно атоми з невеликою масою, то контрастність таких матеріалів невелика. Її підвищують за допомогою напилення солями важких металів.

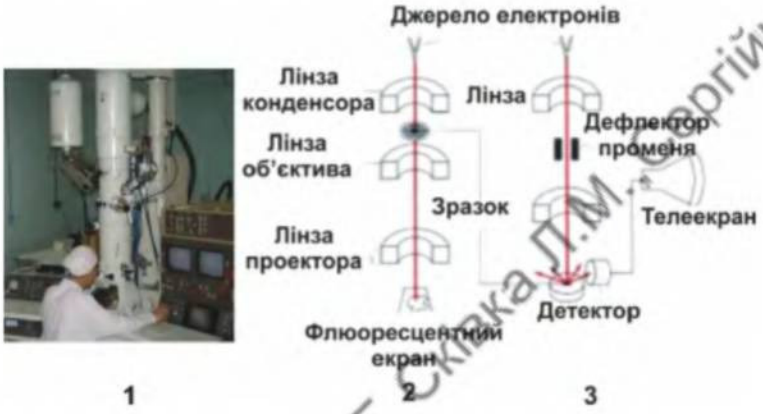


Рис. 2.9. Електронна мікроскопія: 1 — загальний вигляд; 2 — трансмісивна; 3 — скануюча

Як світловий, так і електронний трансмісивний мікроскоп дає плоске зображення. Модифікований електронний мікроскоп (скануючий) дозволяє отримувати тривимірне зображення поверхні досліджуваних об'єктів. У такому мікроскопі об'єкт, покритий тонким шаром важкого металу, сканується вузьким пучком електронів (електронним зондом) подібно до того, як це відбувається у телевізійній трубці. Електрони, що надходять від тієї точки об'єкта, на яку потрапляє скануючий пучок, збираються колектором і за допомогою підсилювача створюється зображення на екрані електронно-променевої трубки. Контраст зумовлено тим, що кількість відбитих об'єктом вторинних електронів пропорційна куту між електронним пучком і поверхнею об'єкта, що дозволяє виявити його просторову структуру.

2.2. Морфологія бактерій

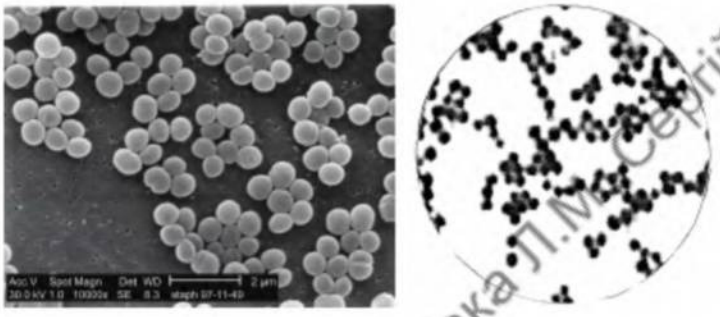
Бактерії (лат. *bacteria* — паличка) — це одноклітинні прокаріотичні мікроорганізми розміром від 0,1 до 28 мкм {1мм $=10^3$ мкм $=10^6$ нм}.

Найпоширенішими є кулясті, паличкоподібні, звивисті і нитчасті форми бактерій. Між ними існують численні проміжні форми.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сквка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Кулясті бактерії називають коками (лат. *coccus* — ягода, зерно). Залежно від кількості площин ділення та розташування бактеріальних клітин після поділу коки поділяють на:

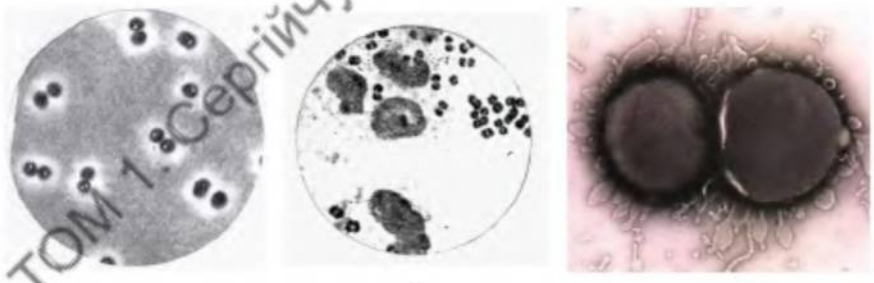
• *мікрококи* (лат. *micro* — маленький). Поділ клітини відбувається в одній або кількох площинах. Клітини розташовуються поодиноко або утворюють нехарактерні угруповання (рис. 2.10). Це, як правило, сапрофіти, типові мешканці води, ґрунту і повітря. Представники: *Micrococcus luteus, Kocuria rosea, Kocuria varians, Kytococcus sedentarius;*



а б

Рис. 2.10. *Micrococcus luteus*
а — електронна мікроскопія; б — світлопольна мікроскопія

• *диплококи* (лат. *diplo* — подвійний). Клітини діляться в одній площині, на препаратах для мікроскопії розташовуються парами (рис. 2.11).



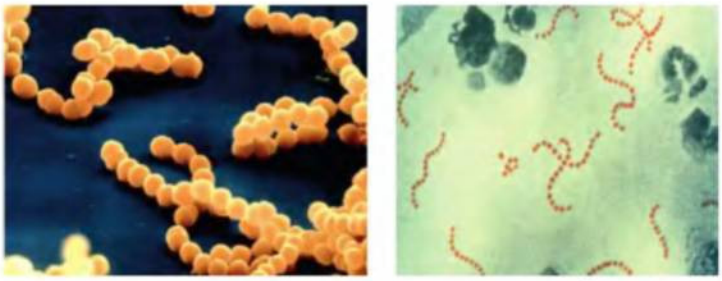
а б в

Рис. 2.11. а — *Azotobacter chroococcum*; б — *Neisseria gonorrhoeae* в гної;
в — *Neisseria gonorrhoeae* — електронна мікроскопія

Представники: *Azotobacter chroococcum*, *Neisseria gonorrhoeae* (збудник гонореї та бленореї), *N. meningitidis* (збудник менінгіту);

• *стрептококи* (лат. *streptos* — ланцюг). Клітини діляться в одній площині, утворюють ланцюжки різної довжини (рис. 2.12). Представники: *Streptococcus pyogenes*, *S. faecalis*, *S. lactis*, *S. pneumoniae*;

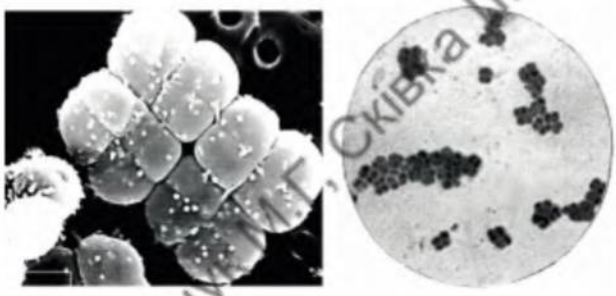
ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін



а б

Рис. 2.12. *Streptococcus pyogenes:* а — електронна скануюча мікроскопія; б — мазок з гною, світлопольна мікроскопія

• *тетракоки* (грец. *tetra* — чотири). Клітини діляться у двох площинах, утворюють тетради (рис. 2.13). Представники: *Deinococcus proteolyticus*, *D. radiodurans*, *Stomatococcus mucilaginosus*;



а б

Рис. 2.13. *Pediococcus damnosus:* а — електронна мікроскопія; б — світлопольна мікроскопія

• *сарцини* (лат. *sarcio* — зв'язую, склеюю). Поділ клітин відбувається у трьох взаємно перпендикулярних площинах з наступним утворенням специфічних угруповань у вигляді пакетів із 8, 16, 32 і більше клітин (рис. 2.14). Хвороботворних видів серед сарцин не встановлено. Представник: *S. ventriculi*;

Рис. 2.14. *Sarcina ventriculi* (скануюча електронна мікроскопія)

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Серійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

• *стафілококи* (лат. *staphylos* — гроно винограду). Клітини діляться нерівномірно, у декількох площинах, що супроводжується утворенням характерних скупчень, подібних до виноградних грон (рис. 2.15). Серед стафілококів є вільноживучі сапрофіти (на молочних, м'ясних продуктах, у ґрунті, повітрі, на поверхні рослин), а також патогенні для людини і тварин види. Представники: *Staphylococcus aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus, S. haemolyticus.*

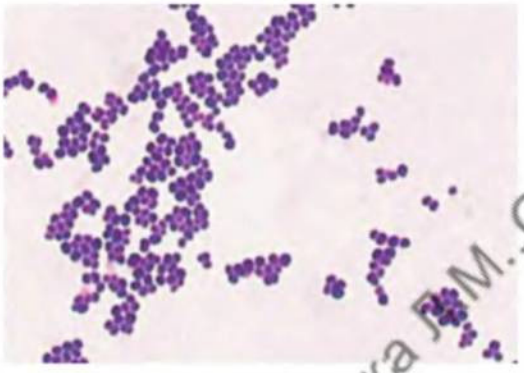
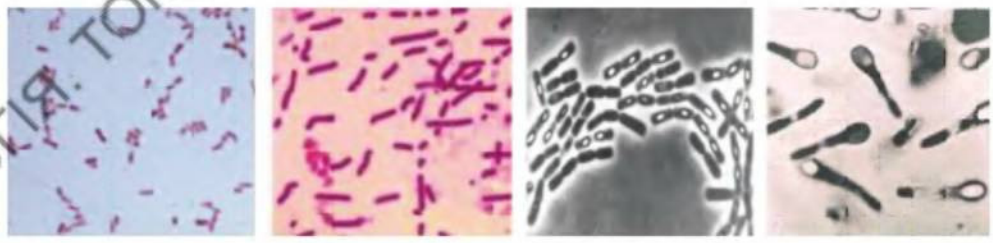


Рис. 2.15. *Staphylococcus aureus*

Найбільш чисельною та різноманітною групою бактерій є їх **паличкоподібні** (циліндричні) форми. Довжина циліндричних бактерій коливається в досить широких межах, від 0,8 мкм до 11 мкм, ширина є більш стабільним показником — 0,5–1,0 мкм. Крім розмірів, у різних видів паличкоподібних бактерій звертають увагу на форму кінців клітини та характер розташування при мікроскопії. Кінці клітини можуть бути загострені, овальні, різко обрізані або навіть дещо потовщені. На препаратах для мікроскопії більшість видів спороутворювальних бактерій формують ланцюжки клітин, тоді як неспороутворювальні бактерії ланцюжків не утворюють. Палички можуть розташовуватись поодиноко, попарно у вигляді букв X та V або ієрогліфів (характерно для біфідобактерій). Стосовно морфології виділяють дві форми паличкоподібних бактерій: спороутворювальні та аспорогенні (рис. 2.16).



А) *Pseudomonas sp.* Б) *Lactobacillus sp.* В) *Bacillus sp.* Г) *Clostridium sp.*

Рис. 2.16. Паличкоподібні форми бактерій: а, б — аспорогенні бактерії; в, г — спороутворювальні бактерії

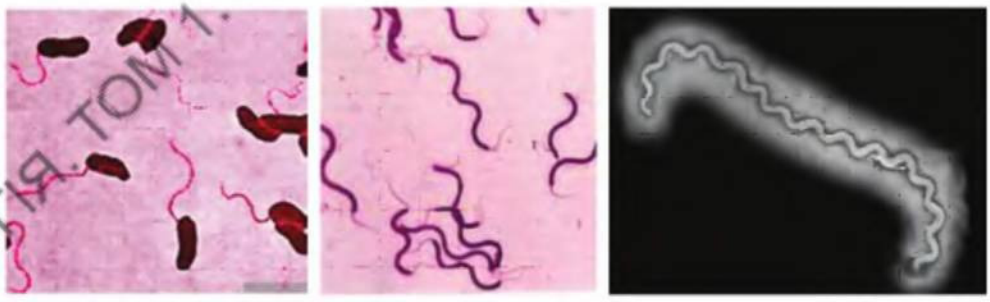
БІОЛОГІЯ. ТОМ 1 Сергійчук І.Г., Склєка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

До *спороутворювальних* відносять, наприклад, такі бактерії: *Amphibacillus (A. xylanus), Bacillus (B. anthracis, B. subtilis, B. thuringiensis), Clostridium (C. botulinum, C. novyi, C. perfringens, C. septicum, C. tetani), Desulfotomaculum (D. nigrificans, D. ruminis), Oscillospira (O. guilliermondii), Sporohalobacter (S. lortetii, S. marismortui), Sporolactobacillus (S. inulinus), Sporosarcina (S. ureae, S. halophila), Syntrophospora (S. bryantii), Sulfobacillus (S. thermosulfidooxidans).*

Хоча вважають, що спороутворювальні бактерії більш пристосовані до переживання несприятливих умов навколишнього середовища, *неспороутворювальні (аспорогенні)* форми бактерій є більш поширеною групою. Найвідомішими представниками аспорогенних паличок є *Escherichia coli* та *Serratia marcescens*. *E. coli* — завжди виділяється з вмісту кишок та фекалій людини, тому її називають кишковою паличкою. *S. marcescens* — раніше мала назву *Bacterium prodigiosum* (чудесна паличка). Поява цього абсолютно безпечного для людини мікроорганізму на продуктах харчування, іконах, вівтарях викликала паніку. Справа в тому, що цей мікроб синтезує криваво-червоний пігмент, і поява ікон, що плачуть кривавими сльозами, або хліба з кривава-червоними плямами, сприймалася людьми як страшне знамення. Існує давній переказ, що під час осади Тіра у війську Олександра Македонського виникла паніка через те, що на хлібі з'явились «криваві» плями. Але мудрець заспокоїв солдат, пояснивши «криваві» плями тим, що очікується кривава розправа над ворогом.

Серед неспороутворювальних паличок також досить відомими є бактерії, які спричиняють такі поширені захворювання, як дизентерія *(Shigella sonnei, S. dysenteriae, S. flexneri)*, черевний тиф *(Salmonella typhi)* та паратиф *(S. paratyphi)*, сальмонельоз *(S. choleraesuis)*. Мікроорганізми роду *Proteus (P. vulgaris, P. rettgeri)* виділяються при харчових токсикоінфекціях, нагноєнні ран.

Звивисті бактерії. Залежно від кількості витків звивисті бактерії поділяють на вібріони, спірили та спірохети (рис. 2.17).



а) *Vibrio cholerae* б) *Spirillum volutans* в) *Leptospira interrogans*

Рис. 2.17. Звивисті форми бактерій:
а — вібріони; б — спірили; в — спірохети

Сергієнко М.Г., Скібка Л.М., Сергієнко Т.М. та ін. МІКРОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1

Вібріони (лат. *vibrio* — вигинаюсь, або *vibrare* — тріпотливий) — зігнуті палички (0,3–1,3 х 1,4–5,0 мкм), які становлять ¼ спіралі, мають вигляд коми. Значно поширені в морях та витоках річок, на поверхні тіла морських тварин та у вмісті їхніх кишок. Деякі види виявлені також у прісній воді. Близько 10 видів є патогенними для людини, декілька — викликають захворювання морських хребетних та безхребетних.

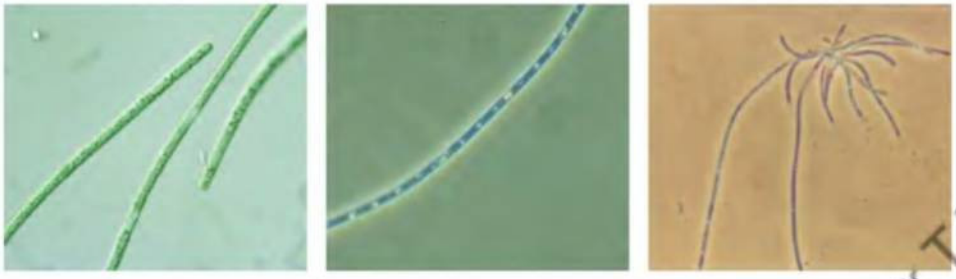
Найвідомішими збудники захворювань людини є: *Vibrio cholerae* (збудник холери), *V. parahaemolyticus* (збудник харчових отруєнь, причиною яких може бути інфікована риба або молюски) та *V. vulnificans* (викликає септицемію з високим відсотком летальності).

Спірили — здебільшого це сапрофіти, які мешкають у стоячих водоймах, забруднених водоймах, а також гниючих рештках рослинного та тваринного походження. На відміну від вібріонів, їх клітини товстіші, довгі (1,4–1,7 х 14,0–60,0 мкм) та звивисті. Спірили можуть мати від 1–2 витків (тоді вони нагадують російську букву ***С***, або англійську ***S***) до 8–10 витків. *Spirillum pleomorphum* — виділені з арктичного ґрунту. Оптимальна температура для їх росту –9 °С, максимальна –20 °С, мінімальна — нижче 0 °С. *S. volutans* — зустрічаються в стоячій прісній воді. *S. minus* — єдиний патогенний для людини вид. Хвороба «*содока*» пов'язана з укусом щурів. У ході цього захворювання спостерігається підвищення температури тіла до 39–41 °С, лихоманка, згодом з'являються висипи, артрити, запалення слизових рота й очей.

Спірохети (лат. *spiro* — штопор) — сильно звивисті палички, мають понад 10 витків (0,1–0,3 х 5,0–250,0 мкм). Зовні вкриті тонкою зовнішньою мембраною, яка обмежує протоплазматичний циліндр — цитоплазму з ядерною ділянкою, оточену ЦПМ. Спірально закручений протоплазматичний циліндр обвитий периплазматичними аксіальними нитками, які забезпечують ковзний тип руху. Серед спірохет є вільноживучі форми, які виявляються в прісних та солоних озерах, донних відкладеннях (*Spirochaeta plicatilis*, *S. isovalerica*). Деякі види є патогенними для людини. Це, зокрема, збудник сифілісу (*Treponema pallidum*), збудник поворотного тифу (*Borrelia recurrentis*), збудник інфекційної жовтухи (*Leptospira interrogans*). Зараження людини лептоспірами відбувається через інфіковану хворими тваринами воду. Захворювання починається миттєво після інкубаційного періоду, який триває 5–6 діб і характеризується підвищенням температури, загальною слабкістю, сильним головним та м'язовим болем. Через тиждень лептоспіри концентруються в печінці, селезінці, лімфатичних вузлах. Захворювання зазвичай закінчується одужанням.

До нитчастих бактерій (рис. 2.18) належать паличкоподібні одноклітинні і багатоклітинні організми. Нитки утворюються багатьма клітинами, які з'єднуються між собою за допомогою чохлів, піхв, плазмодесм та ін. У нитчастих ціанобактерій нитки прості або галузисті. Нитки трихомних бактерій можуть вільно плавати у воді (ціанобактерії, *Beggiatoa alba*) або прикріплюються до субстрату (*Thiothrix nivea*).

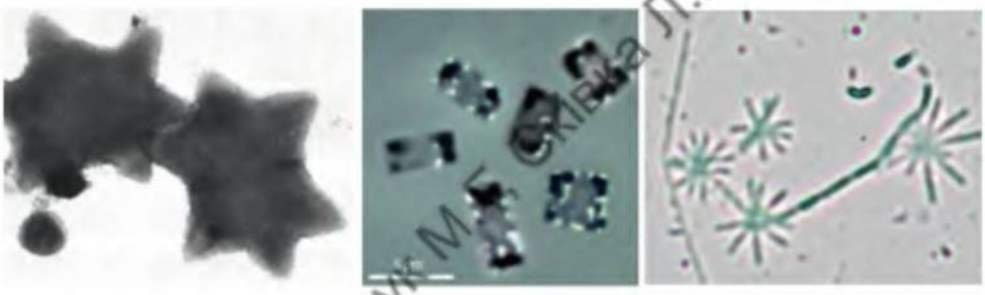
БІОЛОГІЯ (ТОМ 1, Сергійчук І.Г., Скіба І.М., Сергійчук Т.М. та ін



Thiothrix nivea *Beggiatoa alba* *Oscillatoria sp.*

Рис. 2.18. Нитчасті форми ціанобактерій

Крім перелічених форм бактерій, існують бактерії незвичної форми: у вигляді кілець, шестипроменевих зірок, нирок, прямокутні, трикутні, з виростами тощо (рис. 2.19).



Stella vacuolata *Haloarcula quadrata* *Planctonomyces sp.*

Рис. 2.19. Незвичні форми бактерій

Деяким родам бактерій властивий *плеоморфізм* (морфологічна мінливість). У процесі росту форма клітин може суттєво змінюватись від коків до паличок (і навпаки), набувати неправильної форми, утворювати розгалужені нитки. Плеоморфізм властивий мікоплазмам, мікобактеріям, азотобактеру та багатьом іншим.

Актиноміцети (Актинобактерії) — це одноклітинні прокаріотичні організми, які мають форму довгих розгалужених ниток, що нагадують міцелій грибів.

Будова міцелію у різних представників актинобактерії однотипова. Товщина нитки міцелію становить 0,5–1,5 мкм (частіше — 0,7–1,0 мкм). Він може бути коротким або довгим, але загальна довжина міцелію не піддається вимірюванню. При підрахунку ваговим методом доведено, що колонія вагою 1 мг має загальну довжину міцелію, яка досягає 1000 м. Довжину міцелію вдається встановити лише в перші години його росту, коли спора або шматочок міцелію проростають

Мікробіологія: підручник / Сергійчук М.Б., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

в нитки, які розташовані в одній площині на поверхні агаризованого середовища. Через 20–30 год розвитку міцелій розростається настільки сильно, що вся його маса маскується багатошаровістю.

Під час росту актинобактерій на щільному поживному середовищі утворюються щільні, шкірясті колонії, які вростають в середовище. Їх розмір визначається видовою належністю та умовами культивування, вони можуть бути дрібними (0,5–2 мм) або великими — до 1 см і більше.

На щільному середовищі розрізняють три типи міцелію актиноміцетів: *субстратний* (нитки розвиваються в глибині щільного середовища, через них відбувається всмоктування поживних речовин); *надсубстратний* (стелиться безпосередньо по поверхні поживного середовища); *повітряний* (піднімається над поверхнею середовища у вигляді густої пухнастої, мучнистої, оксамитової, шкірястої маси) (рис. 2.20). Повітряний міцелій може бути недорозвинутий.

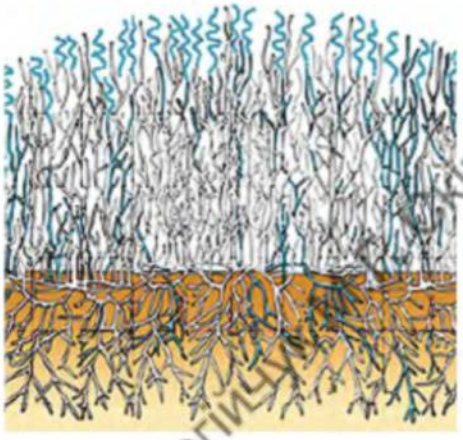


Рис. 2.20. Ріст актинобактерій на щільному середовищі

2.3. Ультраструктура прокаріотичної клітини

Незважаючи на зовнішній простий вигляд, бактеріальна клітина є складним живим об'єктом (рис. 2.21), будова якого за багатьма ознаками нагадує будову клітин рослинного чи тваринного походження.

Бактеріальна клітина оточена щільною оболонкою — клітинною стінкою. У багатьох бактерій ззовні від клітинної стінки розташовані капсула або слизові шари, пілі (ворсинки, фімбрії) та джгутики. Усередину від клітинної стінки розташована цитоплазматична мембрана (обов'язкова структура клітин усіх бактерій), яка оточує цитоплазму. В цитоплазмі міститься бактеріальне ядро, рибосоми, запасні речовини та інші бактеріальні структури. Структури, розташовані ззовні від цитоплазматичної мембрани, називають поверхневими.

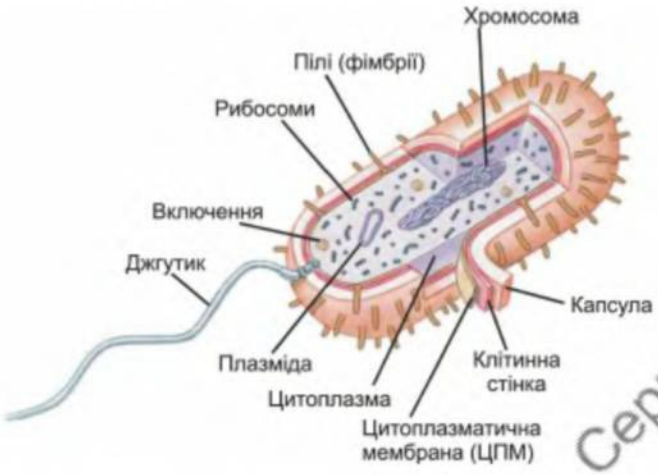


Рис. 2.21. Схематичне зображення прокаріотичної клітини

Бактеріальне ядро (нуклеоїд) — регіон нерегулярної форми в межах клітини, де локалізований генетичний матеріал. Ця ділянка має фібрилярну структуру та не містить рибосом. Генетичний матеріал представлений кільцевою (рідко лінійною) молекулою ДНК, яка більш-менш компактно розташована у центральній частині клітини. Бактеріальне ядро функціонально тотожне ядру вищих організмів, але відрізняється деякими особливостями:

- ядерний апарат бактерій не має ядерної оболонки і ДНК знаходиться у безпосередньому контакті з цитоплазмою;
- немає розподілу на хромосоми, а нитка ДНК — це аналог хромосоми вищих організмів, яка була названа бактеріальною хромосомою;
- у бактерій відсутній мітоз і мейоз.

Спеціальними дослідженнями показано, що хромосома прокаріотів — це високоупорядкована компактна структура. Така структура отримала назву «компактної хромосоми». Розрізняють дві форми хромосом: вільну і зв'язану. Вільна форма бактеріальної хромосоми має константу седиментації 1300–2000 S, а зв'язана з ЦПМ — 3200–7000 S.

Нуклеоїд, вільний від елементів ЦПМ, містить в основному ДНК, РНК, а також гістоноподібні білки. РНК локалізується переважно в центральній частині нуклеоїда, що було доказано обробкою клітин РНКазою. При цьому центральна зона стає менш щільною, а константа седиментації знижується до 400–500 S. Така форма нуклеоїду має біля 140 петель, які відходять від щільної центральної зони. Нитка кожної петлі досягає 20 мкм завдовжки.

У зв'язаного фрагмента нуклеоїду визначаються зв'язки мембрани з петлями, або центральною зоною. Обробка РНКазою знижує константу седиментації, що супроводжується збільшенням об'єму нуклеоїда. На цій підставі прийнято

Мікробіологія. Ред. Сергійчук М.І., Скіба П.М., Сергійчук Т.М. та ін.

вважати, що компактність структури нуклеоїда забезпечується зв'язками типу РНК–РНК або РНК–ДНК. Збільшення об'єму нуклеоїда пояснюється втратою ДНК суперспіралізації, що супроводжується розширенням і розпрямленням петель. Зв'язок хромосоми з мембраною може здійснюватися двома шляхами: за рахунок зв'язку ДНК із специфічним білком мембрани, або через рибосоми, зв'язані з мембраною. Кількість точок зв'язування досягає 15–20 і більше.

У відповідності з такою моделлю неактивна, суперспіралізована ДНК локалізована в центральній частині нуклеоїда, тоді як по його периферії розташовуються деспіралізовані петлі, які є матрицею синтезу іРНК. іРНК зв'язана з ДНК через РНК-полімеразу, а також із цитоплазматичними або мембранно-зв'язаними рибосомами. В більшості випадків бактеріальні хромосоми виявились кільцевими. Але в 1989 р. M. Ferdows і A. Barbour, використовуючи пульс-форез, виявили нативну ДНК *Borrelia burgdorferi*, що мала лінійну форму. В подальшому лінійні структури бактеріальних хромосом були виявлені у актиноміцетів *Streptomyces lividans*, *S. coelicolor*, а також фітопатогенної бактерії *Rhodococcus fascians*. На обох кінцях таких структур розміщувались інвертовані повтори, до яких прикріплювались білкові молекули. Відомі випадки про наявність в одній бактеріальній клітині (*Agrobacterium tumefaciens*) двох хромосом, одна з яких мала кільцеву структуру, а друга — лінійну.

Значна частина бактерій має одну хромосому (єдина група зчеплення генів), втім все більше досліджується видів, що несуть гени на двох або більшій кількості хромосом. Дві великі кільцеві молекули мають клітини *Vibrio cholerae*, *Leptospira interrogans*, *Rhodobacter sphaeroides*, види роду *Brucella*. Три хромосоми має *Rhizobium melioti*, 2–4 на клітину містять бактерії виду *Burkholderia capecia*. Деякі види роду *Agrobacterium* мають одну кільцеву і одну лінійну хромосому.

Більше того, бактеріям характерне явище поліплоїдії, коли одна клітина містить кілька копій хромосоми (4–40 копій, іноді до 100). Його можна спостерігати при рості бактеріальної культури на збагаченому поживними речовинами субстраті: реплікація ДНК випереджує поділ клітини. Рекордсменом є бактерія *Epulopiscium fishelsoni*, клітини якої за таких умов можуть вміщувати до 100 000 копій хромосомної ДНК.

Клітинна стінка належить до обов'язкових структур бактеріальної клітини. Винятком є мікоплазми та L-форми бактерій, які позбавлені цієї структури.

Клітинна стінка — структура ригідна, але в той же час до певної міри й еластична. Вона визначає форму бактеріальної клітини. Це легко демонструється експериментально: якщо порушити цілісність клітинної стінки, утворюються сферопласти або протопласти, які змінюються морфологічно.

Клітинна стінка захищає внутрішній вміст клітини від механічних і осмотичних впливів зовнішнього середовища, відіграє важливу роль у регуляції росту, поділу клітини. Хімічний склад і будова клітинної стінки різних еубактерій відрізняються між собою, що зумовлює здатність клітини по-різному забарвлюватись за Грамом (табл. 2.2).

БІОЛОГІЯ Том І, Сергійчук Т.М., Сківка Т.М. та ін

Таблиця 2.2.

Хімічний склад клітинних стінок грампозитивних і грамнегативних прокаріотів

Компоненти клітинної стінки	Грампозитивні прокаріоти	Грамнегативні прокаріоти	
		внутрішній шар	зовнішній шар
Пептидоглікан	+	+	—
Тейхоєві кислоти	+	—	—
Полісахариди	+	—	+
Білки	±	—	+
Ліпіди	±	—	+
Ліпополісахариди	—	—	+
Ліпопротеїди	—	±	±

Важливим структурним компонентом клітинної стінки як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій є біополімер — мукопептид (пептидоглікан, глюкозамінопептид, глікопептид, або муреїн (лат. *murus* — стінка). Саме цей біополімер і визначає ригідність бактеріальної клітинної стінки. Його вміст у клітинних стінках грампозитивних прокаріотів досягає 50–90 % за масою. У більшості видів грамнегативних бактерій вміст пептидоглікану коливається від 1 до 10 %. У клітинних стінках ціанобактерій, які мають грамнегативний тип організації клітинної стінки, визначається 22–52 % муреїну.

За допомогою електронної мікроскопії було показано, що клітинна стінка грампозитивних прокаріотів має вигляд гомогенного електронно-щільного шару, представленого пептидогліканом із вбудованими в нього тейхоєвими кислотами, полісахаридами та ін. (рис. 2.22). Товщина цього шару коливається у різних видів бактерій від 20 до 50 нм.

Клітинна стінка грацилікутних бактерій являє собою багатошарову (гетерогенну) структуру (рис. 2.23), яка включає:

- внутрішній електронно-щільний шар завтовшки 2–3 нм, представлений пептидогліканом;
- ззовні до нього примикає шар завтовшки 8–10 нм, який складається з двох електронно-щільних смужок, розділених електронно-прозорим проміжком. Таку трикомпонентну структуру клітинної стінки грамнегативних бактерій, яка нагадує елементарну мембрану, називають *зовнішньою мембраною*;
- простір між ЦПМ і зовнішньою мембраною називають *періплазматичним*.

Таким чином, клітинні стінки грампозитивних і грамнегативних прокаріотів суттєво відрізняються між собою за ультраструктурою та хімічним складом.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Сівка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

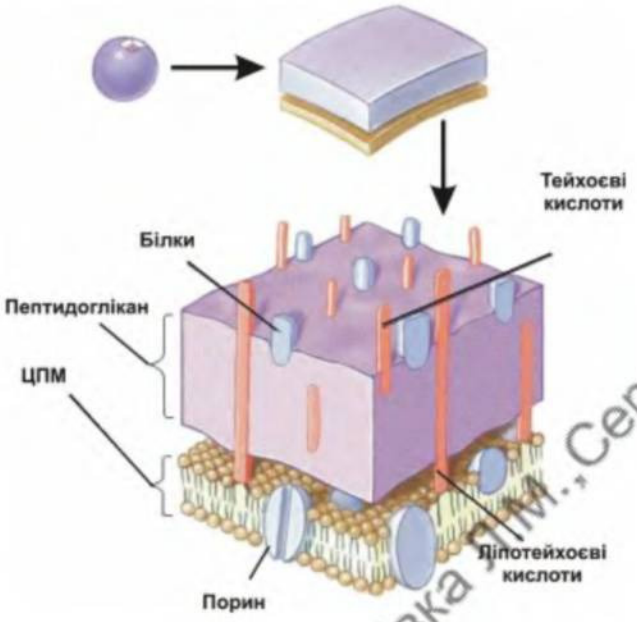


Рис. 2.22. Схематична будова клітинної стінки Грампозитивних (Фірмікутних) бактерій

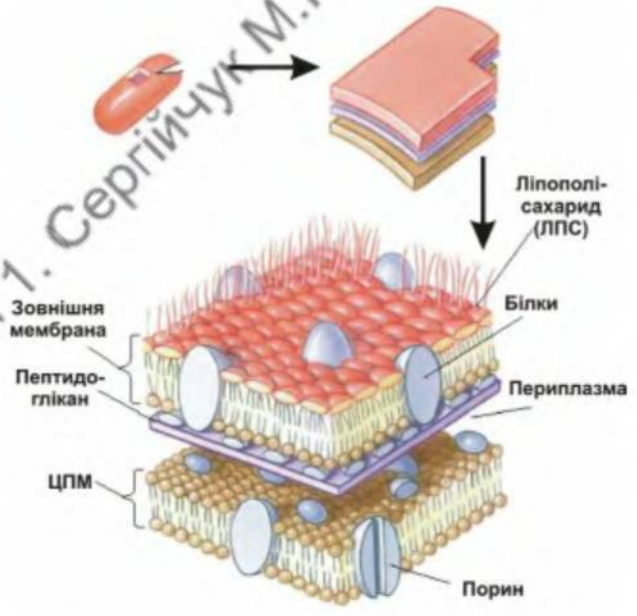


Рис. 2.23. Схематична будова клітинної стінки Грамнегативних (Грацилікутних) бактерій

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сівка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

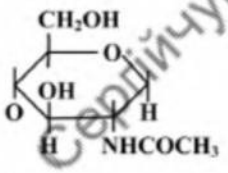
Спосіб диференціації бактеріальних клітин, запропонований у 1884 р. датським ученим Х. Грамом (1853–1938) увійшов у мікробіологічну практику як метод Грама. Суть його полягає в тому, що в певних видів бактерій деякі компоненти клітинної стінки при взаємодії з генціановим (або кристалічним) фіолетовим у присутності йоду утворюють стійкий комплекс, який не вимивається спиртом або ацетоном. Такі бактерії називаються грампозитивними (або фірмікутними). Бактерії, які не забарвлюються за методом Грама, називають грамнегативними (або грацилікутними). Забарвлювання за Грамом є одним з важливих методів диференціації бактерій. Теоретично всі бактерії можна розділити на дві групи: грампозитивні та грамнегативні. Реально мають місце випадки, коли один і той же мікроорганізм характеризується як грамваріабельний, тобто залежно від віку культури забарвлюється за Грамом як позитивно, так і негативно.

Отже, клітинні стінки грампозитивних і грамнегативних бактерій відрізняються між собою за ультраструктурою та хімічним складом, але обов'язковим і одним з основних їх компонентів є *пептидоглікан*. Цей біополімер не виявляється в клітинах інших організмів, тобто він є унікальною структурою прокаріотів.

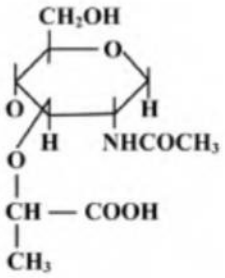
Молекула пептидоглікану має скелет, який утворюється залишками N-ацетилглюкозаміну (**N-Ac. Gl.**) і N-ацетилмурамової кислоти (**N-Ac. M.**).

N-Ac. Gl.— це похідне глюкози, в якій гідроксильна група при другому атомі вуглецю заміщена аміногрупою, до якої приєднується ацетильний залишок.

Молекула N-Ac. M.— це ефір N-Ac. Gl. і молочної кислоти. Ця сполука притаманна лише клітинам прокаріотів.



N-Ацетилглюкозамін



N-Ацетилмурамова кислота

Обидві молекули з'єднуються між собою β-1,4-глюкозидними зв'язками, утворюючи лінійну структуру — глікан (рис. 2.24).

Елементи, що утворюють глікан, подібні до таких дисахаридів, як целобіоза чи хітин. Але, на відміну від целобіози й хітину, до структури глікану входять карбоксильні групи, які й визначають його кислотні властивості.

До карбоксильної групи молочної кислоти в молекулі N-Ac. M. приєднується пептид. У багатьох випадках — це тетрапептид (рис. 2.25). Пептидний залишок включає L- і D-форми амінокислот (неприродна конфігурація, оскільки біологічну активність проявляють лише L-форми), які чергуються між собою.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сердійчук М.І., Скківа І.М., Сердійчук Т.М. та ін

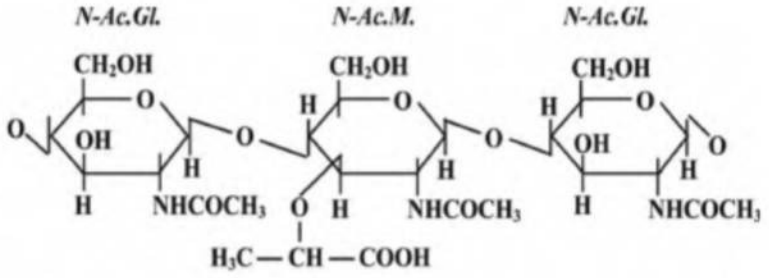


Рис. 2.24. Структура молекули глікану

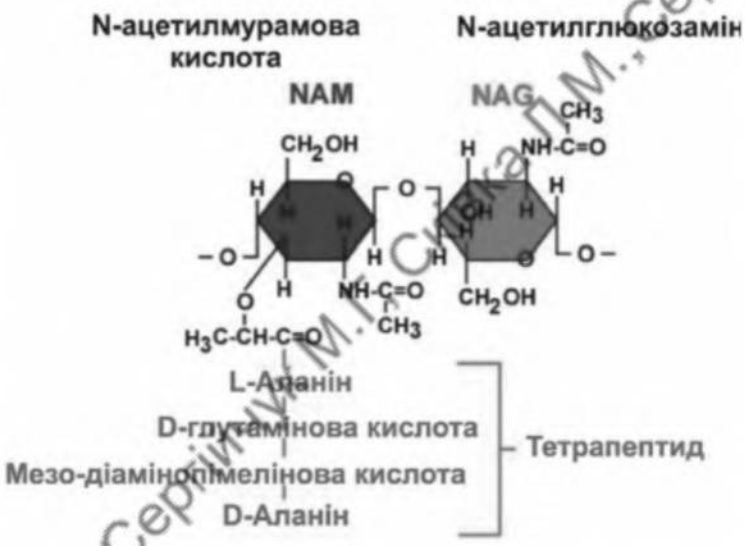


Рис. 2.25. Мономер пептидоглікану (муреїну)

До складу тетрапептиду часто входить також незвична амінокислота — діамінопімелінова (DAP), яка може бути в мезо- або L-формі (рис. 2.26). Ця амінокислота виявляється лише у прокаріотів і лише в структурі їх клітинної стінки.

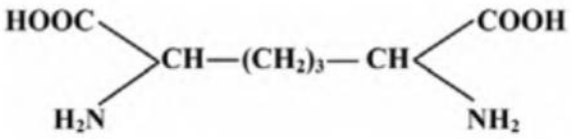


Рис. 2.26. m-Діамінопімелінова кислота

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сліпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Пептидний залишок пептидоглікану не обов'язково має чотири амінокислотних залишки. Інколи пептид може включати два термінальних D-Ala, в інших випадках він може мати всього три амінокислотних залишки.

Вивчення пептидогліканів різних бактерій показало, що всі вони організовані однотипово і мають гліканový ланцюг, пептидні ланцюги і перехреснозв'язуючі містки, які з'єднують пептидні залишки.

Усе це створює сітчасту структуру цього біополімеру, схема просторової організації якого представлена на рис. 2.27.

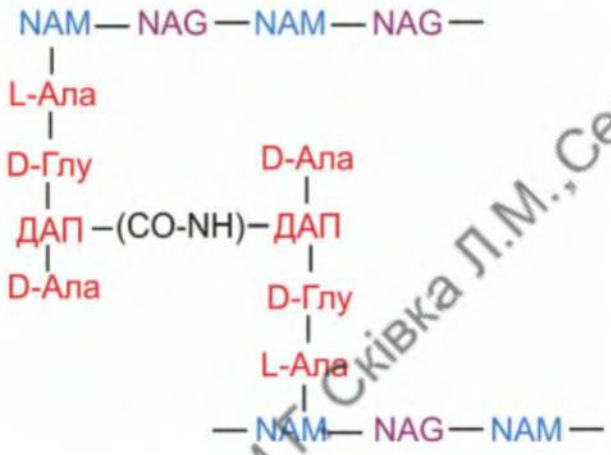


Рис. 2.27. Просторова організація молекули пептидоглікану

Під час вивчення ферментних гідролізатів пептидогліканів було виділено декілька мінорних компонентів:

- похідне мурамової кислоти, в якій гідроксил у C_6 заміщений О-ацетильною або фосфатною групою. Остання зв'язує пептидоглікани з іншими полімерами клітинної стінки, наприклад, із тейхоєвими кислотами;
- у деяких залишках мурамової кислоти замість залишку N-Ac. Gl. визначається N-ацетилманозамін;
- інколи виявляється мурамова кислота з вільною, тобто неацильованою, аміногрупою;
- визначається невелика кількість мурамової кислоти, яка замість N-ацетильних має N-гліколільні групи.

Товщина одного шару пептидоглікану коливається в межах 1,5–2,0 нм, тобто можна вважати, що пептидоглікан грамнегативних бактерій є одно- або двошаровим, а в грампозитивних — має 20–40 шарів, що визначається товщиною клітинної стінки.

Основними функціями пептидоглікану вважають:

- виявляє ригідність (цупкість, механічну міцність), отже, він визначає форму бактеріальної клітини;

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г. Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

- протидіє тургорному тиску вмісту клітини, тобто запобігає осмотичному лізису;
- зумовлює значною мірою антигенну специфічність бактеріальної клітини;
- деякі елементи клітинної стінки виявляють неспецифічний ад'ювантний ефект. *Ад'юванти — це речовини, що посилюють імунну відповідь на введення антигена. У випадку пептидоглікану це, як правило, трипептиди* (L-Ala — D-Glu — m-DAP), *з'єднані з* N-Ac. M.;
- наявність вільних карбоксильних (COO^-) або аміногруп (NH^+) визначає поверхневий заряд клітини.

Таким чином, пептидоглікан є одним із важливих компонентів клітинної стінки бактерій, але його структура, як біополімера, може варіювати.

Оскільки пептидоглікан деяких бактерій має антигенні властивості, можливість інгібування його синтезу має велике значення для медицини. Муреїновий шар грампозитивних і грамнегативних бактерій можна зруйнувати літичними ферментами або інгібувати його синтез антибіотиками пеніцилінового ряду: бензилпеніциліном, 2-оксибензил-пеніциліном, n-гептилпеніциліном, n-амілпеніциліном та ін. Ефект інгібування синтезу речовини клітинної стінки виявляють також бацитрацин, ванкоміцин, ристоміцин, циклосерин тощо.

Ферменти, які руйнують структуру пептидоглікану, вперше були описані О. Флемінгом у 1922 р., вони відомі як лізоцими.

Лізоцим (ацетилмурамідаза) — бактерицидний фермент, який виявляється в сльозовій рідині, носовому слизу, яєчному білку, молоці. Цей фермент виділений також з клітин деяких бактерій (наприклад, *E. coli,* деяких представників роду *Streptomyces*) і бактеріофагів. Він розриває в молекулі муреїну глюкозидні зв'язки між першим атомом вуглецю N-Ac. M. і четвертим — у молекулі N-Ac. Gl. Унаслідок такої дії полісахаридні ланцюги розриваються до дисахаридних фрагментів.

Місце розриву молекули пептидоглікану залежить від ферменту, який використовується з цією метою:

- ендо-N-ацетилглюкозаміл-N-ацетилмурамідаза (глюкозидаза) — розриває зв'язки після N-ацетилглюкозаміну;
- ендо-N-ацетилмураміл-N-ацетилглюкозиламідаза (глюкозидаза) — діє на зв'язки після N-ацетилмурамової кислоти;
- N-ацетилмураміл-N-аланінамідаза — відщеплює тетрапептид від молекули глікану.

Порушити цілісність структури пептидоглікану можна також дією ендопептидаз — ферментів, які розривають зв'язки в молекулі тетрапептиду або між двома пептидами. Унаслідок такої дії утворюються *сферопласти* — структури, частково позбавлені клітинної стінки, або *протопласти* — структури, повністю позбавлені клітинної стінки.

Експериментально функцію пептидоглікану вперше продемонстрував С. Вейбел у 1953 р. З цією метою він помістив клітини *B. megaterium* в ізотонічний

МІКРОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скварська І.М., Сергійчук Т.М. та ін

розчин сахарози, а потім додав лізоцим. Паличкоподібні клітини перетворилися на клітини сферичної форми — протопласти, які зберігали дихальну активність, синтезували білок і нуклеїнові кислоти.

Через те, що протопласти не мають клітинної стінки, вони набувають найрізноманітнішої форми: видовженої, роздутої, грушоподібної, спіральної тощо.

Таким чином, було доведено, що лізис клітинної стінки не призводить до порушення метаболічних функцій: протопласти дихають подібно до інтактних клітин, а якщо до цього мала місце ініціація процесу спороутворення, то воно завершується утворенням спори.

В гіпотонічних розчинах протопласти руйнуються. Через те, що в протопластів відсутня клітинна стінка, вони стають більш чутливими до дії хімічних речовин і тому є зручною моделлю для проведення фізіологічних досліджень.

Вважається, що гіпертонічні розчини є стабілізуючим фактором для клітин, які позбавлені клітинної стінки, внаслідок чого вони набувають сферичної форми. Крім того, встановлено, що певну роль в отриманні сферопластів відіграє також речовина, з якої було одержано гіпертонічний розчин. При утворенні сферопластів з *E. coli* гіпертонічний розчин, одержаний із сахарози, добре зберігає протопласти, тоді як у гіпертонічному розчині із целобіози вони руйнуються.

Якщо протопласти відмити від лізоциму і помістити в оптимальне середовище, вони збільшуються в розмірах і виявляють обмежену здатність до розмноження. Але вони не відновлюють здатності до синтезу речовини клітинної стінки. Регенерація клітинної стінки відбувається лише в деяких спеціальних умовах, тоді клітина набуває своєї вихідної форми. В гіпертонічних або в ізотонічних розчинах протопласти більш-менш стабільні, в гіпотонічних — відбувається осмотичний лізис.

Гідроліз муреїну грамнегативних бактерій під дією літичних ферментів не призводить до видалення зовнішньої мембрани. При цьому утворюються чутливі до зміни осмотичного тиску структури, які називаються сферопластами. Сферопласти, як і протопласти, більші за клітини, з яких вони утворюються, в 3–10 разів. Але на відміну від протопластів, вони містять залишки мурамової та діамінової кислот і легше ревертують у вихідні форми.

L-форми — це бактерії, які позбавлені клітинної стінки, але здатні до розвитку. Вперше L-форми спостерігали вчені Лістерівського інституту (Великобританія) у 1935 р., звідки і походить їхня назва. Було помічено, що культура *Streptobacillus moniliformis* може утворювати атипові форми колоній, в яких виявляються анормальні клітини. Якщо такі клітини помістити в середовище, яке містить сироватку крові, вони можуть розмножуватися невизначено довго. Початково вважали, що це контамінанти, або симбіонти (чи паразити) *Streptobacillus moniliformis*, але згодом була показана можливість деяких із цих клітин переходити (ревертувати) у вихідну (паличкоподібну) форму.

На агаризованих середовищах L-форми утворюють колонії, які вростають у поживне середовище і нагадують форму яєчні. Ріст таких колоній досить

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скіба Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

повільний. У колоніях визначаються структури, що відрізняються і морфологічно, і за розмірами: елементарні тіла розміром 0,2–1,0 мкм, які проявляють мінімальну здатність до розмноження; тіла кулястої або неправильної форми розміром від 1,0 до 5,0 мкм; структури ниткоподібної форми різних розмірів; великі тіла (5,0–10,0 мкм); безструктурні маси.

У грампозитивних бактерій пептидоглікан є багатошаровою структурою. При цьому муреїновий матрикс ковалентно зв'язаний з іншими макромолекулами, до яких належать і *тейхоєві кислоти* (гр. *teixos* — стінка).

Тейхоєві кислоти були відкриті Беділі в 1958 р. у клітинних стінках *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* і *Lactobacillus arabinosus*. Згодом було доведено, що тейхоєві кислоти визначаються у клітинних стінках більшості грампозитивних бактерій. У еубактерій їх вміст може досягати 50 %, а в актиноміцетів –20–30 %.

Основою молекули тейхоєвої кислоти є полімерний ланцюг, в якому чергуються з'єднані ефірними зв'язками залишки рибітфосфату (або гліцеринфосфату). Одна молекула тейхоєвої кислоти може містити від 7 до 15, а інколи до 50 спиртових залишків.

Деякі гідроксильні групи спиртів заміщені залишками D-Ala, глюкози, N-Ac. Gl. або N-Ac. галактозаміну (R).

Залежно від характеру багатоатомного спирту (рибіту чи гліцерину) тейхоєві кислоти поділяють на дві головні групи — *рибіттейхоєві* й *гліцеротейхоєві кислоти* (рис. 2.28), причому клітинна стінка може містити обидві групи.

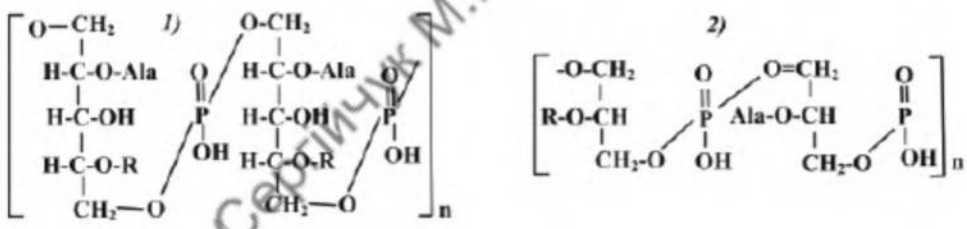


Рис. 2.28. Схема будови рибіттейхоєвої (1) і гліцеротейхоєвої (2) кислот

Вільні гідроксили фосфорної кислоти надають тейхоєвій кислоті поліаніонних властивостей. У гліцеротейхоєвій кислоті фосфатні залишки розташовані близько один до одного, що дозволяє їм захоплювати двовалентні катіони. Фосфатні групи рибіттейхоєвих кислот знаходяться на більшій відстані одна від одної, ніж у випадку гліцеротейхоєвих кислот, тому вони мають меншу спорідненість до двовалентних катіонів. Вільні аміногрупи аланіну надають тейхоєвим кислотам амфотерних властивостей і можуть нейтралізувати їхній внутрішній заряд.

Клітинна стінка бактерій може містити як гліцеротейхоєві, так і рибіттейхоєві кислоти. Всі мембранні тейхоєві кислоти є гліцерофосфатними.

Вважається, що тейхоєві кислоти — головні антигени бактеріальної клітини. Їх антигенність посилюється при частковому гідролізі муреїну.

БІОЛОГІЯ.ком | Сабинчук М.І., Сківка Л.М., Сабинчук Т.М. та ін

Гліцеротейхоєві кислоти мембрани бактеріальної клітини ковалентно зв'язані з гліколіпідом. Такі комплекси називаються ліпотейхоєвими кислотами.

Тейхоєві кислоти клітинної стінки можуть виконувати різні функції. Вони є додатковими елементами просторової організації структури клітинної стінки; тейхоєві і ліпотейхоєві кислоти виявляють антигенні властивості і визначають певною мірою антигенну специфічність клітинної поверхні; вуглеводневі компоненти тейхоєвих кислот входять до складу рецепторів для бактеріофагів; будучи поліаніонами, тейхоєві кислоти визначають поверхневий заряд клітини і впливають на катіонний обмін клітини; у деяких бактерій тейхоєві кислоти беруть участь у регуляції активності автолітичних ферментів — гідролаз, здатних лізувати власний пептидоглікан. Часто тейхоєві кислоти зв'язують власні літичні ферменти. При порушенні таких зв'язків клітина може лізуватися.

Таким чином, крім пептидоглікану, до складу клітинних стінок грампозитивних бактерій входять тейхоєві кислоти, які служать додатковими елементами її просторової організації і виконують ряд інших важливих функцій.

Специфічним компонентом клітинних стінок грамнегативних бактерій є *ліпополісахарид (ЛПС)*. Він локалізований у зовнішній пелюстці зовнішньої мембрани і складається з трьох компонентів (ліпіду А, ядра, О-специфічного ланцюга), які проявляють різноманітні біологічні властивості.

Основними функціями ЛПС є:

- стабілізація зовнішньої мембрани — конструктивна роль;
- запобігання проникненню всередину клітини детергентів, антибіотиків та інших токсичних для клітини речовин — бар'єрна функція;
- акцепторна функція (ЛПС є акцептором для бактерицинів та фагів);
- визначає серологічну специфічність мікробної клітини — О-антиген;
- проявляє токсичні властивості — ендотоксин.

Біохімічний склад ЛПС суттєво відрізняється у різних видів бактерій, але його структура подібна для всіх грамнегативних прокаріотів (рис. 2.29).

Ліпід А має гідрофільну і гідрофобну частини. Гідрофільна частина представлена дисахаридом побудованим із залишків Д-глюкозаміну, з'єднаних β-1,6-зв'язком (*Salmonella, Pseudomonas, Serratia* та ін.) або β-1,4-зв'язком (*Shigella, Escherichia* та ін.). Дисахаридна ланка, в свою чергу, зв'язана з залишками жирних кислот, які утворюють гідрофобну частину молекули ліпіду А. Жирні кислоти з'єднані між собою складноетерними зв'язками і представлені, в основному, оксикислотами (оксикапроновою, оксимиристиновою, лауриновою та ін.). ЛПС, які мають незвичну (іншу) будову ліпіду А, не є токсичними.

Ядро (коровий олігосахарид) — олігомер, який включає від 3 до 1 моносахаридних залишки. Його умовно поділяють на дві структурні ділянки: внутрішній кор, або КДО-гептозна ділянка (2-кето-3-дезоксиоктулонова кислота), яка безпосередньо зв'язана з ліпідом А; зовнішній кор, або гексозна ділянка, зв'язана з О-ланцюгом.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.Г., Скварко І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

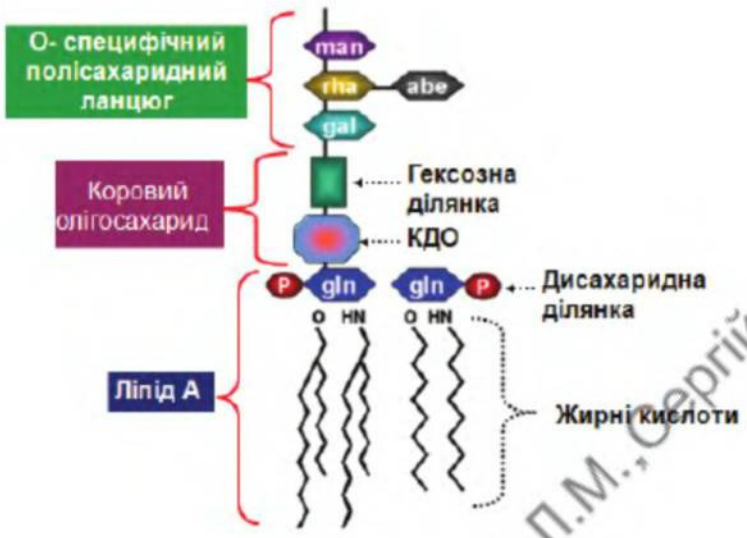


Рис. 2.29. Схема будови ліпополісахариду грамнегативних бактерій

О-специфічний полісахаридний ланцюг — полімер, побудований з олігосахаридних ланок, що повторюються. Ці ланки включають моносахаридні залишки, які відрізняються складом і структурою у різних видів і, навіть, штамів мікроорганізмів. Характер будови О-ланцюга зумовлює серотип даного штаму.

В залежності від повноцінності будови ЛПС розрізняють кілька її фенотипів:

- S-фенотип (від англ. *smooth* — гладенький) — бактерії, які синтезують повну (повноцінну) структуру ЛПС. На агаризованому середовищі бактерії цього типу утворюють колонії з рівною блискучею поверхнею;
- R-фенотип (від англ. *rough* — нерівний). Ядро ЛПС повноцінне або частково не повноцінне і повністю відсутній О-специфічний ланцюг. Бактерії з таким фенотипом ЛПС утворюють шорсткі, зморшкуваті колонії. Патогенні бактерії при формуванні R–фенотипу знижують свою токсичність;
- RS-фенотип. О-ланцюг представлений однією ланкою, що повторюється.

За хімічним складом клітинні оболонки *архебактерій* відрізняються від клітинних стінок грампозитивних та грамнегативних еубактерій, але їм також властива диференціація при забарвлюванні за Грамом. Відмінність у структурі клітинної стінки еубактерій і архебактерій полягає, насамперед, у відсутності в складі клітинних оболонок архебактерій істинного пептидоглікану. Лише в клітинних стінках окремих архебактерій (наприклад, у представників роду *Methanobacterium*) визначається речовина, подібна до муреїну, яку називають *псевдомуреїном* (рис. 2.30).

Молекула псевдомуреїну має скелет, утворений N-Ac.-D-Gl. і N-Ac.-L-талозамінуроновою кислотою, з'єднаних між собою β-1,3-зв'язками. Така структура

ОБІОЛОГІЯ-ТОМ І. Сергійчук Л.Г., Оківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

нагадує глікан. До N-Ac.-L-талозамінуронової кислоти приєднується пептид (пента- або тетрапептид). Пептидні фрагменти включають лише L-форми амінокислот: глутамінову, аланін, лізин та ін.

Мурамова кислота в структурі псевдомуреїну виявляється лише в L-формі. Електронною мікроскопією показано, що клітинна стінка таких бактерій має вигляд однорідного шару завтовшки 15–40 нм (як і в грампозитивних еубактерій). Описані також випадки (наприклад, деякі метаногенні бактерії), коли товщина клітинної стінки досягає 500 нм. Архебактерії, які у складі клітинних стінок містять псевдомуреїн, при диференціації за Грамом забарвлюються як грампозитивні.

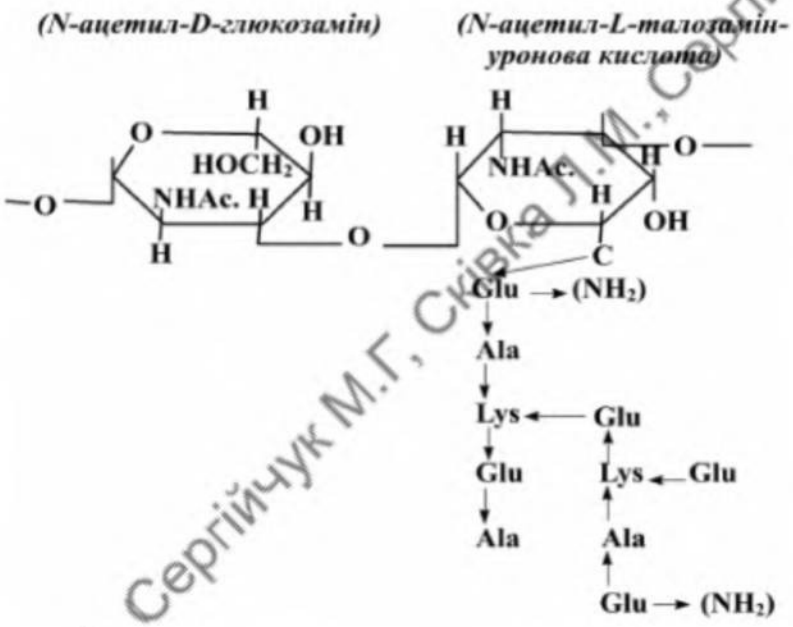


Рис. 2.30. Схема будови молекули псевдомуреїну

У складі клітинних стінок інших архебактерій (наприклад, екстремальні галофіли) муреїн не визначається. Частіше клітинна стінка складається з гетерополісахариду (у представників *Halococcus*) або глікопротеїну (*Halobacterium*). Гетерополісахаридну природу мають і клітинні стінки *Methanosarcina barkeri*. У такому випадку речовина клітинної стінки включає цукри, аміноцукри й уронові кислоти. Клітинна стінка деяких галобактерій і метанобактерій утворена білком. Інколи білки мають зв'язок з аміноцукрами. Незвичну будову має клітина *Methanospirillum hungatii* (рис. 2.31). Вона одягнута білковим циліндричним чохлом, який вкриває всю спіральну багатоклітинну нитку. Між окремими клітинами є проміжки (спейсери), де може відбуватися розрив нитки, тобто її дроблення, розпад. Археї, які не містять псевдомуреїну, забарвлюються як грамнегативні.

Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін. Том 1

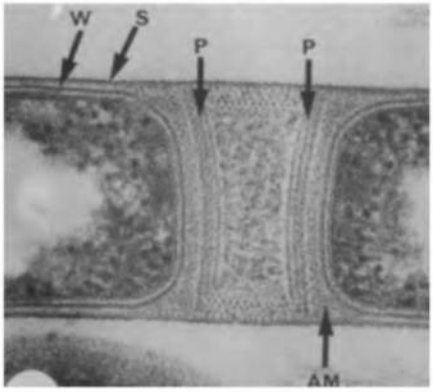


Рис. 2.31. Будова архебактерії *Methanospirillum hungatii* [https://microbewiki.kenyon. edu/index. php/Methanospirillum_hungatei]: S — білковий чохол; W — внутрішня оболонка; P — міжклітинний спейсер

Отже, клітинні стінки різних груп бактерій відрізняються між собою як за хімічним складом, так і за структурною організацією. До їх складу входять речовини, які належать до різних класів хімічних сполук, що забезпечує поліфункціональність клітинної стінки.

Капсули. Клітини багатьох бактерій здатні синтезувати органічні речовини, які відкладаються із зовнішнього боку клітинної стінки у вигляді слизу або капсул (рис. 2.32).

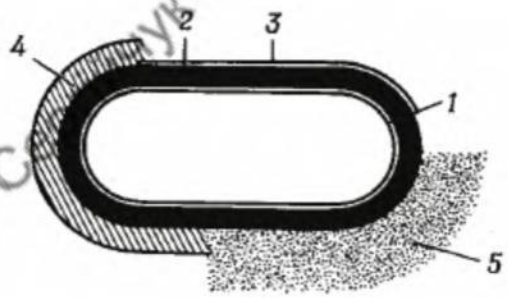


Рис. 2.32. Схематичне зображення розташування поверхневих шарів клітини мікроорганізмів: 1 — цитоплазматична мембрана; 2 — клітинна стінка; 3 — мікрокапсула; 4 — капсула; 5 — слизовий шар

Інколи клітина має і капсулу, і аморфний слиз однакового хімічного складу. Наприклад, клітини *Leuconostoc mesenteroides* мають капсулу декстранової природи і слиз такого самого складу, який розчиняється в середовищі.

Капсулою називають шар, який служить зовнішнім покривом клітини і зберігає зв'язок із клітинною стінкою. Залежно від її товщини і консистенції розрізняють: макрокапсули, мікрокапсули, слизові шари і розчинний слиз.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г. Скібицький М.Г. Сергійчук Т.М. та ін

Макрокапсули — це структури, які добре видно у світловому мікроскопі після обробки препарату китайською тушшю або нігрозином. При такій обробці капсули виглядають світлими структурами на темному фоні (рис. 2.33). Тонші капсули визначаються при обробці гомологічними сироватками. Картина, яка виникає при цьому, нагадує набухання.

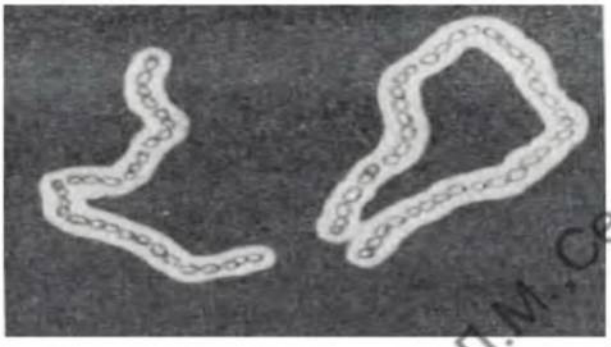


Рис. 2.33. Капсули *Bacillus megaterium*

Вода становить 95–98 % речовини капсули, а на інші компоненти припадає 2–5 %. Хімічний склад сухої речовини досить різноманітний, але всі речовини сухого залишку гідрофільні, з негативним зарядом і мають високу молекулярну масу (~1 000 000).

Найпоширенішими є капсули полісахаридної природи (*Streptococcus, Aerobacter*, деякі представники роду *Bacillus*). Наприклад, капсульний полісахарид *B. polymyxa* має у своїй структурі залишки манози, глюкози, галактози та глюкуронової кислоти в рівних співвідношеннях — 1:1:1:1. Речовина капсули може бути представлена як гомо-, так і гетерополісахаридами. Полісахарид *S. pneumoniae* складається із залишків глюкози і глюкуронової кислоти, які чергуються. Інші полісахаридні капсули містять галактозу, рамнозу, 2-кето-3-дезоксигалактонат, манозу та інші цукри.

У багатьох бацил (*B. anthracis, B. subtilis* та ін.) капсула складається з поліпептидів, які побудовані залишками D- і L-глутамінової кислот. У деяких представників роду *Bacillus* речовина капсули утворена лише полі-D-глутаміном. Речовина капсули *B. megaterium* має більш складну структуру — до її складу входять поліпептидний і полісахаридний компоненти.

Полісахаридна оболонка представників роду *Aerobacter* чи *Klebsiella* за своїми розмірами теж належить до макрокапсул. Вона містить складний гетерополісахарид, який складається з олігосахаридних одиниць, що повторюються.

У деяких мікроорганізмів, наприклад *Mycobacterium tuberculosis*, речовина капсули складається з гетерополісахаридів, ліпідів та інших високомолекулярних сполук. Такий склад капсули сприяє виживанню клітин цих бактерій у несприятливих умовах довкілля.

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук М.І., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

При світлопольних методах дослідження капсула має вигляд гомогенної структури. На електронних мікрофотографіях виявляються фібрили, розташовані перпендикулярно або паралельно клітинній стінці. Інколи такі фібрили утворюють сітчасту структуру.

На щільних поживних середовищах капсульовані клітини утворюють блискучі колонії S-типу. При мутаціях капсульні форми перетворюються на безкапсульні, а колонії набувають R-типу.

Синтез речовини капсули в різних груп мікроорганізмів досить різноманітний. В більшості випадків капсульні полісахариди синтезуються із сахаронуклеотидних попередників. Глікозильні залишки при цьому послідовно переносяться на ланцюги полісахариду за участю ліпідного переносника цитоплазматичної мембрани. Вважається, що цукри, які утворюють речовину капсули, синтезуються самою клітиною, а склад середовища мало впливає на їхній біосинтез.

Якщо речовиною капсули є декстран (поліглюкоза) або леван (поліфруктоза), то її синтез йде за рахунок екзогенного субстрату — дисахариду сахарози (α-глюкозил-β-фруктоза).

У процесі біосинтезу левану має місце послідовне приєднання фруктозильних одиниць до акцепторної молекули сахарози.

Синтез леванів каталізується позаклітинною левансахаразою. Левановий тип капсул характерний для багатьох мікроорганізмів (*Bacillus subtilis, B. cereus, Streptococcus salivarius, S. mutans, Azotobacter chroococcum* та ін.).

При синтезі декстрану має місце послідовне приєднання глюкозильних одиниць до залишку молекули сахарози.

Таким чином, декстран — гетерополісахарид, який складається із залишків α-D-глюкози, з'єднаних у положенні 1,6, тобто декстран — це α-1,6-глюкан, паралельні ланцюги якого утворюють сітку.

Було помічено, що багато мікроорганізмів особливо інтенсивно утворюють слиз на середовищах, які містять сахарозу. Одним з таких мікроорганізмів є *Leuconostoc mesenteroides* — представник гетероферментативних молочнокислих бактерій. За короткий проміжок часу цей мікроорганізм трансформує розчин цукру в декстрановий гель, через що на цукрових підприємствах він отримав назву «бактерія жаб'ячої ікри».

Мікрокапсули інколи розглядають як частину клітинної стінки. Вони мають товщину менш як 0,2 мкм. Найкраще мікрокапсули вивчені в представників родини *Enterobacteriaceae*; вони мають гетерополісахаридну речовину.

Струшуванням або гомогенізацією бактеріальних суспензій капсули можна відділити від поверхні мікробної клітини або можна отримати безкапсульні мутанти. Ці процедури не призводять до загибелі клітини, тобто капсула не є життєво важливою структурою. Виходячи з цього, можна було б думати, що капсула — це інертна структура клітини, але це не так. Капсула виконує ряд важливих функцій:

• захищає (екранує) клітину від дії токсичних речовин;

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.Т., Сівкіна Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

- оскільки речовина капсули має негативний заряд, на поверхні клітини концентруються катіони, створюється катіонний пул, який може використовуватися для потреб клітини;
- будучи речовиною сильно гідрофільною, сприяє поглинанню води клітиною, що важливо в умовах дефіциту вологи;
- покращує адгезивні властивості клітини;
- речовина капсули виявляє антигенну специфічність, що використовується для серотипування багатьох груп бактерій (К-антиген);
- у деяких бактерій речовина капсули служить для імунологічної мімікрії — утворення мікроорганізмом антигена, близького до антигенів макроорганізму — організму хазяїна. У таких випадках імунна система макроорганізму не спроможна виробляти антитіла до цього мікроорганізму, бо вона їх не розпізнає. Наприклад, речовина капсули *Yersinia pestis* (збудник чуми) має антиген, який є спорідненим з антигеном еритроцитів О-групи крові, і в таких випадках людина стає беззахисною при інфікуванні.

Зв'язок капсули з клітинною стінкою може бути різним. Деякі бактерії синтезують слизові речовини, котрі легко відділяються від клітин, особливо при культивуванні в рідкому поживному середовищі. В інших випадках зв'язок між капсулою і клітинною стінкою настільки стійкий, що її інколи розглядають як частину клітинної стінки. Наявність капсули залежить від штаму мікроорганізму й умов його культивування.

Речовина, яка оточує клітину, може мати аморфний, безструктурний вигляд і легко відділятися від поверхні клітини. В такому випадку говорять про слизові шари.

Інколи слиз зв'язує окремі клітини, утворюючи специфічні угрупування. Так, *Acetobacter xylinum* виділяє целюлозу, яка зв'язує окремі клітини в щільну плівку. В *Sarcina ventriculi* клітини з'єднуються за допомогою целюлози в «агрегати» правильної форми. Целюлоза служить у цих випадках зв'язуючою речовиною. За своєю структурою й функцією вона відрізняється від речовини капсули. Втрата здатності до утворення целюлози в мутантів не порушує росту мікроорганізмів, але характер угрупувань, які утворюють клітини, змінюються.

Чохли, на відміну від капсул, мають, як правило, тонку структуру. Часто в них визначається декілька шарів з різною будовою. Інколи чохол може оточувати декілька клітин. Це особливо характерно для нитчастих бактерій, наприклад, для *Sphaerotillus natans* — бактерії, що окиснює залізо. У воді цей мікроорганізм формує нитки, що утворюють згустки, які можуть забивати труби, відстійники, ями для стоків тощо. Така нитка має декілька клітин, вкритих загальним чохлом. У випадку *Sphaerotillus natans* ця структура містить (у %): вуглеводи (36); гексозаміни (~11); білки (~27); ліпіди (~5); сполуки фосфору (~0,5). Чохли *S. natans* часто інкрустовані окислами заліза.

На поверхні деяких бактерій визначаються також ***шипи***. Шипи — це структури циліндричної форми білкової природи, які закріплюються на поверхні

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

зовнішньої мембрани. Довжина шипів коливається в межах 1–3 мкм, а товщина становить ~65 нм.

Білок шипів — спінін (лат. *spina* — шип) має молекулярну масу 19 000.

Шипи виявляються на поверхні клітин деяких псевдомонадоподібних планктонних морських бактерій. Їх легко можна обірвати (порушити) дією механічних факторів, органічних розчинників. На поверхні однієї клітини визначається до 10 шипів. Клітини, які мають шипи, як правило, нерухомі. Вони мають більшу щільність і легше осідають. Функції шипів вивчаються.

У деяких бактерій відбувається направлене виділення слизу, внаслідок чого утворюються ***стеблинки***, які можуть забезпечувати бактеріям можливість обмеженого переміщення (наприклад, *Nevskia, Gallionella*).

Між цими надоболонковими структурами у прокаріотів встановлено багато перехідних форм, через що інколи не можна чітко відмежувати капсулу від слизових виділень клітини чи капсулу від чохла.

Пілі (фімбрії, ворсинки) — це прямі циліндричні білкові структури, які виступають над поверхнею клітини і закріплені в клітинній стінці (рис. 2.34). Трубочка пілі проходить крізь шар муреїну і зовнішню мембрану клітини на її зовнішній бік. Пілі виявляються на поверхні клітин з джгутиками, так і таких, які позбавлені джгутиків.

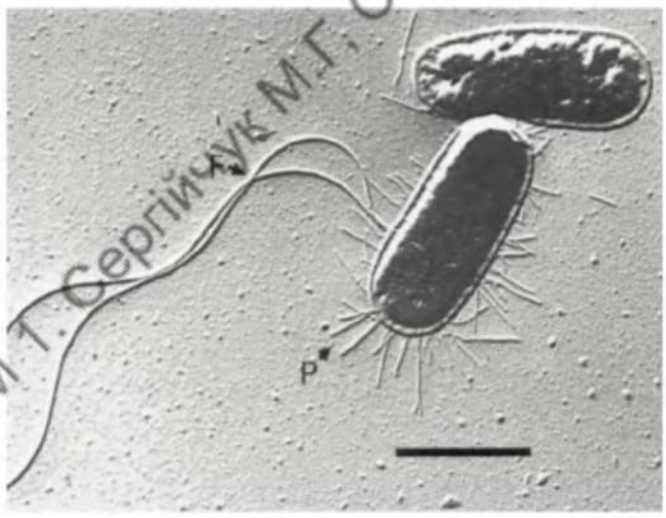


Рис. 2.34. Клітини *E. coli.* F — джгутики; P — пілі

Нитка пілі являє собою білок пілін з молекулярною масою 14 500–26 200. Білкові мономери зібрані в спіральні ланцюги навколо порожнинної серцевини. Розрізняють пілі загального типу і статеві пілі (F-пілі).

Найбільш детально пілі вивчені в клітин *E. coli*. В цих бактерій наявні пілі як загального типу, так і статеві.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

• *Пілі загального типу* поділяються на дві групи. Пілі типу 1 досить міцно зв'язані з клітиною. Вони стійкі до дії хімічних реагентів. Їх можна зруйнувати кип'ятінням у розчинах з низькими значеннями pH, що супроводжується денатурацією білка. Білок пілей цього типу має молекулярну масу 17 000. На поверхні бактеріальної клітини може визначатися від 50 до 400 пілей типу 1. Довжина пілі досягає 1,5 мкм, зовнішній діаметр становить ~7 нм, а діаметр внутрішнього отвору — 2,0–2,5 нм.

Пілі типу 1 розташовуються перитрихально і виконують певні функції, а саме:

• викликають аглютинацію еритроцитів, що зумовлено здатністю пілей приклеюватися до них;

• визначають здатність клітини до адгезії;

• надають клітині гідрофобності, внаслідок чого при рості в рідкому поживному середовищі такі бактерії утворюють поверхневу плівку;

• знижують електрофоретичну рухомість клітин.

Пілі типу 2 антигенно і структурно нагадують пілі типу 1, але вони не сприяють утворенню плівки при рості таких бактерій у рідкому поживному середовищі і не викликають аглютинації еритроцитів. Можливо, що вони являють собою мутантну форму пілей типу 1.

В ентеропатогенних штамів *E. coli* пілі є одним з факторів патогенності — вони забезпечують здатність клітин прикріплюватися до епітелію кишок. Це веде до колонізації епітелію бактеріями, внаслідок чого посилюється вплив бактеріального ентеротоксину на клітини епітелію кишок, порушується водний обмін тканин. При цьому бактерії інтенсивно розмножуються в тонких кишках, а потім у великих кількостях виносяться з фекаліями у довкілля.

Статеві пілі — це білкові циліндри, розташовані перпендикулярно до поверхні клітини. Молекулярна маса білка, який виявляється в пілях цього типу, — 11 800. Товщина нитки статевої пілі коливається в межах 8,5–9,5 нм, а довжина досягає 1,1 мкм. При струшуванні бактеріальної суспензії вони легко руйнуються.

Статеві пілі утворюються на клітинах донорських штамів, характерною особливістю яких є наявність особливого генетичного детермінанта — статевого фактора, або фактора трансмісивності. Останній може бути автономним реплікоком (F-фактор), входити до складу автономного реплікона, або інтегруватися з бактеріальною хромосомою.

Синтез F-піліну відбувається на рибосомах, зв'язаних з ЦПМ. В цитоплазмі він не виявляється. Пул піліну накопичується в ЦПМ. Кожна молекула має сигнальний пептид, який відщеплюється в процесі транспорту піліну через ЦПМ. Утворенню статевих пілей перешкоджає наявність у середовищі ціаніду, азиду натрію, динітрофенолу. F-пілін — це гідрофобна структура, яка легко дисоціює в розчинах додецилсульфату натрію і руйнується органічними розчинами. Клітини, що мають F-пілі, малорухливі і мають тенденцію до автоаглютинації (наприклад, при зниженні pH середовища).

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.М., Сквірська І.М., Сергійчук Т.М. та ін

F-фактор має гени, які відповідають за процес кон'югації, а також гени, що детермінують F-пілі. Синтез F-пілей контролюється комплексом генів (~ 13). При депресії F-фактора утворюється 1–2 статеві пілі. В анаеробних умовах або на середовищі оптимального складу утворюється 4-5 пілей цього типу.

F-пілі мають канал (отвір), через який у процесі кон'югації передаєть-ся генетичний матеріал з однієї клітини в іншу. При цьому вільний кінець F-пілі приєднується до реципієнтної клітини в місці розташування рецептора. Рецептором служить білок зовнішньої мембрани реципієнтної клітини. На початку контакт не дуже стійкий, і його можна порушити гідродинамічними впливами. З часом (через кілька хвилин) контакт стає стабільним, і між двома клітинами формується цитоплазматичний місток.

Статеві пілі найкраще утворюються клітинами, які перебувають у фазі активного росту. Клітини, що перебувають у стаціонарній фазі розвитку, пілей, як правило, не утворюють і є поганими донорами генетичного матеріалу.

Крім *E. coli*, F-фімбрії утворюються також іншими представниками родини *Enterobacteriaceae: Vibrio, Pasteurella, Aeromonas, Pseudomonas.*

У деяких бактерій утворюються пілі, які здатні скорочуватися, наприклад, у *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter calcoaceticus, Streptococcus sanguis*, окремих представників роду *Moraxella* та *Pasteurella.* Клітини, які мають такий тип пілей, здатні до смикального руху, що призводить урешті-решт до переміщення окремих клітин (а інколи й цілих колоній) по щільному субстрату.

Таким чином, до поверхневих структур бактеріальної клітини відносять клітинну стінку, капсулу, чохли, стеблинки, простеки, пілі, шипи та джгутики.

Цитоплазма — це вміст клітини, оточений цитоплазматичною мембраною (ЦПМ). Вона є середовищем, яке зв'язує всі внутрішньоклітинні структури в єдину систему. Внутрішню порожнину клітини заповнює цитозоль — напіврідка колоїдна маса, що складається на 70–85% з води, РНК, білків (включаючи ферменти), продуктів і субстратів метаболічних процесів. У цитоплазмі знаходяться структури клітини (рибосоми, нуклеоїд та ін.), цитоплазматичні мембранні утвори (газові вакуолі, мезосоми, хроматофори, тилакоїди), включення, оточені білковою мембраною (хлоросоми, фікобілісоми, аеросоми, мегнетосоми, карбоксисоми), а також структури, позбавлені мембрани, котрі розглядаються як запасні речовини.

Цитоплазматична мембрана (ЦПМ) є обов'язковим і життєво важливим структурним елементом кожної клітини. Порушення цілісності ЦПМ супроводжується втратою клітиною життєздатності. ЦПМ виконує низку важливих функцій:

- служить вибірковим бар'єром між внутрішнім вмістом клітини і зовнішнім середовищем;
- ЦПМ клітин багатьох груп прокаріотів відіграє значну роль в енергетичному обміні клітини, чого не спостерігається у клітин еукаріотів. Наприклад, в аеробних бактерій дихальна система перенесення електронів «вмонтована»

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук Т.М., Скібіна Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

в ЦПМ. В еукаріотів ця система локалізована в мітохондріях. При цьому бактерії з інтенсивним типом дихальної системи мають досить складну структуру ЦПМ — утворюються численні інвагінації, які проникають у цитоплазму;

- вважається, що на внутрішній поверхні ЦПМ знаходяться спеціальні ділянки, до яких прикріплюється ДНК. Це підтверджується і тим, що ріст мембрани (її подовження) супроводжується поділом геномів;
- ЦПМ виявляє певну пружність, але в той же час здатна і розтягуватися. Наприклад, якщо клітини *Acholeplasma laidlawii* помістити в гіпотонічний розчин NaCl, то їх поверхня збільшується приблизно на 50% без порушення цілісності мембрани.

На частку ЦПМ припадає 8–15% сухої маси клітини. На електронних мікрофотографіях ультратонких зрізів ЦПМ має тришарову структуру (рис. 2.35): два електронно-щільних шари, які обмежують електронно-прозорий проміжок. При цьому осмофільні електронно-щільні шари мають товщину 2–3 нм кожен, а електронно-прозорий проміжок між ними — 4–5 нм.

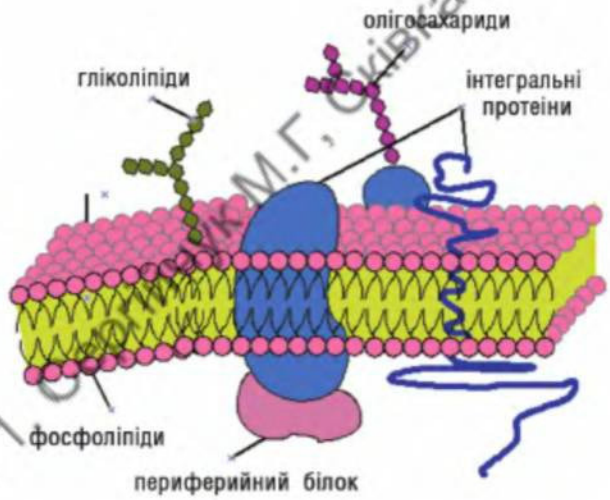


Рис. 2.35. «Рідинно-мозаїчна» модель мембрани

За хімічним складом ЦПМ є білково-ліпідним комплексом, який містить 50–75% білків, 15–45% ліпідів та невелику кількість вуглеводів. У ліпідах мембран багатьох прокаріотів виявлено ряд специфічних жирних кислот, яких немає в мембранах еукаріотичних клітин.

Найдетальніше вивченим компонентом мембран мікроорганізмів є ліпіди. Ліпіди мембрани складаються з фосфо- і нейтральних ліпідів. Фосфоліпіди є основними ліпідами ЦПМ бактеріальної клітини. Вони становлять 70–90% сухої маси ЦПМ.

Скелет молекули мембранних Р-ліпідів утворюється фосфатидною кислотою (ФК), до складу якої входять гліцерин і залишки жирних кислот (R_1, R_2). До ФК приєднуються залишки спиртів, амінокислот та інших сполук (R_3) (рис. 2.36).

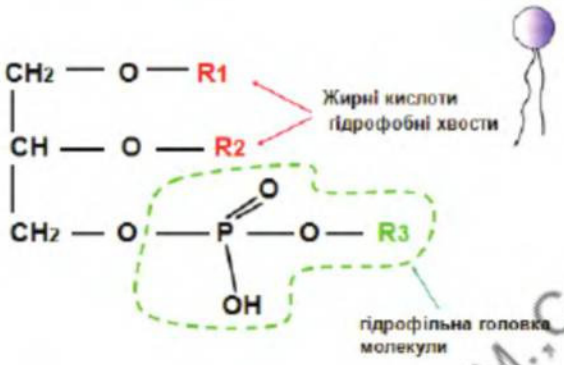


Рис. 2.36. Молекула фосфоліпіду

Найбільш поширеними серед мембранних Р-ліпідів є: фосфатидилетаноламін (ФЕ): ФК–CH_2–CH_2NH_2; фосфатидилгліцерин (ФГ): ФК–CH_2–CHOH–CH_2OH та дифосфатидилгліцерин (кардіоліпін — КЛ): ФК–CH_2–CHOH–CH_2–ФК.

Склад Р-ліпідів може значно змінюватися, але функції мембрани, як правило, не порушуються. Але якщо вміст фосфатидилетаноламіну зменшується більше як на 50 %, ріст клітини припиняється. Такий ефект не спостерігається навіть за повної відсутності кардіоліпіну.

Близько 50 % поверхні мембрани зайнято білками. Деякі з них мають слабкий зв'язок з ЦПМ і при зміні іонної сили розчину можуть вивільнятися. Ці білки називають периферійними. Частина білків має досить стійкий зв'язок з ліпідами ЦПМ, утворюючи білково-ліпідні комплекси, які становлять ~ 10 % маси мембрани. Такі білки називають інтегральними.

Білковий склад ЦПМ досить різноманітний. У мембрані *E. coli*, наприклад, визначається близько 120 різних білків. Серед них особливе місце займають транспортні білки, до яких належать пермеази, і білки, які забезпечують активний транспорт речовин, а також біосинтетичні ферменти, які здійснюють кінцеві етапи синтезу мембранних ліпідів і макромолекул клітинної стінки (муреїну, тейхоєвих кислот, ліпополісахаридів).

У мембрані прокаріотів містяться компоненти апарату регенерації АТР, а в пурпурових бактерій (*Rhodospirillum*) у ЦПМ локалізований і фотосинтетичний апарат клітини.

Більшість мембран мікроорганізмів містять 2–5 % вуглеводів. У деяких випадках вони можуть бути залишковим матеріалом клітинної стінки, що прилип до мембрани. Є дані, що в мембранах грампозитивних бактерій містяться гліколіпіди. Так, мембрани *Micrococcus lysodeikticus* містять манозилдигліцерид,

Біологія. Том 1. Сергійчук М., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

а в *Streptococcus faecalis* виявляються моноглюкозилдигліцерид і галактозилглюкозилдигліцерид.

Площа ЦПМ може змінюватися за рахунок інвагінацій. Останні утворюються в центрі клітинного поділу. Вважається, що такі інвагінаційні структури беруть участь у побудові поперечної перетинки у клітині під час її поділу.

Інвагінаційні утвори необхідні також для розміщення центрів дихальної і фотосинтетичної активності. Це підтверджується, зокрема, тим, що такі інвагінації визначаються в мембранах бактерій з високою дихальною активністю (*Azotobacter*, нітрифікуючі бактерії).

Таким чином, ЦПМ прокаріотичної клітини в цілому подібна до мембрани еукаріотичної клітини, але в бактерій вона багатша на білки.

Раніше були описані відмінності між прокаріотичними і еукаріотичними клітинами щодо їх мембранних систем. Відсутність у прокаріотів типових органел, тобто структур, повністю відмежованих від цитоплазми елементарними мембранами,— принципова особливість їхньої клітинної організації.

Серед внутрішньоцитоплазматичних мембран розрізняють декілька видів (табл. 2.3). Розвинута система внутрішньоцитоплазматичних мембран характерна для більшості фотосинтезуючих прокаріотів. Оскільки доведено, що в цих мембранах локалізований фотосинтетичний апарат клітини, вони дістали загальну назву фотосинтетичні мембрани. Усі фотосинтетичні мембрани, як і всі внутрішньоклітинні,— похідні цитоплазматичної мембрани, що утворилися внаслідок її розростання і глибинної інвагінації в цитоплазму. У деяких бактерій, наприклад пурпурових, фотосинтетичні мембрани зберігають тісний зв'язок з ЦПМ і легко виявляються при електронно-мікроскопічному дослідженні ультратонких зрізів клітини. В ціанобактерій такий зв'язок менш виражений.

Таблиця 2.3.

Мембрани прокаріотів

Прокаріоти	Фізіологічні групи	Мембрани				
		зовнішня клітинна мембрана	ЦПМ	Внутрішньоцитоплазматичні		
				фотосинтетичні	мезосомальні	інші
Грампозитивні	Хемотрофи	—	+	—	±	—
Грамнегативні	Фототрофи	+	+	±	±*	—
	Хемотрофи	+	+	—	±	+**

* *Не виявляється у зелених бактерій і ціанобактерій Gloeobacter violaceus.*

** *Сильно розвинуті у нітрифікуючих, азотфіксуючих, метанокиснюючих бактерій.*

Внутрішньоцитоплазматичні мембрани фотосинтезуючих бактерій можуть мати вигляд трубочок, пухирців (везикул, хроматофорів) або сплющених замкнутих дисків (тилакоїдів), утворених двома тісно зближеними мембранними

Біологія. Том 1. Сергійчук І.М., Сакварелідзе І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

пластинами (ламелами). Система фотосинтетичних мембран дуже пластична. Її морфологія і ступінь розвитку в клітині визначаються багатьма факторами зовнішнього середовища (інтенсивність світла, концентрація кисню, наявність поживних речовин) та віковими характеристиками культури. Проте в групі зелених бактерій та ціанобактерій *Gloeobacter violaceus* внутрішньоклітинні фотосинтетичні мембрани не виявляються. Основні компоненти їхнього фотосинтетичного апарату локалізовані в ЦПМ, і лише світлозбираючі пігменти (хлоросоми у зелених бактерій і фікобілісоми у ціанобактерій) знаходяться в особливих структурах, які прилягають до ЦПМ і не мають елементарної мембрани.

У прокаріотичних організмів описані локальні вп'ячування ЦПМ — ***мезосоми***, які добре розвинені і складно організовані у грампозитивних бактерій. У грамнегативних прокаріотів ці структури виявляються рідше, і вони простіше організовані.

Мезосоми — це відносно прості, а інколи й досить складні інвагінації ЦПМ. Вони відрізняються розмірами, формою і локалізацією в клітині. Виділяють три основних типи мезосом: ламелярні (пластинчасті), везикулярні (мають форму пухирців) і тубулярні (трубчасті).

Часто можна спостерігати мезосоми змішаного типу, вони можуть складатися з ламел, трубочок і пухирців. За розташуванням у клітині розрізняють: мезосоми, які утворюються в зоні клітинного поділу і формування поперечної перетинки (септи); мезосоми, до яких прикріплений нуклеоїд; мезосоми, які сформовані внаслідок інвагінації периферійних ділянок ЦПМ.

Термін «нуклеїдосоми» відноситься до мезосомальноподібних утворень, зв'язаних з хромосомою. Зв'язок ДНК зі специфічною ділянкою мембрани необхідний для функціонування геному, проте, як і істинні мезосоми, нуклеїдосоми виявляються не в усіх бактерій і не завжди, тобто їх наявність у клітині не обов'язкова.

Існують різні точки зору щодо ролі мезосом у прокаріотичній клітині. Деякі автори вважають, що вони не є обов'язковими структурами прокаріотів, а служать лише для підсилення певних функцій клітини, збільшуючи загальну «робочу» поверхню мембрани. Є також дані, що з мезосомами пов'язане підсилення енергетичного метаболізму клітин. Вважається, що ці структури відіграють певну роль у реплікації хромосоми та її розходженні між дочірніми клітинами. Встановлено, що мезосоми деяких грампозитивних бактерій беруть участь у секреторних процесах. Висловлюється також думка, що мезосоми не беруть активної участі в процесах клітинного метаболізму, а виконують структурну функцію, забезпечуючи компартменталізацію прокаріотичної клітини, тобто просторове розмежування внутрішньоклітинного вмісту на відносно відокремлені ділянки, що створює більш сприятливі умови для перебігу певних ланок ферментативних реакцій.

Таким чином, одночасне існування різних гіпотез відносно ролі мезосом у прокаріотичній клітині свідчить про те, що їхні функції продовжують залишатися не з'ясованими.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Добре розвинута система внутрішньоцитоплазматичних мембран, яка морфологічно відрізняється від мезосомальних, описана у представників трьох груп грамнегативних хемотрофних бактерій (азотфіксуючих, нітрифікуючих, метанокиснюючих), для яких встановлена висока активність дихання, а також здатність метаболізувати розчинні в рідкому середовищі газоподібні сполуки.

Хроматофори. Для деяких груп мікроорганізмів характерна наявність мембранних систем, які є похідними ЦПМ і просторово зв'язані з нею, хоча такий зв'язок не завжди виявляється.

На внутрішньоклітинних мембранних системах, які визначаються як хроматофори, локалізовані процеси фотосинтезу у пурпурових бактерій. У *Rhodospirillum, Thiocystis, Chromatium* і багатьох інших пурпурових бактерій мембранні структури хроматофора мають вигляд трубочок і пухирців діаметром 20–100 нм. Трубочки та пухирці утворюють у клітині складну мембранну сітку і в численних ділянках зберігають зв'язок з ЦПМ. На репліках із сколів таких мембран на внутрішній поверхні виявляються частинки діаметром 7 і 10 нм.

У деяких пурпурових бактерій, зокрема *Thiocapsa pfennigii*, хроматофор утворений системою трубочок, розташованих паралельними або розгалуженими рядами. Хроматофори *Rhodopseudomonas gelatinosa* і *R. tenue* являють собою подвоєні мембранні пластинки, котрі є виростами ЦПМ. Такі подвоєні мембрани називають *тилакоїдами.* У клітинах деяких пурпурних бактерій тилакоїди зібрані в стоси. Стоси дисковидних тилакоїдів виявляються у клітинах деяких видів *Rhodopseudomonas* і *Ectothiorhodospira.* Пурпурові бактерії, які брунькуються (наприклад, *Rhodomicrobium, Rhodopseudomonas viridis*), мають хроматофори у вигляді пластинок, розташованих паралельно клітинній стінці. Такий хроматофор складається інколи з декількох тилакоїдів, на полюсі клітини він має отвір, через який у бруньки може переходити ДНК після поділу нуклеоїду. При брунькуванні тилакоїди залишаються в материнській клітині, а в бруньках вони утворюються заново.

На відміну від хлоропластів рослин, хроматофори бактерій можуть зникати й утворюватися заново. Це явище спостерігається в бактерій, здатних до гетеротрофного розвитку в темряві. При цьому хроматофори в темряві зникають і знову з'являються при вирощуванні бактерій на світлі.

Розвиток системи внутрішньоклітинних мембран властивий метанокиснювальним бактеріям. У них виявляється два типи таких мембран. Мембрани типу I складаються із стосів щільно упакованих везикулярних дисків, розташованих по всій цитоплазмі. Такий тип структур виявлено в *Methylomonas, Methylobacter, Methylococcus.* Ці структури утворюються за рахунок інвагінації ЦПМ на одному з полюсів, хоча точка контакту внутрішньоклітинних структур і цитоплазматичної мембрани може бути дещо зміщена від полюса клітини. Мембрани типу II характерні для *Methylosinus, Methylocystis, Methylobacterium* — це спарені мембранні шари, розташовані по периферії цитоплазми.

БІОЛОГІЯ том 1. Сергійчук М.І., Скакальська І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Функціональна роль внутрішньоклітинних мембранних систем метилотрофів до кінця не вивчена, але існує думка, що завдяки їхній наявності збільшується локальна концентрація субстратів (метану й кисню) метанмонооксигенази, відбувається просторове зближення всіх компонентів, які беруть участь в окисненні метану.

Бактеріальні рибосоми служать місцем синтезу білка. Це округлі рибонуклепротеїнові частинки розміром 16–18 нм, розташовані в цитоплазмі. В рибосомах міститься 80–85 % усієї бактеріальної РНК.

Рибосома складається з двох субчастинок: у бактерій — це субчастинки 30S та 50S, які утворюють рибосому 70S типу, тобто рибосому, яка при ультрацентрифугуванні осідає зі швидкістю біля 70 одиниць Сведберга (S), їх називають 70S-рибосомами (рис. 2.37). Бактеріальна клітина має приблизно від 5000 до 90 000 рибосом, що визначається інтенсивністю синтезу білка. Еукаріоти мають рибосоми 80S типу.

Рис. 2.37. Схематична будова бактеріальної рибосоми

30S субчастинка має одну молекулу 16S РНК і в більшості випадків — по одній молекулі білка 21 виду. Білкові молекули позначаються S 1–S 21 відповідно до їх положення в поліакріламідному гелі при хроматографії. 50S-субодиниця складається з двох молекул РНК (23S і 5S) і по одній копії білків 34 видів — L1-L34. Більшість рибосомальних білків містяться в одній копії і виконують структурну функцію.

Будова рибосоми еубактерій, архебактерій та еукаріотів у загальних рисах подібна (рис. 2.38). Разом з тим мають місце і деякі відмінності: рибосоми архебактерій і еукаріотів мають дзьобик (носик), відсутній у еубактеріальних рибосом; рибосома еукаріотів відрізняється від бактеріальної наявністю лопастей.

Таким чином, бактеріальна клітина містить у цитоплазмі всі необхідні структури, які забезпечують її життєдіяльність.

Запасні речовини перебувають в осмотично інертній формі, але якщо умови змінюються і стають сприятливими для росту, то вони включаються в метаболічні процеси (табл. 2.4). За консистенцією ці речовини можна поділити на рідкі (наприклад, полі-β-гідроксимасляна кислота — ПОМК), напіврідкі (сірка) та тверді (глікоген).

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук Н.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

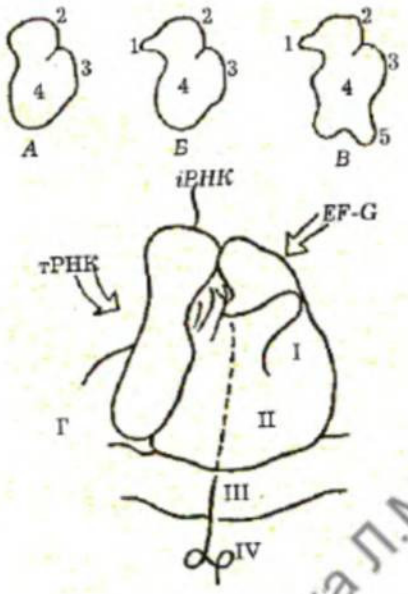


Рис. 2.38. Будова рибосоми: А–В — малі субчастинки еубактерій (А), архебактерій (Б), цитоплазматичної рибосоми еукаріотів (В); Г — еубактеріальна рибосома, зв'язана з ЦПМ; I — транслююча область; II — область виходу білка; III — ЦПМ бактерії; IV — молекула білка, що синтезується; EF-G — фактор елонгації; 1 — дзьобик (носик); 2 — головка; 3 — платформа; 4 — тіло; 5 — лопасті

Для мікроорганізмів, як і для організмів тварин, вуглеводи не є основним будівельним матеріалом. Це характерно лише для рослин, котрі є джерелом вуглеводів для всіх інших живих істот.

Мікроорганізмам властиве накопичення деяких вуглеводів як запасних поживних речовин. До таких речовин належать глікоген, який називають тваринним крохмалем, бо він утворюється в організмі людини і тварин і використовується як запасний енергетичний матеріал.

Запасні *полісахариди* бактерій (*глікоген*) — це глюкани, які на відміну від полісахаридів клітинної стінки утворюються з α-D-глюкози. Скелет молекули має глюкозидні зв'язки α(1–4)-типу та зв'язки в точках галуження α-(1–6)-типу. Галуження відходять у середньому через кожних 12 залишків глюкози в основному ланцюзі.

При реакції з розчином Люголя полісахариди утворюють червоно-фіолетове (або коричневе) забарвлення. Молекулярна маса глікогену може досягати 1 000 000. Глікоген, або тваринний крохмаль, має риси подібності з амілопектином, але його ланцюги мають більше галуження. Він виявляється в клітинах дріжджів і деяких бацил (*B. polymyxa*), багатьох представників родини *Enterobacteriaceae (Escherichia, Salmonella)*, у *Sarcina, Arthrobacter.*

БІОЛОГІЯ. ГОМ І. Сергійчук А.І., Бойка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Таблиця 2.4.

Запасні речовини прокаріотів

Запасна речовина	Структурна характеристика	Хімічний склад	Функції	Розповсюдження
Гранули глікогену (α-гранули)	Сферичної форми, діаметр 20–100 нм	Високомолекулярні полімери глюкози	Джерело Карбону й енергії	Широко розповсюджений тип запасних речовин
Гранули полі-β-оксимасляної кислоти	Діаметр 100–1000 нм; оточені одношаровою білковою мембраною 2–3 нм завтовшки	98 % полімеру полі-β-оксимасляної кислоти; 2% білка	Джерело вуглецю й енергії	Широко розповсюджені лише у прокаріотів
Ціанофіцинові гранули	Розмір і форма різні; можуть досягати в діаметрі 500 нм	Поліпептид, який містить аргінін і аспарагінову кислоту (1:1); М. м.—25–100 х 10^3D	Джерело Нітрогену	Виявляються у багатьох видів ціанобактерій
Гранули поліфосфату	Діаметр близько 500 нм, залежить від об'єкта і умов вирощування	Лінійні полімери ортофосфату	Джерело Фосфору	Розповсюджений тип запасних гранул
Гранули сірки	Діаметр 100–800 нм; оточені одношаровою білковою мембраною завтовшки 2–3 нм	Включення рідкої сірки	Донор електронів або джерело енергії	Пурпурові сіркобактерії, безбарвні бактерії, які окиснюють H_2S
Вуглеводневі гранули	Діаметр 200–300 нм; оточені білковою оболонкою 2–4 нм завтовшки	Вуглеводні такого ж типу, що і в середовищі	Джерело Карбону й енергії	Представники родів *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, та інші прокаріоти, що використовують вуглеводні

Під час мікроскопії глікоген має вигляд округлих електронно-щільних гранул діаметром до 200 нм. Гранули можна розчинити шляхом обробки гарячим KOH.

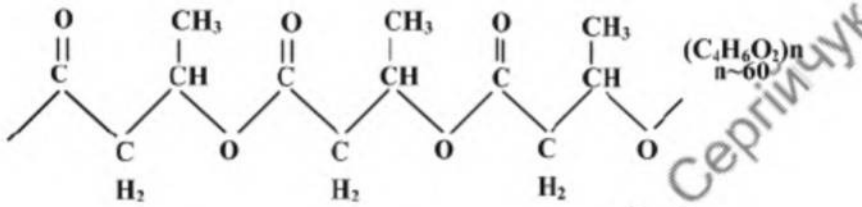
Завдяки α-глюкозидним зв'язкам поліглюкозні ланцюги не витягнуті в довжину, а закручені гвинтоподібно.

Накопичення полісахаридних гранул стимулюється дефіцитом азоту при надлишку джерела вуглецю й енергії в середовищі. При культивуванні бактерій в оптимальних умовах глікоген накопичується під час переходу культури у фазу стаціонарного розвитку.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

У клітинах деяких бактерій вміст полісахаридів може досягати 25 % їхньої маси.

Жироподібні речовини. Гранули крапель жиру дуже часто зустрічаються в клітинах мікроорганізмів у формі полі-β-оксимасляної кислоти (ПОМК) — поліефіру β-оксимасляної кислоти, в якій окремі мономери з'єднані складним ефірним зв'язком за рахунок карбоксильної та гідроксильної груп сусідніх молекул β-оксимасляної кислоти.



Полі-β-оксимасляна кислота

ПОМК, як запасна речовина, виявляється в клітинах *Azotobacter, Rhizobium, Bacillus*, фототрофних бактерій і практично не зустрічається у облігатних анаеробних хемотрофів. У деяких бактерій, які окиснюють вуглеводні, полі-β-оксимасляна кислота становить до 70 % сухої речовини клітин. Накопичення ліпідів у клітині відбувається в умовах, коли середовище багате на джерело вуглецю і бідне на азот.

ПОМК в клітинах має вигляд округлих, інколи видовжених гранул розміром 200–800 нм. У клітинах їхній вміст може досягати 80 % від сухої маси. Для їх виявлення використовують ліпофільні барвники — судан 3 (гранули забарвлюються в червоний колір), судан чорний (гранули ПОМК мають чорний колір). Такі суданофільні гранули розчиняються у хлороформі, спиртах, піримідині, диоксані, толуолі, 1 М NaOH, камфорі і практично нерозчинні у воді, ефірі, метиловому й етиловому спиртах, ацетоні.

Гранули ПОМК оточені білковою мембраною, товщина якої коливається від 2,2 до 8,0 нм. З мембраною зв'язані ферменти синтезу і розпаду цієї запасної речовини.

У клітинах деяких бактерій, наприклад у *B. cereus*, представників роду *Azotobacter*, посилення синтезу ПОМК спостерігається при внесенні в середовище глюкози, а у *Micrococcus halodenitrificans* — у присутності гліцерину, пірувату або ацетату.

Важливим фактором, який стимулює синтез ПОМК, є лімітування екзогенного джерела азоту.

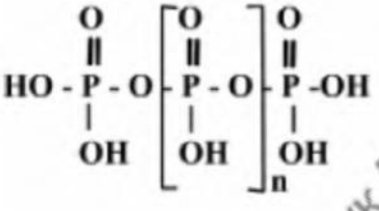
Якщо клітини, які містять гранули ПОМК, помістити в середовище без джерела вуглецю й енергії, то вони починають енергійно використовувати ПОМК.

Еукаріотичні організми не мають ферментів синтезу чи розпаду ПОМК, тому бактерії, які накопичують у своїх клітинах цю речовину, небажано використовувати для виробництва харчових чи кормових добавок.

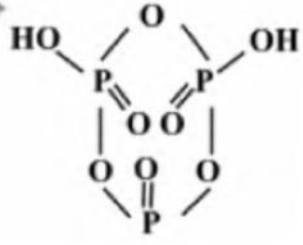
ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук Т.М., Сківа Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

У клітинах мікобактерій, нокардій і актиноміцетів у вакуолях можуть накопичуватися інші жироподібні речовини, здатні навіть виділятися у середовище. Так, у клітинах мікобактерій до 40 % сухої маси становлять воски (складні ефіри вищих жирних кислот і спиртів).

Поліфосфати. Багато бактерій і зелені водорості виявляють здатність запасати фосфорну кислоту у вигляді гранул поліфосфату. Вперше вони були виявлені в клітинах *Spirillum volutans*, тому їх називають волютиновими гранулами. Іншу свою назву — метахроматичні гранули — вони отримали через те, що поліфосфати викликають у деяких барвників (метиленовий синій, толуїдиновий синій) характерні зміни кольору — метахромазію. Виявлення волютину краще проводити при низьких значеннях pH, оскільки вони зберігають забарвлення в кислому середовищі, що є основним показником належності включень до волютинових. В основі метахроматичного забарвлення лежить взаємодія полікатіонів, якими є основні барвники, з поліаніонами, тобто з поліфосфатами, що викликає поглинання барвниками хвиль більшої довжини. Суть цієї реакції полягає в полімеризації барвника на макромолекулах поліаніона.



Поліфосфорна кислота



Триметилфосфорна кислота

Зерна поліфосфатів розчиняються в гарячій воді і слабких лугах. Вони нерозчинні в спиртах, ефірі та хлороформі.

У значних кількостях волютин накопичується в клітинах деяких корінеформних бактерій. У клітинах *Corynebacterium diphtheriae* ці включення називають тільцями або зернами Бабеша — Ернста (на честь вчених, які вперше звернули на них увагу).

Волютин утворює гранули діаметром до 1 мкм, які складаються переважно з поліфосфатів, але в препаратах гранул виявляється також РНК, ДНК, білок.

Вважається, що волютинові гранули виконують функцію депо фосфатів, за рахунок яких клітина може ділитися при дефіциті фосфору в середовищі. В деяких випадках відмічається залежність накопичення і розкладу волютину від стадій клітинного циклу бактеріальної популяції. Так, при вивченні синхронних культур *Corynebacterium diphtheriae* було встановлено, що волютин накопичується в клітинах перед їх поділом і витрачається в процесі останнього. Особливо енергійно волютин синтезується при перенесенні бактерій із середовища, лімітованого за фосфором, у середовище, багате на фосфати. Поліфосфати використовуються

ОБІОЛОГІЯ» том 1 / Сегінчук М.Г., Сківка Л.М., Сегінчук Т.М. та ін

клітинами як джерело фосфору. Питання, чи можуть вони служити джерелом енергії у прокаріотів, залишається дискусійним.

Специфічною запасною речовиною ціанобактерій є *ціанофіцинові гранули*. Хімічний аналіз показав, що вони складаються з поліпептиду, який містить аргінін і аспарагінову кислоту в еквімолярних кількостях. Скелет молекули побудований із залишків аспарагінової кислоти, з'єднаних пептидними зв'язками, а до її β-карбоксильної групи приєднані залишки аргініну. Для початку синтезу ціанофіцину необхідні молекули АТФ, іони K^+ і Mg^{2+}. Поява ціанофіцинових гранул при культивуванні ціанобактерій у середовищі з азотом та їх зникнення при його виснаженні свідчить про те, що вони служать резервом азоту, який мобілізується при його дефіциті в середовищі.

Бактерії, метаболізм яких пов'язаний зі сполуками сірки, здатні відкладати у своїх клітинах молекули *сірки*. Сірка накопичується, коли у середовищі є сірководень, і окиснюється до сульфату, якщо весь сірководень вичерпується. Для аеробних тіонових бактерій, які окиснюють H_2S, сірка служить джерелом енергії, а для анаеробних фотосинтетичних — донором електронів.

Газові вакуолі — це структури, які оточені мембраною й утворені скупченням газових пухирців (везикул). Вони виявляються тільки в прокаріотичних клітинах. Газовий пухирець має форму циліндра завдовжки 200–1000 нм і діаметром близько 75 нм. Білкова оболонка, яка оточує вакуоль, має товщину до 2 нм, вона побудована з білкових субодиниць із молекулярною масою 14 000. Гідрофобні амінокислоти оболонки повернуті всередину вакуолі, а гідрофільні — на зовнішній бік. Така упаковка амінокислот оболонки перешкоджає проникненню води всередину газової вакуолі. Склад повітря, яке визначається у вакуолях, відповідає його складу в навколишньому середовищі.

При мікроскопії у світлому полі газові вакуолі мають вигляд оптично-порожнього простору, яке сильно заломлює світло. При електронній мікроскопії вони мають вигляд порожнистих циліндрів з конічними кінцями, розташованими паралельними рядами.

Утворення газових вакуолей (аеросом) характерне для багатьох водних бактерій, особливо фототрофних, але ряд безбарвних бактерій (*Pelonema*, *Peloploca*), галобактерії (*Halobacterium halobium*) і деякі представники роду *Clostridium* також містять газові вакуолі. Вони надають клітині здатності змінювати свою середню щільність і залишатися в завислому стані, через що деякі бактерії можуть у стратифікованих озерах утримуватися в шарі води з оптимальними умовами для їх розвитку. Аноксигенні фототрофні бактерії, зокрема пурпурові (*Lamprocystis, Amoebobacter, Thiodictyon*) і зелені (*Pelodictyon*), ростуть у водоймах в анаеробній зоні (в гіполімніоні). Вважається, що плавучість цих організмів є достатньою для того, щоб вони могли перебувати в суспендованому стані в холодному (більш важкому) шарі води гіполімніону, але не забезпечує підйомної сили, котра дозволяла б їм триматися в теплому (більш легкому) шарі води. Оксигенні ціанобактерії (*Oscillatoria agardhii,*

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скіба І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Aphanizomenon flos-aquae, Microcystis aeruginosa) розташовуються у більш теплих шарах води. Існує думка, що плавучість цих бактерій регулюється за допомогою фотосинтезу, тургору клітин, а також зміни кількості і розміру газових пухирців.

Параспоральні тіла. У клітинах *Bacillus thuringiensis* і родинних видів (*B. laterosporus, B. medusa*) виявляються особливі кристалоподібні включення — параспоральні тільця. При світлопольній мікроскопії з використанням анілінового чорного вони мають вигляд чорних кристалів, локалізованих біля незафарбованих спор. За хімічною природою це білок, дуже токсичний для кровосисних комарів. Такі бактерії знайшли своє практичне застосування як засіб біологічної боротьби не тільки з кровосисними комарами, а й багатьма комахами-шкідниками сільськогосподарських культур.

Магнетосоми виявляються в клітинах бактерій, здатних до магнетотаксису, тобто здатних рухатися вздовж силових ліній магнітного поля. Вони являють собою оточені мембраною частинки Fe_3O_4. У клітинах *Aquaspirillum magnetotacticum*, наприклад, магнетосоми мають форму куба зі сторонами 40–50 нм і розташовані в ряд уздовж клітини. Форма, кількість і характер розташування цих структур у різних груп мікроорганізмів різні.

Локомоторні органи бактерій. Рухомість бактеріальної клітини може забезпечуватися різними способами. Найхарактернішими є плаваючий і ковзний типи руху.

Локомоторним органом бактерій з *плаваючим типом руху* є джгутик. Джгутикові форми зустрічаються серед усіх відомих груп бактерій. Це свідчить про те, що джгутики є дуже давніми утвореннями бактеріальної клітини.

Розрізняють кілька типів розташування джгутиків на поверхні мікробної клітини (рис. 2.39):

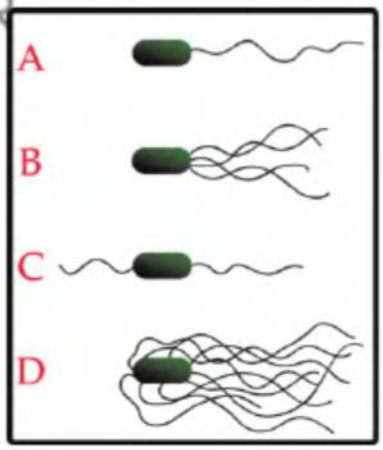


Рис. 2.39. Основні типи розташування джгутиків у бактерій: A — монотрихи; B — лофотрихи; C — амфітрихи; D — перитрихи

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Сківка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

- *монотрихальний* тип джгутикування, при якому один джгутик розташований на одному з полюсів клітини (*Vibrio comma*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Thiobacillus ferrooxidans*) або один джгутик локалізований субтермінально (*Rhizobium lupini*);
- на одному з полюсів клітини може бути пучок джгутиків — *лофотрихи*. Такий тип джгутикування характерний для *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Chromatium okeanii* та представників роду *Sphaerotillus* (субполярне розташування пучка джгутиків);
- в *амфітрихів* пучки джгутиків виявляються на обох полюсах мікробної клітини (біполярні політрихи) — *Spirillum*;
- джгутики можуть локалізуватися по всій поверхні клітини — *перитрихальний* тип джгутикування. Він властивий, наприклад, представникам родів *Proteus*, *Escherichia*, *Salmonella*.

Кількість джгутиків та характер їх розташування може бути однією з диференційних ознак. Однак слід пам'ятати, що ця ознака визначається умовами культивування, а також те, що в процесі виготовлення препаратів джгутики можуть обламуватися. Для виявлення джгутиків бактерій використовують спеціальні методи, зокрема метод фазового контрасту або темного поля (*Bdellovibrio*, *Chromatium okenii*, *Pseudomonas*, *Spirillum*). Хороші результати дає електронна мікроскопія. При мікроскопії у світлому полі застосовують спеціальні методи забарвлювання, які передбачають потовщення нитки джгутикового апарату.

У прокаріотів розрізняють два типи джгутиків — прості і складні. Товщина простого джгутика коливається в межах 12–18 нм, довжина –3–15 мкм. Складні джгутики покриті додатковим чохлом білкової природи. Білок чохла з молекулярною масою 55 000 відрізняється як від білків оболонки клітини, так і від білків самого джгутика. Товщина складного джгутика становить ~18 нм. Цей тип джгутиків зустрічається у деяких представників роду *Pseudomonas* (*P. rhodos*), *Rhizobium* (*R. lupini*).

Швидкість обертання джгутика відносно велика. Джгутики спірил, наприклад, обертаються зі швидкістю 40–60 об./с (~3 000 об./хв).

Швидкість руху клітини за допомогою джгутика у різних груп мікроорганізмів різна і не залежить від кількісті джгутиків. Так, клітини *B. megaterium*, які мають перитрихальний тип джгутикування, рухаються зі швидкістю ~27 мкм/с, а *Vibrio comma* (монотрихи) —~200 мкм/с. Швидкість руху клітини за допомогою джгутиків становить від 300 до 3000 довжин тіла за хвилину (900–9000 мкм/хв) при довжині тіла клітини ~3 мкм. Якщо уявити, що людина зростом 1,5 м рухалася б із такою швидкістю, то вона становила б 27–270 км/год.

Апарат джгутика складається з нитки, гачка і базальної структури (рис. 2.40).

За хімічною природою нитка джгутика — це білок флагелін з молекулярною масою 25 000–60 000. Білкові субодиниці (мономери) джгутика. Встановлено, що вони зібрані в спіральні ланцюги, закручені навколо порожнинної серцевини.

Біологія: том 1 / Сергійчук І.М., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

Особливістю будови білка флагеліну джгутика є відсутність у його складі гістидину, проліну, тирозину, триптофану, цистеїну.

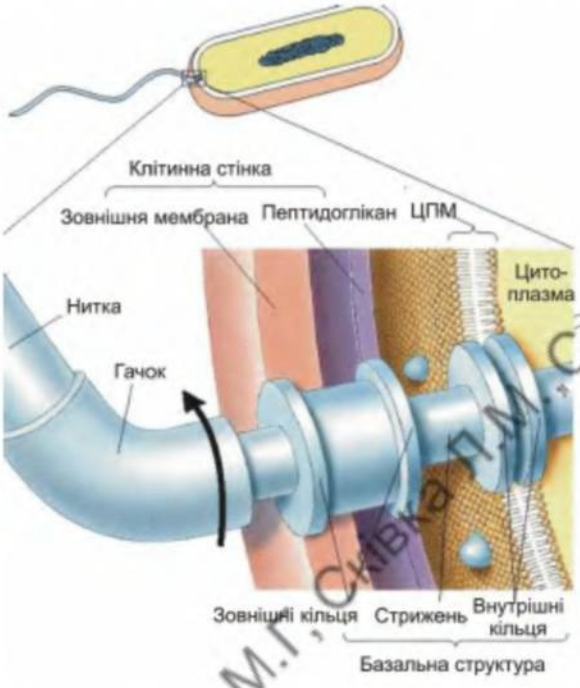


Рис. 2.40. Схема будови джгутикового апарату грамнегативних бактерій

Білок джгутика виявляє антигенну специфічність. Його називають Н-антигеном, який широко використовується при ідентифікації бактерій.

Білок гачка дещо відрізняється від білка нитки джгутика як за молекулярною масою, так і за антигенною специфічністю. Він стійкіший до низьких значень pH, нагрівання, дії сечовини.

Базальна структура джгутика складається з центрального стрижня (палички-осі), вмонтованого у систему кілець. У грамнегативних бактерій ця структура має дві пари кілець: внутрішню (M і S) та зовнішню (P і L); у грампозитивних — лише одну пару кілець (M і S).

Внутрішня пара кілець локалізована на рівні ЦПМ. При цьому M-кільце ніби занурене в цитоплазматичну мембрану. Кільце S локалізоване дещо вище, воно майже прилягає до внутрішньої поверхні пептидоглікану. L-кільце розташоване на рівні шару ЛПС зовнішньої мембрани клітинної стінки грамнегативних бактерій, а P — на рівні муреїнового шару.

Довжина базальної структури коливається в межах 25–30 нм і визначається товщиною клітинної стінки. Зв'язок кілець з паличкою-віссю відносно слабкий, про що свідчать електронні мікрофотографії, на яких деякі кільця відсутні.

БІОЛОГІЯ. ЮМ. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Головна функція базальної структури полягає у фіксації (закріпленні) джгутика. А оскільки ця структура складна, кожен її елемент має своє призначення. Виходячи з того, що кільця L і P виявляються лише в структурі джгутика грамнегативних бактерій, можна вважати, що вони служать для додаткової фіксації джгутика і що для функціонування джгутикового апарату досить лише внутрішньої пари, тобто кілець S і M.

Найбільш детально рух джгутиків вивчений у бактерій з лофо- і амфітрихальним типом джгутикування. У більшості лофотрихів джгутики (подібно до корабельного гвинта) проштовхують клітину через середовище.

У бактерій з перитрихальним джгутикуванням окремі латерально розташовані джгутики функціонують, як вважається, ніби один джгутик, тобто як одне ціле (рис. 2.41). Вони щільно прилягають до клітини, виходячи на задньому кінці за її межі, і, обертаючись, проштовхують клітину через середовище. Перитрихи плавають гірше, ніж моно- чи лофотрихи, часто перекидаються, але деякі з них добре пересуваються по вологій поверхні щільного середовища, тобто інколи вони краще повзають, ніж плавають.

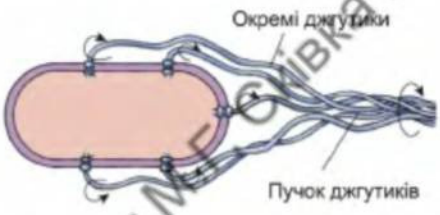


Рис. 2.41. Рух бактерії з перитрихальним типом джгутикування

Джгутики можуть спонтанно або у відповідь на зовнішній стимул змінювати напрямок обертання. В деяких бактерій, які мають полярний джгутик, це супроводжується тим, що клітина рухається в протилежному напрямку. Так, у випадку *Chromatium okenii* у відповідь на спалах світла обертання джгутиків змінюються — пучок джгутиків перетворюється на пристосування, що тягне клітину. У *Thiospirillum jenense* — гігантської фототрофної спірили — полярний пучок джгутиків при зворотному русі б'ється вже попереду клітини. Простір биття джгутиків охоплює при цьому клітину з боків, він ніби вивернутий навиворіт (подібно до вивернутої вітром парасольки). У спірил з амфітрихальним джгутикуванням у такому положенні знаходиться, залежно від обставин, то один, то другий пучок полярно локалізованих джгутиків.

Джгутик має спіралевидну упаковку, закручену, як правило, проти годинникової стрілки. Сам джгутик теж обертається проти годинникової стрілки (якщо дивитися на клітину, яка пливе, ззаду), що супроводжується обертанням клітини, але в протилежному напрямку руху. Напрямок обертання джгутика може змінюватися. Так, якщо лівозакручена спіраль починає обертатися за годинниковою стрілкою, клітина зупиняється або перекидається. При зміні на-

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сівіка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

прямку обертання джгутика в *E. coli* змінюється його конфігурація і напрямок ходу спіралі. Нитка джгутика трансформується у правоспіральну структуру, крок спіралі зменшується й утворюються «кучеряві» джгутики. Такі джгутики не здатні утворювати косу, через що клітини перекидаються або тремтять (тамблінг), не здійснюючи поступального руху (рис. 2.42).

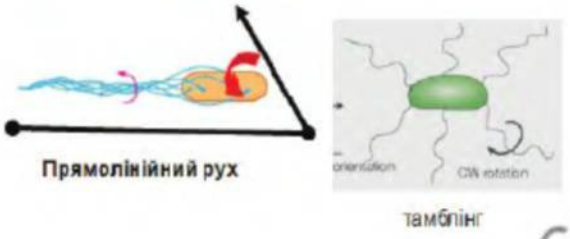


Рис. 2.42. Поступальний рух бактерій

Деякі бактері (представники роду *Bdellovibrio*) мають незвично товстий, полярно локалізований джгутик (~50 мкм), який дозволяє цій бактерії рухатися значно швидше, ніж це можуть робити інші бактерії. Зустрівши бактерію-хазяїна, паразит прикріплюється до її поверхні кінцем, протилежним тому, від якого відходить джгутик. Інколи бделовібріон обертається навколо своєї поздовжньої осі. Згодом клітина-жертва заокруглюється і стає схожою на сферопласт. Після проникнення у клітину-жертву бделовібріон швидко збільшується в об'ємі й розмножується. Дочірні клітини *Bdellovibrio* залишаються у сферопласті до того часу, поки його вміст не буде повністю перетравлений. Після руйнування клітинної стінки (лізису) ураженої бактерії бделовібріони виходять з клітини й інфікують нові. Бделовібріони лізують переважно грамнегативні бактерії, насамперед псевдомонади й ентеробактерії (рис. 2.43).

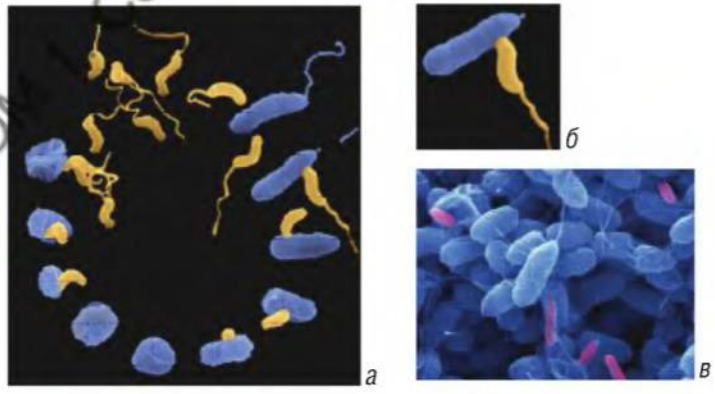


Рис. 2.43. *Bdellovibrio bacteriovorus* — бактерія, яка паразитує на інших бактеріях: а — життєвий цикл *B. bacteriovorus*; б, в — проникнення клітини *B. bacteriovorus* у клітину-жертву

Унікальну будову органів руху мають спірохети (рис. 2.44). Клітина спірохет має протоплазматичний циліндр, обмежений цитоплазматичною мембраною, і зовнішній чохол, утворений шаром муреїну і зовнішньою мембраною. Тобто, оболонка спірохет має таку ж будову, як і оболонки інших грамнегативних бактерій.

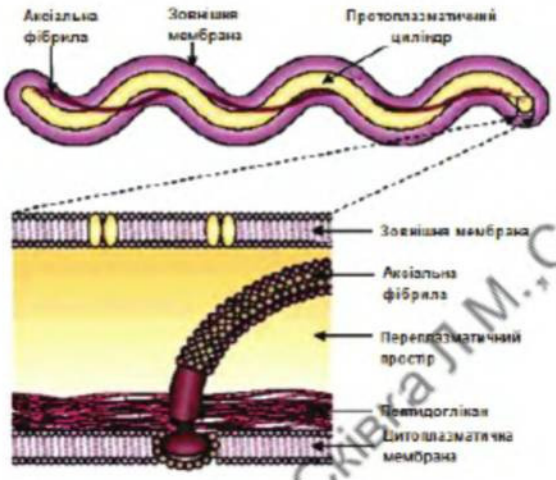


Рис. 2.44. Схематична будова локалізації аксіальних фібрил у спірохет

У просторі між шаром пептидоглікану і зовнішньою мембраною чохла знаходяться аксіальні фібрили (осьові нитки). Кількість фібрил залежно від виду може коливатися від 2 до 100. Пучок таких нитчастих структур обвиває протоплазматичний циліндр. Таким чином, орган руху спірохет міститься в закритому клітинними структурами просторі, тобто він є внутрішньоклітинною структурою.

Аксіальна фібрила дещо менша (коротша) від тіла клітини. Вона займає приблизно 2/3 її довжини. Один кінець фіксується на полюсі протоплазматичного циліндра, а другий — залишається вільним. Вільні кінці протилежних фібрил перекриваються.

З'єднання аксіальної фібрили із протоплазматичним циліндром відбувається за участю гачка і базальної структури. Остання являє собою паличку-вісь, на якій визначається 1–2 кільця.

Спірохети можуть здійснювати різні типи руху: тіло клітини може вигинатись, утворюючи вторинну хвилю (спіраль); обертатися на одному місці або здійснювати поступальний рух.

У лептоспір можливі два типи руху клітин. У першому випадку передбачається, що зовнішній чохол і протоплазматичний циліндр фіксовані один відносно одного. У такому разі обертання ниток супроводжується коливанням кінців клітини. Зовнішній чохол і протоплазматичний циліндр вигинаються, але не обертаються.

МІКРОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Другий тип руху пов'язаний з обертанням і вигинанням протоплазматичного циліндра і зовнішнього чохла, яке спричинене обертанням осьових ниток. Клітини лептоспір (*Leptospira interrogans*), здійснюючи поступальний рух, можуть ніби штопор вгвинчуватися у в'язке середовище.

Будь-який рух має свій біологічний сенс. Рухомі бактерії рухаються під впливом певних зовнішніх сил або стимулів. Такий рух називають **таксисом** (гр. *taxis* — розташування). Можна сказати, що таксис — це рух, зорієнтований відносно напрямку стимулу, тобто це направлений рух.

Залежно від зовнішніх факторів, під дією яких здійснюється рух, розрізняють: хемотаксис, фототаксис, аеротаксис, магнетотаксис, вискозитаксис.

Хемотаксис — єдиний приклад поведінкових реакцій, для яких порівняно добре досліджена не тільки феноменологія явища, але й молекулярні процеси, які забезпечують його реалізацію. У суспензії джгутикових бактерій клітини перебувають у стані безперервного, але хаотичного руху. При створенні в популяції бактерій градієнта концентрації деяких хімічних речовин клітини мігрують і накопичуються в тій його частині, де концентрація даної речовини є для них оптимальною. Деякі речовини (переважно поживні субстрати), діють як атрактанти: клітини накопичуються в зоні найвищої концентрації цієї речовини. Інші речовини, більшість з яких є токсичними, діють як репеленти, тобто клітини уникають зон з високою концентрацією їх і збираються в тій частині градієнта, де вона найнижча. До хемотаксису можна віднести також аеротаксис, зумовлений впливом кисню, та осмотаксис, спричинений дією солей.

Зміни концентрації ефекторів можуть директуватися за допомогою декількох механізмів. Вважають, що в ЦПМ *E. coli* і *S. typhimurium* локалізовано понад 20 хеморецепторів, кожен з яких зв'язує специфічний набір молекул-ефекторів та/або периплазматичних білків, котрі є первинними акцепторами цих ефекторів.

Здатність до таксису дає клітині певні переваги і, насамперед, дозволяє їй активно вести пошук середовища, оптимального для існування. Як було встановлено у випадку *E. coli*, такий пошук має логічне завершення: при досягненні, наприклад, джерела глюкозного градієнта синтез флагеліну пригнічується за типом катаболічної репресії. Крім пошуку таких універсальних субстратів, як глюкоза й амінокислоти, таксис допомагає бактеріям потрапляти в їхні специфічні екологічні ніші.

Термотаксис — це рух бактерій в осередки з підвищеною температурою. Він був описаний ще в 1920 р. Однак кількісне дослідження цього явища здійснили зовсім недавно. Автори використали такий простий підхід: у скляній трубці із суспензією *E. coli* створюється лінійний градієнт температури. Уже через 1 год клітини збираються вузькою смужкою в ділянці, де визначається температура 34 °С (оптимальна для росту цих бактерій). Різке зниження температури на предметному склі від 34 до 20 °С викликало перехід клітин у стан дрижання з наступною їх адаптацією. При підвищенні температури до оптимального значення швидкість руху клітин у середовищі збільшувалась.

Біологія. Том 1. Сергійчук І.М., Скібіна Т.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Аеротаксис — рух бактерій, пов'язаний з різницею вмісту кисню. Це явище легко спостерігати в препаратах «роздавлена крапля», де градієнт кисню встановлюється за рахунок його дифузії, спрямованої від країв покривного скельця до центра препарату. В рухомих бактерій можна визначити тип метаболізму (аеробний чи анаеробний) за їхнім аеротаксичним рухом і скупченням клітин на певних відстанях від краю покривного скельця або біля пухірців повітря.

Фототаксис — рух бактерій у напрямку до світла або від нього. Рухомі фототрофні бактерії, наприклад пурпурові, можуть реагувати на градієнти інтенсивності світла — явище, відоме як фототаксис. Таку поведінку легко продемонструвати, проектуючи вузький промінь яскравого світла на недостатньо освітлену в інших ділянках суспензію рухомих фототрофних бактерій. Протягом 10–30 хв значна кількість популяції збирається в найкраще освітленій частині, що діє як «світлова пастка». Плаваюча клітина потрапляє в світлову пляму внаслідок випадкового руху. Але, потрапивши туди, клітина не здатна її покинути. Як тільки клітина потрапляє в темну зону, напрямок руху джгутиків миттєво змінюється на протилежний, і клітина повертається в освітлене місце. Зміна роботи джгутикового апарату відбувається так швидко, що ця реакція отримала назву «реакція переляку» (фототаксис). Для того, щоб викликати таку відповідь, достатньо навіть невеликої різниці в освітленні двох ділянок. Клітини бактерій роду *Chromatium* накопичуються в якомусь одному місці, якщо його освітлення лише на 0,7 % вище, ніж у навколишніх ділянках.

Якщо вологий препарат рухомих пурпурових бактерій освітлювати не білим світлом, а спектрально розкладеним, то і при фокусуванні променів на препараті клітини швидко збираються в місцях, які відповідають основним максимумам поглинання пігментних систем цих бактерій. Точне кількісне визначення відносної ефективності хвиль різної довжини, які викликають фототаксис, показало, що спектр його дії у пурпурових бактерій точно відповідає спектру дії фотосинтезу.

Магнетотаксис — здатність бактерій рухатися по силових лініях магнітного поля. З поверхневих шарів мулу були виділені бактерії, здатні орієнтуватися в магнітному полі і переміщуватися в напрямку його ліній. Вони містять багато заліза (0,4 % від сухої маси) у формі феромагнітного окислу заліза (магнетиту) в кількості 10–20 мікрокристалів розміром 40–90 нм, які знаходяться в гранулах (магнітосомах), розташованих біля місць прикріплення джгутиків. Бактерії, виділені в північній частині земної кулі, «шукають» південь; тут лінії магнітного поля проходять під кутом 70° до горизонту вниз, в глиб водойми. Магнітотаксична поведінка спрямовує бактерії в глиб мулу, де мало або зовсім немає кисню. Оскільки магнітотаксичні бактерії — анаероби або мікроаерофіли, їхня реакція на магнітне поле доцільна з точки зору екології. Такі клітини, завезені в південну півкулю, найчастіше гинуть. Виживають лише деякі «помилково» поляризовані клітини, які зможуть потім розмножуватися. Полярність, ймовірно, генетично не зафіксована.

Віскозитаксис — рух бактерій у напрямку збільшення або зменшення густини розчину. Наприклад, для спірохет, які пересуваються по поверхні сли-

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скібка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

зових оболонок, ця особливість має пристосувальне значення. Механізм цього процесу не з'ясований.

Морфологічна диференціація у прокаріотів. За Ф. Жакобом і Ж. Моно, «одну клітину можна вважати диференційованою порівняно з іншою, якщо при однакових геномах набір білків, які синтезуються цими клітинами, різний».

Характерною особливістю деяких прокаріотів є здатність утворювати структури, які суттєво відрізняються від вихідних форм, а також від подібних структур інших біологічних об'єктів; мікроорганізмам властива морфологічна диференціація, яка супроводжується суттєвими біохімічними та фізіологічними змінами. В основі морфологічної диференціації лежать певні біохімічні процеси, що контролюються генетичним апаратом клітини. До морфологічно-диференційованих структур прокаріотів відносять екзоспори, ендоспори, цисти, гетероцисти, акінети (табл. 2.5).

Таблиця 2.5.

Морфологічно-диференційовані структури прокаріотів

Спеціалізовані клітини	Основні роди і групи бактерії, які їх утворюють
Ендоспори	*Amphibacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Oscillospira*, *Sporohalobacter*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina*, *Syntrophospora*, *Sulfobacillus*
Екзоспори	Актиноміцети, *Rhodomicrobium*
Цисти	Міксобактерії, ковзні бактерії, *Azotobacter*, *Bdellovibrio*
Гетероцисти, акінети	Ціанобактерії
Бактероїди	Бульбочкові бактерії

Утворення ***ендоспор*** характерне виключно для прокаріотів. Бактеріальні ендоспори — це особливий тип форм спокою клітин бактерій, які формуються ендогенно, тобто всередині цитоплазми «материнської» клітини (спорангія). Ендоспорам властивий особливий фізичний стан протопласта.

Ендоспора — це стадія спокою бактеріальної клітини (рис. 2.45), яка сприяє виживанню (збереженню) бактерій у несприятливих умовах середовища, тобто ендоспора не служить для розмноження.

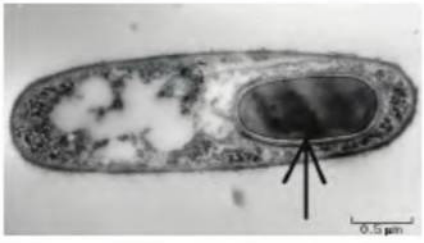


Рис. 2.45. Ендоспора прокаріотичної клітини

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчик М.Г., Сівка Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

Вважається, що утворення ендоспори є однією з фаз розвитку мікробної популяції. Але ця стадія не є обов'язковою для життєвого циклу спороутворюючих бактерій. За сприятливих умов живлення клітини можуть необмежений час розмножуватися, не переходячи в стадію спокою.

Процес спороутворення можна також інгібувати, наприклад, внесенням у середовище глюкози або частими пересівами культури. Роль інгібуючого фактора залежить від часу його внесення. Так, наприклад, якщо до суспензії вегетативних клітин *B. mycoides* протягом перших 5 год після їх внесення у воду додати глюкозу, то утворення спор репресується. Глюкоза, внесена пізніше як через 6 год, уже не діє — інгібування спороутворення не відбувається. У той же час індукція (дерепресія) спороутворення зберігається в період між 10 і 13-ю годинами після внесення бацил у воду — приблизно 90 % клітин утворюють спори. Таким чином, процес споруляції певною мірою регулюється факторами середовища.

Процес споруляції можна індукувати. До факторів, що індукують утворення ендоспор, відносять: нестачу поживних речовин, надлишок продуктів метаболізму, наявність у середовищі іонів Mn^{2+}, Ca^{2+}, зміну температури вирощування, рівня pH, концентрації O_2 та ін.

Отже, спороутворення відбувається у тих випадках, коли загальні умови існування допускають його. Якщо помістити вегетативні клітини на певній стадії розвитку в дистильовану воду, то можна спостерігати так звану ендотрофну споруляцію, тобто утворення спор за рахунок запасних речовин клітини. В таких випадках утворення спор дійсно викликається дефіцитом екзогенного субстрату.

Тривалість процесу споруляції в різних представників ендоспороутворювальних бактерій різна. В аеробних мезофільних бацил, зокрема, спороутворення займає близько 8 год.

Здатність клітин до утворення спори визначається комплексом генів, який називають спорулоном, хоч він і не є цілісно оформленою структурою. Проте встановлена наявність кількох груп — оперонів, локалізованих у різних ділянках хромосоми. Було показано, що *B. subtilis* має 42 спорових оперони, кожен з яких включає ~3 гени. У цілому *B. subtilis* має 150–200 генів, що контролюють процес споруляції. Події, які відбуваються на кожній стадії споруляції, можуть залежати від активності генів з різних оперонів.

Найкраще процес спороутворення досліджено у представників родів *Bacillus* і *Clostridium*, хоча інформація, отримана протягом останніх років, свідчить про принципову однотиповість цього процесу в усіх видів ендоспороутворюючих бактерій.

Спороутворення проходить у декілька фаз (етапів) (рис. 2.46). Зміна кожної стадії визначається активацією відповідних генів. При цьому один з продуктів гена, що «функціонує», індукує активність наступного гена.

Для початку спороутворення необхідне завершення реплікації бактеріальної хромосоми. При цьому сигнал до спороутворення має надійти ще в період

БІОЛОГІЯ: ТОМ 1. Сергій Жукин, Сквіра Т.М., Сезонюк Т.М. та ін

реплікації. Якщо реплікація хромосоми завершується в багатому на поживні речовини середовищі, тоді такий сигнал не надходить, а популяція продовжує вегетативний поділ. У процесі утворення спори хромосома не реплікується, і в спору переходить одна або декілька повністю реплікованих раніше хромосом.

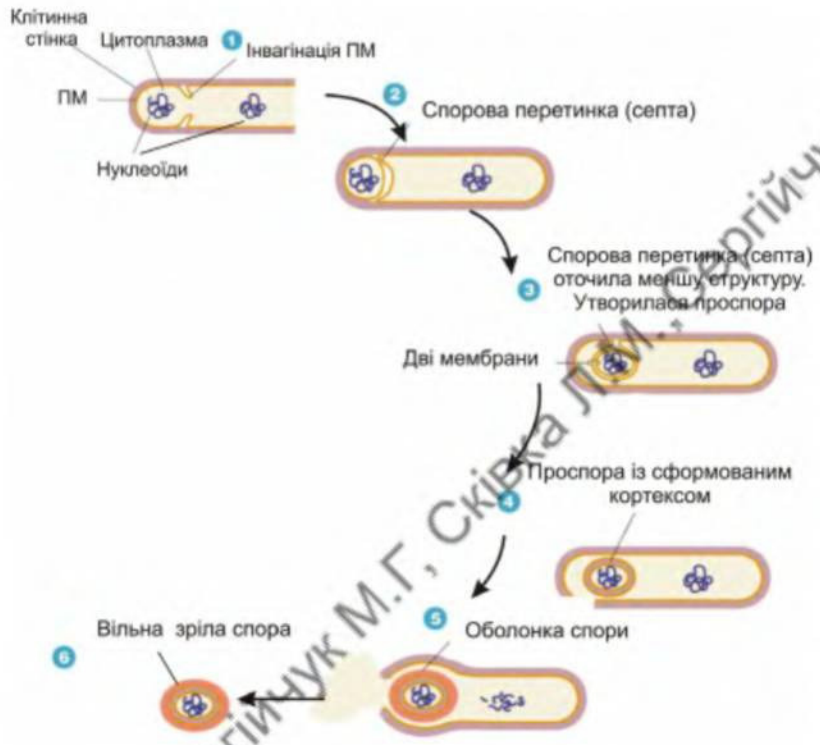


Рис. 2.46. Схематичне зображення формування ендоспори спороутворювальними бактеріями

Клітина, що готується до споруляції, має не менше двох нуклеоїдів, які утворюють тяж, який проходить майже по всій довжині клітини, включаючи в себе всю ДНК. У деяких видів роду *Clostridium* він утворюється лише частиною наявної в клітині ДНК і локалізується на одному з полюсів клітини, займаючи незначну частину її довжини. В подальшому від осьового тяжа відшнуровується ділянка, яка відповідає хромосомі. Вона переміщується до одного з полюсів клітини.

Далі ЦПМ починає інвагінуватися, утворюються дві різного розміру структури, розділені мембраною. На цьому етапі процес споруляції є ще оборотним. Якщо бактеріальні клітини перенести в сприятливі для розвитку умови, то процес їхнього поділу завершиться утворенням двох вегетативних клітин різної довжини. Доведено, що цей процес контролюється генами восьми оперонів, локалізованих у різних ділянках хромосоми.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

На перших етапах споруляції використовуються запасні речовин і частина білків материнської клітини. У більшості видів роду *Bacillus* відбувається синтез специфічних протеаз, яким приписують різні функції, у тому числі участь у кругообігу білка, модифікації ДНК-залежних РНК-полімераз і білків-попередників покривів спори.

У подальшому ЦПМ більшої частини клітини починає оточувати меншу структуру, в результаті утворюється структура, обмежена двома ЦПМ,— проспора. Дві мембрани, які оточують проспору, розташовані одна щодо одної ніби в дзеркальному відображенні — зовнішній, раніше звернутий до середовища шар внутрішньої мембрани, повернутий на зовнішній бік, а в зовнішньої мембрани — всередину. На наступному етапі проспора відділяється від ЦПМ материнської клітини і ніби вільно «плаває» в ній. На цьому етапі процес споруляції стає необоротним, змінюються властивості мембрани, особливо її транспортні функції. Процес стає необоротним не лише для проспори, а і для материнської клітини, яка вже не може повернутися до вегетативного росту. Якщо така система потрапляє в несприятливі умови, вона або завершує утворення спори, або гине.

У проспорі посилюється поглинання іонів Ca^{2+}, розпочинається синтез деяких амінокислот та дипіколінової кислоти (піридин–2,6-дикарбонова кислота). Вегетативні клітини не здатні до синтезу останньої.

Проспора, що утворилася, переміщується до центра клітини або залишається біля одного з її полюсів, що визначається видовою належністю об'єкта, тобто типом розташування спори.

Між двома ЦПМ у більшості представників роду *Bacillus* утворюється ще одна оболонка — кортекс. Процес йде у дві стадії. Спочатку синтезується примордіальний (зачатковий) шар, який у процесі проростання спори дає оболонку проростка. Над примордіальним шаром синтезується модифікований шар муреїну, який і утворює кортекс. Синтез речовини кортексу триває до дозрівання спори. Цей біополімер є більш кислим, ніж його аналог у клітинній стінці. Пояснюється це тим, що багато залишків мурамової кислоти не містять пептидів, а отже — мають більше вільних карбоксильних груп.

У *B. cereus* одночасно із синтезом кортекса формується екзоспоріум. На початку він синтезується на одному з полюсів проспори, а потім обростає її повністю. У більшості видів роду *Clostridium* початок закладки покривів передує формуванню кортекса.

На зрізах спори кортекс має вигляд масивного електроно-прозорого шару. У спори, яка перебуває в стані спокою, він має гомогенну структуру, а у спор, які проростають,— фібрилярну.

Екзоспоріум нагадує мішок, в якому міститься спора. У різних видів будова екзоспоріума різна. Найбільш детально він вивчений у *B. cereus*. До складу екзоспоріума входять білки, ліпіди та вуглеводи. Вважається, що він захищає спору від дії зовнішніх факторів.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Екзоспоріум *C. botulinum* має 15 паралельних шарів, загальна товщина яких більше 100 нм. У *C. pasteurianum* це тоненька структура, яка на одному з полюсів має велику пору. В деяких випадках зовнішній екзоспоріум покритий придатками або виростами різної форми.

Наприкінці формування екзоспоріума молода спора ще осмотично нестабільна й нежиттєздатна, але в неї вже змінюються деякі фізичні властивості, зокрема посилюється заломлення світла, що свідчить про синтез білкових сполук, оскільки у присутності інгібіторів синтезу білка світлозаломлення не підвищується.

У подальшому продовжують формуватися оболонки спори. Із зовнішнього боку зовнішньої мембрани формується оболонка спори. Сама зовнішня мембрана на зрізах майже не визначається. У спорі продовжує накопичуватися дипіколінат кальцію, підвищується її стійкість до органічних розчинників, наприклад хлороформу. Спора набуває осмотичної стабільності, але ще не терморезистентна.

Розвиток спори визначається активністю двох геномів — власного і материнського. Материнська частина клітини — спорангій — до останнього моменту зберігає свою активність. При цьому геном материнської клітини визначає синтез дипіколінової кислоти, білків, покривів спори (матеріалу), екзоспоріума та виростів спори, власний — відповідає за зневоднення та формування дипіколінату кальцію.

Цитоплазма спори оточена ЦПМ, яка переходить у примордіальний шар, а потім у кортекс. Речовина останнього становить 20–60 % об'єму спори, але не перевищує 15 % її маси.

У процесі дозрівання спора зневоднюється. Вміст води у зрілій спорі знижується до 10–15 %, що супроводжується інактивацією ферментів, а отже, гальмуванням метаболічних процесів. Спора набуває терморезистентності.

Структура зрілої спори у різних ендоспороутворювальних бактерій майже однакова. У цитоплазмі міститься ядерний матеріал. Вміст білків і нуклеїнових кислот спори досягає 50–60 % сухої маси. Значну частину спори складає дипіколінова кислота. У зрілої спори вона представлена соллю — дипіколінату кальцію, вміст якого може становити до 10–15 % за сухою масою.

Кортекс обмежений зовнішньою мембраною спори, яка межує із зовнішньою оболонкою. Речовина останньої забезпечує стійкість спори до дії лізоциму.

Спороутворення супроводжується активним синтезом білків, котрі, на відміну від білків вегетативної клітини, багаті на цистеїн та гідрофобні амінокислоти, з чим теж пов'язують стійкість спори до дії несприятливих факторів середовища.

Оболонки спори забезпечують її стійкість до дії ферментів, проникності для органічних розчинників, поверхнево-активних речовин, антибіотиків, барвників тощо. Після того, як спора сформувалась, відбувається лізис клітинної стінки і спора звільняється.

Схема будови зрілої спори представлена на рис. 2.47.

Біологія. Том 1. Сергійчук М.Г., Скібка І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Рис. 2.47. Схема будови зрілої спори

Спори мають специфічні властивості: по-перше, вони метаболічно неактивні; по-друге, вони стійкі до дії високих температур, хімічних речовин та опромінення.

Природа (механізм) терморезистентності спори повністю не з'ясована. На думку Г. Шлегеля, це явище можна пояснити низьким вмістом води. Існує також думка, що терморезистентність приблизно пропорційна вмісту дипіколінової кислоти. Стійкість спор до дії хімічних речовин забезпечується також непроникністю зовнішніх покривів. Крім того, білки покривів спори захищають її від дії літичних ферментів.

Спори різних бактерій відрізняються за формою, розмірами і локалізацією в материнській клітині (рис. 2.48). Так, у багатьох бактерій спора розташована в центрі клітини, а її діаметр не перевищує поперечника клітини — *центральний* (бацилярний) тип локалізації (*B. subtilis*, *B. anthracis*, *B. megaterium*). Спори багатьох бактерій мають овальну форму, але їх діаметр більший від поперечника клітини — *клостридіальний* тип локалізації. Клітина набуває при цьому вигляду веретена (*C. pasteurianum*). Спора може локалізуватися на одному з полюсів мікробної клітини, роздуваючи її спорангій. Сама клітина набуває форми барабанної палички — *плектридіальний* тип розташування спори (*C. tetani*). Спора займає центральну частину спорангія, але один його бік при цьому деформується — *латеральне* положення (*B. laterosporus*).

Рис. 2.48. Типи розташування спор у клітині: 1 — центральний (бацилярний); 2 — субтермінальний (бацилярний); 3, 5 — плектридіальний; 4 — клостридіальний

МІКРОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Скібіна Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Особливістю спороутворення в анаеробних бактерій є утворення на спорах особливих виростів різноманітної структури. Ця ознака специфічна, спадково закріплена і досить стійка. Навіть у дефектних спор, які втратили здатність утворювати оболонку, вирости зберігаються і не змінюють своєї структури.

Вирости можуть мати форму тонких ниток або джгутиків, трубочок різної товщини, які розташовуються на всій поверхні спори, або зібраних у пучок йоржикоподібних паличок, довгих широких стрічок, шипів, утворів, які нагадують роги оленя.

Формування виростів розпочинається на ранніх стадіях споруляції — перед закладкою кортекса, потім вони ростуть, подовжуються. Цитоплазма материнської клітини навколо виростів лізується. На зрілих спорах, які вийшли із спорангія, вирости розпускаються.

Речовина виростів складається переважно з білків, а також незначної кількості полісахаридів і ліпідів.

Функції виростів вивчаються. Деякі автори вважають, що вирости на спорах — специфічно чутливі (хемосенсорні) органели, які подають «сигнал» на проростання спори у сприятливих для неї умовах. З погляду інших, вирости виконують важливу функцію в процесі дозрівання спор, беруть участь у формуванні спорових покривів і кортексу. Існує також думка, що вирости на спорах — наслідок певних порушень обміну речовин.

Процес проростання спори можна поділити на три етапи: ініціація, активація й виростання.

Ендоспора навіть у сприятливих умовах може не проростати. Цей процес необхідно ініціювати. Активація означає готовність спори до проростання, при цьому зберігається її стійкість до температури, світлозаломлення та інші характеристики. Одним з ініціюючих факторів є термообробка. Доведено, що процес активації йде тим швидше, чим вища температура. Так, при температурі 65 °С активація триває 45 хв, а при зниженні до 34 °С — близько 48 год.

Активація є процесом необоротним, вона триває декілька хвилин і протікає у певній послідовності: спочатку знижується терморезистентність і відбувається вихід у середовище дипіколінату кальцію, після чого спора набуває здатності забарвлюватись; далі спора втрачає діамінопімелінову кислоту і глюкозамін, а потім знижується світлорозсіювання.

Процес ініціації залежить від температури, вологості середовища, pH та інших факторів.

До початку проростання спора інтенсивно поглинає воду і набрякає. Протягом перших хвилин проростання вона втрачає біля 25 % своїх білків, тобто тих, що синтезувалися в процесі споруляції. Гідроліз білків здійснюється за рахунок специфічної протеази самої спори, яка діє лише на ці білки.

У ході проростання спори її оболонки лізуються або розриваються, а проросток виходить з оболонок.

Виростання — це процес активного росту, в ході якого активно синтезуються РНК і білки, а через 1–2 год розпочинається реплікація ДНК.

Мікробіологія, Сергійчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Спори актиноміцетів формуються переважно на повітряному міцелії (спороносцях), а в окремих випадках — на субстратному. Розташування спороносних гілок у деяких актиноміцетів — ознака досить закономірна й постійна. За формою найчастіше зустрічаються спіральні (з множинними завитками, примітивні спіралі, розтягнуті або у вигляді клубочків) спороносці. За характером розташування на спороносних гілках їх поділяють на мутовчастий, супротивний та послідовний типи.

Утворення спор актиноміцетами може відбуватися різними способами. До найбільш поширених та вивчених належить утворення спор шляхом фрагментації або сегментації спороносних гілок.

Фрагментаційний процес характеризується тим, що навколо ядерних елементів, рівномірно розподілених по гіфі, концентрується цитоплазма, яка покривається власною оболонкою і перетворюється у зрілу спору. Оболонка спороносних ниток деякий час зберігається, але з часом розпадається, а спори висипаються і за відповідних умов знову проростають, утворюючи гіфи нових колоній актиноміцетів.

При сегментаційному утворенні спор спостерігається простий поділ спороносних гілок. По всій довжині гілки утворюються поперечні перетинки, і спороносець ділиться на ряд рівномірних клітин-спор. Перед сегментацією у спороносній гілці відбувається поділ ядерної речовини: утворюється стільки зерен хроматину, скільки буде спор. Навколо хроматинових зерен також концентрується цитоплазма клітини. Коли спора дозріває, спороносець розпадається на окремі спори.

У деяких родів актиноміцетів (*Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Streptosporangium* та ін.) утворюються спорангії-мішки, в яких містяться спори (рис. 2.49).

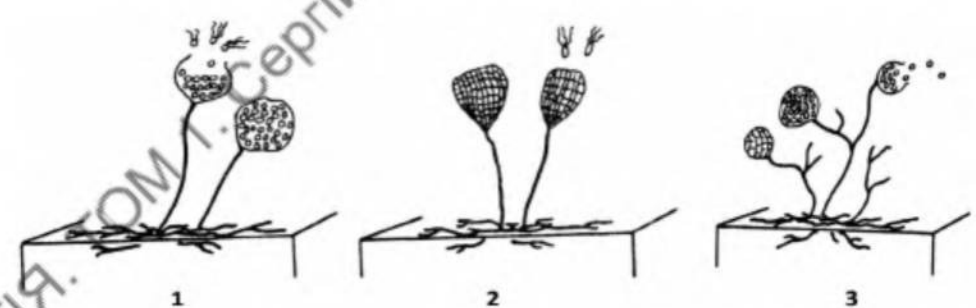


Рис. 2.49. Спорангії *Actinoplanes* (1), *Ampullariella* (2) і *Streptosporangium* (3) зі спорами

Окремі актиноміцети утворюють незвичні структури. Так, наприклад, представники родів *Dermatophilus*, *Frankia*, *Geodermatophilus* утворюють велику кількість спор у результаті поділу гіф в кількох площинах, а не перпендикулярно осі. Такі структури називають багатогніздими спорангіями.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сивка П.К., Сергійчук Т.М. та ін

Деяким актиноміцетам властиве утворення склероцій — кулястих структур, які містять не спори, а клітини, заповнені ліпідами. Склероцій проростає як єдине ціле, утворюючи при цьому одну ростову трубку.

У представників родів *Actinobifida*, *Microbispora*, *Micromonospora*, *Micropolyspora* спорангіїв немає. Поодинокі спори, їх пари або ланцюжки (до 20 спор) як форма розмноження та спокою знаходяться безпосередньо на гіфах міцелію або на дуже коротких спороносних гіфах (спорофорах).

Спори актиноміцетів відрізняються між собою за формою. Вони бувають кулясті, циліндричні, паличкоподібні, грушоподібні. Поверхня спор різних видів актиноміцетів теж може бути різною. На поверхні виявляються структури шипоподібної, горбкуватої, волосоподібної форми, в окремих випадках поверхня оболонки буває гладенька. Ця ознака використовується для визначення належності актиноміцетів до тієї чи іншої групи.

Спори актиноміцетів більш стійкі до дії несприятливих умов довкілля, ніж вегетативні клітини. Так, культури актиноміцетів, висушені до повітряно-сухого стану, можуть зберігати життєздатність протягом кількох років. Спори стійкі також до різних механічних впливів: при розтиранні культур у суміші з частинками піску спори не втрачають своєї життєздатності, тимчасом як відповідні їм за розмірами фрагменти вегетативного міцелію гинуть.

Проростання спор актиноміцетів однотипне. На свіжому поживному середовищі вони спочатку дещо набухають, потім на їх поверхні з'являються горбочки — бруньки, які, подовжуючись, проростають у довгі нитки. Нитки галузяться, формується міцелій — колонії актиноміцетів.

Цисти як форми спокою, виявляються в різних груп бактерій: азотобактера, спірохет, міксобактерій, рикетсій. У більшості міксобактерій утворення цист (міксоспор) — це одна зі стадій життєвого циклу. Після завершення стадії активного розмноження клітини міксобактерій групуються й утворюють так звані плодові тіла, котрі являють собою масу слизу, в який занурені клітини. Всередині плодових тіл клітини переходять у стан спокою (рис. 2.50).

Утворення міксоспор супроводжується синтезом специфічного білка. ДНК не синтезується, а переходить з вегетативної клітини. Міксоспора може мати три-чотири копії хромосоми. Цисти міксоспор більш стійкі до нагрівання, висушування, дії фізичних факторів, ніж вегетативні клітини, тобто ця структура, певною мірою, може розглядатися як форма спокою.

У деяких видів бактерій цисти морфологічно не відрізняються від вегетативних клітин, але в більшості випадків їх утворення супроводжується помітними морфологічними й структурними змінами: потовщується стінка вегетативної клітини, внаслідок чого утворюються оптично щільні структури, які сильно заломлюють світло.

У представників роду *Azotobacter* утворення цист супроводжується зміною морфології клітини, втратою джгутиків, накопиченням у цитоплазмі гранул ПОМК, синтезом додаткових покривів: зовнішніх (екзини) і внутрішніх (інти-

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сегінчук І.І., Сквірська І.М., Серінчук Т.М. та ін.

ни). Ці оболонки (покриви) відрізняються між собою як структурно, так і за хімічним складом.

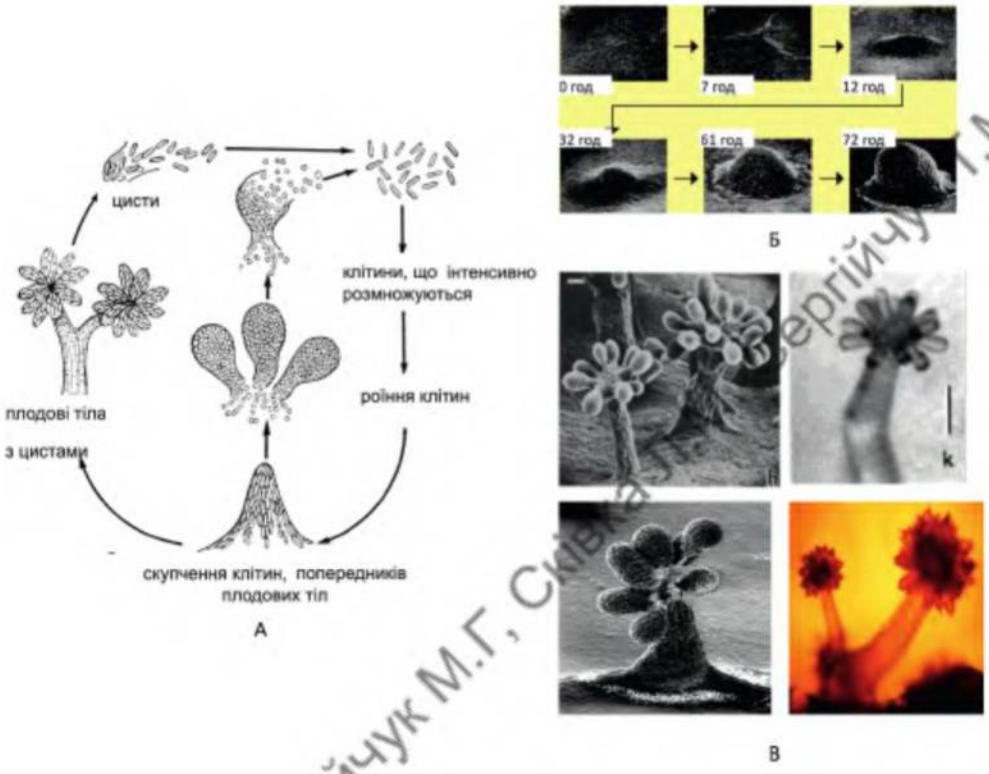


Рис. 2.50. Морфологічне диференціювання у міксобактерій: А — Цикл розвитку *Myxococcus*; Б — утворення попередників плодових тіл в часі; В — деякі форми плодових тіл міксобактерій

Форми спокою деяких ціанобактерій називають акінетами. Вони більші за вегетативні клітини, мають подовжену або сферичну форму, товсту оболонку. Утворюються акінети в період затримки росту культури. Клітина при цьому збільшується в розмірах, у цитоплазмі накопичуються гранули запасних речовин (глікоген, поліфосфати, ціанофіцинові гранули), а також утворюються карбоксисоми. Одночасно потовщується пептидогліканový шар, ущільнюється слизовий чохол. У цілому оболонки акінети містять більше ліпідів і полісахаридів, а цитоплазма — менше води, ніж вегетативна клітина. У процесі формування акінет збільшується вміст ДНК, кількість рибосом, зменшується кількість хлорофілу і фікобілінових пігментів.

Сформовані форми спокою протягом різного часу можуть зберігати свою життєздатність (табл. 2.6) і проростають у відповідних умовах з утворенням активних (у метаболічному відношенні) клітин.

Таблиця 2.6.

Стійкість форм спокою прокаріотів до екстремальних умов

Тип форм спокою	Пошкоджуючий фактор	
	Висока температура	Висушування
Ендоспори деяких бактерій	Загибель 90 % після витримування при 100 °С протягом 11 хв	Життєздатність зберігається протягом майже 1000 років
Ендоспори актиноміцетів	Загибель 99 % після витримування при 75 °С протягом 70 хв	Життєздатність зберігається протягом 14 років
Міксоспори міксобактерій	Загибель 90 % після витримування при 50 °С протягом 20 хв	Загибель 50 % після зберігання протягом 6 років
Цисти азотобактера	Загибель 100 % після витримування при 60 °С протягом 15 хв	100 %-ва життєздатність при зберіганні протягом 12 років
Акінети ціанобактерій	Загибель 95 % після витримування при 40 °С протягом 10 хв	95 %-ва життєздатність після зберігання протягом 15 міс. при 4 °С

Питання для самоконтролю

1. З яких основних частин складається світлопольний мікроскоп?
2. Як визначити загальне збільшення та роздільну здатність світлового мікроскопа?
3. Наведіть принципи фазово-контрастної, люмінесцентної та електронної мікроскопії.
4. Назвіть морфологічні типи бактерій та представників.
5. У чому полягають особливості нуклеоїду прокаріотів?
6. Наведіть відмінності будови клітинної стінки грампозитивних та грамнегативних бактерій.
7. Яка будова пептидоглікану та які його функції?
8. Назвіть відмінності протопластів, сферопластів та L-форм.
9. Розкажіть про синтез, хімічну будову та функції капсул.
10. Що являють собою поверхневі структури та яке їх значення?
11. Будова цитоплазматичної мембрани та внутрішньомембранних утворів.
12. Розкажіть про внутрішньоцитоплазматичні структури прокаріотів, їх будову та функції.
13. За яких умов у прокаріотичних клітин можуть утворюватись структури, морфологічно та функціонально відмінні від негативних клітин?
14. Назвіть морфологічно диференційовані структури прокаріотів.
15. Що являє собою локомоторний орган у бактерій?

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сікірка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 3.
ЗАКОНОМІРНОСТІ РОСТУ МІКРООРГАНІЗМІВ

3.1. Поділ бактеріальної клітини. Клітинний цикл

Скоординований синтез мікроорганізмом компонентів клітини зумовлює її ріст, розмноження і, в кінцевому результаті, утворення культури або колонії мікроорганізмів.

Для мікроорганізмів, як і для інших живих істот, характерні ріст і розмноження. Під *ростом* клітини мають на увазі узгоджене збільшення кількості всіх хімічних компонентів (наприклад, білка, ДНК, РНК), що супроводжується збільшенням розмірів і маси клітини. Ріст клітини не є безмежним. Досягнувши певних розмірів, клітина припиняє ріст і починає розмножуватися.

Розмноження — це збільшення кількості клітин мікроорганізмів у популяції. Проміжок від виникнення клітини до її поділу називають часом генерації або онтогенезом. У природі щодо цього спостерігається (за незначним винятком) певна закономірність: чим менший організм, тим швидше в нього з'являється нове покоління. Так, клітини *E. coli* діляться через кожні 20 хв. Коли б ніщо не перешкоджало їхньому поділу, то за добу виникло б стільки клітин, що з них можна було б побудувати піраміду з основою 1 км^2 і заввишки 1000 м.

Встановлено певний взаємозв'язок між швидкістю росту клітини, її середньою масою і станом хромосоми. Перша подія, яка приводить до поділу клітини,— це ініціація реплікації хромосоми. В нормальних умовах цей процес взаємопов'язаний з масою клітини. Швидкість поділу бактерій залежить від наявності поживних речовин у середовищі, в якому ростуть клітини. Якщо не вистачає будь-яких важливих субстратів, знижується швидкість ініціації реплікації, але швидкість самої реплікації не змінюється.

Тривалість реплікації в більшості прокаріотичних клітин постійна (близько 40 хв). Якщо подвоєння ДНК розпочалося, воно триває до завершення незалежно від будь-яких змін у складі поживного середовища, які сталися за цей час. Час, який передує ініціації реплікації ДНК, непостійний (від 20 до 220 хв). Тривалий цикл має місце тоді, коли великий проміжок часу до початку ініціації. В цьому випадку після початку реплікації нові точки ініціації в хромосомі не виникають до того часу, поки не відбудуться всі події клітинного циклу. Час, необхідний для появи нових точок ініціації, непостійний, і переважно від нього залежить повна тривалість клітинного циклу. Короткий цикл спостерігається тоді, коли нові точки ініціації виникають до повного завершення циклу реплікації. Таким чином, ще до завершення поділу клітини розпочинається наступний цикл реплікації.

Ініціація реплікації здійснюється за допомогою специфічних білків. Якщо клітини помістити в середовище без відповідного ключового субстрату, синтез білка відразу ж припиняється. Хоча реплікація ДНК і поділ клітини тривають, новий цикл реплікації не розпочинається до того часу, поки знову не

Том 1. Сегінчук М.Г., Скіпка Т.М., Сегінчук Т.М. та ін.

розпочнеться синтез білка. Звідси виходить, що ініціатори — це білки, які взаємодіють з ДНК і переводять її в такий стан, в якому вона здатна зв'язувати ДНК-полімеразу.

Реплікація ДНК розпочинається з точки прикріплення кільцевої хромосоми до ЦПМ, де локалізується ферментативний апарат, що відповідає за реплікацію. Реплікація, яка почалася в точці прикріплення, йде у двох протилежних напрямках, утворюючи характерну для кільцевої хромосоми проміжну структуру. В зоні реплікації (реплікаційній вилці) на невеликій ділянці відбувається розрив водневих зв'язків, які забезпечують підтримку двонитчастої структури ДНК. На підготовлених таким чином однонитчастих ділянках, які служать матрицями, розпочинається синтез комплементарних ниток ДНК (рис. 3.1).

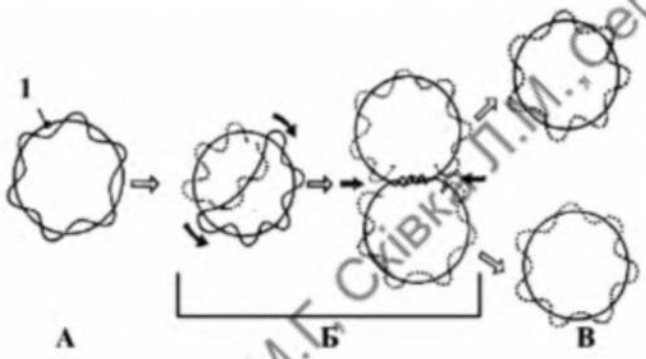


Рис. 3.1. Схематичне зображення реплікації кільцевої бактеріальної хромосоми: А — материнська молекула ДНК; Б — проміжні реплікативні форми; В — дочірні молекули ДНК після процесу реплікації і розходження: 1 — точка початку реплікації (чорними стрілками показано напрямок реплікації)

Після реплікації молекули ДНК залишаються зв'язаними з ЦПМ, яка починає рости між точками зв'язування ДНК і тим самим віддаляє їх, ніби розносячи в різні ділянки клітини. Це приводить до розділення (сегрегації) дочірніх молекул ДНК і оформлення відокремлених хромосом (рис. 3.2). Далі формується поперечна перетинка клітини.

За Р. Віттенбарі і С. Дау, формування поперечної перетинки та клітинної стінки в різних груп мікроорганізмів відбувається по-різному. Воно залежить від існування певних типів клітинного циклу:

- мономорфного, при якому в нормальних умовах утворюється лише один певний морфологічний тип клітин;
- диморфного, коли під час поділу утворюються дві клітини, які відрізняються між собою за формою, розмірами або мають інші ознаки відмінності;
- поліморфного, характерного для бактерій, здатних залежно від особливостей умов перебування утворювати два або більше морфологічних типів клітин.

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук М.Г. Сківка Л.М., Сергійчук І.М. та ін

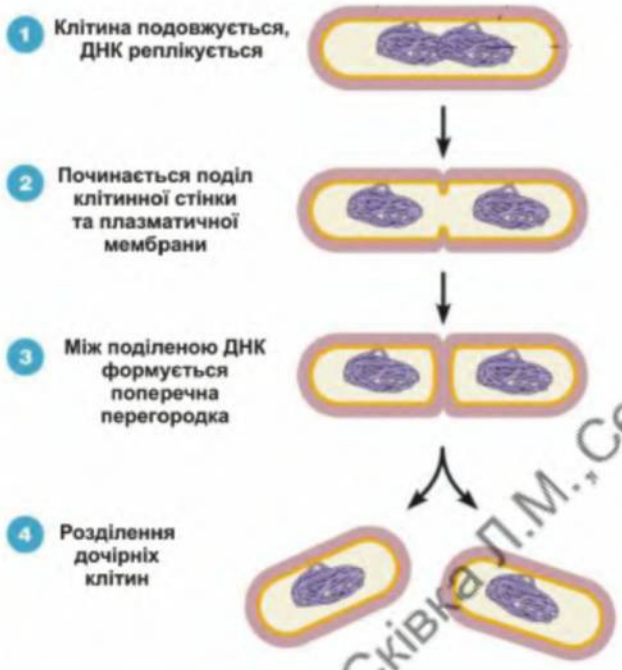


Рис. 3.2. Схематичне зображення механізму розподілу бактеріальних хромосом

Кожний з таких типів характеризується певними (нормальними) особливостями клітинного циклу.

Існування постійних типів поділу в мікроорганізмів свідчить про те, що він забезпечується спадковим матеріалом клітини.

Мономорфний клітинний цикл виявляється в більшості бактерій. Типовим представником бактерій з мономорфним клітинним циклом є кишкова паличка. В процесі росту клітини *E. coli* має місце лінійне неперервне збільшення її об'єму і поверхні. Перед поділом клітини стрибкоподібно збільшується швидкість її росту, і такий ріст можна характеризувати як білінійний.

Питання про механізм розходження дочірніх клітин грацилікутних бактерій залишається дискусійним. Так, деякі автори описують синхронний ріст усіх елементів оболонки. При цьому клітини діляться перетяжкою без утворення клітинної перетинки. Інші автори вважають, що перетинка формується з цитоплазматичної мембрани і шару муреїну.

У грампозитивних бактерій ріст міжклітинної оболонки можна простежити більш-менш чітко. Щоправда, механізми регуляції клітинного поділу вивчені недостатньо.

Характер росту і поділ фірмікутних коків, які належать до різних груп, дещо відрізняються. Ріст завжди йде вздовж осі симетрії клітини, а поділ — у площині,

Біологія. Том 1. Сергійчук М.А., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

перпендикулярній до цієї осі. У стрептококів її напрямок стабільний, а це означає, що вони діляться в одній площині. В стафілококів поділ відбувається у двох взаємно перпендикулярних площинах, вісь симетрії після кожного поділу переміщується на 90°. Поділ клітини у трьох взаємно перпендикулярних площинах, при відповідних переміщеннях осі симетрії, приводить до утворення пакетів.

З ростом клітини і збільшенням площі периферійної стінки зменшується периметр клітинної перетинки. Пропорційно до його зменшення відбувається вростання перетинки всередину клітини, що супроводжується зменшенням отвору, який з'єднує дочірні клітини. При цьому площа поверхні перетинки майже не змінюється до її повного замикання. Поряд зі збільшенням площі клітинної стінки потовщується перетинка і нова частина периферійної стінки.

Клітинний поділ стафілококів відрізняється деякими специфічними особливостями (рис. 3.3).

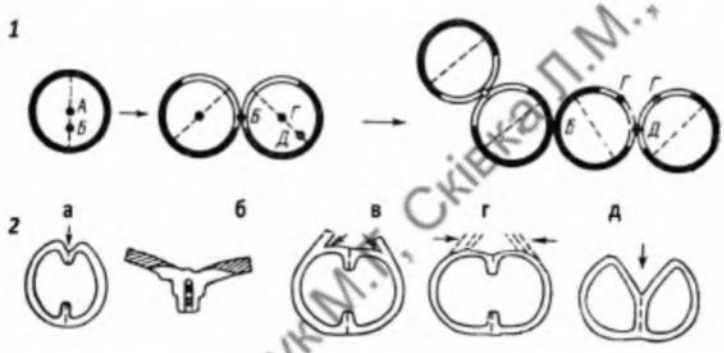


Рис. 3.3. Схема поділу клітини *Staphylococcus aureus*: 1 — геометрія поділу: пунктирними лініями позначені переріз площини поділу; темним — частина оболонки, отримана від материнської клітини; світлим — заново синтезована частина оболонки; А–Д — точки на клітинній перетинці. 2 — механізм клітинного поділу: а — ініціація поділу; б — поперечний розріз зони ініціації (заштриховані ділянки материнської оболонки); в — дія злущувальної літичної системи; г — дезінтегруючої літичної системи; д — розщеплювальної літичної системи. Пунктиром позначена локалізація розщеплювальної літичної системи; стрілками — точки, в яких проявляється активність відповідних літичних систем

У стафілококів спочатку утворюється перетинка, розщеплення якої відбувається саме в момент поділу. Клітина, яка росте, залишається шароподібною або дещо овальною до самого моменту розходження дочірніх клітин. Перетинка розщеплюється швидко, але не повністю. Дочірні клітини набувають одразу округлої форми, але через те, що розщеплення не повне, клітини залишаються зв'язаними. Незважаючи на те, що площини послідовного поділу перпендикулярні одна до одної, нерозділені ділянки перегородки можуть бути розташовані випадковим чином, у результаті чого утворюються характерні гроноподібні скупчення клітин.

Мікробіологія. Торгашева І.В., Звягінцев М.Ю., Скібенко Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

У бактерій роду *Bacillus*, на відміну від коків, процеси росту і поділу відбуваються неодночасно. Вони діляться за рахунок вростання і розщеплення перетинки. До того ж перетинка при цьому рості швидше, ніж розщеплюється. Новий муреїн синтезується і відкладається з внутрішнього боку оболонки. Старий муреїн відсовується до поверхні клітини, де, як передбачається, рівномірно розподіляється в міру її збільшення. При цьому виключно із заново синтезованого муреїну побудовані лише клітинні перетинки — полюси клітини після поділу та вузькі ділянки поверхні над перетинками.

Диморфний клітинний цикл — явище, яке спостерігається серед грамнегативних бактерій. Найкраще цей тип клітинного циклу досліджено у бактерій роду *Caulobacter*. Відбувається утворення двох типів клітин: рухомих (із джгутиками) і нерухомих (із стеблинками). І перші, і другі здатні ділитися, але їхні клітинні цикли відрізняються між собою (рис. 3.4). Нерухомі клітини зі стеблинками вважаються материнськими, а рухомі, які мають монотрихальний джгутик,— дочірніми.

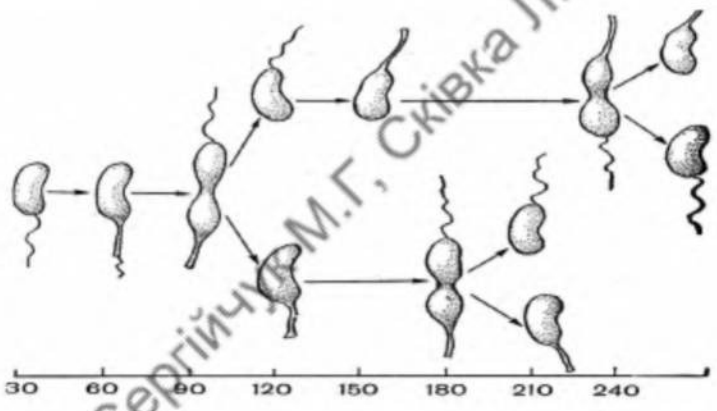


Рис. 3.4. Стадії життєвого циклу *Caulobacter*

Рухома клітина має декілька полярних пілей (фімбрій), які функціонують як рецептори для фагів, а також забезпечують адгезію на щільному субстраті. Рухомі клітини не здатні до поділу, поки в них не утвориться стеблинка, яка формується на протилежному джгутику полюсі. Утворення стеблинки супроводжується втратою джгутикового апарату і пілей.

Різновидом бінарного поділу є *брунькування*. Під час цього процесу на одному з полюсів материнської клітини утворюється невеличкий вирість (брунька), який збільшується під час росту. Коли брунька досягає розмірів материнської клітини, вона відділяється. Так, клітини *Nitrobacter agilis* і деяких фотосинтетичних бактерій роду *Rhodopseudomonas* діляться таким чином, що їх ріст відбувається з одного полюса. В результаті утворюються дві нерівноцінні клітини. Дочірня клітина при цьому має джгутик, але він втрачається до початку ділення.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Розмноження типових представників мікоплазм, наприклад, *Mycoplasma mycoides*, відбувається поділом надвоє: шляхом розпаду ниток і кілець на кокоподібні клітини і процесу, який нагадує брунькування (рис. 3.5). При цьому утворюються дрібні клітини, розміри яких коливаються в межах 0,125–0,150 мкм.

Рис. 3.5. Схема ділення мікоплазм у рідкому середовищі

Деякі представники роду *Hyphomicrobium* проявляють, залежно від умов культивування, здатність до *поліморфного клітинного циклу*. Так, під час вирощування їх на середовищі з метанолом утворюються гіфи й овальні бруньки (рис. 3.6), а з метиламіном — кістеподібні клітини, від яких відбруньковуються рухомі дочірні особини. Поліморфізм деяких штамів *Hyphomicrobium* спостерігається і на інших субстратах.

Рис. 3.6. Стадії життєвого циклу *Hyphomicrobium*

У деяких ціанобактерій описано розмноження шляхом множинного поділу, яке розпочинається зі збільшення розмірів вегетативної клітини, яка з часом зазнає ряду швидких бінарних поділів, що відбуваються всередині додаткового фібрилярного шару материнської клітинної стінки. Це супроводжується утво-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.І., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ренням дрібних клітин, які отримали назву баеоцитів (маленьких клітинок). Їх кількість у різних видів коливається від 4 до 1000. Вивільнення баеоцитів відбувається під час розриву материнської клітинної стінки (рис. 3.7), тобто в основі множинного поділу лежить принцип рівновеликого бінарного поділу, особливість якого полягає в тому, що ріст дочірніх клітин не відбувається — вони знову діляться.

Таким чином, у процесі поділу бактеріальної клітини визначаються як мономорфний, так і ди- та поліморфний цикли розвитку.

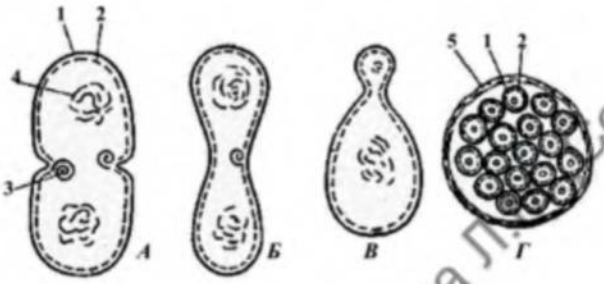


Рис. 3.7. Схематичне зображення способів поділу прокаріотичної клітини: А — поділ шляхом утворення поперечної перегородки; Б — поділ шляхом перетяжки; В — брунькування; Г — множинний поділ: 1 — клітинна стінка; 2 — ЦПМ; 3 — мембранна структура; 4 — нуклеоїд; 5 — додатковий фібрилярний шар клітинної стінки

Спосіб поділу бактеріальної клітини не можна встановити при поверхневому розгляді препарату. Для цього необхідні тривалі спостереження за поведінкою живих клітин. Методи простого забарвлення також не дозволяють з необхідною точністю визначити, до якого типу належить цей поділ.

Як у лабораторних, так і у виробничих умовах одним з важливих завдань є отримання максимальної кількості продукту життєдіяльності мікроорганізму. В усіх випадках, особливо при виробництві мікробної біомаси, основним показником біотехнологічного процесу є інтенсивність росту і розмноження клітин. Ріст і розмноження мікроорганізмів — не постійні величини, вони залежать від поживної цінності середовища, фізико-хімічних умов культивування, фізіологічного стану (віку) культури. Поняття про вік мікроорганізмів цілком визначене в розумінні онтогенетичного циклу, але досить відносне в часі. Перебування в молодому віці і процес старіння мікробної популяції залежать від умов культивування. Основна причина старіння — накопичення продуктів метаболізму і виснаження поживного середовища. При постійному відведенні продуктів метаболізму і надходженні поживних речовин мікробні клітини можуть тривалий час перебувати молодими. За таких технологічних прийомів, можна створити умови, за яких мікробна популяція буде перебувати в стані постійної активної життєдіяльності.

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г. Сенька Л.І. Сергійчук Т.М. та ін

В ідеальних умовах, при постійному відведенні продуктів метаболізму і надходженні поживних речовин, можна спостерігати нескінченний ріст і розмноження клітин мікробної популяції. Знаючи час генерації даного мікроорганізму (g) і початкову кількість клітин (X_0), можна визначити їхню кількість у будь-який момент часу культивування (t):

$$X = X_0 \cdot 2^n,$$

де X — кількість клітин у момент t; X_0 — початкова кількість клітин у момент t_0; n — кількість генерацій: $n = t / g$, де t — час культивування; g — час генерації (подвоєння кількості) клітин.

Тобто, ріст мікробної популяції визначається показником ступеня, або кількістю поділів (генерацій), яка стоїть в експоненті (показнику ступеня). Тому дана залежність є експоненціальною.

Якщо уявити, що час генерації для *Escherichia coli* становить 20 хв, то з однієї єдиної клітини протягом 24 год можна отримати кількість клітин, яка становитиме: $X = 1 \cdot 2^{72} = 4{,}72 \cdot 10^{21}$.

Інша картина спостерігається в дійсності, особливо при періодичному культивуванні. *Періодичною* називають систему, в якій після інокуляції (посіву мікроорганізму) середовища відповідного складу не відбувається ні внесення стерильних порцій поживного середовища, ні вилучення будь-яких продуктів метаболізму.

3.2. Закономірності розвитку мікробної популяції в періодичній системі

Питання росту та розмноження мікроорганізмів вивчав Ж. Моно (1942). За Моно, розмноження популяції бактерій відбувається таким чином: при засіві бактерій на свіже поживне середовище вони спочатку пристосовуються до нових умов і певний час не розмножуються (lag-фаза); потім починається фаза швидкого розмноження з логарифмічною залежністю кількості клітин від часу вирощування (log-фаза); поступово поживні речовини в середовищі вичерпуються і бактеріальна популяція вступає в стаціонарну фазу; останньою відбувається фаза відмирання та лізису клітин (рис. 3.8).

Популяція (фр. *population* — населення) — це сукупність бактерій одного виду (чиста культура) або різних видів (змішані культури), які розвиваються в обмеженому просторі. В бактеріальній популяції постійно відбувається ріст бактерій, їх розмноження та відмирання. При спостереженні за розвитком бактеріальної популяції увагу звертають, перш за все, на кількість клітин (або біомасу) в одиниці об'єму та їхню життєздатність. З цією метою використовують прямі та непрямі методи. За допомогою прямих методів підраховують загальну кількість клітин у популяції або визначають їхню сумарну масу в певному об'ємі поживного середовища. Кількість клітин підраховують у лічильних камерах під

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сивка Л.М. Сергійчук Г.М. та ін.

мікроскопом із застосуванням електронного лічильника, шляхом підрахунку клітин на мембранних фільтрах та ін. Для визначення лише кількості життєздатних клітин використовують посів бактеріальної суспензії на щільні поживні середовища з наступним підрахунком колоній, які виросли. При цьому вважається, що кожна колонія виросла з однієї клітини.

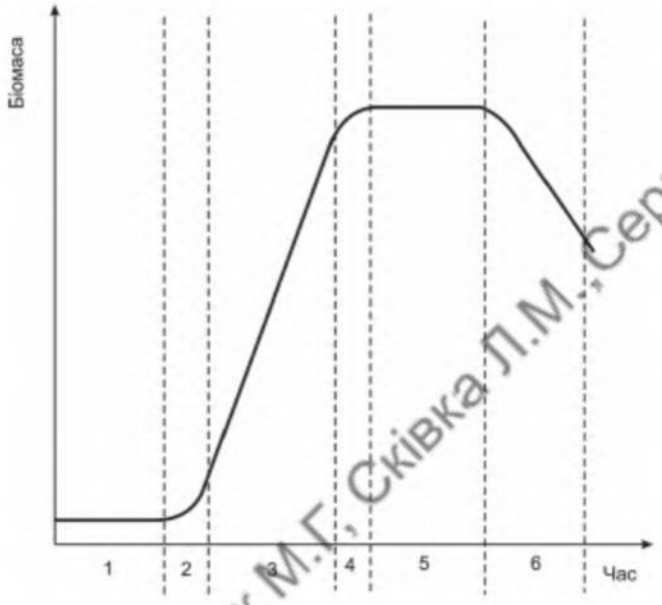


Рис. 3.8. Крива росту мікробної планктонної популяції в періодичній системі. 1 — лаг-фаза; 2–5 фази прискореного, експоненційного (логарифмічного), сповільненого, стаціонарного росту; 6 — фаза відмирання

Потрапляючи в нове середовище, клітини мікроорганізмів повинні адаптуватися до його умов (*lag-фаза*, або фаза затримки росту). В результаті різкої зміни умов, ферментні системи мікроорганізмів деякий час перебувають у пригніченому стані. Тривалість цієї фази залежить як від зовнішніх умов, так і від віку бактерій та їх видової специфічності. У тих випадках, коли джерело енергії і Карбону в новому середовищі відрізняються від тих, які були при попередньому культивуванні, адаптація до нових умов може бути пов'язана із синтезом нових ферментів, які раніше не були потрібні. Синтез нових ферментів може індукуватися новими субстратами середовища. Зміни у складі бактеріальної клітини під час lag-фази позначаються, насамперед, на вмісті РНК, який збільшується у 8–12 разів. Таке збільшення кількості РНК свідчить про її участь у синтезі ферментів.

З часом мікробні клітини починають синтезувати ферменти, необхідні для асиміляції компонентів існуючого середовища, збільшується середній об'єм клітин і бактеріальна популяція набуває здатності до розмноження. Розпочинається *фаза прискореного росту* (див. рис. 3.8).

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Молоді клітини мають більшу спорідненість до основних барвників — їхня забарвленість на препаратах інтенсивніша, ніж у старих клітин. На підставі цього було зроблено припущення, що ізоелектрична точка їхньої протоплазми зсунута в бік низьких значень pH. Поглинання кисню, утворення тепла, CO_2 й аміаку вказує на те, що обмін речовин у молодій клітині відбувається більш інтенсивно. Молоді клітини краще, ніж старі, пристосовуються до нового поживного середовища, але вони менш стійкі до дії зовнішніх факторів (фенолу, нагрівання, охолодження, солей тощо).

Потім клітини інтенсивно розмножуються, культура мікроорганізмів переходить в *експоненційну фазу*, або як її називають, фазу *логарифмічного розвитку*. Вона характеризується постійною максимальною швидкістю поділу клітин, яка залежить від виду мікроорганізму й умов середовища. Кількість мікробних клітин у цей період збільшується в геометричній прогресії за експоненційним законом (рис. 3.9).

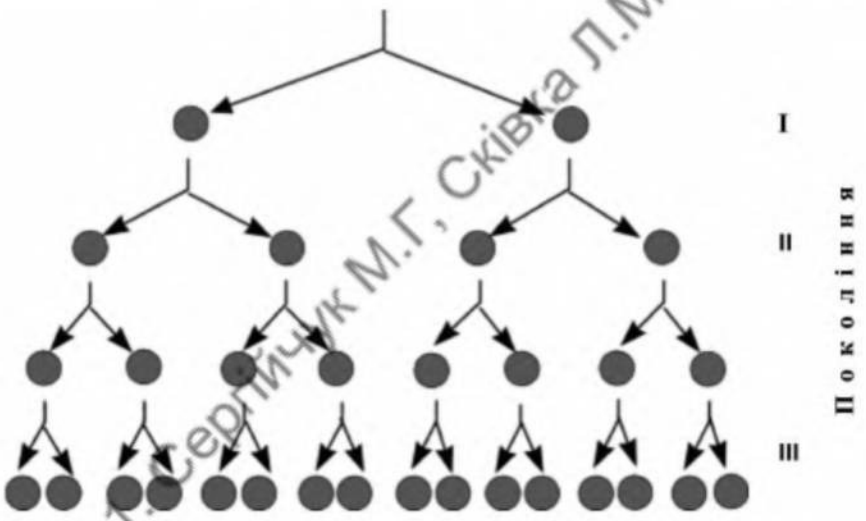


Рис. 3.9. Схема розмноження бактеріальної клітини

Розмір клітин і вміст білка в клітинах багатьох бактерій залишаються незмінними протягом усієї експоненційної фази, а процеси росту проходять збалансовано — подвоєння біомаси супроводжується подвоєнням вмісту білка, РНК, ДНК та ін. У таких умовах за ростом культури можна простежити, визначаючи один з цих показників.

Стаціонарна фаза наступає тоді, коли число клітин перестає збільшуватися. Швидкість росту залежить від концентрації субстрату в середовищі. Перехід від експоненційної фази до стаціонарної відбувається поступово. Швидкість росту може знижуватися не лише через зменшення поживного субстрату, але також через збільшення щільності бактеріальної популяції, зміну парціального

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

тиску O_2 або накопичення продуктів метаболізму. Всі ці фактори викликають перехід до стаціонарної фази. Настає рівновага, коли кількість клітин (біомаси) не збільшується і не зменшується, тому що кількість клітин, які відмирають, дорівнює кількості клітин, які утворилися в результаті розмноження.

З часом кількість відмерлих клітин починає домінувати над тими, що утворюються і крива росту мікробної популяції опускається вниз. Настає *фаза відмирання*, яка супроводжується лізисом мікробних клітин. Кількість життєздатних клітин може знижуватися експоненційно. Інколи клітини лізуються під дією власних ферментів (*автоліз*). Такий стан бактеріальної популяції зумовлюється зміною фізико-хімічних властивостей поживного середовища та іншими несприятливими чинниками.

Розвиток культур мікроорганізмів прийнято характеризувати деякими кількісними показниками, які використовуються на практиці. До таких показників відносять: величину (розмір) мікробної популяції; швидкість росту; час генерації та економічний коефіцієнт.

Величина (*розмір*) мікробної популяції визначається її чисельністю або сумарною масою її особин, тобто розмір мікробної популяції можна подати як кількість клітин (або їх масу) у певному об'ємі культуральної рідини. При цьому мікробна популяція характеризується маленькою масою окремих особин (клітин) і великою їх кількістю в одиниці об'єму.

Валова швидкість росту — це збільшення кількості біомаси за одиницю часу:

$$V = \frac{dx}{dt}, мг / год. \tag{1}$$

Але це величина абсолютна, вона вказує лише на зміни загальної кількості біомаси в даних конкретних умовах і не може бути використана для порівняння виробництв різного масштабу та оцінки ефективності даного мікроорганізму. Більш реальне уявлення про ці характеристики дає *питома швидкість росту*, яка визначається як відношення валової швидкості росту до початкової біомаси:

$$\mu = \frac{v}{X} = \frac{dx}{dt \cdot X}; год^{-1} \tag{2}$$

Після інтегрування рівняння (**2**):

$$\ln X - \ln X_0 = \mu \cdot (t - t_0), \tag{3}$$

а після переводу в десятковий логарифм:

$$\lg X - \lg X_0 = \frac{\mu}{2{,}303} \cdot (t - t_0), \tag{4}$$

де X та X_0 — кількість клітин (або будь-якого компонента клітини) у момент часу t і t_0 відповідно.

Знаючи X_0 та визначивши X, можна визначити μ мікробної популяції, виходячи з рівняння (**4**). Наприклад, якщо в момент t_0 популяція мала 10^4, а через 4 год (момент t) — 10^8 клітин, тоді:

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Серійчук І.І., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

$$\mu = \frac{2{,}303 \cdot (\lg X - \lg X_0)}{t - t_0} = \frac{2{,}303 \cdot 4}{4} = 2{,}303\,год^{-1} \quad (5)$$

З рівняння (**3**) видно, що μ $(t - t_0)$ — це показник ступеня натурального логарифма, бо цей вираз одержують при логарифмуванні рівняння:

$$e^{\mu(t-t_0)} = \frac{X}{X_0}, \quad (6)$$

де e — основа натурального логарифма.

Виходячи з рівняння (**6**), можна визначити кількість біомаси в будь-який період росту:

$$X = X_0 \cdot e^{\mu(t-t_0)} \quad (7)$$

Кількість біомаси, яка накопичується в стаціонарній фазі, називають *виходом* або *врожаєм* (рис. 3.10). Він залежить від природи та кількості поживних речовин, які використовуються, а також умов культивування.

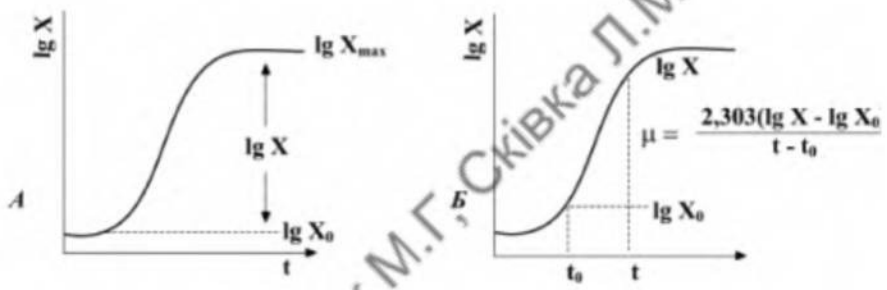


Рис. 3.10. Параметри росту: А — врожай клітин, Б — швидкість росту

Час генерації — це час подвоєння кількості клітин (або компонентів мікробної клітини). Цей параметр можна визначити з рівняння (3). При цьому виходять із того, що $t - t_0 = g$, тоді $X = 2X_0$. В таких умовах рівняння (3) матиме наступний вигляд:

$$\ln 2X_0 - \ln X_0 = \mu g$$

$$\ln 2 = \mu g$$

$$g = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0{,}693}{2{,}303} = 0{,}3\,год^{-1}$$

Швидкість розмноження (коефіцієнт розмноження) — це число поділів за одиницю часу:

$$v = \frac{n}{t - t_0}\ год^{-1} \quad (8)$$

Тривалість кожної генерації можна виразити як:

$$g = \frac{t - t_0}{n} = \frac{1}{v}, год \quad (9)$$

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Наведених кількісних показників, пов'язаних лише з ростом культур, недостатньо для повної характеристики мікробіологічного процесу. Необхідно враховувати також зміни, які відбуваються в середовищі в результаті життєдіяльності клітин, а саме зменшення концентрації поживних речовин та накопичення продуктів метаболізму.

Між питомою швидкістю росту і швидкістю асиміляції субстрату існує певна залежність:

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S}, \tag{10}$$

де μ_{max} — максимальна швидкість росту культури (константа росту), поріг, до якого прагне швидкість росту в міру підвищення концентрації субстрату, який асимілюється; S — концентрація субстрату, який асимілюється; K_s — константа насичення, що дорівнює концентрації поживного субстрату, при якій швидкість росту досягає половини граничної, тобто:

$$\mu = \frac{\mu_{max}}{2} \tag{11}$$

Одним із факторів, який визначає швидкість росту культури, є накопичення продуктів метаболізму. Існує залежність між утворенням продуктів метаболізму і питомою швидкістю росту культури:

$$\mu = \frac{\mu_0 \cdot K_p}{K_p + P}, \tag{12}$$

де μ_0 — питома швидкість росту культури в даному середовищі за повної відсутності продуктів метаболізму; P — фактична концентрація продуктів метаболізму; K_p — константа, що дорівнює концентрації продуктів обміну, при якій швидкість росту знижується вдвічі, тобто при.

Важливим показником розвитку культури мікроорганізмів є економічний коефіцієнт, котрий визначається як відношення приросту біомаси (врожаю, X) до кількості витраченого субстрату (S),— вихід біомаси з одиниці субстрату:

$$Y_{x/s} = \frac{X}{S}$$

Якщо врожай (у грамах) відносять до кількості молів асимільованого субстрату, то економічний коефіцієнт, який називається в даному випадку молярним економічним коефіцієнтом, позначають через Y_m. Наприклад, $Y_{АТФ}$ — це енергетичний коефіцієнт, який подається в грамах клітинної маси, отриманої при витраті 1 моля АТФ.

Наведена на рис. 3.8 крива росту мікробної популяції ідеалізована. У комплексному середовищі бактеріальні клітини часто використовують субстрати в певній послідовності. Наявність певних субстратів може супроводжуватися репресією синтезу ферментів, які беруть участь у метаболізмі інших поживних речовин. У цьому випадку ферменти, що каталізують метаболізм деяких речовин, починають діяти лише після того, як концентрація субстратів, які репресують

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сейлунум М.І., Сківка Л.М., Сейлунук Т.М. та ін

їхній синтез, зменшиться в результаті асиміляції клітинами. Регуляція фізіології бактерій супроводжується зміною кривої росту і появою однієї або декількох перехідних стаціонарних фаз. Таку відповідь культури на зміни в складі середовища називають діауксією. Класичним прикладом діауксії може бути ріст *Escherichia coli* на середовищі, яке містить глюкозу і лактозу (рис. 3.11). Спочатку відбувається ріст культури за рахунок використання глюкози. Після засвоєння цього субстрату крива росту різко змінює свій нахил, а кількість клітин може зменшитися. Потім знову настає lag-фаза, під час якої відбувається індукування нової ферментної системи, що буде каталізувати асиміляцію лактози, і накопичення біомаси продовжиться.

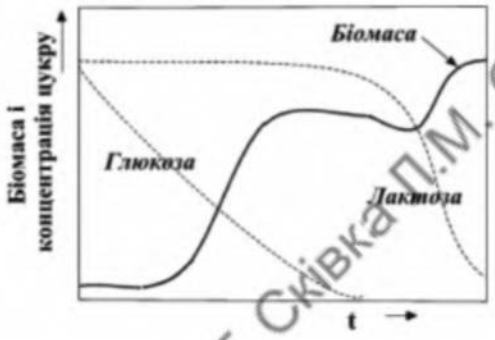


Рис. 3.11. Ідеалізована діауксія росту бактерій у періодичний системі культивування в середовищі, яке містить два субстрати (глюкоза і лактоза)

У процесі періодичного культивування виникають певні проблеми, пов'язані зі зміною морфології та фізіології культури, концентрації поживних речовин і продуктів метаболізму. Вплив цих факторів супроводжується зміною швидкості розвитку мікробної популяції, що завершується припиненням процесу культивування.

3.3. Безперервне культивування мікроорганізмів

Вказаних змін, які мають місце при періодичному культивуванні, можна уникнути, використовуючи метод безперервного культивування. При цьому в культиватор (ферментер) певними порціями надходить стерильне повноцінне поживне середовище, а з нього з певною швидкістю відбирається культуральна рідина (середовище з мікробними клітинами та продуктами їх метаболізму). Тим самим для культури створюється можливість тривалий час перебувати у фазі експоненційного росту при постійній концентрації субстрату і незмінних інших умовах.

Для безперервного культивування характерна постійна подача свіжих поживних компонентів із швидкістю, що дорівнює швидкості видалення культу-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сєвєрінов І.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ральної рідини. Якщо культура добре перемішується, то проби, які відбираються з будь-якої частини ферментера, будуть однакові за біомасою і концентрацією субстрату.

При безперервному культивуванні теоретично бактерії ростуть експоненційно, а тому об'єм культури з часом не змінюється. Такий принцип покладений в основу безперервного культивування в хемостатах і турбідостатах.

Хемостат (рис. 3.12) має культиватор (ферментер), в який із спеціального резервуара з постійною швидкістю надходить поживне середовище. Завдяки аерації та постійному перемішуванню в культиваторі створюються оптимальні умови для забезпечення киснем і рівномірного розподілу поживних речовин, що надходять з новими порціями розчину. В міру надходження в культиватор поживного розчину з нього витікає культуральна рідина, що можна забезпечити системою подвійного насоса (для введення свіжого середовища і вилучення культуральної рідини).

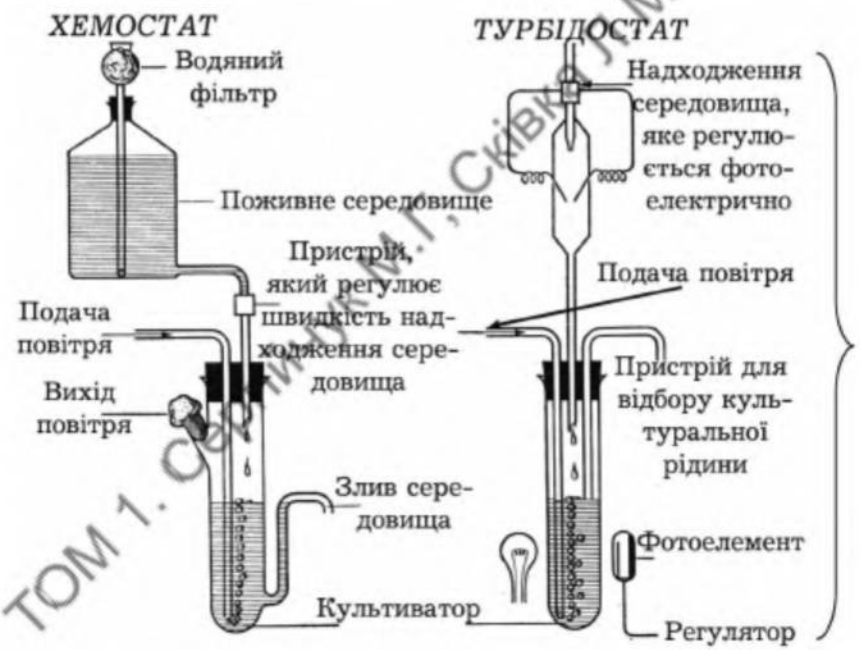


Рис. 3.12. Безперервне культивування в хемостаті та турбідостаті

Подвійний насос і система регулювання рівня та стану середовища забезпечують практично постійні умови для розвитку культури.

Ріст бактеріальної культури в хемостаті контролюється концентрацією субстрату. На такому обмеженні швидкості росту концентрацією одного з необхідних субстратів (джерело Нітрогену, Сульфуру чи Фосфору, донор Гідрогену) базується стабільність системи.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сєчинський М.І., Сківка Л.М., Сєчинський Т.М. та ін

Безперервному культивуванню завжди передує періодичне культивування, в процесі якого за рахунок надлишку субстрату накопичується біомаса. Безперервне культивування необхідно розпочинати в той момент, коли в періодичному режимі культура досягає експоненційної фази. Це забезпечує зменшення коливань, спричинених подачею середовища, і виключається вимивання культури, пов'язане з наявністю lag-фази.

Ріст культури у ферментері відбувається за експоненційним законом. Швидкість приросту біомаси визначається рівнянням: $X = dx/dt$, тобто щільність бактеріальної суспензії росте експоненційно: $X = X_0 \cdot e^{\mu t}$.

Швидкість зміни щільності бактеріальної суспензії визначається як:

$$\frac{dx}{dt} = (\mu - D) \cdot X,$$

де D — швидкість розбавлення культури, год$^{-1}$: $D = F/V$, де F — швидкість протікання середовища, мл/хв; V — об'єм культиватора.

Якщо $\mu = D$, то втрати внаслідок вимивання клітин і приріст біомаси врівноважують одне одного, тобто зміни дорівнюють нулю, а щільність бактеріальної суспензії X залишається постійною. Культура при цьому перебуває в стані «динамічної рівноваги». Експоненційне збільшення кількості клітин компенсується експоненційним його зменшенням.

Стабільність динамічної рівноваги культури в хемостаті базується на обмеженні швидкості росту кількістю субстрату. Хемостат є саморегулюючою, простою в роботі системою. Якщо швидкість протікання середовища протягом тривалого часу залишається постійною, то регуляція роботи хемостату здійснюється автоматично.

Турбідостат (рис. 3.12) — це найпростіша з усіх систем безперервного культивування. Принцип роботи турбідостату базується на підтриманні постійної щільності бактеріальної суспензії, або постійної мутності. На відміну від хемостату концентрацію біомаси в турбідостаті обирає оператор, а швидкість розведення і, відповідно, концентрація субстратів підтримується таким чином, щоб зберігався заданий рівень біомаси. Звідси випливає, що за відсутності потреби в лімітуванні кількості субстрату він додається з надлишком. Тому робота системи найбільш стабільна при питомій швидкості росту культури, близькій до максимальної μ_{max}. Щільність біомаси контролюється фотоелементом, з'єднаним з реле, що регулює подачу середовища. Якщо щільність біомаси досягає заданого рівня, спрацьовує реле, в культиватор надходить свіжа порція поживного середовища, що супроводжується зменшенням концентрації клітин до певного рівня, і автоматично відключається подача середовища.

Термін «турбідостат» належить до будь-якого методу, в якому щільність клітин підтримується на одному рівні. Він об'єднує методи, засновані на змінах метаболізму, які вимірюються за допомогою «pH-стату» чи «CO_2-стату». Оскільки

БІОЛОГІЯ: ГОМ І Сергійчук М.Г. Сивка Л.М. Сергійчук Т.М. та ін

основні метаболічні функції (поглинання кисню, виділення CO_2, зміни pH та ін.) пов'язані зі швидкістю росту клітин і в кінцевому результаті — з питомою швидкістю росту культури, їх можна використовувати як показникові перемінні при регулюванні потоку середовища.

3.4. Розвиток мікробної біоплівки

Біоплівка — це сукупність мікроорганізмів і продуктів їх метаболізму, які розміщуються на твердій поверхні у водному середовищі. Біоплівки формуються на поверхні каменів, часточках ґрунту, листках і коренях рослин, епітелії кишковика і слизових оболонках тварин, стінках водогінних труб, внутрішній поверхні промислового обладнання тощо. Активність біоплівок надзвичайно висока, бо на 1 $см^2$ їх поверхні сконцентровано принаймні у 200 разів більше мікроорганізмів, ніж в 1 $см^3$ рідини, що їх омиває.

Процес формування біоплівки поділяють на п'ять фаз (рис. 3.13).

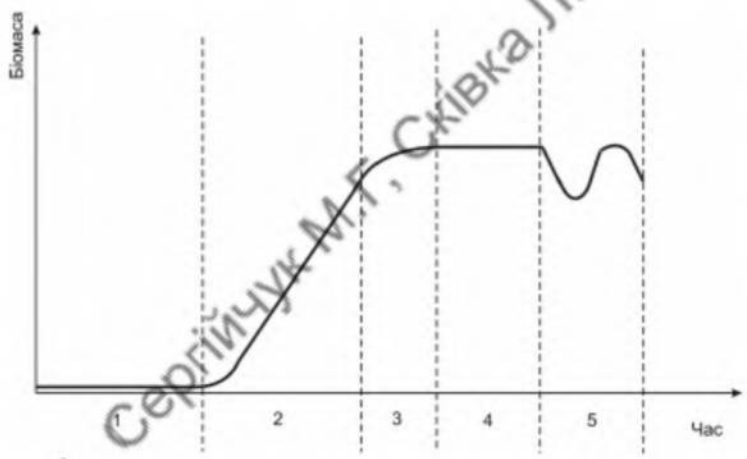


Рис. 3.13. Крива розвитку мікробної біоплівки: 1 — лаг-фаза; 2–4 — фази відповідно експоненційного (log), сповільненого, стаціонарного росту; 5 — фаза розпаду

Лаг-фаза триває протягом кількох хвилин або годин. Спочатку на твердій поверхні адсорбуються органічні речовини, що створює сприятливий фон для формування першого шару біоплівки (рис. 3.14).

Ці речовини нейтралізують поверхневий заряд поверхні, який може заважати наближенню до неї бактеріальних клітин. Крім того, органічні сполуки є джерелом живлення мікроорганізмів.

Під час лаг-фази відбувається також і адгезія перших клітин. Поодинокі планктонні клітини осідають на підготовленій поверхні під дією електростатичних і фізичних сил. На цьому етапі не відбувається жоден хімічний процес.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Серійчук М.Г., Сківка Л.М., Серійчук Т.М. та ін

Частина адсорбованих клітин десорбується, тому таку адсорбцію називають зворотною. Решта клітин адсорбується незворотно (рис. 3.15).

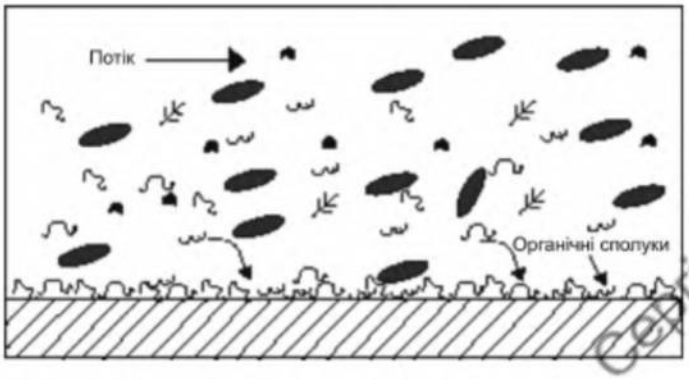


Рис. 3.14. Адсорбція на твердій поверхні органічних речовин, які створюють сприятливий шар для подальшого формування біоплівки

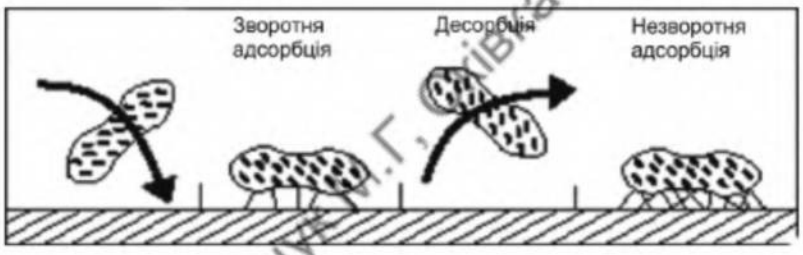


Рис. 3.15. Зворотна та незворотна адсорбція клітин

Бактерії, адсорбовані на поверхні, виділяють клейкий позаклітинний полімер (глікокалікс), який утримує біоплівку компактно і прикріплює її до твердої поверхні (рис. 3.16). Крім того, цей полімер сорбує з води поживні речовини, захищає клітини від дії біоцидів та інших токсичних речовин. Глікокалікс складається із заряджених або нейтральних поліцукридних груп і функціонує як іонообмінна система.

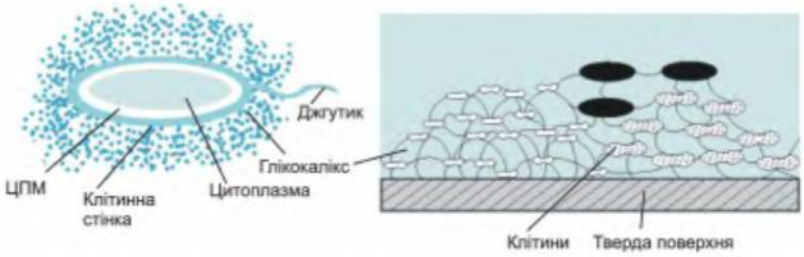


Рис. 3.16. Клітини біоплівки, які утворюють глікокалікс

Фаза експоненційного росту. Розмноження адсорбованих клітин і синтез ними глікокаліксу значно збільшує товщину іонообмінного шару. Згодом бактерії утворюють пишну колонію. У зрілій біоплівці на глікокаліксовий матрикс припадає 75–95 % об'єму, а на клітини — лише 5–25 %. Інтенсивне розмноження адгезованих клітин супроводжується вторинною колонізацією. Крім поживних речовин, на глікокаліксі внаслідок фізичного утримання та електростатичної взаємодії адсорбуються й інші типи мікробних клітин. Ці вторинні колонізатори ростуть за рахунок метаболітів первинних колонізаторів й, у свою чергу, виділяють метаболіти, які утилізуються іншими клітинами.

Фази сповільненого та стаціонарного росту характеризуються утворенням (визріванням) повністю сформованої біоплівки і залежно від умов довкілля можуть тривати від кількох годин до кількох тижнів. Зріла біоплівка нагадує живу тканину на твердій поверхні. Це складне угруповання багатьох видів мікроорганізмів, пов'язаних метаболічними зв'язками, які мешкають в обмеженій мікроніші. Шар анаеробних бактерій розвивається під шаром аеробних (рис. 3.17).

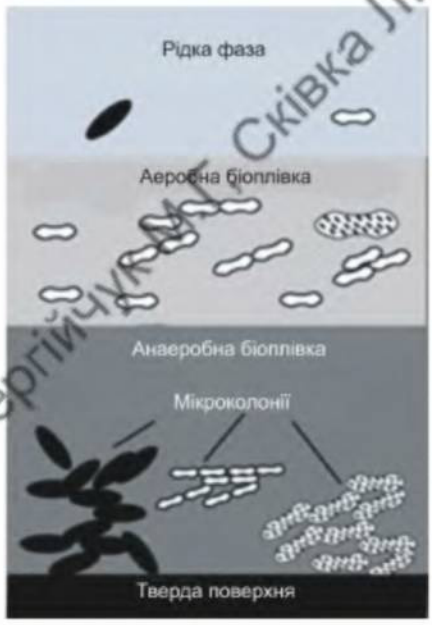


Рис. 3.17. Схематична будова біоплівки. Коли плівка досягне певної товщини, від неї почнуть відриватися окремі клітини

Ось як описано взаємодію мікроорганізмів у біоплівці в науково-популярній статті Коглана «Слизове місто»: « Різноманітні види живуть пліч-о-пліч у слизових містах і завдяки сусідським стосункам допомагають один одному споживати запаси їжі і протистояти антибіотикам. Токсичні відходи, що продукує один вид, жадібно пожираються його сусідом. Об'єднавши свої біохімічні мож-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ливості у будівництві загального слизового міста, кілька видів бактерій, кожен з яких озброєний своїми особливими ферментами, можуть разом споживати харчі, недоступні для кожного окремого виду… Біоплівка пронизана на всіх рівнях сіткою каналів, через які вода, бактеріальні відходи, поживні речовини, ферменти, метаболіти та кисень пересуваються туди і сюди. Градієнт концентрації хімічних сполук та іонів між мікрозонами створює силу, яка переміщує речовини в середині біоплівки».

Здебільшого основою *структури біоплівки* є шар щільного непрозорого слизу завширшки 5–10 мкм. Це клейка суміш поліцукридів, інших полімерних речовин і води, які виділяються бактеріями. Над ним вгору на висоту 100–200 мкм підіймаються колонії бактерій у формі грибів або конусів. Вище розміщений шар слизу водянистої структури і несталої консистенції. Саме він пронизаний мережею каналів, якими пересуваються вода, бактеріальні відходи, поживні речовини, ферменти, метаболіти та кисень. Частина клітин відривається від біоплівки (рис. 3.18).

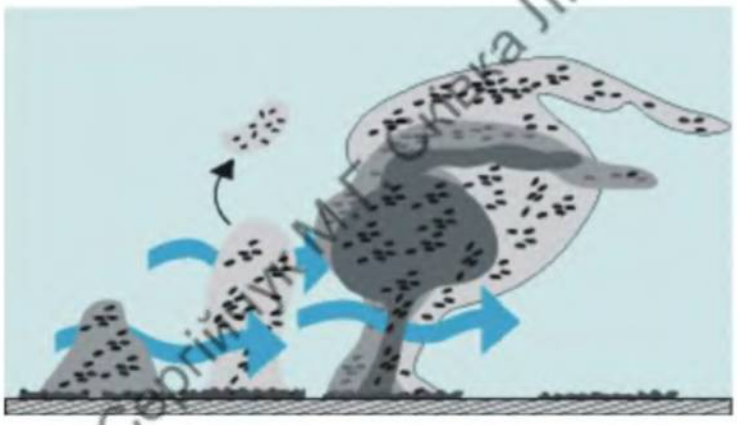


Рис. 3.18. Структура біоплівки, сформованої на твердій поверхні

Фаза розпаду. Біоплівка може поширюватись як внаслідок поділу власних клітин, так і завдяки колонізації інших поверхонь клітинами, що відірвалися від неї. Коли товщина біоплівки зростає настільки, що виходить за межі подвійного шару в зону зі швидким турбулентним потоком рідини, деякі клітини від неї можуть відлущуватись, що призводить до часткового зменшення її товщини. Клітини, які відірвалися, потрапляють у сприятливіші умови для формування нової біоплівки, ніж їх попередники. Це пов'язано з тим, що «материнська» біоплівка виділяє метаболіти, які прискорюють утворення на твердій поверхні органічного шару. Лаг-фаза нової біоплівки буде коротшою.

Швидкість формування біоплівки залежить від багатьох чинників. Адсорбція краще відбувається на зубчастій, гідрофобній поверхні, вкритій органічною плівкою. Збільшення швидкості потоку, збільшення температури, концентрації

БІОЛОГІЯ том 1. Сорвіміук М.Г., Сивка Л.М., Сорвіміук Т.М. та ін

поживних речовин до певної межі прискорює прикріплення клітин. Властивості клітинних стінок, наявність виростів, джгутиків, поверхнево-асоційованих полімерів і білків також важливі для адгезії, вони можуть забезпечувати перевагу певних організмів у конкуренції за екологічну нішу.

Резистентність біоплівки. Біоплівки стійкіші до дії дезинфектантів, ніж планктонні клітини. Показано, що бактерії, іммобілізовані у біоплівках, у 150–3000 разів резистентніші до хлору і в 2–100 разів — до монохлораміну. Перед безпосереднім контактом із клітиною, дезінфектант реагує з навколишніми поліцукридами. Це вливає на його бактерицидні властивості, зокрема: а) контакт із полісахаридами ослаблює окисні властивості дезінфектанту, й отже, в разі біоплівки його треба використовувати у більших концентраціях, ніж для інактивації планктонної клітини; б) час дифузії дезінфектанта крізь слиз до клітини збільшує необхідний час експозиції.

Хоча за генотипом клітини біоплівки такі ж, як і планктонні, їх фенотип, а саме біохімічні властивості, зовсім інші. Так, білки клітинної стінки вільноплаваючих та іммобілізованих клітин різняться на 30–40 %. Серед цих білків є «мішені» для антибіотиків, тому клітини в біоплівках можуть бути нечутливими до них.

Обмін інформацією між бактеріями у межах біоплівки. Бактерії, як і інші живі організми, в процесі життєдіяльності отримують, обробляють і використовують інформацію про навколишнє середовище. Обмін інформації називають *комунікацією*. Відомо три способи отримання інформації мікроорганізмами:

1) хімічний (за участю хімічних сполук);

2) контактний;

3) дистанційна взаємодія, опосередкована фізичними полями. Фізичним носієм дистанційної взаємодії можуть бути ультрафіолетові промені, звукові коливання, електромагнітні хвилі видимого й інфрачервоного діапазонів. Для дистанційних комунікацій характерне явище синергізму (посилення ефекту) з хімічними комунікаціями.

Біологічна комунікація має важливе значення для регулювання перехідних процесів чи критичних станів клітини (наприклад, при потраплянні клітини у нові умови існування, приєднанні бактерій до поверхні, контакті з токсичними речовинами, надходженні в неї поживних речовин). Обмін інформацією характерний для мікроорганізмів біоплівки. Це дає змогу уникати стресових ситуацій, протистояти дії токсичних та антимікробних речовин, раціонально використовувати поживні речовини, звільнятись від продуктів метаболізму. В умовах біоплівки клітини, які знаходяться в периферійній зоні, передають інформацію про зміну стану довкілля клітинам, що утворюють глибші її шари.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скіпка І.І., Сергійчук Т.М. та ін

Питання для самоконтролю

1. Опишіть мономорфний, диморфний та поліморфний клітинні цикли.
2. Опишіть ріст мікробної популяції в періодичній системі культивування.
3. Як визначити валову швидкість росту, питому швидкість росту, час генерації, швидкість розмноження, економічний коефіцієнт у періодичній системі?
4. Як забезпечити безперервне культивування мікробної популяції?
5. Чим відрізняється планктонна модель росту від біоплівкової?
6. Які чинники сприяють прикріпленню мікроорганізмів до поверхні?
7. Які фази росту має популяція мікроорганізмів у біоплівці?
8. Поясніть, чому мікроорганізми біоплівки більш стійкі до дії антимікробних агентів, ніж планктонні.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 4.
ГЕНЕТИКА БАКТЕРІЙ

4.1. Організація генетичного матеріалу прокаріотів

Ген (від грец. *genos* — рід, походження) — це ділянка молекули ДНК (у деяких вірусів — РНК), яка кодує первинну структуру поліпептиду, молекули тРНК чи рРНК, або така, що взаємодіє з регуляторним білком. Так, ген *Escherichia coli* складається з кодуючої та регуляторної частин.

Кодуюча частина — це послідовність кількох одиниць транскрипції, що кодують поліпептид, тРНК чи рРНК. *Регуляторна частина*, або промотор (від лат. *pro-* та *motor* — той, що призводить до руху) визначає початок та кінець зчитування інформації при транскрипції. Вона розташована на 5'-кінці прокаріотичного гена. Протилежний 3'-кінець називають термінатором. Ділянки промотора і термінатора не несуть генетичної інформації, а зчитування останньої починається з першого триплету («точка +1»).

Гени, які кодують поліпептиди та РНК, називають структурними генами. Структурний ген становить собою безперервну послідовність кодонів, розташованих один за одним, а реплікована з нього мРНК завжди моноцистронна (цитрон, від лат. *cis* — по цей бік та *trans* — через, за межами,— нуклеотидна послідовність, яка кодує один поліпептидний ланцюг).

Структурні гени поділяють на незалежні гени, транскрипційні одиниці (транскриптони) і оперони.

Незалежні гени — це гени, транскрипція яких відбувається без участі механізмів регуляції транскрипційної активності. Їм властива конститутивна (від лат. *constituo* — розташовувати, формувати) форма експресії.

Спейсерна ДНК розташована між сусідніми генами (так званий спейсер — від англ. *spacer* — роздільник) та становить собою короткі послідовності ДНК, що можуть містити дані про регуляцію та ініціацію транскрипції або ж взагалі неінформативні.

Транскрипційні одиниці (*транскриптони*) — становлять собою ряд послідовно розташованих генів, які сумісно транскрибуються. Зазвичай це гени білків або нуклеїнових кислот, функціонально пов'язаних між собою. Наприклад, в *E. coli* виявлені транскрипційні одиниці, до яких входять гени різних рРНК та тРНК. Для цього класу генів молекула мРНК поліцистронна, тобто становить собою транскрипт групи генів. Приблизно ¾ транскрипційних одиниць *E. coli* містять один ген, решта реалізує специфічний для бактерій оперонний принцип організації генетичного матеріалу.

Оперон (від лат. *operor* — працюю, дію) — група структурних генів, які знаходяться під контролем певної ділянки ДНК — *оператора*. У межах оперону згруповані гени, які відповідають за синтез білків, залучених до одного ланцюга біохімічних перетворень (ферменти синтезу або деградації певної сполуки)

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Скіпка П.М., Сергійчук Т.М. та ін.

та регуляторні ділянки, за рахунок яких здійснюється регуляція транскрипції оперона як цілого.

Прикладом може слугувати *lac*-оперон, який складається з трьох структурних генів та регуляторної ділянки ДНК, яка складається з промотора та оператора.

Сукупність послідовностей ДНК у гаплоїдному наборі даного організму називають *геномом*. На сьогодні вченими повністю розшифровані послідовності геномів близько 400 прокаріотичних та 40 еукаріотичних видів. Головна відмінність між ними полягає у тому, що у прокаріотичних геномах кодуючі послідовності складають до 95 %, а у геномах еукаріотів — не більше ніж 3 %.

В геномах прокаріотів кількість некодуючих послідовностей мінімальна. Наприклад, геном *Escherichia coli* становить собою єдину циркулярну (кільцеву) молекулу ДНК (т. зв. «бактеріальна хромосома») завдовжки 4,6 Мб (метабаз, від грец. *megalu* — великий та *basis* — основа; мільйон пар основ). Близько 90 % цієї ДНК припадає на кодуючі послідовності ~4100 білкових генів та ~120 генів РНК. Середній розмір гена складає 950 пар основ, середня довжина міжгенної ділянки — 118 пар основ. Міжгенні зони мають різну довжину — від 0 до 1730 пар основ. У бактерій родів *Streptomyces і Borrelia* виявили лінійні хромосоми, а у *Burkholderia cepacia* в клітині присутні три кільцеві хромосоми.

Нуклеоїд та внутрішньоклітинна організація бактеріальної хромосоми. Бактеріальні хромосоми (бактеріальна ДНК) відрізняються відносно низьким ступенем конденсації, яка залежить від білків. Вони локалізовані в нуклеоїді.

Нуклеоїд — це місце знаходження ДНК в центральній частині бактеріальної клітини. Нуклеоїд має вигляд чисельних петель, які виходять із єдиного центра. Ці петлі, можливо, становлять собою індивідуальні суперспіралізовані домени хромосоми (рис. 4.1). Нуклеоїди прикріплені до цитоплазматичної мембрани у фіксованих ділянках, наприклад, точки початку (*ori c*) та завершення реплікації (*ter c*). Бактеріальна ДНК не оточена мембраною, однак покрита гістоноподібними білками, зокрема *HU*, *INF*, *H1*, *HLP*, *H*.

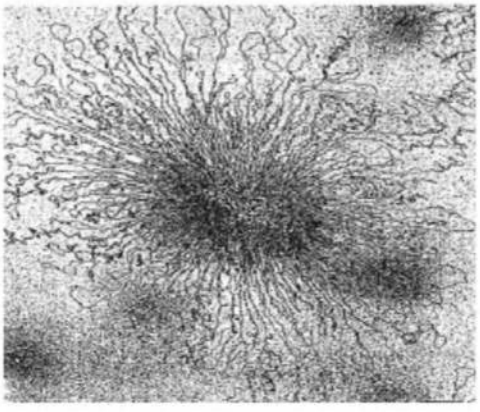


Рис. 4.1. Ізольований нулеоїд *Escherichia coli*

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сегінчин І.І., Скібка Т.М., Сегінчин Т.М. та ін

Ділянка нуклеоїда майже не містить рибосом. Нуклеоїд має порівняно великі розміри, а ДНК в ньому щільно запакована і практично недосяжна для дії ферментів, зокрема ДНК-полімераз.

На сьогодні повністю встановлена послідовність нуклеотидів у хромосомах *Mycoplasma genitalium* (580 пар нуклеотидів, або п.н.) *Mycoplasma pneumoniae* (816 п.н.), *Methanococcus jannaschii* (1670 п.н), *Helicobacter pylori* (1800 п.н.), *Haemophilus influenzae* (1830 п.н.), *Enterococcus faecalis* (3000 п.н.), *Bacillus subtilis* (4200 п.н.), *Escherichia coli* (4.639.221 п.н.) тощо.

Окрім великої кільцевої хромосоми, більшість бактерій містить одну або декілька невеликих кільцевих молекул ДНК, які знаходяться в цитоплазмі клітини. Ці елементи називають *плазмідами* (позахромосомні фактори спадковості). Середній розмір плазміди становить ~3000 пар основ). Вона містить кілька генів і реплікується незалежно від хромосоми. Плазміди несуть генетичну інформацію і реплікуються, а при поділі клітини переходять у дочірні. Інколи вони можуть вбудовуватись в хромосомну ДНК або залишати її. Плазміди широко використовують як об'єкт молекулярно-біологічних досліджень.

4.2. Реплікація

Процес самовідтворення ДНК, або **реплікація** (від лат. *replicatio* — повторення), забезпечує точне копіювання спадкової інформації та її передачу дочірнім клітинам. При реплікації ферментативний синтез ДНК відбувається з використанням обох полінуклеотидних ланцюгів у якості матриць за так званим *напівконсервативним механізмом*: обидві дочірні молекули-копії містять материнський ланцюг-матрицю та ланцюг, синтезований *de novo*. Матриця детермінує включення нуклеотидів до синтезованого ланцюга за принципом комплементарності.

Субстратами реакції слугують 3'-кінцева *OH*-група дезоксирибози зростаючого ланцюга та дезоксирибонуклеозидтрифосфати (*dNTP*), а її ферментом — ДНК-залежна ДНК-полімераза.

Реплікон — це одиниця протяжності ДНК, що самовідтворюється за один окремий акт реплікації. Геном прокаріотичної клітини, як правило, становить собою один реплікон. Реплікація ДНК розпочинається з невеликої ділянки — реплікатора (англ. *replication origin*, або *oriC*), або точки ініціації — *ориджина* (англ. транскрипція лат. *origo* — початок), де починається розходження ланцюгів ДНК. У *E. coli* довжина *oriC* складає 258 н.п. та містить п'ять консенсусних дев'ятинуклеотидних сайтів зв'язування ініціаторного білка *Dna A*. Під час розходження гілок ДНК виникає *реплікативний міхур* (рис. 4.2). При основі обох ланцюгів міхура формується так звана ***реплікативна виделка***. У кожній виделці дві молекули ДНК-полімерази здійснюють синтез двох полінуклеотидних ланцюгів. Оскільки ці ланцюги антипаралельні, а синтез відбувається тільки у напрямі від 5'- до 3'- кінців, утворення одного з ланцюгів відбувається

БІОЛОГІЯ. Том 1. Серійний, Скібка Л.М., Сеніщук Т.М. та ін

безперервно та розпочинається від ориджину (рис. 4.2). Цей ланцюг називають лідируючим, його 3'-кінець знаходиться поблизу основи реплікативної виделки. Синтез окремих фрагментів (від лат. *fragmentum* — уламок) відстаючого ланцюга (так звані **фрагменти Оказакі**, або *Okazaki fragments*), розпочинається від реплікативної виделки; об'єднання цих частин здійснюється лише згодом.

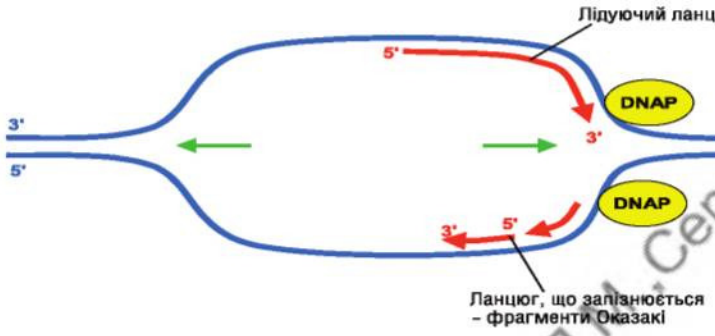


Рис. 4.2. Реплікативний міхур

Довжина фрагмента Оказакі у бактерій дорівнює 1000–2000 нуклеотидам; середня швидкість реплікації на одну реплікативну виделку становить ~750 нуклеотидів за секунду, а синтез хромосоми відбувається за ~50 хвилин.

Бактеріальна хромосома реплікується у двох напрямках з утворенням пари ідентичних циркулярних молекул ДНК (рис. 4.3), тобто має місце двонаправлена *θ-реплікація*. Аналогічно самовідтворюються окремі автономні реплікони — циркулярні плазміди.

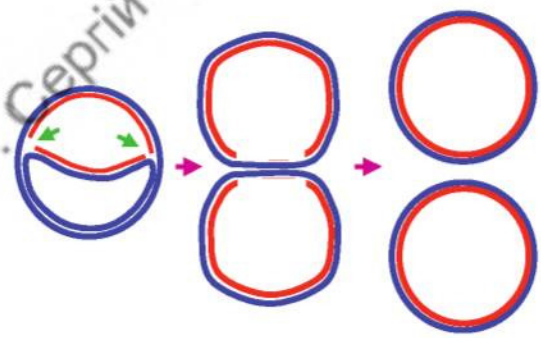


Рис. 4.3. Реплікація бактеріальної хромосоми

Білки і ферменти, які беруть участь в реплікації ДНК.

ДНК-полімерази. У клітинах *E. coli* знайдені ДНК-полімерази трьох типів. Усі вони мають дві ферментативні активності: власне *полімеразну*, за рахунок якої до 3'-кінця синтезованого ланцюга приєднуються нуклеотиди, та *3'-екзонуклеазну*, яка зумовлює відщеплення щойно приєднаних невластивих нуклеотидів.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ДНК-полімераза I (або *полімераза Корнберга*) — мономерний мультидоменний білок. Вона має ДНК-полімеразну активність, а також здійснює гідроліз фосфодиефірного зв'язку з 3'-кінця ланцюга (3'-5'-екзонуклеаза), та 5'-кінця ланцюга (так звана «додаткова» 5'-3'- екзонуклеаза), тобто руйнування праймера, необхідного для синтезу фрагментів Оказакі.

ДНК-полімераза II впливає на певні репараційні процеси.

ДНК-полімераза III — основний реплікативний фермент, дві копії якого задіяні у реплікативній виделці. Складається з десяти типів субодиниць (α, β, γ, δ, δ', ε, θ, τ, χ, ψ). Репарацію здійснює повна форма ферменту — холофермент, який містить всі субодиниці. Холофермент не має 5'-3'- екзонуклеазної активності, тому для реплікації відстаючого ланцюга необхідна участь ДНК-полімерази I. Полімеразну реакцію здійснює каталітичний кор, який складається з трьох субодиниць: α-, ε-, θ, з яких α відповідає за полімеразну активність, ε — за 3'-екзонуклеазну, θ — виконує структурну роль.

Геліказа та SSB білки. Розплетення подвійної спіралі (утворення реплікативної виделки) здійснюють ДНК-гелікази. Основною реплікативною геліказою бактерій слугує геліказа *Dna B* — кільцевий комплекс із шести однакових субодиниць (рис. 4.4) у складі реплісоми.

У каналі всередині кільця розміщується один полінуклеотидний ланцюг, вздовж якого відбувається транслокація гексамера у напрямку 5'-3', тобто руйнування подвійної спіралі. Одноланцюгова ДНК, що виникає в реплікативній виделці внаслідок активності гелікази, тимчасово стабілізується під дією споріднених до неї білків SSB (*Single Strand Binding proteins*) (рис. 4.5). Вони кооперативно (від лат. *cooperatio* — співробітництво) зв'язуються з полінуклеотидним ланцюгом, взаємодіючи не тільки з ДНК, а й між собою. Внаслідок ланцюг вкривається білками.

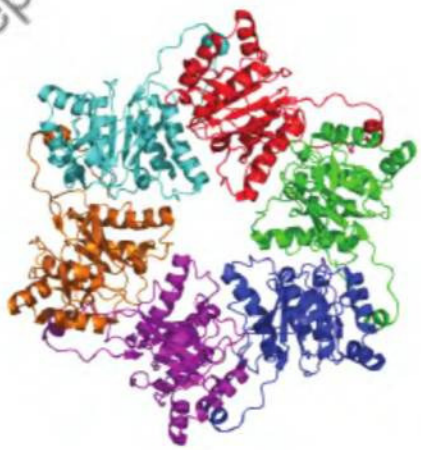


Рис. 4.4. Структура реплікативної гелікази

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Т., Скібка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

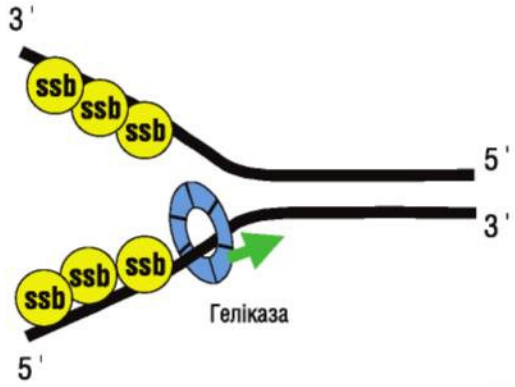


Рис. 4.5. Реплікативна виделка

Праймаза та лігаза. Лідируючий ланцюг за ініціації реплікації, а також кожен із фрагментів Оказакі під час реплікації, завжди розпочинаються РНК–праймером. Його синтез в *E. coli* здійснює *праймаза* (білок *DnaG*). Вона приєднана до основи реплікативної вилки геліказою (їх комплекс називають *праймосомою)*; активність праймази стимулюють геліказа та *SSB* білки. Розпочинаючи від основи реплікативної виделки, праймаза синтезує праймер — фрагмент РНК завдовжки ~12 нуклеотидів (рис. 4.6). Після цього ДНК-полімераза III, подовжуючи 3'-кінець праймера, починає синтезувати решту фрагмента Оказакі, а праймаза (та сама чи інша молекула) зв'язується з геліказою і розпочинає синтез наступного праймера.

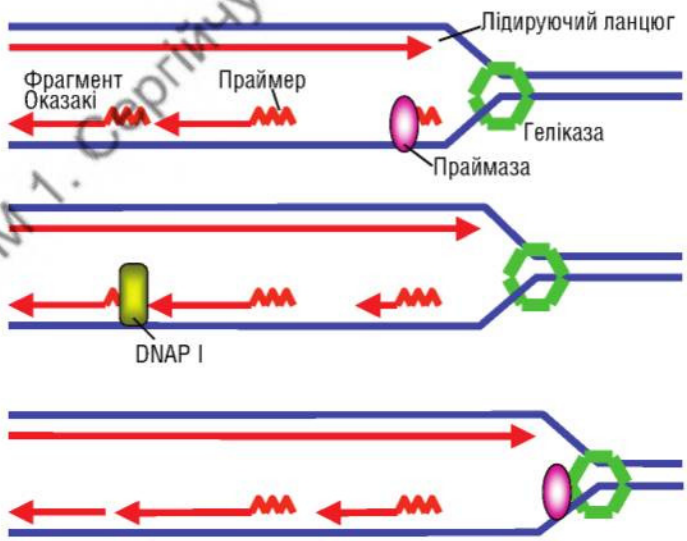


Рис. 4.6. Робота праймази та ДНК–полімерази I під час руху реплікативної виделки

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сивак Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

На відміну від ДНК-полімерази, праймаза може з однаковим успіхом включати до праймера як дезоксирибо-, так і рибонуклеотиди. РНК-праймер на початку кожного фрагмента Оказакі має бути замінений на відповідну послідовність ДНК. Цю функцію виконує *ДНК-полімераза I* (рис. 4.6): за рахунок 5'-екзонуклеазної активності вона видаляє праймер і водночас, використовуючи 3'-кінець попереднього фрагмента Оказакі, подовжує його, заповнюючи прогалину.

Після закінчення останньої операції між двома фрагментами Оказакі залишається одноланцюговий розрив (рис. 4.6, 4.7). Енергоємне утворення фосфодиефірного зв'язку між сусідніми фрагментами Оказакі здійснюється завдяки *ATP*-залежній реакції, яку каталізує лігаза. До активного центра ферменту (рис. 4.7) ковалентно приєднується аміногрупа *Lys*, відбувається перенесення *AMP* з молекули *ATP*. Далі *AMP* приєднується до 5'-кінцевого фосфату в місці розриву. Видалення *AMP* супроводжується утворенням фосфодиефірного зв'язку.

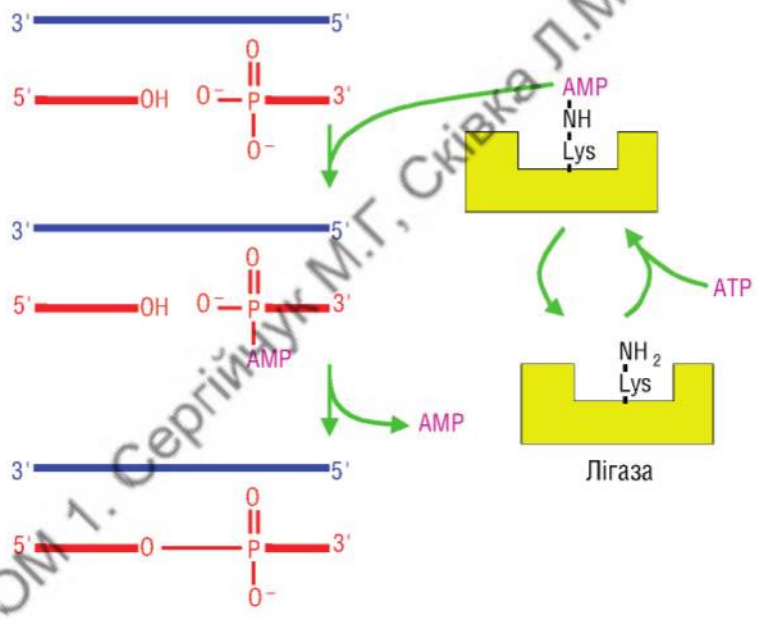


Рис. 4.7. Схема дії лігази

ДНК-топоізомерази — ферменти, які змінюють топологію ДНК. Топоізомерази релаксують суперспіралізовані молекули ДНК, знімаючи їх внутрішню напругу шляхом здійснення одно- (ферменти першого типу: топоізомерази I та III) і дволанцюгових розривів (ферменти другого типу: гіраза, топоізомераза IV) з наступним їх відновленням (лігування). Реплікативна ДНК-гіраза *E. coli* проводить декатенацію двох дочірніх молекул ДНК, яка виникає при термінації реплікації.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Механізм реплікації. Виділяють три основні етапи процесу реплікації: *ініціація, елонгація* і *термінації.* Кожна з них відбувається за участі ферментів та інших білкових факторів.

Ініціація реплікації включає три основні стадії: 1) впізнавання точки початку реплікації; 2) синтез РНК-затравки; 3) зв'язування ДНК-гелікази з матрицею.

Для реплікації за θ-типом діє механізм ініціації *oriC*-типу, характерний для хромосомних, а також більшості плазмідних і фагових ДНК. При цьому декілька субодиниць ініціаторного білка (*DnaA*) в комплексі з *ATP* зв'язуються з повторюючими сайтами впізнавання (*ітеронами*) в точці початку реплікації, утворюючи *початковий комплекс* (рис. 4.8). Встановлено, що цей комплекс має вигляд компактної еліпсоїдної структури, яка містить 20 мономерів *DnaA*, та закриває *oriC*. В ньому частково розплітаються АТ-багаті повтори і формується відкритий комплекс. В процесі беруть участь допоміжні білки *HU, IHF, FIS і H-NS*, що утворюють структурну основу ініціаторного комплексу.

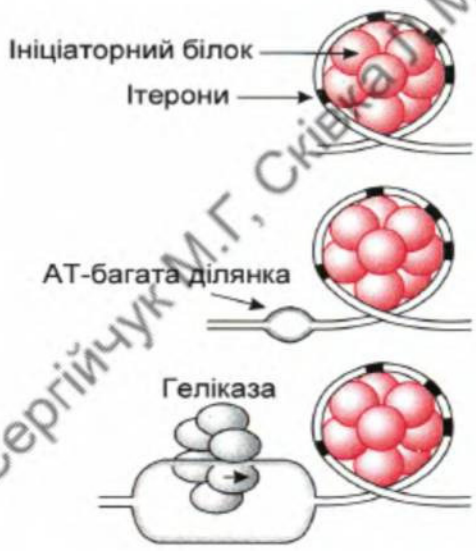


Рис. 4.8. Ініціація в точці початку реплікації

DnaB-геліказа у вигляді гексамера в комплексі з шістьма мономерами *DnaC*, кожен з яких зв'язує одну молекулу *ATP*, а саме $(DnaB\text{-}DnaC\text{-}ATP)_6$, взаємодіє з одноланцюговими ділянками частково розплетеної ДНК. Власне *DnaC* забезпечує взаємодію гелікази і праймази з ДНК, яка знаходиться в комплексі з *SSB*–білками з блокованою геліказною активністю: утворюється *препраймосома I*. Транслокація *DnaB*-гелікази від місця її входження до місця старту реплікативної виделки супроводжується АТР-залежним звільненням із комплексу білка *DnaC*: утворюється *препраймосома II*. Геліказа в комплексі з праймазою відіграє ключову роль в ініціації реплікації на *oriC*. Ці ферменти забезпечують сумісне

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скібіна Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

функціонування двох реплікативних виделок, які рухаються у протилежних напрямках. У сформованому праймуючому комплексі присутність білка *DnaA* зайва, і він може бути повторно використаний для реплікації на іншому *oriC*. Складний комплекс білків, який здійснює ініціацію реплікації, отримав назву *праймосоми.* У *E. coli* молекулярна маса праймосоми становить 106 Да. Праймосома в свою чергу є компонентом більш складного комплексу — **реплісоми,** який здійснює повну реплікацію.

Елонгація реплікації. Дуплекс материнської молекули ДНК розплітає АТР-залежна геліказа. Внаслідок цього утворюються одноланцюгові ділянки, кооперативно покриті *SSB*-білками. *ДНК-полімераза III* рухається вздовж одного із материнських ланцюгів у напрямку розкривання виделки і синтезує лідируючий ланцюг ДНК. Вздовж парного матричного ланцюга в тому ж напрямку рухається праймосома (рис. 4.9).

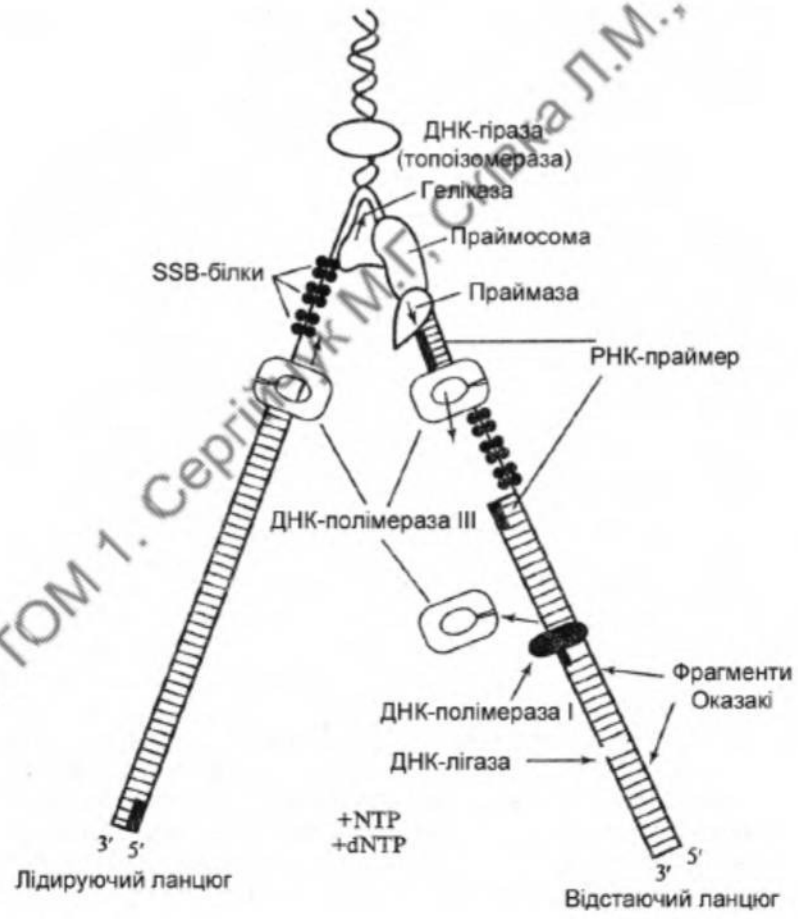


Рис. 4.9. Схема синтезу ДНК в реплікативній виделці у прокаріотів

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Час від часу до складу останньої входить *праймаза DnaG*, яка синтезує РНК-праймери для відстаючого ланцюга. Друга молекула холофермента *ДНК-полімерази III* подовжує їх до рівня попереднього праймера, тобто синтезує фрагменти Оказакі. Видалення сегментів РНК з 5'-кінця кожного фрагмента Оказакі та заповнення прогалин між ними здійснює *ДНК-полімераза I*. Вона низькопроцесивна, неміцно утримується на матричному ланцюгу і досить швидко відокремлюється від останнього після видалення РНК. Після дії вказаного фермента між двома сусідніми фрагментами Оказакі залишається тільки одноланцюговий розрив, який зашиває ДНК-лігаза. Таким чином із серії фрагментів Оказакі утворюється безперервний ланцюг. ДНК-полімераза III може утворювати димер за участю τ-білка, в зв'язку з чим ведучий і відстаючий ланцюги реплікуються одночасно. Подолання антипаралельності ланцюгів при реплікації відбувається за рахунок винекнення «петлі», де чергування фосфодиефірних зв'язків на її ведучому ланцюгу змінюється на зворотнє і не перешкоджає ДНК-полімеразі III проводити синтез фрагментів Оказакі на відстаючому ланцюгу материнської молекули в тому ж напрямку, що й на ведучому.

Термінація реплікації. Термінація (від лат. *terminare* — обмежувати) реплікації відбувається, коли зустрічаються дві реплікаційні виделки при подвоєнні кільцевих молекул ДНК. Безперервний ріст лідируючого і відстаючого ланцюгів вздовж кільцевої матриці призводить до зміщення 3'-гідроксильного і 5'-фосфорильного кінців одного ланцюга, або, при двонаправленій реплікації — зміщень всередині кільця (рис. 4.10).

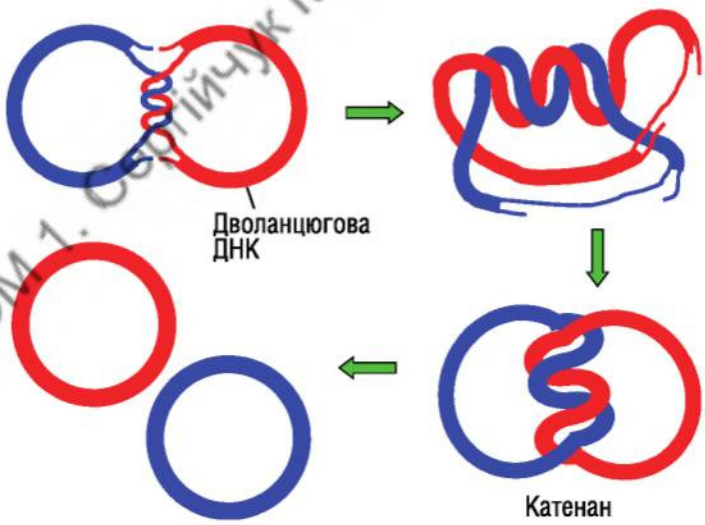


Рис. 4.10. Термінація реплікації

Кільця в місцях зустрічі попарно сполучає ДНК-лігаза, тобто утворюється *катенан* (від лат. *catena* — ланцюг; клас хімічних сполук, які складені із меха-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скківка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

нічно зчеплених кільцевих молекул). Декатенація, або розділення цих молекул, неможлива без дволанцюгового розриву в одній з них. Цю функцію виконує ДНК-гіраза шляхом утворення тимчасового дволанцюгового розриву.

4.3. Транскрипція

Транскрипція (від лат. *transcriptio* — переписування) — біосинтез молекул РНК з використанням одного з ланцюгів ДНК у якості матриці, тобто «переписування» послідовності нуклеотидів. Нарощення ланцюга РНК відбувається у напрямі від 5'- до 3'-кінців. Субстратами реакції слугують 3'-кінцева *OH*-група рибози зростаючого *транскрипта* (синтезованого ланцюга РНК) та *рибонуклеозид-трифосфати* (*rNTP*). Каталізує цю реакцію *ДНК-залежна РНК-полімераза*.

Бактеріальна РНК-полімераза (рис. 4.11) складається з кількох білкових субодиниць та існує, залежно від стадії транскрипції, у двох формах: 1) *кор-фермент* (від лат. *cor* — серце та *fermentum* — бродіння) у складі субодиниць α (дві субодиниці), β, β' та ω (по одній субодиниці); 2) *голофермент* (від грец. *holos* — повний та фермент) — комплекс кор-фермента із субодиницею σ. Кор-фермент має значну неспецифічну спорідненість із ДНК, що зумовлює вплив на різноманітні послідовності нуклеотидів. Наявність субодиниці σ у складі голофермента знижує рівень загальної неспецифічної спорідненості, однак водночас проявляється специфічна спорідненість з певними ділянками — *промоторами* (від лат. *pro-* попереду та *motor* — той, що призводить до руху), з яких розпочинається транскрипція. За рахунок цього голофермент має змогу ефективно перебирати (шляхом зв'язування та швидкої дисоціації) різноманітні ділянки ДНК, здійснюючи пошук промотора, взаємодія з яким є більш міцною. Субодиниця σ, таким чином, відіграє роль *загального фактора ініціації* транскрипції.

Загальна схема транскрипції у бактерій. Транскрипція включає три етапи — ініціацію, елонгацію та термінацію.

Ініціація (від лат. *initium* — початок) транскрипції складається з кількох послідовних стадій:

1. Зв'язування голоферменту з промотором; внаслідок формується закритий комплекс, у якому ДНК зберігає вихідну форму.
2. Локальне розходження ланцюгів ДНК з утворенням відкритого комплексу, що дозволяє використовувати один з них у якості матриці.
3. Включення пари нуклеотидів (первинний транскрипт) до майбутньої молекули РНК внаслідок утворення фосфодиефірного зв'язку.
4. Подовження первинного короткого транскрипту внаслідок послідовних приєднань 8–9 нуклеотидів.
5. Звільнення промотора внаслідок дисоціації σ-фактора.

Елонгація (від англ. *elongation* — подовження) — приєднання чергового нуклеотида до 3'-кінця РНК (елонгаційний цикл) та пересування (*транслокація*: від лат. *trans* — через та *locatio* — розміщення) кор-фермента на один нуклеотид уздовж матриці.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.Т., Скварчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

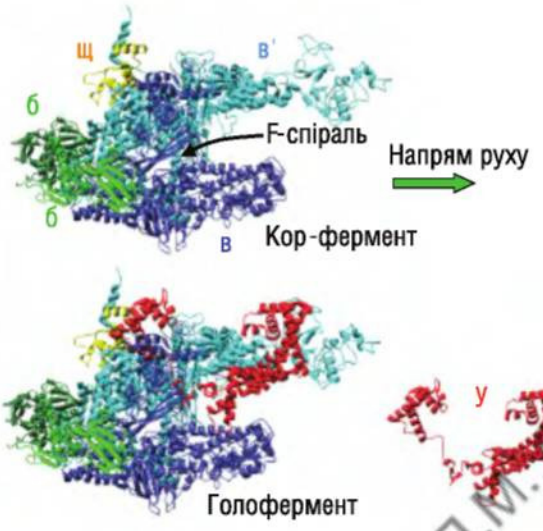


Рис. 4.11. Структура РНК-полімерази

Термінація (від лат. *terminatio* — розмежування) відокремлення синтезованого транскрипту внаслідок впізнавання полімеразою особливої нуклеотидної послідовності — т. зв. «сигналу термінації».

Особливість прокаріотичної системи транскрипції білкових генів полягає в тому, що транскрипція мРНК і білковий синтез відбуваються водночас.

Ініціація транскрипції. РНК-полімераза може бути орієнтована стосовно ДНК двома способами, що зумовлює можливі напрямки руху ферменту при транскрипції на матричному (у напрямку 3'–5') та комплементарному (у напрямку 5'–3') ланцюгах ДНК (рис. 4.12).

Послідовність нуклеотидів комплементарного ланцюга ДНК (даного гена) співпадає з такою синтезованої РНК. Тому цей ланцюг називають *кодуючим* або *змістовним*, а матричний ланцюг — *антикодуючим*. Нуклеотид кодуючого ланцюга, який відповідає стартовому нуклеотиду РНК (частіше пуриновий), позначають як +1; наступні нуклеотиди у напрямку руху полімерази відповідно нумерують +2, +3 і т.д. У зворотному напрямку (ліворуч на рис. 4.13) нуклеотиди нумерують з позначкою «–« (–1,– 2 і т.д.).

Типовий бактеріальний промотор (рис. 4.13) складається з двох елементів послідовності, які знаходяться на відстанях –10 та –35 нуклеотидів від стартової точки. Консенсусна (від лат. *consensus* — згода), тобто узагальнена для різних промоторів, послідовність елемента –35 має вигляд $T_{82}T_{84}G_{78}A_{65}C_{54}A_{45}$ (числами позначено частоту стрічальності даної пари основ у %). Послідовність елемента –10 складає $T_{80}A_{95}T_{45}A_{60}A_{50}T_{96}$. Варіант σ-фактору із молекулярною вагою 70 кДа (σ^{70}) розпізнає послідовності –35 (т. зв. «блок Гілберта») та –10 (т. зв. «бокс Прибноу») при ініціації транскрипції.

БІОЛОГІЯ. Сергійчук І.М., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

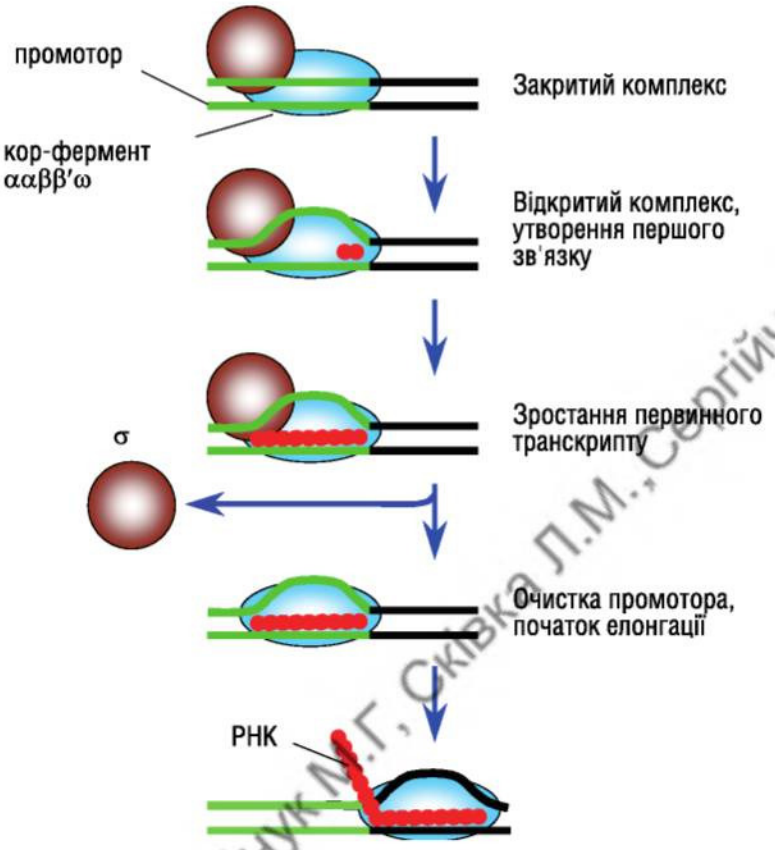


Рис. 4.12. Послідовність ініціації транскрипції

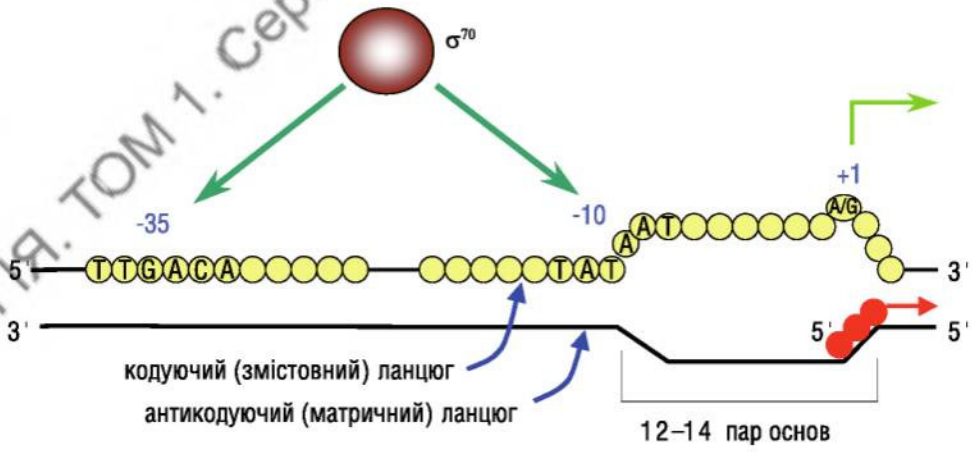


Рис. 4.13. Типовий промотор *E. coli*

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Субодиниця σ має два рухомі закінчення у формі щелеп. Останні відкриті, коли ця субодиниця входить до складу голофермента. Це сприяє підвищенню швидкості дисоціації білка та непромоторної ДНК та викликає низьку ефективність транскрипції з випадкових сайтів на ДНК (рис. 4.12). За умови впізнання σ-фактором двох елементів промотора відбувається структурна перебудова полімеразного комплексу із замиканням «щелеп». Внаслідок ДНК у зоні +1 потрапляє всередину щілини між «щелепами» — утворюється закритий комплекс. Таким чином, взаємодія σ з промотором водночас визначає і стартову точку транскрипції, і її напрямок, тобто вибір одного із двох ланцюгів у якості матричного. Згодом закритий комплекс перетворюється на відкритий: замикання ДНК у щілині призводить до того, що подвійна спіраль не може там розміститися за браком простору. Внаслідок відбувається локальне розходження 12-ї –14-ї пар основ (формування транскрипційного міхура) у зоні від –7 до +5 відносно стартової точки (рис. 4.12, 4.13). Розходження ланцюгів ДНК у щілині РНК-полімерази відбувається за рахунок взаємодії обох ланцюгів із внутрішньою поверхнею щілини: нематричний ланцюг захоплюється певними структурними елементами полімерази, матричний — опиняється в активному центрі.

Наступна стадія ініціації — синтез першого фосфодиефірного зв'язку молекули РНК під дією РНК-полімерази та нарощування транскрипту до 8–9 нуклеотидів.

Елонгація транскрипції. *Елонгація транскрипції* складається з послідовних трьох етапів:

1. Перший етап — відбір та зв'язування нуклеозидтрифосфату, який здійснюється під контролем матриці (нуклеотид *i*+1). Реалізація комплементарних взаємодій *NTP* із відповідним нуклеотидом матриці (поява нового ліганду в сайті зв'язування — комплементарної нуклеотидної пари) викликає конформаційну зміну із замиканням *NTP* та жорсткою фіксацією субстратів у активному центрі фермента.

2. Другий етап — приєднання чергового нуклеотида до 3'-кінця транскрипту. При цьому *NTP* жорстко фіксується в активному центрі у певній реакційно здатній («напруженій») конформації за участі іонів Mg^{2+}.

3. Третій етап (траслокація) — переміщення транскрипту у напрямку розташування подовженого 3'-кінця відносно активного центру

На стадії елонгації в ДНК розходиться близько 18 пар нуклеотидів, із яких 12 утворюють гібридну спіраль з наростаючим кінцем ланцюга РНК. В міру переміщення РНК-полімерази вздовж ДНК-матриці, попереду неї ДНК розходиться, а позаду сплітається знову. РНК-полімераза відбирає потрібні попередники шляхом парування новоприбулого нуклеотиду з ланцюгом ДНК-матриці за принципом комплементарності. Фосфодиефірний зв'язок між нуклеотидами утворюється після становлення правильної пари новоприбулого нуклеотида з відповідною основою ДНК. Якщо нуклеотид нездатний утворити таку пару, то він вилучається.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Термінація транскрипції. Під час елонгації РНК-полімераза рухається вздовж ДНК з різною швидкістю; у певних ділянках матриці затримки в просуванні фермента досить значні — їх називають *паузами* (від грец. *pausis* — припинення). Завершується синтез в чітко визначених ділянках матриці — *термінаторах* (від грец. *terminare* — обмежувати).

Прокаріотичний *сигнал термінації* становить собою інвертований повтор, або *паліндром* (від грец.— *palindromeö* — біжу назад; слово, яке має однаковий зміст при читанні з обох кінців; послідовність ДНК, що зчитується однаково в обох напрямках), безпосередньо фланкований (від фр. *flanquer* — прикриття з флангів) *polyT* послідовністю із 7 нуклеотидів. Відповідно у матричному ланцюзі розташована *polyA* послідовність, а у складі транскрипту — *polyU*. Інвертоване повторення у складі транскрипту становить собою дволанцюгову шпильку (рис. 4.14), а ДНК-РНК гібрид за нею складається з менш стабільних *A-U* пар.

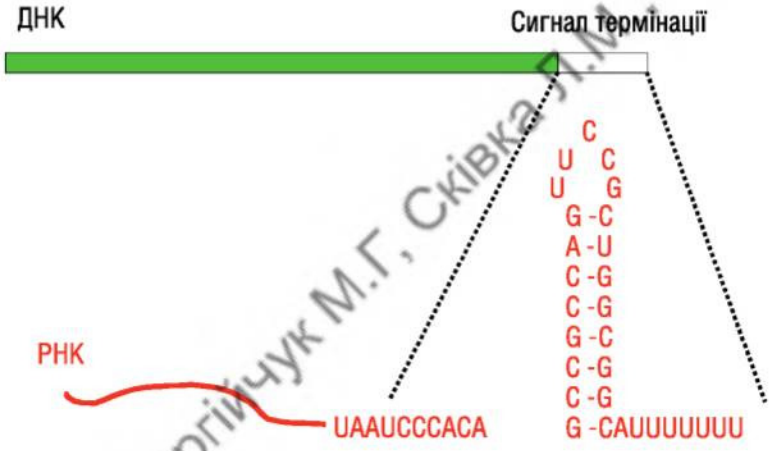


Рис. 4.14. Типовий сигнал термінації

Термінація відбувається наступним чином. Порівняно нестабільний гібрид ускладнює елонгацію транскрипції, а шпилька — зворотний рух полімерази. Під час зупинки здійснюються зумовлені взаємодіями зі шпилькою структурні перебудови полімерази, руйнування гібриду, відновлення подвійної спіралі ДНК та звільнення транскрипту.

У бактеріальних оперонах термінація залежить від так званого ρ-фактора. Останній (моногексамер) зв'язується з РНК-транскриптом у певних цитозин-збагачених ділянках. Після цього розпочинається АТР-залежне пересування ρ-фактора вздовж транскрипту у напрямку 5'-3'. Сигнал термінації зумовлює зупинку полімерази. Внаслідок ρ-фактор наздоганяє полімеразу і, продовжуючи рух вздовж РНК, руйнує подвійну спіраль. Внаслідок настає колапс (від лат. *collapsus* — ослаблений) транскрипційного міхура, тобто відновлення подвійної спіралі ДНК, та звільнення транскрипту (рис. 4.15).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

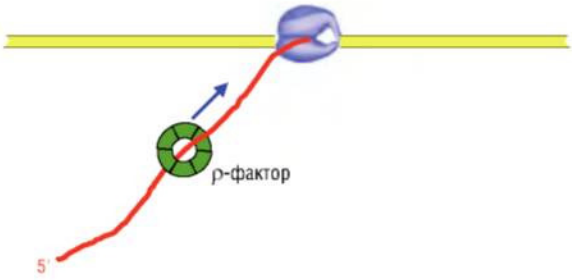


Рис. 4.15. ρ-залежна термінація

4.4. Регуляція транскрипції

Транскрипція генів та оперонів відбувається не постійно, а лише у певні моменти залежно від змін зовнішніх умов, стадій клітинного циклу тощо. Головними чинниками, взаємодія між якими призводить до активації чи репресії транскрипції, слугують так звані *цис-* (від лат. *cis* — по цей бік) і *транс-елементи* (від лат. *trans* — за межами та *elementum* — початок). *Цис-елементи* — це регуляторні складові послідовності ДНК, фізично пов'язані з даним геном чи опероном; у прокаріотів вони знаходяться у безпосередній близькості до промоторів та відомі під назвою «*оператор*» (від лат. *operator* — працівник). *Транс-елементи* — це білкові фактори транскрипції, що вільно транспортуються шляхом дифузії в цитоплазму, де зв'язуються зі специфічно спорідненим цис-елементом. Якщо зв'язування транс-елемента з оператором призводить до активації транскрипції, то відповідний фактор слугує *активатором* та здійснює позитивну регуляцію. Якщо ж фактор блокує зв'язування РНК-полімерази, то його називають *репресором* (від лат. *repressor* — обмежуючий), бо він спричинює негативну регуляцію.

Лактозний оперон. Систему регуляції транскрипції — на прикладі лактозного оперону (*lac*-оперон) *E. coli* — відкрили та детально вивчили французькі дослідники Ф. Жакоб і Ж. Моно. До його складу входять три структурні гени, що кодують ферменти катаболізму лактози. Транскрипція цих генів здійснюється з одного промотора: синтезується єдина *поліцистронна* молекула мРНК із трьома послідовними відкритими рамками зчитування. Промотор (рис. 4.16) оточений парою однакових операторних ділянок (*lac*-операторів), споріднених до *lac*-репресора, та сайт зв'язування *CAP* (від англ. *Catabolite Activator Protein* — білок — активатор катаболізму).

Промотор *lac*-оперона вважають слабким, оскільки він має досить низьку спорідненість до РНК-полімерази. Якщо в середовищі водночас із лактозою присутня глюкоза, транскрипція *lac*-оперона майже не здійснюється. Зниження рівня глюкози призводить до підвищення внутрішньоклітинної концентрації *cAMP* (циклічного аденозинмонофосфату), зв'язування якого із *CAP* індукує конформаційну перебудову білка та прояв специфічної спорідненості остан-

БІОЛОГІЯ. ГОМ І. Сергійчук І.М., Сніжка Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

нього до відповідного сайту ДНК. Взаємодія *CAP* із РНК-полімеразою підсилює спорідненість останньої до промотора та початок синтезу мРНК (рис. 4.16).

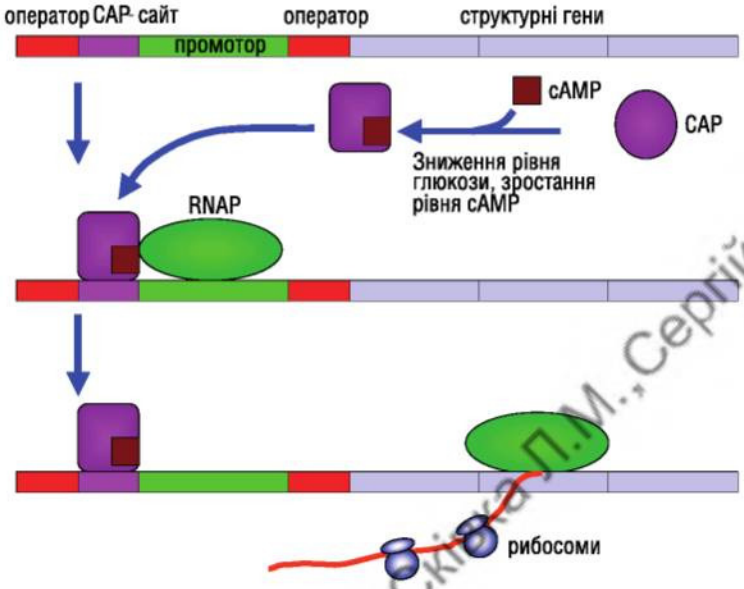


Рис. 4.16. Позитивна регуляція *lac*-оперона катаболітним активаторним білком CAP

Така позитивна регуляція здійснюється, коли *lac*-оператори не взаємодіють з *lac*-репресором. За відсутності лактози гомодимери репресора незалежно від наявності *CAP* зв'язуються з обома операторами (рис. 4.17), взаємодіючи між собою.

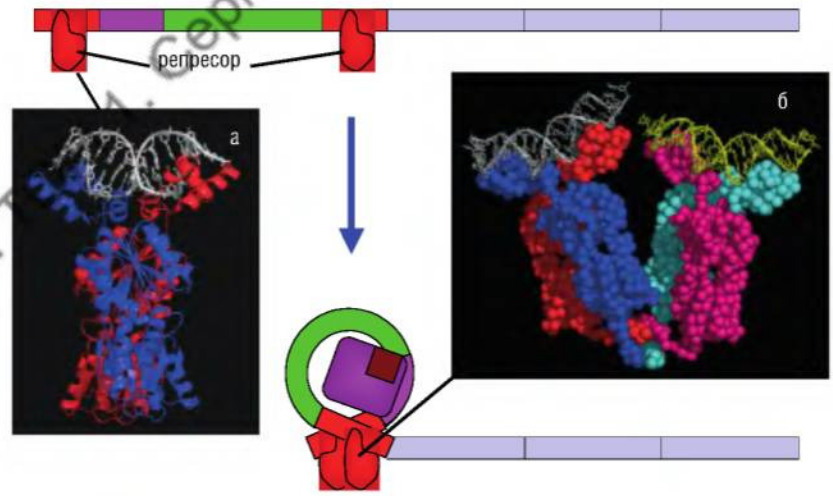


Рис. 4.17. Негативна регуляція *lac*-оперона *lac*-репресором

Внаслідок утворюється тетрамерний комплекс, що утримує петлю ДНК. Всередині петлі знаходиться промотор, що запобігає зв'язуванню РНК-полімерази. Невелика кількість лактози перетворюється на аллолактозу, яка спрацьовує як індуктор *lac*-оперона: її зв'язування з репресором індукує втрату спорідненості останнього до оператора. Внаслідок руйнування петлі РНК-полімераза зв'язується з промотором, і оперон починає працювати.

Атенюація. Із використанням сигналів термінації пов'язана також система *атенюації* (від лат. *attenuatio* — послаблення), яка використовується, зокрема, для регуляції активності триптофанового оперона (*trp*-оперона) *E. coli*. Цей оперон містить 5 структурних генів, що відповідають за синтез амінокислоти триптофану (*Trp*). Перед вказаними генами знаходяться промотор, оператор і лідерна послідовність, з якої розпочинається транскрипція (рис. 4.18, а).

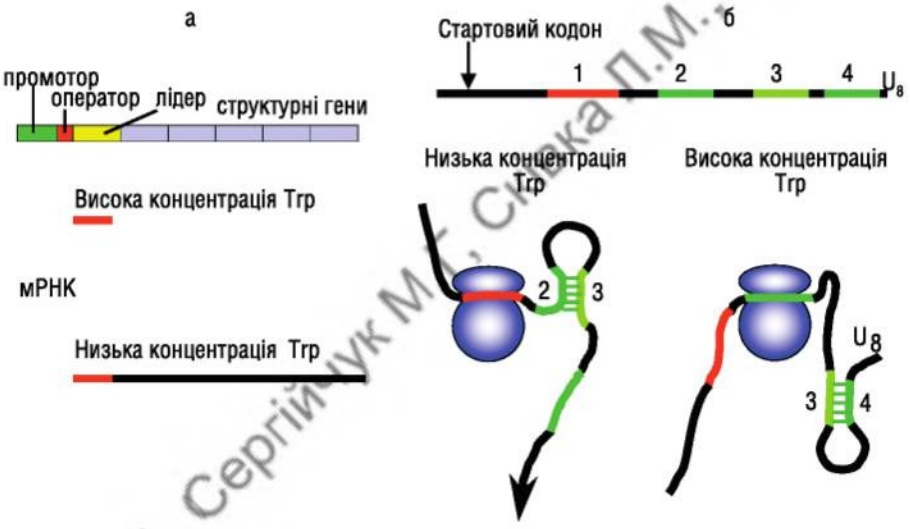


Рис. 4.18. (а): Схема *trp*-оперону; (б): Лідерна РНК та два варіанти парування основ у її складі

Для атенюації важливо те, що прокаріотична транскрипція тісно пов'язана з трансляцією. Лідерна частина РНК містить стартовий кодон, який впізнає рибосома, та 4 послідовні елементи: ділянка 1, що містить два послідовних триптофанових кодони; попарно комплементарні ділянки 2–3 та 3–4; оліго-*U* послідовність (рис. 4.18, б). Таким чином, шпилька 3–4, фланкована оліго-*U*, слугує сигналом термінації транскрипції. За низької концентрації *Trp* рибосома зупиняється на триптофанових кодонах ділянки 1. В цьому випадку утворюється шпилька 2–3, і РНК-полімераза продовжує синтез повноцінної мРНК. Рибосоми зв'язуються зі стартовими кодонами, що відповідають структурним генам, і розпочинається синтез відповідних поліпептидів.

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сівка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

За високого рівня *Trp* рибосома проходить через ділянку 1 на ділянку 2 і зупиняється на стоп-кодоні. Внаслідок утворюється шпилька 3–4, тобто сигнал термінації; РНК-полімераза після синтезу короткої нефункціональної лідерної РНК зупиняє транскрипцію.

Trp-оперон також знаходиться під контролем *trp*-репресора, аллостеричним регулятором репресора слугує сам *Trp*: у комплексі з ним репресор приймає конформаційну форму, тобто проявляє високу спорідненість до оператора. При зниженні концентрації *Trp* репресор дисоціює, і ефективність ініціації транскрипції підвищується приблизно в 70 разів. Атенюація — це додатковий механізм регуляції: за її рахунок ефективність транскрипції підвищується вдесятеро за відсутності *Trp*. За присутності *Trp* лише близько 10 % РНК-полімераз зберігають активність, а за відсутності *Trp* — практично 100 %. Таким чином, сумісна дія атенюації та негативного контролю за рахунок репресора дозволяє змінювати активність оперона у ~700 разів залежно від внутрішньоклітинної концентрації *Trp*.

4.5. Трансляція

Трансляція (від лат. *translatio* — передача) — синтез поліпептидних ланцюгів з використанням в якості матриці мРНК за участю рибосом згідно генетичного коду. Трансляцію здійснюють рибосоми, які сканують нуклеотидну послідовність мРНК, рухаючись уздовж неї «кроками» по три нуклеотиди від 5'- до 3'-кінця під час елонгації до стоп-кодону. Рибосоми забезпечують впізнавання кодонів комплементарними до них антикодонами у складі тРНК, водночас каталізуючи синтез пептидних зв'язків між амінокислотами. Кожний антикодон відповідає певній амінокислоті, яку переносить тРНК. Таким чином тРНК забезпечує транспорт амінокислот до рибосом відповідно послідовності кодонів.

Молекулярна організація рибосом. На кінцевому етапі трансляції рибосома розпадається на велику та малу субчастки. В новий акт трансляції першою включається мала (*S* — від англ. «*small subunit*»), а згодом велика (*L* — від англ. «*large subunit*») субчастки (субодиниці). Мала субодиниця має коефіцієнт седиментації *30S* та містить одну молекулу рРНК (16*S*) та 21 молекулу рибосомних білків, позначених як *S*1 — *S*21. Велика субодиниця містить дві молекули рРНК (23*S* і 5*S*) і білки *L*1 — *L*36; цей комплекс седиментує з коефіцієнтом 50*S*. Об'єднані мала та велика субодиниці утворюють рибосому з коефіцієнтом седиментації 70*S* (рис. 4.19).

Від монолітної частини («тіла») великої субодиниці відходять три відростки: виріст *L*1, *палець* (стебло) *L*7/12, сформовані відповідними рибосомними білками, та *центральний протуберанець*, утворений комплексом білків з 5*S* рРНК. Два структурні домени (від фр. *domaine* — володіння) — *головка* та *платформа* — відходять від тіла маленької субодиниці. Усі структурні елементи здатні до переміщення (рухливі).

Біологія (том 1, Сенчишин І.М., Скібка Л.М., Сенчишин Т.М. та ін

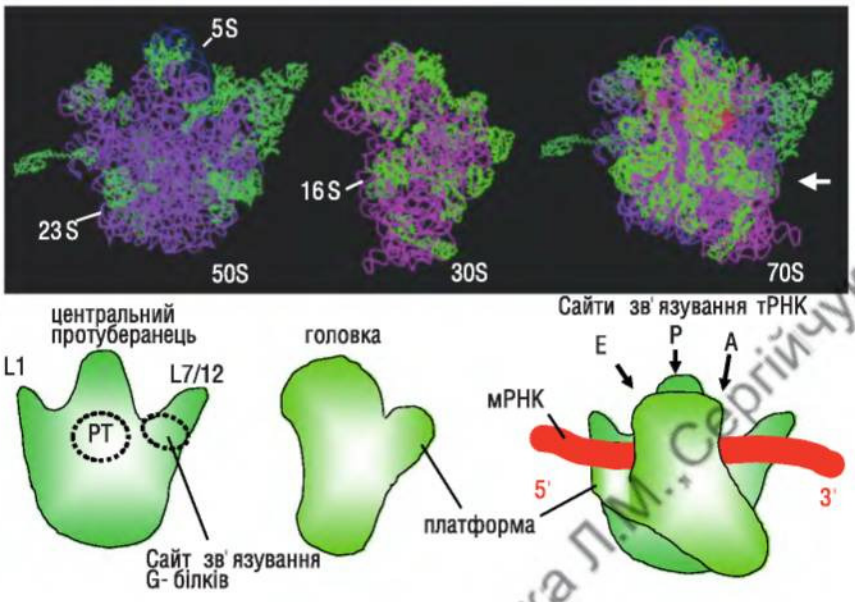


Рис. 4.19. Структура рибосом прокаріотів

У складі рибосоми є три основні зони контактів між субодиницями: головка — центральний протуберанець; платформа — виріст *L*1; центральні частини основного тіла обох субодиниць.

Біля основи центрального протуберанця розташований пептидил-трансферазний центр (рис. 4.19), який відповідає за каталіз синтезу пептидного зв'язку. Від цього центра через тіло великої субодиниці відходить тунель — канал виходу синтезованого поліпептидного ланцюга (рис. 4.19).

Біля основі пальця L7/12 знаходиться сайт зв'язування факторів трансляції — особливих *G*-білків (рис. 4.19). Взаємодія між малою субодиницею та мРНК відбувається у проміжку між платформою та головкою (рис. 4.19).

Сайти (від англ. *site* — місце) зв'язування тРНК розташовані між двома субодиницями. Антикодонові частини тРНК взаємодіють з мРНК та малою субодиницею, акцепторні частини — з великою субодиницею. Рибосома містить три сайти: ***A-сайт***, де відбувається зв'язування аа-тРНК; ***P-сайт***, де з рибосомою взаємодіє пептидил-тРНК (тРНК, до якої приєднаний *пептидил* — амінокислотний ланцюг, що синтезується); ***E-сайт*** (від лат. *exitio* — вихід), де зв'язана деаміноацильована тРНК перед її виходом з рибосоми.

Розташовані в *A*- і *P*-сайтах наближені одна до одної акцепторні частини тРНК (рис. 4.19) взаємодіють з великою субодиницею у зоні пептидил-трансферазного центру. Аміноацил-тРНК потрапляє до рибосоми через щілину між субодиницями (рис. 4.19), розміри якої можуть змінюватись, як і розміри «воріт», через які тРНК виходить з Е-сайта, що зумовлене переміщеннями виросту *L*1.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

На рис. 4.20 зображено функціональну схему рибосоми в момент перед додаванням четвертої амінокислоти до синтезованого ланцюга; аа-тРНК, пептидил-тРНК і деаміноацильована тРНК відповідно зв'язані з А-, Р- і Е-сайтами. Центральні сайти, або сайти зв'язування тРНК, відповідальні за функціювання рибосоми, формуються обома субодиницями. Мала субодиниця взаємодіє з мРНК та антикодоновими частинами тРНК та відповідає за декодуючу функцію, а велика сумісно з акцепторними частинами тРНК — за каталітичну функцію рибосоми.

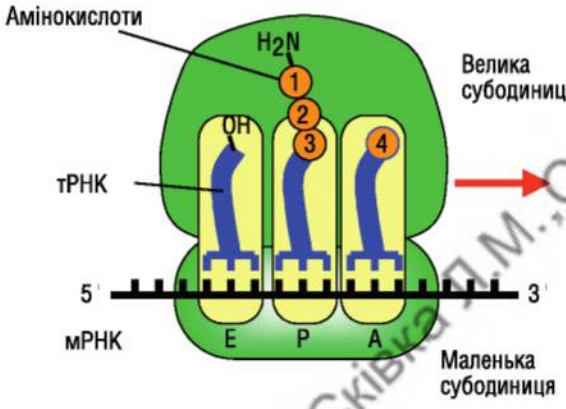


Рис. 4.20. Функціональна схема рибосоми

Механізми трансляції. Процес біосинтезу білка відбувається в чотири послідовні етапи:

a) активація амінокислот;

b) ініціація синтезу поліпептидного ланцюга;

c) елонгація поліпептидного ланцюга;

d) термінація синтезу.

Активація амінокислот. В процесах трансляції беруть участь лише активовані форми амінокислот. *Активація амінокислоти* — це реакція її приєднання до відповідної транспортної РНК. Ковалентне зв'язування амінокислоти з молекулою відповідної тРНК відбувається за участю відповідного фермента — *аміноація-тРНК синтетази*. Активація амінокислот відбувається в дві послідовні стадії в каталітичному центрі фермента.

На першій стадії відбувається перенесення амінокислоти на *AMP* з утворенням *аміноациладенілату*, коли пірофосфат (*pp*) у складі *ATP* замінюється амінокислотою (*aa*). Активування амінокислоти супроводжується зниженням вільної енергії, але при цьому значна частина вільної енергії, що звільняється при відщеплені пірофосфату від *ATP*, зв'язується у хімічних зв'язках молекули аміноациладенілату:

$$Aa + ATP = aa\text{-}AMP + pp.$$

БІОЛОГІЯ. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

На другій стадії активації відбувається *аміноацилювання*, тобто заміщення *AMP* молекулою тРНК з утворенням аміноацил-тРНК (*tRNA*):

$$aa\text{-}AMP + tRNA = aa\text{-}tRNA + AMP.$$

тРНК, що відповідає певній амінокислоті, відповідно індексують: наприклад, тРНК^{Ala}. Якщо до молекули тРНК приєднана амінокислота, то таку аміноацильовану тРНК позначають як *Ala*-тРНК^{Ala}.

Ініціація синтезу поліпептидного ланцюга. В ініціації синтезу бактеріальної білкової молекули у рибосомах беруть участь *GTP*, мала субчастка рибосоми, мРНК, *формілметионін-тРНК* (*fMet*-тРНК) та білкові фактори ініціації *IF–1*, *IF–2*, *IF–3* (рис. 4.21).

Рибосома вступає у процес ініціації у вигляді двох окремих субодиниць, дисоційований стан яких підтримує фактор *IF–3* (від англ. *Initiation Factor*), зв'язаний із малою субодиницею, з якою також сполучається *IF–1*, який блокує зону майбутнього *A*-сайта тРНК. Утворений потрійний комплекс (мала субодиниця –*IF–3*–*IF–1*) взаємодіє з фактором *IF–2* та *GTP*.

На наступному етапі відбувається взаємодія ініціаторної молекули тРНК — *f-Met-тРНК*$_i^{Met}$, антикодонова частина якої взаємодіє з *P*-сайтом малої субодиниці, оскільки *A*–сайт заблокований фактором *IF–1*. Синтез поліпептидних ланцюгів у прокаріотичних клітинах розпочинається з включення формілметіоніну.

мРНК взаємодіє з малою субодиницею таким чином, що стартовий кодон розміщується у зоні *P*-сайта. Загалом з малою субодиницею взаємодіє ділянка мРНК завдовжки близько 30 нуклеотидів. Специфічне розміщення стартового кодона у *P*–сайті забезпечується комплементарним впізнанням між ділянкою рРНК 16S (у 3'-кінцевій зоні) та консервативною *послідовністю Шайна — Дальгарно*, яка розміщена в мРНК на відстані 5–9 нуклеотидів від стартового кодона у напрямку до 5'-кінця. Саме наявність послідовності Шайна — Дальгарно робить кодон *AUG* стартовим, на відміну від інших метионінових кодонів.

Зв'язування названих трьох елементів між собою призводить до утворення *преініціаторного комплексу*. Наступним кроком є впізнання кодона антикодоном у *P*–сайті за участі факторів *IF–2* та *IF–3*. Формування кодон-антикодонової подвійної спіралі індукує конформаційну зміну малої субодиниці, внаслідок чого відбувається звільнення факторів *IF–1, IF–3* та приєднання великої рибосомної субодиниці з утворенням *ініціаторного комплексу 70S*. Взаємодія між великою субодиницею та *IF–2* індукує *GTP*-азну активність останнього: відбуваються гідроліз *GTP* та дисоціація *IF–2*.

Таким чином, створена система трансляції для першого елонгаційного циклу: *A*–сайт підготований прийняти аа-тРНК з наступною амінокислотою поліпептидного ланцюга майбутньої ДНК, на яку при транспептидації буде перенесено *f-Met* з ініціаторної тРНК.

Елонгація поліпептидного ланцюга. Для елонгації трансляції необхідні ініціаторний комплекс, навантажені амінокислотами тРНК, фактори елонгації (*EF-T, EF-G*) та *GTP*.

БІОЛОГІЯ. Підручник / Сегеда М.І., Скібка І.М., Сегедій Т.М. та ін

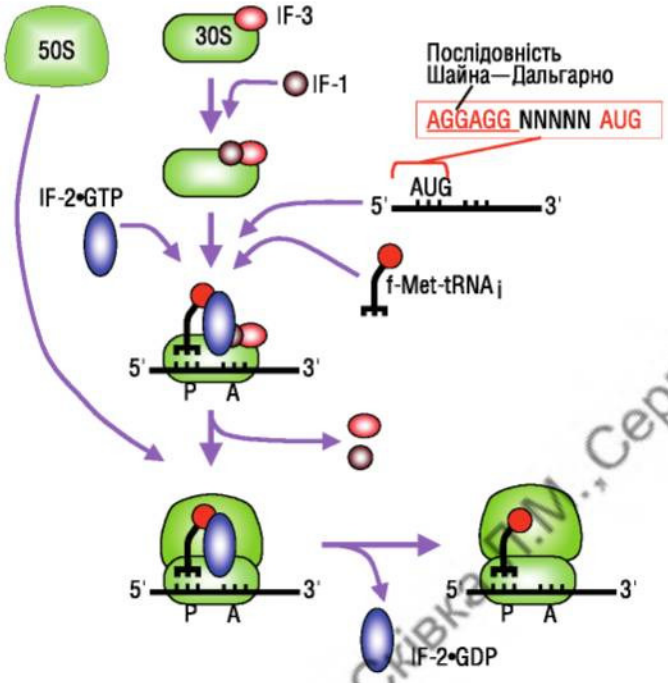


Рис. 4.21. Послідовність етапів ініціації трансляції

Діяльність рибосоми під час елонгації полягає у послідовному (потриплетному) зчитуванні інформації з мРНК та приєднанні відповідних амінокислот до поліпептидного ланцюга. Кожний такий крок складається з трьох операцій (*елонгаційний цикл*). Цикл розпочинається за умови, коли у *P*-сайті знаходиться пептидил-тРНК. *A*-сайт не містить тРНК, в його межах на малій субодиниці розташований черговий кодон (рис. 4.22).

Перший етап циклу — *зв'язування аа-тРНК* з *A*-сайтом. Йому властива висока специфічність взаємодії кодону та антикодону, тобто лише споріднена до даного кодону тРНК може бути відібрана системою. Розміщення аа-тРНК в *A*-сайті супроводжується дисоціацією деаміноацильованої тРНК з *E*-сайту, яка залишалася там після завершення попереднього циклу. Наслідком зв'язування є певне взаємозалежне розташування акцепторних частин аа-тРНК, пептидил-тРНК та каталітичного центру.

На другому етапі (*транспептидація*) відбувається перенесення пептидила з пептидил-тРНК на амінокислоту у складі аа-тРНК. Внаслідок в *A*-сайті з'являється пептидил-тРНК із подовженим на одну амінокислоту пептидилом, у *P*-сайті — деаміноацильована тРНК.

Третій етап (*транслокація*) полягає у переміщенні рибосоми разом із молекулами тРНК на один кодон уздовж мРНК, після чого розпочинається наступний елонгаційний цикл.

БІОЛОГІЯ. ГОМ І. Сергійчук М.І., Сківка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

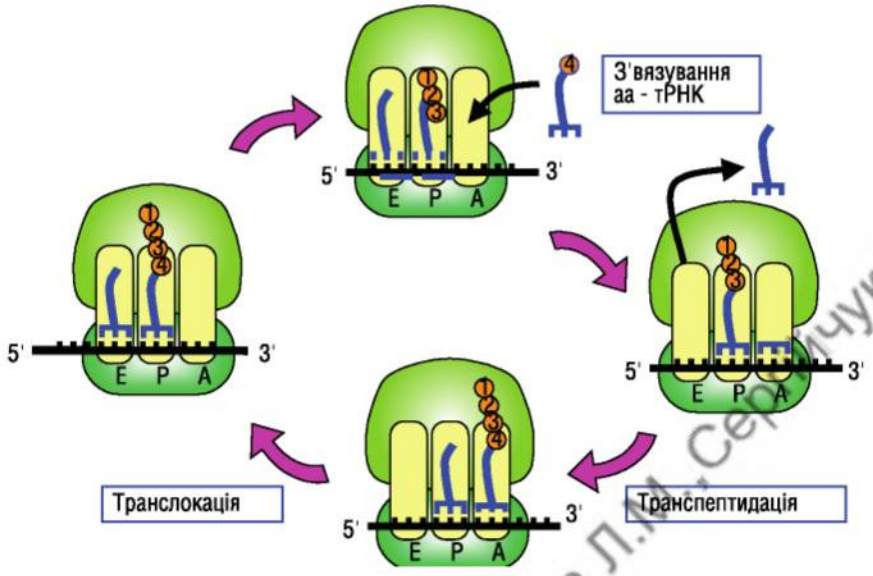


Рис. 4.22. Схема елонгаційного циклу

Відбір необхідних молекул аа-тРНК на першому етапі, коли неспоріднені молекули мають швидко звільнятися, а також рух рибосоми при транслокації, призводять до реалізації певної «відкритої», тобто рухливої, структурної форми рибосоми. Каталіз транспептидації, навпаки, вимагає жорсткої фіксації субстратів у «закритій», нерухливій формі. Ефективність вказаних процесів залежить від полегшення реалізації відкритих форм рибосоми на першому та третьому етапах елонгаційного циклу завдяки дії факторів елонгації *EF-Tu* та *EF-G*.

Термінація трансляції. Термінація білкового синтезу принципово не відрізняється в про- та еукаріотичних клітинах (рис. 4.23). Коли після завершального елонгаційного циклу в *A*-сайті з'являється один з трьох стоп-кодонів, останній впізнається факторами термінації *RF–1* або *RF–2*. Обидва фактори рекрутують до рибосоми комплекс *RF3·GTP*. Під дією останнього спрацьовує пептидил-трансферазний центр рибосоми. Оскільки в *A*-сайті звичайний субстрат транспептидації відсутній, відбувається гідроліз зв'язку *C*-кінцевої амінокислоти з рибозою у складі пептидил-тРНК. На цьому закінчується власне термінація трансляції — з рибосоми вивільняється поліпептид.

Після гідролізу *GTP* відбувається дисоціація рибосом на субодиниці та зв'язування замість них факторів відновлення рибосоми *RRF* (від англ. *Ribosome Recycling Factor*) і елонгації *EF-G* у комплексі з *GTP*. З малою субодиницею замість дисоційованих *RRF* та *EF-G* зв'язується фактор ініціації трансляції *IF–3*, який водночас слугує і фактором термінації. Він сприяє вивільненню тРНК і мРНК із малої субодиниці та запобігає взаємодії між субодиницями. Внаслідок субодиниці рибосоми знову залучаються до ініціації трансляції.

БІОЛОГІЯ. ТОМ І. Сергійчук І.Г. Сківка Л.М., Серпічук Т.М. та ін

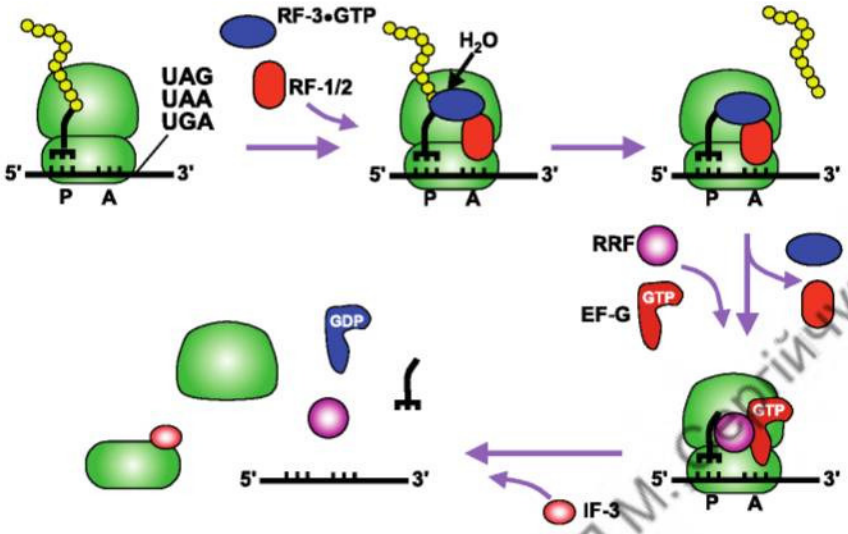


Рис. 4.23. Послідовність основних подій при термінації трансляції

4.6. Типи мінливості. Модифікації і мутації. Класифікація мінливості

Мінливість — це здатність живих організмів існувати в різних формах (варіантах). Вона реалізується або під час онтогенезу окремої клітини, або в межах групи клітин впродовж ряду послідовних поколінь. Розрізняють спадкову та неспадкову (модифікаційну) мінливості.

Спадкова (*генотипова*) *мінливість* викликана змінами генотипу внаслідок мутацій (*мутаційна мінливість*) або обміну алелями при статевому процесі (*комбінаційна мінливість*).

Модифікаційна мінливість — це зміни фенотипових ознак (модальностей) внаслідок реакцій організму на зміни інтенсивності дії певних факторів. Модифікації не пов'язані зі змінами генотипу і тому поступово зникають в ряді поколінь після відновлення попередньої дози фактора.

Біохімічні основи модифікації полягають в індуцибельному синтезі ферментів (репресія відповідних структурних генів, що контролюються регуляторними). Так, кишкова паличка (*Escherichia coli*) тільки за присутності лактози синтезує ферменти, що необхідні для її ферментації. Стафілококи синтезують фермент, що руйнує пеніцилін, за умови, якщо цей антибіотик присутній у середовищі. Відрізнити модифікаційні зміни від спадкових дозволяє наявність певних явищ, притаманних лише неспадковій мінливості, а саме:

- певні зміни виникають лише за відповідної комбінації умов;
- одні і ті ж зміни відбуваються у всіх клітин клону;

• зміни зворотні, тобто знову виникають при відтворенні певних умов.

Модифікації бувають лабільними (короткочасними) і стабільними (довготривалими). Довготривалі модифікації у бактеріальних клітин та дріжджів зберігаються внаслідок виникнення стійких метаболічних циклів, які зумовлюють відносну незалежність фенотипу від умов зовнішнього середовища. Переважна більшість модифікацій адаптивні, тобто сприяють виживанню даного організму за конкретних умов середовища, що сприяє збереженню популяцій і виду в цілому.

Мутаційна мінливість. Термін «мутація» був запропонований голандським генетиком Г. де Фрізом (1848–1935) в його класичній праці «Мутаційна теорія».

Мутації (від лат. *mutatio* — зміна) — стійкі зміни генотипу, які виникають раптово та проявляються у спадково закріпленій втраті або зміні будь-якої модальності або ознаки в цілому. Залежно від способу виникнення розрізняють спонтанні та індуковані мутації.

Спонтанні (природні) мутації виникають з певною частотою без будь-яких видимих причин. Індукованими називають мутації, які одержують в експериментальних умовах під впливом модальностей певних факторів — *мутагенів* (від лат. *mutatio* та грец. *genes* — народжений). За дії мутагенів частота мутацій може зростати в 10^1–10^6 разів. Розрізняють мутагени фізичного, хімічного та біологічного походження.

За фенотиповим проявом мутації поділяють на морфологічні, фізіологічні та біохімічні. *Морфологічні мутації* проявляються фенотипово у вигляді втрати або зміни морфологічних ознак (джгутиків, пілей, капсули, клітинної стінки тощо). *Фізіологічні мутації* викликають порушення функцій клітини: фертильності, стійкості до антибіотиків, вірусних інфекцій, рухових та захисних реакцій тощо.

Мутації, за яких біохімічні порушення очевидні і добре з'ясовані, називають *біохімічними.* Переважно це генні мутації, в той час як морфологічні часто бувають наслідком численних хромосомних аберацій.

Біохімічні мутанти. Хоча всі мутаційні зміни торкаються біохімічних процесів, термін «біохімічні мутанти» зазвичай використовують для позначення клітин зі зміненими потребами до певних факторів росту або особливими метаболічними процесами, наприклад, здатність зброджувати лактозу, утворювати капсулу тощо. Серед останніх найбільш детально вивчені *ауксотрофні* (від грец. *ауксо* — вирощувати та *trophe* — живлення) мутанти. Вони втратили здатність самостійно синтезувати необхідні для забезпечення життєдіяльності сполуки та нездатні розвиватись на мінімальному середовищі на відміну від клітин природного типу — *прототрофів* (від грец. *protos* — перший та *trophe*).

Для ауксотрофів характерні прямі, зворотні та супресорні мутації. Завдяки *прямим мутаціям* гени природного типу перетворюються переважно на рецесивні алелі. *Зворотні мутації* проявляються в поверненні до природного фенотипу. Процес зворотного переходу мутантної алелі до природної називають *реверсією* (від лат. *reversio* — повернення). *Супресорна мутаця* пригнічує дію попередньої

БІОЛОГІЯ (том 1 Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

прямої мутації; внаслідок відбувається *супресія* (від лат. *suppressio* — тиск), тобто повне або часткове повернення до попереднього фенотипу.

За впливом на адаптивну здатність розрізняють мутації:

- *корисні* — за фенотиповим проявом імітують адаптивні модифікації;
- *нейтральні* (від лат. *neutralis* — ні той, ні інший) — не впливають на життєздатність;
- *субвітальні* (від лат. *sub* — під та *vitalis* — життєвий) — знижують життєздатність до 50 %;
- *сублетальні* (від лат. *sub* та *letalis* — смертельний) — знижують життєздатність більше ніж на 50 %;
- *летальні* — призводять до загибелі 100 % клітин.

За характером зміни генетичного апарату мутації поділяють на генні (точкові) і хромосомні (геномні). *Генні* (*точкові*) *мутації* — це зміна структури молекули ДНК або РНК на ділянці одного гена. За характером змін у послідовності нуклеотидів генні мутації поділяють на кілька видів, а саме:

Транзиції (від лат. *transition* — перехід) — заміна однієї пуринової або піримідинової азотистої основи іншою.

Трансверсія (від лат. *transversus* — повернутий в бік) — заміна пуринової основи на піримідинову чи навпаки.

Інсерція (від лат. *insertion* — вставка) — вставка одного або кількох нуклеотидів;

Делеція (від лат. *deletio* — знищення) — втрата кінцевої (термінальної) ділянки хромосоми.

Заміни нуклеотидів в триплеті — це нейтральні, місенс- і нонсенс-мутації. У випадку *нейтральних мутацій* інформаційність кодона не змінюється внаслідок виродженості коду; завдяки йому одну амінокислоту можуть кодувати два або більше триплети.

Місенс-мутації (від англ. *mess* — плутанина та *sensus* — зміст) призводять до того, що заміна нуклеотидів в кодоні спричинює амінокислотну заміну в поліпептидному ланцюгу.

Нонсенс-мутації (від лат. *non* — ні та *sensus*) виникають, коли заміна одного нуклеотиду кодону перетворює останній в один із трьох можливих термінуючих (або нонсенс-) триплетів, які не несуть інформацію про будь-яку амінокислоту. Таким чином, вони достроково припиняють трансляцію поліпептидного ланцюга. За існування поліцистронних бактеріальних оперонів (наприклад, *Lac*-оперону) нонсенс-мутації часто спричиняють *полярний ефект* (від лат. *polaris* — властивий полюсу). Суть його в тому, що мутація, яка виникла в першому після промотора структурному гені, блокує трансляцію всіх наступних генів.

Інсерції та делеції призводять до зсуву рамки зчитування, внаслідок чого праворуч мутантного сайта змінюється зміст усіх кодонів.

Мутації зі зсувом рамки зчитування проявляються у вигляді вставки або втрати нуклеотиду в ланцюгу ДНК, що призводить до зсуву відліку кодуючих

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

триплетів при трансляції, що впливає на інформативність всіх кодонів. Механізм їх виникнення легко зрозуміти на прикладі.

Припустимо, що певна ділянка кодованого ланцюга гіпотетичного гена має будову:

CAT CAT CAT CAT CAT CAT CAT CAT CAT CAT.

Крайній лівий триплет фіксує рамку зчитування таким чином, що послідовність нуклеотидів кодує поліпептид, який складається лише із залишків гістидину (His- His- His-…). Припустимо, що внаслідок мутацій втрачено нуклеотид А в другому кодоні. Структура триплетів, починаючи із сайту делеції, зміниться:

CAT CTC ATC ATC ATC ATC ATC ATC ATC ATC.

Оскільки серед новоутворених триплетів нонсенс-кодони відсутні, то виникає інформація про поліпептид із зовсім іншою послідовністю амінокислотних залишків (His-Leu-Ile- Ile- Ile…). Якби код не був виродженим, то зсув рамки зчитування в більшості випадків супроводжувався б виникненням нонсенс-кодонів і достроковим закінченням трансляції.

Хромосомні мутації (*аберації* — від лат. *aberratio* — відхилення) — це зміни кількості, розміру і організації хромосом. Структурні перебудови можуть відбуватись у межах однієї (*внутрішньохромосомні*) або кількох (*міжхромосомні*) гомологічних або негомологічних хромосом. До внутрішньохромосомних перебудов належать делеції, дуплікації, інверсії та інсерції, а до міжхромосомних — транслокації.

Делеції відбуваються внаслідок розриву хромосомної нитки і нездатності утвореного ацентричного фрагмента розділитись та потрапити до обох дочірніх клітин. Іноді посередині хромосоми можуть утворитись два розриви; внаслідок ацентричний фрагмент випадає, і його обидва кінці можуть з'єднуватись, утворюючи кільцеву структуру.

Дуплікації (від лат. *duplicatio* — подвоєння) виникають внаслідок двох розривів в одній хромосомі і розриву в гомологічній хромосомі. Видалений фрагмент може з'єднатись з відкритими кінцями розірваної гомологічної хромосоми. В такому разі одна з двох гомологічних хромосом матиме надлишкову для неї ДНК у вигляді дуплікації, а друга — відповідну делецію.

Інверсії (від лат. *inversio* — перевертання) зумовлюють зміну послідовності розміщення генів у хромосомі. Розрив хромосомної нитки у двох зближених точках дає можливість відкритим кінцям з'єднатись таким чином, що хромосомний фрагмент обернувся на 180°.

Інсерції зумовлюють переміщення фрагментів хромосомної нитки в інше місце хромосоми зі збереженням вихідного порядку розміщення генів у межах кожного фрагмента

Транспозиції (від лат. *transpositio* — перекладання) — інверсії, що супроводжуються паліндромом. Це означає, що кінці транспозицій характеризуються однаковими, але взаємооберненими на 180° нуклеотидними послідовностями.

БІОЛОГІЯ: ТОМ 1 / Сергійчук М.І., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Транслокації (від лат. *trans* — через та *locatio* — розміщення) — міжхромосомні перебудови, які виникають внаслідок поодиноких чи парних розривів хромосомних ниток, переміщення та з'єднання фрагментів у нових комбінаціях.

Наслідком мутаційних змін є *R*- та *S*-форми (так звані «дисоціації» — від лат. *dissociatio* — роз'єднання) бактерій, які ростуть на твердому поживному середовищі. *R*-колонії мають неправильну форму з нерівними краями та шершавою поверхнею, а *S*-колонії — округлої форми з гладенькою поверхнею. Утворення обох типів колоній в культурі клітин зазвичай відбувається в напрямку від *S*- до *R*-форм, іноді — через проміжний етап слизових колоній. Зворотній перехід відмічений рідше. Для більшості вірулентних бактерій характерні *S*-колонії, проте мікобактерії туберкульозу, чуми, сибірської виразки тощо ростуть в *R*-формі. В процесі дисоціації водночас із варіаціями морфології змінюються біохімічні, антигенні, патогенні властивості колоній, їхня стійкість до фізико-хімічних впливів довкілля.

Мутації, які призводять до *S*- та *R*-дисоціації, належать до інсерційних, бо виникають після вбудовування позахромосомних факторів спадковості, в тому числі і помірних фагів, у бактеріальну хромосому.

Біологічне значення *S*- та *R*-дисоціації полягає в набутті бактеріями певних селективних переваг. До них належать висока стійкість *S*-форм до фагоцитозу, бактерицидної дії сироватки крові тощо; *R*-форми характеризуються високою стійкістю до факторів оточуючого середовища. *S*- та *R*-дисоціація в багатьох випадках ускладнює бактеріологічну діагностику ряду захворювань.

Мутагени. Розрізняють фізичний, хімічний та біологічний мутагенези.

До *фізичних мутагенів* належать ультрафіолетові (УФ) промені, іонізуюче випромінювання, підвищена температура тощо. Вперше штучні мутації під дією радіоактивного випромінювання були отримані у клітин дріжджів у 1925 р. російськими дослідниками Г. А. Надсоном (1867–1940) і Г. С. Філіпповим (1900–1934), та у дрозофіли 1927 р. американським генетиком Г. Д. Меллером.

Серед фізичних мутагенів найбільше значення має іонізуюче опромінення. Іонізуючі промені поділяють на електромагнітні (рентгенівські і гама-промені з довжиною хвилі не більше ніж 10 нм), та корпускулярні (бета- та альфа-частки, протони, нейтрони). Проходячи через клітину, вони вибивають із зовнішніх оболонок атомів і молекул електрони. Останні приєднуються до інших нейтральних атомів і молекул, які набувають електричного заряду, тобто іонізуються. Внаслідок дії іонізуючих випромінювань можуть відбуватися розриви водневих з'вязків у молекулах ДНК та РНК, виникати з'єднання між ланцюгами ДНК, або між ДНК і білками.

Ультрафіолетові промені мають значно більшу довжину хвилі (до 400 нм) і меншу енергію, аніж рентгенівські. Вони не іонізують атоми, а тільки додають енергії («збуджують») електронним оболонкам. Як наслідок, в опромінених клітинах відбуваються різні некеровані хімічні реакції: утворення димерів тиміну, гідратація цитозину та урацилу, розриви водневих зв'язків, «зшивання» ДНК з білками тощо. Найбільш мутагенним виявилось опромі-

Біологія. Том 1. Сергійчук І.М., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

нення з довжиною хвилі близько 260 нм, оскільки ДНК поглинає УФ-промені саме цієї довжини.

Внаслідок дії ультрафіолетового світла *in vivo* виникнення тимінових димерів є найбільш типовою і поширеною зміною структури ДНК. Підраховано, що кожен такий димер викликає затримку реплікації ДНК на 10–15 секунд, і накопичення подібних змін призводить до суттєвих наслідків. Однак завдяки репарації ці ушкодження частково або повністю видаляються.

Підвищення температури на кожні 10 °С збільшує частоту генних мутацій приблизно в 3–5 разів.

Найбільш відомі *хімічні мутагени* — це органічні пероксиди, акридинові барвники, алкілуючі сполуки, азотиста кислота, аналоги азотистих основ, антибіотики, фітонциди. До біологічних мутагенів належать фаги, плазміди, Tn-елементи.

Перші хімічні мутагени були відкриті в 30 роках XX сторіччя та ретельно вивчені українськими генетиками С. М. Гершензоном (1906–1998) та І. А. Рапопортом (1912–1990), російськими вченими В. В. Сахаровим (1902–1969) та М. Є. Лобашовим (1907–1971) та британською дослідницею Ш. Ауербах, які вперше виявили 100 %-вий мутагенний ефект особливих речовин — *супермутагенів*. Найсильніші хімічні мутагени належать до групи *алкілуючих сполук*, які здатні переносити алкільні групи (CH_3, C_2H_5 і т.д.) до інших молекули. До алкілуючих сполук належать такі мутагени, як диметилсульфат, диетилсульфат, гірчичний газ (іприт) і його похідні, етиленімін, N-нітрозоалкілсечовина, нітрозометилсечовина, нітрозоетилсечовина, етилметансульфонат. Найсильніша з них — диетилнітрозосечовина, яка підвищує частоту мутацій у мишей майже в 90 разів. Алкілуючі сполуки хімічно змінюють азотисті основи нуклеїнових кислот, вводячи до їхнього складу залишки вуглеводів, головним чином метил та етил. Змінені алкілуючими сполуками азотисті основи утворюють водневі зв'язки з нехарактерними партнерами, що призводить до виникнення генних мутацій та різноманітних перебудов хромосом.

До другої групи належать речовини, за хімічною структурою близькі до азотистих основ (аналоги азотистих основ) — 5-бромурацил, 5-бромдезоксиуридин, 5-фтордезоксиуридин, 2-амінопурин тощо. Дія аналогів азотистих основ проявляється в утворенні *таутомерних форм* внаслідок виникнення незвичних водневих зв'язків в молекулі ДНК. Так, внаслідок таутомеризації аденін переходить в імінну форму та утворює пару з цитозином. Таутомеризація може призводити до генних мутацій.

Третю групу хімічних мутагенів складають *акридинові барвники*, наприклад, акридин жовтий, 5-аміноакридин, профлавін. Акридинові барвники, із яких в якості мутагена частіше всього використовують профлавін, утворюють комплекси з ДНК, які перешкоджають нормальному перебігу реплікації.

До четвертої групи належать різноманітні за хімічною будовою речовини, через що молекулярні механізми їх мутагенної дії дуже відмінні (азотиста кис-

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сивка Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

лота, гідроксиламін, різні перекиси, уретан, формальдегід та ін.). Так, при дії азотистої кислоти (HNO_2) на бактеріальну клітину відбувається дезамінування азотистих основ та утворення зшивок між сусідніми нитками ДНК.

До *біологічних мутагенів* належать віруси бактерій, певні плазміди та біологічно активні речовини — переважно деякі ферменти (наприклад, О-стрептолізин, рестриктази тощо) та поліпептиди.

4.7. Генетичні процеси, що забезпечують відносну стабільність геному

Для забезпечення незмінності передачі спадкової інформації існують механізми захисту ДНК від можливих ушкоджень. Чужорідна інформація може потрапляти ззовні у складі вірусів та інших інфекційних агентів, здатних включати свій генетичний матеріал у хромосому клітини-хазяїна. Бактеріальні клітини мають механізми захисту від чужорідної генетичної інформації, зокрема системи рестрикції, модифікації та репарації.

Системи модифікації і рестрикції ДНК. Для успішного захисту клітина мусить добре відрізняти власну ДНК від сторонніх. Особливі ферменти — *метилази* — модифікують видоспецифічні послідовності нуклеотидів із аденіном і цитозином в ДНК (*метилювання*). Дія метилаз спричинює наявність у ДНК різних бактеріальних клітин мінорних азотистих основ, наприклад, 5-метилцитозину, 6-метиламінопурину та ін. Ці основи безпосередньо не включаються в ДНК під час реплікації, а виникають у складі вже синтезованих полінуклеотидів внаслідок ферментативної модифікації (від лат. *modus* — міра та *facio* — роблю).

Інші спеціалізовані ферменти — ендонуклеази рестрикції (*рестриктази*) розпізнають в ДНК певну неметильовану чужорідну послідовність, яка потрапила в клітину, та руйнують (розрізають) її. *Рестрикція* (від лат. *restrictio* — обмеження) — розрізання молекули ДНК особливими ферментами — рестриктазами.

Обидва види ферментативної активності (метилазна і рестриктазна) можуть належати одному або кільком білкам-ферментам. В обох випадках вони становлять собою *системи модифікації-рестрикції* або *MR*-системи.

Послідовності нуклеотидів, що слугують місцями приєднання ферментів до ДНК (сайти впізнавання), розпізнають ферменти різних *MR*-систем. Залежно від типу останніх ці послідовності можуть співпадати або не співпадати з тими, яких руйнують рестриктази (*сайти рестрикції* або сайти-мішені). Метилювання в певних сайтах захищає ДНК від руйнування рестриктазами.

Системи модифікації і рестрикції були відкриті завдяки їх дії на фагову ДНК. Остання може успішно інфікувати бактерії певного типу модифікації із одного штаму. Однак внаслідок міжштамового переносу фагової ДНК на неї діють рестрикційні ендонуклеази нового штаму. Таким чином, фаг обмежений одним бактеріальним штамом. Деякі фаги уникають рестрикції, внаслідок або

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сеятчук М.І., Сікора Л.М., Сеятчук Т.М. та ін

мутацій в сайтах-мішенях, або неточності роботи *MR*-системи інфікованої клітини. В останньому випадку фаг модифікується до нового штаму-хазяїна. Один і той же штам здатний здійснювати декілька типів модифікації і рестрикції. Відомо понад 400 рестриктаз різного походження, що здатні розпізнати біля 100 специфічних сайтів-мішеней; отже, ферменти, отримані із різних джерел, можуть розрізати одну і ту ж послідовність нуклеотидів.

Ферменти рестрикції і відповідно *MR*-системи поділяють на три типи.

Рестриктази типу 1 відомі, наприклад, у штамів *E. coli B* і *K*, які відповідно отримали назви рестриктаз *Eco B* та *Eco K*. Всі ферменти першого типу становлять собою комплекси, що складаються із трьох типів субодиниць: *R*-субодиниць, що відповідають за рестрикцію, *M*-субодиниць, відповідальних за метилювання, та *S*-субодиниць, які розпізнають сайт рестрикції і специфічність ферменту. Вони відповідно кодовані генами *hsdR, hsdM* і *hsdS*. Отже, в *MR*-системах 1-го типу рестрикцію та модифікацію здійснює один фермент. Коли *S*-субодиниця розпізнає певний сайт, фермент зв'язується з ДНК, що спричинює подальшу рестрикцію або модифікацію останньої. Типи активності субодиниць *R* і *M* взаємно виключають одна одну. Рестриктаза типу 1, приєднуючись до одного із сайтів чужої ДНК, здійснює її гідроліз в іншому сайті на відстані понад 1000 пар основ від сайту впізнання. Сайти-мішені власної ДНК повністю метильовані або напівметильовані (наприклад, після реплікації або репарації). Напівметильовані сайти остаточно метилюються *M*-субодиницями, які використовують *S*-аденозилметионін як донора метильної групи; він також потрібний для рестрикції як алостеричний (від грец. *allos* — інший та *stereos* — твердий, міцний) ефектор, тобто регулює активність певних ферментів.

До *рестриктаз типу 2* належать ферменти, що здійснюють розріз молекули ДНК безпосередньо в сайті впізнання (наприклад, рестриктази *Eco R 1*, *Bst I*, *Hind III*, *Alu I* та ін.). Вони, на відміну від типу 1, відповідають лише за акт рестрикції; метилювання того ж сайту здійснює інший фермент — метилаза. Рестриктаза *Eco R1* становить собою димер із двох ідентичних субодиниць. Більшість рестриктаз типу 2 розрізає ДНК в неметильованих сайтах-мішенях, утворюючи так звані або «тупі», або «липкі» одноланцюгові кінці фрагментів ДНК. Сайт рестрикції як правило, симетричний; нуклеотидні послідовності обох ланцюгів ДНК в одному і тому ж напрямку (наприклад, від 5'- до 3'-кінця) зчитуються однаково, тобто утворюють центральносиметричний паліндром.

Рестриктази 3-го типу розривають ланцюг ДНК не в сайті впізнавання, а в протилежність рестриктазам 1-го типу неподалік від нього. Подібно до ферментів 1-го типу, до ферментів типу 3 входять рестриктаза та метилаза.

Механізми репарації ушкодженої ДНК. Встановлено, що бактеріальна ДНК має здатність до самовідновлення (репарації) пошкоджень генетичного матеріалу за допомогою особливих репараційних систем. Функції репараційних ферментів полягають у встановленні та вирізанні місця пошкодження ДНК, ресинтезі пошкоджених фрагментів та вбудовуванні останніх до молекули ДНК. У *E. coli*

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сівіна І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

досліджено кілька механізмів репарації ДНК, серед яких розрізняють пряму (світлову, або фотореактивацію) реактивацію та темнові репарації. Останні включають виправлення помилок реплікації ДНК, ексцизійну, постреплікаційну та *SOS*-репарації.

Пряма реактивація ушкоджених молекул ДНК. Світлова репарація (фотореактивація). Завдяки фотореактивації під дією видимого світла розриваються ковалентні зв'язки між сусідніми піримідиновими основами, раніш утворені в умовах ультрафіолетового опромінення (220–320 нм), зокрема, при ліквідації тимінових димерів.

Світлова репарація тимінових димерів здійснюється фотореактивуючим ферментом — *фотоліазою*. Вона здатна поглинати світлові промені, що призводить до активації ферменту. Світло, яке викликає утворення піримідинових димерів, водночас активує фотолізу. Цей фермент, в свою чергу, каталізує розрив ковалентних зв'язків між сусідніми піримідинами (рис. 4.24), зумовлюючи відновлення структури ДНК.

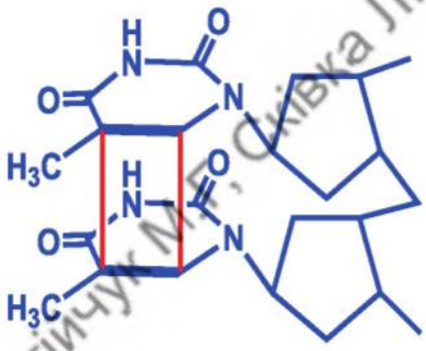


Рис. 4.24. Тиміновий димер

У *E. coli* цей фермент кодується одним геном (*phr*) і становить собою пов'язаний із олігорибонуклеотидом (10–15 основ) поліпептид з молекулярною масою 35 *KD*. Піримідинові димери усуваються також в системах темнової репарації, які не потребують освітлення.

Одним із найбільш відомих пошкоджуючих впливів на ДНК є *алкілування* азотистих основ — ковалентне приєднання метильних чи етильних груп до атомів О або N. Пряма репарація таких пошкоджень можлива за рахунок активності специфічних метилтрансфераз, що відщеплюють метильні групи. Наприклад, таким шляхом репаруються O^6*-метилгуанін* та O^4*-метилтимін*. Метилтрансферази відщеплюють метильну групу та приєднують її до залишку *Cys* у своєму активному центрі.

Ексцизійна репарація ДНК. Виправлення порушень нуклеотидів здійснюється шляхом ексцизійної репарації, коли пошкоджена одноланцюгова ділянка вирізається з ДНК, а інший ланцюг використовується далі як матриця нового синтезу.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Е., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

При ексцизійній репарації азотистих основ вирізання аномальних азотистих основ відбувається під впливом ДНК-N-глікозилази (рис. 4.25), яка розщеплює глікозидний зв'язок між дезоксирибозою та азотистою основою. Внаслідок утворюється так званий *АП*-сайт (апуриновий / апіримідиновий).

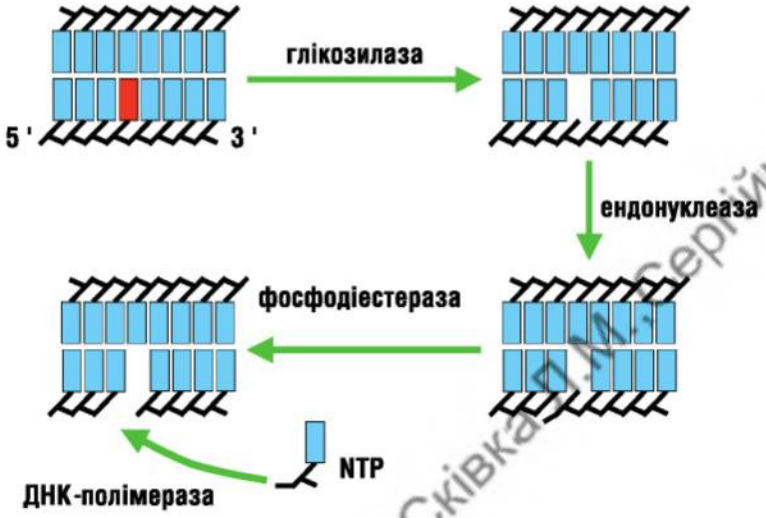


Рис. 4.25. Ексцизійна репарація азотистих основ

Ендонуклеаза в цьому сайті гідролізує фосфодиефірний зв'язок між 5'-фосфатом звільненої від основи дезоксирибози та попереднім нуклеотидом. Після цього *екзонуклеаза* послідовно відщеплює кілька нуклеотидів від пошкодженої ділянки ланцюга ДНК. Вивільнене місце забудовується за участю *ДНК-полімерази I*. Останній етап ексцизійної репарації — зшивання репарованих ділянок — забезпечує *ДНК-лігаза*.

Нуклеотидна ексцизійна репарація — це АТР-залежний механізм видалення пошкоджень (модифікована основа, тиміновий димер тощо) із наступною реконструкцією ланцюга ДНК.

Видалення фрагмента ДНК відбувається за рахунок *ексинуклеази*. У *E. coli* цей фермент складається з трьох різних протомерів (білків) — *uvrA, uvrB, uvrC* (рис. 4.26). Ці протомери взаємодіють із ДНК у визначеній послідовності, здійснюючи АТР-залежну реакцію видалення тимінового димера.

Спочатку комплекс білка *uvrB* та двох білків *uvrA* розпізнає пошкодження та зв'язується з ДНК у цьому місці. На наступному етапі відбуваються АТР-залежна зміна конформації *uvrB*, вигин ДНК та дисоціація *uvrA*. До комплексу рекрутується білок *uvrC*. Обидва білки у складі комплексу набувають ендонуклеазної активності: *uvrC* здійснює одноланцюговий розріз за кілька нуклеотидів до 5'-кінця від пошкодження (ліворуч на рис. 4.26), а *uvrB* — розріз із іншого боку від пошкодження. Довжина ділянки між розрізами становить 12 (13 для

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Серійчук М.Г., Сківка Л.М., Серійчук Т.М. та ін

тимінового димера) нуклеотидів. Згодом *геліказа uvrD* руйнує подвійну спіраль між двома розрізами, видаляючи пошкоджену ділянку. Прогалина, що залишилася, заповнюється *ДНК-полімеразою I*, а *лігаза* остаточно відновлює цілісність ланцюга.

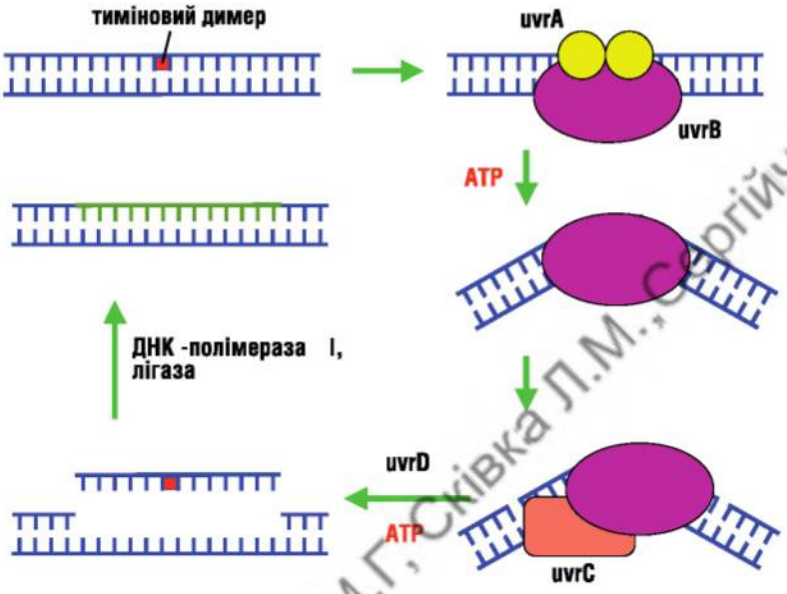


Рис. 4.26. Система *uvrABC* ексцизійної репарації нуклеотидів у *E. coli*

Репарація некомплементарних пар основ — місметчів. Незважаючи на редагування помилок під час реплікації, певна кількість невірно спарених основ залишається у синтезованих ланцюгах ДНК. При репарації місметчів (від англ. *mismatch* — невідповідність) з двох некомплементарних нуклеотидів замінюється лише той, що входить до синтезованого ланцюга.

У бактеріальній клітині за репарацію місметчів відповідає так звана система *mutHLSU*. У бактеріальному геномі на середній відстані у 256 пар основ розташовані короткі паліндромні послідовності *CTAG*, у складі яких аденін знаходиться у постреплікативно метильованій формі. Відразу після реплікації метильований лише матричний (материнський) ланцюг. За цей час відбувається репарація (рис. 4.27): білок *mutS* впізнає місметч і рекрутує білок *mutL*. Останній взаємодіє із двома білками *mutH*, які зв'язуються з тетрануклеотидними паліндромними сайтами по обидва боки місметча. У складі утвореного комплексу *mutH* набуває ендонуклеазної активності та розрізає неметильований ланцюг в межах одного сайту, випадково вибраного з пари.

Згодом геліказа *mutU* розплітає подвійну спіраль, а екзонуклеаза руйнує ланцюг від розрізу до місметча. Згодом цей одноланцюговий розрив заповнюється ДНК–полімеразою III, а лігаза остаточно зашиває його.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

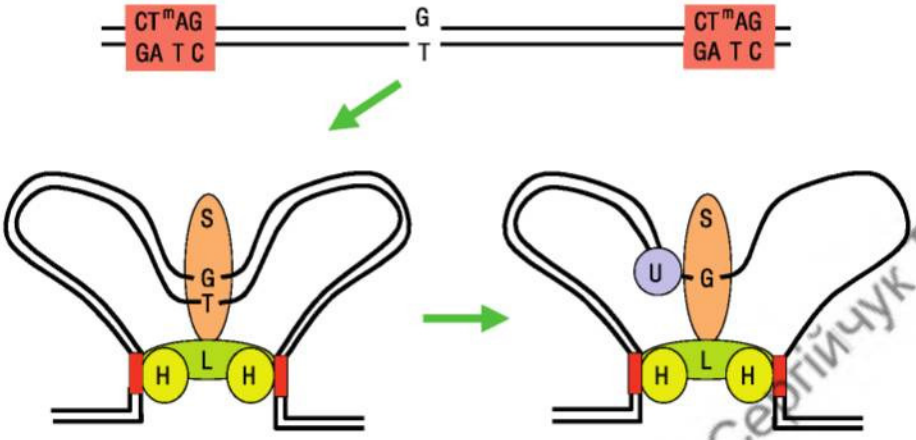


Рис. 4.27. Система репарації місметчів *mutHLSU*

Постреплікативна (рекомбінаційна) репарація. За порушень репарації в ланцюгах ДНК можуть утворюватись недорепаровані ділянки, що впливає на систему реплікації і може призвести до загибелі клітини. За цих обставин клітина може використати для репарації однієї молекули ДНК іншу, тобто механізм рекомбінації. Зокрема, відбувається рекомбінація між утвореними під час реплікації. дуплексами ДНК. Гомологічний сегмент із неушкодженого матричного ланцюга ДНК закриває прогалину, що зумовлює репаративний синтез ДНК у сестринському ланцюзі.

Головну роль в обміні гомологічними ділянками між сестринськими дуплексами відіграє білок *RecA*, який має ДНК-залежну АТФ-азну активність та зв'язується з однонитковою ДНК. Він функціонує у складі комплексу із однонитковою ДНК (*RecA*-нуклеофіламенту). У процесі постреплікативної репарації беруть участь також білки *SSB, RecF, RecO* та *RecR*.

Системи індукованої репарації. SOS-репарація. Існування цієї системи вперше постульовано французьким біологом М. Радманом (*Miroslav Radman*, 1944 р. народження) у 1974 році. Він і дав назву цьому явищу, включивши в нього міжнародний сигнал про порятунок «*SOS*». Система включається при збільшенні числа пошкоджень ДНК до сублетального рівня.

У *E. coli SOS*-функції здійснюють особливі білки. Поява в клітині в результаті пошкоджень одноланцюгової ДНК викликає активацію близько 20 генів, два з яких, *lex A* та *recA*, регулюють *SOS*-репарацію. Транскрипцію цих генів пригнічує білок *LexA*, який водночас слугує репресором власного гена *lex A*. В операторах цих генів є *SOS*-бокси — ділянки, з якими взаємодіє *LexA*, пригнічуючи транскрипцію. Віддалення *LexA* від боксів, навпаки, включає транскрипцію *SOS*-генів.

Феномен *SOS*-відповіді тісно пов'язаний з рекомбінацією, оскільки головний білок *RecA*, який бере участь в цьому процесі, здатний сприймати сигнал про

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сєвєрін А.М., Сквіра Г.М., Сєвєрінчук Г.М. та ін.

появу одноланцюгової ДНК. Комплекс *RecA*–одДНК стимулює саморозщеплення, або *аутопротеоліз* (від грец. *auto* — сам, *protos* — перший та *lysis* — розклад) білка-репресора *LexA*, викликаючи дерепресію *SOS*-генів. Кодовані цими генами білки забезпечують *SOS*-репарацію. Сигналом для запуску *SOS*-репарації слугує затримка реплікації на ушкоджених ділянках матриці, що призводить до великої кількості розривів у дочірньому ланцюгу ДНК і накопиченню низькомолекулярних олігонуклеотидів.

За оптимальних умов *SOS*-система *E. coli* виключена. Це відбувається тому, що транскрипція генів, які відповідають за *SOS*-репарацію, заблокована спеціальним білком — репресором *LexA*. Інший білок, *recA*, розщеплює цей репресор, однак зазвичай його синтез репресований самим *LexA*. *SOS*-репарація активується лише за стресових умов. При цьому продукти деградації ДНК безпосередньо впливають на *recA*, змінена молекула якого зв'язується з репресором, який саморозщеплюється. Руйнування репресора *LexA* в свою чергу активує синтез (автоіндукцію) *recA* та призводить до активації *SOS*-системи внаслідок видалення репресора.

4.8. Плазміди

Плазміди — це позахромосомні фактори спадковості, які входять до складу багатьох прокаріотичних клітин. Плазміди становлять собою, як правило, кільцеподібні незалежні реплікони. Виключення складають представники родів *Streptomyces*, *Borrelia*, *Rhodococcus*, у яких виявили лінійні плазміди. Термін «плазміда» ввів американський генетик Дж. Ледерберг (*Joshua Lederberg*, 1925–2008) в 1952 р.

Плазміди не містять інформації про біосинтез, однак надають прокаріотичним клітинам особливі властивості. Так, *R*-плазміди містять гени стійкості до певних хімічних сполук (антибіотиків тощо), ступеню патогенності, наприклад, деяких штамів *E. coli*, збудників чуми тощо. Найбільші плазміди мають розміри від 60–90 і більше, а найменші — 6–9 т.п.н.

Деякі зазвичай великі за розмірами плазміди (так звані *епісоми*; від грец. *epi* — понад та *сома* — тіло) здатні до інтеграції в бактеріальну хромосому, наприклад, *F*-плазміди. В автономному стані епісома реплікується самостійно, а в інтегрованому — у складі хромосоми. Здатність вільно входити до складу хромосоми та виходити з нього пов'язана із наявністю в епісомах так званих мігруючих генетичних елементів.

Єдина номенклатура плазмід не розроблена. Для їх позначення зазвичай використовують латинську літеру «*p*», за нею латиною вказують ініціали автора (–ів), який (які) її відкрили або синтезували, і номер носія — бактеріального штаму. Наприклад, *pBR*322 — плазміда, синтезована у 1977 р. сучасними мексиканськими біологами під керівництвом Ф. Болівара (*Francisco Gonzalo Bolívar Zapata*, 1948 р.н.). Часто використовують літери, які вказують на функцію плазмі-

Біологія. Том 1. Сенійчук М.Г., Скіпка Л.М., Сенійчук Т.М. та ін.

ди (наприклад, *pEX* для вектора експресії). В назвах плазмід, які містять гени стійкості до антибіотиків, статевих факторів або коліцинів, початкова літера «*p*» відсутня (наприклад: *R*100, *F*, *ColE*1).

Кон'югативні та некон'югативні плазміди. Плазміди поділяють на кон'югативні та некон'югативні (від лат. *conjugatio* — зв'язок). Кон'югативні плазміди здатні переносити власну ДНК від клітини-донора до реципієнта при кон'югації. Їхня молекулярна маса становить від 26 до 75x10^6 а.о.м. До кон'югативних плазмід належать *F*-плазміда, що забезпечує фертильність (від лат. *fertilis* — плодючий), тобто здатність бактеріальних клітин до кон'югації; *R*-плазміди, деякі *Col*-плазміди тощо.

F-плазміда виявлена у здатних до кон'югації бактерій (рис. 4.28). Це кільцева нитка ДНК розмірами до 90 т.п.н. з молекулярною масою 60x10^6 а.о.м., яка містить область переносу («гени *tra*») з точкою початку переносу (*ori T*), де під час кон'югації розпочинається перенесення ДНК, і продовжується до *лідерної області*. F-плазміда містить чотири мобільних генетичних елементи — IS2, *Tn*1000 та два *IS*3 (*IS*3*a* та *IS*3*b*) та пару районів реплікації — *RepFIA* та *RepFIB* з ділянкою двонаправленої вегетативної реплікації *oriV*. Числа всередині карти позначають координати в т.п.н. Ген *finO* (кодуючий репресор) інактивований вторгненням *IS*3, внаслідок чого відбувається синтез регуляторної РНК на *finP*.

Рис. 4.28. Структура *F*-плазміди

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сверлінчук М.Г. Скіпка Т.М. Сверлінчук Т.М. та ін

Область переносу (*Tra*-ділянка) — група генів, які забезпечують передачу плазміди між клітинами. *Лідерна область* — сегмент ДНК, який перший проникає до клітини-реципієнту при кон'югації. Вона містить *детермінанти* — інсталяційні гени, які забезпечують існування плазміди в новій клітині. *Інсерційні елементи* (*IS*-елементи) (від англ. *insertion sequences* — послідовності включення) — сегменти ДНК, здатні синхронно змінювати ділянки локалізації. *Транспозони* (*Tn*) (від англ. *transpose* — переміщення та закінчення «-*on*») — мобільні генетичні елементи ДНК, які переміщуються між сайтами.

Кожній хромосомі відповідають одна-дві *F*-плазміди (т. зв. «хромосомний еквівалент»), які реплікуються незалежно від хромосоми. Вони надають клітині донорських властивостей, оскільки можлива кон'югація внаслідок утворення специфічних пілей. Пілі різняться за морфологічними особливостями, антигенними властивостями, рецепторами для адсорбції фагів. Вони сприяють ефективному паруванню бактерій-донорів із реципієнтними клітинами.

Здатність кон'югативних плазмід виконувати функцію донора визначається наявністю в них *tra*-оперона. До складу останнього входять гени, що контролюють: 1) утворення пілей; 2) «поверхневе виключення»; 3) стабілізацію контактів клітин під час кон'югації; 4) регулювання кон'югаційного процесу; 5) однонитковий розрив одного із ланцюгів плазмідної F-ДНК та перенесення цього ланцюга до клітини-реципієнта.

F-плазміда існує у двох альтернативних станах — автономному (від грец. *autonomia* — самоуправління) та інтегрованому (від лат. *integratio* — об'єднання) в хромосому.

Для передачі генів плазміда спочатку фізично інтегрується в хромосому бактерії. Процес інтеграції потребує наявності певних ідентичних послідовностей ДНК на плазміді та бактеріальній хромосомі.

Хромосома *E. coli* містить 7 копій *IS*1, 13 — *IS*2 та 6 — *IS*3. *F*-плазміда несе дві ідентичні *IS*3 та одну *IS*2 копію. Відповідно, інтеграція *F*-плазміди може відбутись на хромосомних ділянках *IS*3 та *IS*2 у будь-якому напрямку.

Коли *F*-плазміда в складі хромосоми переходить до іншої клітини при кон'югації, вона переносить приєднані раніше гени. Відповідно, виникають *Hfr* донорські штами, в клітинах яких кон'югативна плазміда інтегрована до одного із хромосомних сайтів (у *E. coli* їх 12) шляхом гомологічної рекомбінації за участю *IS*-елементів. *Hfr*-донори переносять хромосомні гени з високою частотою. Рекомбінанти за хромосомними генами утворюються при схрещуваннях *Hfr* x F^- з частотами 10^3–10^4, істотно вищими, ніж при схрещуваннях F^+ x F^-.

Донорські клітини, які містять *F*-плазміду у формі, здатній до автономної реплікації із сайта *oriV*, отримали назву F^+. Реципієнтна клітина F^- здатна приймати ДНК від бактерії-донора шляхом горизонтального переносу генів. Більше 70 % екскон'югатів, які утворюються при схрещуваннях F^+ x F^-, успадковують статевий фактор, тобто стають донорами.

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

F'-плазміда, отримана із *Hfr*–штаму, шляхом незаконної рекомбінації захоплює хромосомні гени із хромосоми хазяїна (так званий третій тип донорів).

Властивості плазмід. Основна властивість плазмід — здатність до автономної реплікації, яку забезпечує система самовідтворення. *F*-плазміда має два повних основних реплікони *RepFIA, RepFIB* і неповний *RepFIC*. Присутність *IS*-елементів дозволяє плазміді включатись у велику кількість ділянок хромосоми хазяїна. Це відбувається шляхом рекомбінації між гомологічними *IS*-елементами; тому вбудована плазміда фланкована повторами *IS*-послідовностей (рис. 4.29).

Рис. 4.29. Інтеграція плазміди у бактеріальну хромосому

Вегетативна реплікація. Поділ прокаріотної клітини завжди супроводжується реплікацією плазмід та хромосом. Цей процес (*вегетативна реплікація*) має постійну швидкість, тому кількість утворених копій завжди однакова. Вегетативна реплікація відбувається за відсутності переносу плазмід. Вона розпочинається в початковій точці *oriV*, незалежно від точки переносу *oriT*.

Частина плазмід грамнегативних бактерій нездатна до самоперенесення, однак практично всі вони можуть бути ефективно мобілізованими корезидентною (від лат. *co* — разом та *residens* — сидячий) кон'югативною плазмідою з хелперною функцією (від англ. *help* — допомога). Некон'югативні плазміди, які втратили модуль кон'югації, здатні до передачі в присутності трансмісивних (мобілізуючих) плазмід, використовуючи їх апарат кон'югації.

Мобілізація (від лат. *mobilis* — рухомий) —передача некон'югативних плазмід за участю кон'югативних, наприклад, *CoLE* 1 (6,6 т.п.н.); *RSF*1010 (8,7 т.п.н.); *pSC*101 (9,3 т.п.н.).

Природні плазміди, які складаються тільки із основного реплікона і не справляють помітного впливу на фенотип клітини-хазяїна в цілому, отримали назву *криптичних* (від грец. *kryptos* — прихований).

В одній клітині можуть водночас перебувати кілька типів лише неспоріднених плазмід, наприклад, статевий фактор і фактор бактеріоциногенії.

Несумісність — нездатність двох споріднених плазмід існувати в одній бактеріальній клітині. Вона зумовлена блокуванням реплікації та розподілу дочірніх молекул ДНК. Несумісність характерна в основному для однокопійних

БІОЛОГІЯ ТОМ 1 Серійчук М.І., Сківка Л.М., Серійчук Т.М. та ін

плазмід; це пояснюють наявністю на клітинній мембрані лише одного специфічного сайта зв'язування плазмідної ДНК. Плазмід класифікують за групами несумісності: *IncP* (плазміди *RP*4 та *RK*2), *IncF*1 (плазміди *F* та *Col*V), *IncF*11 (плазміда R 1), I*ncY* (фаг *P*1).

Збереження плазмід у бактеріальних популяціях забезпечують системи розподілу і залежності. При реплікації за θ-типом та рекомбінаціях утворюються димерні або мультимерні (щеплені) кільцеві структури. Для передачі інформації дочірнім клітинам ці мультимери розпадаються на індивідуальні одиниці під впливом ДНК-топоізомераз клітини-хазяїна. Багато плазмід мають власні сайт-специфічні системи рекомбінації для ефективного розподілу мультимерів.

Серед плазмід розрізняють *вузько специфічні*, обмежені одним видом хазяїна, і *широко специфічні*; наприклад, плазміда *RP*4 здатна вражати клітини більшості грамнегативних бактерій. Плазміди з вузькою специфічністю використовують апарат реплікації хазяїна, а з широкою — несуть гени білків, які беруть участь в реплікації.

Реплікації *F*–плазмід та бактеріального геному відбуваються узгоджено. В кожній клітині знаходяться одна-дві копії плазміди (модуль I: реплікація з суворим контролем). Інший тип реплікативного модуля не має подібного узгодження, тому в клітині міститься 10–30 копій (модуль II: реплікація з ослабленим контролем). За модуля III кожна плазміда включає одну або декілька систем розподілу. Великі за розмірами (кон'югативні) плазміди здатні до *функції переносу* — горизонтального перенесення до інших клітин хазяїна.

Плазміди резистентності. Модулі іншого типу — плазміди резистентності, або *R*–плазміди (від лат. *resistentia* — протидія) — містять гени, які кодують ферменти (наприклад, бета-лактамаза), що інактивують антибіотики. Стійкість до антибіотиків часто поширюється в бактеріальній популяції завдяки генам, які знаходяться у складі *R*-плазмід. Гени стійкості дуже часто входять до складу транспозонів (від лат. *trans* — через, наскрізь, та *poson* — розміщений) — рухомих генетичних елементів, якими обмінюються плазміди між собою або плазміди та хромосоми.

Модульна будова типових *R*-плазмід представлена на малюнку (рис. 4.30). Із 100 тис. нуклеотидних послідовностей близько 50 % гомологічні певним ділянкам *F*-плазмід. Останні містять гени (*tra*-гени), необхідні для кон'югації і реплікації зі суворим контролем; зокрема гени, що контролюють стійкість до тетрацикліну. Друга частина *R*-плазміди не споріднена з *F*-плазмідою та несе модулі, які відповідають за резистентність до інших антибіотиків (стрептоміцину, сульфаніламідів, хлорамфеніколів і канаміцину).

Механізми стійкості дуже різноманітні і широко поширені у прокаріотів. Вивчені наступні гени стійкості до антибіотиків: *amp* (до ампіциліну), *cat* (до хлорамфеніколу), *kan* (до канаміцину), *str* (до стрептоміцину). Вони кодують ферменти, які модифікують антибіотики шляхом фосфорилювання, ацетилювання тощо. Ген *bla* кодує фермент β-лактамазу, яка розщеплює пеніциліни; стійкість до тетрациклінів зумовлена зміною проникності клітинної мембрани для цих речовин.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук А.Г., Скібіна Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

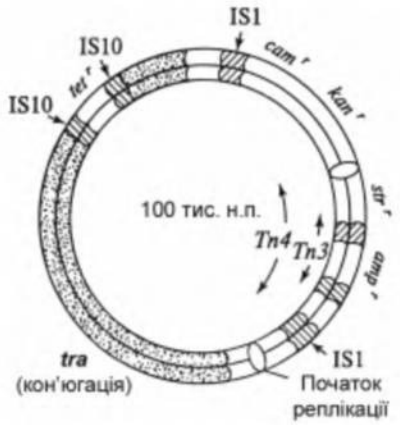


Рис. 4.30. Структура кон'югативної *R*-плазміди. Світла зона — область початку реплікації (*ori*). Гени резистентності до антибіотиків: тетрацикліну — *tet*^{r}, хлорамфеніколу — *cam*^{r}, канаміцину — *kan*^{r}, стрептоміцину — *str*^{r}, ампіциліну — *amp*^{r}. Крапками виділені сегменти, небхідні для кон'югації (*tra*); мобільні елементи заштриховані

Передача *R*-фактора під час кон'югації здійснюється за 10 хвилин. Єдина донорська клітина здатна передавати гени резистентності багатьом клітинам. Передача *R*-фактора відбувається з досить високою частотою і залежить від виду бактерій (наприклад, у ешеріхій з частотами 1,5–7,6 %). Це зумовлює широке поширення *R*-плазмід серед патогенних та умовно-патогенних бактерій, що ускладнює хіміотерапію. Найчастіше *R*-фактор виявляють серед ентеробактерій (шигели, сальмонели, ешеріхії) та стафілококів.

Плазміди бактеріоциногенії. Плазміди бактеріоциногенії (від грец. *bakterion* — паличка, лат. *caedo* — вбивати та грец. *genesis* — походження) — екстрахромосомні генетичні структури прокаріотів, які детермінують синтез *бактеріоцинів* — речовин, що інгібують ріст і розмноження інших бактерій. Бактеріоцини — речовини білкової природи; під електронним мікроскопом нагадують корпускули (відростки) фага.

Вперше бактеріоцини виділені з *E. coli*, тому їх також називають коліцинами. Їх синтез контролюють специфічні коліциногенні плазміди (*Col* фактори), наприклад, для бактерій чуми — це пестицини, холерних вібріонів — вібріоцини, стафілококів — стафілоцини (початок терміну — від частин латинських назв відповідних організмів — *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae* тощо).

Бактеріоциногенний фактор належить до плазмід, які рідко інтегрують до хромосом і стійкі до елімінуючих факторів. Багато таких плазмід — потенційно летальні, оскільки їхнє розмноження супроводжується загибеллю клітини хазяїна.

Показано, що після адсорбції на рецепторах зовнішньої мембрани бактерій коліцини *E*2 та *E*3 порушують функцію рибосом, інші — впливають на цитоплазматичну мембрану бактерій.

БІОЛОГІЯ Том 1, Сергійчук М.І., Сківка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

Коліциногенні (*Col*) плазміди знаходяться в клітинах ентеробактерій в автономному стані і передаються при кон'югації без зчеплення з хромосомою. Деякі з них (*Col B*) здатні потрапляти в бактеріальну хромосому та інтегрувати з нею. Вони, подібно *F*-плазмідам, завдяки наявності *tra*-оперону при кон'югації потрапляють до реципієнтних клітин. За стандартних умов культивування в більшості клітин популяції синтез коліцину не відбувається. Приблизно в одній із 1000 клітин відмічається так звана спонтанна продукція коліцину. Активувати його синтез іншими клітинами можливо завдяки УФ-опроміненню. Здатність плазмід виділяти бактеріоцини використовують для типування бактерій (наприклад, *Shigella dysenteriae*) та виявлення вогнища інфекції.

Плазміди деградації. Плазміди деградації (від лат. *degradatio* — пониження) забезпечують участь бактеріальних клітин в обміні різноманітних речовин, наприклад, у *Pseudomonas* — аліфатичних (октан, декан), ароматичних (ксилоли, толуол, нафталін) та хлоровмісних вуглеводів, в тому числі пестицидів, а також продуктів їх окислювальних перетворень (саліцилат, бензоат), терпенів тощо. Інші бактерії містять плазміди, відповідальні за розщеплення вуглеводів (наприклад, сахарозу, рафінозу, лактозу тощо).

4.9. Мобільні генетичні елементи

Мобільні (*мігруючі*) *генетичні елементи* — це особливі ділянки ДНК, здатні безпосередньо переміщуватись між сайтами хромосоми або у позахромосомну ДНК в межах клітини (явище *транспозиції*). Вони зумовлюють високу частоту хромосомних мутацій. За особливостями структури мобільні елементи прокаріотів належать до *інсерційних* послідовностей (*IS-елементи*), *транспозонів* (*Tn*) та певних бактеріофагів.

Інсерційні послідовності. Інсерційні (вставні) послідовності (*IS*-елементи) поширені в клітинах прокаріотів, їх фагах і плазмідах. Вони були відкриті у 1976 р. німецькими дослідниками П. Старлінгером (*Peter Starlinger*, 1931р. н.) та Х. Седлером (*Heinz Saedler*, 1941р. н.) при вивченні мутацій в *gal*-опероні *E. coli*. *IS*-елементи містять мінімальне число генів, які необхідні для транспозиції. Інколи їх називають простими транспозонами.

Розміри цих елементів становлять від 750 до 1550 п.н. На обох кінцях кожного елемента розташовані необхідні для переміщення майже ідентичні інвертовані послідовності (*IR*). Довжини *IR*-послідовностей варіюють від 9 до 41 п.н. Більшість *IS*-елементів в центральній частині містить одну відкриту рамку зчитування, а деякі (*IS* 1-елементи) — дві рамки.

IR (від англ. *inverted repeat*) — ділянка молекули нуклеїнової кислоти, два сегмента якого мають однакову нуклеотидну послідовність, але протилежну її орієнтацію (цис-положення).

Рамка зчитування (*tnp*) — послідовність триплетів, яка розпочинається із стартового кодона і закінчується нонсенс-кодоном (від лат. *non* — ні та *sensus* —

БІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

зміст). Ген *tnp* кодує фермент *транспозазу*. Останній взаємодіє із інвертованими кінцевими послідовностями під час переміщення. Проникнення транспозонів в новий локус супроводжується дуплікацією послідовності, що складається з декількох нуклеотидів в сайті — мішені. В ділянці вбудовування послідовностей в геномній ДНК утворюється дуплікація від 5 до 9 п.н. завдовжки (рис. 4.31).

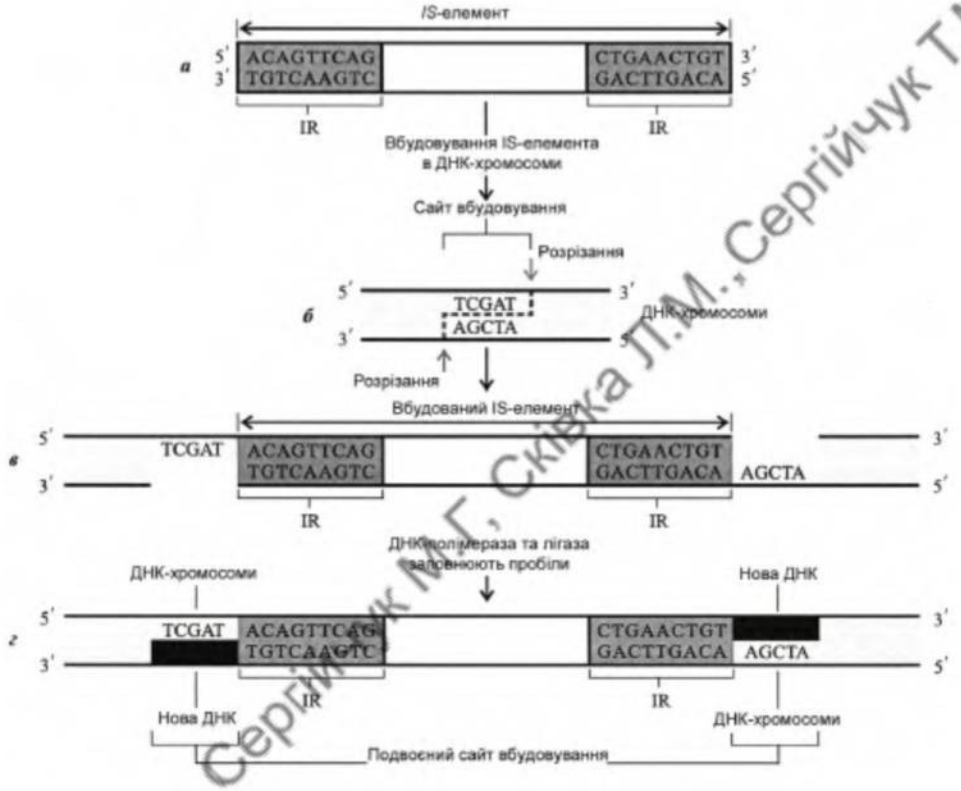


Рис. 4.31. Схема будови та інсерції *IS*-елемента в хромосомну ДНК бактерії

Під час переміщення *IS*-послідовності відбувається копіювання вбудованого елемента, після чого останній залишається на місці, а синтезований — переходить до нового сайту.

Транспозони. *Транспозони* (від англ. *transposable element*) — мобільні сегменти ДНК, які переміщуються всередині геному із одного сайта в інший. Відомо два типи транспозонів прості (див. вище) та складні.

Складні транспозони позначають як *Tn1*, *Tn5* або *Tn10*. Транспозони розміщені переважно в *R*-плазмідах та містять гени стійкості до антибіотиків (рис. 4.32).

Складні транспозони поділяють на два класи.

Транспозони класу 1 (*Tn*10) містять на кінцях інсерційні послідовності, які здатні переміщувати розташовані між ними маркери, зокрема стійкості до лікарських

БІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

препаратів. За необхідності можливо здійснити селекцію певного транспозона. Два *IS*-елемента, які знаходяться на кінцях транспозона, можуть мати як пряму, так і інвертовану орієнтацію (рис. 4.33). У багатьох транспозонів *IS*-елементи не повністю ідентичні, і лише один із них здатний кодувати активну транспозазу.

Рис. 4.32. Карта плазміди стійкості *R*100

Обидва *IS*-елемента в межах одного транспозона належать до одного типу і мають відповідні назви «*IS-L*» (лівий) та *IS-R*» (правий). Інформація, необхідна для переміщення складного транспозона, міститься в його *IS* частині (або *IS 10-L*, або *IS 10-R*), але дія *IS 10-R* більш ефективна, зокрема для *Tn*10.

Рис. 4.33. Структура складного транспозона *Tn*10

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г. Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Транспозони класу 1 переміщуються шляхом нереплікативного (консервативного) механізму вирізання та вбудування. Нереплікативна транспозиція починається з утворення ступінчатих розрізів із обох боків транспозуючого елемента донорської молекули та ДНК-мішені. Переміщення транспозона здійснює фермент *транспозаза*. По-перше, вона розпізнає інвертовані повтори на кінцях транспозона, і таким чином визначає, яка ділянка ДНК може бути переміщена. По-друге, цей фермент ідентифікує місце майбутнього розташування транспозона — специфічну нуклеотидну послідовність («*цільова послідовність*») молекули ДНК протяжністю близько 5–9 пар основ. З'єднання шляхом репаративного синтезу 5'-кінців мішені з 3'-кінцями транспозона та заповнення прогалин призводить до дуплікації сайта-мішені (рис. 4.35).

Транспозони II класу містять на кінцях короткі (38 п.н.) інвертовані повтори, які не належать до *IS*-послідовностей. Транспозон *Tn*3 належить до родини *TnA* і містить гени трьох білків: ген *bla* — кодує *β*-лактамазу, яка зумовлює стійкість до ампіциліну; ген *tnpA* — кодує транспозазу; ген *tnpB* — кодує резольвазу (рис. 4.34).

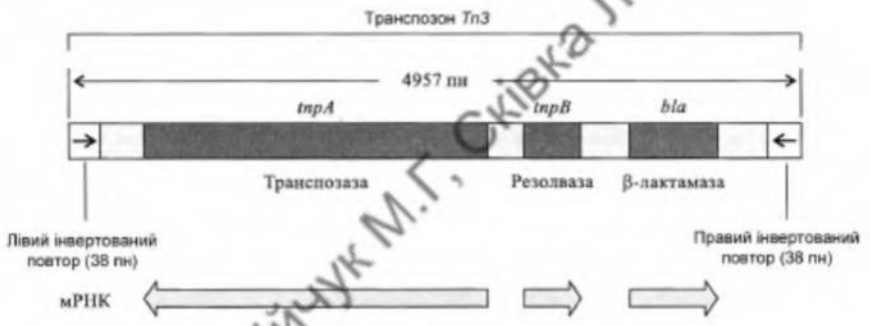


Рис. 4.34. Структура транспозона II класу (*Tn*3)

Транспозони II класу переміщуються за допомогою реплікативного механізму. При цьому транспозаза здійснює чотири одноланцюгових розтини ДНК, два з яких здійснюються на кінцях транспозона в донорській молекулі.

Сайт-мішень розрізається з утворенням 5'-виступів; при цьому розтини розмежовані невеликим числом нуклеотидів. З'єднання 5'-кінців в цьому сайті з 3'-кінцями транспозона і заповнення прогалин призводить до дуплікації з утворенням прямих повторів ДНК–мішені в сайті транспозиції. В результаті виникає хрестоподібна структура.

При реплікативному способі транспозиції 3'-кінці ДНК-мішені в хрестоподібній структурі використовуються як затравки для синтезу ДНК, включаючи транспозон. Синтезована ДНК зшивається з 5'-кінцем донорської ДНК. Внаслідок виникає коінтеграт, який може бути розподілений за допомогою резольвази, яка кодується транспозоном, або менш ефективним шляхом, внаслідок гомологічної рекомбінації за участю ферментів клітини-хазяїна.

Біологія. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

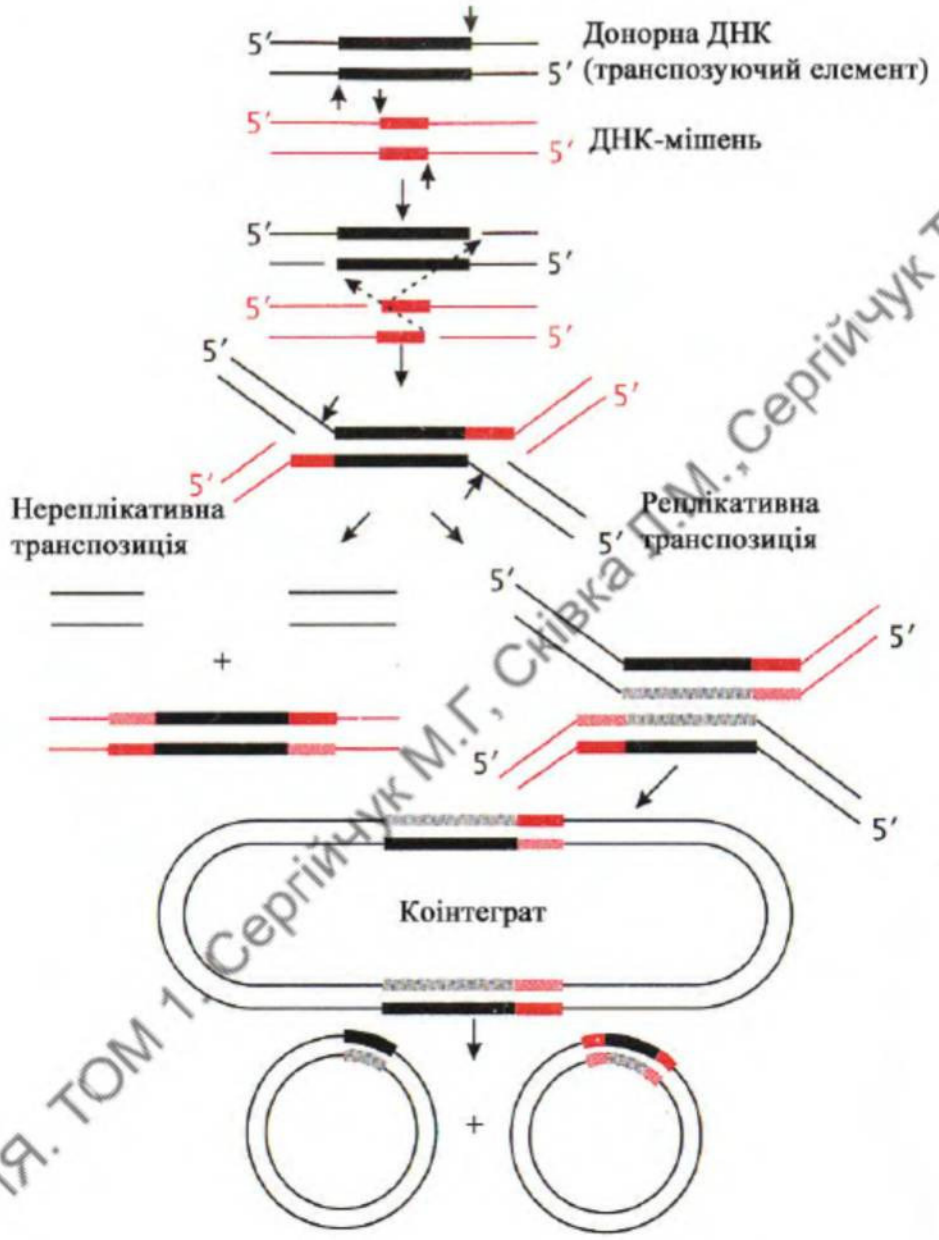


Рис. 4.35. Механізми нереплікативної і реплікативної транспозиції

До мобільних елементів належить фаг *Ми*. Це транспозон, зазвичай, оточений білковою оболонкою. Він переміщується за допомогою реплікативного або нереплікативного механізмів (див. вище).

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Снівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Рекомбінація ДНК. *Рекомбінація* (від лат. *re* — позначає повторюваність дії та *combinare* — з'єднувати) — перерозподіл батьківського спадкового матеріалу між нащадками. Розрізняють гомологічну, сайт-специфічну та так звану «незаконну» рекомбінації.

Гомологічна рекомбінація — обмін порівняно великими (складені десятками чи сотнями нуклеотидів) ділянками між гомологічними молекулами ДНК. Відбувається між гомологічними хромосомами еукаріотів при мейозі та мітозі; у прокаріотів внаслідок обміну ДНК після кон'югації тощо.

Загальна модель початкового етапу гомологічної рекомбінації наведена на рис. 4.36. Спочатку (так звана «ініціююча подія») відбувається дволанцюговий розріз в одній з гомологічних молекул. Він подовжується шляхом 5'-екзонуклеазної деградації ДНК; внаслідок на місці розрізу залишаються два одноланцюгові 3'-хвости. Один із них здійснює *інвазію* (від лат. *invasio* — вторгнення) — утворює подвійну спіраль із антипаралельним ланцюгом інтактної гомологічної молекули ДНК. Інший ланцюг, відповідно, виштовхується з дуплексу у вигляді одноланцюгової *D*–петлі (від англ. *displacement* — переміщення). Остання разом із 3'-«хвостом» переміщується у пошуку гомології (максимальної комплементарності) у межах подвійної спіралі двох гомологічних молекул ДНК. На наступному етапі відбувається репараційний синтез ДНК: два 3'-кінця розірваної молекули подовжуються під дією ДНК-полімераз (рис. 4.36).

Відновлення цілісності ДНК є завершенням початкового етапу рекомбінації. Внаслідок інвазії та репараційного синтезу дві молекули ДНК об'єднуються у чотирьох ланцюгову структуру з двома перехрещеннями ланцюгів — *структурами Холідея* (названа в честь британського біолога Робіна Холідея). Кожна така структура може переміщуватись (так звана «*міграція гілок*»), результатом чого є подовження *гетеродуплекса* — подвійної спіралі між майже повністю комплементарними ланцюгами гомологічних молекул ДНК.

Вважають, що початкові стадії гомологічної рекомбінації у більшості прота еукаріотів відбуваються за подібною схемою (рис. 4.36). У *E. coli* два кінці розірваної молекули ДНК впізнаються трибілковим комплексом– ***recBCD*** з геліказною та екзонуклеазними активностями. Він починає рух, руйнуючи подвійну спіраль ДНК за рахунок 5'- та 3'-екзонуклеазних активностей. У так званому χ-сайті (сайт підвищеної частоти рекомбінації у *E. coli* — послідовність 8 пар основ із середньою періодичністю у 5000 пар) 3'-екзонуклеазна активність гальмується з утворенням одноланцюгового 3'-кінцевого хвоста. Цей хвіст відразу вкривається білком *recA*. Останній має два сайти зв'язування з ДНК; за рахунок першого відбувається (у присутності АТР як кофактора) кооперативна взаємодія з одноланцюговою ДНК: молекули білка оточують полінуклеотидний ланцюг, формуючи на його поверхні праву спіраль. Сформований комплекс реалізує інвазію у подвійну спіраль інтактної гомологічної молекули ДНК. Другий сайт на цій стадії спричинює утворення комплексу із двох ланцюгів гомологічних молекул ДНК та *recA*. За умови комплементарності відбувається

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.М., Скуратівська Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

гідроліз АТР, після чого *recA* втрачає спорідненість до ДНК, залишаючи сформований гетеродуплекс.

На наступній стадії відбувається розподіл проміжних продуктів рекомбінації. В ньому важливу роль відіграють білки *RuvA* (відповідають за зв'язування), *RuvB* (активність останніх призводить до переміщення —міграції структури Холідея з одночасним подовженням гетеродуплекса) та *RuvC*- резольвазою (зв'язується зі структурою Холідея та руйнує останню шляхом ендонуклеолітичного розрізу у точці перехресту). Для завершення рекомбінації зі структур Холідея після зшивання лігазою відновлюються дві молекули ДНК.

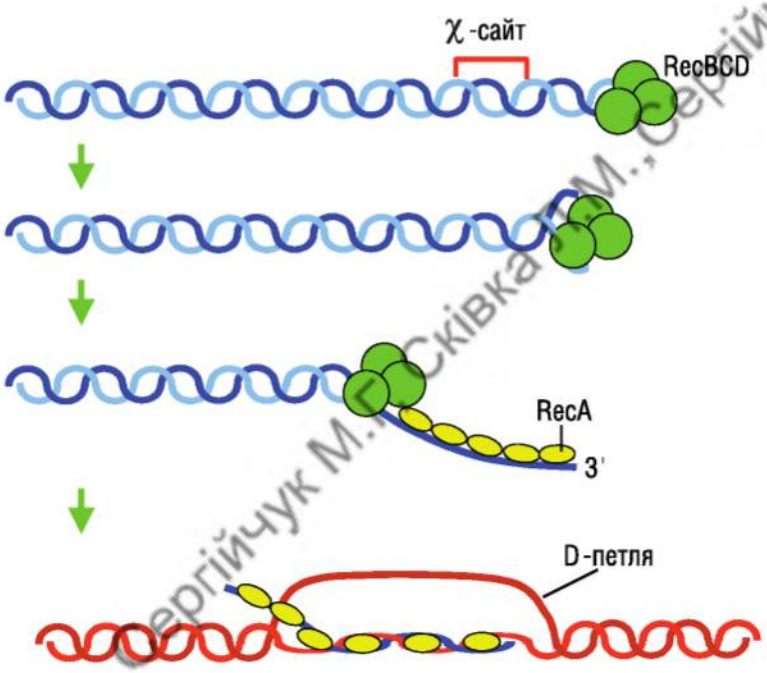


Рис. 4.36. Механізм початкових стадій гомологічної рекомбінації у *E. coli*

Сайт-специфічна рекомбінація — вирізання / вбудовування однієї молекули ДНК з/в іншу, або зміна орієнтації (інверсія) фрагмента ДНК у межах однієї молекули. Процес відбувається за рахунок впізнавання специфічними білками коротких елементів послідовності ДНК на кінцях фрагмента, який переміщується, та всередині молекули, в яку вбудовується фрагмент. За допомогою цього типу рекомбінації віруси бактерій і мобільні елементи переміщуються по геному. Сайт-специфічна рекомбінація була відкрита при вивченні інсерції (інтеграції) ДНК бактеріофага λ у бактеріальну хромосому *E. coli*.

У складі фагової ДНК є сайт *attP* — ділянка завдовжки в 270 пар основ, у складі бактеріальної ДНК — сайт *attB* (23 пари основ (рис. 4.37). Обидва сайти мають ділянку спільної (або гомологічної) послідовності завдовжки в 15 пар ос-

БІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сківка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

нов. Два білка — бактеріальний *IHF* (англ. «*Integration Host Factor*») та *інтеграза* бактеріофага — зв'язуються з обома сайтами.

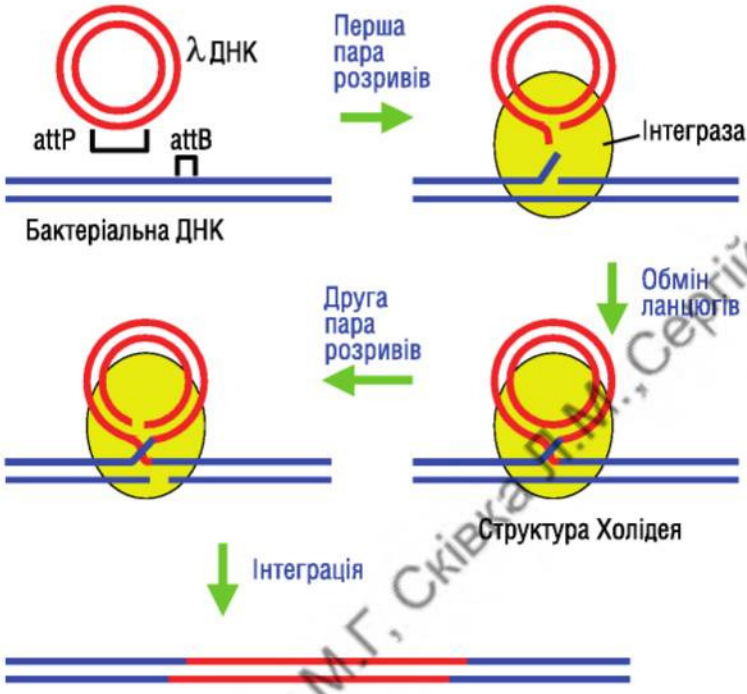


Рис. 4.37. Інтеграція ДНК бактеріофага λ у бактеріальний геном

За механізмом дії інтеграза — це сайт-специфічна ДНК–топоізомераза I. Кожна із чотирьох білкових субодиниць має активний центр із залишком *Tyr*. На першому етапі інтеграції два активних центри розрізають бактеріальну та фагову ДНК; водночас кінцеві фосфати ковалентно приєднуються до залишків *Tyr*. На наступному етапі відновлюється фосфодиефірний зв'язок із кінцем іншого дуплекса, тобто відбувається обмін ланцюгами. Згодом утворюється конфігурація чотирьох ланцюгів, подібна до структури Холідея. Після цього відбуваються розриви в другій парі субодиниць на відстані 7 пар основ від першого розриву у кожному ланцюзі, та здійснюються обміни ланцюгами, що призводить до інтеграції.

Незаконна рекомбінація — об'єднання двох негомологічних молекул ДНК, які не мають специфічних елементів послідовності. Наприклад, повністю негомологічні молекули ДНК фага *λ* та плазміди *pBR 322* можуть об'єднатися за допомогою ферменту гірази. Дві молекули гірази (по 4 субодиниці у кожній) здійснюють тимчасовий дволанцюговий розріз у кожній із молекул ДНК, утримуючи розірвані кінці. Після цього дві гірази обмінюються парами субодиниць і відновлюють фосфодиефірні зв'язки (рис. 4.38).

Біологія. 10 кл. / Задорожний К.М., Сківка Л.М., Сергійчук М.Г., Сергійчук Т.М. та ін.

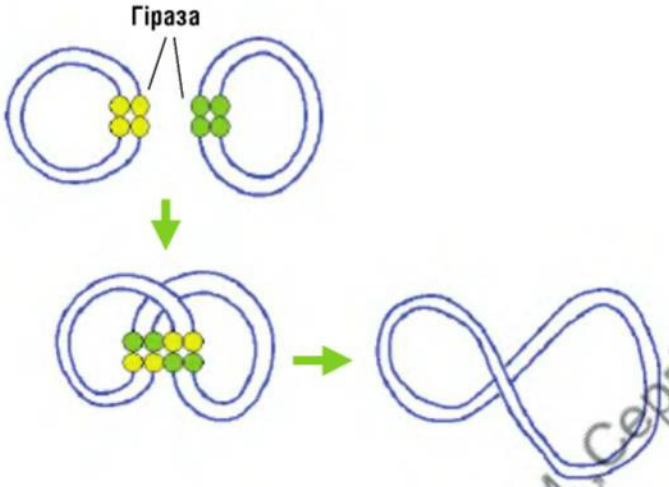


Рис. 4.38. Незаконна рекомбінація двох циркулярних молекул ДНК

4.10. Оновлення генетичної інформації в клітинах прокаріотів

Оновлення генетичного матеріалу бактерій відбувається за допомогою трансформації, кон'югації та трансдукції. При трансформації до клітини проникають молекули ДНК з культурального середовища. Під час кон'югації ДНК безпосередньо передається від однієї клітини до іншої при контакті. За трансдукції генетична інформація потрапляє в клітину з часткою бактеріофага. В реципієнтній клітині донорська ДНК рекомбінується сумісно з гомологічними ділянками або специфічними сайтами чи зберігається у вигляді автономної міні-хромосоми.

Трансформація. *Трансформація* (від лат. *transformatio* — перетворення) — зміна спадкових ознак бактеріальної клітини внаслідок проникнення до неї екзогенної ДНК. Вперше трансформація була відкрита англійським бактеріологом Ф. Гріффітом (1877–1941) у 1928 р. у клітин пневмокока *Streptococcus pneumoniae*. Було встановлено, що непатогенні мутантні клітини *S. pneumoniae* набувають патогенності при ін'єкції мишам водночас із інактивованими нагріванням вірулентними клітинами. Це відбувається внаслідок трансформуючої дії ДНК, звільненої із інактивованих клітин. Частота трансформації залежить від числа генетично компетентних клітин в популяції.

Генетична компетентність (від лат. *competentia* — належати по праву) — це особливий фізіологічний стан бактеріальних клітин, коли вони здатні зв'язувати та поглинати екзогенну ДНК. Розрізняють індуцибельну (набута, або штучна), та конститутивну (спадкова, або природна) компетентність.

Біологія. Сергійчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Індуцибельна (від лат.— *inductio* — збудження та англ. *inducible* — той, кого збуджують) компетентність виникає внаслідок впливу певних зовнішніх факторів.

Розвиток набутої компетентності в культурах *S. pneumoniae* у комплексних середовищах залежить від наявності певних індукуючих пептидів, синтезу та подальшого вивільнення фактора *CSF*. Розвиток компетентності у *Bacillus subtilis* пов'язаний із синтезом двох білків. Один із них, *ComX*, виділяється назовні, а інший, *CSF*, стимулює компетентність. Оптимальної компетентності культури *B. subtilis* досягають на мінімальному середовищі в умовах обмеження швидкості росту, наприклад у стаціонарній фазі. Додавання глюкози стимулює розвиток компетентності, а глутамату — пригнічує цей процес.

Конститутивна (від лат. *constitutio* — побудова), тобто спадкова, компетентність властива *Neiseria gonorrhoeae*.

У *Haemophilus influenzae* механізм трансформації дещо інший, а саме: на поверхні клітин утворюються везикулярні структури (*трансформосоми*), змінюються ліпідний і білковий склад клітинної стінки.

Трансформація проходить у декілька етапів:

1) адсорбція (від лат. *ad* — при та *sorbere* — ковтати) ДНК на клітинній стінці;
2) фрагментація (від лат. *fragmentum* — уламок) ДНК;
3) поглинання трансформуючої ДНК;
4) інтеграція ДНК і завершення процесу.

Перший етап трансформації — це зв'язування (*адсорбція*) екзогенної дволанцюгової ДНК із поверхнею компетентних клітин (рис. 4.39). Адсорбція відбувається на спеціальних структурах (комплексах трансмембранних білків), які зв'язують екзогенну ДНК на поверхні клітини та забезпечують її проникнення через клітинну стінку та плазматичну мембрану. Зв'язок між поверхневими структурами та ДНК не ковалентний. В клітин *B. subtilis* у компетентному стані зареєстровано 30–50 сайтів зв'язування ДНК.

Фрагментація. Обидва ланцюги зв'язаної ДНК підлягають розрізанню (фрагментації) під дією ДНКази у випадкових точках, що спричинює утворення фрагментів різних розмірів. При розрізанні ДНК фага Т7 середня величина фрагментів складає 19 т.п.н.; пневмококів — 6–9 т.п.н.; *B. subtilis* — 7–15 т.п.н.

Поглинання трансформуючої ДНК. Після фрагментації зв'язана з клітиною-реципієнтом ДНК протягом 1–2 хв повністю втрачає чутливість до ДНКази. Це зумовлено або транспортом ДНК через мембрану, або проникненням її в ділянки, недоступні для нуклеаз. Ланцюг ДНК поглинається зі швидкістю 50–200 п.н./с. У *B. subtilis* одноланцюговий фрагмент ДНК може проникати у клітину в напрямках 3'–5' або 5'–3'.

Компетентні бактерії *B. subtilis* формують специфічну систему зв'язування і поглинання екзогенної ДНК. Вважають, що в цьому процесі бере участь так звана «псевдоподія компетентності» — структура, яка водночас подібна до

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін.

пілей 4-го типу і секреторної системи 2-го типу. Вважають, що псевдоподія компетентності утворюється на мембрані. В її формуванні беруть участь два білки: інтегральний *ComGB* та *ATP*-зв'язуючий *ComGA*. Скорочення псевдоподії зумовлює формування отвору в клітинній діаметром біля 55 нм, через який молекули ДНК проникають від поверхні клітини до плазматичної мембрани.

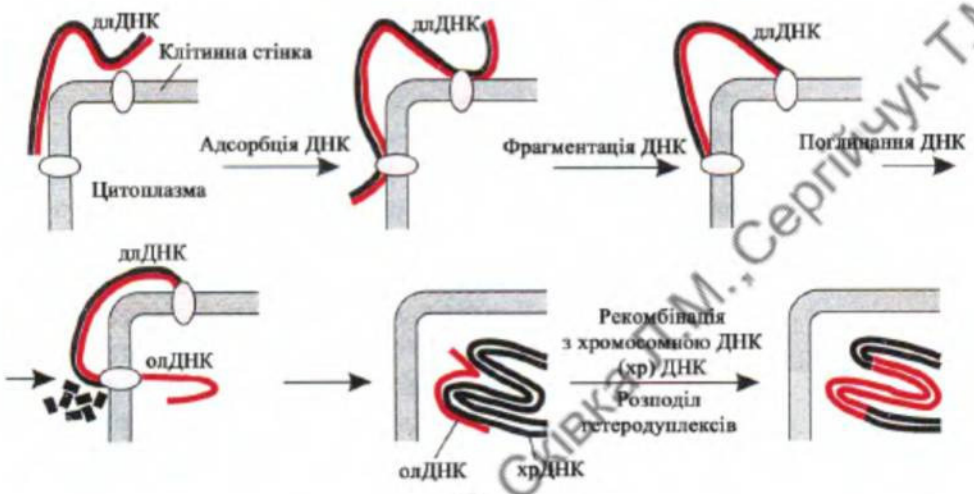


Рис. 4.39. Модель трансформації у *Bacillus subtilis*

Перенесення молекули ДНК через мембрану сумісно здійснюють білки — рецепторний білок *ComEA* та трансмембранний *ComEC*. Останній формує канал для транспортування ДНК, а білок *ComFA* забезпечує цей процес енергією за рахунок гідролізу *ATP*. Крім того, білки класу *PSTC* зумовлюють доступ ДНК до *ComEA*.

Перенесення супроводжується розрізанням молекули ДНК за допомогою мембранної нуклеази *NucA* та наступною деградацією одного із ланцюгів, внаслідок чого в клітину потрапляють одноланцюгові лінійні фрагменти завдовжки до 20 т.п.н. ДНК, яка потрапила до цитоплазми, взаємодіє з білком *RecA* та зв'язується з *SSB*-білками.

Інтеграція ДНК і завершення процесу. Інтеграція трансформуючої ДНК здійснюється шляхом *RecE*-залежної рекомбінації. Гени *recE Bacillus subtilis* та *Escherichia coli* необхідні для гомологічної рекомбінації. Таким чином інтегрується близько 75 % одноланцюгової ДНК. Продукт рекомбінації становить собою триланцюговий гетеродуплекс із донорської та реципієнтної молекул. Інтегровані сегменти ДНК розташовуються групами. Інтеграція відбувається через одинарний ланцюг інтегрованої ДНК. До хромосоми *Streptococcus pneumoniae* приєднуються одноланцюгові ділянки ДНК завдовжки 5–10 т.п.н. У *B. subtilis* середній розмір інтегрованого сегмента складає 8,5 т.п.н., у *Hemophylus influenzae* — 18 т.п.н.

БІОЛОГІЯ. ГОМ І Сергійчук М.Г. Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

4.11. Кон'югація

Кон'югація (від лат. *conjugatio* — сполучення) — перенесення генетичного матеріалу від однієї бактеріальної клітини — донора (від лат. *donare* — дарувати) до іншої — реципієнта (від лат. *recipiens* — приймаючий) при безпосередньому контакті. Вперше кон'югація була відкрита американськими генетиками Дж. Ледербергом та Е. Тейтемом (1909–1975) в 40-х роках XX ст. Перенесення кон'югативних плазмід між грамнегативними бактеріями відбувається в шість етапів:

1. Утворення і стабілізація міжклітинного контакту. При *кон'югації* дві бактерії сполучаються за допомогою особливих виростів (пілей) поверхні донорських клітин, утворюючи цитоплазматичний місток (рис. 4.40). *Пілі* (від лат. *pilus* — волосина) — ниткоподібні структури завдовжки 1–2 мкм та діаметром 8 нм, складені зі спірально розміщених субодиниць білка *піліну*. Синтез та процесинг піліну контролюють гени, які входять до складу *tra*-оперону — *TraA*, *TraQ* та *TraX*. Ген *TraA* керує синтезом *пропіліну* (молекулярна маса ~13 кДа), який за участю генів *TraQ* та *TraX* в подальшому процесингу перетворюється на пілін (7 кДа). Крім того, ген *TraX* кодує білок, необхідний для інсерції піліну у цитоплазматичнумембрану.

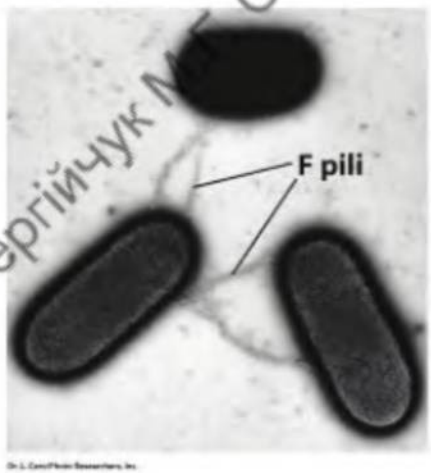


Рис. 4.40. Утворення міжклітинного контакту за допомогою пілей

Інші два гени (*Tra T* і *Tra S*) визначають явище «поверхневого виключення», яке полягає у зменшенні ефективності кон'югації між штамами, що несуть *F*–плазміди. *Tra T* блокує початковий етап утворення пар між F^+ та F^- штамами, а *Tra S* кодує білок внутрішньої мембрани *E. coli*, що перешкоджає перенесенню ДНК після утворення пар. Білки, закодовані особливими генами *Tra N* та *Tra G*, стабілізують контакти клітин при кон'югації.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук І.М. та ін

2. Сайт-специфічний розріз в точці oriT одного із ланцюгів ДНК. Після утворення контактів між клітинами донорів та реципієнтів відбувається розріз ДНК у місці початку переносу — сайті *oriT* інтегрованої *F*-плазміди. Особливістю точок початку переносу є наявність прямих та інвертованих повторів — мішеней для розпізнавання ДНК білками; вміст АТ в них зазвичай вищий, ніж у фланкуючих (від фр. *franquer* — граничний) ділянках. Сайти також містять промотори, які відповідають за транскрипцію або мобілізацію генів.

Початок переносу відбувається на ділянці плазміди, звідки один із відрізків ДНК першим потрапляє до клітини-реципієнта разом із ниткою ДНК донора. Спочатку переміщується частина ДНК *F*-фактора (ділянка початку переносу), потім — гени хромосоми; завершує переміщення друга частина *F*-фактора, що містить *tra*-гени.

3. Утворення релаксосоми в області початку переносу. Релаксосома (від лат. *relaxo* — розв'язувати, та *soma*) — спеціалізований нуклеопротеїновий комплекс, який складається із суперспіралізованої плазмідної ДНК і ферменту релаксази, пов'язаних із областю початку переносу.

Релаксази здійснюють специфічні розрізи і сполучення сайтів та ланцюгів ДНК. Відрізки ДНК зв'язані ковалентними і нековалентними зв'язками з релаксазою та зберігають характерну для плазміди суперспіралізовану форму.

oriT-специфічний розріз ланцюга ДНК здійснює фермент *Tra I* (релаксаза/геліказа), який водночас викликає транслокацію ДНК між донором і реципієнтом. Інший білок, *TraJ*, спрямовує релаксазу *TraI* до області розрізу. Зв'язок *TraJ* та *TraI* з ДНК викликає локальне розкручування ланцюгів, внаслідок чого ДНК набуває одноланцюгової форми. Ще один гістоноподібний білок, *TraK*, входить до складу релаксосоми як структурний елемент (рис. 4.41).

4. Рециркуляризація ланцюгів ДНК. В донорській клітині відбувається реплікація хромосоми та елонгація ланцюга ДНК за механізмом «кільця, що котиться» в зоні вільного *3'-OH*-кінця за участі ферментів (наприклад, ДНК-полімерази-III). Разом із одноланцюговою ДНК до реципієнтної клітини надходить праймаза *Tra C*. Вона каталізує синтез коротких олігонуклеотидних затравок, які ініціюють переривчатий синтез комплементарного ланцюга.

5. Синтез комплементарного ланцюга в клітині-реципієнті. В реципієнтній клітині відбуваються добудова комплементарного ланцюга та рекомбінація ДНК донора та реципієнта; внаслідок F^- клітини перетворюються на F^+ клітини.

Перенесення хромосоми за стабільних умов триває з постійною швидкістю близько 100 хв. Під час кон'югації відбувається спонтанне випадкове роз'єднання клітин, тому зазвичай до реципієнта потрапляє лише частина генів. У результаті формується неповна зигота (*мерозигота*) з частковою диплоїдністю, яка містить хромосому реципієнта та фрагмент хромосоми донора. Внаслідок кросинговерів виникають гаплоїдні рекомбінанти. В лідерній області на ділянці між *Ori T* і першою реплікуючою ділянкою *RepFIA* знаходяться інсталяційні гени (від англ. *installation* — встановлення), які забезпечують існування плазміди

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скіпка П.М., Сергійчук Т.М. та ін.

в новій клітині. Зокрема, до них належать гени підтримки *flm*, *psiB*, який детермінує інгібування (від лат. *inhibire* — втримувати) *SOS*-відповіді, та *ssb*, що кооперативно зв'язаний із одноланцюговою ДНК.

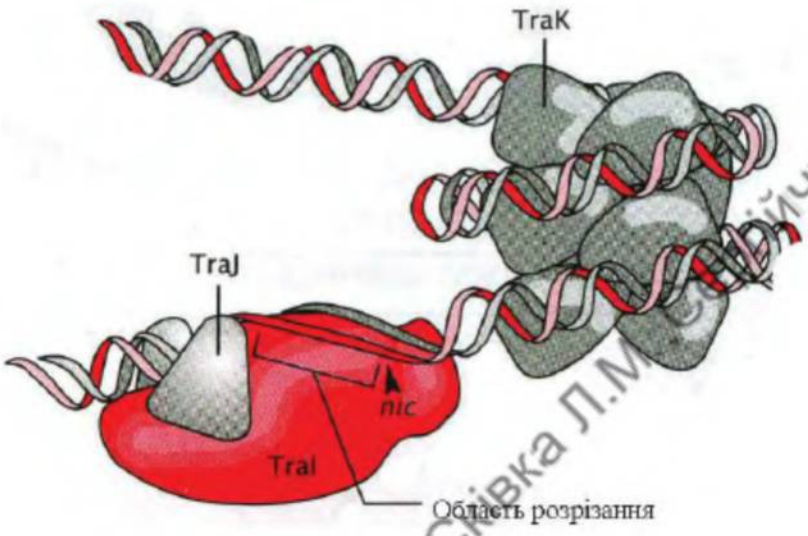


Рис. 4.41. Модель релаксосоми

6. Термінація перенесення ДНК та розподіл кон'югуючих клітин. Після перенесення фрагменту одноланцюгової ДНК відбувається термінація, яка забезпечує відновлення плазміди. Вона полягає у вторинному розрізі ланцюга ДНК на ділянці регенерованого розрізу, що призводить до рециркуляризації. Фермент релаксаза впізнає одноланцюгову ділянку розрізу, *oriT*, а також бере участь у відновленні фосфодиефірних зв'язків. При цьому релаксаза фіксується поблизу пори, яка забезпечує прохід ДНК через клітинну оболонку. Білок *TraI* каталізує сайт — специфічну рекомбінацію двох окремо розташованих олігонуклеотидів на ділянці розрізу.

4.12. Трансдукція

Трансдукція (від лат. *transductio* — переміщення) — процес перенесення бактеріальної ДНК з однієї клітини в іншу за допомогою бактеріофагів.

Бактеріофа́ги або *фа́ги* (від грец. *phagein* — поїдати) — віруси, які вибірково інфікують бактеріальні клітини.

За характером взаємодії бактеріофагів з бактеріальною клітиною розрізняють вірулентні (від лат. *virulentus* — отруйний) та помірні фаги.

Вірулентні фаги після розмноження в бактеріальній клітині викликають її лізис (літична реакція).

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сабійчук М.Г., Співка Л.М., Сабійчук Т.М. та ін.

Помірні бактеріофаги викликають як літичну, так і лізогенну реакцію. В останньому випадку фаг не руйнує бактеріальну клітину, а існує в ній як плазміда, або включається в хромосому (стан профага), і його геном реплікується разом із цією хромосомою.

Профаг (від лат. *pro* — попереду і *phagein*) — латентна (від лат. *laterns* — прихований) неінфекційна форма помірного бактеріофага, присутня в хромосомах бактерій.

Бактерії, що містять профаг, називають лізогенними (від грец. *lysis*— розчинення та *genos* — походження). Профаг синтезує білок-репресор (від лат. *repressio* — пригнічення), який пригнічує систему реплікації. При зниженні концентрації репресора профаг індукується (від лат. *inductio* — наведення) та переходить до літичного (від грец. *lysis*) шляху розвитку, тобто покидає хромосому і розмножується. Індукцію можна викликати штучно, опромінюючи лізогенну бактерію ультрафіолетовими променями або іншими агентами. Розрізняють загальну (неспецифічну) і специфічну трансдукцію.

Загальну трансдукцію відкрили американські генетики Н. Д. Ціндер (1928–2012) та Дж. Ледерберг у 1952 р. у дослідах із *Salmonella typhimurium*, яка викликає тиф мишей. Переносником генетичного матеріалу в цих дослідах слугував помірний фаг *P22*, що транспортував до інших клітин частину генетичного матеріалу із бактеріальної хромосоми. Фаг *P22* виявися спроможним переміщувати будь-які гени сальмонел; тому цей процес отримав назву загальної, або неспецифічної, трансдукції.

Пізніше вчені встановили, що в частинках трансдукуючого фага *P1* практично вся нативна (від англ. *native* — притаманна) ДНК може бути замінена на бактеріальну. Оскільки ДНК фага *PI* містить близько 10^5 п.н., а хромосома *E. coli* — приблизно $4 \cdot 10^4$ п.н., то фрагмент хромосомної ДНК, здатний вміститися в голівці трансдукуючої частинки, складає біля 2,3 % довжини хромосоми.

За загальної трансдукції фагові частинки, які містять сегменти ДНК клітини-хазяїна, переносять відносно довгі ділянки ДНК від однієї бактеріальної клітини до іншої (рис. 4.42). Трансдукуючі фагові частинки утворюються під час інфекційних процесів, коли ДНК клітини швидко деградує, а фрагменти, які за розмірами приблизно відповідають фаговому геному, випадково включаються у зрілі частинки бактеріофага. Внаслідок наступного зараження клітин бактерій водночас багатьма трансдукуючими фагами відбувається передача ДНК донорських клітин інфікованим. Рекомбінація між введеними фрагментами донорської ДНК і ДНК клітини-реципієнта призводить до зміни структури останньої. Вірогідність включення до трансдукуючої фагової частинки будь-якого із фрагментів донорської хромосоми практично однакова. Завдяки досить великому розміру трансдукуючих сегментів ДНК (для певних бактерій він становить біля 100 т.п.н., або 2,5 % довжини хромосоми *E. coli*) зазвичай реципієнтна клітина отримує за один акт трансдукції у складі фрагмента ДНК групу генів. Найбільш вивчені фаги, здатні здійснювати загальну трансдукцію, а саме: фаг *PI* у *E. coli*, фаг *P22* у *Salmonella typhimurium*, фаги *PBS 1* і *SP10 у Bacillus subtilis*. Трансдукуючі фагові частинки утворюються під час літичного циклу.

БІОЛОГІЯ (том 1, Сегінський І., Скібчак І.М., Сегінський Т.М. та ін

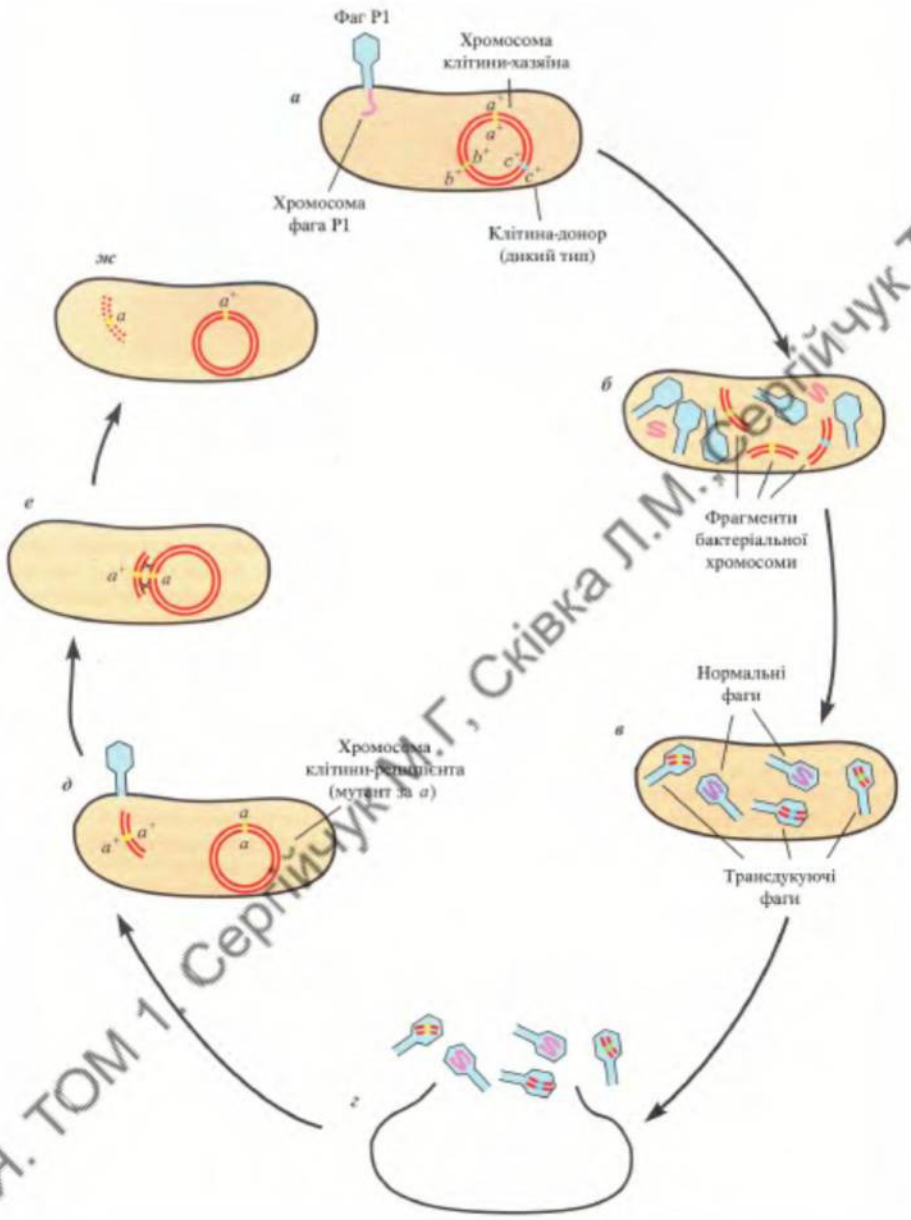


Рис. 4.42. Схема загальної трансдукції: а — клітина природного («дикого») типу, інфікована фагом P1; б — ДНК клітини-хазяїна деградує під час літичного циклу; в — під час збірки фагових часток окремі фрагменти бактеріальної хромосоми включені до фагів-нащадків, що призводить до трансдукції; г — лізис; д — трансдукуючий фаг інфікує ауксотрофну бактеріальну клітину-реципієнт; е — подвійний кросинговер, що призводить до обміну донорського гену a^+ та реципієнтного гена а; ж — утворення стабільного трансдуктанта a^+

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1, Сергійчук І.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Явище специфічної трансдукції було відкрите в 1956 р. американськими вченими: мікробіологом М. Морзе (1921–2003) сумісно із генетиками Е. Ледерберг (1922–2006) і Дж. Ледербергом.

Специфічна трансдукція властива бактеріофагам, інфекційний цикл яких переривається внаслідок включення геному віруса до специфічного хромосомного локусу інфікованої клітини (рис. 4.43). Бактерії, які містять подібні інтегровані фагові геноми, отримали назву лізогенних. В лізогенній клітині вірусні та клітинні геноми сумісні та реплікуються як одне ціле. Інтеграція геномів клітини-хазяїна та фага перешкоджає останньому викликати загибель клітини та розмножуватись. Тому здатний до лізогенії бактеріофаг на відміну від вірулентного отримав назву помірного. При індукції лізогенний стан переривається, а вірусний геном вирізається із хромосоми клітини. За реплікації утворюється багато вірусних частинок, а клітина-хазяїн гине.

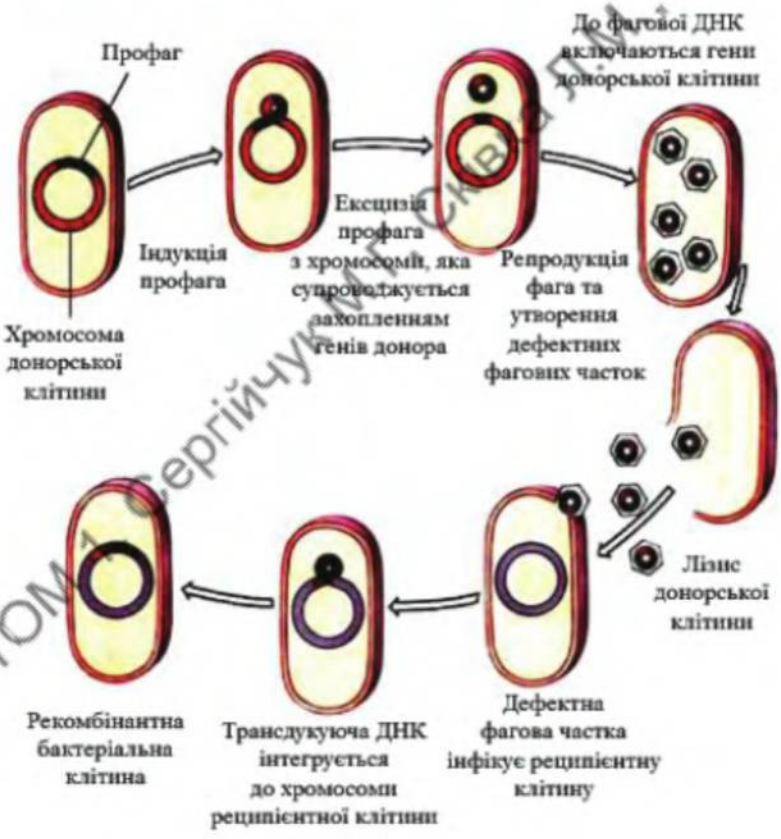


Рис. 4.43. Схема специфічної трансдукції

Зазвичай утворений фаг містить ідентичний вихідному геном. Інколи в дочірні фагові геноми потрапляють замість окремих вірусних гени сусідні

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скварчук Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

хромосомні. За наступного інфекційного циклу такі гени переходять в реципієнтні клітини. Після включення ДНК трансдукуючого фага до геному реципієнта клітина отримує генетичну інформацію попереднього хазяїна фага. Отже, при специфічній трансдукції фаг слугує вектором міжклітинного переносу генів.

Питання для самоконтролю

1. Що становить собою регуляторна та кодуюча частини гена?
2. Які білки та ферменти беруть участь в процесі реплікації?
3. Яку функцію виконують ДНК-полімерази при реплікації?
4. Яку будову має кор-фермент РНК-полімерази?
5. Наведіть загальну схему транскрипції у бактерій.
6. Яка будова типового бактеріального промотора?
7. Яку будову має *lac*-оперон?
8. Як відбувається позитивна регуляція *lac*-оперону?
9. Назвіть основні етапи ініціації синтезу поліпептидного ланцюга
10. Що таке мінливість та які її форми?
11. В чому полягає біологічне значення S- R- дисоціації?
12. В чому полягає суть нуклеотидної ексцизійної репарації?
13. Що становить собою лідерна область F-плазміди?
14. Опишіть послідовні стадії гомологічної рекомбінації.
15. З яких етапів складається процес трансформації, кон'югації та трансдукції?

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Т., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 5.
МЕТАБОЛІЗМ МІКРООРГАНІЗМІВ

5.1. Особливості харчування мікроорганізмів

Мікроорганізми, як і всі живі істоти, потребують для свого розвитку певні поживні речовини, які мають міститися в поживному середовищі і постійно надходити в клітину в доступній для неї формі.

Розвиток мікроорганізмів залежить, насамперед, від наявності води. Гриби, наприклад, здатні рости на субстраті, який містить близько 12 %, а бактерії потребують для свого існування понад 20 % води. Вода — основна складова мікробної клітини, вона становить 80–90 % від її загальної маси.

До складу мікробних клітин також входять такі елементи, як (у % від маси сухої речовини): Карбон — 50; Оксиген — 20; Нітроген — 14; Гідроген — 8; Фосфор — 3; Сульфур — 1; Калій — 1; Натрій — 1; Кальцій — 0,5; Магній — 0,5; Хлор — 0,5; Ферум — 0,2; інші — 0,3. C, O, N і H є основою органічних молекул, тому вони містяться в клітинах у значних кількостях — це *макроелементи*.

Мікроорганізми потребують також наявності в середовищі певних *мікроелементів*, до яких відносять: Манган, Молібден, Цинк, Купрум, Кобальт, Нікель, Ванадій, Бор, Кремній. Ці елементи входять до складу ферментів і необхідні в дуже маленьких кількостях.

Особливо вибагливі мікроорганізми і мутанти з деякими спадковими дефектами потребують, крім того, певні речовини, яких вони самі синтезувати не можуть. Такі необхідні додаткові речовини називають *факторами росту*. Ними можуть бути амінокислоти, вітаміни, пурини, піримідини та ін. Мікроорганізми, які потребують певних факторів росту, називають *ауксотрофними*. Якщо ауксотрофія виникла внаслідок мутації, то «дикий» (вихідний) штам, який не потребував факторів росту, називають *прототрофним*.

Для вирощування мікроорганізмів у лабораторних чи виробничих умовах використовують поживні середовища. *Поживне середовище* — це набір хімічних сполук, які забезпечують життєдіяльність мікроорганізмів. Середовища мають відповідати наступним вимогам:

- містити необхідні поживні речовини;
- містити необхідну кількість води;
- мати оптимальне значення pH та Eh;
- бути ізотонічним, тобто мати такий самий осмотичний тиск, як і внутрішнє середовище мікробної клітини;
- бути стерильним.

Поживні середовища поділяють на групи за такими критеріями: походження, консистенцією та призначення (таблиця 5.1).

МІКРОБІОЛОГІЯ. Том 1. Бергей Д.Г., Скінгер Дж., Серінгер Т.М. та ін

Таблиця 5.1.

Класифікація поживних середовищ

Поживні середовища								
Походження			Консистенція			Призначення		
							Спеціального призначення	
Натуральні	Синтетичні	Напівсинтетичні	Рідкі	Напіврідкі	Щільні	Загального призначення	Елективні	Диференційно-діагностичні

За **походженням** розрізняють натуральні (природні), синтетичні та напівсинтетичні поживні середовища. *Натуральні* поживні середовища мають рослинне або тваринне походження та *невизначений склад*. Це відвари злаків, фруктів і овочів; молоко, кров, сироватка, сеча, тваринні клітини, яйця птахів та їх зародки; дріжджовий автолізат; відвари м'яса, витяжки гною і ґрунту; вода озер і морів. До них належить м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), м'ясо-пептонний агар (МПА), м'ясо-пептонна желатина (МПЖ), пептонна вода (ПВ), сусловий агар (СА), тощо. *Синтетичні* поживні середовища готують із хімічно чистих речовин у точно вказаних концентраціях. Вони мають *визначений склад* і легко відтворюються (наприклад, середовище Чапека, Ешбі, Виноградського, Гільтая та ін.). *Напівсинтетичні* середовища мають *частково невизначений склад*. Вони містять як хімічно чисті сполуки (вуглеводи, фосфати, нітрати, амоній), так і компоненти чітко не встановленого складу (дріжджовий екстракт, пивне сусло, пептон).

За **консистенцією** виділяють рідкі, напіврідкі і щільні поживні середовища. *Рідкі* середовища містять поживні речовини, розчинені у воді (МПБ, ПВ, середовища Гісса та ін.). *Щільні* та *напіврідкі* середовища готують на основі рідких із внесенням ущільнюючої речовини. Як правило для ущільнення поживного середовища використовують агар-агар. Агар-агар — це складний полісахарид, який входить до складу червоних водоростей і складається з агарози й агаропектину. У воді агар-агар утворює гель, який плавиться при температурі ~100 °С і ущільнюється при температурі ~40 °С. У щільні середовища вносять 1,5–2,0% агар-агару, а у напіврідкі — 1%. Цінною властивістю агар-агару є те, що він не асимілюється абсолютною більшістю мікроорганізмів. До щільних поживних середовищ належать МПА, СА, крохмало-аміачний агар (КАА), до напіврідких — середовище Гісса, напіврідке нітратне середовище, тощо.

За **призначенням** поживні середовища бувають загального та спеціального призначення. Середовища *загального призначення* використовують для виділення і культивування більшості відомих мікроорганізмів. До таких середовищ належать МПБ, МПА, тощо. Середовища *спеціального призначення* готуються

Біологія. Гом І. Сергійчук М.І. Сівкіна І.М. Сергійчук Т.М. та ін.

з певною метою для конкретних потреб. Серед них розрізняють елективні та диференційно-діагностичні поживні середовища. Елективні *поживні середовища* були введені в мікробіологічну практику С. М. Виноградським. Вони забезпечують оптимальні умови для розвитку лише певних мікроорганізмів і не придатні для росту інших. Їх використовують, головним чином, для виділення мікроорганізмів з природних джерел та отримання накопичувальних культур. Прикладом елективного середовища може бути середовище Ешбі для азотфіксаторів. *Диференційно-діагностичні* поживні середовища використовують для вивчення фізіолого-біохімічних властивостей мікроорганізмів та їх ідентифікації. Наприклад, це середовище Гісса — для вивчення здатності мікроорганізмів асимілювати вуглеводи; середовища Ендо, Левіна, Плоскірева — для визначення бактерій кишкової групи.

Транспорт речовин у мікробну клітину. Для того, щоб поживні речовини включилися в метаболічні процеси клітини, вони мають проникнути в неї. Капсула і слизові шари не впливають на надходження речовин. Клітинна стінка не є суттєвою перешкодою для проникнення в клітину малих молекул та іонів, але вона може затримувати макромолекули. Роль основного бар'єра, який забезпечує вибірковість надходження в клітину і вихід з неї різних речовин та іонів, відіграє цитоплазматична мембрана. У грампозитивних прокаріотів ЦПМ є єдиним таким бар'єром, у грамнегативних форм функції додаткового бар'єра виконує зовнішня мембрана клітинної стінки.

Молекула розчиненої речовини може пройти крізь ліпопротеїдну мембрану лише в тому випадку, якщо на неї діє якась сила й існують механізми, які забезпечують перенесення цієї молекули крізь мембрану.

У мікроорганізмів виділяють чотири механізми, які забезпечують надходження речовин у клітину:

- пасивна дифузія,
- полегшена дифузія,
- активний транспорт,
- перенесення радикалів (транслокація груп).

При *пасивній дифузії* (неспецифічне проникнення речовини в клітину) транспорт речовин крізь цитоплазматичну мембрану йде лише за градієнтом концентрації (від вищої концентрації до нижчої), без затрат енергії. Швидкість такого перенесення незначна. За рахунок пасивної дифузії крізь ЦПМ клітини можуть проходити лише вода і деякі гази (O_2, H_2, N_2).

Полегшена дифузія подібна до простої дифузії тим, що субстрат також переноситься за градієнтом концентрації та без витрат енергії. На відміну від пасивної дифузії, при полегшеній беруть участь особливі, подібні до ферментів мембранні білки-каталізатори *пермеази*. Пермеази специфічно зв'язують молекулу субстрату на зовнішньому боці мембрани і переносять на внутрішній бік. Дисоціація комплексу на внутрішній поверхні мембрани завершує процес транспорту. У еукаріотів полегшена дифузія — звичайний механізм транспорту,

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук І.М., Скіпка І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

у прокаріотів він зустрічається відносно рідко. За цим механізмом транспортується, наприклад, гліцерин у клітини бактерій кишкової групи.

Більшість поживних речовин надходить у клітини мікроорганізмів шляхом *активного транспорту*. Активний транспорт здійснює перенесення речовин проти градієнту концентрації (від нижчої концентрації до вищої), із затратами енергії та за участю субстрат-специфічних транспортних білків. Органічна речовина в результаті перенесення за механізмом активного транспорту не змінює своєї хімічної будови.

Перенесення радикалів (транслокація груп) також здійснюється проти градієнту концентрації, із затратами енергії та за участю субстрат-специфічних транспортних білків. Однак, органічна речовина в процесі перенесення хімічно модифікується і з'являється в клітині у фосфорильованій формі.

Типи метаболізму у мікроорганізмів. *Метаболізм* (обмін речовин) (грец. *metabole* — перетворення, зміна) — це сукупність різних хімічних реакцій окиснення, відновлення, розщеплення, синтезу, які відбуваються за участю специфічних ферментних систем і забезпечують перебіг процесів життєдіяльності, розвитку, розмноження організмів. Метаболізм є сумарним результатом двох процесів: катаболізму й анаболізму.

Катаболізм (грец. *katabole* — скидання вниз, руйнування) є сукупністю ферментативних реакцій, пов'язаних із розщепленням (окисненням) субстрату до простих кінцевих продуктів, які супроводжуються утворенням відновленних еквівалентів і виділенням енергії, що запасається в АТФ та інших енерговмісних речовинах. Основне призначення реакцій катаболізму — забезпечення клітини енергією.

Анаболізм (грец. *anabole* — піднесення, сходження, накидання) — це сукупність енергозалежних біохімічних процесів синтезу простих молекул, полімерів і структурних компонентів клітини. Процеси анаболізму супроводжуються окисненням відновлених еквівалентів та гідролізом АТФ. Основне призначення реакцій анаболізму — біосинтез.

Деякі шляхи катаболізму, крім розщеплення складних сполук з утворенням АТФ і відновлених еквівалентів, виконують і додаткову функцію — постачають для біосинтезу прості молекули (*ключові метаболіти*). Останні утворюються в реакціях катаболізму і частково використовуються в реакціях анаболізму. Шляхи катаболізму, що постачають ключові метаболіти для біосинтезу, називають *амфіболічними* (грец. *amphibolos* — двозначний). Пул ключових метаболітів у циклічних процесах поповнюється внаслідок перебігу *анаплеротичних реакцій* (див. розділ 5.5).

Зв'язок між процесами катаболізму та анаболізму здійснюється через АТФ, відновлені еквіваленти і ключові метаболіти (рис. 5.1).

Для мікроорганізмів характерна різноманітність типів метаболізму, що забезпечує їх виживання в різних, часто екстремальних умовах довкілля, дає змогу легко пристосовуватися до змін зовнішніх чинників середовища і зумов-

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук І.М., Скіпка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

лює надзвичайно широкий ареал розповсюдження. Речовини, що поглинаються мікроорганізмами, забезпечують їх *енергією*, необхідною для активного біосинтезу й рухливості, *електронами* для функціонування електронотранспортних ланцюгів, утворення відновлених еквівалентів (НАДН), і *Карбоном*, який є основним компонентом клітини.

Рис. 5.1. Зв'язок між процесами катаболізму й анаболізму

Тип метаболізму мікроорганізмів визначається трьома показниками:

- джерелом енергії;
- джерелом (донором) електронів;
- джерелом Карбону.

За джерелом енергії мікроорганізми поділяють на хемо- й фототрофи. *Хемотрофи* отримують енергію внаслідок перебігу хімічних реакцій, *фототрофи* — в результаті перетворення енергії світла.

За походженням джерела (донора) електронів мікроорганізми поділяють на органо- й літотрофи. *Органотрофи* отримують електрони з органічних сполук (цукрів, органічних кислот, спиртів, амінокислот), *літотрофи* — з неорганічних (амонію, нітритів, сульфідів, тіосульфатів, тетратіонатів, молекулярного водню, двовалентного заліза).

За походженням джерела Карбону мікроорганізми поділяють на авто- й гетеротрофи. *Автотрофи* споживають неорганічні джерела Карбону (діоксид Карбону, карбонати), *гетеротрофи* — органічні (цукри, органічні кислоти, спирти, амінокислоти).

Мікроорганізмам на відміну від вищих організмів притаманне різне комбінування цих трьох показників, що власне і забезпечує різноманітність їх метаболізму (табл. 5.2). Загальна назва, що характеризує метаболічні особли-

ОБІОЛОГІЯ.ТОМ 1 / Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

вості мікроорганізмів, складається з чотирьох коренів, наприклад: хемо-літо-авто-трофи:

- перший корінь указує на джерело енергії, яку використовує мікроорганізм;
- другий — на походження електронів;
- третій — на джерело Карбону
- четвертий (від грецького *trophe*) — живлення.

У науковій літературі тип метаболізму мікроорганізмів називають не завжди повністю. Скорочену назву метаболізму (хемо-, фото-, органо-, літо-, авто- чи гетеротрофи) вживають у тих випадках, коли важливо наголосити лише на походженні джерела енергії, донора електронів чи джерела Карбону для певних мікроорганізмів.

Таблиця 5.2.

Типи метаболізму мікроорганізмів

Джерело енергії	Енергія хімічних реакцій	Джерело (донор) електронів	Джерело Карбону	
			Органічні речовини	*Неорганічні речовини*
		Органічні речовини	Хемоорганогетеротрофи	Хемоорганоавтотрофи
		Неорганічні речовини	Хемолітогетеротрофи	Хемолітоавтотрофи
	Енергія світла	*Органічні речовини*	Фотоорганогетеротрофи	Фотоорганоавтотрофи
		Неорганічні речовини	Фотолітогетеротрофи	Фотолітоавтотрофи

В залежності від умов довкілля мікроорганізми можуть переходити з одного типу метаболізму на інший. Такі мікроорганізми називають *міксотрофами*.

Акцептори електронів у мікроорганізмів. Крім джерел енергії, Карбону та донора електронів для здійснення метаболічних процесів мікроорганізму необхідний ще й *акцептор електронів*. Для більшості живих істот оптимальним і єдино можливим акцептором електронів є молекулярний кисень. У процесі *аеробного дихання* він приймає електрони з дихального ланцюга і відновлюється до води. *Аеробними* (або *облігатно аеробними*) називають мікроорганізми, які використовують кисень у своєму метаболізмі як термінальний акцептор електронів при диханні. Вони ростуть у середовищах з високим значенням окисно-відновного потенціалу (ОВП).

При контакті низки ферментів з молекулярним киснем у живих організмах утворюються токсичні сполуки. Наприклад, окиснення киснем відновлених флавопротеїнів і залізо-сірчаних білків призводить до появи пероксиду водню (H_2O_2) й супероксидного радикала (O_2^-). Це токсичні для клітини сполуки, бо, внаслідок взаємодії із залишками ненасичених жирних кислот мембранних ліпідів, вони ушкоджують клітинні мембрани. В організмів, які живуть в атмосфері кисню, існують такі ферменти, як *супероксиддисмутаза, каталаза* й *пероксидаза*, що руйнують супероксидний радикал і пероксид водню (рис. 5.2).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сквіра Л.М., Сергійчук М.Г. та ін.

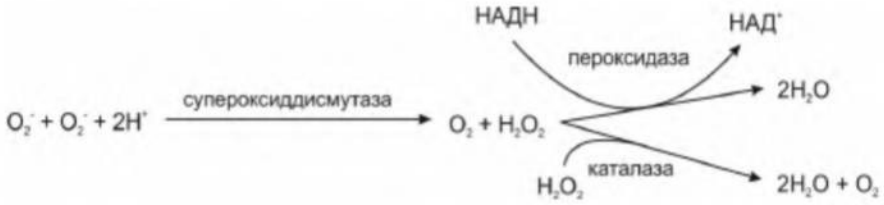


Рис. 5.2. Реакції, що каталізуються супероксиддисмутазою, каталазою і пероксидазою

Мікроаерофільні мікроорганізми також використовують кисень як термінальний акцептор електронів, але ростуть лише за низького парціального тиску кисню (≤ 0,2 кПа).

Для життєдіяльності багатьох мікроорганізмів молекулярний кисень не є конче необхідним. Роль термінального акцептора електронів у *анаеробів* може виконувати низка органічних і неорганічних сполук. Анаеробні мікроорганізми поділяють на:

- факультативно анаеробні;
- облігатно анаеробні;
- аеротолерантні.

Факультативно анаеробні мікроорганізми живуть як в атмосфері кисню, так і в безкисневому середовищі. За наявності молекулярного кисню в довкіллі вони використовують його як термінальний акцептор під час дихання. Якщо ж кисню немає, факультативні анаероби легко переключаються на анаеробні процеси — нітратне дихання або бродіння. Вони містять супероксиддисмутазу і каталазу.

Облігатно анаеробні мікроорганізми не використовують кисень у своєму метаболізмі як термінальний акцептор електронів при диханні. Вони можуть рости в середовищах лише з низьким значенням ОВП. Їхні клітини позбавлені каталази, супероксиддисмутази й пероксидази, тому вони гинуть в атмосфері кисню.

Аеротолерантні анаероби — це мікроорганізми, які не використовують кисень як термінальний акцептор електронів, але мають деякі захисні механізми проти пероксиду водню й супероксидного радикала, тому можуть існувати в аеробних умовах. Наприклад, аеротолерантні анаеробні молочнокислі бактерії замість каталази використовують пероксидазу, яка відновлює пероксид до води за рахунок НАДН.

Для анаеробних мікроорганізмів характерні всі ті ж типи метаболізму, що й для аеробних (див. табл. 5.2), але в залежності від природи термінального акцептора електронів розрізняють такі метаболічні процеси:

- анаеробне дихання;
- бродіння;
- метаногенез.

При *анаеробному диханні* термінальним акцептором електронів в основному є окиснені неорганічні сполуки — нітратний Нітроген (нітратне дихання),

БІОЛОГІЯ (том 1, Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

сульфатний Сульфур (сульфатне дихання), діоксид Карбону (вуглецеве дихання), Ферум (III) (залізне дихання) тощо. Анаеробне дихання найхарактерніше для анаеробних хемоорганогетеротрофів та хемолітоавтотрофів.

При *бродінні* акцепторами електронів є органічні речовини (піруват, оцтовий альдегід, щавлево-оцтова кислота (ЩОК) та ін.), що утворюються в результаті окиснення органічного донора електронів. Бродіння характерне для облігатно та факультативно анаеробних хемоорганогетеротрофів.

Метаногенез — це особливий, дуже древній тип анаеробного метаболізму, який має ознаки і дихання, і бродіння, але принципово різниться від обох цих процесів. Метаногенез здійснюють облігатно анаеробні хемолітоавтотрофи й хемоорганоавтотрофи.

Більшість *фототрофних* прокаріотів здійснює *аноксигенний (без виділення* O_2*) фотосинтез* в анаеробних умовах. У цих процесах акцепторами електронів є окиснений бактеріохлорофіл і $НАД^+$, донорами — збуджений світлом бактеріохлорофіл фотореакційного центру, а також екзогенні донори електронів (сульфід, тіосульфат, тетратіонат, молекулярний Сульфур, молекулярний водень у фотолітотрофів та органічні речовини у фотоорганотрофів).

Типи фосфорилювання у мікроорганізмів. Оскільки АТФ у клітині утворюється в результаті реакції фосфорилювання АДФ ($АДФ + Ф_н + H^+ = АТФ + H_2O$), то процес синтезу АТФ часто називають фосфорилюванням. Розрізняють два типи фосфорилювання:

- субстратне;
- електронотранспортне (до цього типу належать окисне фосфорилювання та фотофосфорилювання).

Субстратне фосфорилювання — це процес синтезу АТФ у результаті перетворення органічної речовини з однієї форми на іншу, наприклад, у гліколізі та циклі Кребса. Це найдревніший і найпростіший спосіб отримання енергії.

Електронотранспортне фосфорилювання є процесом синтезу АТФ на АТФ-синтетазі внаслідок градієнта протонів і мембранного потенціалу. Цей складніший процес відбувається під час дихання (*окисне фосфорилювання*) хемоорганотрофних і хемолітотрофних організмів, а також при циклічному перенесенні електронів у фотосинтезуючих організмів (*фотофосфорилювання*).

5.2. Катаболізм аеробних хемоорганотрофних мікроорганізмів

Загальна схема. Катаболізм хемоорганотрофів складається з реакцій підготовчого (периферійного) та основного метаболізму. Під час *підготовчого* субстрат готується до включення в основні катаболічні шляхи: крупні полімерні молекули розщеплюються на дрібніші фрагменти та мономери (наприклад, гід-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сегінчук М.Г., Скібка Т.М., Сегінчук Т.М. та ін

роліз крохмалю, пектину, целюлози, орто- та мета-розщеплення ароматичних сполук тощо). Ці реакції не постачають клітину енергією, а, навпаки, є енергозатратними. Чим складніша будова субстрату і чим більше реакцій потрібно для його розщеплення, тим більше енергії мікроорганізм витрачає на синтез необхідних ферментів. Енергію і відновлені еквіваленти мікроорганізм отримує лише в реакціях *основного метаболізму*. Розглянемо реакції основного метаболізму хемоорганотрофних бактерій на прикладі катаболічного перетворення гексоз (рис. 5.3).

Рис. 5.3. Етапи катаболічного розщеплення глюкози у мікробній клітині

Цей процес можна розділити на 5 етапів (A–E):

Етап A. Активація молекули глюкози фосфатною групою. Цей процес пов'язаний із затратою енергії. У факультативних та облігатно анаеробних бактерій фосфорилювання глюкози відбувається при її транспорті в клітину за механізмом перенесення груп за допомогою фосфоенолпіруват:глюкозафосфотрансферазної системи.

Етап B. Розщеплення глюкозо-6-фосфату до пірувату в мікроорганізмів може відбуватися трьома шляхами:

1) гліколітичним (Емдена — Мейєргофа — Парнаса, гексозодифосфатним);

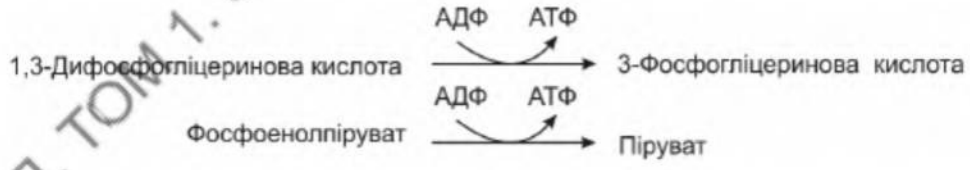
2) Ентнера — Дудорова (2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконатним);

3) пентозофосфатним (окисним пентозофосфатним, фосфоглюконатним, Варбурга — Діккенса — Хорекера, гексозомонофосфатним шунтом).

Біологія. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скіба Л.Ю., Сергійчук Т.М. та ін

Гліколітичний шлях (рис. 5.4) найпоширеніший серед мікроорганізмів. За 9 реакцій молекула глюкози перетворюється на 2 молекули пірувату. Гліколітичний шлях можна умовно розділити на три етапи. На першому відбувається «активація» цукру шляхом його фосфорилювання. Спочатку глюкоза фосфорилюється до глюкозо-6-фосфату за рахунок витрати АТФ. В аеробних мікроорганізмів це відбувається безпосередньо у клітині під час гліколізу. В анаеробів фосфорилювання глюкози здійснюється у процесі її транспорту в клітину за механізмом перенесення груп. Наступне фосфорилювання субстрату призводить до утворення фруктозо-1,6-дифосфату і також супроводжується використанням АТФ. Отже, перший етап гліколізу є енергозатратним. На другому етапі відбувається розщеплення молекули гексози на дві молекули тріози. Фруктозо-1,6-дифосфат за допомогою фруктозодифосфатальдолази розщеплюється на дві молекули фосфорилованих тріоз: дигідроксіацетонфосфат та 3-фосфогліцериновий альдегід. Ці дві сполуки можуть взаємно перетворюватися за участю фермента тріозофосфатізомерази. За достатньої кількості неорганічних фосфатів у поживному середовищі подальше перетворення субстрату мікроорганізми здійснюють за гліколітичним шляхом через 3-фосфогліцериновий альдегід, а за недостатньої — за допомогою *метилгліоксалевого шунта* через дигідроксіацетонфосфат. На третьому етапі гліколізу відбувається фосфорилювання двох молекул 3-фосфогліцеринового альдегіду неорганічним фосфором (без затрат АТФ) та їх окиснення до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти і далі до пірувату з утворенням 4АТФ і 2НАДН. Важливими метаболітами є фосфоенолпіруват (ФЕП), 3-фосфогліцеринова кислота (ФГК) та піруват. Отже, внаслідок гліколізу з однієї молекули глюкози утворюються 4АТФ та 2НАДН. Оскільки 2АТФ витратилося на першому етапі, загальний енергетичний вихід становить 2АТФ та 2НАДН на одну молекулу глюкози.

АТФ утворюється в результаті фосфорилювання АДФ у двох реакціях субстратного фосфорилювання:



Метилгліоксалевий шунт. За обмеженої кількості неорганічних фосфатів у поживному середовищі фермент гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогеназа є недостатньо активний, тому фосфорилювання 3-фосфогліцеринового альдегіду не відбувається. Перетворення субстрату здійснюється обхідним шляхом через дигідроксіацетонфосфат і проміжний метаболіт метилгліоксаль. Цей метаболічний шлях називають метилгліоксалевим шунтом (рис. 5.5). Метилгліокалевий шунт енергетично менш вигідний, ніж гліколіз, але він дозволяє клітині виживати при лімітованому джерелі фосфору в довкіллі.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скавка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

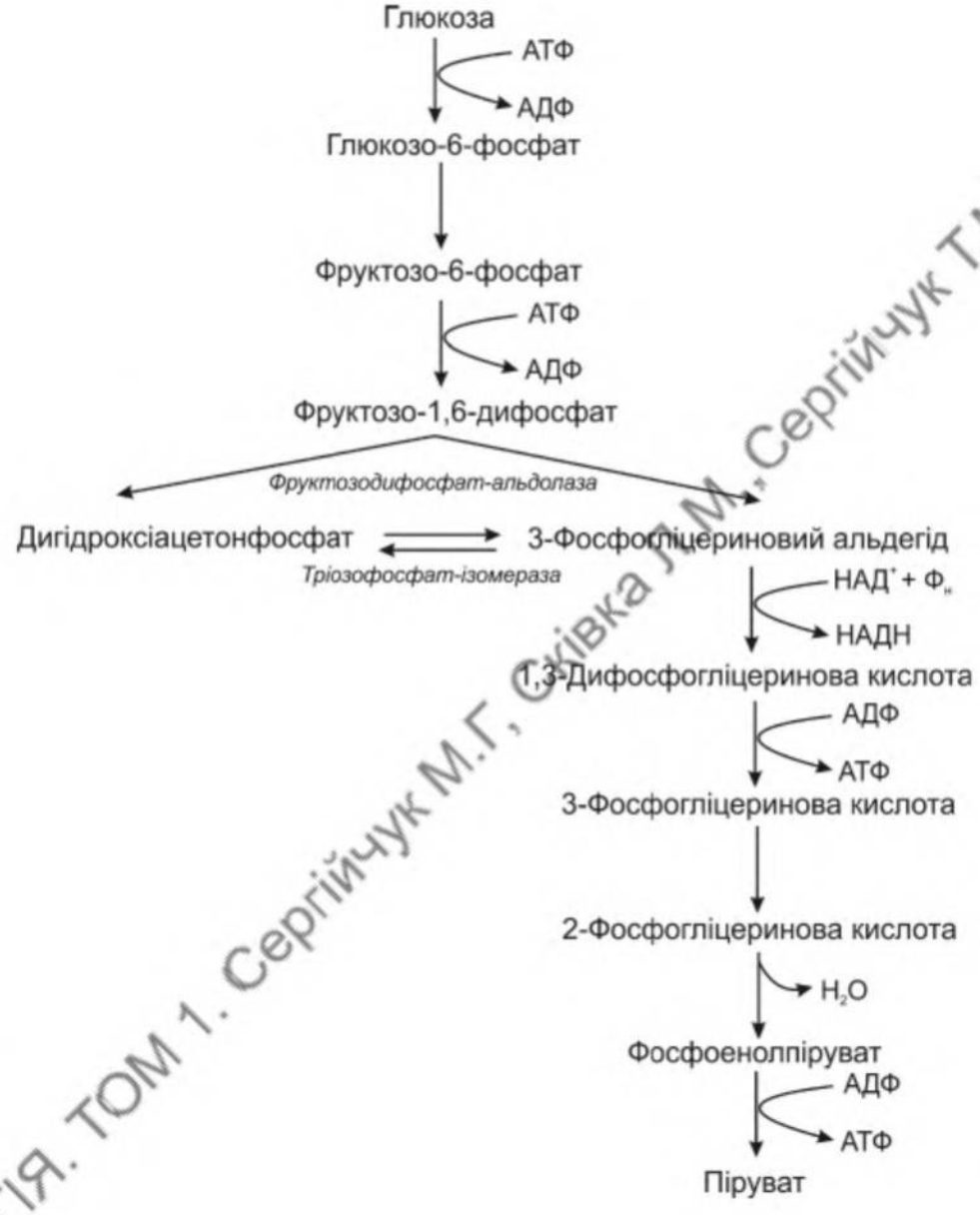


Рис. 5.4. Гліколітичний шлях розщеплення глюкози (синоніми: шлях Емдена — Мейєргофа — Парнаса, гексозодифосфатний шлях)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

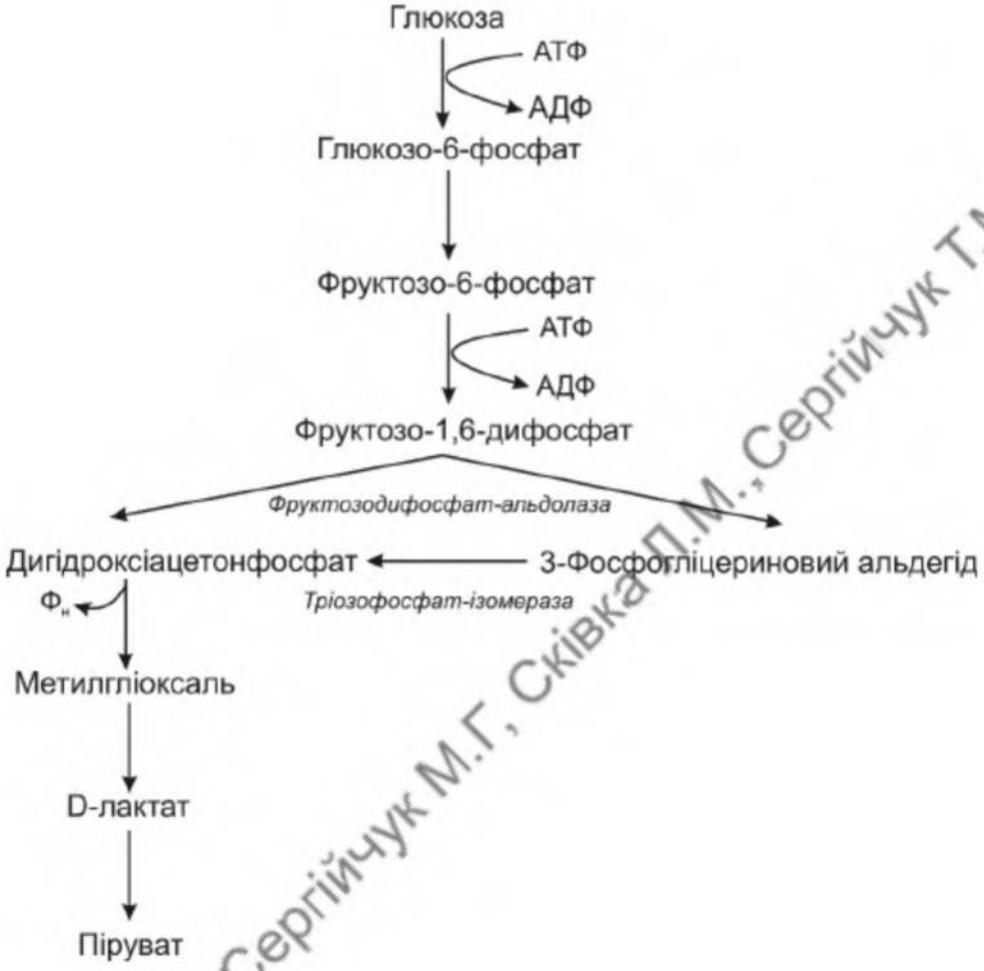


Рис. 5.5. Метилгліоксалевий шунт розщеплення глюкози

Шлях Ентнера — Дудорова (рис. 5.6) можливий в обмеженої кількості мікроорганізмів, здебільшого представників роду *Pseudomonas* та деяких анаеробів, наприклад *Zymomonas mobilis*.

Поява цього шляху пов'язана з великою потребою прокаріотів у піруваті, адже тут піруват утворюється з глюкози лише за 4 реакції. В результаті такого розщеплення 1АТФ витрачається і утворюється 1НАДН. Основний ключовий метаболіт цього шляху –2-кето–3-дезоксі–6-фосфоглюконова кислота (КДФГ), а специфічні ферменти –6-фосфоглюконатдегідратаза і КДФГ–альдолаза. Шлях Ентнера — Дудорова має кілька точок перетину з пентозофосфатним і гліколітичним шляхами, тому за потреби може на них переключатися.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Рис. 5.6. Шлях Ентнера — Дудорова розщеплення глюкози (синоніми: 2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконатний шлях)

Пентозофосфатний шлях. В результаті розщеплення глюкози пентозофосфатним шляхом (рис. 5.7) витрачається 1АТФ, відновлюються 2НАДФН, відщеплюється $1CO_2$ і синтезуються сполуки з різними довжинами карбонового скелета: C_3, C_4, C_5, C_7, необхідні для подальшого біосинтезу. На рівні спільного метаболіту (3-фосфогліцеринового альдегіду) пентозофосфатний шлях може переключатися на гліколіз. Таке комбінування двох шляхів дає клітині змогу отримати не лише метаболіти для анаболізму та відновлені еквіваленти, а й АТФ. Пентозофосфатний шлях може функціонувати як цикл за рахунок конденсації 2 молекул 1-фосфогліцеринового альдегіду, або за рахунок ізомеризації фруктозо-6-фосфату. В такому разі після 5 повторень циклу молекула глюкози повністю окиснюється до $6CO_2$.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Оківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

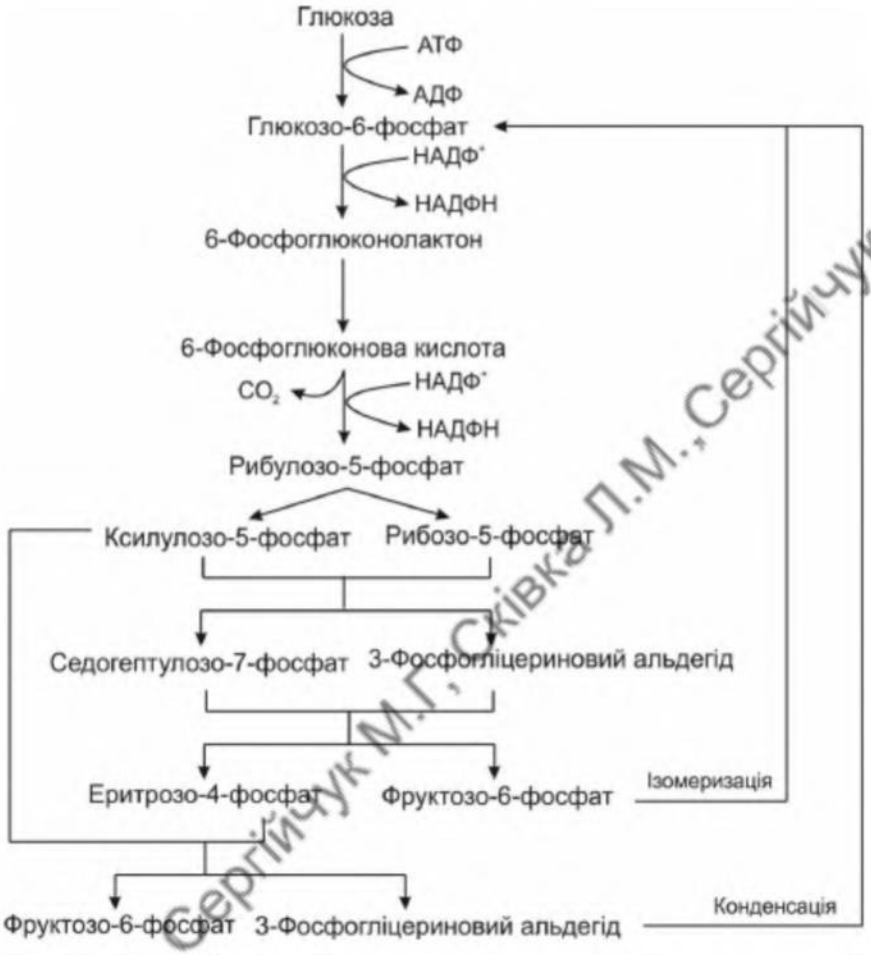


Рис. 5.7. Пентозофосфатний шлях розщеплення глюкози (синоніми: окисний пентозофосфатний шлях, гексозомонофосфатний шунт, фосфоглюконатний шлях, шлях Варбурга — Діккенса — Хорекера)

Етап С. Окиснення піровату до ацетил-КоА. Мікроорганізми цей етап можуть здійснювати чотирма способами (табл. 5.3).

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Таблиця 5.3.

Шляхи окиснення піровату мікроорганізмами

Мікроорганізми	Реакція	Фермент
Облігатні аероби	Піруват + КоА + НАД+ → Ацетил-КоА + НАДН+ CO_2	Піруватдегідрогеназа
Облігатні анаероби *(Clostridium)*	Піруват + КоА + 2Фд+ → ацетил-КоА + 2ФдH_2 + CO_2	Феродоксиноксидо-редуктаза
Факультативні анаероби, які утворюють форміат (*Enterobacteriaceae*; фототрофи)	Піруват + КоА → Ацетил-КоА + +Форміат	Форміатліаза
Дріжджі	Піруват → Оцтовий альдегід + CO_2	Піруватдекарбоксилаза

Етап D: Окиснення ацетильної групи ацетил-КоА до CO_2 у *циклі Кребса* (рис. 5.8).

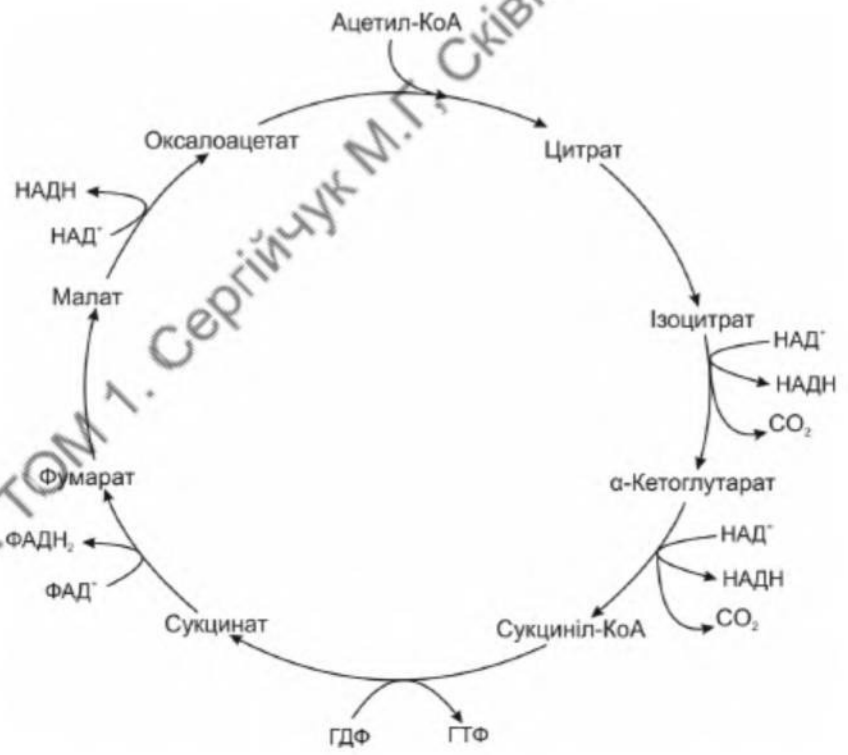


Рис. 5.8. Окиснення ацетил-КоА у циклі Кребса (синоніми: цикл трикарбонових кислот (ЦТК), цикл цитринової кислоти)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Молекула оцтової кислоти, що має малі розміри і відносно просту будову, досить стійка до хімічного окиснення. Живі клітини у процесі еволюції призвичаїлися використовувати складний обхідний шлях окиснення ацетил-КоА. Згідно з ним спочатку ацетил-КоА, об'єднавшись з оксалоацетатом (щавлево-оцтова кислота, ЩОК), утворює цитринову кислоту. Далі відбувається дегідрування і декарбоксилювання цитрату, що значно легше, ніж пряме окиснення ацетату. Отже, основне призначення циклу Кребса — окиснення ацетату (ацетил-КоА) до $2CO_2$. Паралельно з цим процесом у циклі Кребса з однієї молекули ацетил-КоА утворюється ГТФ, 3НАДН і $ФАДН_2$. Цей цикл також має велике значення для анаболізму, бо низка його метаболітів (α-кетоглутарова і щавлево-оцтова кислоти) використовуються клітиною для біосинтезу амінокислот. ГТФ у циклі Кребса утворюється за реакцією:

ГТФ може передавати свою кінцеву фосфатну групу на АДФ, що супроводжується виділенням АТФ. Отже, ця реакція належить до фосфатного фосфорилювання.

Етап Е. Окиснення відновлених коферментів, що утворилися на етапах B, C, і D на дихальному ланцюзі.

Дихальний ланцюг — це сукупність великої кількості переносників і ферментів, які фізично зв'язані з матриксом мембран і заглиблені в їх ліпідний шар. У еукаріотів дихальний ланцюг в основному локалізований на внутрішній мембрані мітохондрій, а у прокаріотів — на цитоплазматичній мембрані (ЦПМ) та її утворах (мезосомах), спрямованих усередину клітини.

Переносники на дихальному ланцюзі мають такі властивості:

- розміщені в міру зростання їх окисно-відновного потенціалу від –320 (ОВП системи НАДН/НАД$^+$) до +810 мВ (ОВП системи ½ O_2/H_2O);
- здатні до зворотного окиснення й відновлення;
- забезпечують плавне перенесення електронів від відновленого еквівалента (НАДН $ФАДН_2$) до термінального акцептора (за аеробних умов — до O_2);
- розміщені в мембрані у безпосередній близькості один від одного, тому електрони передаються від одного переносника до іншого без затримки;
- переносники в мембрані утворюють петлі, в яких переносники електронів обернені до зовнішнього боку мембрани, а переносники атомів водню — до внутрішнього.

За хімічною природою (рис. 5.9) переносники поділяють на:

- флавопротеїни;
- залізо-сірчані білки;
- хінони;
- цитохроми.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.Г., Сківка Л.М. Сергійчук Т.М. та ін

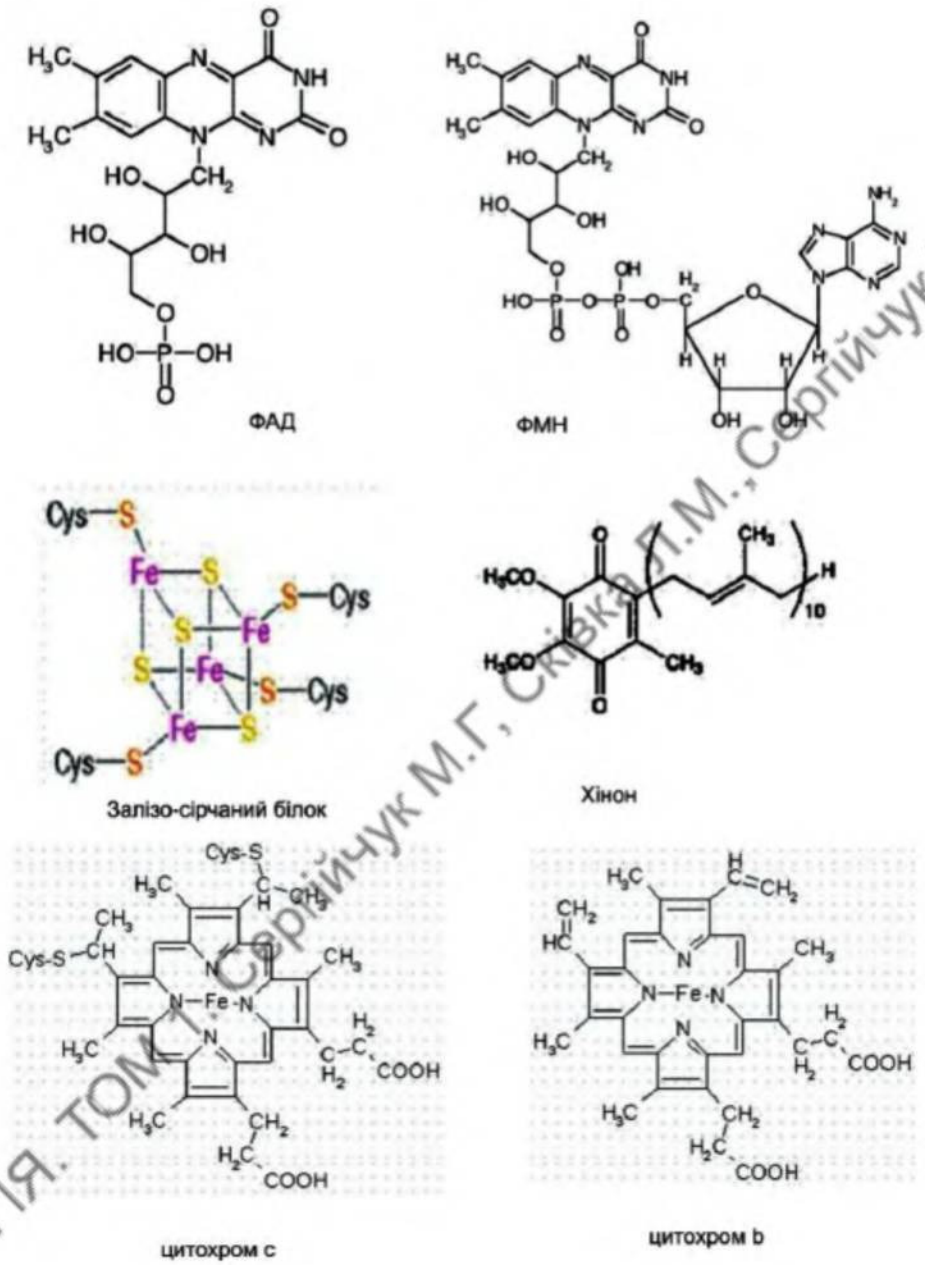


Рис. 5.9. Будова деяких переносників дихального ланцюга

Флавопротеїни — це низькопотенціальні переносники атомів водню, побудовані на основі вітаміну рибофлавіну: флавінмононуклеотид (ФМН) і флавінаденіндинуклеотид (ФАД). ФМН є простетичною групою ферменту

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Серійчук М.Г., Сківка Л.М., Серійчук Т.М. та ін

НАДН-дегідрогенази (Е-ФМН). Функція Е-ФМН полягає в окисненні НАДН, приєднанні до себе *атомів Гідрогену* і подальшій передачі їх по дихальному ланцюгу. ФАД — простетична група ферменту сукцинатдегідрогенази (Е-ФАД). Функція Е-ФАД полягає в окисненні сукцинату (у циклі Кребса), приєднанні до себе *атомів Гідрогену* і подальшій передачі їх по дихальному ланцюгу.

Залізо-сірчані білки (залізосіркопротеїди) є ферментами, що містять 1–8 атомів заліза в негемовій формі. Атоми заліза, у свою чергу, зв'язані з атомами кислотолабільного сульфідного Сульфуру. Атоми Сульфуру на периферії молекули належать до чотирьох залишків цистеїну поліпептидного ланцюга ферменту. Кожну Fe-S-групу називають центром, або кластером. У природі найпоширеніші залізо-сірчані білки чотирьох типів: рубредоксин (містить 1Fe-S кластер), 2Fe-S-, 4Fe-S- і 8Fe-S-фередоксини. Залізо-сірчані білки переносять *електрони*.

Хінони на відміну від інших переносників не «зафіксовані» в мембранах, а «розчинені» в їхніх ліпідах. Відомо кілька типів хінонів: убіхінони (позначаються Q або CoQ, зустрічаються у грампозитивних бактерій), менахінони (у *E. coli*), нафтохінони (у деяких грамнегативних бактерій). Відновлену форму убіхінону називають убіхінолом (позначається QH_2). Хінони відновлюються *атомами Гідрогену*. Електрони вони приймають від залізо-сірчаних білків, а протони — з цитоплазми. Якщо водень надходить з Е-ФАД, то хінони приймають його у вигляді *атомів*.

Цитохроми — це гемопротеїди. Їхня простетична група є похідною гему (циклічного тетрапіролу з атомом заліза). Окиснена форма заліза цитохромів Fe(III) відновлюється електронами до Fe(II), тобто цитохроми переносять *електрони*. Їх ОВП залежить від будови і властивостей білкової частини молекули, коливається від –290 до +290 мВ. Цитохроми позначають літерами латинського алфавіту (*a*, *b*, *c*, *d*, *o*, c_{co}), часом із зазначенням довжини хвилі α-смуги, наприклад b_{557}. У бактерій, які дихають анаеробно, наприклад *Shewanella frigidimarina*, містяться мультигемові цитохроми (тетра-, дека-гемові). Цитохроми можуть утворювати комплекси, наприклад цитохромоксидаза aa_3.

На рис. 5.10 наведено схематичну будову мітохондріального дихального ланцюга. Чергування переносників атомів водню й електронів призводить до транслокації протонів крізь мембрану. В еукаріотів протони виділяються з внутрішньомітохондріального простору назовні мітохондрій, у прокаріотів — із цитоплазми у периплазматичний простір.

У процесі функціонування електронотранспортних ланцюгів на мембранах виникає *градієнт електрохімічного потенціалу іонів Гідрогену* ($\Delta\mu_{H+}$), який є рушійною силою процесу фосфорилювання АДФ. Градієнт $\Delta\mu_{H+}$ складається з двох компонентів — *електричного* (різниця електричних потенціалів Δφ) й *осматичного* (концентраційного — ΔpH):

$$\Delta\mu_{H+} = F\,\Delta\varphi - 2{,}3RT\,\Delta pH,$$

де Δφ — мембранний потенціал; R — універсальна газова стала; T — абсолютна температура; F — число Фарадея.

Біологія. Том 1. Сергійчук Т.М. та ін.

Одиниця виміру $\Delta\mu_{H+}$ є Дж/моль. Щоб перевести цю одиницю у вольти, значення $\Delta\mu_{H+}$ треба поділити на число Фарадея. Отриману частку називають протонорушійною силою і позначають символом *p*:

$$\Delta p = \Delta\mu_{H+} / F.$$

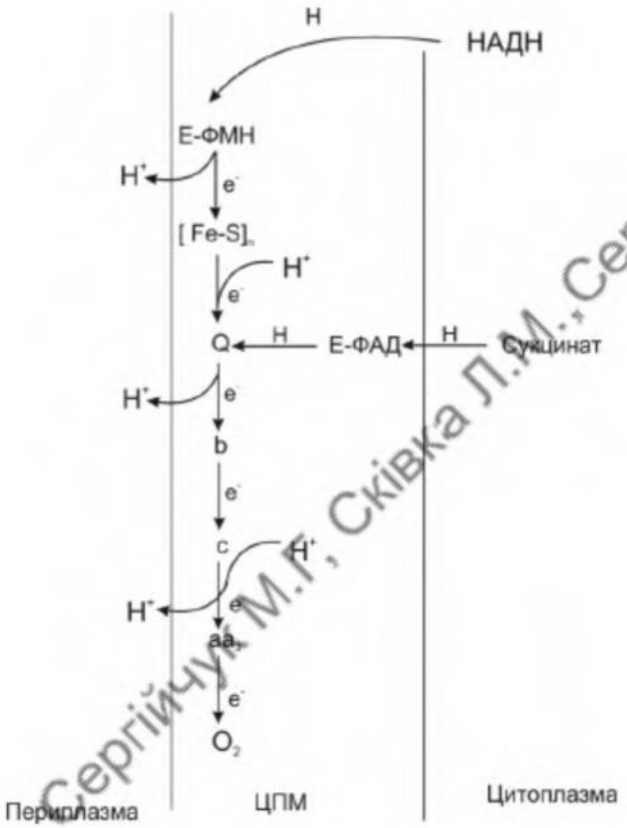


Рис. 5.10. Схематична будова мітохондріального дихального ланцюга (вказано можливі пункти винесення протонів назовні — пункти фосфорилювання): E-ФМН, E-ФАД — флавопротеїни; E-ФМН — НАДН-дегідрогеназа; E-ФАД — сукцинатдегідрогеназа; $[Fe\text{-}S]_n$ — залізо-сірчані білки; Q — хінон; *b*, *c*, aa_3 — цитохроми; H — атом Гідрогену; H^+ — протон; e^- — електрон

Згідно з хеміосмотичною гіпотезою Мітчела, протони повертаються назад у клітину крізь мембрану лише в місцях локалізації АТФ-синтетази (АТФ-ази). В результаті цього відбувається реакція фосфорилювання АДФ в АТФ:

$$АДФ + Ф_н + H^+ = АТФ + H_2O.$$

На дихальному ланцюзі АТФ утворюється внаслідок окисного фосфорилювання. Оскільки виникнення градієнту протонів у результаті проходження електронів по дихальному ланцюгу призводить до утворення АТФ, місця ви-

БІОЛОГІЯ. ГРИЦ Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

несення протонів називають *пунктами фосфорилювання*. У мітохондріальному дихальному ланцюзі таких пунктів три:

- між Е-ФМН та залізо-сірчаними білками;
- між хіноном і цитохромами;
- на цитохромі aa_3.

На кожні 2 електрони, що переносяться на кисень з НАДН, можуть фосфорилуватися 3 молекули АТФ, а з $ФАДН_2$ — 2АТФ.

Теоретичний вихід АТФ при хемоорганотрофному аеробному метаболізмі за оптимальних умов становить 38 молекул АТФ (2879,6 кДж) на 1 молекулу глюкози (рис. 5.11).

Рис. 5.11. Теоретичний вихід АТФ при хемоорганотрофному аеробному метаболізмі

Аеробні хемоорганотрофи мають енергетично найвигідніший тип метаболізму. В них відбувається і субстратне, і окисне фосфорилювання, причому внаслідок перенесення електронів дихальним ланцюгом на кисень організм отримує у 8,5 раза більше енергії, ніж у разі прямого розщеплення субстрату. Однак потрібно враховувати, що за реальних умов частина відновлених еквівалентів використовується на біосинтез і не досягає дихального ланцюга, частина

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

протонів використовується для активного транспорту й обертання джгутиків і не подається на АТФ-синтетазу. Тому такий підрахунок виходу АТФ має лише теоретичне значення.

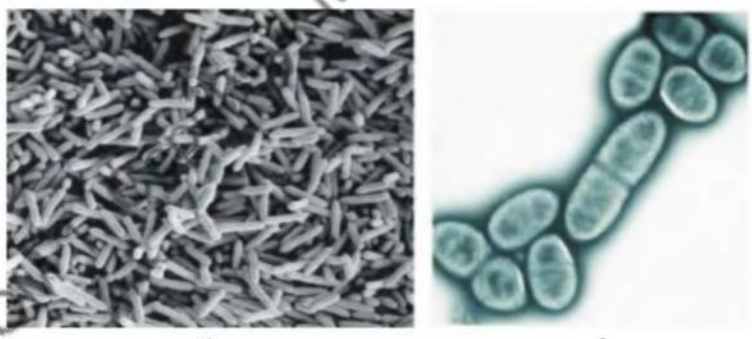
Дихальні ланцюги прокаріотів на відміну від еукаріотів надзвичайно різноманітні. Склад переносників й кількість пунктів фосфорилювання, а отже, й вихід АТФ, залежать від багатьох чинників: ОВП донора й акцептора електронів, типу метаболізму мікроорганізмів, умов довкілля.

Неповне окиснення органічних сполук. Аеробні хемоорганогетеротрофні мікроорганізми прості органічні субстрати зазвичай частково окиснюють до CO_2 й H_2O, а частково використовують для біосинтезу. Водночас, за певних умов у середовищі накопичуються органічні кислоти, такі як оцтова, піровиноградна, глюконова, цитринова тощо, та деякі спирти (ацетоїн, бутандіол). Це явище отримало назву «аеробне бродіння», однак його механізм і причини принципово різняться від класичного анаеробного бродіння. Неповне окиснення має практичне значення і використовується в біотехнологіях для отримання цінних речовин.

Неповне окиснення органічних речовин може відбуватися за таких причин:

1) у зв'язку з особливостями метаболізму бактерій (наприклад, *Acetobacter*, *Gluconobacter* (рис. 5.12);

2) за аномальних фізіологічних умов (наприклад, виділення органічних кислот грибами в разі нестачі у середовищі макро- й мікроелементів або бацилами за надлишку вуглеводів).



1 2

Рис. 5.12. Оцтовокислі бактерії: 1 — *Acetobacter aceti* [https://en. wikipedia. org/wiki/Acetic_acid_bacteria#/media/File: Acetobacteraceti. jpg]; 2 — *Gluconobacter oxydans* [http://deskuenvis. nic. in/microbes. asp?list=1&page=2]

Типовими бактеріями, що здійснюють неповне окиснення внаслідок особливостей метаболізму, є оцтовокислі бактерії — група грамнегативних хемоорганогетеротрофних аеробів. До них належать близькоспоріднені роди *Acetobacter* і *Gluconobacter,* які за надлишку спирту або цукру окиснюють їх з утворенням органічних кислот.

Бактерії роду *Gluconobacter* окиснюють молекулу етанолу до ацетату і 2НАДН. Відновлені еквіваленти скеровуються на дихальний ланцюг для окисного фосфорилювання, а ацетат накопичується у середовищі. Це відбувається тому, що окиснення ацетил-КоА у циклі Кребса в них неможливе через відсутність низки ферментів, а саме: α-кетоглутаратдегідрогенази, ізоцитратліази та малатсинтетази.

Бактерії роду *Acetobacter* мають повний цикл Кребса, однак спочатку вони окиснюють весь етанол до ацетату, який накопичується у середовищі. Після повного використання етанолу бактерії починають окиснювати ацетат.

У лабораторних і промислових умовах гриби родів *Rhizopus, Mucor, Circinella, Aspergillus* можуть виділяти у середовище молочну, глюконову, щавлеву, цитринову, ітаконову, фумарову, яблучну, бурштинову, мурашину кислоти за нестачі заліза, мангану, міді, магнію, калію або кальцію. Це відбувається внаслідок порушення регуляції метаболізму мікроорганізмів.

Більшість представників *Bacillus* у разі росту за високих концентрацій вуглеводів накопичують у середовищі ацетат, піруват, ацетоїн і бутандіол, які потім використовуються клітинами на стадії спороутворення.

Метилотрофні бактерії (***метилотрофи***) є облігатно аеробними прокаріотами, які утилізують однокарбонові сполуки, більш відновлені, ніж форміат, як єдине джерело Карбону й енергії (рис. 5.13). Особливістю метаболізму цих бактерій є те, що весь потік Карбону у них проходить через такий токсичний проміжний продукт, як формальдегід.

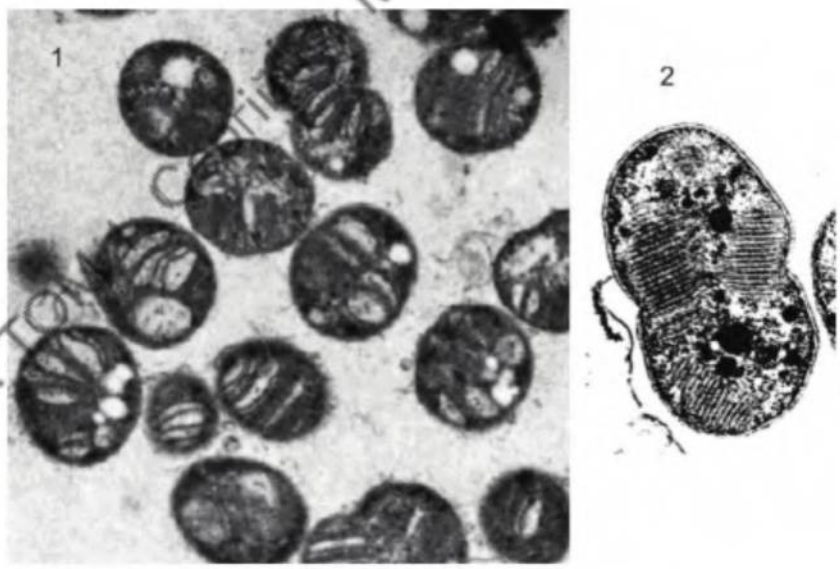


Рис. 5.13. Метилотрофні бактерії: 1 — *Methylococcus capsulatus* [https://en. wikipedia. org/wiki/Methylococcus_capsulatus]; 2 — *Methylomonas methanica* [http://www. mokkka. hu/drupal/en/node/2871]

Субстратами для метилотрофів є різноманітні речовини, які містять один або більше атомів Карбону, але не мають С–С-зв'язків. Такі сполуки зазвичай називають однокарбоновими, або C_1-сполуками: метан (CH_4); метанол (CH_3OH); форміат (CHOOH); формальдегід (HCOH); формамід ($HCONH_2$); метильовані аміни (метиламін, диметиламін, триметиламін); метильовані сульфуровмісні сполуки. Перелічені речовини є органічними, тому метилотрофні бактерії за типом метаболізму слід вважати хемоорганогетеротрофами. Водночас використання метилотрофами C_1-сполук в енергетичному і конструктивному метаболізмі призвело до формування у них специфічних шляхів асиміляції й дисиміляції цих сполук, відмінних від типових для хемоорганогетеротрофних мікроорганізмів.

Метанотрофні бактерії (*метанотрофи*) — це підгрупа метилотрофів, унікальних за своєю здатністю утилізувати метан як єдине джерело Карбону й енергії. Визначальною особливістю метанотрофів є наявність ферменту метанмонооксигенази, який каталізує реакцію окиснення метану до метанолу. Метан — найстабільніша сполука Карбону в анаеробному середовищі. Він виділяється у довкілля з анаеробних екологічних ніш й аеробно окиснюється метанотрофами.

Окиснення метану відбувається у кілька етапів (рис. 5.14).

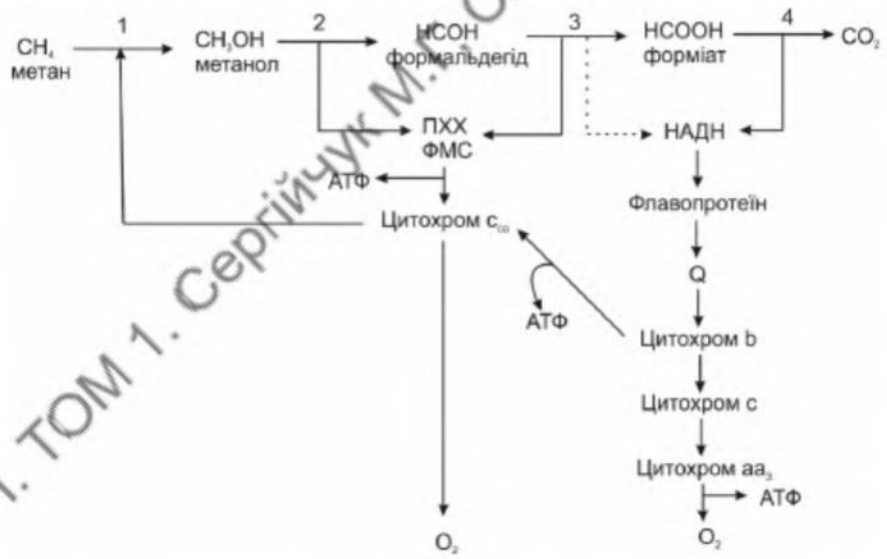


Рис. 5.14. Можлива схема енергетичного обміну в *Methylosinus trichosporium*: ПХХ — піролохінолінхінон; ФМС — феназинметасульфат

Етап 1. Окиснення метану до метанолу. Реакція відбувається за наявності молекулярного кисню і каталізується ферментом метанмонооксигеназою (ММО). Цей фермент за допомогою двох відновлених еквівалентів розриває зв'язок O=O

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

в молекулі кисню. Один атом кисню при цьому відновлюється до води, а другий включається у метан з подальшим утворенням метанолу (CH_3OH).

$$CH_4 + O_2 + H_2A \rightarrow CH_3OH + A + H_2O,$$

де H_2A — відновник.

З наведеної реакції стає зрозумілою облігатна залежність окиснення метану від молекулярного кисню.

У метанотрофів є дві форми ММО: нерозчинна, зв'язана з фрагментами мембран (р-ММО), і розчинна (s-ММО). Донором електронів для першої можливо є відновлений цитохром *c* або НАДН, що утворився в результаті зворотного електронного транспорту, для другої — тільки НАД(Ф)Н або сполуки, що окиснюються при його утворенні. Етап окиснення метану до метанолу не пов'язаний з отриманням клітиною енергії.

Етап 2. Окиснення метанолу до формальдегіду. Метанол, який утворився з метану на першому етапі, чи надійшов з довкілля в результаті розщеплення пектину або лігніну, окиснюється до формальдегіду за допомогою *метанолдегідрогенази* (МДГ): периплазматичної — у грамнегативних метилотрофів, чи зв'язаної з НАД — у грампозитивних. МДГ належить до особливого класу ферментів — хінопротеїдів. Простетичною групою МДГ є піролохінолінхінон (ПХХ), який також називають метоксантином. Перехід ПХХ з окисненої форми у відновлену ($ПХХН_4$) пов'язаний з перенесенням чотирьох електронів. Цей процес відбувається у 2 стадії (рис. 5.15):

1) ПХХ приєднує 2 електрони і перетворюється на $ПХХН_2$, при цьому метанол окиснюється до формальдегіду (етап 2);

2) $ПХХН_2$ приєднує ще 2 електрони і перетворюється на $ПХХН_4$, при цьому формальдегід окиснюється до форміату (етап 3).

Відновлення ПХХ спостерігається як на етапі окиснення метанолу, так і на етапі окиснення формальдегіду (етап 3).

Рис. 5.15. Двостадійне відновлення піролохінолінхінону (ПХХ)

МДГ виявляє свою активність за наявності такого переносника електронів, як феназинметасульфат (ФМС). Електрони, що відірвалися від метанолу й формальдегіду під час їх окиснення, за допомогою ПХХ через ФМС передаються на цитохром c_{co}.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сінька Л.І., Сергійчук Г.М. та ін

Етап 3. Окиснення формальдегіду до форміату. Цей етап може відбуватися трьома способами:

1) Внаслідок здійснення другої стадії відновлення ПХХ метанолдегідрогенази (МДГ) (див. етап 2);

2) із залученням $НАД^+$-залежної формальдегіддегідрогенази: оскільки ОВП реакції окиснення формальдегіду до форміату становить –440 мВ, то термодинамічної заборони для перенесення електронів від формальдегіду до $НАД^+$ немає, тобто на цьому етапі можливе функціонування переносника піридиннуклеотиду;

3) можливе окиснення формальдегіду за циклічним механізмом без використання ферментів дегідрогеназ.

Етап 4. Окиснення форміату до діоксиду Карбону. Це відбувається за допомогою $НАД^+$-залежної форміатдегідрогенази. Реакція дуже важлива для метилотрофів, бо вона є основним джерелом відновлення $НАД^+$.

Електронотранспортна система метилотрофів за своїм складом і локалізацією дуже подібна до дихального ланцюга більшості аеробних еубактерій. В окисному кометаболізмі C_1-сполук беруть участь флавопротеїни, хінони, цитохроми типів *b*, *c*, c_{co}, *a*, *o*. Основна частина електронів подається з переносників на цитохром *c*. АТФ утворюється в результаті окисного фосфорилювання.

Джерелом Карбону у метилотрофів є формальдегід. Він асимілюється двома анаболічними циклічними шляхами:

1) рибулозомонофосфатним (шлях RuMP), характерним для родів *Methylococcus*, *Methylomicrobium*, *Methylobacter*, *Methylomonas*;

2) сериновим, характерним для родів *Methylocystis*, *Methylosinus*.

Ці шляхи розглянуто нижче в розд. 5.3.

5.3. Катаболізм аеробних хемолітотрофних мікроорганізмів

Загальна схема. Літотрофні мікроорганізми як джерело (донор) електронів використовують неорганічні сполуки у відновленому стані. Залежно від донора електронів серед аеробних хемолітотрофів розрізняють:

- водневі бактерії (окиснюють молекулярний водень);
- нітрифікувальні бактерії (окиснюють амоній і нітрит);
- безбарвні сіркобактерії (окиснюють сульфід і сірку);
- тіонові бактерії (окиснюють сульфід);
- карбоксидобактерії (окиснюють монооксид Карбону);
- залізобактерії (окиснюють Ферум (II));

Хемолітотрофний метаболізм притаманний деяким анаеробам:

- метаногенам (окиснюють молекулярний водень);
- гомоацетогенам (окиснюють молекулярний водень);

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін

- сульфатредукторам (окиснюють молекулярний водень);
- фотосинтезувальним бактеріям (екзогенними донорами електронів можуть бути молекулярний водень і відновлені сполуки Сульфуру).

Метаболізм аеробних хемолітотрофів характеризується чотирма особливостями:

1) АТФ утворюється в процесі окисного фосфорилювання, тобто на дихальному ланцюзі;
2) реакції субстратного фосфорилювання відсутні (виняток — тіонові бактерії);
3) електрони надходять на дихальний ланцюг на рівні цитохромів (виняток — водневі бактерії);
4) транспорт електронів дихальним ланцюгом відбувається в прямому і зворотному напрямках.

Оскільки джерелами електронів у хемолітотрофів є неорганічні сполуки, їх окиснення відбувається без використання гліколітичного, Ентнера — Дудорова, пентозофосфатного шляхів і циклу Кребса. Відповідно реакції субстатного фосфорилювання, що є характерними для хемоорганотрофів, у цих мікроорганізмів відсутні. Електрони з окиснених неорганічних сполук безпосередньо надходять на дихальний ланцюг. Місце їх надходження визначається ОВП реакції окиснення донора. У таблиці 5.4 наведено значення ОВП основних реакцій хемолітотрофного метаболізму.

Таблиця 5.4.

Окисно-відновні потенціали (ОВП) основних реакцій хемолітотрофного метаболізму

Реакція	ОВП, мВ
$H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$	–410
НАДН + $H^+ \rightarrow$ НАД$^+ + 2e^- + 2H^+$ (реакція окиснення НАДН на дихальному ланцюзі за хемоорганотрофного метаболізму)	–320
$H_2S \rightarrow S^0 + 2H^+ + 2e^-$	–250
$S^0 + 3H_2O \rightarrow SO_3^{2-} + 6H^+ + 4e^-$	+5
$SO_3^{2-} + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + 2H^+ + 2e^-$	–280
$NH_4^+ + 2H_2O \rightarrow NO_2^- + 8H^+ + 6e^-$	+440
$NO_2^- + H_2O \rightarrow NO_3^- + 2H^+ + 2e^-$	+350
$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$ (реакція відновлення кисню на дихальному ланцюзі за аеробного дихання)	+810

Відірвавшись від донора, електрон потрапляє на той переносник дихального ланцюга, значення ОВП якого вище за ОВП реакції окиснення донора. Отже, в усіх хемолітотрофів, крім водневих бактерій, електрони потрапляють на ди-

Біологія. Том 1. Сергійчук М.Г., Скіба М.І., Сергійчук Т.М. та ін.

хальний ланцюг не на початок (рівень флавопротеїнів), а на середину (рівень хінонів і цитохромів) (рис. 5.16).

У хемолітотрофних мікроорганізмів електрон може рухатися дихальним ланцюгом у двох напрямках: *прямому* і *зворотному*. За *прямого транспорту* електрон рухається до термінального акцептора від переносників з нижчими значеннями ОВП до вищих. Таке перенесення електронів супроводжується утворенням градієнта протонів і відповідно синтезом АТФ. Оскільки шлях електронів у прямому напрямку в аеробних хемолітотрофів значно коротший, ніж в аеробних хемоорганотрофів, кількість пунктів фосфорилювання в них менша (як правило, один), а отже, і вихід АТФ значно нижчий. У разі *зворотного транспорту* електрони від місця входження на дихальний ланцюг рухаються у напрямку флавопротеїнів (ФМН) і врешті відновлюють $НАД^+$. Призначення зворотного перенесення електронів — утворення відновлених еквівалентів, які необхідні клітині для біосинтезу і не можуть утворитися іншим шляхом за хемолітотрофного метаболізму. На відміну від хемоорганотрофів, у яких НАДН синтезується без затрат АТФ, у хемолітотрофів цей процес енергозатратний. Енергія, необхідна для транспорту електронів дихальним ланцюгом від переносників з вищими значеннями ОВП до переносників з нижчими ОВП за зворотного їх транспорту, виділяється під час гідролізу молекул АТФ, які попередньо синтезувалися за прямого перенесення електронів. Так, *Nitrobacter winogradskyi* на синтез 1 моль НАДН витрачає 5 моль АТФ, а *Thiobacillus* — 2–3 моль АТФ.

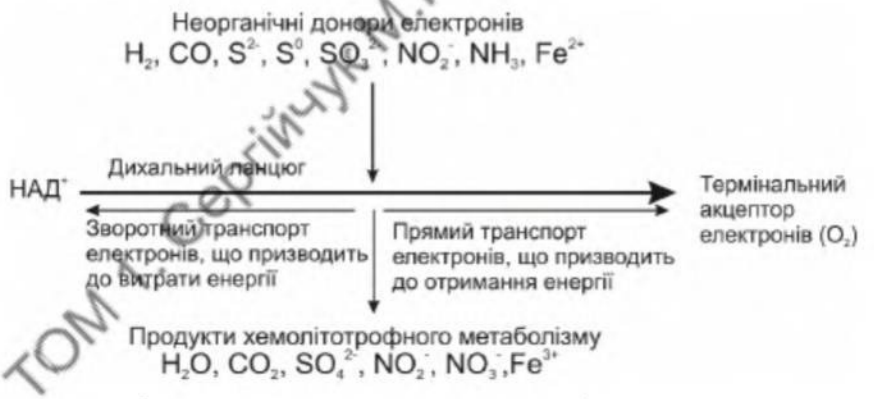


Рис. 5.16. Загальна схема хемолітотрофного метаболізму мікроорганізмів

Більшість хемолітотрофних бактерій є автотрофами. Асиміляція CO_2 також потребує істотних енергетичних витрат. Так, для синтезу 1 молекули глюкози за циклом Кальвіна клітина має використати 12 молекул відновлених еквівалентів і 18 молекул АТФ.

Отже, на відміну від хемоорганогетеротрофів хемолітотрофи отримують АТФ лише за рахунок окисного фосфорилювання за прямого транспорту електронів короткою термінальною частиною дихального ланцюга і додатково ви-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.І., Скіба І.М., Сергійчук Т.М. та ін

трачають АТФ на автотрофний біосинтез і на відновлення $НАД^+$ за зворотного перенесення електронів.

Енергетичні проблеми хемолітотрофів вирішуються наступним чином:

1. Оскільки вони мають дуже розгалужену термінальну частину дихального ланцюга і високу концентрацію цитохромів, це дає їм змогу передавати на термінальний акцептор велику кількість електронів. У зв'язку з цим більшість хемолітотрофів має розвинену систему внутрішніх цитоплазматичних мембран.

2. Хемолітотрофи досить швидко окиснюють неорганічні донори електронів. Вони переробляють велику кількість неорганічних сполук і виділяють у середовище багато кінцевих метаболітів, що надзвичайно важливо для колообігу речовин у природі.

Водневі бактерії. Мікроорганізми здатні окиснювати молекулярний водень як в аеробних, так і в анаеробних умовах. Анаеробне окиснення водню ми розглянемо нижче, а зараз поговоримо про аеробні водневі бактерії. *Водневі* (*воденьокиснювальні*) *бактерії* — це аеробні хемолітоавтотрофні прокаріоти, здатні отримувати енергію й електрони окисненням молекулярного водню, а всі речовини клітини будувати з Карбону CO_2. Молекулярний водень вони використовують і в анаболізмі для отримання відновлених еквівалентів. Метаболізм водневих бактерій можна описати такими рівняннями реакцій:

$$4H_2 + 2O_2 \rightarrow 4H_2O \qquad \text{(Катаболізм);}$$

$$2H_2 + CO_2 \rightarrow <CH_2O> + H_2O \qquad \text{(Анаболізм);}$$

$$6H_2 + 2O_2 + CO_2 \rightarrow <CH_2O> + 5H_2O \qquad \text{(Сумарне рівняння).}$$

Водневі бактерії не є таксономічною групою. Ці організми об'єднують разом лише через кілька спільних фізіологічних ознак. До водневих бактерій належать представники 20 родів, які мають різну морфологію, різне забарвлення за Грамом, рухливі і нерухливі, спорові і неспорові форми. За винятком термофільних бактерій роду *Hydrogenobacter*, що характеризуються облігатною хемолітоавтотрофією, всі інші водневі бактерії — факультативні форми. Вони можуть використовувати як джерело Карбону й енергії також різноманітні органічні сполуки, серед яких і однокарбонові — оксид Карбону, метанол, форміат.

Їх здатність окиснювати молекулярний водень пов'язана з наявністю гідрогеназ, що каталізують реакцію:

$$H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-.$$

Водневі бактерії містять два типи цього ферменту (рис. 5.17): розчинну і зв'язану гідрогенази. Розчинна гідрогеназа міститься у цитоплазмі і каталізує реакцію відновлення $НАД^+$. Продукт реакції НАДН використовується у подальшому для біосинтезу. Гідрогеназа, зв'язана із субклітинними часточками, не здатна відновлювати $НАД^+$ і безпосередньо передає електрони на дихальний

Біологія. Том 1. Серійчук М.Г., Сквіра І.М., Сергійчук Т.М. та ін

ланцюг на рівень флавопротеїнів, хінонів або цитохрому *b*. Тобто вона бере участь в лише в енергетичному метаболізмі.

Рис. 5.17. Функції двох типів гідрогеназ у водневих бактерій

Більшість водневих бактерій містить лише один тип гідрогенази — зв'язану з мембраною. Є види, що мають обидва типи, або лише розчинну. Якщо водневі бактерії містять обидва типи гідрогенази, функції між ними чітко розмежовані. За відсутності розчинної гідрогенази постає проблема отримання відновлених еквівалентів. Вона вирішується зворотним перенесенням електронів на $НАД^+$. У разі функціонування лише розчинної гідрогенази вона виконує обидві функції: частина відновлених еквівалентів з НАДН подається на дихальний ланцюг, інша використовується у конструктивному метаболізмі.

Отже, з усіх хемолітотрофних бактерій тільки водневі за допомогою певного типу гідрогенази можуть здійснювати пряме відновлення $НАД^+$, шляхом окиснення неорганічного субстрату. З цим пов'язаний енергетичний вихід процесу: дихальний ланцюг має 3 або 2 пункти фосфорилювання.

Нітрифікувальні бактерії. *Нітрифікація* — це процес мікробного окиснення амонію до нітрату. Деякі хемоорганогетеротрофні мікроорганізми (*Fusarium*, *Nocardia*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*) можуть перетворювати амоній на нітрит внаслідок побічної діяльності ферментів. Таке окиснення не є джерелом енергії для клітини. Водночас, відомі дві вузькі фізіологічні групи аеробних бактерій, які здійснюють нітрифікацію з отриманням енергії, тобто мають хемолітотрофний метаболізм. Саме такі бактерії і називають *нітрифікувальними* (рис. 5.18).

Процес нітрифікації відбувається у дві фази. Їх здійснюють різні фізіологічні групи бактерій за різними механізмами. Розрізняють *першу* і *другу фази нітрифікації*.

Біологія. Том 1. Сергійчук І.М., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

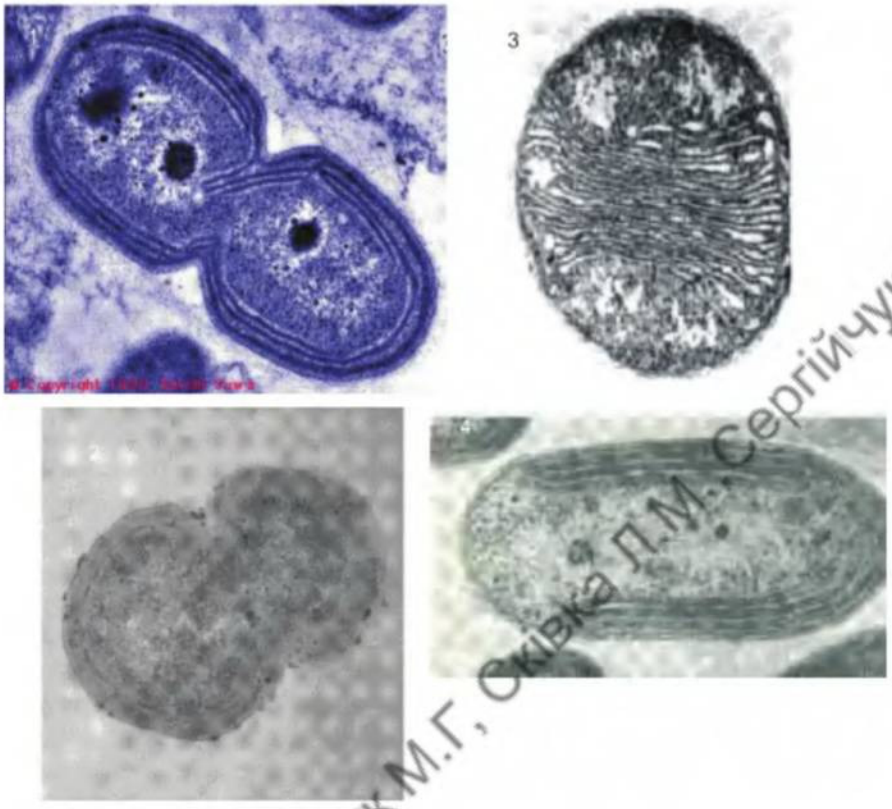


Рис. 5.18. Деякі представники нітрифікувальних бактерій: 1 — *Nitrosomonas* sp. [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Nitrosomonas]; 2 — *Nitrosomonas europeae* [http://www.science.oregonstate.edu/bpp/Labs/arpd/new_Nedivzoomin.htm]; 3 — *Nitrobacter* sp. [http://materiais.dbio.uevora.pt/Micro/slides/02/83.html]; 4 — *Nitrobacter winogradsky* [http://www.mokkka.hu/drupal/en/node/9245]

У першій фазі нітрифікації іони амонію (NH_4^+) окиснюються до нітриту (NO_2^-), тобто N^{3-} перетворюється на N^{3+}. Цей процес проходить в два етапи:

1. Спочатку амоній перетворюється на гідроксиламін згідно рівнянню:

$$2NH_4^+ + O_2 \rightarrow 2NH_2OH + 2H^+.$$

Ця реакція енергозатратна ($\Delta G^{0'} = +112$ кДж/моль). Вона каталізується ферментом амоніймонооксигеназою (АМО) за наявності молекулярного кисню; один атом молекулярного кисню відновлюється до води, а другий приєднується до амонію з утворенням гідроксиламіну.

2. Потім гідроксиламін окиснюється до нітриту:

$$NH_2OH + O_2 \rightarrow NO_2^- + H_2O + H^+.$$

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Скік М.Г., Оківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Реакція каталізується гідроксиламіноксидоредуктазою і проходить через низку нестабільних гіпотетичних продуктів (гіпонітрит, нітрогідроксиламін). Вона енергетично вигідна для клітини ($\Delta G^{0'} = -248$ кДж/моль). Електрони, що вивільняються при окисненні гідроксиламіну подаються на дихальний ланцюг на рівень цитохрому *c*, отже, істиним енергетичним субстратом першої фази нітрифікації є гідроксиламін.

Утворення гідроксиламіну пов'язане з високим значенням ОВП (+440 мВ) реакції

$$NH_4^+ + 2H_2O \rightarrow NO_2^- + 8H^+ + 6e^-.$$

У дихальному ланцюгу нітрифікаторів першої фази немає переносника, здатного прийняти електрон безпосередньо з амонію. Тому в бактерії виникає потреба спеціально, із затратою енергії, створювати проміжний продукт гідроксиламін, ОВП якого становить –40 мВ. Електрони, що виділяються при окисненні гідроксиламіну, приймає цитохром *c*, ОВП якого +245 мВ. На рис. 5.19 наведено схему окиснення амонію до нітриту в першу фазу нітрифікації.

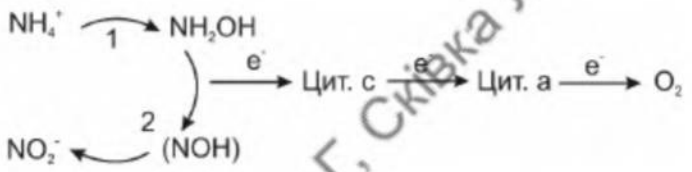


Рис. 5.19. Схема окиснення амонію до нітриту у першу фазу нітрифікації. Позначення: 1, 2 — етапи процесу; NH_2OH — гідроксиламін; NOH — гіпотетичні проміжні продукти

Першу фазу нітрифікації здійснюють бактерії *Nitrosomonas europea*, *Nitrosococcus oceanus*, *Nitrosococcus nitrosus*, *Nitrosolobus multiformis*, *Nitrosospira briensis*, *Nitrosovibrio tenuis*.

У другу фазу нітрифікації Нітроген нітриту (NO_2^-) окиснюється до нітрату (NO_3^-), тобто N^{3+} перетворюється на N^{5+} за рівнянням:

$$2NO_2^- + O_2 \rightarrow 2NO_3^-.$$

Ця реакція постачає клітину енергією ($\Delta G^{0'} = -152{,}4$ кДж/моль). Ключовим ферментом нітрифікаторів другої фази є зв'язана з мембраною нітритоксидоредуктаза. Електрони, що звільнилися при окисненні нітриту, подаються на дихальний ланцюг на рівень цитохрому a_1. Другу фазу нітрифікації здійснюють бактерії *Nitrobacter winogradskyi*, *Nitrospina gracilis*, *Nitrococcus mobilis*, *Nitrospira marina*.

Для нітрифікувальних бактерій першої і другої фаз характерні незначний вихід АТФ, наявність зворотного перенесення електронів, автотрофний анаболізм, потреба в кисні, вузький діапазон pH середовища. Оскільки нітрит є хімічно нестійким іоном й у природі не накопичується, нітрифікатори першої і другої фаз мешкають поруч.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Мікроорганізми, що окиснюють відновлені сполуки Сульфуру. Бактерії здатні окиснювати такі сполуки Сульфуру, як сульфіди (S^{2-}, HS^-), сульфіти (SO_3^{2-}), тіосульфати ($S_2O_3^{2-}$), тритіонати ($S_3O_6^{2-}$), тетратіонати ($S_4O_6^{2-}$), елементарну сірку (S^0), роданіди (CNS), диметилсульфіди (CH_3SCH_3), диметилдисульфіди (CH_3SSCH_3), сульфідні руди. Їх можна поділити на три групи.

Бактерії з хемолітотрофним метаболізмом (тіонові).

1. Бактерії з хемоорганотрофним метаболізмом (деякі безбарвні сіркобактерії).
2. Бактерії з фототрофним метаболізмом (пурпурні та зелені).

Тіонові бактерії. До тіонових бактерій належать роди *Thiobacillus* (*T. acidophilus*, *T. albertis*, *T. aquaesulis*, *T. caldus*, *T. cuprinus*, *T. denitrificans*, *T. ferrooxidans*, *T. halophilus*, *T. hydrotermalis*, *T. neapolitanus*, *T. novellus*, *T. plumbophilus*, *T. prosperus*, *T. tepidarius*, *T. thiooxidans*, *T. thioparus*, *T. thyasiris*, *T. versutus*), *Thiomicrospira* (*T. denitrificans*, *T. thermophila*, *T. pelophila*, *T. chilensis*, *T. frisia*, *T. crunogena*, *T. kuenenii*, *T. psychrophile*, *T. thyasirae*), *Paracoccus* (колишня назва *Thiosphaera*) (*P. pantotropha*), *Thiodendron* та ін. Це одноклітинні організми різної морфології, грамнегативні, спор не утворюють, аероби (*Thiobacillus denitrificans* здатна до нітратного дихання), мають облігатний або факультативний хемолітотрофний тип метаболізму. Більшість тіонових бактерій — автотрофи (асимілюють CO_2 за циклом Кальвіна), але серед них трапляються гетеротрофи і навіть хемолітогетеротрофи. У різних представників цієї групи, здатних рости хемоорганотрофно, виявлені ферменти гліколізу, пентозофосфатного шляху та шляху Ентнера — Дудорова. Описано функціонування циклу Кребса та гліоксилатного шунта. За хемолітотрофного метаболізму тіонові бактерії отримують електрони при окисненні різноманітних сполук Сульфуру (*Thiobacillus ferrooxidans* також і за рахунок окиснення заліза(II)). Молекулярну сірку, як правило, вони не утворюють, але якщо вона все ж з'являється як проміжний продукт, то всередині клітини ніколи не накопичується.

Тіонові бактерії, на відміну від інших хемолітотрофів, при окисненні сполук Сульфуру отримують АТФ у результаті як окисного, так і субстратного фосфорилювання.

За окисного фосфорилювання 8 електронів, які поетапно відщеплюються від сульфіду, подаються на дихальний ланцюг на рівень цитохрому *c*. Термінальним акцептором електронів здебільшого є молекулярний кисень.

Субстратне фосфорилювання відбувається в процесі перетворення сульфіду на сульфат. Спочатку сульфід (S^{2-}, HS^-) окиснюється до сульфіту (SO_3^{2-}), можливо через стадію утворення елементарної сірки.

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

Потім, згідно зі схемою Пека (таблиця 5.5) сульфіт активується АМФ і окиснюється до аденозин–5'-фосфосульфату (АФС) ферментом АФС-редуктазою (рис. 5.20). Електрони, що при цьому вивільняються, спрямовуються на дихальний ланцюг.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скібіцька І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Таблиця 5.5.

Схема субстратного фосфорилювання у тіобацил за Пеком

№	Рівняння	Фермент
1.	$2SO_3^{2-} + 2АМФ \rightarrow 2АФС + 4e^-$	АФС-редуктаза
2.	$2АФС + 2Ф_н \rightarrow 2АДФ + 2SO_4^{2-}$	АДФ-сульфурилаза
3.	$2АДФ \rightarrow АМФ + АТФ$	Аденілаткіназа

Позначення: АФС — аденозинфосфосульфат, $Ф_н$ — неорганічний фосфат.

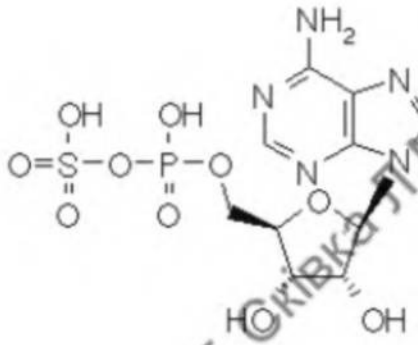


Рис. 5.20. Структурна формула аденозин-5'-фосфосульфату (АФС)

За подальшого фосфорилювання АФС у середовище вивільнюються сульфат-іони (SO_4^{2-}), а перегрупування 2АДФ приводить до синтезу 1 молекули АТФ. Оскільки ця молекула АТФ утворюється поза дихальним ланцюгом, її можна вважати результатом субстратного фосфорилювання.

НАДН тіонові бактерії отримують при зворотному перенесенні електронів по дихальному ланцюгу.

Безбарвні сіркобактерії дуже нагадують ціанобактерії, але не мають пігментів. Згідно з морфологією їх поділяють на дві групи: одноклітинні форми (роди *Achromatium*, *Macromonas*) і нитчасті форми (роди *Thiothrix*, *Thioploca*, *Thiospirillopsis*, *Beggiatoa*). Єдина спільна ознака цієї групи — те, що вони відкладають елементарну сірку у периплазматичному просторі клітин. Наразі достеменно не доведено, чи використовують ці бактерії відновлені сполуки Сульфуру саме як джерело електронів у катаболізмі. Відомо, що вони мають низьку каталазну активність, а 80–90 % кисню, що поглинається під час дихання, відновлюється лише до H_2O_2. Для інактивації токсичного пероксиду водню цим організмам необхідна наявність у довкіллі невеликої кількості сульфідів. Відкладення елементарної сірки у периплазмі, таким чином, є результатом взаємодії H_2O_2 та S^{2-}. Здатність безбарвних сіркобактерій до автотрофного живлення наразі не доведена.

БІОЛОГІЯ. ГОМ. Гавеглюк М.Г., Оківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Пурпурні та зелені бактерії (див. розд. 5.4).

Карбоксидобактерії — це аероби, здатні рости з використанням оксиду Карбону (CO) як єдиного джерела електронів та Карбону. Оскільки вони можуть також окиснювати молекулярний водень, деякі дослідники розглядають карбоксидобактерії як групу водневих бактерій. В той же час здатність використовувати як субстрат дихальну отруту вказує на здійснення карбоксидобактеріями нового типу хемолітотрофного метаболізму. На відміну від інших бактерій, вони дуже стійкі до чадного газу і витримують його концентрацію до 20–95 % від об'єму.

Карбоксидобактерії окиснюють CO за рівнянням:

$$CO + H_2O \rightarrow CO_2 + 2e^- + 2H^+.$$

Окиснення CO здійснюється за допомогою щонайменше одного специфічного ферменту — CO-оксидази, який знаходиться у клітині в розчинній і зв'язаній формах. Зв'язана CO–оксидаза локалізована з внутрішнього боку ЦПМ. За росту карбоксидобактерій на чадному газі CO-оксидаза виконує такі функції:

1) окиснює CO до CO_2;
2) передає електрони на дихальний ланцюг;
3) бере участь у синтезі НАДН шляхом зворотного перенесення електронів.

Дихальний ланцюг карбоксидобактерій має один пункт фосфорилювання.

Вуглекислий газ, що утворився в результаті окиснення CO, слугує джерелом Карбону й асимілюється за циклом Кальвіна, тобто фактично джерелом Карбону для карбоксидобактерій є не CO, а CO_2. Сумарне рівняння використання CO:

$7CO + 2{,}5O_2 + H_2O \rightarrow <CH_2O> + 6CO_2$.

На рис. 5.21 наведено загальну схему асиміляції CO карбоксидобактеріями.

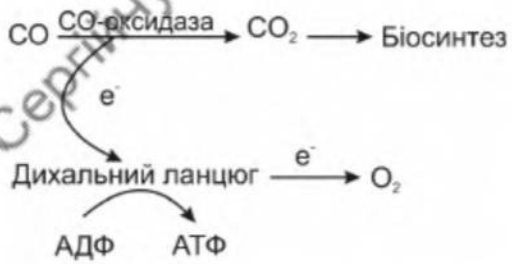


Рис. 5.21. Використання карбоксидобактеріями CO як джерела Карбону та електронів

Однією з цікавих властивостей карбоксидобактерій є сам факт використання CO — інгібітора термінальних оксидаз, таких як цитохроми типу *a*. В електронотранспортних ланцюгах карбоксидобактерій не виявлено незвичайних цитохромів. Вважають, що можливі такі механізми їх резистентності до CO:

1) швидка детоксикація CO за допомогою CO-оксидази;
2) індукція синтезу CO-нечутливих термінальних оксидаз;
3) підвищений синтез компонентів дихального ланцюга;

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1 · Сергійчук І.М., Сергійчук Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

4) просторове розмежування процесу окиснення CO і чутливих до нього цитохромоксидаз.

Карбоксидобактерії є факультативними хемолітоавтотрофами. Вони здатні рости і на органічних субстратах хемоорганогетеротрофно. Представники карбоксидобактерій: *Pseudomonas carboxydovorans, P. carboxydoflava*, *P. gazotropha*, *Seliberia carboxydohydrogena*.

5.4. Фотосинтез прокаріотів

Загальна схема катаболізму фототрофів. Фотосинтез (фотофосфорилювання) — це процес отримання організмами енергії за рахунок світла. Іншими словами, це перетворення енергії світла на енергію хімічних зв'язків.

Сонячні промені, що досягають Землі, поділяються на три групи (рис. 5.22):

1) ультрафіолетові (λ = 300–400 нм), їх частка складає 5 % світла;

2) видимого спектру (λ = 400–700 нм), на них припадає 75 % світла;

3) інфрачервоні (λ = 700–1100 нм), їх частка складає 20 % світла.

Для фотосинтезу найбільше значення має сонячне світло видимого спектру, а саме хвилі у діапазоні 400–700 нм. Ультрафіолетові промені несуть занадто багато енергії, тому вони руйнують органічні молекули (на цьому ґрунтується використання УФ-опромінення для дезінфекції), а інфрачервоні — недостатньо енергії для генерації хімічних реакцій і практично відразу ж перетворюються на теплоту.

Рис. 5.22. Сонячні промені, що потрапляють на Землю

Фотосинтез за механізмом поділяють на два типи: аноксигенний та оксигенний.

Аноксигенний фотосинтез не супроводжується виділенням молекулярного кисню. Цей найдавніший процес характерний для анаеробних прокаріотів — пурпурних бактерій, зелених бактерій, геліобактерій, аеробних аноксигенних

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

фотосинтетиків. Особливим типом фотосинтезу, пов'язаним із каротиноїдами, характеризуються представники археїв — галобактерії.

Оксигенний фотосинтез, за якого в атмосферу виділяється молекулярний кисень, характерний для двох груп прокаріотичних організмів — ціанобактерій і прохлорофітів, а також для всіх еукаріотів — водоростей та вищих рослин.

Здатність організмів існувати за рахунок енергії світла пов'язана з наявністю у них специфічних фоторецепторних молекул — пігментів. Усі фотосинтезуючі пігменти належать до хімічних сполук двох класів:

1) пігменти, основою яких є тетрапірольна структура — хлорофіли, бактеріохлорофіли, фікобіліпротеїни (рис. 5.23, а);

2) пігменти, основа яких утворена довгими поліізопреноїдними ланцюгами — каротиноїди (рис. 5.23, б).

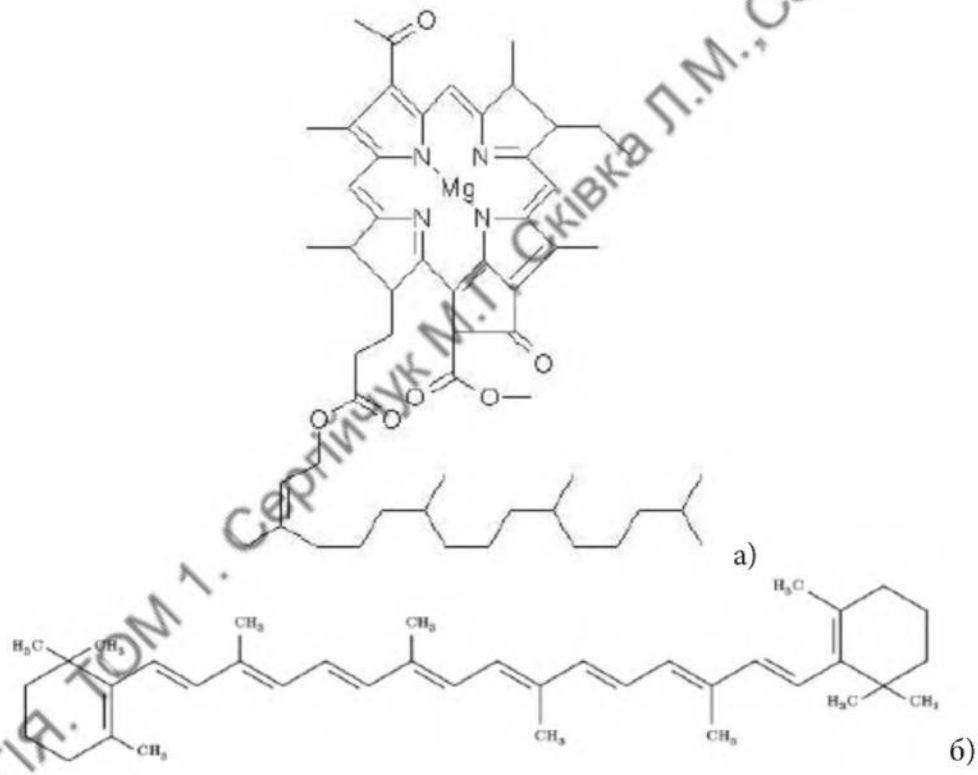


Рис. 5.23. Хімічна будова пігментів фотосинтезуючих мікроорганізмів:
а — бактеріохлорофіл; б — β-каротин

Хлорофіли (Хл) — це магній-порфіринові пігменти, що складаються з чотирьох з'єднаних між собою пірольних кілець, які утворюють замкнену циліндричну структуру. Метал (магній) сполучений з атомами азоту пірольних кілець за допомогою ковалентних і координаційних зв'язків. Ці пігменти характерні

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Т., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

для організмів, у яких відбувається оксигенний фотосинтез. Хлорофіли прокаріотів, що здійснюють аноксигенний фотосинтез, називають *бактеріохлорофілами* (Бхл). Ідентифіковано шість типів бактеріохлорофілів (*a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *g*) та два типи хлорофілів (*a*, *b*). Хлорофіли та бактеріохлорофіли поглинають світло в діапазоні 650–1035 нм.

Фікобіліпротеїни — червоні і сині пігменти, що складаються з білкової субодиниці та простетичної групи — фікобілінів. Фікобіліни містять чотири пірольні кільця, але на відміну від хлорофілів утворюють незамкнену структуру без металу. Їх називають тетрапіролами з відкритими ланцюгами. Фікобіліпротеїни поглинають фотони в діапазоні 480–650 нм і виконують функцію світлозбиральних молекул. Для ціанобактерій характерна наявність таких фікобіліпротеїнів, як фікоеритрин, фікоціанін, алофікоціанін.

Каротиноїди — велика група хімічних сполук, що є продуктом конденсації, як правило, 8 залишків ізопрену. За своєю будовою каротиноїди бувають аліфатичними (не містять циклічних груп) і циклічними. Якщо молекула містить ароматичне кільце на одному кінці ланцюга, то каротиноїд називають моноциклічним, якщо на обох — біциклічним. Каротиноїди, до складу яких входить кисень, належать до ксантофілів. Каротиноїди забезпечують поглинання світла в діапазоні 400–550 нм і запобігають перебігу шкідливих для клітини реакцій фотоокиснення.

За функціями у клітині пігменти поділяють на основні і допоміжні. *Основними пігментами* є частина бактеріохлорофілів *a*, *b*, *g* (і хлорофілу *a*), які входять до складу фотохімічних реакційних центрів (РЦ) і здійснюють фотохімічну реакцію. Це незначна частка від загальної кількості пігментів у клітині: в аноксигенних фотосинтетиків основним є 2–4 % бактеріохлорофілу, а у ціанобактерій— 1–3 % хлорофілу. У галобактерій основними пігментами, що здійснюють фотохімічну реакцію, є каротиноїди. *Допоміжні пігменти* у клітинах фотосинтезуючих мікроорганізмів виконують такі функції:

- поглинають кванти світла і передають їх до фотохімічного РЦ — функція антен;
- беруть участь у фототаксисі;
- захищають клітини від фотоокиснення.

Допоміжними пігментами є значна частина Бхл *a*, *b*, *g*, Хл *a*, а також інші бактеріохлорофіли (хлорофіли), каротиноїди (крім галобактерій) та фікобіліпротеїни (у ціанобактерій).

Прокаріоти на відміну від еукаріотів не мають спеціальних органел для фотосинтезу (хлоропластів). У пурпурних бактерій фотосинтетичний апарат локалізований в ЦПМ та *внутрішньоцитоплазматичних мембранах*, у зелених бактерій — в ЦПМ та особливих структурах *хлоросомах*, у ціанобактерій — в ЦПМ і *фікобілісомах*, подібних за будовою до хлоросом.

Фотосинтетичний апарат мікроорганізмів складається з трьох основних компонентів:

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М., Скібка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

1) світлозбиральних антен, що поглинають енергію світла і передають її до фотохімічних РЦ; їх іще називають фоторецепторними, світлозбиральними або антенними молекулами;

2) фотохімічних РЦ, де відбувається трансформація електромагнітної форми енергії у хімічну;

3) фотосинтетичних електронотранспортних систем, що забезпечують перенесення електронів, пов'язане із синтезом АТФ.

Світлозбиральні антени поглинають фотони і перетворюють їх енергію на енергію синглетно збудженого стану Бхл. У пурпурних бактерій світлозбиральні антени мають вигляд олігомерних пігмент-білкових структур, які локалізуються у внутрішньоцитоплазматичних мембранах. Молекули каротиноїдів і Бхл нековалентно зв'язані з інтегральними мембранними білками так, що тетрапірольні кільця знаходяться у строго фіксованому положенні одне відносно одного і площини мембрани. Пігменти, що входять до складу антени, поглинають світлову енергію і переходять у збуджений синглетний стан. Ця енергія передається на інші молекули пігментів і досягає РЦ. Частина енергії втрачається у вигляді тепла чи флуоресценції. У пурпурних бактерій є два типи світлозбиральних систем:

1) внутрішній (коровий), який завжди тісно пов'язаний з реакційним центром і оточує його кільцем;

2) периферійний, що оточує внутрішній світлозбиральний комплекс; таких комплексів може і кілька, вміст білків у них збільшується при зменшенні інтенсивності освітлення.

У зелених бактерій світлозбиральні антени знаходяться у *хлоросомах* — багатих на ліпіди везикулах видовженої форми, локалізованих у цитоплазмі і зв'язаних з ЦПМ через базальну пластинку кристалічної структури. Внутрішня частина хлоросоми заповнена пучками паличкоподібних структур, які містять агрегати Бхл *c*, *d* або *e*. Молекули Бхл не зв'язані з білками. До складу хлоросом входять також ліпіди і каротиноїди. У базальній пластинці локалізований Бхл *a*, який переносить енергію збудженого стану від хлоросом на РЦ.

Фотохімічні реакційні центри (*РЦ*). У фототрофних організмів виявлено два типи РЦ:

1) РЦ I характерний для зелених сіркових бактерій (наприклад, *Chlorobium limicola*, *Prosthecochloris aestuarii*), геліобактерій (наприклад, *Heliobacterium chlorum*, *Heliobacillus mobilis*), ціанобактерій, водоростей та вищих рослин;

2) РЦ II властивий пурпурним сірковим та несірковим бактеріям, зеленим несірковим бактеріям, ціанобактеріям і фототрофним еукаріотам.

Реакційний центр I. Первинним донором електронів є спеціальна пара молекул Бхл (у зелених бактерій — димер Бхл *a*, у геліобактерій — димер Бхл *g*). ОВП цих донорів дорівнює +240 мВ. Первинний донор переходить у збуджений стан, отримуючи енергію від збудженого Бхл світлозбиральних антен. Електрон від сильновідновленого первинного донора подається на первинний акцептор,

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скірка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

яким є мономерний Бхл (ізомер Хл *a*), а потім — на хінон А, залізо-сірчаний білок [4Fe–4S] та на хінон В.

Реакційний центр II (хіноновий тип). Первинним донором електронів служить спеціальна пара молекул Бхл *a* або Бхл *b*, яка переходить у збуджений стан, отримуючи енергію від збудженого Бхл світлозбиральних антен. Електрон від сильновідновленого первинного донора подається на первинний акцептор, яким є допоміжний Бхл *a*, а потім на бактеріофеофітин (Бфф) і далі на хінон А та хінон В.

Отже, в РЦ відбувається трансформація світлової енергії в енергію розподілу зарядів (мембранний потенціал — $\Delta\psi$ і різницю окисно-відновних потенціалів на мембрані — ΔEh). Розподіл зарядів відбувається між первинним донором електронів (димером Хл або Бхл), локалізованих на зовнішній стороні ЦПМ, та вторинним акцептором електронів (хінонами у випадку РЦ II, чи залізосірчаними білками в разі РЦ I).

Фотосинтетичні електронотранспортні системи здійснюють подальше перенесення електрона, що відщепився від первинного донора, через систему переносників. Такий транспорт забезпечує створення протонного електрохімічного потенціалу $\Delta\mu_{H+}$. Електронотранспортна система містить комплекс цитохромів bc_1 та цитохром c_2. Комплекс цитохромів bc_1 функціонує як протонна помпа, створюючи $\Delta\mu_{H+}$.

Механізм аноксигенного фотосинтезу. Світлозбиральні антени, до складу яких входять Бхл та каротиноїди, поглинають світло в діапазоні довжин хвиль 400–1100 нм і передають його енергію РЦ.

У темряві молекула бактеріохлорофілу в РЦ знаходиться у стабільному незбудженому стані, а її електрони — на основному енергетичному рівні. ОВП реакційного центру дорівнює близько +500 мВ. Коли квант світла через світлозбиральні антени потрапляє на молекулу бактеріохлорофілу РЦ, його електрон поглинає енергію кванта і переходить на вищий енергетичний рівень, а молекула бактеріохлорофілу — у збуджений стан. При цьому ОВП збудженого РЦ зменшується приблизно до –700 мВ, тобто, при поглинанні кванта світла РЦ його ОВП зменшується майже на 1200 мВ, а молекула бактеріохлорофілу стає активним відновником і є первинним донором електронів. У збудженому стані молекула бактеріохлорофілу РЦ перебуває дуже короткий час (10^{-9}–10^{-13} с).

Відірвавшись від збудженого первинного донора, електрон переноситься спочатку на первинний, потім на вторинний акцептор і рухається далі по фотосинтетичній електронотранспортній системі до термінального акцептора. Його рух може здійснюватися у двох напрямках:

1. Електрон повертається до молекули Бхл, від якої він відірвався (рис. 5.24, I). Таке переміщення електронів називають *циклічним транспортом*. У результаті циклічного перенесення електронів відбувається транслокація протонів через ЦПМ і утворення градієнта протонів, який слугує джерелом синтезу АТФ. Такий механізм утворення АТФ називають *фотофосфорилюванням*.

2. Електрон не повертається до Бхл, а переноситься на $НАД^+$ чи окиснений фередоксин ($Ф_д^+$), які потім використовуються як відновлені еквіваленти у реакціях анаболізму (рис. 5.24, II). Отже, електрон, що відірвався від молекули Бхл, виводиться із «системи». Виникає незамкнений потік електронів, який називають *нециклічним транспортом*.

У фотосинтезуючих бактерій можливий або тільки циклічний транспорт, або одночасне перенесення електронів в обох напрямках. Незалежно від напрямку руху електронів, що відірвався від молекули Бхл, в клітині настає дефіцит електронів. Адже за циклічного транспорту не вистачає електронів для утворення відновлених еквівалентів, а за нециклічного — для заповнення електронної «вакансії» в молекулі Бхл. Тому фототрофні організми потребують додаткових джерел електронів — *екзогенних донорів,* якими можуть бути органічні сполуки (у фотоорганотрофів) або неорганічні (у фотолітотрофів). Неорганічними екзогенними донорами електронів є відновлені сполуки Сульфуру (H_2S, SO_3^{2-}, тіосульфат, тетратіонат, тіогліколят), а також молекулярний водень.

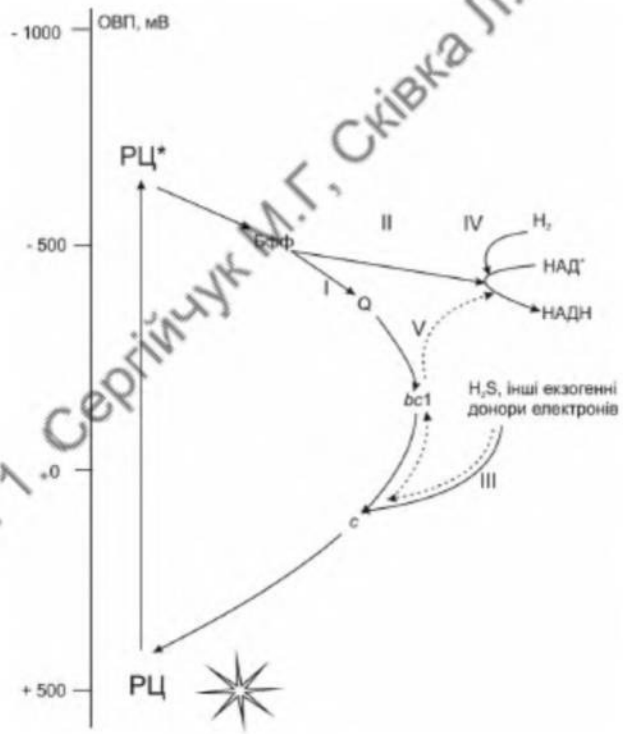


Рис. 5.24. Загальна схема перенесення електронів при аноксигенному фотосинтезі: РЦ — реакційний центр; РЦ* — реакційний центр зі збудженим бактеріохлорофілом; Бфф — бактеріофеофітин; Q — убіхінон; bc_1, *c* — цитохроми; I–V — шляхи перенесення електронів від бактеріохлорофілу та екзогенних донорів

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

Електрони, що вивільнюються в процесі окиснення екзогенних донорів, використовуються клітиною для:

- заповнення електронної «вакансії» в молекулі Бхл;
- відновлення $НАД^+$.

ОВП усіх можливих екзогенних донорів достатньо низький для скерування електронів безпосередньо на окиснену молекулу Бхл. Це здійснюється внаслідок перенесення електронів в електронотранспортній системі за електрохімічним градієнтом (від переносників з нижчим значенням ОВП до переносників з вищим ОВП) (рис. 5.24, III). У разі транспортування електронів від екзогенного донора на $НАД^+$ процес може відбуватися двома способами:

1) якщо донором електронів є молекулярний водень з ОВП –420 мВ, відновлення $НАД^+$ відбувається без затрати енергії (рис. 5.24, IV);

2) якщо донорами електронів є відновлені сполуки сірки або сукцинат з ОВП значно вищими ніж ОВП $НАД^+$/НАДН електрони переносяться по електронотранспортній системі за механізмом зворотного транспорту проти електрохімічного градієнта із затратою енергії (рис. 5.24, V).

Пурпурні бактерії — це різноманітна за морфологією група грамнегативних прокаріотів, що налічує понад 50 видів, які мешкають у прісних водоймах, морських осадах і здатні здійснювати аноксигенний фотосинтез. Пурпурні бактерії містять бактеріохлорофіли *a* або *b* та понад 50 різних каротиноїдів (наприклад, спірілоксантин, родопін, родопінал, сфероїден). Ті бактерії, що мають бактеріохлорофіл *a*, поглинають сонячне світло з довжиною хвилі до 950 нм. У видів з бактеріохлорофілом *b* максимум поглинання у червоній частині спектру зміщений у довгохвильовий діапазон більш ніж на 100 нм і припадає на 1020–1030 нм. Завдяки каротиноїдам пурпурні бактерії використовують і короткі хвилі 400–550 нм. Поєднання бактеріохлорофілу *b* та каротиноїдів забезпечує ріст клітин у дуже широкому діапазоні світлових хвиль і відповідно — у багатьох екологічних нішах, недоступних для інших фотосинтетиків. Саме кількість і склад каротиноїдів визначають колір пурпурних бактерій, який буває рожевим, червоним, помаранчевим, пурпурним, коричневим, жовто-зеленим. Синтез пігментів залежить від віку культури, складу поживного середовища, інтенсивності освітлення, наявності кисню. Найкраще пігменти синтезуються за помірного освітлення в анаеробних умовах. За цих же умов найінтенсивніше йде і фотосинтез.

У пурпурних бактерій фотосинтетичний апарат локалізований у ЦПМ і *внутрішньоцитоплазматичних мембранах*.

Екзогенними донорами електронів у пурпурних бактерій можуть бути як органічні (сукцинат, фруктоза), так і неорганічні сполуки (сульфід, інші відновлені сполуки Сульфуру, молекулярний водень, відновлений Ферум). Окиснення відновлених сполук Сульфуру відбувається через проміжний продукт — елементарну сірку:

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

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скібка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Залежно від вмісту елементарної сірки пурпурні бактерії поділяють на сіркові й несіркові (рис. 5.25). Пурпурні сіркові бактерії толерантні до високої концентрації сульфіду, а несіркові — чутливі.

Рис. 5.25. Систематика пурпурних бактерій

За типом метаболізму пурпурні бактерії є найекзотичнішою групою прокаріотів. Вони здатні рости фотолітоавтотрофно, фотоорганогетеротрофно, хемолітоавтотрофно, хемоорганогетеротрофно. У деяких випадках окремі види можуть здійснювати всі чотири типи метаболізму. В таблиці 5.6 наведені можливі типи метаболізму несіркової пурпурної бактерії *Rhodospirillum rubrum* за анаеробних умов.

Основний спосіб існування для *пурпурних сіркових бактерій* — фотолітоавтотрофія. Всі представники цієї групи здатні рости при освітленні за анаеробних умов на середовищі з CO_2 як єдиному джерелі вуглецю й використовувати як екзогенний донор електронів відновлені сполуки Сульфуру чи молекулярний водень. Органічні речовини можуть слугувати для них лише додатковими джерелами вуглецю чи факторами росту і дуже рідко — донорами електронів. Усі види можуть фотометаболізувати ацетат, піруват, але тільки деякі здатні існувати повністю фотоорганогетеротрофно. Раніше вважалося, що пурпурні сіркові бактерії дуже чутливі до кисню, однак згодом було доведено, що окремі види є аеротолерантними і навіть здатні рости хемолітотрофно за низької концентрації

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сківка Л.В., Сергійчук Т.М. та ін

кисню, використовуючи його як термінальний акцептор електронів. У деяких видів *Ectothiorhodospira* і *Thiocapsa* виявлено аеробний хемоорганогетеротрофний ріст. Окремі пурпурні сіркові бактерії здатні рости за анаеробних умов у темряві, зброджуючи цукри чи органічні кислоти.

Таблиця 5.6.

Умови, за яких можуть рости бактерії *Rhodospirillum rubrum*

Тип метаболізму	Джерело			Використання кисню
	енергії	електронів	Карбону	
Фотолітоавтотрофний	Світло	H_2S	CO_2	Анаеробно
Фотолітоавтотрофний	Світло	H_2S	CO	Анаеробно
Фотоорганогетеротрофний	Світло	Сукцинат	Сукцинат	Анаеробно
Хемоорганогетеротрофний	Хімічні зв'язки	Фруктоза	Фруктоза	Анаеробно

Пурпурні несіркові бактерії віддають перевагу фотоорганогетеротрофному способу життя, як джерела електронів і вуглецю використовують жирні кислоти, спирти, цукри, амінокислоти. Багато видів можуть рости і фотолітоавтотрофно. Джерелом електронів для з них слугує молекулярний водень, а для деяких — відновлені сполуки Сульфуру. Багато представників цієї групи росте у темряві в мікроаерофільних або аеробних умовах, отримуючи енергію внаслідок аеробного дихання. В них активно функціонують цикл Кребса, гліколіз та інші шляхи хемоорганотрофного метаболізму. Серед представників *Rhodobacter* є такі, що ростуть за анаеробних умов при окисненні органічних сполук під час нітратного дихання чи бродіння. Отже, пурпурні несіркові бактерії використовують різноманітні способи отримання енергії — фотосинтез, аеробне й анаеробне дихання, бродіння.

Коли пурпурні несіркові бактерії ростуть аеробно у темряві, їх мембрани є типовими для грамнегативних організмів. Клітини безбарвні або жовтуваті, містять дуже мало фотосинтезуючих пігментів. Анаеробні умови й освітлення спричиняють радикальні зміни у структурі клітин і мембран пурпурних бактерій: починаються інвагінація й утворення внутрішньоцитоплазматичних мембран, у яких розміщується фотосинтетичний апарат.

Зелені бактерії — це невелика група бактерій, які здійснюють аноксигенний фотосинтез. Їх фотосинтетичний апарат розміщений у ЦПМ та особливих структурах — хлоросомах. Ці мікроорганізми поділяють на дві підгрупи: зелені сіркові бактерії й зелені несіркові (нитчасті) бактерії (рис. 5.26, табл. 5.7).

Зелені сіркові бактерії — грамнегативні одноклітинні нерухомі форми, облігатні анаероби й облігатні фотолітоавтотрофи. Як джерело вуглецю вони

БІОЛОГІЯ. ТОМ І. Сергійчук М.Г., Сулкевка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

використовують CO_2. Зелені сіркові бактерії можуть використовувати деякі органічні сполуки (обмежена кількість цукрів, органічних кислот, амінокислот) як додаткові джерела вуглецю, але ніколи — як основне джерело вуглецю чи екзогенні донори електронів. Екзогенними донорами електронів для зелених сіркових бактерій є H_2S, S^0, $Na_2S_2O_3$, H_2. Під час окиснення сульфіду, що відбувається у периплазмі, на першому етапі утворюється елементарна сірка, яка завжди накопичується поза клітиною. Після вилучення H_2S із середовища, сірка поглинається клітинами й окиснюється до сульфату у периплазматичному просторі. Зелені сіркові бактерії містять бактеріохлорофіли *c*, *d*, *e* та незначну кількість бактеріохлорофіла *a*. Вони мешкають у вузьких екологічних нішах: освітлених анаеробних водних шарах озер чи прибережних осадах.

Рис. 5.26. Систематика зелених бактерій

Зелені несіркові (*нитчасті*) *бактерії* складаються з багатьох паличкоподібних клітин, часто оточених слизовою піхвою. Клітинна стінка у них грамнегативна, але не ригідна, а гнучка, внаслідок чого їм властивий ковзний рух. Серед них є мезо- і термофіли. Зелені несіркові бактерії — факультативні анаероби та фототрофи, надають перевагу органічним екзогенним донорам електронів. Наприклад, *Chloroflexus auranticus* на світлі росте за аеробних та анаеробних умов за наявності цукрів, спиртів, органічних кислот, амінокислот. Деякі штами цього виду здатні до анаеробного фотолітоавтотрофного росту, як донори електронів використовують H_2 або H_2S. Окиснення H_2S призводить до утворення

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

молекулярної сірки і відкладання її в середовищі у вигляді аморфної маси, яка потім у дуже незначній кількості окиснюється до сульфату. Можливий також хемоорганогетеротрофний ріст за аеробних, а для деяких штамів — і за анаеробних умов. Зелені несіркові бактерії містять бактеріохлорофіли *c*, *d*.

Таблиця 5.7.

Основні морфологічні та фізіолого-біохімічні відмінності між зеленими сірковими й несірковими (нитчастими) бактеріями

Ознака	Зелені бактерії	
	сіркові	несіркові (нитчасті)
Організація	Одноклітинна	Багатоклітинна
Рухливість	Нерухливі (виняток *Chloroherpeton*)	Рухливі (ковзання)
Запасні речовини	Глікогеноподібний полісахарид	Полі-β-оксимасляна кислота
Ставлення до температури	Мезофіли	Мезофіли та термофіли
Донори електронів при фотосинтезі	H_2S, S, $Na_2S_2O_3$, H_2	Органічні сполуки, H_2S, H_2
Джерела вуглецю	CO_2, органічні сполуки як додаткові джерела	Органічні сполуки, CO_2
Ставлення до кисню	Облігатні анаероби	Факультативні анаероби

Геліобактерії — облігатно анаеробні фотобактерії, що здійснюють аноксигенний фотосинтез і містять єдиний бактеріохлорофіл *g*, якого немає в інших фотосинтетиків. Наразі описано 4 роди геліобактерій: *Heliobacterium* (*H. chlorum*, *H. gestii*, *H. sulfidophilum*, *H. undosum*, *H. modesticaldum*), *Heliobacillus* (*H. mobilis*), *Heliophilum* (*H. fasciatum*) та *Heliorestis* (*H. daurensis*, *H. baculata*). Бактеріохлорофіл *g* за своєю будовою нагадує як Хл *a* вищих рослин, так і Бхл пурпурних та зелених бактерій. Максимум поглинання Бхл *g* — біля інфрачервоного діапазону спектра (788 нм). У клітинах геліобактерій крім бактеріохлорофілу *g*, виявлено незначну кількість особливих C_{30}-каротиноїдів (інші фотосинтетики містять C_{40}-похідні). Ще одна відмінність геліобактерій від інших прокаріотичних фотосинтетиків — відсутність розвинених внутрішньоцитоплазматичних мембран (як у пурпурних) та хлоросом (як у зелених бактерій). Їхні пігменти локалізовані лише у ЦПМ. Первинним донором електронів у геліобактерій є Бхл *g*, а першим акцептором — особлива форма хлорофілу (не бактеріохлорофілу) *a*, яку називають гідроксихлорофілом *a*. Це вказує на філогенетичний зв'язок між геліобактеріями й оксигенними фотосинтетиками. Геліобактерії ростуть лише за анаеробних умов. Їм властивий як фото-, так і хемотрофний метаболізм. Фотогетеротрофний ріст відбувається на світлі за наявності деяких

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

органічних джерел вуглецю: піруват, лактат, ацетат, бутират з CO_2, етанолу з CO_2. У жодного виду геліобактерій не виявлено фотоавтотрофного метаболізму, у них не виявлено жодного з відомих шляхи фіксації CO_2. Хемогетеротрофний метаболізм геліобактерії здійснюють лише в результаті зброджування пірувату. Інші органічні речовини їх хемогетеротрофний ріст не підтримують. Дихання у геліобактерій відсутнє. Серед них виявлено види, здатні до азотфіксації. Геліобактерії живуть у звичайних і затоплених ґрунтах, їх виділяють із мікробних матів гарячих джерел і содових озер, але ніколи — з води та донних осадів. Термофільним є вид *Heliobacterium modesticaldum*, а алкаліфільними (оптимальне значення pH 9,0) *Heliorestis daurensis* і *Heliorestis baculata*.

Аеробні аноксигенні фотосинтетики виділені з аеробних морських пісків та ціанобактеріальних матів. Серед них трапляються мезофільні, термофільні, галотолерантні й алкаліфільні види. Аеробні аноксигенні бактерії віднесено до восьми родів. Два з яких — *Erythrobacter* і *Roseobacter*, були виділені з моря, а шість — *Erythromicrobium*, *Roseococcus*, *Porphyrobacter*, *Acidiphilium*, *Erythromonas* та *Sandaracinobacter* — з прісних екологічних ніш. За морфологією вони досить різноманітні: *Erythrobacter* та *Sandaracinobacter* — типові тонкі палички, здатні утворювати ланцюжки; рід *Roseococcus* — коки; *Porphyrobacter* та *Erythromonas* — кокоподібні палички.

Більшість видів аеробних аноксигенних фототрофів рухливі, мають 1–3 джгутики. Новий штам (JF–1), виділений з глибоководного гідротермального шару морської води, має плеоморфну клітину. Залежно від віку і складу середовища, клітини можуть мати вигляд коків, бобів або утворювати нитки з кількох клітин.

Пігменти аеробних аноксигенних фототрофів складаються з великої кількості (близько 20) незвичайних каротиноїдів і бактеріохлорофілу. Каротиноїди визначають червоно-рожево-помаранчеве забарвлення клітин і мають піки поглинання світла в діапазоні 420–550 нм. У більшості видів переважають біциклічні каротиноїди — зеаксантин і β-каротин. Ці бактерії містять усього один тип бактеріохлорофілу — Бхл *a*, причому його в 10–20 разів менше, ніж у анаеробних фототрофів. Максимум поглинання світла Бхл *a* у комплексі з білками знаходиться в діапазоні 800–870 нм. Кількісне співвідношення каротиноїдів і Бхл *a* у клітині коливається від 1:8 до 1:10.

У клітинах аеробних аноксигенних фототрофів пігменти локалізуються в основному у ЦПМ. Внутрішньоцитоплазматичні мембрани починають утворюватися лише за екстремальних умов — зменшення парціального тиску кисню та освітлення у довкілля. Функцію світлозбиральних антен виконують каротиноїди і Бхл *a*, до складу фотореакційного центру входять Бхл *a* і тетрагемові цитохроми *c* з низько- та високопотенційними гемами. Електронотранспортна система містить різноманітні убіхінони (Q_8, Q_9, Q_{10}) та менахінони ($МК_8$, $МК_9$), але в меншій кількості, ніж у пурпурних бактерій. Виявлено також різні цитохроми типів *c*, *b*, *a*. Фотофосфорилювання аеробні аноксигенні фотосинтетики можуть здійснювати лише за наявності молекулярного кисню.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сківка І.І., Сергійчук Т.М. та ін.

Аеробним аноксигенним фотосинтезувальним бактеріям властивий лабільний гетеротрофний метаболізм, і вони здатні до окиснення низки органічних субстратів: цукрів, жирних кислот, амінокислот. У них виявлено активні ферменти шляху Ентнера — Дудорова, циклу Кребса, гліоксилатного циклу. Кілька видів мають ферменти циклу Кальвіна і можуть рости автотрофно. Освітлення стимулює асиміляцію CO_2. Ці бактерії акумулюють у клітинах запасні речовини у вигляді глікогену та поліфосфатів. Фотосинтетична активність аеробних фототрофних бактерій не є їх основним джерелом енергії, але водночас вона робить певний внесок у створення електрохімічного потенціалу на ЦПМ.

Особливий механізм аноксигенного фотосинтезу галобактерій. *Галофіли* — це мікроорганізми, які мешкають у гіперсолоному довкіллі. Легкі галофіли витримують концентрацію NaCl до 5 %, помірні — до 20 %, а екстремальні — до 30 %. Високий осмотичний тиск у солоному середовищі спричиняє видалення з клітини води й денатурації білків, тому до галофілів належать ті прокаріоти і еукаріоти, які здатні урівноважувати осмотичний тиск довкілля та мають механізми захисту від денатуруючої дії солей. Адаптація мікроорганізмів до високої концентрації солей (осморегуляція) може здійснюватися двома способами.

1. Осморегуляція за участю *сумісних осморегуляторних органічних речовин*. Осмотична рівновага у клітині підтримується внаслідок накопичення у цитоплазмі добре розчинних у воді сполук, які мають дрібні молекули — гліцерину, арабітолу, цукрів та їхніх похідних, амінокислот та їхніх похідних, бетаїну, ектоїну тощо. Вони можуть накопичуватись як у результаті біосинтезу, так і за рахунок поглинання цих сполук із середовища. Концентрація сумісних осморегуляторних органічних речовин у клітині залежить від концентрації солей у довкіллі. Конформація і активність ферментів мікроорганізмів із таким типом осморегуляції не залежать від концентрації цих сполук у цитоплазмі. Осморегуляція за участю сумісних осморегуляторних органічних речовин властива більшості галофільних і галотолерантних мікроорганізмів.

2. Осморегуляція внаслідок створення у клітині високої концентрації солей. Це забезпечується тим, що клітина активно виводить назовні NaCl і накопичує KCl. Концентрація KCl всередині клітини підтримується на рівні концентрації NaCl у довкіллі (близько 4М), тобто галотолерантність забезпечується утворенням градієнта концентрації Na^+ і K^+. За такого типу адаптації ферменти і структурні компоненти клітини пристосовані до високої концентрації солі (білки містять багато кислих амінокислот); конформація і активність ферментів підтримується високою концентрацією солей. Такий тип осморегуляції притаманний лише анаеробним галофільним бродильникам порядку *Haloanaerobiales* та аеробним екстремально галофільним археям порядку *Halobacteriales*.

Аеробні екстремально галофільні археї (порядок *Halobacteriales*) здатні отримувати додаткову енергію внаслідок перебігу нетипових фотохімічних реакцій. Ці бактерії мають аеробний хемоорганотрофний метаболізм. Вони окиснюють

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скібка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін.

глюкозу шляхом Ентнера — Дудорова, а протонорушійну силу створюють в основному шляхом дихання. Однак оскільки, підтримання осмотичного балансу у клітині потребує великої затрати енергії, а розчинність кисню в солоній воді дуже мала, у галобактерій реалізується додатковий механізм отримання АТФ за рахунок світла.

Поверхня галобактерій складається з червоних і пурпурних мембран. *Червоні мембрани* містять велику кількість каротиноїдів, які виконують фоторепаративну функцію (руйнують тимінові димери, що утворюються під впливом УФ-випромінювання). У червоних мембранах локалізований типовий дихальний ланцюг з трьома пунктами фосфорилування. Тут відбувається дихання галобактерій.

Пурпурні мембрани займають близько 50 % поверхні галобактерій. Вони містять до 75 % родопсинів і беруть участь у фотосинтезі. В археїв відомо чотири типи родопсинів: два з них — бактеріородопсин і галородопсин беруть участь у функціонуванні іонних насосів, а два інші виконують роль фоторецепторів при фототаксисі.

Бактеріородопсин складається з білка бактеріоропсину та хроматофора *ретиналю*, ковалентно зв'язаного з цим білком. Ретиналь, у свою чергу, є похідним β-каротину (каротиноїду), утворюється під час його окисного розщеплення за наявності молекулярного кисню. Саме ретиналь надає мембрані характерного пурпурного кольору. Світло поглинається пурпурними мембранами. Під дією світла ретиналь віддає протон (переходить у депротонізовану форму) і знебарвлюється. Протон виходить у довкілля, створюючи градієнт електрохімічного потенціалу іонів водню ($\Delta\mu_{H+}$), що є рушійною силою процесу синтезу АТФ. Депротонізований ретиналь бактеріородопсину відновлюється за участю протона, що надходить із цитоплазми. Отже, ретиналь діє як протонний насос і викачує протони назовні клітини.

Галородопсин — це білок, що також містить ретиналь. Вважається, що ця сполука більш поширена серед галобактерій, ніж бактеріородопсин. Під дією світла галородопсин заносить у клітину іони хлору (Cl^-). Оскільки вони мають нагативний заряд, їх перенесення всередину клітини за енергією еквівалентне винесенню протонів назовні. Таким способом галобактерії генерують градієнт іонів хлору, що також є джерелом енергії.

На відміну від класичного фотосинтезу, де АТФ утворюється внаслідок циклічного перенесення електронів хлорофілу, у галофільних бактерій трансмембранний потенціал створюється за допомогою каротиноїдів.

На рис. 5.27 наведені можливі шляхи транспорту іонів у аеробних галофільних археїв. З рисунка видно, що градієнт протонів у галобактерій створюється трьома способами: внаслідок аеробного дихання на червоних мембранах (рис. 5.27, 1); за участю світла через бактеріородопсин на пурпурних мембранах (рис. 5.27, 2); за нестачі протонів у периплазмі — в результаті гідролізу АТФ, синтезованого в реакціях субстратного фосфорилування на АТФ-азі (рис. 5.27, 3). Градієнт електрохімічного потенціалу іонів Гідрогену (ΔμH+), що утворився наведеними вище способами,

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.М., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

використовується галобактеріями для синтезу АТФ на АТФ-азі (рис. 5.27, 3) та для винесення катіонів Na^+ з клітини, що необхідно для осморегуляції (рис. 5.27, 4). Висока концентрація K^+ у клітині забезпечується за рахунок уніпорту (рис. 5.27, 6). Cl^- надходить у клітину двома способами: за рахунок симпорту з Na^+ (рис. 5.27, 7) та за рахунок фотохімічних процесів на галородопсині (рис. 5.27, 8).

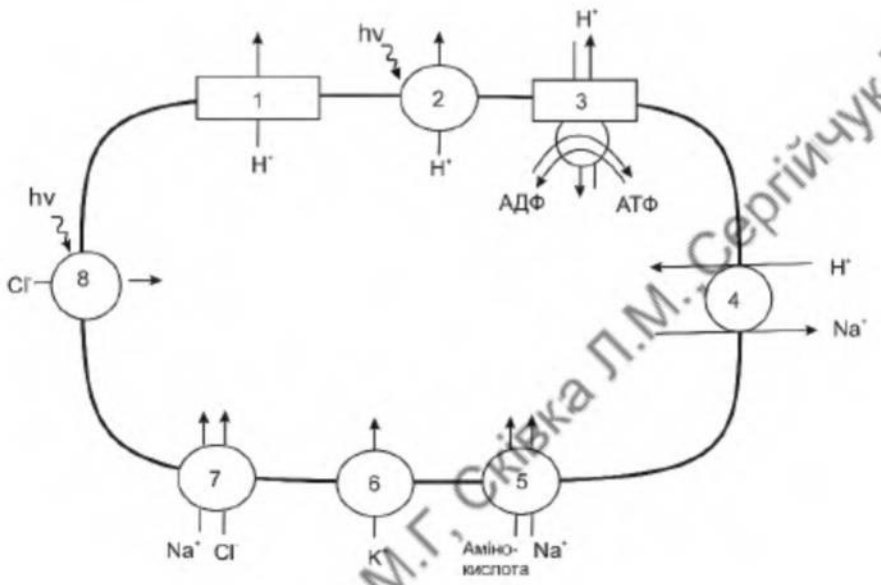


Рис. 5.27. Транспорт іонів у аеробних галофільних археїв(Oren. A, 1999). Позначення: 1 — винесення протонів у процесі дихання; 2 — винесення протонів за участю світла через бактеріородопсин; 3 — утворення АТФ за допомогою градієнта протонів на АТФ-синтетазі; 4 — електрогенний натрій/протоновий антипорт; 5 — транспорт амінокислот за рахунок градієнта натрію; 6 — калієвий уніпорт, спричинений мембранним потенціалом; 7 — світлонезалежна система транспорту хлориду, яка можливо пов'язана з внесенням у клітину іонів натрію; 8 — внесення іонів хлору за допомогою світла через галородопсин

Механізм оксигенного фотосинтезу. Оскільки джерела відновлених сполук сірки і молекулярного водню у природі доволі обмежені, важливим еволюційним кроком стало використання організмами *води як нового екзогенного донора електронів.* Однак ОВП системи H_2O/H_2 дорівнює +820 мВ, тому електронна «вакансія» в молекулі бактеріохлорофілу реакційного центра, що виникає за нециклічного транспорту електронів, не може бути заповнена безпосередньо електроном молекули води. Щоб це стало можливим, необхідно, по-перше, «відірвати» електрони від термодинамічно стійкої молекули H_2O і, по-друге, «підняти» їх на вищий енергетичний рівень, що дало б змогу включитися в описану вище фотосистему (*фотосистему I*). Цю проблему вдалося вирішити формуванням додаткової пігментної системи, що зветься *фотосистемою II.*

Вона пов'язана з появою нових пігментів: хлорофілів *a*, *b* та фікобіліпротеїнів. Виявлено, що хлорофіл *a* реакційного центра фотосистеми II у фотоокисненому стані має значення ОВП на рівні +1000 —+1300 мВ, тобто достатньо позитивне для відновлення за участю електронів з води. Механізм реакцій, пов'язаних із перенесенням електронів від молекул води на пігмент $П_{680}$, невідомий. Показано, що цей процес є ступінчастий, і необхідним компонентом системи є манган. Отже, фотосистема II добудована до фотосистеми I з метою використання води як екзогенного донора електронів. Побічним продуктом цього процесу є *молекулярний кисень* (рис. 5.28).

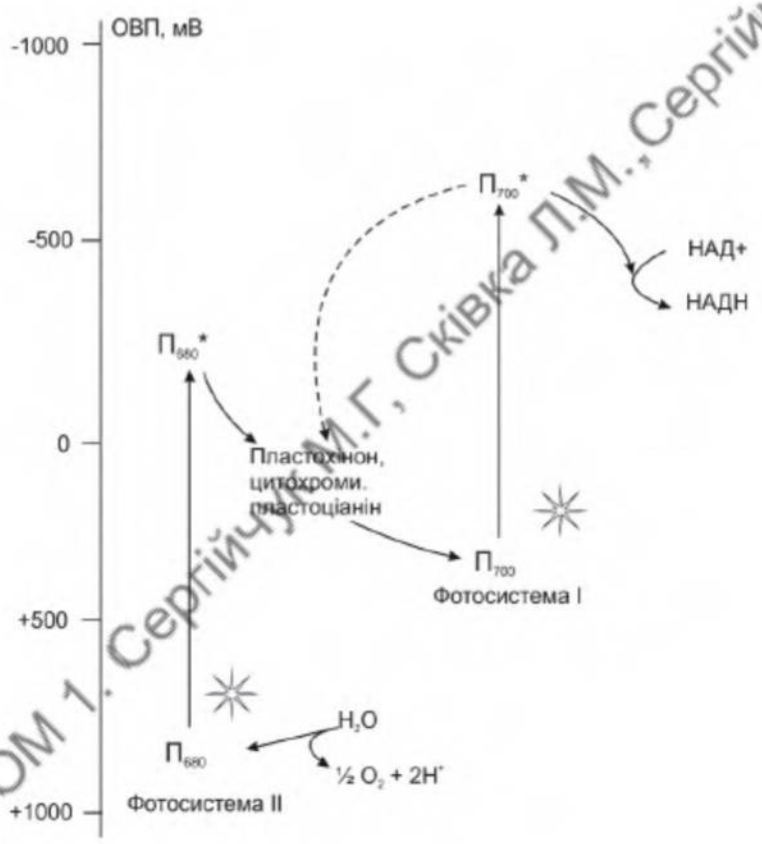


Рис. 5.28. Загальна схема перенесення електронів при оксигенному фотосинтезі

Загальна схема фотосинтезу ціанобактерій — це певна серія процесів, що містить дві послідовні фотореакції. Світло поглинається фоторецепторами фотосистеми II (фікобіліпротеїнами, хлорофілом *a*, каротиноїдами) і спрямовується до хлорофілу (пігмент $П_{680}$) реакційного центру. Електрон відривається від молекули хлорофілу і передається на пластохінон, а окиснена молекула пігменту

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

відновлюється за участю електронів молекули води. Електрон від акцептора фотосистеми II проходить по ланцюгу переносників до реакційного центру фотосистеми I і потрапляє на фотоокиснену молекулу хлорофілу *a* — пігменту $П_{700}$ (ОВП = +500 мВ), заповнюючи електронну «вакансію». Перенесення електронів від пластохінону фотосистеми II до реакційного центру фотосистеми I відбувається в кілька етапів за електрохімічним градієнтом. Електронний транспорт на цій ділянці на певних етапах супроводжується перенесенням протонів упоперек мембрани і, відповідно, синтезом АТФ. Поглинання ще одного кванта світла молекулою хлорофілу ($П_{700}$) реакційного центру фотосистеми I призводить до відривання від неї електрона, який передається на молекулу Fe-S-білка, а потім через ланцюг переносників — на $НАДФ^+$.

***Ціанобактерії* (*синьозелені водорості*)** — це велика група прокаріотів, що здійснює оксигенний фотосинтез. Ціанобактерії дуже цікаві своїми різноманітними фізіологічними можливостями. Всі вони мають дві фотосистеми, використовують воду як екзогенний донор електронів і виділяють молекулярний кисень. Містять хлорофіл *a*, фікобіліпротеїни, каротиноїди. Водночас у них виявлена здатність і до аноксигенного фотосинтезу, пов'язана з вимкненням фотосистеми II при збереженні активності фотосистеми I. За цих умов екзогенними донорами електронів є відновлені сполуки Сульфуру, молекулярний водень та низка органічних сполук (цукри, кислоти). Здатність ціанобактерій переключатися з одного типу фотосинтезу на інший підтверджує гнучкість їхнього світлового метаболізму. Хоча більшість ціанобактерій є облігатними фототрофами, у темряві в них виявлено активний ендогенний метаболізм, ендогенним субстратом якого слугує глікоген, що накопичився на світлі. Глікоген катаболізується пентозофосфатним шляхом або гліколізом і забезпечує повне окиснення молекули глюкози. Водень з НАДН при цьому подається на дихальний ланцюг, термінальним акцептором якого є молекулярний кисень. Відомо також, що ціанобактерії за анаеробних умов здатні до сіркового дихання. Цикл Кребса в них «незамкнений» і виконує лише біосинтетичну функцію. Ціанобактерії асимілюють CO_2 за циклом Кальвіна, а органічні сполуки (ацетат, піруват) використовують в основному як додаткові джерела вуглецю. Деякі види здатні до хемогетеротрофного росту, але тільки на обмеженому наборі субстратів (кілька цукрів). Властивість фіксувати молекулярний азот виявлено більш як у 250 штамів ціанобактерій.

На відміну від ціанобактерій прохлорофіти не містять фікобіліпротеїнів. Фотосинтетичні пігменти представлені хлорофілами *a* и *b*, каротиноїдами. Основну масу останніх складають β-каротин та ксантофіл, близький до зеаксантину. У незначних кількостях виявлені також інші каротиноїди: ехіненон, β-криптоксантин, ізо-криптоксантин тощо. Вуглекислий газ прохлорофіти фіксують за циклом Кальвіна. Їх представниками є *Prochloron didemni* (екзосимбіонт осцидій), *Prochlorothrix hollandia* (вільноіснуючий).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчик М.І., Сквірська Л.М., Сергійчик І.М. та ін.

5.5. Деякі процеси анаболізму у мікроорганізмів

Реакції анаболізму у клітині можна розділити на три рівні:

1) синтез мономерів та дрібних молекул;

2) синтез полімерів та макромолекул;

3) синтез структурних компонентів клітини.

Структурні компоненти клітини утворюються з чотирьох класів макромолекул: нуклеїнових кислот, білків, полісахаридів та складних ліпідів. Для синтезу цих макромолекул клітині необхідно понад 100 дрібних молекул: рибонуклеотидів (4 типи), дезоксирибонуклеотидів (4 типи), амінокислот (близько 20), моноцукрів (близько 15), понад 20 речовин для синтезу складних ліпідів, 20 коферментів і переносників тощо. Вони формуються з попередників біосинтезу, які називають *ключовими метаболітами*, *проміжними метаболітами*, або *центраболітами*. Ключовими метаболітами є глюкозо-1-фосфат, глюкозо-6-фосфат, рибозо-5-фосфат, еритрозо-4-фосфат, фосфоенолпіруват, піруват, 3-фосфогліцеринова кислота, α-кетоглутарова кислота, сукциніл-КоА, щавлево-оцтова кислота, діоксіацетонфосфат, ацетил-КоА.

У гетеротрофних мікроорганізмів ключові метаболіти вилучаються з катаболічних, а точніше — амфіболічних шляхів, у автотрофних — синтезуються з неорганічного Карбону. У зв'язку з цим, у метаболізмі автотрофів розрізняють один потік Карбону, спрямований на біосинтез:

CO_2 → ключові метаболіти → складні органічні сполуки.

У гетеротрофів потоків Карбону два: один (катаболічний) спрямований на розщеплення органічного субстрату через ключові продукти до CO_2 та H_2O, другий (анаболічний) — від ключових продуктів на біосинтез (рис. 5.29).

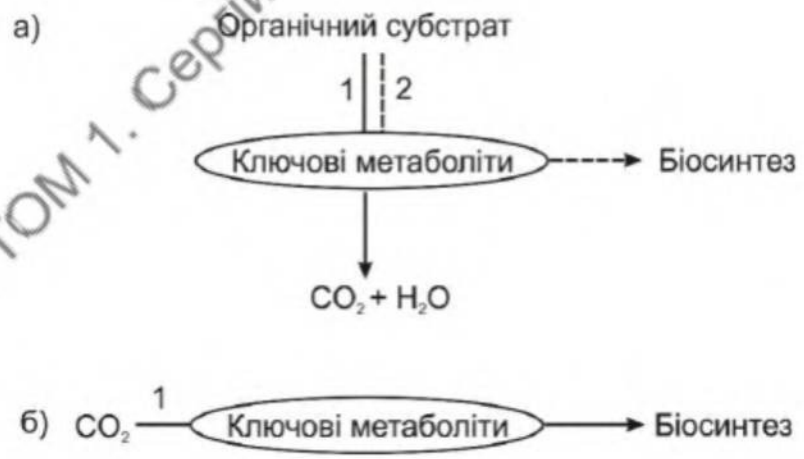


Рис. 5.29. Потоки Карбону в метаболізмі гетеротрофних (а) та автотрофних мікроорганізмів (б)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.М., Сквіка Л.М., Сергійчук І.М. та ін

Отже, у хемоорганотрофних мікроорганізмів початковий субстрат частково розщеплюється до кінцевих продуктів з утворенням АТФ та відновлених еквівалентів, а частково слугує будівельним матеріалом для біосинтезу.

Вилучення ключових метаболітів з циклічних шляхів може порушити їх функціонування. Уявімо наприклад, що клітина росте на глюкозі як єдиному джерелі енергії, електронів і Карбону. Для отримання енергії вона має розщепити молекулу глюкози гліколітичним шляхом та ЦТК. Однак для біосинтезу амінокислот їй неохідно також вилучити з ЦТК деяку кількість α-кетоглутарату та оксалоацетату (ЩОК). Якщо клітина розпочала процес метаболізму з 100 молекул глюкози, то з них утвориться 200 молекул піровату, а отже, і 200 молекул ацетил-КоА, які спрямуються в ЦТК. Уявімо, що на першому оберті циклу для біосинтезу глутамінової кислоти з ЦТК буде вилучено 50 молекул α-кетоглутарової кислоти, а для синтезу аспарагінової кислоти — 50 молекул ЩОК. Залишиться лише 100 молекул ЩОК для приєднання наступної порції ацетил-КоА. На другому оберті циклу на ЦТК надходять наступні 200 молекул ацетил-КоА, але включитися в цикл зможуть лише 100 молекул, бо в ньому є тільки 100 молекул ЩОК. Знову 50 молекул α-кетоглутарової кислоти і 50 молекул ЩОК вилучаться з циклу на біосинтез. На третьому оберті циклу 200 молекул ацетил-КоА надходять у ЦТК, але акцептора для них (ЩОК) уже немає, тобто без додаткового поповнення пулу ключових метаболітів, що відходять на біосинтез, циклічні шляхи, а отже, й живі організми існувати не можуть. Таке поповнення здійснюється за рахунок спеціальних *анаплеротичних реакцій* (реакцій поповнення).

Відомо кілька типів реакцій, що класифікують як анаплеротичні:

1) утворення оксалоацетату з піровату чи фосфоенолпірувату (реакція Вуда — Веркмана);
2) поповнення пулу оксалоацетату за рахунок гліоксилатного шунта;
3) перетворення аспарагінової кислоти на оксалоацетат (див. реакції трансамінування амінокислот);
4) перетворення глутамінової кислоти на α-кетоглутарову внаслідок дезамінування, тощо.

Найважливішою у природі анаплеротичною реакцією є реакція карбоксилювання піровату до оксалоацетату (ЩОК) за участю *піруваткарбоксилази*:

$$\text{Піруват} + \text{АТФ} + CO_2 \rightarrow \text{ЩОК} + \text{АДФ}.$$

Вона відбувається у мітохондріях клітин тварин, але не рослин. Ця реакція безпосередньо пов'язує гліколіз і ЦТК. Піруваткарбоксилаза активується ацетил-КоА, тому коли кількість ацетил-КоА перевищує запаси ЩОК, рівень ЩОК швидко зростає за участю піруваткарбоксилази. Реакція енергозатратна.

За реакцією Вуда — Веркмана (рис. 5.30) фосфоенолпіруват (ФЕП) карбоксилюється за участю *фосфоенолпіруваткарбоксилази*:

$$\text{ФЕП} + CO_2 \rightarrow \text{ЩОК}.$$

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Свінтал І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Вона відбувається у клітинах дріжджів, бактерій та вищих рослин, але ніколи — у клітинах тварин. При цьому використовується багата на енергію сполука — фосфоенолпіруват, але безпосередній гідроліз АТФ не відбувається.

Гліоксилатний шунт — це одна з модифікацій ЦТК, функцією якої є синтез додаткової молекули ЩОК (рис. 5.31). Від звичайного ЦТК він різниться наявністю двох ферментів: ізоцитратліази та малатсинтетази. Ізоцитратліаза каталізує реакцію розщеплення ізоцитрату до сукцинату й гліоксилату. Малатсинтетаза бере участь у реакції конденсації додаткової молекули ацетил-КоА та гліоксилату з утворенням малату. Отже, у гліоксилатному шунті у процес включаються дві молекули ацетил-КоА і синтезується додаткова молекула ЩОК. Гліоксилатний шунт є у мікроорганізмів та рослин, але відсутній у тварин.

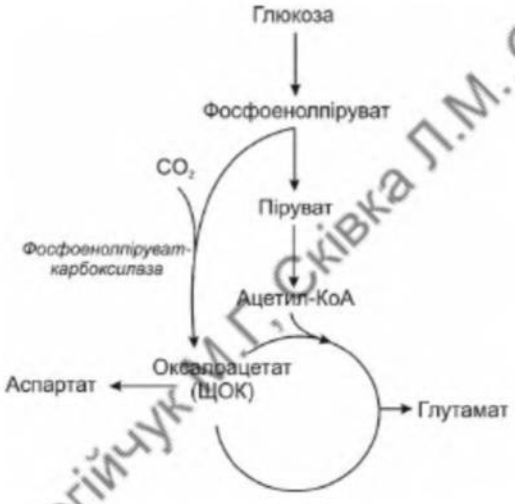


Рис. 5.30. Анаплеротична реакція Вуда — Веркмана

Рис. 5.31. Гліоксилатний шунт

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Механізми асиміляції Карбону автотрофами та гетеротрофами. Джерелами Карбону для мікроорганізмів можуть бути органічні та неорганічні речовини.

Фіксація вуглекислого газу. Вуглекислий газ — найпоширеніша форма Карбону на Землі. Багато мікроорганізмів (автотрофи) здатні синтезувати з CO_2 органічні молекули. Це явище отримало назву *фіксація* CO_2.

У мікроорганізмів відомо чотири шляхи фіксації вуглекислого газу:

1) цикл Кальвіна (відновлювальний пентозофосфатний або рибулозобіфосфатний шлях, RuBP);
2) відновлювальний цикл трикарбонових кислот (цикл Еванса — Вухана-на — Арнона, rTCA);
3) відновлювальний шлях ацетил-КоА (відновлювальний шлях Люнгдаля — Вуда, rACA);
4) 3-гідроксипропіонатний цикл.

Цикл Кальвіна (рис. 5.32) — найважливіший шлях біосинтезу на Землі. Його використовує більшість фотосинтезуючих організмів: рослини, ціанобактерії, пурпурні та зелені бактерії. Цикл Кальвіна складається з трьох фаз.

Фаза 1. Фіксування вуглекислого газу. CO_2 зв'язується з рибулозо-1,5-дифосфатом — сполукою, що містить 5 атомів Карбону. В результаті утворюються дві молекули 3-фосфогліцеринової кислоти. Одна з двох карбоксильних груп цієї сполуки походить із CO_2. Реакцію каталізує *рибулозо-1,5-біфосфаткарбоксилаза* (*RuBisCo*) — найунікальніший ключовий фермент цього циклу:

$$\text{Рибулозо–1,5-дифосфат} + CO_2 + H_2O \rightarrow$$
$$\rightarrow 2\ \text{3-Фосфогліцеринова кислота.}$$

Фаза 2. Відновлення карбоксильних груп фосфогліцеринової кислоти до альдегіду. Спочатку карбоксильна група 3-фосфогліцеринової кислоти активується фосфорилюванням з утворенням 1,3-дифосфогліцеринової кислоти, яка потім відновлюється до 3-фосфогліцеринового альдегіду. На цій стадії витрачаються практично вся енергія та відновник, необхідні для фіксації CO_2.

$$\text{3-Фосфогліцеринова кислота} + \text{АТФ} \rightarrow$$
$$\rightarrow \text{1,3-Дифосфогліцеринова кислота} + \text{АДФ};$$
$$\text{1,3-Дифосфогліцеринова кислота} + \text{НАДФН} \rightarrow$$
$$\text{3-Фосфогліцериновий альдегід} + \text{НАДФ}^+ + \Phi_н.$$

Частково 3-фосфогліцериновий альдегід перетворюється на фруктозо-6-фосфат і йде на потреби біосинтезу.

Фаза 3. Регенерація акцептора вуглекислого газу. Решта реакцій циклу призводить до відтворення рибулозо-1,5-дифосфату. Розпочинаються вони синтезом фруктозо-6-фосфату з двох молекул тріозофосфатів. Потім перебудовується карбоновий скелет з утворенням пентозо-5-фосфатів. Ці процеси нагадують

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скварко І.М., Сергійчук Т.М. та ін

обернені (відновлювальні) реакції пентозофосфатного шляху. Регенерація акцептора CO_2 завершується фосфорилюванням рибозо-5-фосфату до рибулозо-1,5-дифосфату із затратою АТФ. Процес каталізується другим специфічним ключовим ферментом циклу Кальвіна — *фосфорибулокіназою*.

Енергетичний баланс циклу Кальвіна. Для утворення однієї додаткової молекули фруктозо-6-фосфату, яка буде виведена із циклу й використана для біосинтезу, має карбоксилюватися 6 молекул рибулозо-1,5-дифосфату, тобто зафіксуватися $6CO_2$. Шість молекул рибулозо-1,5-дифосфату після карбоксилювання перетворяться на 12 молекул 3-фосфогліцеринової кислоти, потім на 12 молекул 1,3-дифосфогліцеринової кислоти і відновляться згодом до 12 молекул 3-фосфогліцеринового альдегіду. На такі перетворення клітина витратить 12АТФ і 12НАДФН. Наступні 6АТФ будуть використані під час регенерації акцептора CO_2 на фосфорилування рибозо-5-фосфату до рибулозо-1,5-дифосфату. Отже, синтез однієї молекули фруктози «коштує» клітині 18АТФ та 12НАДФН. Загальне стехіометричне рівняння фіксації CO_2 через цикл Кальвіна можна записати так:

$$6CO_2 + 12НАДФН + 18АТФ \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 12НАДФ^+ + 18АДФ + 18Ф_н.$$

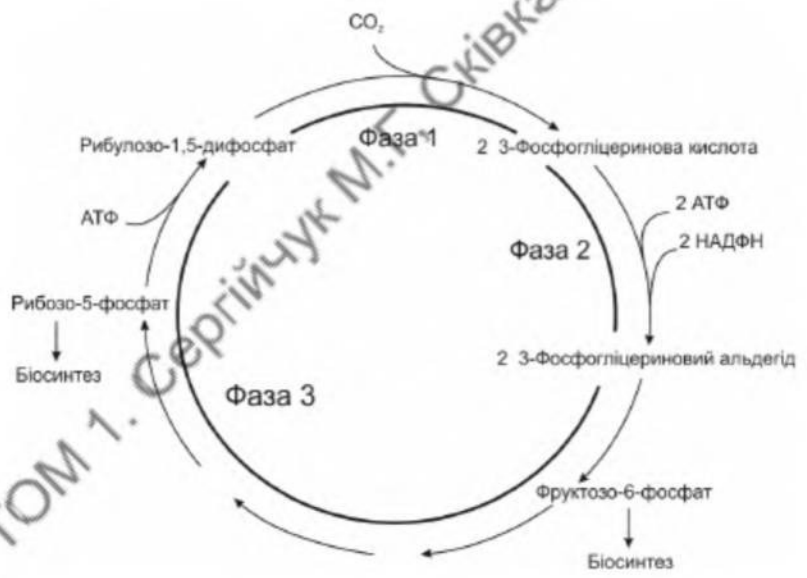


Рис. 5.32. Цикл Кальвіна (відновлювальний пентозофосфатний шлях або рибулозобіфосфатний шлях)

Відновлювальний цикл трикарбонових кислот (відновлювальний ЦТК) був описаний Евансом, Бухананом та Арноном у 1966 році у зеленої сіркової бактерії *Chlorobium thiosulfatophilum*. Пізніше його також виявили у деяких сульфатредукторів та термофільних водневих бактерій (*Hydrogenobacter*). Відновлювальний ЦТК — це модифікований цикл Кребса, який функціонує у зворот-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Я.М., Сергійчук Т.М. та ін

ному, відновлювальному напрямку (рис. 5.33). Розрізняють повний і короткий відновлювальні ЦТК. У результаті 1 оберту повного циклу фіксуються 4 молекули CO_2 і синтезується щавлево-оцтова кислота (ЩОК). Оскільки ЩОК сама по собі є проміжним продуктом циклу, то після 1 оберту одна молекула ЩОК регенерується, а друга синтезується з 4 фіксованих і відновлених молекул CO_2. За короткий цикл 2 зафіксовані молекули CO_2 утворюють 1 молекулу ацетату.

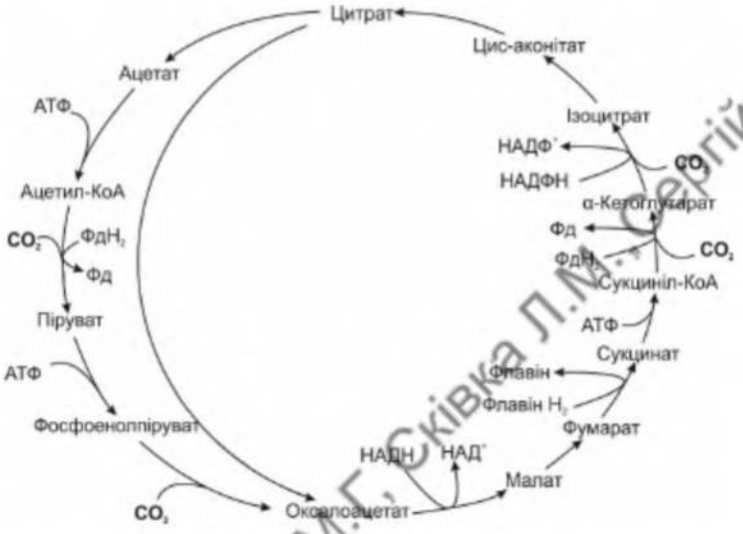


Рис. 5.33. Відновлювальний цикл трикарбонових кислот (цикл Еванса — Буханана — Арнона)

Як видно з рисунка, повний і короткий цикли мають однакові послідовності реакцій від ЩОК до цитрату, тобто починаючи зі ЩОК, повний оберт короткого відновлювального ЦТК приводить до регенерації ЩОК і синтезу ацетату з CO_2. В остаточному результаті саме короткий відновлювальний ЦТК, який утворює ацетил-КоА з $2CO_2$, є оберненим до циклу Кребса. У повному відновлювальному ЦТК відбуваються 4 реакції фіксації й відновлення CO_2:

1) Ацетил-КоА + CO_2 + Фередоксин$_{відн}$ → Піруват + КоА + Фередоксин$_{окис}$;

2) Сукциніл-КоА + CO_2 + Фередоксин$_{відн}$ → α-Кетоглутарат + КоА + Фередоксин$_{окис}$;

3) α-Кетоглутарат + CO_2 + НАДФН ↔ Ізоцитрат + НАДФ$^+$;

4) Фосфоенолпіруват + CO_2 → ЩОК + $Ф_н$.

Реакції (2), (3) відбуваються як у звичайному циклі Кребса, так і у відновлювальному ЦТК, а (1), (4) — лише у відновлювальному ЦТК. Сполуки, що вступають у реакції (1), (2), відновлюються фередоксинами, а не НАДФН. Асиміляція CO_2 супроводжується затратою енергії. Відкриття циклу Еванса — Буханана — Арнона підтвердило еволюційний зв'язок між гетеротрофними та автотрофними мікроорганізмами.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Відновлювальний шлях ацетил-КоА (відновлювальний шлях Люнгдаля–Вуда) присутній у метаболізмі автотрофних сульфатредукторів, гомоацетогенів та метаногенів. На відміну від решти шляхів асиміляції CO_2, він не є циклічним (рис. 5.34). Одна молекула CO_2 зв'язується спеціальним кофактором — тетрагідрофолієвою кислотою (THF) і відновлюється до метильної групи. Друга молекула CO_2 відновлюється до карбонільної (C=O) групи за допомогою ферменту карбонмонооксиддегідрогенази. Метильна і карбонільна групи об'єднуються в ацетил-КоА, який використовується у подальших процесах біосинтезу. Вуглекислий газ відновлюється молекулярним воднем. Загальне рівняння процесу:

$$4H_2 + 2CO_2 = \text{Ацетат} + 2H_2O.$$

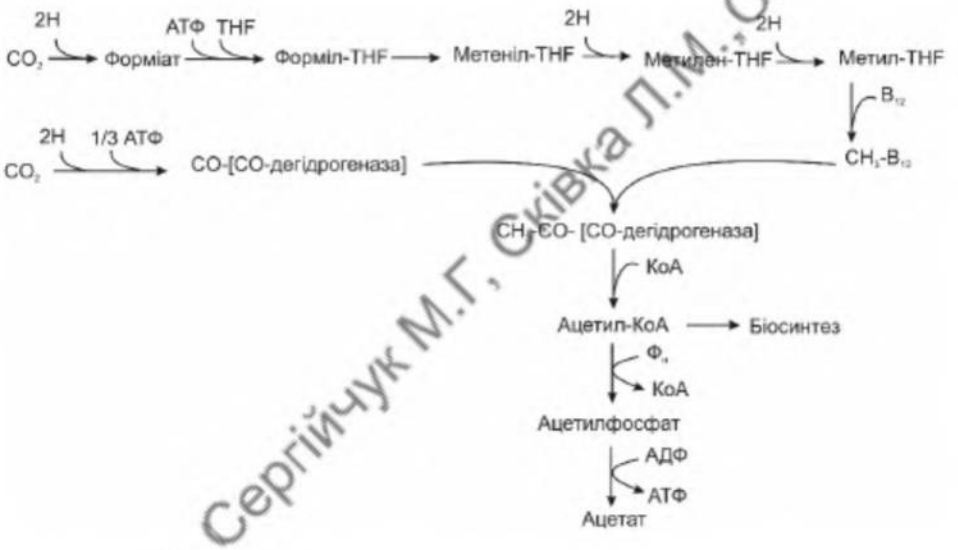


Рис. 5.34. Відновлювальний шлях ацетил-КоА (відновлювальний шлях Люнгдаля — Вуда): THF — тетрагідрофолієва кислота

Цей процес може відбуватися й у зворотному, окисному напрямку. Окисний шлях ацетил-КоА (окисний шлях Люнгдаля—Вуда) використовують гетеротрофні сульфатредуктори для розщеплення ацетату.

3-Гідроксипропіонатний цикл фіксації CO_2 (рис. 5.35) був виявлений у зелених несіркових фотосинтезуючих бактерій роду *Chloroflexus* та деяких археїв.

У результаті повного оберту цього циклу фіксується $2CO_2$ та синтезується гліоксилат (CHOCOOH). Одна молекула CO_2 акцептується ацетил-КоА з утворенням малоніл-КоА, а інша — з'єднавшись з пропіоніл-КоА, утворює метилмалоніл-КоА. Кінцевий проміжний продукт циклу — маліл-КоА розщеплюється на ацетил-КоА та гліоксилат. Ацетил-КоА знову фіксує CO_2 на наступному

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

оберті, а гліоксилат використовується для біосинтезу. Процес можна описати таким рівнянням:

$$2HCO_3^- + 2НАДФН + 3H^+ + 3АТФ \rightarrow$$
$$\rightarrow CHO–COO^- + 2НАДФ^+ + 3АДФ + 3Ф_н.$$

Донори електронів і природа багатьох ферментів цього циклу наразі не вивчені.

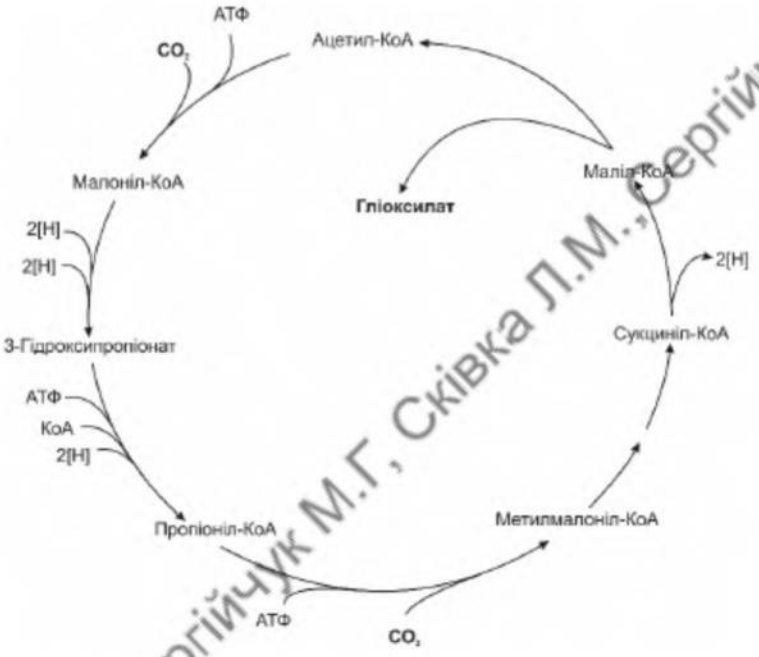


Рис. 5.35. 3-Гідроксипропіонатний цикл

Асиміляція формальдегіду. Метилотрофні мікроорганізми включають формальдегід (CH_2O) у біосинтез трьома шляхами:

1) сериновим;

2) рибулозомонофосфатним (гексулозофосфатним, RuMP);

3) дигідроксіацетоновим.

Перші два шляхи характерні для метилотрофних бактерій, а третій — лише для метилотрофних дріжджів.

Сериновий шлях — це циклічний процес, кінцевим продуктом якого є ацетил-КоА, що синтезується з 1 молекули формальдегіду та 1 молекули CO_2 (рис. 5.36).

У результаті першої реакції циклу внаслідок взаємодії формальдегіду (C_1-сполука) з гліцином (C_2-сполука) утворюється серин (C_3-сполука). Процес каталізується гідроксиметилтрансферазою, яка містить кофактор — тетрагідрофолієву

БІОЛОГІЯ. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

кислоту (THF), іде через проміжні продукти, що зв'язані з THF. При приєднанні формальдегіду до кофактора гідроксиметилтрансферази утворюється 5,10-метилентетрагідрофолієва кислота (метилен-THF). Під час реакції (1) (рис. 5.36) формальдегід переноситься з метилен-THF на гліцин, і утворюється серин.

Наступним кроком (2) (рис. 5.36) аміногрупа переноситься з серину на гліоксилат, в результаті чого з серину утворюється гліцин. Гліцин взаємодіє з наступною молекулою формальдегіду, а гідроксипіруват, який утворюється при дезамінуванні серину, зазнає подальших змін (3) (рис. 5.36).

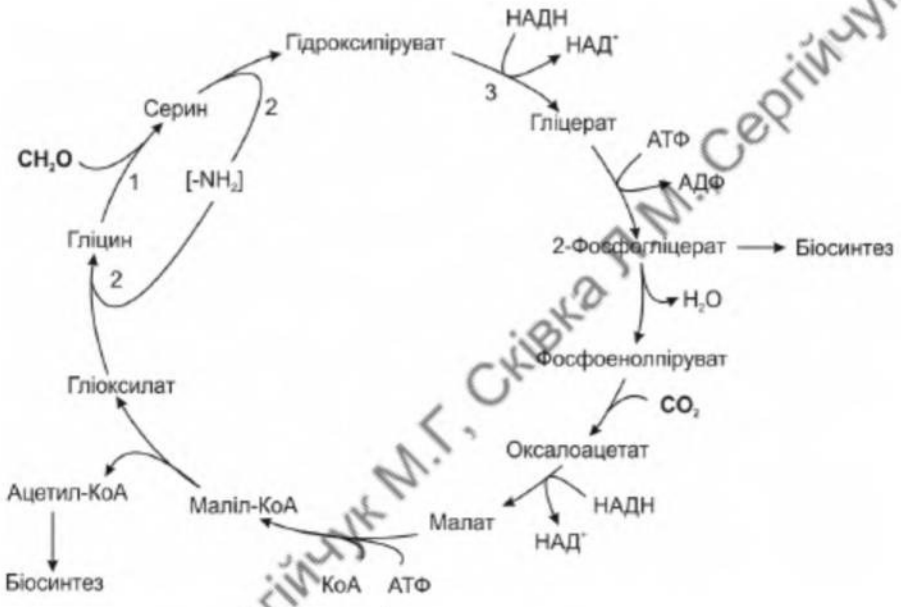


Рис. 5.36. Сериновий шлях асиміляції формальдегіду

Гідроксипіруват відновлюється до гліцеринової кислоти, гліцеринова кислота фосфорилюється до 2-фосфогліцерату з використанням 1 молекули АТФ. На цьому етапі сериновий шлях розщеплюється: частина 2-фосфогліцеринової кислоти перетворюється на 3-фосфогліцеринову кислоту, яка йде на біосинтез, а решта — на фосфоенолпіруват (ФЕП). ФЕП (C_3-сполука) карбоксилюється CO_2 з утворенням оксалоацетату (C_4 сполука). Оксалоацетат відновлюється до малату і з використанням АТФ перетворюється на маліл-КоА. За допомогою маліл-КоА-ліази маліл-КоА розщеплюється на гліоксилат (C_2 сполука), який бере участь у циклі, та на ацетил-КоА (C_2 сполука), що йде на біосинтез.

Рибулозомонофосфатний цикл (гексулозофосфатний шлях, RuMP) (рис. 5.37) — це циклічний процес асиміляції формальдегіду, який складається з трьох стадій: фіксації, розщеплення і перегрупування.

1. Фіксація. Акцептором формальдегіду є рибулозо-5-фосфат. Формальдегід і рибулозо-5-фосфат конденсуються за допомогою *гексулозофосфатсинтетази*

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

в гексулозо-6-фосфат, який потім перетворюється на фруктозо-6-фосфат під дією ферменту *гексулозофосфатізомерази*. Тільки гексулозофосфатсинтетаза та гексулозофосфатізомераза є унікальними ферментами для цього шляху. На інших стадіях реакції каталізують ферменти шляху Ентнера — Дудорова.

2. Розщеплення. Фруктозо-6-фосфат розщеплюється до C_3-сполук двома способами:

a) Фруктозо-6-фосфат фосфорилюється до фруктозо-1,6-дифосфату, а потім розщеплюється на дигідроксіацетонфосфат та фосфогліцериновий альдегід;

b) Фруктозо-6-фосфат спочатку ізомеризується до глюкозо-6-фосфату, який перетворюється на D-глюконо–1,5-лактон-6-фосфат, згодом — на 6-фосфоглюконат і нарешті — на 2-кето-3-дезоксі-6-фосфоглюконову кислоту (КДФГ). КДФГ розщеплюється на 3-фосфогліцериновий альдегід та піруват за допомогою КДФГ-альдолази.

Одна з фосфотріоз (дигідроксіацетонфосфат чи піруват) йде на біосинтез.

3. Перегрупування. Остання стадія процесу — перегрупування фосфотріоз, за якого відбувається регенерація акцептора формальдегіду — рибулозо-5-фосфату. Воно може здійснюватися кількома шляхами, але в результаті 2 молекули ксилулозо-5-фосфату та рибозо-5-фосфат перетворюються на рибулозо-5-фосфат. Цикл замикається.

Отже, в результаті рибулозомонофосфатного циклу з трьох молекул формальдегіду утворюється тріоза (дигідроксіацетонфостат чи піруват), яка подається на біосинтез. Загальне рівняння процесу:

$$3CH_2O + 2АТФ \rightarrow Фосфотріоза + 2АДФ + Ф_н.$$

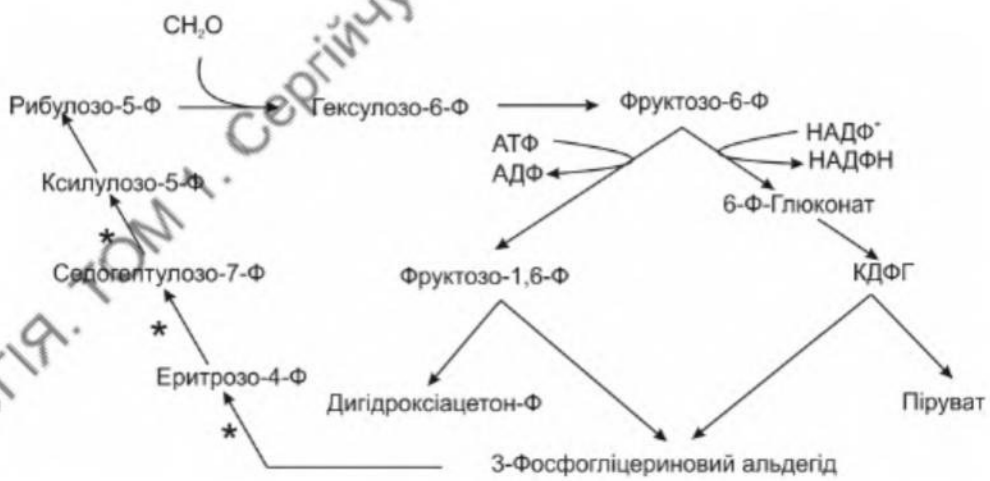


Рис. 5.37. Схема рибулозомонофосфатного циклу асиміляції формальдегіду (гексулозофосфатний шлях, RuMP). *реакції можуть відбутися лише в разі включення у процес не менш як 3 молекул формальдегіду

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Асиміляція мікроорганізмами C_2-субстратів. За росту на середовищах з ацетатом як єдиним джерелом Карбону, аеробні мікроорганізми асимілюють ацетил-КоА через гліоксилатний цикл (рис. 5.38). *Гліоксилатний цикл* — це послідовність реакцій перетворення двох ацетильних одиниць на одну C_3-сполуку з декарбоксилюванням четвертого атома Карбону:

$$2C_2 \rightarrow C_3 + C_1.$$

Рис. 5.38. Гліоксилатний цикл асиміляції ацетил-КоА мікроорганізмами

На першому етапі ацетил-КоА з'єднується зі ЩОК і перетворюється на цитрат, потім — на ізоцитрат, який під дією ізоцитратліази розщеплюється на два проміжні продукти: гліоксилат і сукцинат.

Ізоцитрат → Гліоксилат + Сукцинат.

На другому етапі синтезуються 2 молекули малату. Одна — безпосередньо при перетворенні сукцинату через фумарат, друга — внаслідок конденсації гліоксилату, синтезованого першому етапі, та другої молекули ацетил-КоА. Ця реакція каталізується малатсинтетазою:

Гліоксилат + Ацетил-КоА + H_2O → Малат + КоА-SH.

На третьому етапі з 2 молекул малату синтезуються 2 молекули ЩОК, одна з яких подається на біосинтез, друга — функціонує у гліоксилатному циклі. Для включення у біосинтез ЩОК декарбоксилюється до піровату чи фосфоенолпірувату.

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.І., Співка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Глюконеогенез. *Глюконеогенез* — це процес синтезу глюкози з пірувату (рис. 5.39). Він подібний до гліколізу, де глюкоза окиснюється до пірувату, але відбувається у зворотному (відновлювальному) напрямку.

Рис. 5.39. Схема глюконеогенезу

Глюконеогенез і гліколіз дещо різняться між собою. На відміну від гліколізу, де під час окиснення глюкози утворюються 2АТФ, за синтезу глюкози шляхом глюконеогенезу витрачається 6АТФ:

Глюкоза + 2НАД$^+$ + 2АДФ + 2$Ф_н$ → 2 Піруват + 2НАДН+ 2АТФ + 2H_2O (Гліколіз);

2 Піруват + 2НАДН + 4АТФ + 2ГТФ + 6H_2O →

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сивка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Глюкоза + 4АДФ + 2ГДФ + 6$Ф_н$ + 2НАД$^+$ + 2H^+ (Глюконеогенез);

(ГТФ та АТФ взаємно переходять одна в одну: ГДФ + АТФ ↔ ГТФ + АДФ).

Якщо при гліколізі фосфоенолпіруват перетворюється на піруват з виділенням АТФ за 1 реакцію під дією піруваткінази, то при глюконеогенезі піруват перетворюється на фосфоенолпіруват за 2 реакції, через проміжний продукт ЩОК з використанням АТФ та ГТФ під дією двох ферментів: піруваткарбоксилази та фосфоенолпіруваткарбоксикінази.

Фіксація молекулярного азоту. *Азотфіксація* — це використання атмосферного газоподібного молекулярного азоту N_2 як джерела Нітрогену для біосинтезу. В результаті азотфіксації молекулярний азот відновлюється до амонію, який включається у біосинтез амінокислот. Цей процес характерний лише для бактерій (вільноіснуючих та симбіотичних) і деяких археїв (таблиця 5.8), які містять специфічний складний фермент — *нітрогеназу* (нітрогеназний комплекс).

Таблиця 5.8.

Деякі азотфіксувальні мікроорганізми

Вільноіснуючі аероби		
Органотрофи	**Фототрофи**	**Літотрофи**
Azotobacter spp. *Klebsiella* *Beijerinckia* *Bacillus polymyxa* *Mycobacterium flavum* *Azospirillum lipoferum* *Citrobacter freundii* *Methylotrophus* (більшість)	*Cyanobacteria* (більшість)	*Alcaligenes* *Thiobacillus* (деякі види)
Вільноіснуючі анаероби		
Органотрофи	**Фототрофи**	**Літотрофи**
Clostridium spp. *Desulfovibrio* *Desulfotomaculum*	*Chromatium* *Chlorobium* *Rhodospirillum* *Rhodopseudomonas* *Rhodomicrobium* *Rhodobacter* *Heliobacterium*	*Methanosarcina* *Methanococcus*
Симбіотичні		
з бобовими рослинами (соя, горох, конюшина)		з небобовими рослинами
утворюють асоціації бактерії родів *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*		утворюють асоціації актиноміцети роду *Frankia*

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сквіка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Нітрогеназний комплекс складається з двох типів білків:

1. Перший компонент — молібдоферредоксин (MoFd, MoFe-білок), або динітрогеназа. М. м.—220 000. Складається з 4 білкових субодиниць, що з'єднані з MoFe-кофактором. MoFe-кофактор містить 18 атомів заліза і 2 атоми молібдену. В нітрогеназний комплекс входить 1 молекула молібдоферредоксину, який слугує для відновлення N_2 шляхом «двоелектронного перенесення».

2. Другий компонент — азоферредоксин (AzoFd, Fe-білок), або редуктаза динітрогенази. М. м.—55 000. Складається з 2 білкових субодиниць, містить 4 атоми заліза. В нітрогеназний комплекс входять 2 молекули азоферредоксину, який слугує переносником електронів, що відновлюють молібден молібдоферредоксину.

Оскільки в молекулі N_2 є потрійний зв'язок, вона дуже інертна. Її відновлення у промислових умовах здійснюється за температуи 500 °С і тиску 30 МПа. Бактерії здійснюють азотфіксацію за звичайних умов, але витрачають на це велику кількість енергії. Так, згідно з рівнянням:

$$N_2 + 8e^- + 8H^+ + 16АТФ = 2NH_3 + H_2 + 16АДФ + 16Ф_н$$

для відновлення 1 молекули азоту бактерії необхідно 16 молекул АТФ і 8 відновлених еквівалентів. За рахунок енергії, що виділяється під час гідролізу АТФ, істотно знижується ОВП нітрогеназного комплексу (з –290 до –400 мВ), тобто нітрогеназа набуває властивостей «супервідновника». Відновлені еквіваленти використовуються для постадійного відновлення N_2 до $2NH_3$. Оскільки паралельно з утворенням амонійного Нітрогену відбувається виділення молекулярного водню, процес потребує 8 електронів. Джерелами електронів можуть бути органічні сполуки у хемоорганотрофних азотфіксаторів (*Azotobacter, Klebsiella, Clostridium*), неорганічні сполуки у хемолітотрофів (*Alcaligenes, Methanosarcina, Methanococcus*), а також екзогенні донори електронів у фотосинтетиків (*Cyanobacteria, Chromatium, Chlorobium, Rhodospirillum, Heliobacter*). Електрони надходять до нітрогеназного комплексу через низькопотенційні переносники: (фередоксини, флаводоксини).

Згідно з теорією Штифеля, процес азотфіксації відбувається так (рис. 5.40):

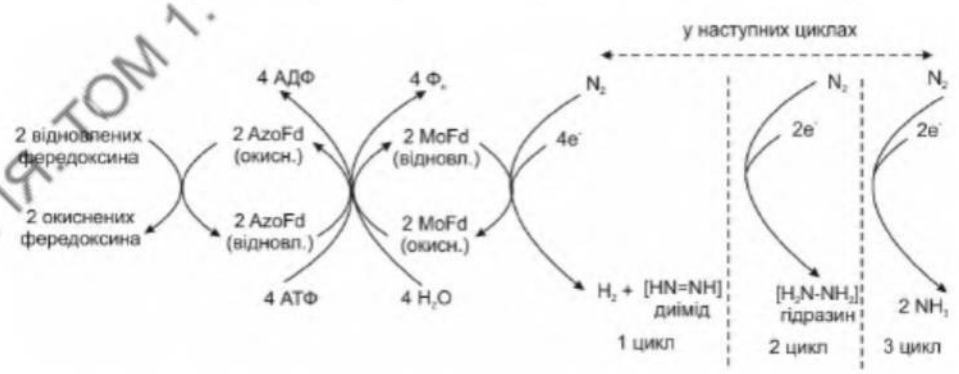


Рис. 5.40. Схема азотфіксації
(Позначення: AzoFd — азоферредоксин; MoFe — молібдоферредоксин)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сівка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

1) з відновленого фередоксину електрони надходять на азофередоксин (Fe-білок) і відновлюють його;

2) азофередоксин передає електрони на молібден молібдофередоксину, сам при цьому окиснюється, а молібден молібдофередоксину (MoFe-білок) відновлюється з Mo(VI) до Mo(IV). Паралельно з цим за рахунок гідролізу АТФ відбувається пониження ОВП нітрогеназного комплексу з –290 до –400 мВ. Молібдофередоксин стає супервідновленим.

3) атом заліза у молекулі молібдофередоксину сполучається з N_2 й утворюється комплекс N≡N–Fe (нітрид);

4) у молекулі молібдофередоксину (MoFe-білок) відбувається поетапне відновлення N_2 за рахунок окиснення Mo(IV) до Mo(VI) через такі емпіричні проміжні продукти:

$$N{\equiv}N + 4e^- \rightarrow HN{=}NH \text{ (диімід)} + H_2;$$

$$HN{=}NH + 2e^- \rightarrow H_2N{-}NH_2 \text{ (гідразин)};$$

$$H_2N{-}NH_2 + 2e^- \rightarrow 2NH_3 \text{ (аміак)}.$$

Внаслідок утворення молекулярного водню активується молібдофередоксин перед відновленням молекулярного азоту. H_2 в атмосферу практично не виділяється, а розкладається гідрогеназою на протони й електрони. Електрони подаються на дихальний ланцюг. В результаті клітина отримує додаткову енергію, а молекулярний кисень, що її оточує, швидше відновлюється. Це захищає нітрогеназний комплекс від інгібування киснем.

Для активної азотфіксації бактерія має підтримувати азофередоксин у супервідновленому стані. Зрозуміло, що молекулярний кисень, ОВП якого становить +810 мВ, незворотно окиснює нітрогеназний комплекс, тому, у аеробних азотфіксаторів існують спеціальні *механізми захисту нітрогенази від кисню*:

• Дихальний захист ґрунтується на тому, що бактерії (*Azotobacter*) швидко видаляють кисень із довкілля завдяки високоактивному розгалуженому дихальному ланцюгу. Спеціальні гілки такого ланцюга мають лише один пункт фосфорилювання і специфічний термінальний цитохром *d*-оксидазу. Вони використовуються для швидкого відновлення кисню за критичного збільшення його концентрації навколо клітини.

• Конформаційний захист нітрогенази забезпечується особливим захисним конформаційним білком. У разі загрози інактивації киснем він сполучається з нітрогеназою. При цьому нітрогеназа тимчасово втрачає свою активність, але отримує стійкість до кисню. Після зниження концентрації кисню нітрогеназа повертається в активний стан.

• Морфологічна адаптація — це утворення гетероцист у нитчастих ціанобактерій (*Anabena*). Азотфіксація здійснюється лише спеціальними клітинами гетероцистами, які оточені щільною клітинною стінкою і не виділяють O_2 у процесі фотосинтезу.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І., Скібка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

- Симбіотичний захист характерний для симбіотичних азотфіксуючих бактерій (*Rhizobium*). Вони індукують синтез у клітинах рослини-симбіонта білка леггемоглобіну, який зв'язує кисень, знижуючи його парційний тиск.
- Негативний аеротаксис дає змогу рухливим азотфіксаторам уникати середовища з підвищеною концентрацією кисню.

Асиміляційна нітратредукція. *Асиміляційна нітратредукція* (асиміляційна амоніфікація) — це відновлення нітратного Нітрогену (N^{5+}) до амонійного (N^{3-}) з метою включення його у біосинтез амінокислот та інших сполук. Вона характерна для рослин, водоростей, грибів, багатьох прокаріотів і є одним із фундаментальних біологічних процесів. Асиміляційна амоніфікація відбувається за аеробних умов при відсутності у середовищі амонію, але наявності нітрату. Оскільки, для відновленн нітратного Нітрогену до амонійного витрачається 8 електронів, які могли б взяти участь у синтезі АТФ на дихальному ланцюзі, процес вважається енергозатратним. У бактерій та грибів електрони надходять із НАДФН, у вищих рослин — з відновленого фередоксину чи з води за її фотолізу. Нітрат відновлюється до амонію за кілька етапів:

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_2OH \rightarrow NH_4^+ \rightarrow R\text{–}NH_2.$$

Відновлення нітрату до нітриту здійснюється ферментом асиміляційною нітратредуктазою (позначається як NAS). Цей фермент на відміну від нітратредуктаз NAR і NAP, що беруть участь у нітратному диханні (дисиміляційній нітратредукції), міститься у цитоплазмі. NAS складається з двох субодиниць: NasA та NasC. Його синтез репресується амонієм, а специфічно індукується нітратом або нітритом.

Нітрит відновлюється до амонію можливо через гідроксиламін (гіпотетичний проміжний продукт). Амоній включається у біосинтез амінокислот.

Шляхи включення амонію у амінокислоти. *Формування аміногрупи в амінокислоті* може відбуватися *прямим амінуванням* (безпосереднім приєднанням амонію до карбонового скелету амінокислоти), чи в результаті *трансамінування*.

Спосіб прямого амінування залежить від кількості амонію у середовищі. Розрізняють два шляхи:

1) глутаматний шлях функціонує за високої концентрації (> 1 мМ) амонію у довкіллі;

2) глутаміновий шляхфункціонує за низької концентрації (< 0,5 мМ) амонію у довкіллі.

Глутаматний шлях асиміляції NH_4^+ здійснюється за одну реакцію, каталізується ферментом *глутаматдегідрогеназою* і не потребує затрат АТФ:

$$\text{α-Кетоглутарова кислота} + NH_3 + \text{НАДФН} \rightarrow$$
$$\rightarrow \text{Глутамінова кислота} + \text{НАДФ}^+ + H_2O.$$

Біологія-гом. Сверстичук М.Г., Сверстичук Л.М., Сверстичук Т.М. та ін

Глутаміновий шлях асиміляції NH_4^+ здійснюється за дві реакції через проміжний продукт глутамін, каталізується ферментами *глутамінсинтетазою* і *глутаматсинтетазою* та потребує затрат АТФ:

Глутамінова кислота + АТФ + NH_3 →

→ Глутамін + АДФ + $Ф_н$ (глутамінсинтетаза);

Глутамін + α-Кетоглутарова кислота + НАДФН →

→ 2 Глутамінова кислота + +$НАДФ^+$(глутаматсинтетаза).

Сумарна реакція глутамінового шляху:

α-Кетоглутарова кислота + NH_3 + АТФ + НАДФН→

→ Глутамінова кислота + АДФ + $НАДФ^+$ + $Ф_н$.

Трансамінування — це перенесення аміногрупи з глутамінової кислоти на оксокислоти (кислоти, що містять оксогрупу =C=O), які є безпосередніми попередниками синтезу амінокислот. Реакція каталізується ферментами *амінотрансферазами* (трансаміназами). Прикладом слугує синтез аспарагінової кислоти зі щавлево-оцтової:

Глутамінова кислота + ЩОК →

→ α-Кетоглутарова кислота + Аспарагінова кислота.

У деяких реакціях біосинтезу донором аміногрупи може бути аспарагінова кислота.

Асиміляційна сульфатредукція. *Асиміляційна сульфатредукція* — це відновлення сульфатного Сульфуру (S^{+6}) до сульфідної (S^{2-}) з метою включення у біосинтез амінокислот цистеїну, метіоніну, нуклеїнових кислот, різних коферментів. Вона широко розповсюджена в метаболізмі рослин, водоростей, грибів, більшості прокаріотів, але відсутня у паразитних прокаріотів та еукаріотів. Відомо два шляхи асиміляційної сульфатредукції:

1) шлях характерний для бактерій та грибів (рис. 5.41, a);

2) шлях характерний для ціанобактерій та аеробних еукаріотів (рис. 5.41, b).

На першому етапі в обох шляхах інертний сульфат активується за допомогою АТФ з утворенням аденозин-5'-фосфосульфату (АФС) так само, як і при дисиміляційній сульфатредукції (див. розд. 5.3). Реакція каталізується ферментом АТФ-сульфурилазою.

В разі бактеріальної асиміляційної сульфатредукції (рис. 5.41, a) наступним кроком є повторне фосфорилювання АФС із використанням АТФ за допомогою АФС-кінази та утворення аденозин-3'-фосфат-5'-фосфосульфату (ФАФС). Потім ФАФС відновлюється тіоредоксином до сульфіту і, нарешті, за допомогою НАДФН — до сульфіду.

У ціанобактерій та вищих рослин (рис. 5.41, b) АФС може відновлюватися до сульфіту як через проміжний продукт ФАФС, так і безпосередньо глутаті-

БІОЛОГІЯ: ТОМ 1 Сергійчук Т.М. та ін. Сківка Л.М. Сергійчук Т.М. та ін

оном (GSH — це тетрапептид, утворений трьома амінокислотами: цистеїном, глутаміновою кислотою та гліцином). Сульфіт відновлюється до сульфіду за допомогою фередоксину.

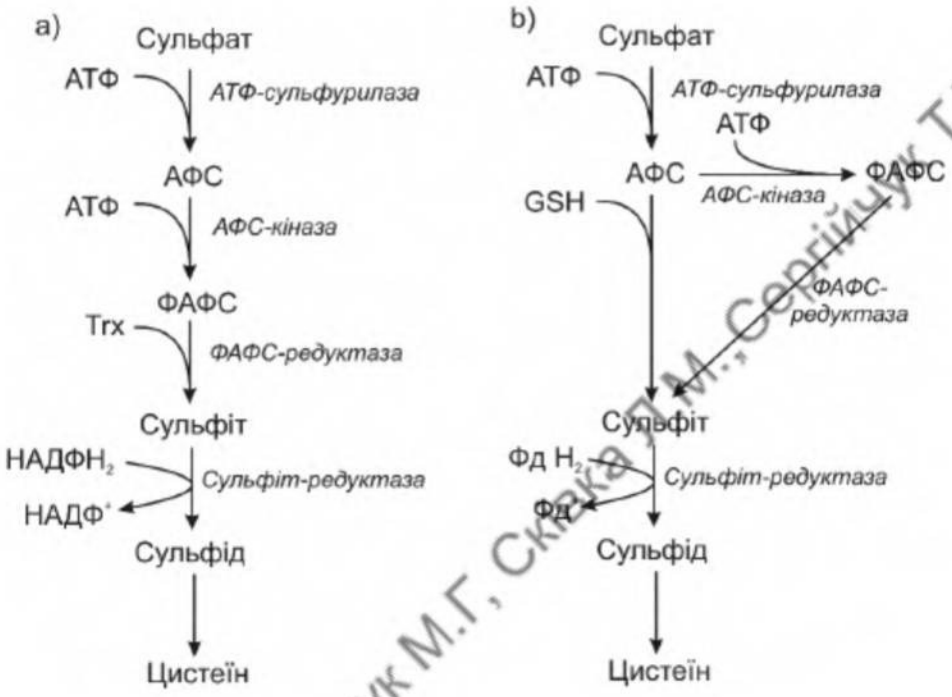


Рис. 5.41. Шляхи асиміляційної сульфатредукції в *Escherichiacoli* (a) та ціанобактерій (b): Trx — тіоредоксин; АФС — аденозин-5'-фосфосульфат; ФАФС — аденозин-3'-фосфат-5'-фосфосульфат; GSH — глутатіон

Асиміляційна сульфатредукція відбувається із затратою АТФ і електронів.

5.6. Бродіння

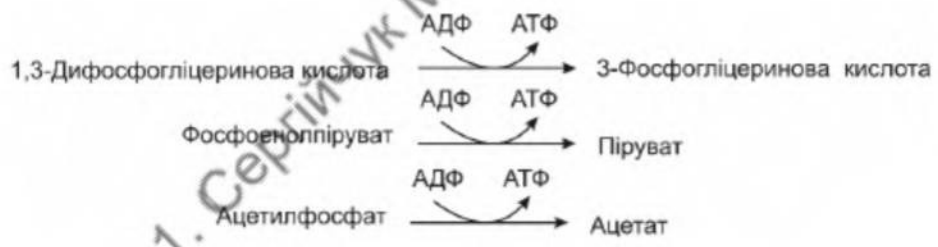
Для забезпечення життєдіяльності багатьох мікроорганізмів молекулярний кисень не є конче необхідним. Роль термінального акцептора електронів у *анаеробів* може виконувати низка неорганічних і органічних сполук. Для анаеробних мікроорганізмів характерні всі ті ж типи метаболізму, що й для аеробних, але залежно від природи термінального акцептора електронів розрізняють такі метаболічні процеси:

- бродіння;
- анаеробне дихання;
- метаногенез.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скварчук М.Г., Сергійчук Т.М. та ін

Бродіння — це спосіб отримання енергії, за якого АТФ утворюється в процесах анаеробного окиснення органічних субстратів у результаті субстратного фосфорилювання без участі неорганічних акцепторів електронів. Донори й акцептори електронів під час бродіння утворюються з органічних субстратів із середнім ступенем окиснення, таких як цукри, органічні кислоти, амінокислоти, гетероциклічні сполуки, в процесі їх зброджування до CO_2, молекулярного водню, форміату, ацетату та інших коротколанцюгових жирних кислот. Це найдревніший і найпримітивніший спосіб отримання енергії. Він притаманний деяким групам облігатно анаеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів, а саме молочно- й пропіоновокислим бактеріям, клостридіям, ентеробактеріям, дріжджам та ін. Примітивність процесів бродіння полягає в тому, що під час розщеплення субстрату вивільнюється лише незначна кількість хімічної енергії, а більша її частина залишається у кінцевих продуктах. Бактерії-бродильники отримують енергію лише внаслідок субстратного фосфорилювання. Цикл Кребса у них не бере участі в процесах катаболізму, а дихальний ланцюг не функціонує або зовсім відсутній. Тому при розщепленні 1 молекули глюкози, наприклад у разі гомоферментативного молочнокислого бродіння, синтезуються лише 2-молекули АТФ (для порівняння: за аеробного дихання утворюються 38 молекул АТФ на 1 молекулу глюкози).

Незважаючи на те, що зброджуватись може велика кількість субстратів, число реакцій, що приводять до безпосереднього синтезу АТФ під час бродіння, досить обмежене. Найрозповсюдженіші з них такі:



Термінальними акцепторами водню у процесі бродіння, як правило, слугують органічні метаболіти, що утворилися в результаті розщеплення субстрату. Відновлені сполуки, які приєднали водень, виділяються з клітини і накопичуються в середовищі у значних кількостях. Через низький енергетичний вихід процесів бродіння для забезпечення енергією всіх функцій і біосинтетичних процесів клітині доводиться переробляти величезну кількість субстрату.

Молочнокисле бродіння. В результаті молочнокислого зброджування вуглеводів утворюється молочна кислота. Цей процес здійснюють молочнокислі бактерії. Розрізняють гомо- та гетероферментативне молочнокисле бродіння. За *гомоферментативного молочнокислого бродіння* основним кінцевим продуктом є лактат. Цей процес здійснюють такі бактерії як *Lactococcus lactis, Pediococcus cerevisiae, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus bulgaricus*. За *гетероферментативного*

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

молочнокислого бродіння, крім лактату, утворюються й інші кінцеві продукти: етанол, ацетат, CO_2, маніт, причому спектр і кількість цих метаболітів залежать від виду бактерій і субстрату, що зброджується. Гетероферментативне молочнокисле бродіння притаманне *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, за особливою схемою воно відбувається у *Bifidobacterium bifidum*.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння. Основними субстратами для гомоферментивного молочнокислого бродіння є моноцукри (насамперед глюкоза), дисахариди (мальтоза, лактоза) та полісахариди (глікоген, крохмаль).

Перш ніж включитися у процес бродіння, дисахариди перетворюються на фосфориловані моносахариди за загальною схемою:

Лактоза → *D*-глюкоза + *D*-галактоза;

D–галактоза + АТФ → *D*–галактозо–1-фосфат + АДФ;

D-галактозо-1-фосфат → Глюкозо-1-фосфат.

У цьому разі глюкозо-1-фосфат утворюється із затратою АТФ.

Мальтоза + H_3PO_4 → Глюкозо-1-фосфат + Глюкоза.

У цьому випадку глюкозо–1-фосфат утворюється без затрати АТФ.

Полісхариди попередньо гідролізуються, а глюкозний залишок фосфорилується до глюкозо-1-фосфату. Глюкозо-1-фосфат, що утворився під час підготовчих реакцій, згодом переходить у глюкозо-6-фосфат. Подальше перетворення глюкозо-6-фосфату відбувається за єдиною схемою незалежно від його походження (рис. 5.42).

Глюкозо-6-фосфат окиснюється до пірувату гліколітичним шляхом. При цьому утворюються 4 молекули АТФ. Оскільки в процесі гліколізу 2 молекули АТФ витрачається на фосфорилування глюкози й фруктозо-6-фосфату, загальний енергетичний вихід процесу становить 2 молекули АТФ на 1 молекулу глюкози. Термінальним акцептором електронів за цього типу бродіння є піруват. Відновлюючись за участю НАДН, піруват перетворюється на лактат, який виділяється з клітини у середовище. В разі гомофермертативного молочнокислого бродіння лактат є практично єдиним кінцевим метаболітом.

Гетероферментативне (*фосфокетолазне*) *молочнокисле бродіння* (рис. 5.43).

У бактерій, які здійснюють гетероферментативне молочнокисле бродіння, відсутні такі ферменти гліколітичного шляху, як *фруктозодифосфатальдолаза* та *тріозофосфатізомераза* (рис. 5.44), тому спочатку глюкоза у них зброджується пентозофосфатним шляхом.

За пентозофосфатним шляхом виділяється CO_2, відновлюються 2 молекули $НАД^+$ ($НАДФ^+$) й утворюється ксилулозо-5-фосфат. Наступним етапом є розщеплення ксилулозо-5-фосфату на 3-фосфогліцериновий альдегід та ацетилфосфат за допомогою ключового ферменту цього шляху — *тіаміндифосфатзалежної фосфокетолази*.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Л., Сківка Л.М. Сергійчук Т.М. та ін

Рис. 5.42. Загальна схема гомоферментативного молочнокислого бродіння

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

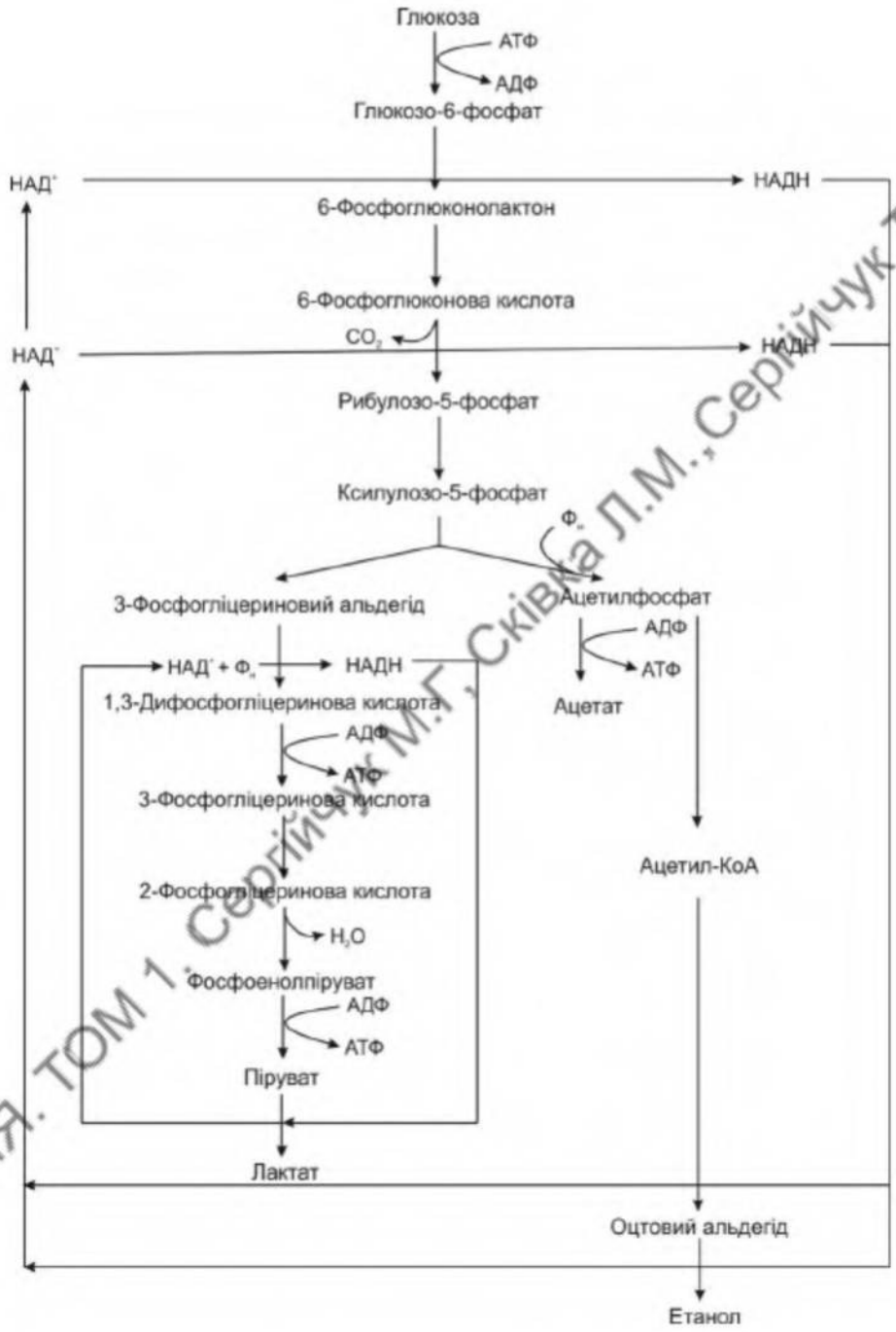


Рис. 5.43. Загальна схема гетероферментативного молочнокислого бродіння

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Серійчук М.Г., Сківка Л.М., Серійчук Т.М. та ін

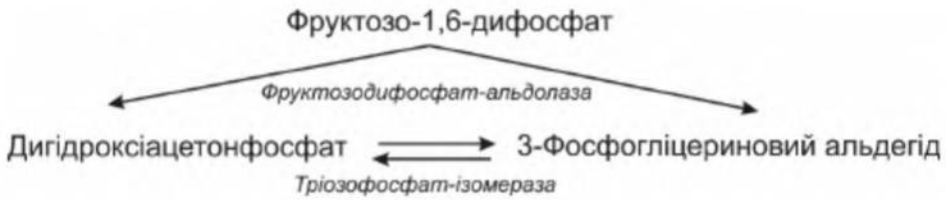


Рис. 5.44. Ферменти, що відсутні у гетероферментативних молочнокислих бактерій

3-Фосфогліцериновий альдегід у подальшому окиснюється ферментами гліколітичного шляху до пірувату (з утворенням 2 молекул АТФ внаслідок субстратного фосфорилування), а піруват слугує акцептором воднюі відновлюється до молочної кислоти, тобто ця частина процесу гетероферментативного молочнокислого бродіння є фрагментом гомоферментативного.

Ацетилфосфат переходить в ацетат за участю *ацетаткінази* з виділенням АТФ. Крім того, ацетилфосфат може утворювати ацетил-КоА у реакції, що каталізується *фосфотрансацетилазою*, а згодом відновлюється до оцтового альдегіду й етанолу.

Особливий шлях гетероферментативного молочнокислого бродіння виявлено у *Bifidobacterium bifidum* (рис. 5.45).

У цих бактерій розщеплення й окиснення глюкозо-6-фосфату врешті-решт приводить до утворення пірувату та ацетил фосфату:

$$2C_6 \rightarrow 2C_3 + 3C_2.$$

Діоксид Карбону при цьому не утворюється. Спочатку 2 молекули глюкозо-6-фосфату ізомеризуються у 2 молекули фруктозо-6-фосфату. Потім 1 молекула фруктозо-6-фосфату за участю нерганічного фосфату розщеплюється на ацетилфосфат та еритрозо-4-фосфат, а друга молекула фруктозо-6-фосфату вступає в реакцію з еритрозо-4-фосфатом. Продуктами цієї реакції є 3-фосфогліцериновий альдегід і седогептулозо-7-фосфат:

$$C_6 + C_4 \rightarrow C_3 + C_7.$$

На наступних етапах обидва продукти обмінюються C_2-фрагментами й перетворюються на ксилулозо-5-фосфат і рибозо-5-фосфат:

$$C_3 + C_7 \rightarrow 2C_5.$$

Далі рибозо-5-фосфат перетворюється на ксилулозо-5-фосфат, а на завершення— 2 молекули ксилулозо-5-фосфату за участю нерганічного фосфату розщеплюються на 2 молекули ацетилфосфату та 2 молекули 3-фосфогліцеринового альдегіду. Останні окиснюються до 2 молекул пірувату, піруват відновлюється ло лактату, а ацетилфосфат переходить в ацетат із виділенням АТФ.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сівка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

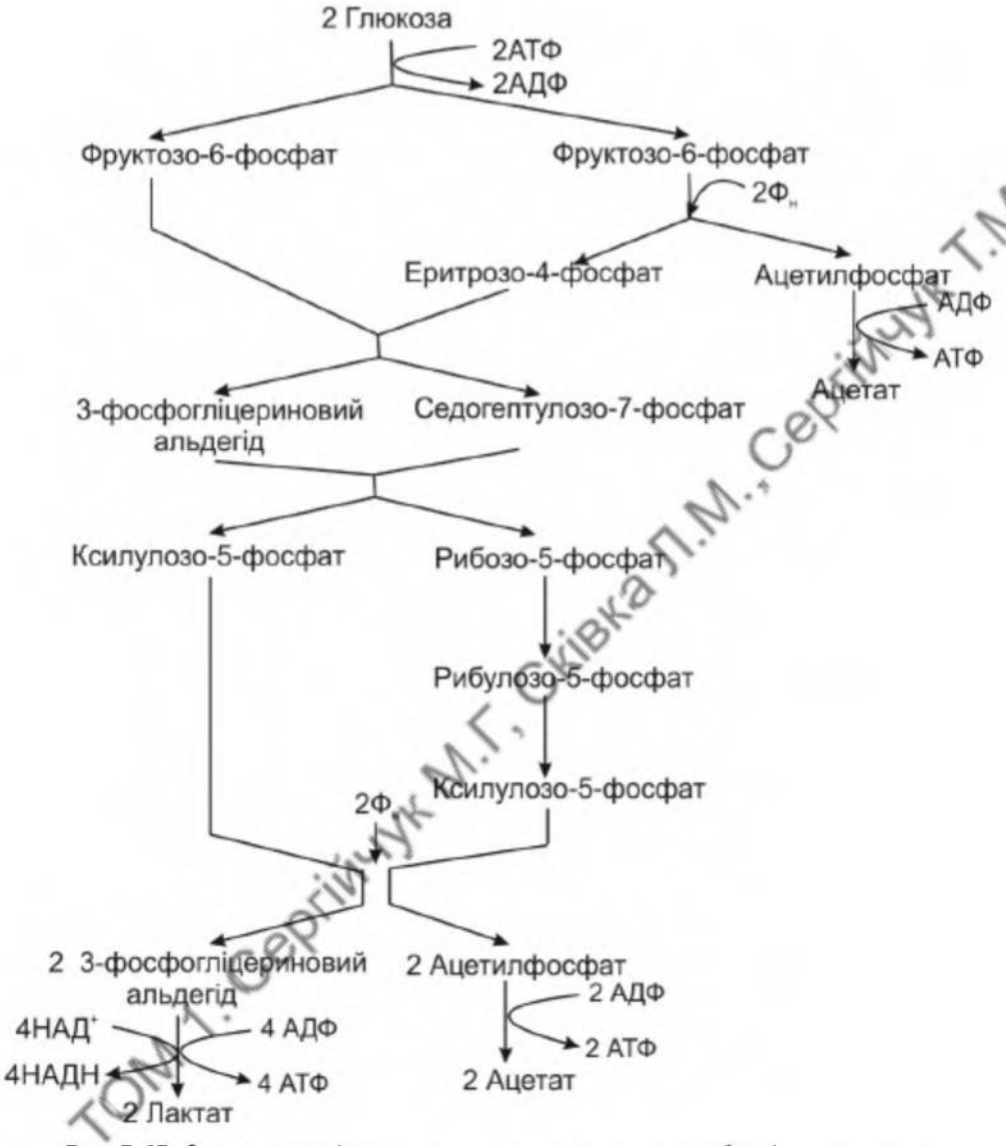


Рис. 5.45. Схема гетероферментативного молочнокислого бродіння за участю біфідобактерій

Сумарне рівняння цього процесу таке:

2 Глюкоза → 2 Лактат + 3 Ацетат.

Отже, гетероферментативне молочнокисле бродіння — це анаеробний процес, в результаті якого з глюкози утворюються такі продукти, як молочна, оцтова кислоти, етанол та вуглекислий газ.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Спиртове (етанольне) бродіння — це анаеробний процес, основним продуктом якого є етиловий спирт. Спиртове бродіння характерне для дріжджів і низки бактерій, зокрема *Sarcina ventriculi, Erwinia amylovora, Zymomonas mobilis.* Дріжджі окиснюють глюкозу гліколітичним шляхом, а *Zymomonas* — шляхом Ентнера — Дудорова.

Дріжджі здійснюють 3 форми спиртового бродіння за Нейбергом (K. Neuberg).

1. Перша форма — класичне спиртове бродіння, яке відбувається у кислому середовищі (pH 3–6). Воно має два періоди: індукційний та стаціонарний. Оскільки основними продуктами індукційного періоду є гліцерин і піруват, цей період спиртового бродіння називають *гліцеропіровиноградним бродінням.*

2. Друга форма — спиртове бродіння, яке проходить за наявності гідросульфіту натрію. Оскільки основним кінцевим продуктом цього процесу є гліцерин, його іще називають *гліцериновим бродінням.*

3. Третя форма — спиртове бродіння, що здійснюється в лужному середовищі.

Загальний вигляд першої форми спиртового бродіння за Нейбергом ілюструє схема, наведена на рис. 5.46.

Процеси спиртового і гомоферментативного молочнокислого бродіння загалом схожі. Спочатку глюкоза окиснюється до піровату за гліколітичним шляхом, але на наступних етапах спиртове бродіння має дві відмінності. Перша полягає в тому, що акцептором водню є не безпосередньо піруват, а продукт його декарбоксилування — оцтовий альдегід. Декарбоксилування піровату каталізується ключовим ферментом спиртового бродіння — *піруватдекарбоксилазою.* Особливістю цієї реакції є її повна незворотність. Оцтовий альдегід відновлюється до етанолу за участю $НАД^+$*-залежної алкогольдегідрогенази.* Друга відмінність полягає в тому, що за спиртового бродіння відбувається чітке міжмолекулярне розмежування на відновлені молекули (спирт) й окиснені (вуглекислий газ), а за гомоферментативного молочнокислого бродіння кінцевий продукт — молочна кислота за сумарним ступенем окисненості — відновленості не відрізняється від молекули гексози.

Спиртове бродіння має два періоди: індукційний та стаціонарний. *Індукційний* (початковий) період характеризується накопиченням у середовищі гліцерину й піровату, тому його можна розглядати як окремий вид бродіння — *гліцеропіровиноградне.* Висока концентрація глюкози у середовищі інгібує алкогольдегідрогеназу, а кількість оцтового альдегіду на початку спиртового бродіння ще недостатня для індукування синтезу цього ферменту. Тому НАДН на цьому етапі переносить водень не на оцтовий альдегід, а на другу молекулу 3-фосфогліцеринового альдегіду. В результаті перша молекула 3-фосфогліцеринового альдегіду окиснюється до піровату, а друга — відновлюється до гліцерину (рис. 5.47).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

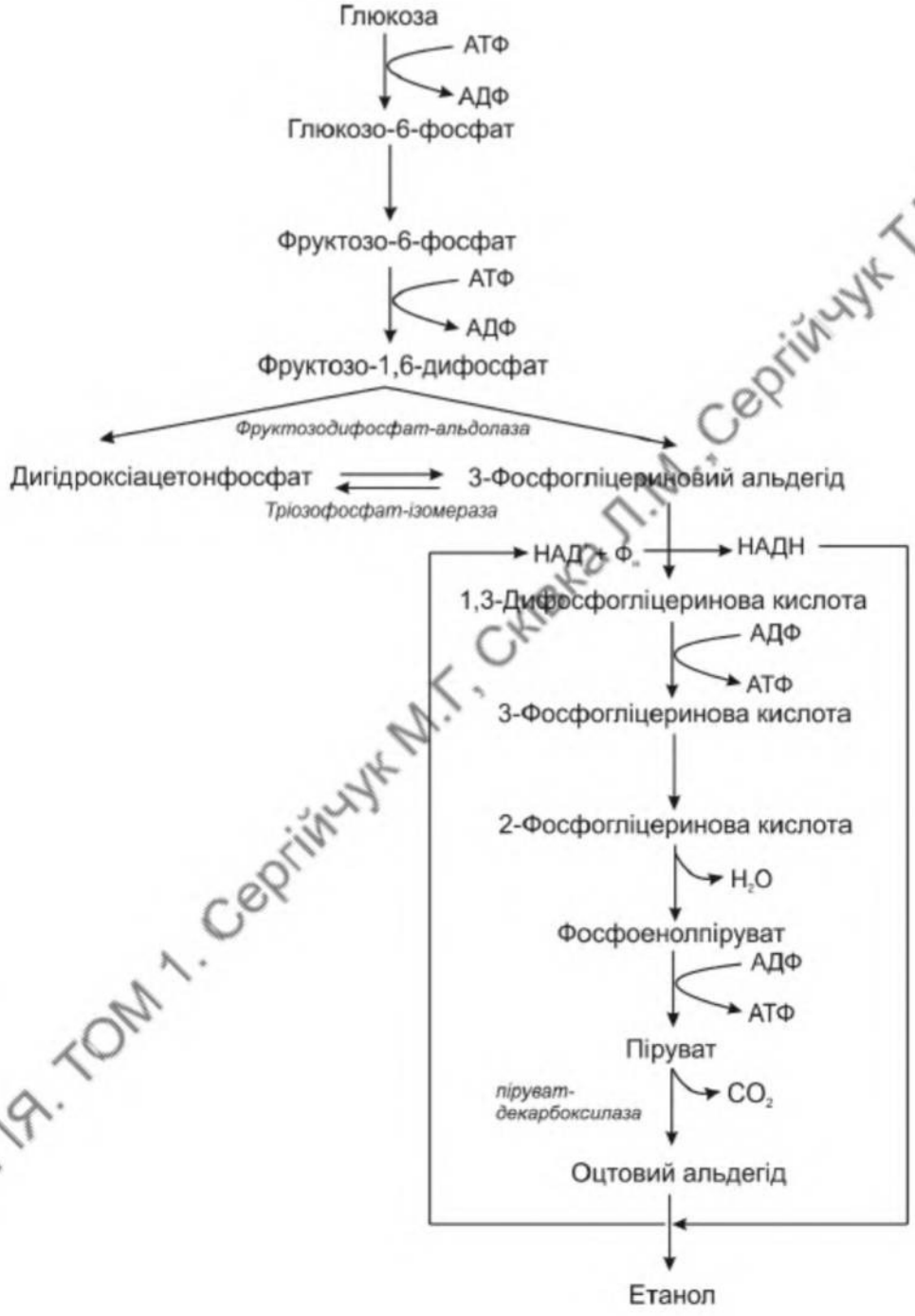


Рис. 5.46. Загальна схема спиртового бродіння (перша форма спиртового бродіння за Нейбергом)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скивка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Рис. 5.47. Схема гліцеропіровиноградного бродіння (індукційний період спиртового бродіння)

Стаціонарний період спиртового бродіння починається після зниження концентрації глюкози у середовищі й накопичення достатньої кількості оцтового альдигіду. Активність алкогольдегідрогенази зростає, оцтовий альдегід починає відновлюватися воднем до етанолу. Енергетичний вихід процесу— 2 молекули АТФ на 1 молекулу глюкози.

Друга форма спиртового бродіння за Нейбергом — це бродіння у присутності гідросульфіту натрію. Оскільки основним кінцевим продуктом цього процесу є гліцерин, його ще називають *гліцериновим бродінням*. Енергетичний вихід гліцеринового бродіння вдвічі менший, ніж класичного спиртового, бо одна тріоза не окиснюється, а відновлюється до гліцерину. Це пов'язано з тим, що гідросульфіт утворює комплекс з оцтовим альдегідом, який не може бути акцептором водню (рис. 5.48).

Третя форма спиртового бродіння за Нейбергом — це бродіння в лужному середовищі. За цих умов оцтовий альдегід дегідрогеназою не відновлюється, тому акцептором водню є 3-фосфогліцериновий альдегід, як і в разі гліцеропіровиноградного бродіння. Перенесення водню на 3-фосфогліцериновий альдегід приводить до накопичення гліцерину. Крім того, за цих умов дві молекули оцтового альдегіду вступають у реакцію дисмутації: одна молекула окиснюється до оцтової кислоти, друга відновлюється до етанолу (рис. 5.49).

Загальне рівняння процесу:

$$2\ \text{Глюкоза} \rightarrow 2\ \text{Гліцерин} + \text{Ацетат} + \text{Етанол} + 2CO_2.$$

БІОЛОГІЯ. Т.М. Сергійчук, М.Г. Сівка, Л.М. Сергійчук Т.М. та ін.

Рис. 5.48. Схема гліцеринового бродіння (друга форма спиртового бродіння за Нейбергом)

Бактерії роду *Zymomonas* для здійснення спиртового бродіння розщеплюють глюкозу шляхом Ентнера — Дудорова (рис. 5.50). Глюкоза окиснюється до 2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконової кислоти, яка далі розщеплюється до пірувату та 3-фосфогліцеринового альдегіду. Останній гліколітичним шляхом окиснюється до пірувату з утворенням 2АТФ. Дві молекули пірувату, що утворилися в обох гілках метаболічного перетворення, декарбоксилуються до оцтового альдегіду, який згодом відновлюється до етанолу так само, як і у дріжджів. Загальне рівняння процесу:

$$\text{Глюкоза} \rightarrow 2\ \text{Етанол} + 2CO_2.$$

Енергетичний вихід процесу: 1 молекула АТФ на 1 молекулу глюкози.

Пропіоновокисле бродіння — це анаеробний процес, основним продуктом якого є пропіонова кислота. Крім пропіонату, більшість анаеробів утворює також ацетат і CO_2. Субстратами для пропіоновокислого бродіння слугують глюкоза та лактат. Пропіоновокисле бродіння характерне для бактерій *Propionibacterium freudenreichii*, *P. acidi-propionici*, *P. acnes*, *Clostridium propionicum*, *Selenomonas*.

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Рис. 5.49. Схема спиртового бродіння у лужному середовищі (третя форма спиртового бродіння за Нейбергом)

Бактерії утворюють пропіонат двома шляхами:

1) сукцинат-пропіонатним, або шляхом метилмалоніл-КоА (характерний для бактерій роду *Propionibacterium*);

2) акрилатним (характерний для *Clostridium propionicum*, *Megaspaera elsdenii*).

Схему сукцинат-пропіонатного метаболічного шляху наведено на рис. 5.51. Його розшифрування — доволі складне завдання, і ще досі не всі деталі цього процесу повністю зрозумілі. Спочатку глюкоза окиснюється до пірувату гліколітичним шляхом, або лактат окиснюється до пірувату за участю флавопротеїнового переносника водню. Потім піруват перетворюється на щавлево-оцтову кислоту (ЩОК) за *реакцією транскарбоксилування*. Донором Карбону є органічна сполука метилмалоніл-КоА, а переносником CO_2 — біотин. Реакція транскарбоксилювання — вигідніший процес, ніж пряме карбоксилювання неорганічним Карбоном, бо здійснюється без затрат енергії. ЩОК слугує акцептором водню і відновлюється до фумарату. Подальше відновлення фумарату до сукцинату за допомогою фумаратредуктази пов'язане із синтезом АТФ за участю перенос-

ОБІОЛОГІЧНИТОМ А. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ників дихального ланцюга. Цей процес окисного фосфорилування відомий як фумаратне дихання і характерний для багатьох анаеробних мікроорганізмів. Отже, в разі пропіоновокислого бродінні відбуваються як виключно бродильні процеси, так і фрагменти анаеробного дихання.

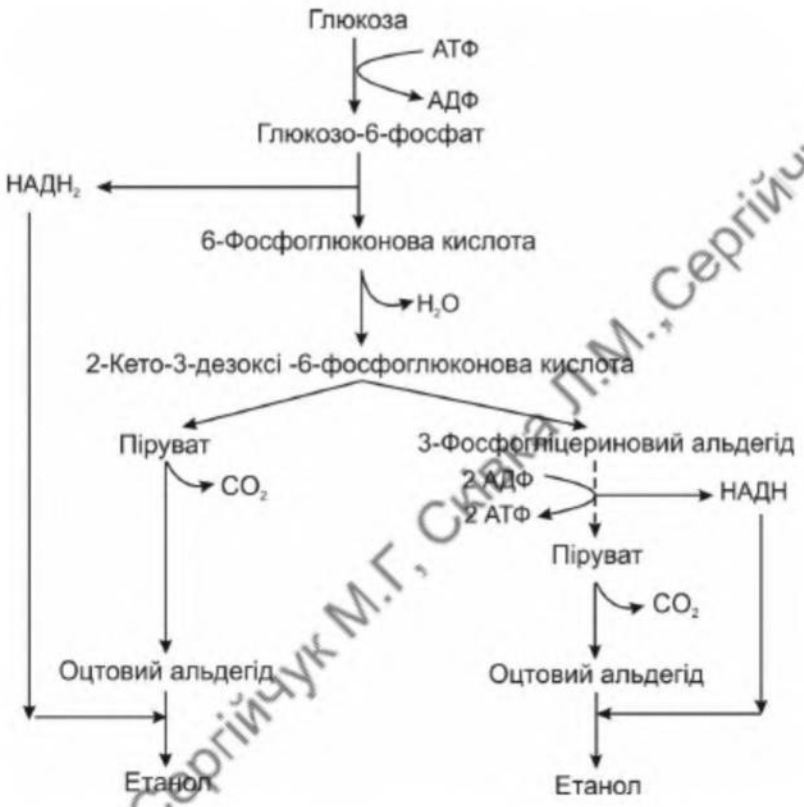


Рис. 5.50. Схема спиртового бродіння, що здійснюють бактерії роду *Zymomonas*

У бродінні цього типу беруть участь три КоА-похідні: сукциніл-КоА, метилмалоніл-КоА та пропіоніл-КоА, які взаємно перетворюються за реакціями ізомеризації, що є ключовими в пропіоновокислому бродінні. Ізомерази містять коферменти-B_{12}. Отже, для шляху метилмалоніл-КоА характерні:

- процес циклічного перенесення C_1-фрагмента з метилмалоніл-КоА на піруват з утворенням ЩОК (реакція транскарбоксилювання) без вивільнення CO_2 в довкілля;
- процес ізомеризації КоА-похідних і циклічне перенесення КоАз продукту на продукт без вивільнення в середовище;
- фрагменти циклу Кребса, в яких реакції здійснюються у зворотному напрямку (не окиснення, а відновлення);

Біологія-том 1. Сергійчук М.Г., Сивко Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

- отримання АТФ за субстратним фосфорилюванням під час окиснення глюкози гліколізом та окисним фосфорилюванням у результаті фумаратного дихання.

Акрилатний шлях утворення пропіонату ілюструє рис. 5.52.

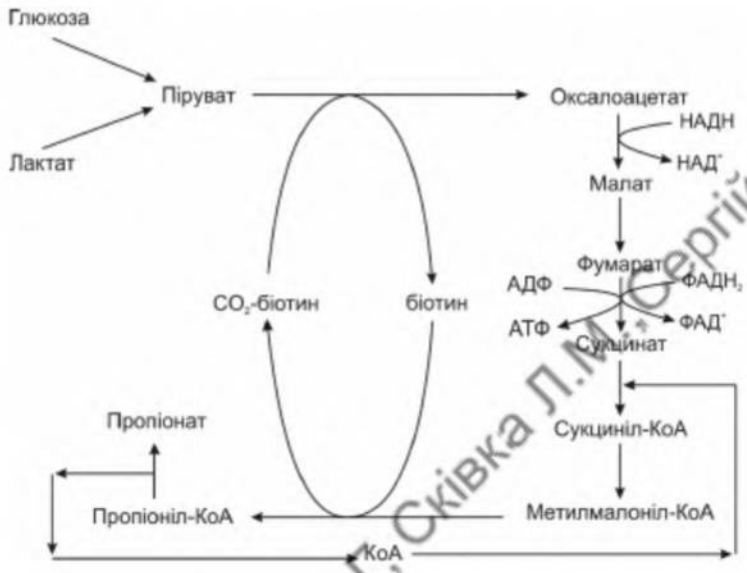


Рис. 5.51. Сукцинат-пропіонатний шлях (шлях метилмалоніл-КоА) утворення пропіонату

Рис. 5.52. Акрилатний шлях утворення пропіонату

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Відновлення лактату до пропіонату акрилатним шляхом відбувається спряжено з окисненням лактату до ацетату й CO_2. Ключовою реакцією цього шляху є дегідратація лактил-КоА до акриліл-КоА.

Пропіоновокислі бактерії містять гемовмісні ферменти, такі як цитохроми й каталаза. Вони можуть рости і за аеробних умов, але за низьких концентрацій кисню, тому їх відносять до мікроаеротолерантних бактерій.

Мурашинокисле (форміатне) бродіння — це анаеробний процес, характерний для ентеробактерій, важливим (але не головним) продуктом якого є мурашина кислота. Крім мурашиної утворюється також суміш органічних кислот (молочної, оцтової, бурштинової) та спиртів (етанолу, 2,3-бутандіолу). Співвідношення кінцевих продуктів залежить від роду бактерій. Бактерії родів *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* зброджують цукри до молочної, оцтової, бурштинової та мурашиної кислот, CO_2, етанолу, H_2. Бактерії родів *Enterobacter*, *Serratia*, *Erwinia* продукують менше кислот, але більше CO_2, етанолу, і, крім того, великі кількості 2,3-бутандіолу.

Розрізняють два типи мурашинокислого бродіння: *змішане* (рис. 5.53) і *бутандіолове* (рис. 5.54).

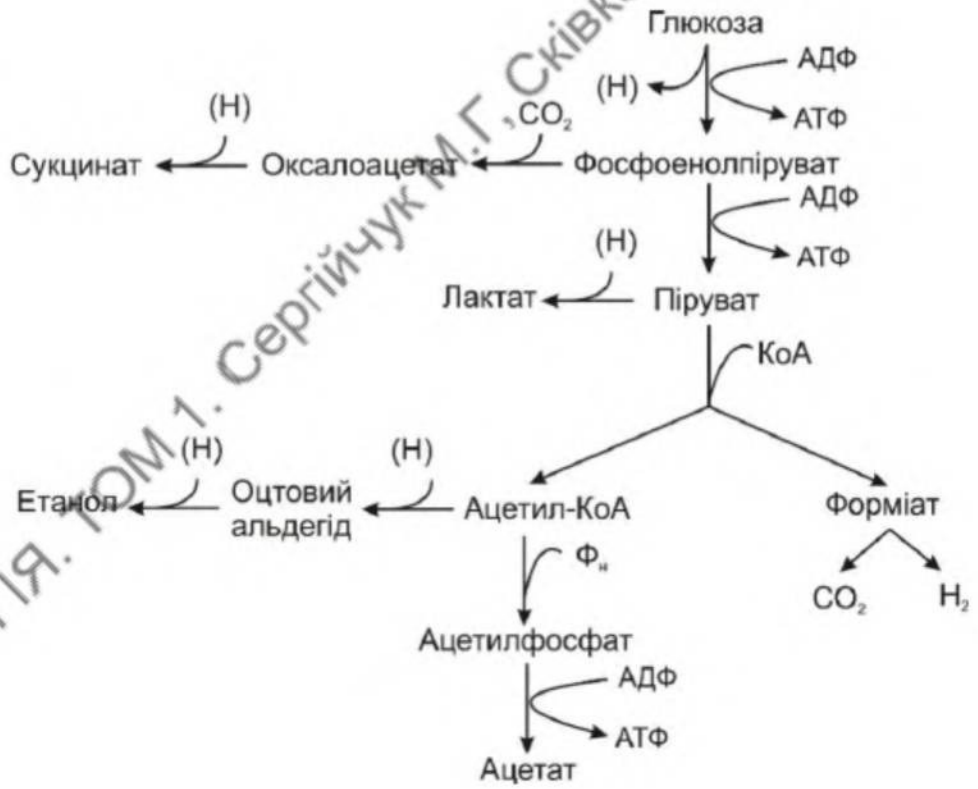


Рис. 5.53. Схема змішаного бродіння

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Савчук Т.М. та ін

За змішаного і бутандіолового типів бродіння ентеробактерії розщеплюють гексози гліколітичним шляхом. На рівні фосфоенолпірувату (ФЕП) за змішаного бродіння відгалужується шлях утворення сукцинату, решта продуктів утворюються з пірувату. Піруват метаболізується за участю трьох ферментних систем, кількість кінцевих продуктів залежить від їх активності:

1) лактат утворюється з пірувату за участю *лактатдегідрогенази*, особливо багато його накопичується в разі змішаного бродіння;

2) ацетил-КоА синтезується з пірувату за допомогою фермента *піруват-форміатліази* без відновлення $НАД^+$; за обох типів мурашинокислого бродіння ацетил-КоА у подальшому відновлюється до етанолу, а при змішаному через ацетилфосфат ще й перетворюється на ацетат з виділенням АТФ;

3) 2,3-бутандіол утворюється з пірувату за бутандіолового бродіння за допомогою *α-ацетолактатсинтетази*, активність якої зростає зі зниженням pH; так, у *Enterobacter aerogenes* підкислення середовища до 6,0 сприяє посиленому виділенню 2,3-бутандіолу і зменшенню синтезу органічних кислот.

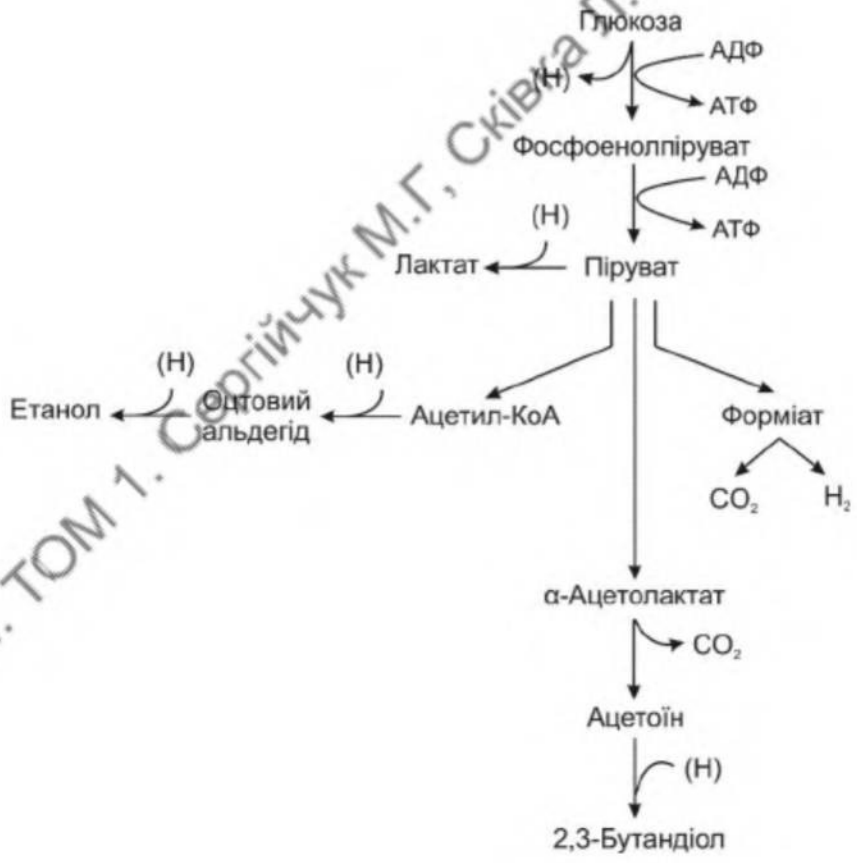


Рис. 5.54. Схема бутандіолового бродіння

Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін. МІКРОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1.

Форміат є типовим продуктом мурашинокислого бродіння. Бактерії родів *Shigella* та *Erwinia* накопичують значну його кількість у середовищі, інші представники ентеробактерій (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*) містять фермент *форміат-гідрогенліазу*, який розщеплює більшу частину мурашиної кислоти на CO_2 й H_2.

Енергетичний вихід за мурашинокислого бродіння складає 2–2,5 молекули АТФ на 1 молекулу глюкози. Крім 2 молекул АТФ, що виділяється при гліколізі, деяка кількість АТФ синтезується при утворенні ацетату з ацетилфосфату за участю ацетаткінази.

Маслянокисле та ацетонобутанолове бродіння — це анаеробний процес перетворення цукрів, внаслідок перебігу якого в середовищі можуть накопичуватися масляна кислота (бутират), ацетат, етанол, бутанол, ацетон, ізопропанол, CO_2, H_2. Здійснюють його представники бактерій роду *Clostridium*.

На рисунку 5.55 наведено загальну схему цього процесу. Шляхи перетворення глюкози і кінцеві продукти залежать від фізіологічних властивостей мікроорганізмів. Маслянокисле та ацетонобутанолове бродіння розглядають як окремі процеси.

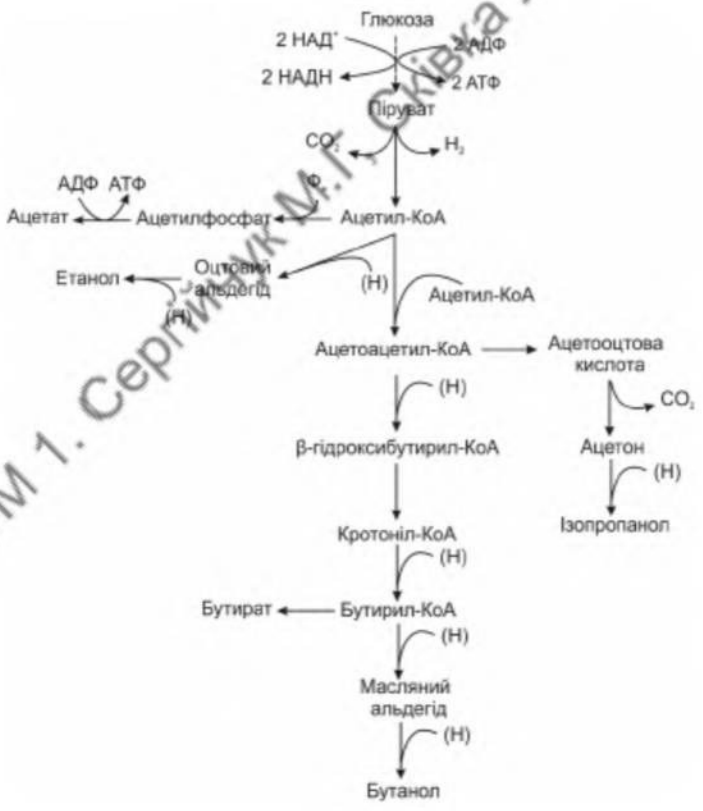


Рис. 5.55. Загальна схема зброджування глюкози клостридіями (маслянокисле та ацетонобутанолове бродіння)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Для поглинання цукрів клостридії використовують фосфотрансферазну систему, а потім гексозофосфати розщеплюють гліколітичним шляхом. Важливою реакцією такого бродіння є перетворення пірувату на ацетил-КоА з виділення молекулярного водню. Цю реакцію називають *фосфорокластичною*, вона здійснюється в кілька етапів.

1. Спочатку піруват декарбоксилується за участю ферментної системи піруват: фередоксин-оксидоредуктази, а двокарбоновий фрагмент, що залишився, зв'язується ферментом, який містить тіамінпірофосфат (ТПФ), що перетворюється на гідроксіетилтіамінпірофосфат (ГЕТПФ-Е):

$$\text{Піруват} + \text{ТПФ} \rightleftarrows \text{ГЕТПФ-Е} + CO_2$$

2. Далі утворюється ацетил-КоА й відновлюється фередоксин:

$$\text{ГЕТПФ-Е} + \text{Фередоксин} + \text{КоА} \rightleftarrows \text{ТПФ-Е} + \text{Ацетил-КоА} + \text{Фередоксин } H_2$$

3. Фередоксин (низькопотенціальний переносник із групи залізосірчаних білків) за допомогою гідрогенази переносить електрони на протони, які походять з води. Саме ці протони виконують роль акцепторів електронів у реакції, в результаті якої виділяється молекулярний водень (рис. 5.56)

Рис. 5.56. Утворення молекулярного водню при окисненні пірувату

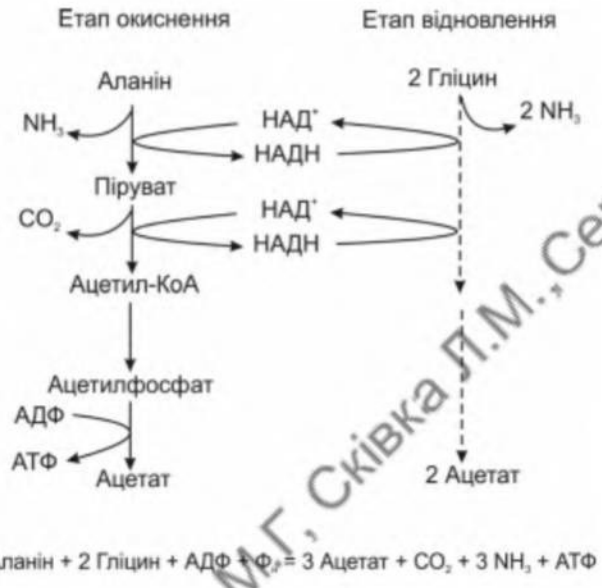
Ацетил-КоА, що виник при декарбоксилуванні пірувату, є проміжним продуктом синтезу ацетату й етанолу. Ацетат утворюється з ацетилфосфату виділенням АТФ, а етанол — внаслідок відновлення ацетил-КоА й оцтового альдегіду.

Масляна кислота, бутанол, ацетон, ізопропанол походять з ацетоацетил-КоА, що є продуктом конденсації двох молекул ацетил-КоА за участю тіолази. Ацетоацетил-КоА відновлюється НАДН до масляної кислоти й бутанолу. Крім того, ацетоацетил-КоА є попередником утворення ацетону та ізопропанолу.

Механізм зброджування амінокислот клостридіями відрізняється від механізму зброджування цукрів тим, що донори й акцептори електронів не утворюються із попереднього органічного субстрату. При зброджуванні амінокислот молекула однієї амінокислоти служує донором електронів, а молекула іншої — акцептором

Біологія. Том 1. Сергійчук М.Х., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

(реакція Стікланда, рис. 5.57), або дві молекули однієї і тієї ж амінокислоти є донором і акцептором електронів. Кінцевими продуктами зброджування амінокислот можуть бути аміак, CO_2, молекулярний водень та коротколанцюгові жирні кислоти, які зазвичай зберігають карбоновий скелет початкової амінокислоти. Енергія при цьому запасається внаслідок субстратного фосфорилювання.



Аланін + 2 Гліцин + АДФ + $Ф_і$ = 3 Ацетат + CO_2 + 3 NH_3 + АТФ

Рис. 5.57. Парне зброджування амінокислот за реакцією Стікланда

Процес зброджування амінокислот складається з кількох анаеробних окисно-відновних реакцій. Окисний етап включає реакції дезамінування, декарбоксилування і завжди супроводжується субстратним фосфорилуванням. Відновлення амінокислот — досить складна реакція. Відповідні ферменти зв'язані з мембраною і складаються з кількох білків. На цьому етапі бродіння АТФ практично ніколи не утворюється за винятком зброджування гліцину, коли субстратне фосфорилювання пов'язане з реакціями відновлення.

Синтрофне (вторинне) бродіння. В наслідок перебігу розглянутих вище класичних (*первинних*) бродильних процесів цукри, органічні кислоти, амінокислоти та гетероциклічні сполуки зброджуються до коротколанцюгових жирних кислот і спиртів. Жирні кислоти, які містять більш як два атоми Карбону (пропіонат, бутират), спирти (етанол, пропанол, 2,3-бутандіол), а також жирні кислоти з розгалуженими ланцюгами та ароматичні сполуки є субстратами для *вторинних бактерій-бродильників,* які ще називають *синтрофними*. Синтрофні бактерії — облігатні H^+-редуктори, тобто акцепторами електронів для них є протони. Внаслідок відновлення протонів утворюється молекулярний водень, а в результаті окиснення субстрату — ацетат, CO_2 та, можливо, фумарат.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Бутират розщеплюється за рівнянням:

$$\text{Бутират}^- + 2H_2O \rightarrow 2\ \text{Ацетат}^- + H^+ + 2H_2\uparrow$$

Схему цього процесу наведено на рис. 5.58.

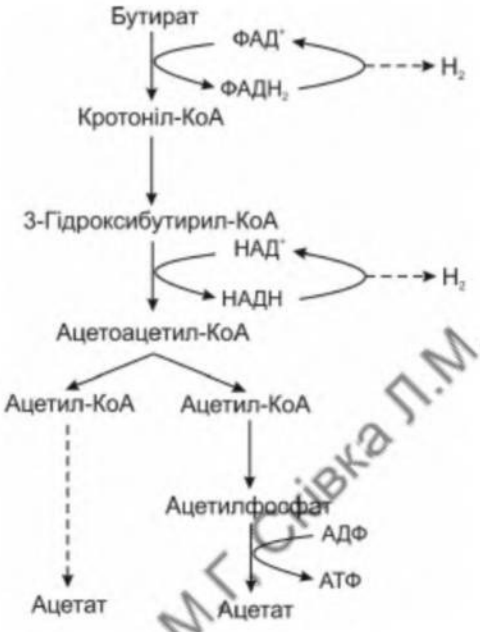


Рис. 5.58. Розщеплення бутирату культурою *Syntrophomonas wolfei* (молекулярний водень поглинається хемолітотрофами і в середовищі не накопичується)

Пропіонат розщеплюється згідно з рівнянням:

$$\text{Пропіонат}^- + 2H_2O \rightarrow \text{Ацетат}^- + CO_2 + 3H_2\uparrow.$$

Схему процесу ілюструє рис. 5.59.

Оскільки синтрофні бактерії використовують як донори електронів нижчі жирні кислоти (ОВП ≥ +320 мВ) і як акцептори електронів протони (ОВП = –420 мВ), ці процеси бродіння є ендергонічними. Однак за низького тиску H_2 (< 1 Па) вторинне бродіння стає енергетично вигідним і забезпечує синтез АТФ. Тому синтрофні бактерії у природі існують лише в *синтрофних асоціаціях* із літотофними мікроорганізмами, які поглинають молекулярний водень (метаногенами, хемолітотрофними сульфатредукторами, фототрофними зеленими сіркобактеріями, гомоацетогенами). Перенесення молекулярного водню від синтрофних бактерій до бактерій, які його поглинають, можливе лише за умови прямого контакту між клітинами різних видів. Завдяки цьому газ у середовище не виділяється. Даний феномен отримав назву *міжвидового перенесення водню*.

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

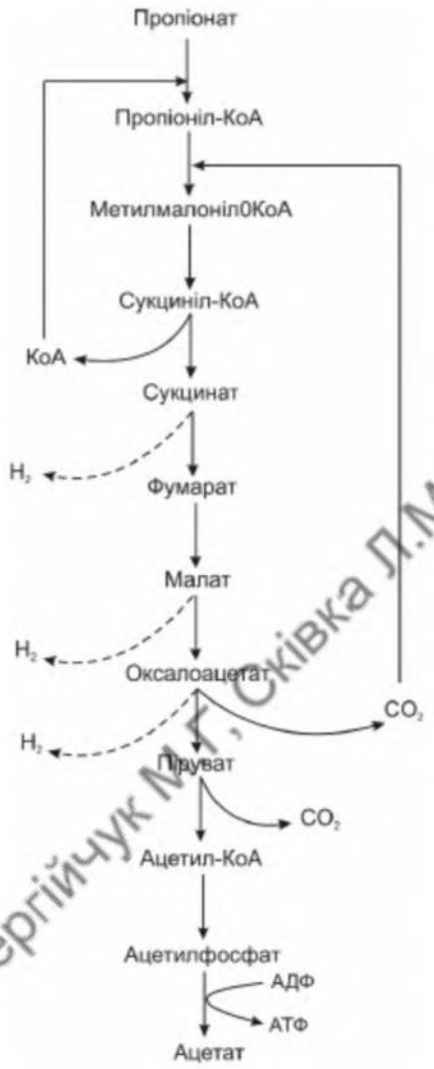


Рис. 5.59. Окиснення пропіонату синтрофними бактеріями(молекулярний водень поглинається хемолітотрофами і в середовищі не накопичується)

Синтрофія (синтроф — у перекладі з грец.— годувати разом) — це особливий тип симбіотичної взаємодії між двома різними типами бактерій, які з енергетичних причин залежать один від одного при розщепленні певного субстрату.

Представниками синтрофних бактерій є *Thermoanaerobium brockii*, *Pelobacter venetianus*, *P. acetylenicus*, *P. carbinolicus* (окиснюють етанол, пропанол, ацетилен, 2,3-бутандіол); *Syntrophomonas wolfei*, *S. sapovorans*, *Syntrophospora bryantii* (окиснюють жирні кислоти C_4 — C_{11}), *Syntrophobacter wolinii, S. pfennigii* (окиснюють пропіонат, піруват), *Clostridium ultunense* (окиснюють ацетат, етанол, етилен-

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

гліколь, форміат), *Syntrophobotulus glycolicus* (окиснюють гліколят, гліоксилат), *Syntrophus buswellii*, *S. gentianae* (окиснюють бензоат, кротонат).

5.7. Анаеробне дихання

Анаеробне дихання — це процес окиснення органічних та неорганічних субстратів, при якому термінальними акцепторами електронів є:

- неорганічні речовини: окиснені аніони — SO_4^{2-}, SO_3^{2-}, NO_3^-, NO_2^-; сполуки в окисненому стані — S, CO_2; катіони металів в окисненому стані — Fe(III), Mn(IV); кисневмісні аніони металів — селенати, арсенати; радіонукліди — U(VI), Tc(VII).
- обмежена кількість органічних сполук: сульфуровмісні (диметилсульфоксид), органічні оксиди Нітрогену (триметиламіноксид), фумарат, галогеновмісні (3-хлорбензойна кислота, тетрахлоретан).

Залежно від природи термінального акцептора електронів, анаеробне дихання буває нітратним, сульфатним, сірковим, залізним, фумаратним, вуглецевим тощо.

Розрізняють два типи анаеробного дихання:

1) за участю акцепторів із позитивним (високим) окисно-відновним потенціалом (нітрати, нітрити, Fe^{3+}, фумарат, диметилсульфоксид, оксиди Нітрогену); таке дихання характерне для факультативних анаеробів, конкурує з аеробним і пригнічується молекулярним киснем.

2) за участю акцепторів із негативним (низьким) окисно-відновним потенціалом (елементарна сірка, сульфати, карбонати); таке дихання виявлено лише в облігатних анаеробів.

Найважливіші акцептори електронів і їх стандартні окисно-відновні потенціали за pH 7,0 ($E^{0'}$) наведено у таблиці 5.9.

Значення ОВП термінального акцептора електронів визначає місце виходу електрона з дихального ланцюга, й отже, кількість АТФ, що утворюється в результаті окисного фосфорилування. Чим вище значення ОВП акцептора, тим більше енергії отримує мікроорганізм внаслідок дихання. У природних умовах, де зазвичай одночасно є кілька можливих акцепторів електронів, факультативні анаероби спочатку використовують найвигідніші з них — із найвищими значеннями ОВП, облігатні — лише низькопотенціальні акцептори. Послідовність використання різних акцепторів електронів у кожного мікроорганізму детермінована генетично і контролюється складними регуляторними механізмами.

***Нітратне дихання* (*дисиміляційна нітратредукція*)** — це процес використання факультативно анаеробними мікроорганізмами нітрату (NO_3^-) як термінального акцептора електронів за анаеробного дихання. Оскільки нітрат в результаті відновлюється, нітратне дихання називають *дисиміляційною нітратредукцією*, а мікроорганізми, що здійснюють цей процес, *нітратредукторами*.

Біологія. Ромм І., Совгірчук М., Сухка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Таблиця 5.9.

Стандартні окисно-відновні потенціали (E_0') при pH 7,0 можливих акцепторів електронів при диханні

Окисно-відновна пара	E_0', В
HCO_3^- / HCO_2^-	-0,41
H^+ / H_2	-0,42
HCO_3^- / ацетат	-0,35
HCO_3^- / CH_4	-0,33
S^0 /HS^-	-0,27
HSO_3^- / HS^-	-0,12
SeO_4^{2-} / SeO_3^{2-}	+0,02
Фумарат / сукцинат	+0,03
Триметиламіноксид / триметиламін	+0,13
Диметилсульфоксид / диметилсульфід	+0,16
NO_2^- / NH_4^+	+0,34
NO_2^- / NO	+0,35
NO_3^- / NO_2^-	+0,43
Fe^{3+} / Fe^{2+}	+0,77
O_2 / H_2O	+0,82

Таблиця 5.10.

Ступені окиснення ключових сполук Нітрогену

Сполука	Ступінь окиснення
Амоній (NH_4^+)	-3
Аміак (NH_3) — газ	-3
Молекулярний азот (N_2) — газ	0
Закис азоту, геміоксид азоту (N_2O) — газ	+1 (середній)
Оксид азоту (NO) — газ	+2
Нітрит (NO_2^-)	+3
Нітрат (NO_3^-)	+5

Субстратами або донорами електронів при нітратному диханні є різноманітні органічні речовини (глюкоза, етанол, сукцинат, бензоат) і низка неорганічних (молекулярний водень, відновлені сполуки Сульфуру), тобто нітратредуктори можуть бути хемоорганотрофами (*Pseudomonas aeruginosa*), хемолітотрофами (*Hydrogenomonas agilis, Thiobacillus denitrificans*) та міксотро-

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

фами (*Micrococcus denitrificans*). Механізм окиснення органічних субстратів при цьому, як правило, не різниться від механізмів, що мають місце за аеробних умов, тому частину АТФ нітратредуктори отримують у результаті субстратного фосфорилування.

Відновлення нітратного Нітрогену супроводжується зміною ступеня його окиснення та утворенням ряду проміжних продуктів, наведених у таблиці 5.10.

За нітратного дихання бактерії відновлюють нітрат двома шляхами (рис. 5.60):

1. Через нітрит до газоподібних продуктів NO, N_2O, N_2. Оскільки середовище при цьому позбавляється Нітрогену, процес називають *денітрифікацією*. Денітрифікація — поширене явище, характерне для представників понад 40 видів бактерій: *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. stutzeri*), *Thauera*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Hyphomicrobium*, *Thiobacillus* (*T. denitrificans*), *Bacillus* та багатьох інших.

2. Через нітрит до амонію. Цей процес дістав назву *дисиміляційної* (*дихальної*) *амоніфікації*. Характерний для низки бацил, ентеробактерій, стрептококів. На відміну від *асиміляційної амоніфікації* — енергозатратного відновлення нітрату до амонію з метою включення останнього у біосинтез, дисиміляційна амоніфікація відбувається з утворенням АТФ внаслідок окисного фосфорилювання. У багатьох мікроорганізмів процес дисиміляційної амоніфікації може затримуватися на стадії утворення нітриту до повного вичерпання запасу нітрату. Нітрит накопичується у середовищі або з часом відновлюється далі до амонію. Це характерно для *Escherichia coli*.

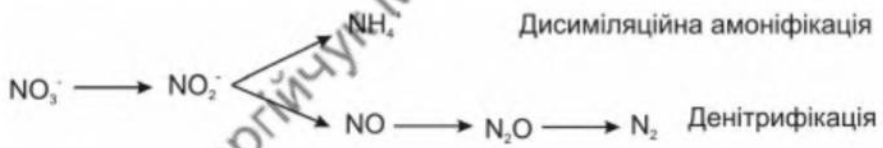


Рис. 5.60. Два шляхи відновлення нітрату бактеріями за нітратного дихання

Ферменти, що каталізують обидва шляхи відновлення нітрату, синтезуються лише за його наявності в середовищі й анаеробних умов. Молекулярний кисень сильно інгібує активність ферментів, які беруть участь у дисиміляційній нітратредукції.

Окисне фосфорилювання за нітратного дихання можна розділити на кілька складових:

1. Відновлення нітрату до нітриту (цей етап спільний для асиміляційної амоніфікації й денітрифікації).
2. Відновлення нітриту до амонію (асиміляційна амоніфікація).
3. Відновлення нітриту до газоподібних продуктів (денітрифікація).

Відновлення нітрату до нітриту здійснюється згідно з рівнянням:

$$NO_3^- + 2e^- + 2H^+ \rightarrow NO_2^- + H_2O.$$

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М. І., Скакальська І. І., Сергійчук Т. М. та ін.

Нітрат відновлюється до нітриту на дихальному ланцюзі за рахунок НАДН, що утворився під час окиснення глюкози за гліколіза. Процес каталізується ферментом *дисиміляційною нітратредуктазою*. У бактерій існує два типи дисиміляційних нітратредуктаз: NAR і NAP.

NAR з'єднана з цитоплазматичною мембраною з боку цитоплазми і функціонує за наявності у середовищі достатньої кількості нітрату. NAR — це ферментний комплекс (часом позначають як NarGHI), що складається з трьох субодиниць: NarI, NarH, NarG (рис. 5.61).

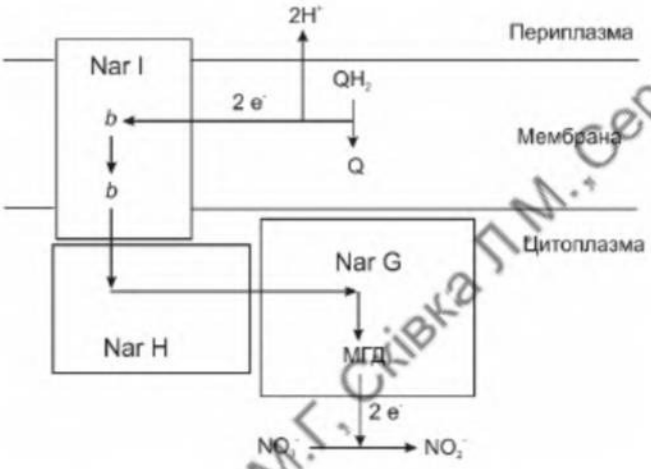


Рис. 5.61. Структура і функції нітратредуктази (Q — убіхінон; NarI, NarH, NarG — субодиниці нітратредуктази; *b* — цитохром *b*, МГД — молібдоптерингуаніндинуклеотид)

Фермент NarI — це мультигемовий цитохром *b*, який містить два геми. Він приймає електрони від хінону (убіхінону чи менахінону) і переносить їх далі на мембранний білок Nar H. Протони при цьому виходять у периплазму, що приводить до виникнення трансмембранного електрохімічного протонного потенціалу. Білок NarH містить чотири Fe-S-кластери. Його функція — перенесення електронів із NarI на NarG. Білок NarG складається з Fe-S-кластера і молібденвмісного кофактора — *молібдоптерингуаніндинуклеотида* (МГД). Власне на МГД і відбувається відновлення нітрату до нітриту (рис. 5.62):

- оксо-група окисненого Mo(VI) при відновленні кофактора до Mo(IV) втрачає воду;
- нітрат приєднується до відновленого кофактора, приймає від нього електрони і відновлюється до нітриту;
- Mo(IV) при цьому окиснюється до Mo(VI).

Нітрат відновлюється до нітриту в цитоплазмі, тому в клітині діють спеціальні механізми транспорту нітрату всередину і швидкого винесення токсичного нітриту за межі клітини.

БІОЛОГІЯ (ЕКОЛОГІЯ) Сергійчук Т.М., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Інший тип дисиміляційної нітратредуктази NAP функціонує у клітині при недостатній кількості нітрату в середовищі. Вона локалізована у периплазмі і складається з двох субодиниць.

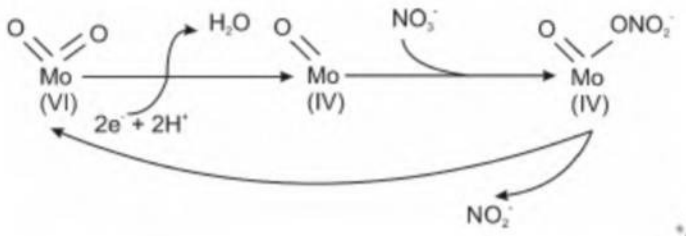


Рис. 5.62. Механізм дії МГД-кофактора нітратредуктази Nar

Відновлення нітриту до амонію (*дисиміляційна амоніфікація*) здійснюється за рівнянням:

$$NO_2^- + 3НАД(Ф)Н + 5H^+ \rightarrow NH_4^+ + 3НАД(Ф)^+ + 2H_2O$$

у три етапи. На кожному етапі на акцептор переноситься два електрони, а проміжні продукти залишаються зв'язаними з ферментами:

1) HNO_2 (N^{+3}) спочатку відновлюється до HNO (N^{+1});

2) HNO (N^{+1}) відновлюється до NH_2OH (N^{-1});

3) NH_2OH (N^{-1}) відновлюється до NH_4^+ (N^{-3}).

Каталізатором цього процесу є комплекс локалізованих у периплазмі або зв'язаних із мембраною ферментів, що називаються *дисиміляційними нітритредуктазами*. Нітритредуктаз є кілька типів. Цей складний фермент може приймати електрони з НАДН-дегідрогенази та з відновленого хінону. Відновлення нітриту пов'язане з генерацією протонорушійної сили (Δp), однак механізм дії протонного насосу не вивчений. Незважаючи на те, що при відновленні нітриту до амонію виникає градієнт протонів, АТФ практично не синтезується. Річ у тім, що нітрит — токсична для клітини сполука. Відразу після відновлення нітрату нітрит виноситься з цитоплазми у периплазму за допомогою нітрит/протонового антипорту. Тому градієнт протонів використовується клітиною не на синтез АТФ, а на видалення нітриту. Нітрит відновлюється до амонію у периплазмі.

Відновлення нітриту при денітрифікації відбувається з утворенням низки проміжних газоподібних продуктів:

$NO_2^- + e^- + 2H^+ \rightarrow NO + H_2O$ (фермент — NO-утворювальна нітритредуктаза)

$2NO + 2e^- + 2H^+ \rightarrow N_2O + H_2O$ (фермент — NO-редуктаза)

$N_2O + 2e^- + 2H^+ \rightarrow N_2 + H_2O$ (фермент — N_2O-редуктаза)

Деякі денітрифікатори відновлюють нітрит до N_2 повністю, інші — не використовують нітрит, а відновлюють до молекулярного азоту NO або N_2O, є такі, що можуть відновлювати нітрит до NO, а N_2O — до N_2, але не відновлюють NO до N_2O.

БІОЛОГІЯ Том 1. Серійчук М.Т., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Відновлення нітриту до NO каталізується периплазматичною NO-утворювальною нітритредуктазою. Відомо дві форми цього ферменту, які одночасно не трапляються в одних і тих же клітинах:

- 75% денітрифікаторів містять тетрагемовий цитохром cd_1;
- 25% бактерій містять нітритредуктазу, до складу якої входить мідь.

Обидві ці форми ферменту отримують електрони з хінонів, при цьому відбувається транслокація протонів із цитоплазми.

NO відновлюється до N_2O за допомогою NO-редуктази, яку називають NOR. Це комплекс цитохромів *bc*, що формується лише за анаеробних умов і розміщений на периплазматичному боці цитоплазматичної мембрани. На цьому етапі денітрифікації протони не виносяться з клітини, а виникає N–N–зв'язок.

Відновлення N_2O до N_2 включає утворення потрійного зв'язку N≡N. Це енергетично вигідний процес, який приводить до винесення протонів. Усі типи ферменту N_2O-редуктази локалізовані в цитоплазматичній мембрані і містять мідь, а деякі також і унікальний Cu/S-центр.

Загальну схему метаболізму факультативно анаеробних бактерій, що здійснюють денітрифікацію, наведено на рис. 5.63

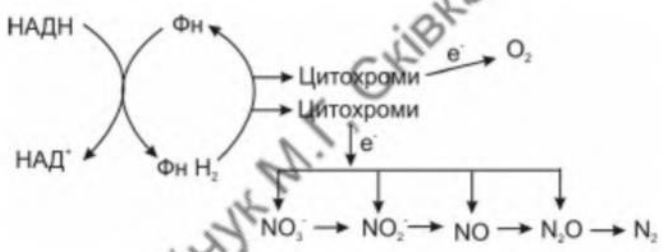


Рис. 5.63. Потік електронів за аеробного дихання та денітрифікації (Фн — флавопротеїн)

***Анаеробне окиснення амонію* (*Анамокс*)** (Anoxic (anaerobic) ammonium oxidation — ANAMMOX) — це процес мікробного перетворення амонію та нітриту у молекулярний азот за анаеробних умов. Вперше цей процес анамокс був описаний у 1992 році.

Бактерії, що здійснюють анаеробне окиснення амонію, були віднесені до порядку *Planctomycetales*, їх ідентифікують як нову розгалужену групу планктоміцетів, до якої належать роди: *Brocadia, Kuenenia* та *Scalindua*. Перші два роди виявлені у стічних водах, а *Scalindua* — багатьох морських екосистемах, серед яких і Чорне море.

Анамокс-бактерії — дуже цікава група з багатьма рідкісними властивостями. В них у клітинній стінці відсутній пептидоглікан, вони розмножуються брунькуванням і мають цитоплазму, розділену на сегменти мембранними перегородками. Сегменти виконують різні клітинні функції. Схоже, що ці найдревніші мікроорганізми знаходяться при корені еволюційного дерева. Інші види

БІОЛОГІЯ: Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

планктоміцетів — аеробні хемоорганогетеротрофи, вони дуже відрізняються від анамокс-бактерій, які є анаеробними хемолітоавтотрофами.

Метаболізм анамокс-бактерій ґрунтується на отриманні енергії внаслідок анаеробного окиснення амонію й відновлення нітриту як акцептора електронів через такі проміжні продукти, як гідразин (N_2H_4) і гідроксиламін (NH_2OH). CO_2 при цьому слугує для бактерій основним джерелом Карбону.

Загальне рівняння процесу:

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O.$$

Схему анаеробного окиснення амонію наведено на рис. 5.64.

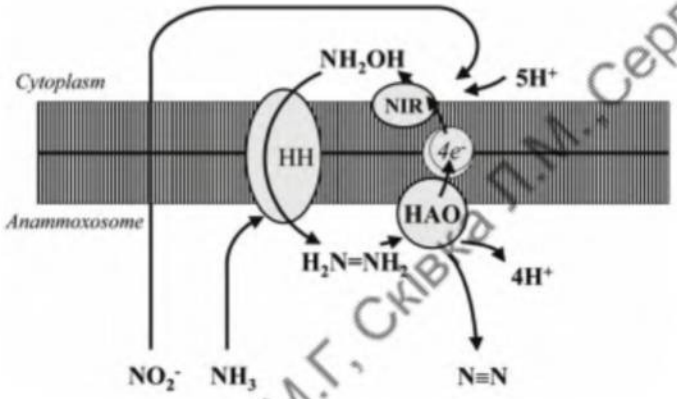


Рис. 5.64. Схема анаеробного окиснення амонію *Brocadia anammoxidans*. Позначення: HAO — гідроксиламіноксидоредуктаза (окиснює гідрозин до газоподібного молекулярного азоту і чотирьох електронів); NIR — нітритредуктаза (використовує ці чотири електрони для відновлення нітриту до рівня гідроксиламіну); гідроксиламін і амоній перетворюються на гідразин за допомогою гідрозингідролази (HH) [https://www. researchgate. net]

Одним із ключових ферментів анаеробного окиснення амонію є *гідроксиламіноксидоредуктаза.* Важливість цього ферменту підтверджується тим, що його вміст становить 10 % від усіх білків клітини. Він каталізує окиснення і гідразину, і гідроксиламіну. Гідроксиламіноксидоредуктаза міститься виключно в органелоподібній зв'язаній із мембраною структурі, яка є в цитоплазмі клітин анамокс-бактерій. Цю органелу називають *анамоксосомою*, вона займає понад 30 % об'єму клітини (рис. 5.65).

Анамоксосоми — це центри анаеробного окиснення амонію. Вони оточені надзвичайно щільною подвійною мембраною, яка містить гопаноїди і унікальні ладеральні ліпіди: зчеплені 4-членні аліфатичні циклобутанові кільця, які щільно упаковані разом. Механізм синтезу цих ліпідних залишків невідомий. Класичні мікробні мембранні ліпіди містять 3-, 5-, 6-, і навіть 7-членні аліфатичні кільця, але 4-членні аліфатичні циклобутанові кільця досі ще не були відомі. Вперше

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сєвєрін М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

їх виявили в анамокс-бактерій. З погляду еволюції цікаво зазначити, що нині фрагменти таких ліпідів містить лише невелика кількість бактерій (термофіли і сульфатредуктори). Ці ліпіди можуть слугувати маркерами при виявленні анамокс-бактерій у довкіллі.

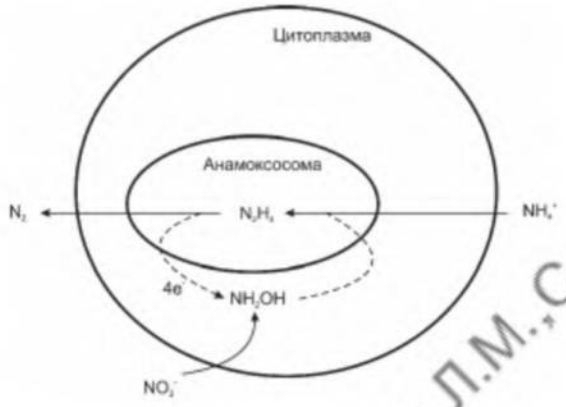


Рис. 5.65. Будова клітини анамокс-бактерії

Мембрани з латеральними ліпідами малопроникні для хімічних сполук і здатні утримувати градієнт їх концентрації протягом тривалого часу. Це захищає інші частини клітини від токсичних інтермедіатів — гідроксиламіну та гідразину і запобігає даремній втраті цих метаболітів впродовж дуже повільних процесів анамокс метаболізму.

***Сульфатне дихання* (*дисиміляційна сульфатредукція*)** — це процес використання облігатними анаеробними бактеріями сульфату (SO_4^{2-}) як термінального акцептора електронів за анаеробного дихання.

Здатність до сульфатредукції виявлено у мікроорганізмів чотирьох неспоріднених груп:

1. Найбільша з них належить до γ-підгрупи класу протеобактерій і обіймає роди *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfosarcina*, *Desulfococcus*, *Desulfonema* та інші.
2. Грампозитивні бактерії роду *Desulfotomaculum*.
3. Грамнегативні бактерії роду *Thermodesulfobacterium*.
4. Археї роду *Archaeglobus*.

Сульфатредуктори можуть мати хемоорганогетеротрофний і хемолітоавтотрофний типи метаболізму. Донорами електронів для них є молекулярний водень, форміат, ацетат, лактат, фумарат, сукцинат, пропіонат, жирні кислоти (C_4—C_{20}), метанол, етанол, пропанол. Деякі сульфатредуктори також здатні рости на аланіні, глутаматі, холіні, гліцерині, фруктозі, нікотиновій кислоті, індолі, вуглеводнях (переважно C_{16}, але не на CH_4), крохмалі, пептидах, бензоаті, феніл ацетаті, фенолі.

БІОЛОГІЯ. Ю.І. Сергійчук М.Г. Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Автотрофну асиміляцію вуглекислого газу сульфатредуктори здійснюють *відновлювальним шляхом ацетил-КоА* (див. рис. 5.34).

За карбоновим обміном сульфатредуктори поділяють на дві групи (таблиця 5.11):

1) ті, що нездатні окиснювати ацетил-КоА (вони окиснюють органічні сполуки лише до ацетату й не використовують ацетат як джерело електронів і Карбону —«неповні окиснювачі»);
2) ті, що окиснюють ацетил-КоА й, отже, розкладають органічні сполуки повністю до CO_2 (такі бактерії здатні рости на ацетаті).

Таблиця 5.11.

Розподіл сульфатредукторів за карбоновим метаболізмом

Сульфатредуктори, що окиснюють органічні сполуки лише до ацетату	Сульфатредуктори, що окиснюють органічні сполуки до CO_2
Desulfovibrio	*Desulfobacter*
Desulfomicrobium	*Desulfobacterium*
Desulfomonile	*Desulfococcus*
Desulfobotulus	*Desulfonema*
Desulfomonas	*Desulfurella*
Desulfotomaculum (деякі)	*Desulfosarcina*
Desulfobulbus	*Desulfuromonas*
Thermodesulfobacterium	*Desulfoarculus*
Archaeglobus	*Desulfotomaculum* (деякі)

Сульфатредуктори, здатні до повного окиснення субстратів, а також до росту на ацетаті, розщеплюють ацетил-КоА двома способами:

1) окисним шляхом ацетил-КоА (окисним шляхом Люнгдаля—Вуда: рис. 5.66);
2) за модифікованим циклом Кребса (рис. 5.67).

Модифікований цикл Кребса (рис. 5.67, Б), за яким сульфатредуктори розщеплюють ацетат, різниться від класичного наявністю фермента сукциніл-КоА: ацетил-КоА-трансферази, за допомогою якого ацетат перетворюється на ацетил-КоА без участі АТФ:

$$\text{Сукциніл-КоА}^- + \text{Ацетат}^- \rightarrow \text{Сукцинат}^{2-} + \text{Ацетил-КоА}.$$

Види *Desulfobacter* містять також додатковий фермент — АТФ-залежну цитратліазу. В каталізованій нею реакції, ацетил-КоА через ацетилфосфат перетворюється на цитрат. При цьому синтезується 1 молекула АТФ:

$$\text{Ацетил-КоА} + \text{ЩОК}^{2-} + \text{АДФ} + HPO_4^{2-} \rightarrow \text{Цитрат}^{3-} + \text{КоАSH} + \text{АТФ}.$$

Акцепторами електронів за сульфатного дихання є сульфат (SO_4^{2-}), а також окиснені сполуки Сульфуру — тіосульфат ($S_2O_3^{2-}$), тетратіонат ($S_4O_6^{2-}$), сульфіт (SO_3^{2-}). Деякі види сульфатредукторів, наприклад *Desulfovibrio gigas*, *Desulfovibrio multispirans*, *Desulfuromicrobium baculatum*, можуть відновлювати і молекулярну сірку (S^0). Кінцевим продуктом відновлення цих сполук є сульфід (S^{2-}), який виділяється з клітини у довкілля.

ОБІОЛОГІЯ ТОМ І Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

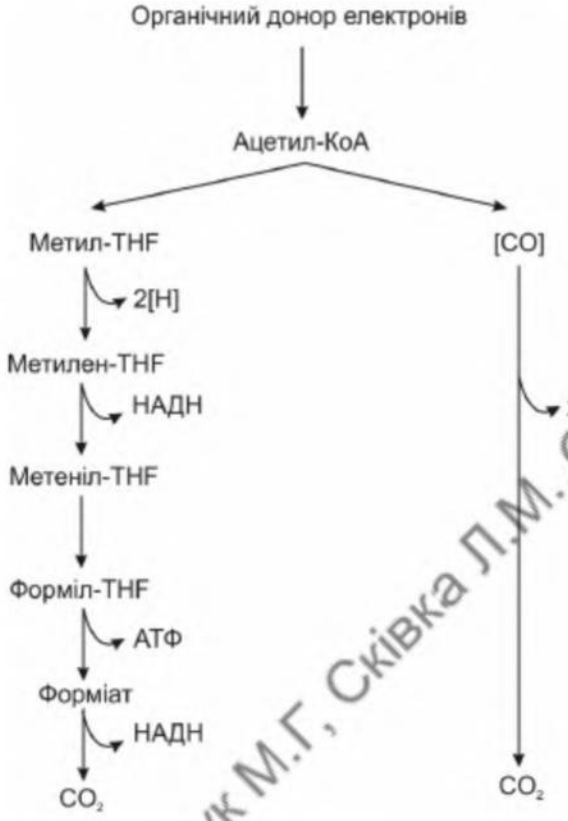


Рис. 5.66. Окиснення ацетил-КоА сульфатредукторами (окисний шлях ацетил-КоА, окисний шлях Люнгдаля — Вуда): THF — тетрагідрофолієва кислота

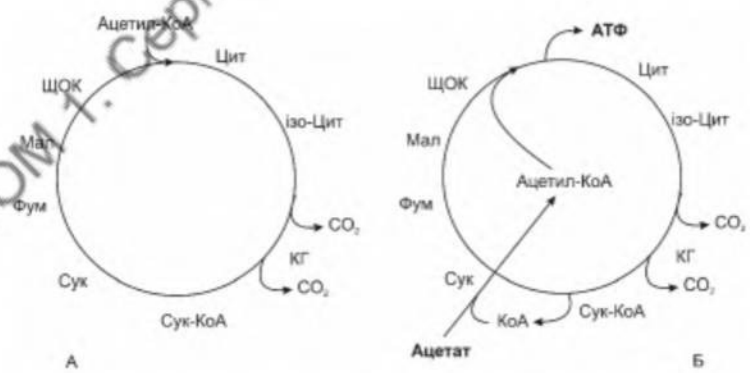


Рис. 5.67. Утилізація ацетату сульфатредукторами за допомогою модифікованого циклу Кребса (А — звичайний цикл Кребса; Б — модифікований цикл Кребса; ЩОК — щавлево-оцтова кислота; Цит — цитрат; ізо-Цит — ізо-цитрат; КГ — α-кетоглутарова кислота; Сук — сукцинат; Фум — фумарат; Мал — малат)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

У таблиці 5.12. наведено деякі проміжні продукти сульфатредукції та їх ступені окиснення.

Таблиця 5.12.

Ступені окиснення ключових сполук Сульфуру

Сполука	Ступінь окиснення
Органічні сполуки Сульфуру	-2
Гідроген сульфід (H_2S)	-2
Елементарна сірка S^0	0
Тіосульфат ($S_2O_3^{2-}$)	+2 (середній для S)
Тетратіонат ($S_4O_6^{2-}$)	+2 (середній для S)
Сульфуру діоксид (SO_2)	+4
Сульфіт (SO_3^{2-})	+4
Сульфуру триоксид (SO_3)	+6
Сульфат (SO_4^{2-})	+6

Залежно від pH середовища сульфід може перебувати в таких формах:

- за низьких значень pH — H_2S — газ гідроген сульфід, має низьку розчинність у воді і тому леткий;
- за нейтральних значень pH — HS^-;
- за високих значень pH — S^{2-}.

Дві форми сульфіду добре розчинні у воді. При контакті з важкими металами вони утворюють нерозчинні солі темного забарвлення, наприклад, FeS, PbS, Cu S.

Усі етапи відновлення сульфату відбуваються в цитоплазмі. Іони SO_4^{2-} надходять у клітину внаслідок симпорту з H^+ або Na^+. На транспортування 1 моль сульфату витрачається близько ⅓ моль АТФ, однак ця кількість залежить від концентрації акцептора у довкіллі.

Дисиміляційне відновлення сульфату до сульфіду в клітині можна описати так:

1) АТФ + SO_4^{2-} → АФС + $ФФ_н$ (АТФ-сульфурилаза);
2) АФС + $2e^-$ → АМФ + HSO_3^- (АФС-редуктаза);
3) HSO_3^- + $7H^+$ + $6e^-$ → H_2S + $3H_2O$ (сульфітредуктази).

На першому етапі відбувається ендергонічна реакція. Оскільки ОВП реакції SO_4^{2-}/SO_3^- занадто низький (E_0' = –516 мВ), сульфат спочатку активується за допомогою АТФ з утворенням аденозинфосфосульфату (АФС) (див. рис. 5.68), ОВП якого значно вищий (E_0' = –60 мВ). Реакцію каталізує фермент АТФ-сульфурилаза. Від АТФ відщеплюється неорганічний пірофосфат ($ФФ_н$).

На другому етапі АФС перетворюється на гідросульфіт та АМФ за допомогою ферменту АФС-редуктази. Два необхідні для цього електрони надходять із $ФАДН_2$.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

На третьому етапі проходять реакції відновлення сульфіту (гідросульфіту) до сульфіду. Вони потребують 6 електронів і каталізуються ферментами сульфітредуктазами. У сульфатредукторів виявлено чотири типи сульфітредуктаз: десульфовіридини, десульфорубідин, десульфофусцидин і фермент Р–582, схожий на цитохром *р*. Відомо дві моделі цього процесу:

1) безпосереднє шестиелектронне відновлення сульфіту без проміжних продуктів;
2) тритіонатний шлях (рис. 5.68) відновлення сульфіту з утворенням таких проміжних продукті, як тритіонат ($S_3O_6^{2-}$) і тіосульфат ($S_2O_3^{2-}$).

Тритіонатний шлях описується трьома реакціями:

1) $3HSO_3^- + 2e^- + 3H^+ \rightarrow {}^-O_3S–S–SO_3^- + 3H_2O$;
2) ${}^-O_3S–S–SO_3^- + 2e^- + H^+ \rightarrow {}^-S–SO_3^- + HSO_3^-$;
3) ${}^-S–SO_3^- + 2e^- + 3H^+ \rightarrow HSO_3^- + H_2S$.

Баланс: $HSO_3^- + 6e^- + 7H^+ \rightarrow H_2S + 3H_2O$.

Спочатку у реакції беруть участь три гідросульфіт-іони, які після приєднання двох електронів перетворюються на тритіонат, останній відновлюється до тіосульфату, і нарешті — до сульфіду. На другому і третьому етапах відбувається регенерація сульфітних груп.

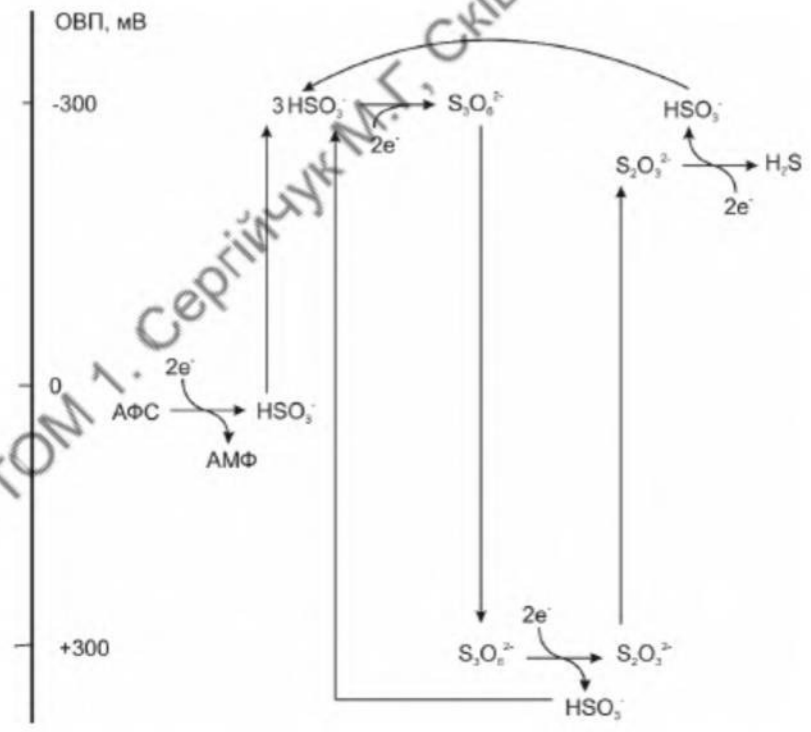


Рис. 5.68. Тритіонатний шлях відновлення аденозинфосфосульфату та сульфіту сульфатредукуючими бактеріями (АФС — аденозинфосфосульфат)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Неорганічний пірофосфат ($ФФ_н$), що вивільнюється при утворенні АФС, може розщеплюватися у сульфатредукторів двома способами:

1) Desulfovibrio гідролізує його під дією *неорганічної пірофосфатази* без акумулювання енергії — $ФФ_н + H_2O \rightarrow 2Ф_н$;

2) Desulfotomaculum неорганічний пірофосфат розщеплює через ацетил фосфат з утворенням АТФ, каталізує цю реакцію фермент *ацетатпірофосфаткіназа*:

Ацетат + ФФн → Ацетилфосфат + $Ф_н$;

Ацетилфосфат + АДФ → Ацетат + АТФ.

Дисмутація (диспропорціонування) сульфуровмісних сполук сульфатредукувальними бактеріями. Деякі сульфатредуктори мають унікальний енергетичний метаболізм, який зветься *диспропорціонуванням* або *дисмутацією сульфіту й тіосульфату*. Цей процес можна розглядати як неорганічне бродіння. Термін диспропорціонування означає розщеплення сполуки на два компоненти, один з яких більш окиснений, а другий — більш відновлений порівняно з вихідною сполукою. Розглянемо цей процес на прикладі диспропорціонування тіосульфату *Desulfovibrio sulfodismutans*. Тіосульфат ($S_2O_3^{2-}$) містить два атоми Сульфуру, сумарний ступінь окиснення яких становить 2+. Один атом Сульфуру бактерія використовує як донор електронів, а інший — як акцептор:

$S^{2+} - 4e^- \rightarrow SO_4^{2-}$ (реакція окиснення Сульфуру тіосульфату до сульфату);

$S^{2+} + 4e^- \rightarrow S^{2-}$ (реакція відновлення Сульфуру тіосульфату до сульфіду).

Сумарне рівняння: $S_2O_3^{2-} + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + H_2S$; $\Delta G^{0'} = -27{,}6$ кДж /моль.

Сульфатредуктори можуть диспропорціонувати і сульфіт:

$$4SO_3^{2-} + H_2O \rightarrow 3SO_4^{2-} + H_2S,\ \Delta G^{0'} = -241{,}3 \text{ кДж /моль.}$$

Оскільки донором електронів є неорганічна сполука, цей процес можна розглядати як тип літотрофії. За таких умов мікроорганізми можуть рости за незначної кількості органічних сполук у середовищі або навіть автотрофно, використовуючи лише енергію реакції диспропорціонування.

Процеси утворення АТФ сульфатредукторами наразі повністю не вивчені. Відомо тільки, що вони здійснюють субстратне й окисне фосфорилування.

Дихальний ланцюг сульфатредукторів має низку особливостей. Для нього характерна наявність різноманітних низько- й високо потенційних переносників, таких як фередоксини ($E_0' = -130 \ldots -440$ мВ), флаводоксини ($E_0' = -140 \ldots -440$ мВ), рубредоксини ($E_0' = +5 \ldots -5$ мВ, рубреритрини ($E_0' = +225$ мВ), менахінони. Сульфатредукторам притаманні унікальні цитохроми типу c_3, що мають найнижче значення ОВП серед усіх відомих цитохромів ($E_0' = -260$ мВ). Ці цитохроми локалізовані у периплазмі і мають мультигемову будову. Відомі три-, тетра- й октагемові цитохроми типу c_3. Бактерії, що окиснюють жирні кислоти, містять цитохроми типу *b*, яких також існує кілька видів. На відміну від бактерій, які дихають киснем і містять одну термінальну оксидазу, зв'язану з цитоплазматич-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ною мембраною, у сульфатредукторів є багато розчинних термінальних оксидаз. Це АФС-редуктаза, сульфітредуктаза, тритіонатредуктаза, тіосульфатредуктаза. Крім того, в утворенні градієнта протонів сульфатредукторами беруть участь ферменти гідрогенази, локалізовані у периплазмі. У сульфатредукторів зустрічаються три типи гідрогеназ: [Fe]-, [NiFe]- та [NiFeSe]-гідрогеназа.

Механізм окисного фосфорилювання у сульфатредукторів ілюструє рис. 5.69.

Рис. 5.69. Імовірний механізм окисного фосфорилювання сульфатредукторів

Незалежно від природи донора електронів (органічні речовини чи H_2) водень дифундує крізь цитоплазматичну мембрану в периплазму, де окиснюється комплексом ферменту гідрогенази і цитохрому c_3 згідно реакції: $4H_2 \rightarrow 8H^+ + 8e^-$. Назад у клітину повертаються вісім електронів, які відновлюють активований сульфат у вигляді АФС до сульфіду. Вісім протонів залишаються у периплазмі і створюють градієнт концентрації протонів між внутрішнім і зовнішнім середовищем клітини. АТФ синтезується на АТФ-синтетазі згідно з хеміосмотичною гіпотезою Мітчела. Механізм утворення градієнта протонів, зумовлений простим розділенням зарядів атомів водню за допомогою гідрогенази і поверненням електронів у цитоплазму, називають *векторним транспортом електронів.*

Сіркове дихання — це процес використання бактеріями елементарної сірки (S^0) як термінального акцептора електронів за анаеробного дихання. Здійснювати сіркове дихання здатні такі облігатно анаеробні еубактерії, як *Desulfuromonas acetoxidans, Desulfurella acetivorans, Wolinella succinogenes, Desulfovibrio gigas, Desulfomicrobium* sp. Дихати сіркою за відсутності кисню здатні дві аеробні

БІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук М.Г., Сквка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

бактерії — *Pseudomonas mendocina* й *Alteromonas putrefaciens*. Сіркове дихання спостерігається і в деяких термофільних анаеробних археїв — *Acidianus infernos*, *Desulfolobus ambivalens*, *Pyrobaculum islandicum*, *Pyrodictium occultum*, *Thermoproteus neutrophilus*. Серед сіркоредукторів є хемооргано- та хемолітотрофи.

Деякі бактерії можуть відновлювати елементарну сірку не в результаті анаеробного дихання, а як побічний процес при бродінні. Однак у цьому разі окисне фосфорилювання відсутнє (АТФ не утворюється), а сірка служить лише додатковим акцептором електронів, «місцем скидання зайвого водню». Так, термофільні еубактерії *Thermosipho africanus* і *Thermotoga* sp. відновлюють сірку до гідроген сульфіду паралельно зі зброджуванням цукрів та інших органічних субстратів.

Залізне та манганове дихання. Відновлення Феруму(III) до Феруму(II) в результаті мікробного дихання — це дуже давній процес. Припускають, що він мав місце у гіпергарячому довкіллі Землі ще понад 3,5 млрд. років тому. Тоді в древній Землі було багато Fe^{3+}, яке утворилося з Fe^{2+} в результаті фотохімічних реакцій у древніх морях і гіпертермальних джерелах.

Окисно-відновний потенціал пари Fe^{3+}/ Fe^{2+} дуже високий (E_0' = +770 мВ) і наближається до ОПВ кисню (E_0' = +810 мВ), тому використання Fe^{3+} мікроорганізмами як акцептора електронів енергетично надзвичайно вигідне. Залізне дихання притаманне двом групам мікроорганізмів: гіпертермофільним археям і мезофільним еубактеріям.

Розрізняють кілька типів дисиміляційного відновлення Феруму й Мангану:

1. При зброджуванні органічних речовин (цукрів, амінокислот) культурами *Escherichia coli*, *Bacillus polymyxa*, *Clostridium pasteurianum*, *Lactobacillus lactis*, *Vibrio* spp. окрім утворення традиційних продуктів бродіння можливе відновлення незначних кількостей Fe(III) та Mn(IV). На цей процес витрачається лише 0,03–5 % відновлених еквівалентів. Тобто, дисиміляційне відновлення металів у даному випадку є лише незначним додатковим катаболічним процесом для мікроорганізмів і слугує в основному для видалення надлишку відновників, які утворюються під час бродіння.

2. Fe(III) та Mn(IV) можуть відновлюватись бактеріями *Thiobacillus thiooxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Sulfolobus acidocaldarius* у процесі окиснення елементарної сірки як донора електронів.

$$S^0 + 6Fe^{3+} + 4H_2O \rightarrow HSO_4^- + 6Fe^{2+} + 7H^+.$$

Однак енергії при цьому виділяється недостатньо для підтримання життєдіяльності бактерій.

3. Fe(III) і Mn(IV) можуть відновлюватись у результаті хемолітотрофного окиснення молекулярного водню. *Pseudomonas* sp. та *Shewanella putrefaciens* окиснюють водень, використовуючи Fe(III) як єдиний акцептор електронів. *Shewanella putrefaciens* здатна рости і за рахунок марганцевого дихання.

$$H_2 + 2Fe^{3+} \rightarrow 2H^+ + 2Fe^{2+};$$

МІКРОБІОЛОГІЯ. Том 1 / Сегеда М.І., Скібіцька Т.М., Сегедін Т.М. та ін.

$$H_2 + Mn^{4+} \rightarrow 2H^+ + Mn^{2+}.$$

4. Використовувати залізне та манганове дихання як єдиний спосіб отримання енергії під час росту на органічних кислотах (ацетаті, лактаті, піруваті, форміаті) здатна бактерія *Shewanella putrefaciens* та низка неідентифікованих культур:

$$Форміат^- + 2Fe^{3+} + H_2O \rightarrow HCO_3^- + 2Fe^{2+} + 2H^+$$
$$Лактат^- + 4Fe^{3+} + 2H_2O \rightarrow Ацетат^- + HCO_3^- + 4Fe^{2+} + 5H^+$$
$$Піруват^- + 2Fe^{3+} + 2H_2O \rightarrow Ацетат^- + HCO_3^- + 2Fe^{2+} + 3H^+$$

$$Форміат^- + Mn^{4+} + H_2O \rightarrow HCO_3^- + Mn^{2+} + 2H^+$$
$$Лактат^- + 2Mn^{4+} + 2H_2O \rightarrow Ацетат^- + HCO_3^- + 2Mn^{2+} + 5H^+$$
$$Піруват^- + Mn^{4+} + 2H_2O \rightarrow Ацетат^- + HCO_3^- + Mn^{2+} + 3H^+$$

5. У мікробних угрупованнях основне дисиміляційне відновлення Феруму(III) здійснюють бактерії родини *Geobacteriaceae* (*Geobacter chapellei*, *G. hydrogenophilus*, *G. metalliraducens*, *G. sulfureducens*, *Geobacter* spp., *Geothrix fermentans*, *Geovibrio ferrireducens*)

Основна проблема використання Fe(III) для дихання полягає в нерозчинності його сполук за pH близьких до нейтральних, й отже, неможливості його надходження всередину клітини. Цю проблему грамнегативні бактерії, наприклад *Shewanella*, вирішують так (рис. 5.70). Їхні клітини містять велику кількість тетра- й декагемових цитохромів типу *c*, які утворюють мультигемовий «провідник» між внутрішньою і зовнішньою мембранами. Цим «провідником» електрони від реакцій карбонового метаболізму, що відбуваються у цитоплазмі, передаються через дві мембрани та периплазму назовні клітини, де власне і відновлюються нерозчинні сполуки Fe(III). У *Shewanella frigidimarina* відомі такі мультигемові цитохроми, як:

- CymA — тетрагемовий, зв'язаний з мембранною хінолдегідрогеназою;
- Pcc35 — периплазматичний декагемовий;
- Ifc_3 — залізоіндукований флавоцитохром c_3;
- OmcA — позамембранний декагемовий ліпопротеїн.

Гени, що відповідають за синтез цих цитохромів, містяться в геномі у багатьох копіях, що дає змогу клітині за потреби синтезувати їх у великій кількості. Показано, що в разі культивування *Shewanella frigidimarina* за анаеробних умов із Fe(III), кількість цитохромів у її клітинах різко зростає.

Мультигемова Fe(III)-редуктазна система неспецифічна. Вона здатна відновлювати й інші позаклітинні сполуки, такі як Mn(IV), нерозчинні форми Сульфуру.

Фумаратне дихання — це анаеробний процес, за якого акцептором електронів слугує органічна сполука — фумарова кислота. Відновлюючись, фумарат перетворюється на сукцинат. ОВП пари фумарат / сукцинат досить високий і становить +30 мВ. Донорами електронів за фумаратного дихання є мурашина кислота, молекулярний водень, сульфід, а також НАДН, що утворюється внаслідок катаболізму органічних сполук. Фумаратне дихання характерне для

БІОЛОГІЯ.ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

багатьох факультативно анаеробних бактерій, таких як *E. coli*, *Proteus rettgeri*, *Salmonella*, *Klebsiella*. Воно властиве й облігатним анаеробам — *Clostridium formoaceticum*, *Desulfovibrio gigas*, *Propionibacterium*, *Vibrio succinogenes*, *Bacteroides fragilis*, *Wolinella succinogenes*.

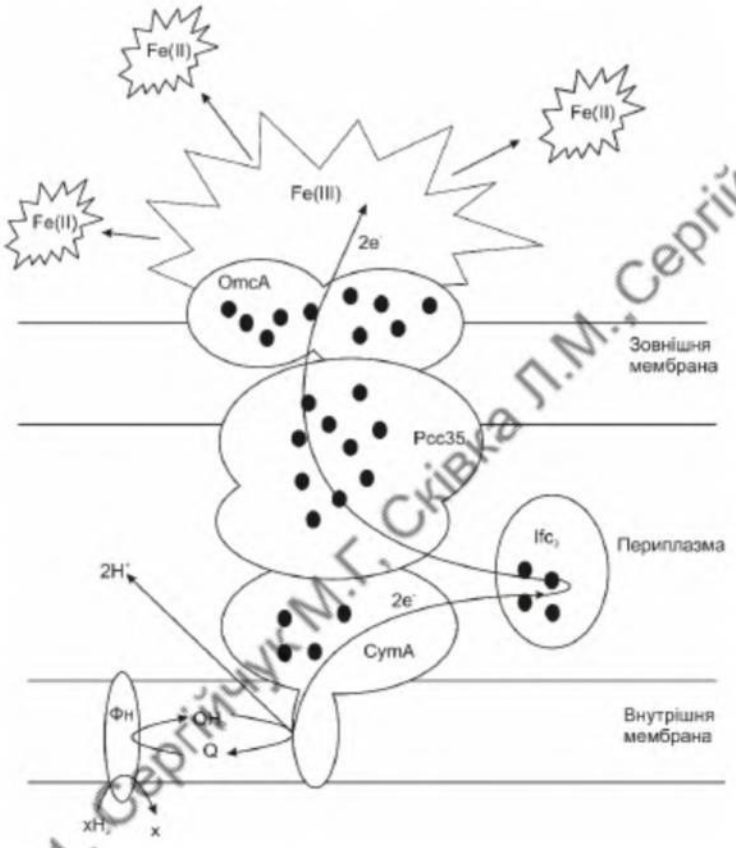


Рис. 5.70. Гіпотетична схема включення у процес залізного дихання *Shewanella frigidimarina* внутрішньої (ІМ) і зовнішньої (ОМ) мембран, периплазми та мультигемових цитохромів

Фумарат може відновлюватися внаслідок окиснення НАДН. Електрони від НАДН до фумарата передаються через низку переносників дихального ланцюга, специфічними серед яких є:

- менахінон (скорочена назва метилнафтохінону);
- цитохроми типу *b*;
- фумаратредуктаза.

Менахінон — ліпофільна речовина, що має E_0' на рівні –74 мВ, що дає їй змогу переносити електрони на фумарат. Оскільки ОВП убіхінону становить +133 мВ, він участі у фумаратному диханні не бере.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

У бактерій, які дихають фумаратом, як правило міститься кілька типів цитохромів *b* з різними значеннями ОВП: –200 і –20 мВ.

Фумаратредуктаза — це залізосірчаний флавопротеїн із простетичною групою ФАД, приєднаною ковалентно. Цей фермент тісно зв'язаний з мембраною і складається з двох субодиниць. Фумаратредуктаза синтезується у клітині лише за певних умов, оскільки цей фермент індуктивний.

Загальну схему фумаратного дихання наведено на рис. 5.71.

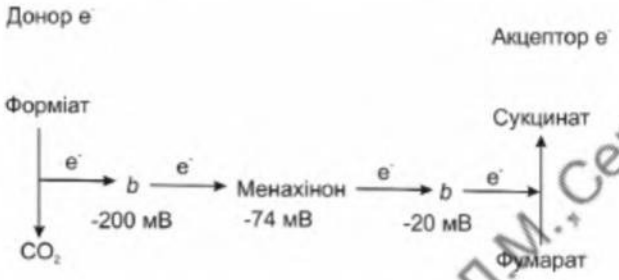


Рис. 5.71. Загальна схема фумаратного дихання

Вуглецеве дихання властиве гомоацетогенним бактеріям. *Гомоацетогени* — це облігатно анаеробні бактерії, що використовують CO_2 як термінальний акцептор електронів і утворюють єдиний кінцевий продукт — ацетат.

Таксономічно гомоацетогенні бактерії є найнеоднорідніщою групою мікроорганізмів серед облігатних анаеробів. До них належать грампозитивні і грамнегативні бактерії, спорові й неспорові, палички і коки, рухливі й нерухливі, психро-, мезо- та термофіли, хемоорганогетеро- і хемолітоавтотрофи. Гомоацетогенами є: *Eubacterium limosum*, *Acetobacterium carbinolicum*, *A. malicum*, *A. woodii*, *Clostridium thermoaceticum*, *C. pfenningii*, *C. thermoautotrophicum*, *C. formiaceticum*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Syntrophococcus sucromutans*, *Peptostreptococcus productus*, *Acetitomaculum ruminis*, *Sporomusa termitida*, *S. malonica*, *S. acidovorans*.

Залежно від умов середовища гомоацетогени можуть здійснювати два типи метаболізму: хемолітоавтотрофний і хемоорганогетеротрофний.

Хемолітоавтотрофний метаболізм гомоацетогенні бактерії демонструють за росту на суміші двох газів: молекулярного водню та діоксиду Карбону. Якщо H_2 вони використовують як джерело електронів, то CO_2 — як термінальний акцептор електронів і джерело Карбону. Вуглекислий газ включається в метаболізм гомоацетогенів відновлювальним шляхом ацетил-КоА (рис. 5.34). Цей шлях їм слугує також і для синтезу АТФ.

Асимілюючи CO_2 за автотрофного росту, гомоацетогени синтезують ацетил-КоА і включають його у біосинтез.

Відновлювальний шлях ацетил-КоА використовується і для перенесення електронів на термінальний акцептор CO_2 під час вуглецевого дихання, тобто окисного фосфорилування. Це відбувається в результаті відновлення N^5,

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сивка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

N^{10}-метилен-THF до N^5-метил-THF під дією фермента метилен-THF-редуктази. Енергетичний вихід цієї реакції достатній для перенесення одного або двох моновалентних катіонів крізь мембрану. Процес супроводжується транспортом крізь мембрану іонів Na^+. Потім Na^+ повертаються у клітину, а H^+ виноситься назовні через Na^+/H^+ антипорт. Наявність такого антипорту було показано для *Clostridium thermoaceticum*. Так утворюється градієнт протонів, який призводить до синтезу АТФ на АТФ-синтетазі. Це єдина реакція відновлювального шляху ацетил-КоА, яка пов'язана з електронтранспортним (окисним) фосфорилюванням (рис. 5.72).

Гомоацетогени також здатні синтезувати АТФ відновлювальним шляхом ацетил-КоА на етапі перетворенні ацетил-КоА на ацетат через ацетилфосфат. Ці реакції каталізуються ферментами фосфотрансацетилазою та ацетаткіназою і є прикладом субстратного фосфорилювання у хемолітоавтотрофних гомоацетогенів.

Гомоацетогени дуже рідко можуть розщеплювати ацетат окисним шляхом ацетил-КоА. Такий метаболізм характерний для так званих AOR-гомоацетогенів («acetate-oxidizing rod»), які окиснюють ацетат до CO_2 і H_2. Це відбувається лише за синтрофного росту з метаногенами, які забезпечують дуже низький парційний тиск водню (менше 1 Па) в середовищі.

Отже, у гомоацетогенів шлях ацетил-КоА є мультифункціональним — він використовується одночасно і в енергетичному метаболізмі, і в біосинтезі.

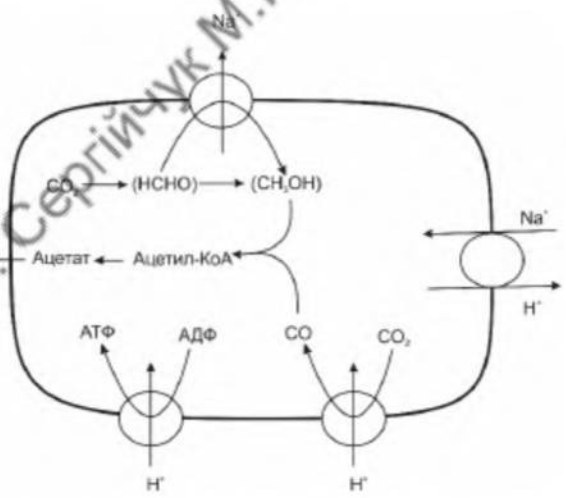


Рис. 5.72. Створення градієнта протонів у гомоацетогенів за вуглецевого дихання

Гомоацетогенні бактерії можуть рости на різноманітних органічних субстратах, тобто здійснювати хемоорганогетеротрофний метаболізм. Більшість із них за анаеробних умов є малопридатні як джерела енергії (таблиця 5.13).

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сквірка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Таблиця 5.13.

Субстрати, на яких ростуть гомоацетогени

Субстрат	Мікроорганізми
$H_2 + CO_2$	Більшість гомоацетогенів
CO	*Peptostreptococcus productus, Butyribacterium methylotrophicum, Eubacterium limosum, Clostridium thermoaceticum, Clostridium thermoautotrophicum, Sporomusa termitida, Acetobacterium woodii, Acetitomaculum ruminis*
Метанол	*Eubacterium limosum, Butyribacterium methylotrophicum, Clostridium formiaceticum, Acetobacterium carbinolicum, Sporomusa* spp.
Аліфатичні спирти	*Acetobacterium carbinolicum, Sporomusa* spp.
2,3-Бутандіол	*Acetobacterium carbinolicum, Sporomusa* spp.
Етиленгліколь	*Acetobacterium carbinolicum*
Бетаїн	*Eubacterium limosum, Sporomusa* spp.
Гексаметилентетрамін	*Acetobacterium* spp.
Малонат	*Sporomusa malonica*
2-Метоксіетанол	*Acetobacterium malicum*
Фенілметилові ефіри	*Acetobacterium woodii, Clostridium thermoaceticum, Sporomusa termitida, Clostridium pfennigii, Syntrophococcus sucromutans, Acetobacterium carbinolicum, Eubacterium limosum, Clostridium thermoautotrophicum*
Манделат	*Acetobacterium* spp.

Хемоорганогетеротрофний метаболізм гомоацетогенних бактерій розглянемо на прикладі утилізації глюкози (рис. 5.73).

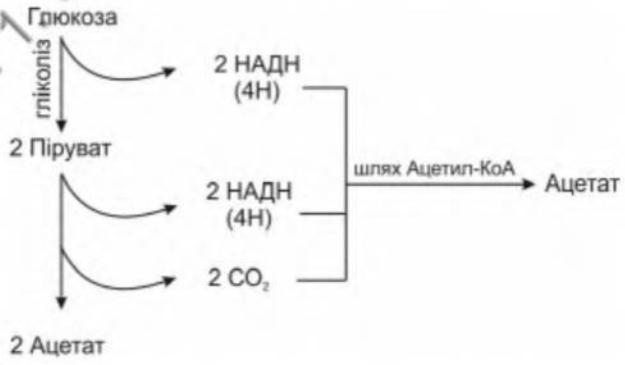


Рис. 5.73. Хемоорганогетеротрофний метаболізм гомоацетогенних бактерій

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Спочатку глюкоза, гліколітичним шляхом, перетворюється на дві молекули пірувату. При цьому відновлюється 2НАД⁺ (2НАДН є еквівалентом 4Н):

Глюкоза → 2 Піруват + 2НАДН.

Потім дві молекули пірувату окиснюються до 2 молекул ацетату:

2 Піруват → 2 Ацетат + $2CO_2$ + 4Н.

Третю молекулу ацетату гомоацетогени утворюють відновленням $2CO_2$, що виділився у попередній реакції, шляхом ацетил-КоА. Для відновлення CO_2 використовується водень, що також походить із глюкози. Сумарне рівняння окиснення глюкози гомоацетогенами таке:

Глюкоза → 3 Ацетат.

Енергетика процесу утворення ацетату гомоацетогенами. Більшість гомоацетогенів здатне рости на суміші газів CO_2 і H_2, з використанням водню як єдиного джерела електронів. Це означає, що відновлення CO_2 до ацетату має супроводжуватися синтезом АТФ. 1 моль АТФ утворюється шляхом ацетил-КоА під час перетворення ацетилфосфату на ацетат. Водночас, для активування форміату з утворенням формілтетрагідрофолату стехіометрично витрачається 1АТФ. Тому та частина шляху ацетил-КоА, яка забезпечує синтез клітинного Карбону, не є джерелом утворення АТФ на рівні субстратного фосфорилування. Накопиченню АТФ при відновленні CO_2 до ацетату додатково заважає споживання енергії при утворенні CO з CO_2. Для *Acetobacterium woodii* показано, що відновлення CO_2 до CO пов'язане з використанням градієнта протонів. За звичайних умов вихід вільної енергії в реакції відновлення CO_2 до CO становить +20 кДж/моль. Згідно з розрахунками, для забезпечення цієї реакції енергією крізь мембрану назад у клітину має повернутися принаймні 1 протон, тобто відновлення CO_2 до CO «коштуватиме» клітині 1/3 молекули АТФ. Таке явище описане й для метаногенів у разі використання ними шляху ацетил-КоА для асиміляції CO_2. Це одна з небагатьох реакцій у катаболізмі бактерій, що пов'язана зі зворотним перенесенням протонів.

Оскільки утворення CO й активація форміату — ендергонічні процеси, в клітині має бути одна чи більше екзергонічних реакцій. Єдиною доволі екзергонічною реакцією є реакція відновлення метилен-THF до метил-THF (див. вище). Як було показано, клітинна суспензія *Acetobacterium woodii* за культивування на CO_2 + H_2 створювала градієнт концентрації іонів натрію. У метаногенних бактерій процес відновлення метилентетрагідрометаноптерину до метилових похідних при утворенні метану з CO_2 також супроводжувався транспортом натрію через мембрану. По аналогії з метаногенами, зроблено висновок, що в разі відновлення метилен-THF до метил-THF також має відбуватися транслокація іонів натрію за межі клітини з можливим виникненням електрохімічного натрієвого градієнта. Як саме цей натрієвий градієнт переходить в АТФ, досі не з'ясовано. Найімовірніше, що він за рахунок антипорту натрій/протони (Na^+/

БІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук І.М., Скіба П.М., Сергійчук Б.М. та ін

H^+) переходить у градієнт протонів. Наявність такого антипорту показано для *Clostridium thermoaceticum*. Градієнт протонів, створений Na^+/H^+ антипортом, може генерувати синтез АТФ через АТФ–азу.

Завдяки широкому спектру придатних для споживання субстратів, гомоацетогени живуть практично в усіх безкисневих прісних (деякі — у морських) екологічних нішах: осадах прісних водойм, стічних водах, кишковику жуйних тварин, термітів, гризунів, фекаліях тварин і людей, ціанобактеріальних матах. Для гомоацетогенів дуже важливою є умова, щоб у довкіллі було достатньо молекулярного водню, за який вони конкурують з метаногенами й отримують перевагу за психрофільних умов та температурі < 20 °С. В еконішах, де доволі органічних речовин (фекалій), гомоацетогени віддають перевагу енергетично вигіднішим субстратам, ніж молекулярний водень.

5.8. Метаногенез

Метаногени (*метаноархеї*) — це група археїв, які в процесі своєї життєдіяльності утворюють метан — CH_4. *Метаногенез* — єдиний шлях, за яким метаногенні археї можуть отримувати енергію для росту; вони єдині відомі організми, здатні утворювати метан як продукт катаболізму.

Крім особливостей будов цитоплазматичної мембрани та клітинної стінки, характерних для усіх археїв, метаногени містять ще й унікальні кофактори, які беруть участь у перенесенні водню й C_1-сполук при утворенні метану,— кофермент F_{420}, метанофуран, тетрагідрометаноптерин, кофермент М, фактор В, кофермент F_{430}, метанофеназин.

Кофермент F_{420} є похідним флавіну, що за структурою нагадує звичайний кофермент ФМН, але різниться будовою *R*-групи, не містить у середньому кільці атома Нітрогену, в бензольному ядрі — метильної. Окисно-відновний потенціал F_{420} досить низький ($E_0' = -380$ мВ). Він взаємодіє з кількома різними ферментами метаногенів, в тім числі з гідрогеназою та $НАДФ^+$-редуктазою. Окиснена форма F_{420} абсорбує світло при 420 нм і флуоресціює синьо-зеленим кольором, що дає змогу легко ідентифікувати метаногени у флуоресцентному мікроскопі. Після відновлення кофермент F_{420} втрачає своє забарвлення. У клітині відновлений F_{420} виконує такі функції:

1) переносить 2[H] на $НАДФ^+$ і фередоксин у реакціях біосинтезу, не пов'язаних з утворенням метану;
2) переносить 2[H] на сполуки Карбону під час метаногенезу.

Метанофуран (MRF, MF) — низькомолекулярний кофермент, перший акцептор CO_2 при метаногенезі. Після першої реакції відновлення CO_2 утворюється формілметанофуран. До складу метанофурану входять фенол, 2 залишки глутамінової кислоти, довгий ланцюг жирної кислоти і фуранове кільце.

Тетрагідрометаноптерин (THMP, MP, H_4MPT) — кофермент, що містить заміщене птеринове кільце, подібний до вітаміну — фолієвої кислоти. Він є

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скібіна Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

переносником C_1-сполук протягом більшості етапів метаногенезу, починаючи з рівня формілу і до рівня метилу.

Кофермент М (2-меркаптоетансульфонова кислота, H-S-KoM) — переносник метильної групи. Це дуже специфічний переносник у реакції відновлення метилу, що відбувається через комплекс метилредуктаза-F_{430} на кінцевому етапі метаногенезу. Низка мікроорганізмів, зокрема, *Methanobrevibacter ruminantium*, не здатні самі синтезувати цю сполуку, тому потребують її як фактора росту. Аналог коферменту М — брометаносульфонова кислота є сильним інгібітором метаногенезу, може використовуватися в експериментах для спрямованого пригнічення метаногенних бактерій при вивченні анаеробних процесів. Це найменший з усіх відомих коферментів, знайдений лише в метаногенів.

Фактор В (*кофермент В*, КоВ, H-S-КоВ), 7-меркаптогептаоїлтреонінфосфат (HTP-SH, HS-HTP) — це фосфориловане похідне амінокислоти треоніну, за будовою подібний до вітаміну пантотенової кислоти. Він так само, як і кофермент М, бере участь у заключних реакціях метаногенезу і також каталізує метилредуктазну систему, бо є для неї донором електронів. Фактор В вступає в реакцію з метил-КоМ й утворює дисульфід КоМ-S-S-КоВ.

Кофермент F_{430} — розчинний тетрапірол, що містить нікель і має жовте забарвлення. Він абсорбує світло чітко при 430 нм, але на відміну від F_{420} не флуоресціює. Завдяки F_{430} клітини метаногенів містять багато нікелю. Цей кофермент має велике значення на заключному етапі метаногенезу, бо є частиною метилредуктазної системи.

Метанофеназин (МР) — низькомолекулярний переносник електронів і водню, зв'язаний із мембраною. Відновлюється F_{420}-дегідрогеназою або гідрогеназою й, у свою чергу, відновлює гетеродисульфід на кінцевих етапах метаногенезу. Виявлений лише в метаногенів, які ростуть на метильованих сполуках.

Метаногени перетворюють на метан такі субстрати:

1) речовини, які містять окиснений Карбон — вуглекислий газ CO_2, форміат HCOOH, монооксид Карбону CO;

2) речовини, які містять метильну групу — метанол CH_3OH, метиламін $CH_3NH_3^+$, диметиламін $(CH_3)_2NH_2^+$, триметиламін $(CH_3)_3NH^+$, метилмеркаптан CH_3SH, диметилсульфід $(CH_3)_2S$;

3) оцтову кислоту CH_3COOH.

Ці сполуки перетворюються метаногенами з виділенням енергії згідно з наступними рівняннями:

$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	$\Delta G^{0'} = -134$ кДж /реакція
$4HCOOH \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$	$\Delta G^{0'} = -281$ кДж / реакція
$4CO + 2H_2O \rightarrow CH_4 + 3CO_2$	$\Delta G^{0'} = -209$ кДж /реакція
$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$	$\Delta G^{0'} = -323$ кДж /реакція
$CH_3OH + H_2 \rightarrow CH_4 + H_2O$	$\Delta G^{0'} = -133$ кДж /реакція

Біологія. Том 1. Сергійчук М.І., Скіпка М.І., Сергійчук Т.М. та ін.

$4CH_3NH_3Cl + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 4NH_4Cl$ $\Delta G^{0'} = -230$ кДж /реакція

$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$ $\Delta G^{0'} = -130$ кДж /моль

Метаногенез іноді розглядають як процес анаеробного дихання і називають його *карбонатним диханням*, оскільки за росту метаногенів на суміші CO_2 та H_2 молекулярний водень є донором електронів, а вуглекислий газ — акцептором. Водночас, у археїв відсутній традиційний дихальний ланцюг з класичним набором переносників електронів. У літературі часто зустрічається термін «*метанове бродіння*». За росту метаногенів на метанолі одна молекула субстрату окиснюється, а друга — відновлюється, що нагадує процес зброджування амінокислот. Однак відомо, що в процесі метаногенезу АТФ синтезується внаслідок утворення градієнта протонів та іонів натрію, а це не є типовим для класичного бродіння. В метаногенів відсутнє субстратне фосфорилювання. Отже, метаногенез не можна вважати ні анаеробним диханням, ні бродінням. Це унікальний специфічний процес отримання енергії, характерний лише для древніх форм живих організмів — археїв.

Утворення метану за росту метаногенів на суміші CO_2 й H_2 (рис. 5.74).

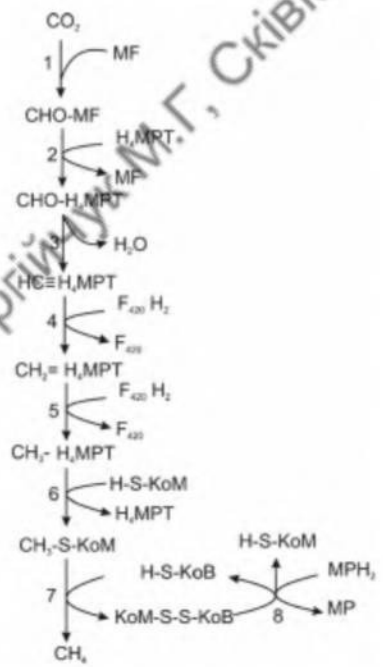


Рис. 5.74. Схема утворення метану за росту метаногенів на суміші H_2 та CO_2. MF — метанофуран; H_4MPT — тетрагідрометаноптерін; H-S-KoM — кофермент M; H-S-KoB — кофермент B; KoM-S-S-KoB — гетеродисульфід; F_{420} — кофермент: MP — метанофеназин

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.П., Сергійчук Г.М. та ін

Згідно з наведеною схемою метан утворюється внаслідок перебігу таких реакцій:

1. $CO_2 + MF + H_2 \rightarrow CHO\text{-}MF + H_2O + H^+$	$\Delta G^{0'} = +16$ кДж /моль
2. $CHO\text{-}MF + H_4MPT \rightarrow CHO\text{-}H_4MPT + MF$	$\Delta G^{0'} = -4{,}4$ кДж /моль
3. $CHO\text{-}H_4MPT + H^+ \rightarrow HC{\equiv}H_4MPT + H_2O$	$\Delta G^{0'} = -4{,}6$ кДж /моль
4. $HC{\equiv}H_4MPT + H_2 \rightarrow H_2C{=}H_4MPT + H^+$	$\Delta G^{0'} = -5{,}5$ кДж /моль
5. $H_2C{=}H_4MPT + H_2 \rightarrow H_3C\text{-}H_4MPT + H^+$	$\Delta G^{0'} = -17{,}2$ кДж /моль
6. $H_3C\text{-}H_4MPT + H\text{-}S\text{-}KoM \rightarrow H_3C\text{-}S\text{-}KoM + H_4MPT$	$\Delta G^{0'} = -29{,}7$ кДж /моль
7. $H_3C\text{-}S\text{-}KoM + H\text{-}S\text{-}KoB \rightarrow CH_4 + KoM\text{-}S\text{-}S\text{-}KoB$	$\Delta G^{0'} = -45$ кДж /моль
8. $KoM\text{-}S\text{-}S\text{-}KoB + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H\text{-}S\text{-}KoM + H\text{-}S\text{-}KoB$	$\Delta G^{0'} = -40$ кДж /моль

Як видно з хімічних рівнянь, CO_2 відновлюється поетапно, а C_1-сполуки, які при цьому утворюються, постійно перебувають на одному з трьох переносників: метанофурані (MF), тетрагідрометаноптерині (H_4MPT) або коферменті М (H-S-KoM).

Реакція 1. Першим акцептором вуглекислого газу є метанофуран (MF). Активований метанофураном CO_2 відновлюється до рівня формілу з утворенням формілметанофурану (CHO-MF). Процес відбувається за участю водню, однак його переносник у цій реакції наразі чітко не визначений. Утворення формілметанофурану — енергозатратний процес.

Реакція 2. Формільна група переноситься з метанофурану на тетрагідрометаноптерин з утворенням $CHO\text{-}H_4MPT$.

Реакція 3. Дегідратація формілтетрагідрометаноптерину ($CHO\text{-}H_4MPT$) з утворенням метенілтетрагідрометаноптерину ($HC{\equiv}H_4MPT$).

Реакція 4. Відновлення метенілтетрагідрометаноптерину ($HC{\equiv}H_4MPT$) до метилентетрагідрометаноптерину ($H_2C{=}H_4MPT$). Переносником водню у цій реакції є кофермент F_{420}.

Реакція 5. Відновлення метилентетрагідрометаноптерину ($H_2C{=}H_4MPT$) до метилтетрагідрометаноптерину ($H_3C\text{-}H_4MPT$). Переносником водню у цій реакції є кофермент F_{420}.

Реакція 6. Метильна група переноситься на кофермент М. Процес супроводжується виділенням енергії ($\Delta G^{0'} = -29{,}7$ кДж/моль) та винесенням іонів Na^+ у периплазму. Помпою для транспорту Na^+ слугує фермент метил-H_4MPT: КоМ метилтрансфераза, що є частиною центрального шляху метаболізму метаногенів. Тому винесення Na^+ у периплазму є обов'язкове при метаногенезі й призводить до утворення трансмембранного градієнта Na^+. Метилтрансфераза містить кофактор (фактор III, Ко(III)), який бере участь у перетворенні метилу. Кофактор Ко(III) у супервідновленій формі позначають Ко(I). Механізм утворення градієнта іонів натрію ($\Delta\mu_{Na^+}$) наведено на рис. 5.75.

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сидка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

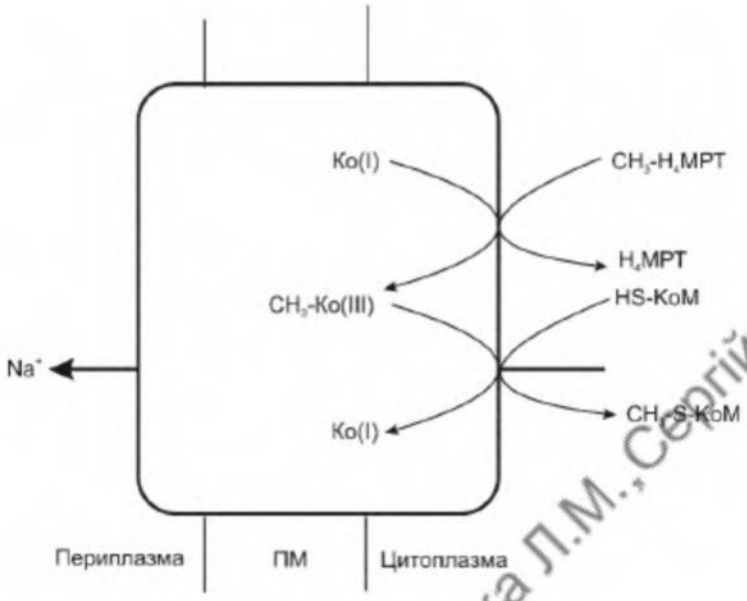


Рис. 5.75. Схема механізму транспорту іонів натрію за участю метил-H_4MPT: KoM метилтрансферази (Schafer, 1999)

Перенесення метильної групи з H_4MPT на KoM відбувається в два етапи. На першому метильну групу приєднує Ko(I), відновлюючись при цьому до Ko(III) й утворюючи проміжний продукт CH_3-Ko(III). На другому етапі CH_3-Ko(III) передає групу CH_3 на кофермент M з утворенням CH_3-S-KoM. Саме на другому етапі цього процесу відбувається транслокація іонів натрію, пов'язана з реакцією деметилювання кофактора метилтрансферази.

Реакція 7. Метил-KoM відновлюється до метану. Процес відновлення та деметилювання каталізується метил-KoM-редуктазою і відбувається за участю електронів, які надходять з відновленого кофермента B. Частиною метилредуктазної системи є кофактор F_{430}. У результаті утворюються метан і гетеродисульфід з KoM та KoB (KoM-S-S-KoB).

Реакція 8. Гетеродисульфід KoM-S-S-KoB відновлюється гетеродисульфідредуктазним комплексом ферментів. Електрони для забезпечення процесу надходять із відновленого метанофеназину — зв'язаного з мембраною низькомолекулярного переносника. Ця реакція необхідна для завершення циклу і є найважливішою для запасання енергії. Гетеросульфідредуктаза зв'язана з мембраною і функціонує як кінцевий фрагмент кількох електронотранспортних ланцюгів.

Зв'язок між реакціями 7 і 8 ілюструє рис. 5.76.

Кількість енергії, що виділяється в результаті відновлення метил-KoM до CH_4, є достатня для винесення у периплазму протонів, тобто для створення градієнту протонів ($\Delta\mu_{H^+}$).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Серійчук М.Т., Сліпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

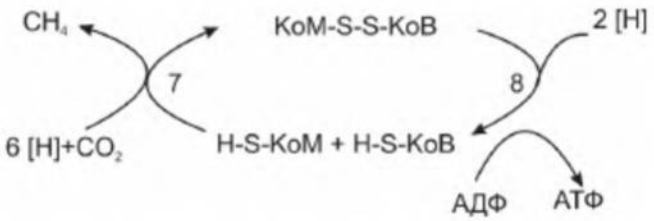


Рис. 5.76. Кінцеві реакції 7, 8 метаногенезу (Thauer, 1998)(7 — реакція утворення метану; 8 — реакція відновлення гетеросульфіду KoM-S-S-KoB)

Біосинтез органічних речовин у метаногенів за їх росту на суміші CO_2 й H_2 здійснюється модифікованим шляхом ацетил-КоА (рис. 5.77).

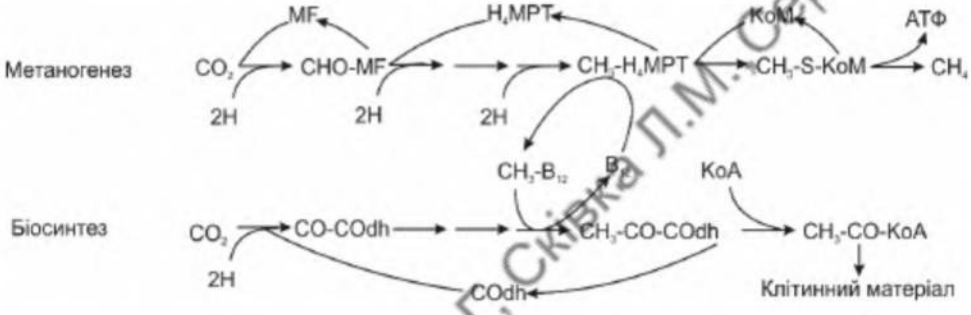


Рис. 5.77. Схема автотрофного метаболізму метаногенів: MF — метанофуран; H_4MPT — тетрагідрометаноптерін; KoM — кофермент M; COdh — CO-дегідрогеназа

За автотрофного росту на суміші газів CO_2 й H_2 метаногени асимілюють CO_2 модифікованим шляхом ацетил-КоА, кінцевим метаболітом якого є ацетил-КоА, що включається в біосинтез усіх необхідних клітинних компонентів. Оскільки метильна група ацетил-КоА утворюється при метаногенезі, цим мікроорганізмам немає потреби синтезувати її спеціально. Тому модифікований шлях ацетил-КоА має лише одну гілку, на якій CO_2 відновлюється до карбонільної групи. Метильна ж група утворюється як інтермедіат при катаболізмі, і після активації коферментом, що містить вітамін B_{12}, включається у шлях ацетил-КоА.

Будова електронотранспортного ланцюга метаногенів. Ланцюг перенесення електронів у метаногенів може містити такі ферменти та переносники:

- гідрогеназу, що є місцем надходження на дихальний ланцюг електронів із молекулярного водню при використанні метаногенами H_2 як донора електронів;
- F_{420}-дегідрогеназу, що є точкою надходження на дихальний ланцюг електронів, які вивільняються при окисненні $F_{420}H_2$ — універсального переносника водню у метаногенів;

БІОЛОГІЯ. Гомін, Сергійчук І.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

- гетеродисульфідредуктазу — фермент, що бере участь у відновленні гетеродисульфіду КоМ-S-S-КоВ;
- метанофенази — низькомолекулярний переносник електронів і водню, зв'язаний із мембраною, який відновлюється F_{420}-дегідрогеназою або гідрогеназою й, у свою чергу, відновлює гетеродисульфід КоМ-S-S-КоВ;
- цитохроми *b* і *c* типів.

Метаногени використовують різні механізми утворення градієнта протонів, залежно від субстрату та складу переносників.

Синтез АТФ у метаногенів. Метаногени — це організми, які створюють два градієнти іонів: протонів ($\Delta\mu_{H^+}$) та натрію ($\Delta\mu_{Na^+}$). Обидва градієнти беруть участь у синтезі АТФ. Протони повертаються в клітину через АТФ-синтетазу (H^+-АТФазу), що супроводжується синтезом АТФ. Щодо механізму синтезу АТФ за градієнта іонів натрію є дві гіпотези. Згідно з першою, у низки метаногенів, наприклад у *Methanobacterium thermoautotrophicum*, крім H^+-АТФази є і Na^+-АТФаза, яка забезпечує утворення АТФ за градієнта Na^+. Згідно з другою гіпотезою, іони натрію повертаються в клітину через Na^+/H^+ антипорт, що приводить до винесення протонів назовні. В цьому разі синтез АТФ здійснюється лише за участю H^+-АТФ-ази, а градієнт Na^+ є додатковим джерелом енергії.

Утворення метану за росту метаногенів на метанолі. Метанол CH_3OH за ступенем окиснення Карбону займає проміжне положення між CO_2 й CH_4, тому може як окиснюватись, так і відновлюватись. При окисненні метанолу до вуглекислого газу вивільнюються три пари електронів 3[2H]. Анаеробне окиснення метильної групи — термодинамічно невигідний процес, бо електрони від метильної групи ($E^{0'}$ метанол/формальдегід = –180 мВ) мають надійти до переносника F_{420} ($E^{0'}$= –340 мВ), тобто, за росту на метанолі метаногени витрачають додаткову енергію. Для збалансування окисно-відновних процесів три пари електронів, що вивільнились при окисненні метильної групи, мають відновити певний акцептор. Таким акцептором слугують інші молекули метанолу. На відновлення однієї молекули метанолу до метану витрачається одна пара електронів. Отже, в разі окиснення однієї молекули метанолу мають відновитися три молекули (якщо відновлені еквіваленти не витрачаються на біосинтез):

$$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + H_2O.$$

Виділення метану при відновленні метильної групи пов'язане з виникненням градієнта протонів і синтезом АТФ. Схема метаболізму метаногенів за росту на метанолі наведена на рис. 5.78.

Процес перетворення метанолу починається з активування метильної групи коферментом, який містить вітамін B_{12}. Потім одна активована метильна група окиснюється до CO_2, при цьому утворюються три пари відновлених еквівалентів і змінюється носій карбонової субстанції на H_4MPT і MF (гілка зліва). Наступні кілька активованих метильних груп відновлюються до метану за участю відновлених еквівалентів, що утворилися в реакціях окиснення метильної групи. Виділення метану супроводжується синтезом АТФ (гілка справа). Частково

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скварко І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

метильна група метанолу й CO_2, що утворився в реакціях окиснення, модифікованим шляхом ацетил-КоА включаються у біосинтез.

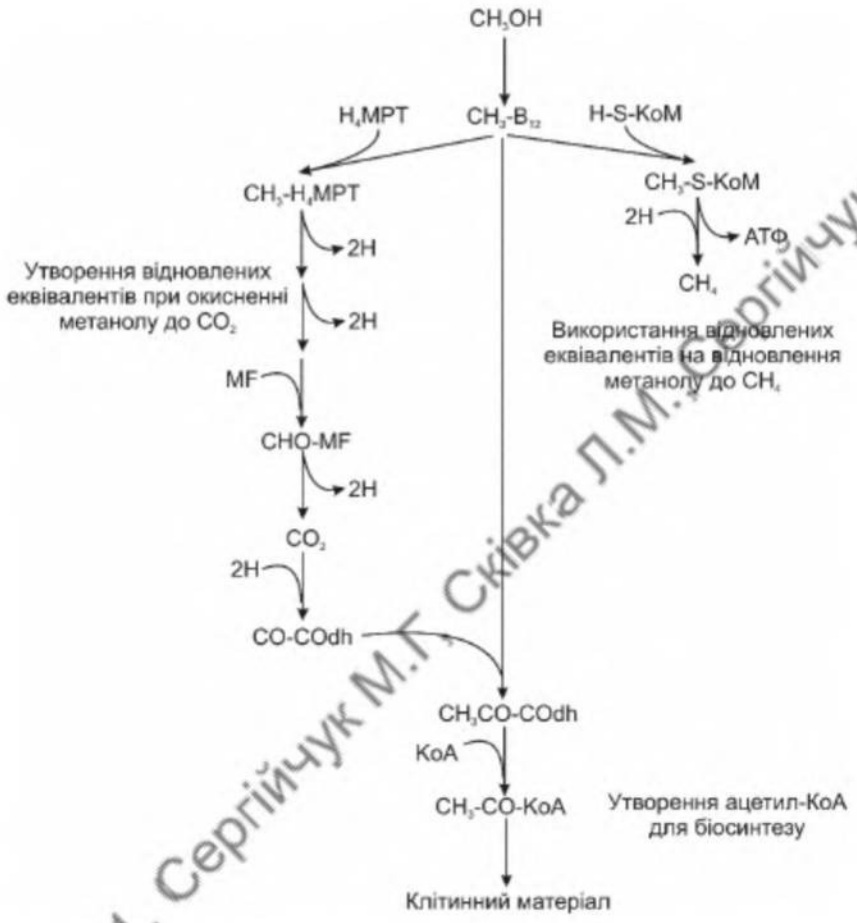


Рис. 5.78. Схема метаболізму метаногенів за росту на метанолі: MF — метанофуран; H_4MPT — тетрагідрометаноптерін; COdh — CO-дегідрогеназа; H-S-KoM — кофермент M; B_{12} — кофермент з вітаміном B_{12}

Утворення метану за росту метаногенів на ацетаті. Ацетат за допомогою великого комплексу ферментів розщеплюється метаногенами на на CO та метильну групу, зв'язану на різних етапах процесу з різними носіями. Потім CO окиснюється до CO_2 за участю ферменту CO-дегідрогенази. Електрони, що при цьому вивільнюються, відновлюють метил-КоМ до метану з утворенням градієнта протонів і врешті-решт — АТФ (рис. 5.79). Рівняння процесу виглядає наступним чином:

$$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2.$$

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Оскільки продукти розщеплення ацетату є донорами (CO) й акцепторами (метил-КоМ) електронів, метаногенез на ацетаті нагадує бродіння. Однак АТФ у цьому разі утворюється не в результаті субстратного фосфорилювання, а за рахунок $\Delta\mu_{H^+}$.

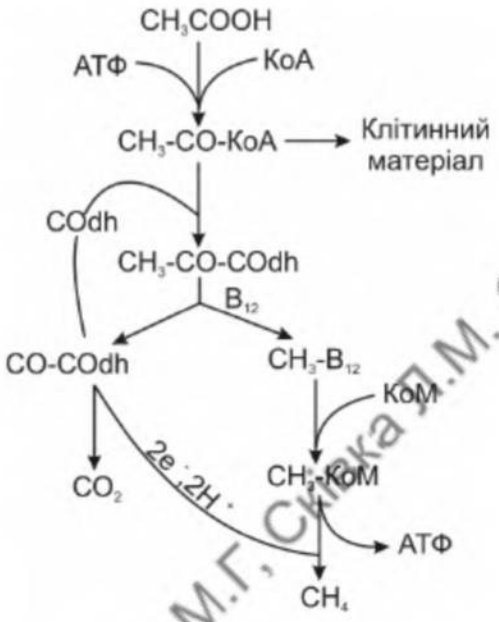


Рис. 5.79. Схема метаболізму метаногенів за росту на ацетаті: КоМ — кофермент М; COdh — CO-дегідрогеназа; B_{12} — кофермент з вітаміном B_{12}

Питання для самоконтролю

1. За якими принципами відбувається класифікація поживних середовищ?
2. Дайте визначення поняттям «анаболізм» та «катаболізм».
3. Які донори і акцептори електронів використовують мікроорганізми за бродіння та анаеробного дихання?
4. Які механізм отримання енергії та вихід АТФ за бродіння?
5. Які типи бродінь Ви знаєте? Назвіть акцептори електронів у відомих Вам типах бродінь.
6. Для яких мікроорганізми бродіння є єдиним способом отримання енергії, а для яких — одним з кількох?
7. За якого типу бродіння акцептор електронів не утворюється з донора, а присутній у середовищі з початку процесу?
8. Що таке високо- та низько потенційні дихання?
9. Який хімічний елемент акцептує електрони у випадку сульфатного і нітратного дихання?

БІОЛОГІЯ.ГОМ І Сергійчук М.Г., Сінка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

10. Чим відрізняється дихальний ланцюг мікроорганізмів за аеробного і анаеробного дихання?
11. Який механізм утворення градієнта електрохімічного потенціалу іонів гідрогену у сульфатредукторів?
12. Які два процеси здійснюються за нітратного дихання?
13. Які субстрати використовуються метаногенами?
14. Поясніть механізм утворення метану і енергії у метаногенів, які ростуть на суміші вуглекислого газу і молекулярного водню.
15. Які умови життєдіяльності вторинних бродильників (синтрофних бактерій)?

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 6.
СИСТЕМАТИКА ПРОКАРІОТІВ

6.1. Положення мікроорганізмів у системі живих істот

Одним із важливих завдань природничих наук є не лише вивчення та описання нових явищ та об'єктів, а і спроба їх впорядкування. Можна сказати, що ступінь впорядкованості об'єктів визначає прогрес даної науки (стан її розвитку). Безсумнівно, прокаріоти — найдревніші, найпоширеніші істоти на Землі, але й найменш описані в науці. Порівняно із загальною кількістю відомих видів тварин, рослин і найпростіших кількість відомих видів прокаріотів сягає лише 0,2 %. Учені припускають, що частка описаних і систематизованих прокаріотів становить близько 5% від реально існуючих.

Загалом на сьогодні описано приблизно 2 млн видів живих організмів. А починалося все зі значно скромніших цифр. Більш як 2 тис. років тому Аристотель (384–322 рр. до н.е.) описав близько 500 видів тварин. Саме поняття «вид» увів італійський лікар і ботанік А. Чезальпіно (1519–1603), який у своїй фундаментальній (16 томів) праці «Про рослини» описав 263 родини рослин з 14 класів. Більш чітке наукове визначення виду як систематичній одиниці дав англійський біолог Дж. Рей (1627–1705). Він описав 18 600 видів рослин, які поділив на 19 класів. Поняття «рід» увів французький ботанік Ж. Турнефор (1656–1708), який розглядав чотири категорії в систематиці живих істот: клас — секція — рід — вид.

Біологи тих часів поділяли живий світ на два царства — рослин і тварин. А. ван Левенгук (1632–1723), відкривши світ мікроскопічних живих істот, був упевнений, що це «маленькі тварини» і назвав їх «viva animalcula».

Карл Лінней (1707–1778), який ніколи не працював з мікроскопом, не міг розібратися в цьому заплутаному лабіринті форм і об'єднав усі мікроорганізми в один загальний рід, давши йому характерну назву «Chaos», тобто цілковите безладдя. У своїй статті «Mundus invisibilis» він відніс бактерії до черв'яків. В інших випадках називав бактерії «живими частинками», не вникаючи в їхню характеристику. У даному випадку К. Лінней вважав, що не потрібно дуже заглиблюватися у вивчення цього невидимого світу, оскільки Творець, створюючи його, мав на увазі зберегти цю область за собою. Проте саме Карл Лінней увів бінарну номенклатуру, якою ми користуємось до цього часу. Він описав 4200 видів тварин і близько 10 тис. видів рослин.

У 1786 р. датський натураліст Отто Мюллер установив для мікроорганізмів два роди (*Monas* і *Vibrio*), але включив у них не лише бактерії, а й інфузорії та інші нижчі організми. Дещо пізніше, у 1852 р., М. Петрі, який вперше скористався для систематики мікроорганізмів даними історії їх розвитку, висловив думку про належність деякої частини мікроорганізмів до рослинного царства (основну частину бактерій він все ж таки відносив до тваринного світу).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сінка Л.М., Сергійчук І.М. та ін.

На підставі подібності зовнішніх форм, росту і розмноження Ф. Кон (1828–1898) об'єднав бактерії і нижчі водорості в одну групу *Schizophyta*, тобто відніс їх до рослин, а К. Негелі (1817–1891), навпаки, виходячи з того, що бактерії не містять хлорофілу, виділив їх з водоростей у самостійну групу *Schizomycetes*, тобто гриби-дроб'янки (ця назва збереглася до нашого часу).

У другій половині XIX ст. німецький біолог Ернст Геккель (1834–1919) дійшов висновку, що мікроскопічні організми настільки суттєво відрізняються від представників царства тварин і рослин, що вони не можуть бути віднесеними до жодного з них. На цій підставі він запропонував виділити всі мікроорганізми, які не мають диференціювання на органи й тканини (бактерії, водорості, гриби та найпростіші), в окреме царство *Protista* (гр. *protos* — найпростіший; протисти — як першоістоти).

З кінця XIX ст. стали накопичуватися дані про будову клітин мікроорганізмів, що призвело до поділу представників царства *Protista* на вищі й нижчі протисти. До вищих протистів було віднесено мікроскопічні тваринні об'єкти (найпростіші), мікроскопічні водорості (окрім синьозелених) та мікроскопічні гриби (цвілі, дріжджі). До нижчих протистів віднесли бактерії і синьозелені водорості (у подальшому їх частіше стали називати ціанобактеріями). Такий поділ біологічних істот пов'язаний із встановленням двох типів клітинної організації — еукаріотичної й прокаріотичної. Вищі протисти мають еукаріотичний тип організації клітини (тобто є еукаріотами), а нижчі — прокаріотичний (тобто є прокаріотами).

Підставою для такого поділу послужили роботи американського мікробіолога Р. Стейнієра (1916–1982), в яких було показано, що структура ядра і спосіб його поділу — найбільш характерні ознаки, за якими відрізняються еукаріотичні організми від прокаріотичних.

Прокаріотична клітина відрізняється від еукаріотичної насамперед тим, що вона має лише одну внутрішню порожнину, утворену елементарною мембраною — цитоплазматичною мембраною (ЦПМ). У переважної більшості прокаріотів це єдина мембрана, яка визначається в клітині. У клітинах прокаріотів органели, типові для еукаріотів (ядро, мітохондрії, хлоропласти та ін.), не визначаються. Ядерна ДНК у них не відокремлена від цитоплазми мембраною. В цитоплазмі знаходяться функціонально спеціалізовані структури, але вони не відділені від цитоплазми мембранами, а отже, не утворюють замкнутих порожнин. Ці структури можуть бути сформовані і мембранами, але вони не замкнуті і виявляють зв'язок з ЦПМ, тобто вони є наслідком її локального розтягування. Клітини прокаріотів мають також утвори, які оточені мембранними структурами, але останні мають іншу будову і хімічний склад.

Основні ознаки відмінності клітинної організації прокаріотичних і еукаріотичних організмів наведені в табл. 6.1.

Локомоторний орган еукаріотичної клітини теж має значно складнішу будову, ніж у прокаріотів.

БІОЛОГІЯ (том 1, Сергійчук М.І., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Оскільки прокаріотична й еукаріотична організація клітин принципово різна, Р. Мюррей у 1968 р. запропонував виділити прокаріоти в окреме царство — *Procaryotae* (гр. *pro* — до, *karion* — ядро). Усі вищі протисти, рослини й тварини, об'єднувалися в царство *Eucaryotae*.

Таблиця 6.1.

Ознаки відмінності між прокаріотичною й еукаріотичною клітинною організацією

Ознака	Прокаріотична клітина	Еукаріотична клітина
Ядерний апарат	Нуклеоїд. Немає ядерця й оболонки	Ядро має ядерце й оболонку
Локалізація ДНК	В нуклеоїді й плазмідах, не оточених елементарною мембраною	В ядрі і деяких органелах (мітохондріях, хлоропластах, апараті Гольджі)
Набір хромосом	Гаплоїдний	Гаплоїдний або диплоїдний
Склад хромосом	Складається з ДНК	Молекули ДНК зв'язані з білками і РНК
Синтез білка	На рибосомах 70S типу. Ендоплазматичного ретикулума немає	На рибосомах 80S типу, які можуть бути прикріплені до ендоплазматичного ретикулума
Дихальна система	Є частиною мембран або мезосом. У бактерій — в мезосомах; у ціанобактерій — на ЦПМ. Мітохондрій немає	У мітохондріях
Склад мембран	Не містять стеролів	Містять стероли
Рух цитоплазми	Відсутній	Часто спостерігається
Фотосинтез	Хлоропластів немає. Відбувається в мембранах, які не мають специфічної упаковки	У хлоропластах, що містять спеціальні мембрани, які укладені в ламели або грани
Клітинна стінка	Ригідні, містять полісахариди і амінокислоти. Основний закріплюючий компонент — пептидоглікан	Клітинні стінки зелених рослин і грибів ригідні і містять полісахариди. Основний закріплюючий матеріал клітинної стінки в рослин — целюлоза, в грибів — хітин. Клітини тварин не мають клітинної стінки
Фіксація N_2	Деякі мають цю здатність	Жоден організм не здатний до фіксації молекулярного азоту
Джгутики	Прості, мікротрубочок немає, діаметр до 20 нм	Складні, мають мікротрубочки: 2 х 9+2. Діаметр 200 нм
Розмір клітини	Діаметр — 0,5–5,0 мкм	Діаметр — до 40 мкм; об'єм клітини в 1000–10 000 разів більший, ніж у прокаріотів

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1 / Сергійчук Т.М., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

6.2. Таксономічна термінологія

Установлення взаємозв'язків між явищами і предметами (об'єктами), а також їхня ідентифікація проводяться за деякими умовними системами, котрі й складають біологічну таксономію.

Розподіл вищих організмів (рослин і тварин) за таксономічними категоріями відбиває значною мірою їхні філогенетичні зв'язки. Однак встановити такі зв'язки у випадку прокаріотів неможливо, оскільки історичні дані є фрагментарними, що не дозволяє зробити певні висновки.

Систематика є частиною теоретичної біології, і як кожна теоретична наука, вона потребує деякої формалізації та визначення термінів.

Систематика — це теорія різноманітності організмів, яка вивчає взаємозв'язки між їхніми групами. Або можна сказати, що систематика — це розподіл (класифікація) мікроорганізмів по групах (таксонах) за певними ознаками, а також встановлення родинних зв'язків між ними.

Таксономія — це наука про біологічну класифікацію, або інакше кажучи, галузь систематики організмів, яка займається встановленням підпорядкованості окремих таксонів мікроорганізмів. *Таксон* — це група організмів, які виявляють заданий ступінь однорідності. До завдань, які вирішує таксономія, перш за все належать класифікація, номенклатура та ідентифікація.

Класифікація, номенклатура й ідентифікація — це три взаємопов'язаних аспекти в систематиці мікроорганізмів. *Класифікація* — це розподіл множини мікроорганізмів із спільними ознаками по групах (таксонах). *Номенклатура* — це найменування бактерій у відповідності з міжнародними принципами, правилами і рекомендаціями, які забезпечують точне взаєморозуміння спеціалістів. *Ідентифікація* — це порівняння невідомих (досліджуваних) організмів з уже класифікованими з метою встановлення їхньої ідентичності і найменування, тобто віднесення досліджуваного об'єкта до певного таксону.

Не слід розглядати ідентифікацію як частину таксономії, хоча подібно до таксономії вона пов'язана з описанням організмів і базується на порівнянні їх з відомими таксонами. Проте рамки та цілі ідентифікації значно вужчі.

Для ідентифікації та класифікації бактерій використовують певні схеми, але схеми ідентифікації і класифікації можуть суттєво відрізнятьсь одна від одної. Крім того, схема ідентифікації для даної групи може бути розроблена лише після того, як ця група була класифікована (рис. 6.1).

В мікробіології, як і в систематиці вищих організмів, основною таксономічною одиницею є вид (*species*) — одне з найбільш дискусійних понять у бактеріології. Якщо в основу визначення поняття «вид» у вищих рослин і тварин покладені чітко виражені морфологічні та фізіологічні відмінності, а також неможливість схрещування між представниками двох популяцій, то у випадку бактерій ці критерії не придатні, оскільки бактерії за морфологією досить одноманітні, а у розмноженні немає статевого процесу.

БІОЛОГІЯ том 1. Сергійчук М. Скіба І.М. Сергійчук Т.М. та ін

Рис. 6.1. Основні етапи схем таксономії та ідентифікації

Так, у 1949 р. М. О. Красильников з цього приводу писав: «*Вид* — це група родинних організмів, які мають загальний корінь походження і на даному етапі еволюції характеризуються певними морфологічними, біохімічними й фізіологічними ознаками; вони відокремлені від інших видів і пристосовані до певного середовища перебування». Таке визначення є класичним з точки зору науки та філософії, але воно передбачає встановлення філогенетичної спорідненості, що практично не можна зробити у випадку бактерій, оскільки на відміну від хребетних тварин чи рослин, де успішно використовуються дані палеонтології, для мікроорганізмів такі дані здебільшого відсутні. Між окремими видами бактерій одного чи різних родів може відбуватися обмін генетичним матеріалом.

Існує декілька визначень поняття «вид» у бактерій. За Р. Стейнієром, «*вид* — це сукупність особин (а у випадку мікроорганізмів — клональних популяцій), які виявляють високий ступінь фенотипової подібності, але, поряд з цим, мають помітні відмінності від інших сукупностей цього самого роду».

Згідно з мікробіологічною термінологією, прийнятою в Україні (ДСТУ, 1994), поняття «*вид*» визначається як «таксономічна одиниця, що об'єднує організми на основі морфологічних, фізіолого-біохімічних, генетичних та інших ознак».

На даний момент найбільш вдалою для прокаріотичних клітин вважається таке визначення поняття вид: «реально існуюча, генетично неділима одиниця живого світу».

За біноменальною номенклатурою К. Ліннея назву виду подають двома словами латинською мовою. Назва роду завжди пишеться з великої літери. Назва роду чи виду може відображати якусь ознаку (властивість) або свідчити про автора, який його досліджував тощо. Наприклад, *Bacillus subtilis* — сінна паличка; *Escherichia coli* — кишкова паличка; *Clostridium pasteurianum* — названо на

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

честь французького вченого Пастера; *Escherichia* — на честь німецького вченого Ешериха; *Rickettsia prowazekii* — на честь чеських вчених Риккетса і Провачека.

Категорією нижчою за рангом, ніж вид, є підвид (*subspecies, subsp.*) або біовар (*biovar*). Це популяції мікроорганізмів в межах виду, які відрізняються однією або кількома ознаками. В залежності від того, на які ознаки звертають увагу, при описанні підвидів виділяють: морфотип (за морфологічними особливостями), патовар (за типом захворювання, тропністю до тканин), серовар (за антигенною структурою), хемовар (за фізіолого-біохімічними показниками).

В мікробіології часто використовується поняття «*штам*». Різні дослідники вкладають у це поняття дещо різне значення. В класичному розумінні штам — це чиста культура мікроорганізму будь-якого виду, виділена у певний час у певному місті. Один і той самий штам не може бути виділено з того самого місця в інший час, з того чи іншого джерела. Часто штамом позначають колонії, які виросли при розсіві вихідної культури, або позначають культури бактерій з певними відхиленнями від досліджуваної. В медичний практиці як один і той самий штам можуть позначати вид бактерій, виділений з різних місць, але, наприклад, з однаковим спектром резистентності до антибіотичних препаратів. Для штамів, після видової назви, вказується абревіатура того закладу або тієї колекції, де вперше описано і де зберігається типовий штам мікроорганізму.

Тривалий час в систематиці існувало ділення всіх організмів на прокаріоти та еукаріоти. В 1970 році Wose і Fox проаналізували олігонуклеотидні послідовності 16S рРНК і показали, що прокаріотичні організми діляться на два типи *Arhaea* і *Bacteria*. У 1990 році Wose, Kandeler, Wheelis запропонували розділити всі оранізми на три домени: *Archaea, Bacteria, Eucaria* і розглядати їх як самостійні лінії розвитку (табл. 6.2).

Таблиця 6.2.

Основні ознаки архей, еубактерій і еукаріотів

Ознака	Археї	Еубактерії	Еукаріоти
Типові організми	Метаногени, екстремальні термофіли, галофіли	Див. основні групи (за Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1984), філуми (за Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / Second Edition, 2002)	Протисти, гриби, рослини, тварини
Типові розміри	0,5–4,0 мкм	0,5–4,0 мкм	> 0,5 мкм
Геном	Кільцева хромосома	Кільцева хромосома	Ядро з багатьма складними хромосомами
Гістони	Є	Немає	Є

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.М., Сквірська І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Закінчення табл. 6.2.

Ознака	Археї	Еубактерії	Еукаріоти
Зворотня гіраза	Є	Немає	Немає
Клітинна стінка	Протеїн, псевдомуреїн	Муреїн, ліпополісахарид	Різна
Мембрана	Етерифіковані ізопреноїди	Ефіри жирних кислот і гліцерину	Ефіри жирних кислот, стероли
Внутрішньоцитоплазматичні мембрани	Немає	Як правило нема або білкові	Звичні для компартменталізації клітини
Рибосоми	70 S	70 S	80 S (в цитоплазмі) + 70 S рибосоми органел
РНК-полімераза	Складна	Проста	Складна
Синтез білка інгібується:			
Хлорамфеніколом	Ні	Так	Ні
Циклогексамідом	Ні	Ні	Так

Порівняльний аналіз білкових послідовностей доменів показав більш високу філогенетичну спорідненість доменів *Eucaria* і *Archaea*, ніж *Archaea* і *Bacteria*. Тобто, будова генетичного апарату *Archaea* зближує їх з еукаріотами, але у них типові ознаки прокаріотичної організації.

Згідно з традиційною системою класифікації домени поділяють на типи (філуми), далі слідують класи, відділи (порядки), родини, роди, види.

6.3. Принципи класифікації бактерій

Перша спроба наукової класифікації мікроорганізмів належить датському зоологу Отто Мюллеру, який у своїй книзі «Animalcula infusoria fluviatillia et terestria» (1786) наводить усі головні форми мікроорганізмів. У запропонованій ним класифікації всі відомі на той час види він розділив на два роди — *Monas* і *Vibrio*.

Х. Еренберг (1795–1876) у книзі «Інфузорії як досконалі організми» (1838) розділив клас інфузорії на 22 родини, три з яких об'єднували бактерії. В нього зустрічаємо назви *Spirillum, Spirochaeta* і *Bacterium*, які вживаються і в сучасній систематиці. Він уперше використав для назв видів принцип бінарної номенклатури. З відомих у наш час видів знаходимо в Еренберга опис сінної палички (*Bacillus subtilis*), *Spirillum volutans*. Він же вперше описав «чудову паличку» (*Bacterium prodigiosum,* сучасна назва — *Serratia marcescens*), яка викликала жах своєю появою у вигляді кривавих плям на крохмалистих продуктах («кривавий хліб»).

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Перші класифікаційні схеми бактерій будувалися за принципом каталогізації, коли об'єднання мікроорганізмів у таксони здійснювалось на підставі морфологічних ознак. Але з часом стало зрозуміло, що вивчення лише морфологічних характеристик недостатньо для задовільного розподілу бактерій по таксономічних групах. Необхідність використання для класифікації бактерій поряд з морфологічними фізіолого-біохімічних ознак була обґрунтована С. М. Виноградським і М. Бейєринком.

Вивчення морфолого-культуральних властивостей досліджуваного мікроорганізму — це перший крок у спробі його класифікації. При цьому звертається увага на форму та розміри клітини, морфологію колоній, характер росту на рідких поживних середовищах.

З часом в класифікації прокаріотів намітилось два основних напрямки. В основу першого покладена ідея створення філогенетичної системи бактерій, тобто побудови єдиної системи, яка б об'єктивно відбивала родинні зв'язки між різними групами прокаріотів з урахуванням їхнього історичного розвитку. Другий напрямок передбачає практичні цілі — щоб класифікація прокаріотів служила їх швидкій ідентифікації, тобто встановлення належності організму до певного таксону.

Для розробки філогенетичної системи прокаріотів, подібної до такої в рослин і тварин (традиційне еволюційне дерево), спочатку була спроба використати дані про фенотипові ознаки. Всі ознаки, які використовувались, уявно розподілялись за ступенем їхнього значення. В подальшому, виходячи з важливості ознак об'єкти розподіляли на таксономічні групи. Отже, неважко помітити, що структура ієрархічної системи визначається порядком, за яким розміщують ознаки, а сам порядок вибирається довільно (суб'єктивно).

Усе це спонукало систематиків шукати інші підходи для встановлення ступеня спорідненості бактерій. З метою виключення елементів суб'єктивізму було запропоновано нумеричну таксономію, основні принципи якої були розроблені французьким ботаніком М. Адансоном (1727–1806) ще в 1757 році. В основу нумеричної таксономії покладені принципи, згідно з якими будь-яка ознака при оцінці особини має однакове значення (рівноцінність ознак); при описі досліджуваної культури необхідно використовувати якнайбільше ознак; ступінь подібності є функцією кількості загальних ознак; оцінка й класифікація особин базується на кореляції ознак.

Класифікація бактерій, побудована за принципами М. Адансона,— досить трудомістка процедура, а тому свій розвиток і практичне використання вона набула з появою ЕОМ. Переваги її полягають у формальній можливості дещо позбутися елементів суб'єктивності, оскільки всі ознаки визнаються рівноцінними. Слабкою стороною цього підходу є неповна інформативність — для оцінки подібності бактерій використовується біля 100 ознак, що складає приблизно 10% від тієї кількості, яка визначає бактеріальний фенотип.

Розвиток біохімії, молекулярної біології дав змогу розробити інші підходи для встановлення ступеня спорідненості бактерій. Один з них базується на

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скіпка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

порівняльному вивченні і зіставленні первинної структури макромолекул, які беруть участь у здійсненні найважливіших функцій клітини. До таких макромолекул належать ДНК, РНК, ферментні білки. Відомо, що генетична інформація «записана» в молекулі ДНК у вигляді різних поєднань трьох із чотирьох азотистих основ. За законами генетичного кодування різна інформація не може бути записана однаково, тому організми з неоднаковим нуклеотидним складом ДНК будуть різними. Якщо нуклеотидний склад двох організмів, які порівнюються, однаковий, то можлива як подібність, так і відмінність цих організмів, тому що генетичне кодування базується не лише на визначеному вмісті основ в одиниці кодування (триплеті), а й на їхньому взаємному розташуванні.

З таксономічною метою порівнюють молярний вміст суми гуаніну і цитозину (G + C) у відсотках від від загальної кількості основ ДНК різних об'єктів. Доказано, що вміст GC як у рослин, так і у тварин варіює у вузьких межах— 35–40 мол%., в той час як у бактерій — від 25 до 75 %. Унікальним виявилося те, що середній вміст GC-основ у штамів одного виду дуже близький або майже ідентичний. Така закономірність доведена для багатьох груп бактерій, у тому числі й для представників роду *Pseudomonas* (табл. 6.3). В межах роду діапазон таких коливань теж досить обмежений і не перевищує 10–15 %. Така закономірність дозволяє використовувати значення вмісту GC-основ для упорядкування класифікації деяких таксономічних груп бактерій.

Проте не завжди подібний вміст G + C свідчить про спорідненість організмів. Наприклад, *Pseudomonas aeruginosa* і *Mycobacterium phlei* містять 60 % GC. Тому для більш точного визначення подібності (спорідненості) організмів використовують інші методи. Більші надії в систематиці прокаріотів покладають на метод гібридизації ДНК, який дозволяє кількісно оцінити ступінь гомологічності ДНК організмів, які порівнюються. Метод базується на здатності денатурованої (одноланцюгової) ДНК за певних умов денатуруватися, тобто з'єднуватися з комплементарною ниткою і утворювати дволанцюгову молекулу. Кількість дволанцюгової ДНК, що утворилася внаслідок взаємодії одноланцюгових ДНК, виділених з різних організмів, є показником їхньої подібності.

Таблиця 6.3.

Вміст G + C у різних штамів деяких видів роду *Pseudomonas*

Види	Вміст G + C, мол%
P. aeruginosa	67,2 ± 1,1
P. acidovorus	66,8 ± 1,0
P. testosteroni	61,8 ± 1,0
P. putida	62,5 ± 0,9

Дані підходи до класифікації і систематики бактерій були використані Д. Х. Берджі, і у1923 році вийшло 1-е видання «Визначника бактерій Бер-

МІКРОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сегінчук І.М., Сквіра Т.М., Сегінчук Т.М. та ін

джі» (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology). У 1984–86 рр. відбулося ділення попередньо єдиної праці на двотомне 9-е видання: «Визначник Бактерій Берджі» і чотирьохтомне 1-е видання «Систематики бактерій Берджі» (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology). 1-е видання «Систематики бактерій Берджі» було побудоване за принципами Адансонівської (нумеричної таксономії), а «Визначник бактерій Берджі» створено лише для зручності ідентифікації.

Д. Х. Берджі (1860–1937)

Останні видання «Визначників бактерій» готуються Американським товариством бактеріологів із залученням провідних систематиків всього світу.

За дев'ятим виданням «Bergey's Manual of Determinative Bacteriology» всі бактерії об'єднані в царство *Procaryotae* і розділені на чотири основних категорії. Поділ на категорії ґрунтується на наявності і будові клітинної стінки. Кожна категорія об'єднує певні групи бактерій.

Категорія I —«Грамнегативні еубактерії, які мають клітинні стінки» — *Gracilicutes* (лат. *gracilis* — тонкий; *cutes* — шкіра) об'єднує бактерії 1–16 груп. Клітини можуть бути овальної форми, у вигляді прямих чи зігнутих паличок, спіралей або ниток. Деякі з них можуть бути покриті чохлом або капсулою. Розмноження відбувається переважно шляхом бінарного поділу, в деяких випадках — брунькуванням. У деяких представників (пор. *Pleurocapsales*) розмноження клітин відбувається шляхом множинних внутрішніх поділів з утворенням дрібних сферичних клітин, які називаються беоцитами (наноцитами). Міксобактерії можуть утворювати плодові тіла і міксоспори. Серед представників цього відділу є рухомі форми, і такі, що не здатні до руху. Рух може бути «плаваючого» або «ковзного» типу.

Категорія II —«Грампозитивні еубактерії, які мають клітинні стінки» — *Firmicutes* (лат. *firmus* — міцний). Ця категорія включає бактерії від 17 до 29 групи. Клітини сферичні, паличко- або ниткоподібні. Інколи палички й нитки галузяться. Розмножуються, як правило, шляхом бінарного поділу. Деякі представники утворюють спори як форми спокою (ендоспори) або спори на гіфах. До цього відділу належать аспорогенні та спороутворюючі бактерії, а також актиноміцети і споріднені з ними організми.

Категорія III —«Еубактерії, позбавлені клітинної стінки» — *Tenericutes* (лат. *tener* — ніжний, м'який). Зазвичай їх називають мікоплазмами і включають до класу *Mollicutes* (група 30). Усі вони не здатні до синтезу попередників пептидоглікану. Клітини оточені елементарною мембраною, плеоморфні, їх розміри варіюють у широких межах. Розмножуються шляхом брунькування, фрагментації і/або бінарного поділу. Здебільшого це нерухомі форми, але деякі з них проявляють здатність до ковзного руху. За Грамом не фарбуються. Для свого росту потребують складних середовищ. На щільних поживних середовищах утворюють характерні колонії типу «вилитої яєчні».

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сенчикин І.М., Сквіра Г.М., Сергійчук Т.М. та ін.

До категорії IV —«Архебактерії» — *Mendosicutes* (лат. *mendosus* — помилковий) віднесені прокаріоти, в структурі клітинної стінки яких істинний пептидоглікан не виявляється. Ці бактерії характеризуються різноманітністю метаболізму і здатністю жити в екстремальних умовах. Переважно вони зустрічаються в анаеробних умовах, гіперсолоних або в гідро- і геотермально нагрітих середовищах. Архебактерії можуть бути як мезо-, так і термофілами. Деякі види здатні рости при температурі вище 100 °С. За Грамом фарбуються позитивно або негативно. У грампозитивних архебактерій клітинна стінка складається з псевдомуреїну, метанохондріотину і гетерополісахариду. Форма клітини може бути різною: сферична, спіральна, пластинчаста або паличкоподібна. Товщина клітини коливається від 0,1 до > до 15 мкм, а довжина може досягати 200 мкм.

6.4. Коротка характеристика систематичних груп прокаріотів за дев'ятим виданням «Визначника бактерій Берджі»

Група 1. ***Спірохети.*** Це невелика група бактерій, які легко відрізняються від інших грамнегативних форм за будовою клітини. Клітина спірохет сильно витягнута в довжину, спіральної форми, покрита еластичною клітинною стінкою, з одним або декількома витками спіралі. Спірохети характеризуються унікальним типом руху. Клітина має протоплазматичний циліндр, в якому локалізовані одна або декілька пар осьових ниток (фібрил). Кожна нитка відходить від диска, розташованого на полюсі клітини (циліндра). Скорочення фібрил супроводжується появою на поверхні клітини вторинної хвилі, що викликає її переміщення по субстрату (рис. 6.2).

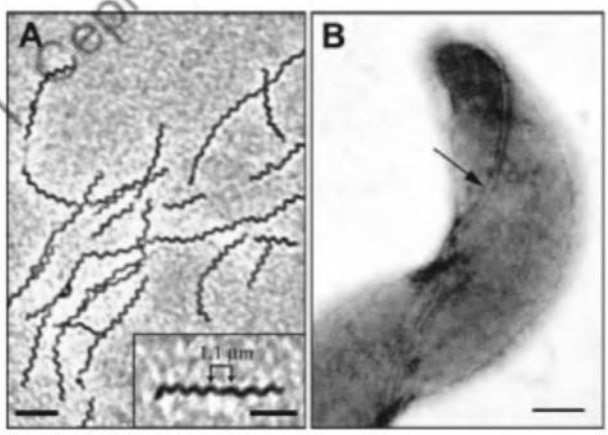


Рис. 6.2. *Treponema azotonutricium* [http://aem. asm. org/content/70/3/1315/F1. expansion. html]: А — морфологія клітин (фазово-контрастна мікроскопія); В — аксіальні фібрили в клітині (трансмісивна електронна мікроскопія)

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Сивак М.М., Сергійчук Т.М. та ін

Розмножуються спірохети поперечним поділом клітини. Серед них є аероби (*Leptospira interrogans*), факультативні анаероби (*Spirochaeta aurantia*) та анаероби (*S. litoralis*). За типом живлення — це хемоорганотрофи. Розміри клітини коливаються в широких межах. Великі клітини (до 250 мкм завдовжки) мають спірохети, які належать до родів *Spirochaeta* і *Cristispira*. Короткі клітини мають спірохети родів *Treponema* (5,0–20,0 мкм), *Borrelia* (3,0–10,0 мкм) і *Leptospira* (4,0–8,0 мкм).

Представники родів *Treponema, Borrelia* і *Leptospira* є паразитами людини та інших хребетних: *Treponema pallidum* — збудник сифілісу; *T. pertenuae* — збудник фрамбезії, захворювання, яке нагадує сифіліс (зустрічається в Центральній Америці, тропічній Африці та Індонезії); *Borrelia recurrentis* — збудник зворотної лихоманки (тифу) людини; *Leptospira interrogans* — збудник лептоспірозу, гострого інфекційного захворювання людини, сільськогосподарських, диких і промислових тварин, гризунів.

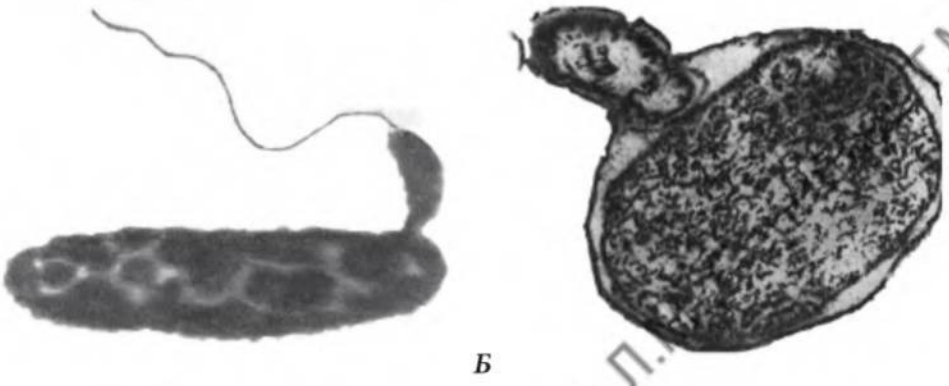
Група 2. *Аеробні / мікроаерофільні, рухомі, спіралевидні / вібріоїдні грамнегативні бактерії.* Це досить гетерогенна група бактерій вібріоїдної або спіральної форми. В деяких видів при старінні культури частина клітин перетворюється на кокоподібні тіла з тонкою клітинною стінкою. Для представників роду *Azospirillum* характерне утворення великих цист. Клітини молодих культур фарбуються за Грамом негативно. В старих культурах клітини представників роду *Azospirillum* можуть фарбуватися позитивно. При вирощуванні в рідких поживних середовищах клітини мають джгутики, розташовані на одному полюсі (*Azospirillum, Bdellovibrio, Cellvibrio, Vampirovibrio*), обох полюсах (*Aquaspirillum, Spirillum*) або одному чи обох полюсах бактеріальної клітини (*Campylobacter, Helicobacter*). За типом живлення — хемоорганогетеротрофи, аероби або мікроаерофіли. Представники родів *Azospirillum* та *Herbaspirillum* в мікроаерофільних умовах здатні фіксувати молекулярний азот. Клітини *Aquaspirillum magnetotacticum* проявляють таксис до магнітного поля.

Бактерії цієї групи виявляються в ґрунтах, прісних та солоних водоймах, на кореневій системі рослин, у кишковому тракті, ротовій порожнині людини та тварин. Представники родів *Bdellovibrio, Micavibrio і Vampirovibrio* є хижаками щодо інших мікроорганізмів. Так, *Bdellovibrio bacteriovorus* (лат. *bdello* — п'явка, *vibrio* — вібріон, тобто п'явко-вібріон) має один складний полярний джгутик (завтовшки до 50 мкм), який забезпечує досить швидкий рух клітини. За морфологічними і фізіологічними характеристиками бделовібріони мають двостадійний життєвий цикл, котрий складається зі стадії хижацтва, під час якої клітини не діляться, і репродуктивної стадії, що протікає в клітинах хазяїна. *B. bacteriovorus* прикріплюється до клітини хазяїна, втрачає джгутик, проникає крізь клітинну стінку (виділяючи літичні ферменти, які лізують клітинну стінку) в клітину-жертву і там розмножується (рис. 6.3). Цикл внутрішньоклітинного розвитку триває 3–5 год, потім клітини-паразити виходять із лізованої клітини-жертви і/або повторюють паразитичну фазу або

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1. Серійчук М.І., Скіба Т.М., Серійчук Т.М. та ін

утворюють цисти як форму спокою — дрібні, овальні чи сферичні клітини, покриті товстою оболонкою.

Бделовібріони лізують переважно грамнегативні бактерії і, насамперед, псевдомонади та ентеробактерії.



А *Б*

Рис. 6.3. *Bdellovibrio bacteriovorus* — бактерія, яка паразитує на інших бактеріях: [http://microgen. ouhsc. edu/b_bacter/b_bacter_home. htm]
А — прикріплення до клітини-хазяїна;
Б — проникнення клітини *B. bacteriovorus* у клітину-жертву

Значний інтерес мають представники роду *Helicobacter* — клітини у вигляді прямих чи зігнутих паличок або спіральної форми (0,5–1,0 х 2,5–5,0 мкм). Швидкий рух цих бактерій забезпечується численними джгутиками з чохлом, які розташовані на одному чи обох полюсах клітини, а інколи латерально. Мікроаерофіли. В атмосфері повітря, збагаченого 10% CO_2, і в анаеробних умовах ріст варіабельний. Всі штами швидко гідролізують сечовину. Ці бактерії були виділені зі слизової оболонки шлунка ссавців. Наявністю деяких представників роду *Helicobacter* пов'язують захворювання гастритом та виразковою хворобою шлунка і 12-палої кишки, тому в останні роки змінилася стратегія лікування виразки. Типовим видом роду *Helicobacter* є *H. pylori*.

Група 3. *Нерухомі (або рідко рухомі) грамнегативні зігнуті бактерії*. Представники даної групи мають зігнуті, S-подібні, спіральні або кільцеподібні клітини. В деяких випадках (бактерії роду *Spirosoma*) кінці клітин можуть перекриватися, утворюючи кільце із зовнішнім діаметром 1,5–3,0 мкм, а довжина синусоїдально зігнутої нитки досягає 50 мкм (рис. 6.4). Інколи дугоподібно зігнуті клітини розташовуються у вигляді листка конюшини (*Branchyarcus*), деякі утворюють скупчення рухомих клітин із джгутиками (*Pelosigma*). Можуть проявляти дихальний (*Runella*) або бродильний (*Meniscus*) тип метаболізму. Хемоорганотрофи. Облігатні аероби (*Branchyarcus thiophilus*), аеротолерантні анаероби (*Meniscus glaucopis*). Виявляються в ґрунтах, прісних та солоних водоймах.

Рис. 6.4. Морфологія клітин *Spirosoma* sp. [http://genome. jgi. doe. gov/spili/spili. home. html]

Група 4. ***Грамнегативні аеробні / мікроаерофільні палички та коки.*** Це досить гетерогенна група мікроорганізмів, але всі вони мають дихальний тип метаболізму і використовують як кінцевий акцептор електронів кисень. Майже всі представники (за винятком мікроаерофілів) ростуть в атмосфері повітря (21 % O_2). Деякі представники здатні до анаеробного дихання з використанням нітрату, фумарату або інших кінцевих акцепторів електронів. Бактерії деяких родів можуть фіксувати молекулярний азот.

Родина *Pseudomonadaceae* включає представників родів *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Xanthobacter*. Хемоорганотрофи, деякі види—факультативні хемолітотрофи. Представники цієї родини широко розповсюджені в ґрунті, прісних та солоних водоймах, у мулі та стічних водах, де викликають інтенсивні процеси мінералізації органічних речовин. Вони використовуються як продуценти біологічно активних речовин: органічних кислот (глюконової, α-кетаглутарової, піровиноградної), амінокислот (аспарагінової, валіну, глутаміну), ферментів (аспарагінази, пероксидази). Серед представників цієї родини є фітопатогени (*Xanthomonas*) і патогени для людини та тварин (*Pseudomonas aeruginosa* — синьогнійна паличка, яка може спричинити менінгіт, отит, пневмонію, післяопераційні нагноєння). Деякі види мають ентомопатогенні властивості та виявляють антибіотичну активність щодо бактерій, дріжджів та грибів.

До родини *Azotobacteriaceae* віднесені види, клітини яких мають тенденцію до поліморфізму — зміни морфології клітини залежно від фізіологічного стану культури та умов культивування. Деякі види утворюють цисти. Це облігатні аероби, хемоорганогетеротрофи, які виявляються в ґрунтах, на поверхні рослин та у водоймах. Характерною особливістю родини є здатність її представників фіксувати молекулярний азот. *Azotobacter chroococcum* — перший вільноживучий аеробний фіксатор молекулярного азоту, який був описаний М. Бейєринком у 1901 році. Клітини овальної форми, плеоморфні — від паличкоподібних до коків. Розташовуються парами або утворюють короткі ланцюжки, оточені загальною

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук Т.М. та ін. Сергійчук Т.М. та ін

капсулою. При старінні утворюються цисти (форма спокою). Представники роду *Azomonas* (*A. agilis*) цист не утворюють.

Родина *Rhizobiaceae* представлена двома родами — *Rhizobium* та *Agrobacterium*. Рід *Rhizobium* об'єднує симбіотичні фіксатори N_2. Це грамнегативні, хемоорганотрофні, рухомі (мають один полярний чи субполярний джгутик або перитрихальне джгутикування) паличкоподібні бактерії, особливістю яких є здатність викликати розростання тканин кореневої системи з утворенням бульбочок і фіксувати азот атмосфери, перебуваючи в симбіотичних зв'язках із бобовою рослиною. В основу класифікації бульбочкових бактерій покладена їх специфічність щодо рослини-хазяїна: *R. leguminosarum b. viceae* (бактерії гороху, вики, кормових бобів), *R. leguminosarum b. trifolii* (конюшини), *R. leguminosarum b. phaseoli* (квасолі), *R. loti* (люпину), *R. meliloti* (люцерни), *R. galegae* (козлятника). В тропічних і субтропічних широтах виявляються представники роду *Bradyrhizobium* (*B. japonicum*). Бактерії роду *Agrobacterium* — це пухлиноутворюючі фітопатогени (за винятком *A. radiobacter*). Вони викликають розростання тканин рослин у вигляді галів на кореневій системі та стеблах рослин — гал корончастий (бактеріальний), корінь волосяний, рак стебла бактеріальний. Індукція пухлин корелює з наявністю в клітинах бактерій великої пухлиноіндукуючої плазміди (Ті-плазміда). Типовий вид — *A. tumefaciens*.

Родина *Methylococcaceae* об'єднує бактерії, які використовують як єдине джерело вуглецю одновуглецеві органічні сполуки — метан або метанол. Представники родів *Methylomonas* (*M. methanica*, рухомі) і *Methylococcus* (*M. capsulatus*, нерухомі) відрізняються за морфологією та здатністю до руху.

Родина *Halobacteriaceae* об'єднує галотолерантів роду *Halomonas* (*H. elongata*), які здатні розвиватися при наявності в середовищі 0,05–20% NaCl. Метаболізм дихального типу, але деякі представники здатні до росту в анаеробних умовах з використанням нітратів як кінцевого акцептора електронів. Виділені з обладнання для добування грубої солі.

Характерною особливістю представників родини Acetobacteriaceae є здатність окиснювати спиртові розчини з утворенням оцтової кислоти. Клітини паличко- чи еліпсоподібної форми або зігнуті, розташовуються поодиноко, парами або утворюють ланцюжки клітин. Це облігатні аероби, рухомі (джгутикування перитрихальне чи латеральне) або нерухомі організми. Хемоорганотрофи, які виявляються у вині, сидрі, кефірі та ін. Родина представлена двома родами: *Acetobacter* (*A. aceti*) і *Gluconobacter* (*G. oxydans*).

До родини *Neisseriaceae* віднесено чотири роди: *Neisseria, Moraxella, Kingella, Acinetobacter*. Представники перших трьох родів — паразити слизових оболонок: *Neisseria gonorrhoeae* — збудник гонореї (рис. 6.5), *N. meningitidis* — збудник менінгіту, *Moraxella lacunata* та *Kingella kingae* — паразити слизових оболонок людини і теплокровних тварин. Ці бактерії потребують для свого розвитку складних поживних середовищ. Рід *Acinetobacter* представлений сапрофітними формами, які широко розповсюджені у природі.

Рис. 6.5. *Neisseria gonorrhoeae* (скануюча електронна мікроскопія) [рисунок запозичено Charles Brinton/National Institute of Health]

Група 5. *Факультативно-анаеробні грамнегативні палички.* Ця група об'єднує представників трьох родин: *Enterobacteriaceae, Vibrionaceae* і *Pasteurellaceae*. До родини *Enterobacteriaceae* віднесені рухомі (перитрихи), аспорогенні, хемоорганотрофні, сапрофітні та патогенні організми. Метаболізм дихального або бродильного типу. Розповсюджені в ґрунті, воді, виявляються на овочах, рослинах, в організмі людини і тварин. Деякі можуть спричиняти внутрішньолікарняні інфекції, як, наприклад, певні серотипи *E. coli*, представники родів *Klebsiella, Enterobacter, Proteus, Providencia*. Типовий рід — *Escherichia*, типовий вид — *E. coli* (кишкова паличка). Представники цього роду добре ростуть на звичайних поживних середовищах при 37 °С з утворенням колоній двох типів: S-колонії (гладенькі) — слабкоопуклі, вологі з блискучою поверхнею і рівним краєм, сіруваті, добре емульгують у сольовому розчині; R-колонії (шорсткі) — сухі, не емульгуються в сольовому розчині. Для диференціації використовують середовище Ендо, на якому кишкова паличка утворює рожеві колонії з металевим блиском, та серологічні реакції. До роду *Escherichia* відноситься також *E. blattae*.

Близькими до *E. coli* є коліформні бактерії родів *Salmonella, Shigella* і *Citrobacter*. До роду *Salmonella* належать види, які можуть бути збудниками черевного тифу (*S. typhi*), паратифу (*S. paratyphi*) та внутрішньолікарняних сальмонельозів (*S. typhimurium*). Шигели — збудники бактеріальної дизентерії: *S. dysenteriae, S. flexneri, S. sonnei*. Окремі види роду *Proteus* можуть спричинити післяопераційні ускладнення. Фітопатогенні види зустрічаються серед бактерій родів *Erwinia, Serratia, Hafnia ma Enterobacter*. Бактерії роду *Yersinia* мають овальні або паличкоподібні клітини, рухомі, але їхня рухомість залежить від температури культивування. *Y. pestis* (збудник чуми) був описаний у 1894 р. Ієрсеном.

До родини *Vibrionaceae* належать прямі або зігнуті рухомі палички, які виявляються у водоймах, на поверхні та в організмі водних тварин. Бактерії роду *Aeromonas* — мешканці прісних водойм, вони можуть викликати захворювання жаб, риб або інфікувати організм людини, що супроводжується явищами діареї та бактеріємії. *Vibrio cholerae* — збудник холери — гострого інфекційного захворювання з великою тенденцією до широкого епідемічного розповсюдження.

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук І.Т. Сівка І.М. Сергійчук Т.М. та ін

Більшість штамів бактерій роду *Photobacterium* ростуть у мінеральному середовищі, виготовленому на основі морської води за наявності D-глюкози і NH_4Cl. Два види цього роду (*P. leiognathi, P. phosphoreum*) здатні до біолюмінесценції. Ці бактерії можна виділити з морських риб. Якщо морську рибу в неглибокому посуді залити солоною водою (~ 3% NaCl) і залишити на декілька діб у холодильнику, то на поверхні риб з'являються колонії, які світяться.

Родина *Pasteurellaceae* представлена плеоморфними, нерухомими, аеробними або факультативно анаеробними бактеріями. Клітини — від кокоподібних до прямих паличок, які можуть роздуватися або формувати ниткоподібні структури. Хемоорганотрофи з дихальним і бродильним типами метаболізму. Це паразити хребетних, переважно ссавців і птахів. *Pasteurella multocida* — збудник геморагічної септицемії великої рогатої худоби, холери птахів і пневмонії сільськогосподарських тварин. *Haemophilus influenzae* — основний збудник менінгіту в дітей, а також може бути причиною запалення середнього вуха, хронічного бронхіту, пневмонії. Цей вид був описаний вперше в 1889 р. як етіологічний фактор грипу. *H. ducreyi* — збудник венеричного захворювання — м'який шанкр, або шанкроїд.

Група 6. ***Грамнегативні, анаеробні, прямі, зігнуті й спіральні бактерії.*** Це облігатні анаероби, хемоорганотрофи, нерухомі або рухомі палички, які тяжіють до плеоморфізму. Бактерії різних родів відрізняються за кінцевими продуктами бродіння: *Butyrovibrio* — з глюкози утворюють бутират; *Succinovibrio* — сукцинат, ацетат, форміат та ін.; *Fusobacterium* — масляну кислоту; *Leptotrhichia* — молочну кислоту; *Bacteroides* — суміш кислот (янтарної, оцтової, мурашиної та ін.). Бактерії цієї групи виявляються в травному тракті людини, тварин (*Selenomonas sputigena* — мешканець ротової порожнини людини; *S. ruminantium* — рубця жуйних). Окремі види *Fusobacterium* виділяються з крові та осередків нагноєння.

Група 7. ***Бактерії, які здійснюють дисиміляційне відновлення сульфату або сірки.*** До цієї групи віднесені хемолітотрофні облігатні анаероби. Сульфатредукуючі бактерії відновлюють сульфат або сірку до H_2S. Донорами електронів служать H_2 або органічні сполуки. Окиснення органічних сполук може бути неповним (з утворенням ацетату як кінцевого продукту) або повним (з утворенням CO_2). У багатьох видів донорами електронів виступають H_2, лактат, жирні кислоти, етанол або дикарбонові кислоти. Можливий автотрофний ріст за рахунок асиміляції H_2, CO_2 і сульфатів. Типові місця виявлення — безкисневі осади або придонний шар у прісних, морських чи засолених водоймах. Термофільні види зустрічаються в гарячих джерелах та підводних вивідних каналах гідротерм. Група гетерогенна за своїми морфологічними, фізіологічними та біохімічними ознаками. Термофільні сульфатредукуючі архебактерії та екстремально термофільні архебактерії віднесені, відповідно, до груп 32 та 35. До цієї групи віднесені представники декількох родів: *Desulfolobus, Desulfomicrobium, Desulfomonas, Desulfovibrio, Thermodesulfobacterium*.

Група 8. ***Анаеробні грамнегативні коки. Коки діаметром від 0,3–0,5 до 2,5 мкм***. Розташовуються парами, поодиноко, формують нехарактерні угрупу-

МІКРОБІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сегіний М.І., Скіба Г.М., Сегінчук Т.М. та ін

вання або ланцюжки нерухомих клітин. Грамнегативні, але мають тенденцію стійкості до знебарвлення. Хемоорганотрофи, вибагливі до поживних речовин. Представники родів *Acidaminococcus*, *Magasphaera* та *Veillonella* мають метаболізм бродильного типу. Для деяких родів характерно зброджування лактату з утворенням CO_2, H_2 і різних летких жирних кислот з 2–6 атомами вуглецю. Види роду *Syntrophococcus* мають дихальний тип метаболізму і потребують для свого росту наявності в середовищі цукрів як донорів електронів, а також форміату як екзогенної електрон-акцепторної системи. Виявляються переважно в організмі жуйних тварин, гризунів, свиней, а також людини. *Magasphaera cerevisiae* зустрічається в пиві при тривалому його зберіганні.

Група 9. *Рикетсії та хламідії* поділені на два порядки: *Rickettsiales* і *Chlamidiales*. Рикетсії представлені організмами, які мають клітини паличкоподібної форми, грамнегативні, нерухомі, розмножуються бінарним поділом всередині клітин хазяїна, де паразитують, не ростуть на звичайних поживних середовищах. Але кожна з цих ознак може мати певні винятки: деякі рикетсії рухомі (мають один джгутик); у фарбованих препаратах мають кільцеподібну форму; можуть фарбуватися за Грамом позитивно. Паразитичні види рикетсій асоціюються з ретикулоендотеліальними клітинами й клітинами ендотелію судин або еритроцитів крові хребетних. За несприятливих умов здатні утворювати форми спокою і дегенеративні форми. Форма спокою являє собою клітину з ущільненою клітинною стінкою і цитоплазмою. На підставі специфічності існування в організмі хазяїна їх поділяють на три родини: *Rickettsiaceae*, *Anaplasmataceae*, *Bartonellaceae*.

До родини Rickettsiaceae віднесені внутрішньоклітинні паразити, які поділяються на три триби: *Rickettsieae* (роди *Rickettsia*, *Rochalimaea*, *Coxiella*) — об'єднує патогенні форми; *Erlichieae* (роди *Erlichia*, *Cowdria*, *Neorickettsia*) — включає непатогенні для людини види; *Wolbachieae* (роди *Wolbachia*, *Rickettsiella*) — представлена непатогенними для хребетних видами, які не культивуються на безклітинних середовищах. Рикетсії триби *Rickettsieae* є збудниками багатьох небезпечних для людини захворювань — висипного тифу (*R. typhi, R. prowazekii*), кліщових п'ятнистих лихоманок (*R. sibirica*), лихоманки Q (англ. *query* — неясний), збудником якої є *Coxiella burnetii*.

Родина *Anaplasmataceae* представлена облігатними паразитами, які виявляються в еритроцитах, на поверхні еритроцитів або у плазмі крові диких і свійських хребетних — корів, кіз, оленів (роди *Anaplasma, Aegyptianella, Haemobartonella, Eperytozoon*).

Рикетсії родини *Bartonellaceae* мають паличкоподібні, сферичні або кільцеподібні клітини, які виявляються в еритроцитах або на поверхні еритроцитів людини, в клітинах тканин (рід *Bartonella*), а також в еритроцитах тварин (рід *Grahamella*).

Порядок *Chlamidiales* має родину *Chlamidiaceae* і рід *Chlamidia*. Це кокоподібні мікроорганізми (0,2–1,5 мкм) з характерним внутрішньоклітинним способом

ОБІОЛОГІЯ Том 1. Сегеничук М.Г., Скіпка І.М., Сегеничук Т.М. та ін

розмноження. Розміри клітин представників роду *Chlamidia* залежать від стадії їх життєвого циклу:

- *елементарне тільце* — невеличка електроннощільна сферула (0,2–0,4 мкм), в якої збільшується вміст РНК, а ядерний матеріал стає менш щільним;
- *ініціальне тільце* — великі, тонкостінні комірчасті сфероїди (0,8–1,5 мкм), які діляться протягом декількох генерацій і формують мікроколонії;
- *проміжне тільце* — перехідна форма між ініціальним та елементарним тільцем. Елементарне тільце — інфекційна форма, ініціальне тільце — вегетативна форма, яка діляться дробленням внутрішньоклітинно. Цикл розвитку триває 40–72 год.

При вивченні механізмів персистенції хламідій були отримані дані, згідно з якими у цитоплазматичних включеннях, окрім повноцінних інфекційних (елементарних) тілець, виявляються анормальні форми: гігантські форми, у тому числі сферопластоподібні тіла, діаметром до 5000 нм; дрібні, позбавлені клітинної стінки структури, розміром 100–250 нм; «пухирцеподібні» форми, діаметром 30–80 нм.

Вважається, що за низкою ознак хламідії займають проміжне положення між бактеріями та вірусами. Комплекс бактеріоподібних властивостей хламідій включає: збереження морфологічної суті протягом усього життєвого циклу; ділення вегетативних форм; наявність клітинної стінки грамнегативного типу бактерій; наявність ДНК, РНК, ферментативної активності; здатність фарбуватися аніліновими барвниками; чутливість до антибіотиків широкого спектра дії; наявність родоспецифічного антигена, загального для всіх хламідій.

З вірусами їх зближує: дрібні розміри (вони фільтруються через бактеріальні фільтри); нездатність до росту на штучних поживних середовищах (безклітинних субстратах); здатність до тривалої персистенції в організмі хазяїна, прояв енергетичного паразитизму.

Хламідії — паразити людини, ссавців, птахів; вони викликають ряд захворювань у людини — трахому, венеричну лімфогранулому, інклюзійний кон'юнктивіт (*C. trachomatis*), орнітоз (*C. psittaci*). У 1998 р. Юридичною комісією Міжнародної асоціації мікробіологічних товариств офіційно визнано третій вид хламідій — *C. pneumoniae*, який викликає респіраторну патологію людини. У 1990 р. японськими мікробіологами описаний четвертий вид — *C. pecorum*, з яким пов'язують розвиток патології суглобів.

Група 10. *Аноксигенні фототрофні бактерії* — фотосинтезуючі бактерії, які характеризуються специфічним набором пігментів, таких як бактеріохлорофіли і каротиноїди, та особливим типом фотосинтезу, який не супроводжується виділенням кисню (аноксигенний). Морфологічно це гетерогенна група — коки, палички, звивисті форми, нерухомі й рухомі. Клітини розташовуються поодиноко або в угрупуваннях правильної чи неправильної форми. Зустрічаються також одноклітинні або однорядні багатоклітинні нитчасті форми. Довжина клітини коливається в межах 1,0–5,0 мкм (інколи досягає 100 мкм), а її товщина —

0,3–6,0 мкм. Ендоспор не утворюють, грамнегативні, розмножуються бінарним поділом, деякі види (*Rhodopseudomonas palustris*, *R. viridis*) — брунькуванням.

Фотосинтетичні пігменти можуть бути локалізовані в: ЦПМ (*Heliobacillus* — мають джгутики, *Heliobacterium* — мають ковзний тип руху); цитоплазматичних мембранних структурах (*Amoebobacter*, *Chromatium*, *Thiospirillum*); хлоросомах (*Chlorobium*, *Ancalochloris*, *Chloroflexus*, *Chloronema*).

Енергетичний метаболізм більшості видів протікає при освітленні (фотосинтез), але в деяких видів може відбуватися в темряві або за наявності кисню (окиснення, *Thiocapsa*) чи в анаеробних умовах при ферментативному перетворенні органічних сполук (деякі пурпурові бактерії).

Група 11. ***Оксигенні фототрофні бактерії***. До цієї групи віднесені ціанобактерії і прохлорофіти.

Ціанобактерії (раніше відомі як синьозелені водорості) — сферичні, паличкоподібні, зігнуті одноклітинні, колоніальні і багатоклітинні (нитчасті), грамнегативні організми, які мають ригідну клітинну стінку, покриту капсулою, і ковзний тип руху (*Chroococcales*, *Pleurocapsales*, *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigonematales*). Розмножуються бінарним поділом, брунькуванням, гормогоніями, спорами, акінетами, уламками трихом. У тилакоїдах виявляється комплекс фотосинтетичних пігментів — хлорофіл ***а***, алофікоціанін, фікоціанін, фікоеритрини.

Порядок *Prochlorales* (прохлорофіти) об'єднує одноклітинні або нитчасті (розгалужені чи нерозгалужені) прокаріоти, які нагадують ціанобактерії, але, на відміну від останніх, містять хлорофіли ***а*** та ***в*** і позбавлені додаткових червоних чи синіх білінових пігментів. Виявляються виключно як позаклітинні симбіонти в асоціаціях з колоніальними асцидіями в тропічних чи субтропічних морських середовищах.

Група 12. ***Аеробні хемолітотрофні бактерії і родинні організми***. Ця група прокаріотів поділена на три підгрупи: 1) безбарвні сіркоокиснюючі бактерії; 2) залізо- і марганець окиснюючі і/або бактерії, які їх осаджують; 3) нітрифікуючі бактерії.

Безбарвні сіркоокиснюючі бактерії представлені всіма відомими морфологічними формами. Здатні до росту при pH від 1,0 до 10,5. Грамнегативні, хемолітотрофи, які виявляються в місцях, де є відновлені сполуки сірки: ґрунт, на межі аеробних і анаеробних зон водойм, вивідних каналах гідротерм (*Macromonas*, *Thiobacterium*, *Thiobacillus*).

Залізо- і марганець окиснюючі і/або бактерії, що їх осаджують,— це гетерогенна група мікроорганізмів, які часто утворюють специфічні агрегати. В таких агрегатах визначаються структури, забарвлені оксидами заліза або марганцю. Клітина паличкоподібна (*Thiobacillus*), паличка зігнута (*Leptospirillum*), коки неправильної форми (*Sulfolobus*). Клітина може мати вирости у вигляді простек (простекобактерії — *Hyphomicrobium*) або стеблинок (стеблинкові бактерії — *Gallionella*). Зустрічаються нитчасті бактерії з чохлами, просоченими оксидами (*Lepthothrix*). За Грамом фарбуються позитивно чи негативно або не мають

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Серійчук М.І., Сквірська М.І., Серійчук Т.М. та ін

клітинної стінки. Це мікроаерофіли, але деякі з них ростуть при звичайних парціальних тисках O_2.

Залежно від субстрату, який окиснюється, нітрифікуючі бактерії поділяються на дві секції: секція ***A*** — бактерії, які окиснюють нітрит (*Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*) і секція ***B*** — бактерії, які окиснюють аміак (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*).

Група 13. Бактерії, які брунькуються і/або мають вирости. До цієї групи віднесені незвичної форми бактерії з виростами та складними клітинними циклами (рис. 6.6).

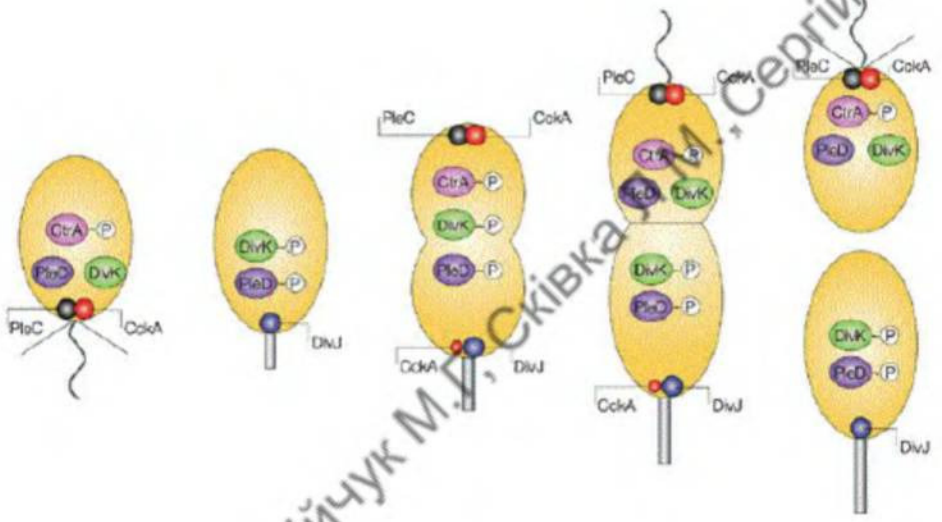


Рис. 6.6. Життєвий цикл *Caulobacter* [http://www. nature. com/]

У межах групи виділяють три підгрупи.

Підгрупа 1. *Простекобактерії* — це одноклітинні бактерії, які утворюють одну або більше простек на клітину. Розмноження відбувається шляхом брунькування або бінарного поперечного поділу. Клітини без простек паличкоподібні, вібріоїдні, кокоподібні або тетраедричні. Простеки можуть надавати клітині форму булави, зірки, спіралі. Гетеротрофи, більшість представників — аероби (*Caulobacter*, *Dichotomicrobium*, *Hyphomicrobium*, *Pedomicrobium*, *Prosthecomicrobium*, *Stella*), деякі — факультативні анаероби (*Ancalomicrobium*). Олігокарбофіли, добре ростуть на розведених середовищах. Одні види краще ростуть за наявності дріжджового екстракту, інші — потребують вітаміни. Виявляються у водоймах та ґрунтах.

Підгрупа 2. Порядок *Planctomycetales* — це одноклітинні бактерії, які утворюють розетки або нитки. Клітини кокоподібні, овальні або грушоподібні. Розмножуються брунькуванням, можуть утворювати вирости, які називаються

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

стеблинками. Виявляються в прісних, морських та інших солоних водоймах (*Planctomyces*).

Підгрупа 3. Бактерії, які брунькуються і/або мають вирости. Так, представники роду *Nevskia* мають довгі (1,0–6,0 х 3,0–12,0 мкм), паличкоподібні клітини з прозорими стеблинками. Стеблинки — це капсульна речовина, яка виділяється з одного боку клітини. Після завершення бінарного поперечного поділу дочірні клітини утримуються разом стеблинками, утворюючи Y-подібні гілки. В природних середовищах вони виявляються у вигляді агрегатів, які нагадують цвітну капусту (*N. ramosa*).

Група 14. *Бактерії, які мають чохол.* Ростуть у вигляді ланцюжків клітин — ниток, завширшки 0,4–7,0 мкм. Грамнегативні. Нитки ростуть у трубочках з позаклітинного матеріалу, котрий класифікується як чохол. Інколи чохол настільки тоненький, що його важко виявити при фазово-контрастній мікроскопії. Чохли, в результаті осадження оксидів заліза й марганцю, можуть бути забарвленими. Бактерії, які виявляють здатність до руху, мають джгутики. Аероби. Хемоорганогетеротрофи. Деякі осаджують оксиди заліза та марганцю в чохлі або на його поверхні, можуть окиснювати Fe(II) і Mn(II). Виявляються у водних середовищах. Представники роду *Crenothrix* мають клітини від циліндричних до дископодібних, діляться шляхом утворення поперечних перетинок і формують нитки завдовжки до 1 см, у чохлах, які можуть прикріплюватися до щільного субстрату. Чохол може бути безбарвним на вершині або покритий оксидом заліза чи марганцю в основі. В нитках можна спостерігати збільшення поперечного септування на одному чи обох кінцях з утворенням сферичних клітин розмноження —«макрогонідій».

Група 15. *Нефотосинтезуючі ковзні бактерії, що не утворюють плодових тіл.* Група морфологічно гетерогенна — включає бактерії у формі коків, спіралей, довгих гнучких паличок, покритих чи непокритих чохлом ниток, гнучких трихом і розеток, які здійснюють ковзний рух. Деякі представники можуть мати газові вакуолі, інші містять включення сірки. Бактерії роду *Beggiatoa* ростуть хемоавтотрофно, всі інші — хемогетеротрофно, деякі здатні до міксотрофного росту. Серед них є одноклітинні паличкоподібні (*Cytophaga*, *Flexibacter*, *Sporocytophaga*), плоскі нитчасті (*Alysiella*) та сіркоокиснюючі ковзні бактерії (*Achromatium*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*).

Група 16. *Ковзні бактерії, які утворюють плодові тіла: міксобактерії.* Паличкоподібні грамнегативні бактерії, які здатні до ковзного руху, утворюють плодові тіла і стійкі до висушування міксоспори. Клітини (0,6–1,2 х 2,0–10,0 мкм) двох морфологічних типів: а) тонкі гнучкі палички зі звуженими кінцями; б) відносно товсті палички циліндричної форми із заокругленими кінцями. В результаті ковзного руху клітин колонії міксобактерій розповсюджуються по поверхні субстрату, і тому вони мають назву швармів. Всередині шварма клітини розподілені нерівномірно, концентруючись у радіальних тяжах або в масивних складках по периферії шварма.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сегеничук М.І., Скківка П.М., Сегеничук Т.М. та ін

В умовах голодування клітини скупчуються або агрегують у певних ділянках шварма, утворюючи великі глобулярні або гребнеподібні маси, які містять 10^4–10^6 клітин. Ці маси диференціюються в плодові тіла, форма й будова яких залежить від виду. Плодові тіла можуть бути простими, без спорангіолей (*Myxococcus*, *Angiococcus*, *Archangium*), і складними, тобто складатися з кількох одиниць (*Cystobacter*, *Stigmatella*, *Polyangium*, *Chondromyces*). Розмір плодових тіл варіює від 100 до 600 мкм. При дозріванні плодового тіла вегетативні клітини перетворюються на міксоспори — форма спокою (стара назва — мікроцисти).

За типом живлення міксобактерії — хемоорганотрофи, здатні до деструкції різних біомакромолекул. Виявляються в ґрунтах, деревині, корі живих і відмерлих дерев, воді.

Група 17. *Грампозитивні коки*. Це численна і гетерогенна група мікроорганізмів, які об'єднані в одну на підставі таких загальних ознак, як сферична форма клітини і позитивна реакція при фарбуванні за Грамом. Серед них є аероби (*Micrococcus*, *Planococcus*, *Deinococcus*), факультативні анаероби (*Staphylococcus*, *Stomatococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*), анаеробні роди (*Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Coprococcus*, *Sarcina*).

Систематично група має дві родини (*Micrococcaceae* і *Deinococcaceae*) і ряд родів, які займають незалежне систематичне положення.

Родина *Micrococcaceae* включає об'єкти з досить різноманітними харчовими потребами. Вони ростуть при вмісті в середовищі 5 % NaCl, а деякі штами здатні розвиватися за наявності 10 % NaCl. Деякі види патогенні для людини і тварин. До цієї родини віднесені роди *Micrococcus* (*M. lylae*, *M. roseus*, *M. agilis*, *M. kristinae*), *Stomatococcus* (*S. mucilaginosus*), *Planococcus* (*P. citreus*), *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. warneri*).

До роду *Staphylococcus* віднесені представники, які мають сферичну форму клітини діаметром 0,5–1,5 мкм. У препаратах виявляються поодинокі клітини, інколи вони розташовуються парами або утворюють характерні угруповання (грона винограду), що є результатом поділу клітини більш як в одній площині. В клітинних стінках визначається як пептидоглікан, так і тейхоєві кислоти. Діамінокислотою пептидоглікану є L-лізин. Оптимальна температура росту — 35–40 °С, температурний діапазон росту— 15–45 °С. Оптимум pH— 7,0–7,5, межі pH — від 4,2 до 9,3. Представники деяких видів (*S. aureus*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. epidermidis*) проявляють гемолітичну активність.

Родина *Deinococcaceae* представлена одним родом — *Deinococcus* (*D. radiodurans*), клітини представників якого мають сферичну форму (діаметр 0,5–3,5 мкм), розташовуються парами, а частіше формують тетради. Нерухомі, хемоорганотрофи з дихальним типом метаболізму.

- За такими ознаками, як здатність до росту при 10 °С і 45 °С, у середовищі з 6,5 % NaCl, при pH 9,6, у середовищі, котре містить 40 % жовчі, спричиняти α–піогенні стрептококи (*S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. equi*, *S. pneumoniae*);

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скварко І.М., Сергійчук Т.М. та ін

- стрептококи ротової порожнини (*S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. sobrinus*);
- ентерококи (*S. faecalis*, *S. faecium*);
- молочнокислі стрептококи (*S. lactis*, *S. raffinolactis*);
- анаеробні стрептококи (*S. hansenii*, *S. pleomorphus*);
- інші стрептококи (*S. thermophillus*, *S. bovis*).

Представники роду *Leuconostoc* (*L. mesenteroides*, *L. paramesenteroides*, *L. lactis*) мають клітини сочевицеподібної форми, розташовуються парами або формують ланцюжки, нерухомі, хемоорганотрофи, які потребують багатих поживних середовищ. Оптимальна температура росту— 20–30 °С, але здатні рости в температурних межах 5–30 °С. На середовищах із сахарозою (α-глюкозил-β-фруктоза) продукують значну кількість слизу, чим завдають значних збитків при виробництві цукру — «хвороба жаб'ячої ікри».

До роду *Sarcina* віднесені представники, які мають майже сферичні клітини (1,8–3,0 мкм) і утворюють характерні угрупування — пакети, що містять 8, 16, 32… клітини. Нерухомі, пігменти не синтезують. Метаболізм бродильного типу, облігатні анаероби. *S. ventriculi* виділяється з ґрунту, організму людей із хворим шлунком, поверхні насіння злакових. Клітина має додатковий зовнішній целюлозний шар. *S. maxima* виділяється з насіння злакових, клітина не має зовнішнього додаткового шару.

Група 18. ***Грампозитивні палички й коки, які утворюють ендоспори.*** Таксономічні зв'язки в межах цієї групи вивчені недостатньо. Клітини більшості представників мають паличкоподібну форму. Виняток становлять штами, віднесені до роду *Sporosarcina*; вони представлені кокоподібними клітинами, які здатні до утворення тетрад або пакетів. Товщина клітини більшості представників коливається в межах 0,3–2,0 мкм. Винятком є штами роду *Oscillospira*, діаметр клітин яких досягає 3,0–6,0 мкм клітини мають паличкоподібну форму або утворюють нитки, розділені перетинками на дископодібні клітини.

Більшість фарбується за Грамом позитивно, але можуть бути грамваріабельні або грамнегативні. Як правило, рухомі, з перитрихальним типом джгутикування. Метаболізм та екологія різних представників сильно варіює. До даної групи віднесено ряд родів, які займають незалежне систематичне положення: *Amphibacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Oscillospira*, *Sporohalactobacter*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina*, *Sulfobacillus*. За відношенням до кисню ендоспороутворюючі бактерії представлені всіма типами: облігатні аероби (*Sporosarcina*), аероби та факультативні анаероби (*Bacillus*), факультативні анаероби (*Sporolactobacillus*), облігатні анаероби (*Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Oscillospira*). Серед представників цієї групи є збудники маслянокислого (*Clostridium butyricum*) та ацетонобутилового бродіння (*C. acetobutylicum*), уролітичні бактерії (*Sporosarcina ureae, Bacillus pasteurii*), вільноживучі фіксатори молекулярного азоту (*C. pasteurianum*), продуценти антибіотиків, зокрема граміцидину С (*B. brevis var. G.-B.*), поліміксину (*B. polymyxa*), субтиліну (*B. subtilis*), а також ферментів — протеаз (*B. subtilis*), амілаз (*B. licheniformis*), амінокислот —

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук А.М., Сківка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

L-глутамату (*B. megaterium*), L-триптофану (*B. subtilis*), ентомоцидних токсинів (*B. thuringiensis*) та інших біологічно активних речовин.

Екологічно — це космополіти, які виявляються в ґрунті, мулі, прісних та солоних водоймах, на тваринних і рослинних рештках, в організмі комах, тварин та людини. Є патогенні для людини види: *B. anthracis* — збудник сибірки; *C. botulinum* — збудник ботулізму; *C. perfringens* — збудник газової гангрени; *C. tetani* — збудник правцю. Деякі представники роду *Bacillus*, які вважались сапрофітами, віднесені до умовно патогенних бактерій — *B. cereus*. В останні роки описано ряд захворювань, які провокуються *B. subtilis*.

Група 19. *Грампозитивні неспороутворюючі палички правильної форми*. Бактерії, віднесені до даної групи, мають паличкоподібну форму, яка може варіювати від коротких паличок (майже коків) до довгих паличок, ниток або трихом, але всі вони мають правильну форму — плеоморфізм виражений слабо. Клітини грампозитивні, спор не утворюють, рідко пігментовані. Організми цієї групи — мезофіли, факультативні або облігатні анаероби, які здійснюють гомо- або гетероферментативне молочнокисле бродіння, здатні рости лише на складних поживних середовищах. Зустрічаються, як правило, в асоціаціях із рослинами чи тваринами або в органічній речовині, що розкладається. Є патогенні організми. Особливий інтерес мають представники роду *Lactobacillus* і *Listeria*. Бактерії роду *Lactobacillus* виявляються в молоці, змивах молокопереробного обладнання, зернових і м'ясних продуктах, вині, фруктових соках, ротовій порожнині, кишковому тракті людини. Клітини — від довгих до коротких паличок (кокобацил), часто утворюють ланцюжки. Нерухомі, якщо рухомі, то мають перитрихальний тип джгутикування. Грампозитивні, але при старінні культури і при підвищенні кислотності середовища за Грамом не фарбуються. При зброджуванні цукрів утворюють лактат (до 50 %), ацетат, форміат, сукцінат, етанол та CO_2. Типовим видом роду є *L. delbrueckii*.

Типовий вид роду *Listeria* — *L. monocytogenes* — є збудником лістеріозу — гострого інфекційного захворювання, яке супроводжується ураженням заглоткових та інших залоз, мононуклеарною реакцією білої крові. Захворювання часто протікає з явищами септицемії.

Група 20. *Грампозитивні неспороутворюючі палички неправильної форми*. Більшість представників даної групи представлені грампозитивними паличками (*Acetobacterium*, *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Bifidobacterium*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*) неправильної форми, аероби (*Arthrobacter*, *Brevibacterium*), деякі рухомі. Інші — факультативні анаероби (*Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*), облігатні анаероби (*Acetobacterium*, *Acetogenium*, *Bifidobacterium*) або грамнегативні (*Acetogenium*).

Група 21. *Мікобактерії*. До цієї групи віднесений рід *Mycobacterium*. Клітини паличкоподібної форми, кислотостійкі, аеробні, ростуть повільно, вільноживучі або паразити хребетних. Кислотостійкість зумовлена наявністю восків у складі клітинної стінки, що особливо важливо при визначені мікобактерій. Клітини мікобактерій можуть утворювати нитки, які нагадують міцелій, але вони легко

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

розпадаються на палички або коки. За Грамом фарбуються із затрудненням, але вважається, що вони грампозитивні. Нерухомі, аероби і хемоорганотрофи. Типовий вид — *M. tuberculosis*.

Мікобактерії здатні до утворення спор. При цьому плазма розпадається на окремі ділянки (фрагменти), які стискаються й ущільнюються. Такі фрагменти і є самостійними зародковими тільцями — спорами. На утворення спор витрачається весь вміст клітини. При формуванні спор оболонка клітини ослизнюється, стає менш помітною, майже зникає, а спори вивільнюються. За способом утворення і біологічним значенням спори мікобактерій суттєво відрізняються від таких у ендоспороутворювальних бактерій. В клітині мікобактерій утворюються не одна, а декілька нестійких до дії несприятливих факторів спор.

До груп 22–29 віднесені ***актиноміцети*** — це грампозитивні бактерії, які здатні до утворення ниток (галуження) діаметром 0,5–1,0 мкм. Нитки можуть розпадатися на елементи різних розмірів або зберігатися цілими й утворювати артроспори. Спори поодинокі, в ланцюжках різної довжини або в спорангіях, як правило, нерухомі, але в деяких родів спори мають джгутики. Роди актиноміцетів відрізняються морфологічними ознаками (наприклад, формою спороносців), а також наявністю маркерних хімічних компонентів клітинної стінки, мембран і гідролізатів цілих клітин. У більшості випадків це аероби, але деякі роди представлені факультативними чи облігатними анаеробами. Хемогетеротрофи. Деякі види патогенні для людини, тварин і рослин.

Нокардіоформні актиноміцети утворюють нитки, які розпадаються на короткі елементи. Деякі роди утворюють повітряний міцелій з ланцюжками спор. Поділ на роди базується, перш за все, на хемотипі клітинної стінки, наявності чи відсутності міколових кислот та інших хімічних характеристиках. Ця підгрупа представлена родами *Nocardia* і *Rhodococcus*. Вегетативні гіфи роду *Nocardia* від рудиментарних до сильно розгалужених, діаметром 0,5–1,2 мкм, які ростуть на поверхні і проникають у товщу агаризованого середовища. Гіфи часто розпадаються на бактероїдні елементи — від паличко- до кокоподібних. Майже завжди утворюють повітряні гіфи. На повітряних, а інколи на субстратних гіфах виявляються ланцюжки спор. За Грамом фарбуються позитивно або варіабельно. Аероби, частково кислотостійкі. Колонії мають плівчасту або бархатисту поверхню, коричневого, рижувато-коричневого, рожевого, оранжевого, червоного, пурпурового, сірого або білого кольору, гладенькі або зернисті. У представників роду *Rhodococcus* можливе утворення різних морфологічних форм — від паличок до розгалуженого вегетативного міцелію. Морфогенетичний цикл розпочинається із стадії коків або коротких паличок, які переходять у послідовний ряд морфологічних змін, котрі завершують життєвий цикл. Так, коки можуть проростати в короткі палички, утворювати нитки з бічними виростами чи елементами галуження або сильно розгалужені гіфи. Наступна генерація коків або коротких паличок утворюється при фрагментації паличок, ниток та гіф. Грампозитивні, частково кислотостійкі, аероби.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сегеда М.І., Сквіра М.І., Сегедін Ю.М. та ін.

До родів із багатогніздними спорангіями віднесені: *Dermatophilus*, *Frankia*, *Geodermatophilus*. Повітряний міцелій у представників роду *Dermatophilus* розвивається в атмосфері CO_2. Субстратний міцелій складається з довгих, звужених на кінці ниток, які галузяться латерально під прямими кутами. Перегородки, які утворюються у поперечній, горизонтальній і вертикальній площинах, дають початок восьми паралельним рядам кокоподібних клітин (спор), кожна з яких рухається за допомогою джгутика. Грампозитивні, аероби і факультативні анаероби, які ростуть на складних поживних середовищах. Паразити ссавців (переважно сільськогосподарських тварин). *D. congolensis* є збудником ексудативного дерматиту. Представники роду *Frankia* не утворюють повітряного міцелію. Вегетативні гіфи слабко або сильно галузяться. Багатогніздні спорангії, округлі або неправильної форми, утворюються термінально, латерально чи інтеркалярно на вегетативних гіфах. Спорангіоспори нерухомі, розміром 1,0–5,0 мкм, від не зафарбованих до чорних. Міколати не виявляються. Аероби або мікроаерофіли. Ростуть повільно (час генерації 1–7 діб). Більшість штамів здатні фіксувати атмосферний азот in vitro і в рослинах — вони є симбіонтами ряду покритонасінних рослин, які індукують утворення бульбочок (*F. alni*).

Актиноплани утворюють тонкий збіднений міцелій, який галузиться, але не розпадається. Утворюють пігменти різних кольорів, які добре дифундують у середовище. Спори сферичної форми утворюються всередині спорангіїв (спорових везикул), розташовані на спорангіофорах або сидячі. При потраплянні у воду спори вивільнюються із спорангіїв, рухаються за рахунок полярних джгутиків. Грампозитивні, але частина гіф може не фарбуватися за Грамом. Виявляються в ґрунті та рослинному матеріалі, який розкладається — *Actinoplanes philippinensis*. Представники роду *Micromonospora* мають добре розвинутий, розгалужений і септований міцелій діаметром 0,5 мкм. Нерухомі спори утворюються по одній на коротких або довгих спороносцях, які часто розташовані розгалуженими пучками. Спороносці утворюються моноподіально чи симподіально. Повітряний міцелій не виявляється. Грампозитивні, не кислотостійкі, хемоорганотрофи. Виявляються в ґрунтах, воді, морському середовищі, мулі — *M. chalcea*.

Стрептоміцети і близькі роди. Актиноміцети цієї групи утворюють міцелій, який галузиться (діаметром біля 1,0 мкм) і має тенденцію розпадатися на фрагменти. Рід *Streptomyces* має вегетативні гіфи діаметром 0,5–2,0 мкм, які утворюють сильно розгалужений міцелій, котрий рідко розпадається на фрагменти (*S. albusi*, *S. antibioticus*, *S. diastaticus*, *S. albidoflavus*, *S. griseoviridis*). Повітряний міцелій у зрілому стані несе ланцюжки з трьох чи більше нерухомих спор. Деякі види можуть формувати склероціо, пікнідіо- і спорангіоподібні структури. Колонії шкірясті або маслянисті. Поверхня колонії на початку гладенька, але з часом формується переплетення повітряного міцелію, яке може бути пластівцевого, зернистого, порошкоподібного чи бархатистого типу. Утворюють різні пігменти, які визначають колір субстратного і повітряного міцелію. Часто синтезують також пігменти, які дифундують у середовище. Багато штамів про-

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук Н.І., Скіцька Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

дукують один або декілька антибіотиків. Оптимум температури — 25–35 °С, оптимальний для росту діапазон pH — 6,5–8,0. Широко розповсюджені в ґрунті, включаючи компости. Деякі види патогенні для тварин і людини, інші — фітопатогени. Рід *Streptoverticillium* має розгалужений субстратний міцелій діаметром 0,8–1,2 мкм. Повітряний міцелій складається з довгих прямих гіф, на яких розташовані мутовки гілочок. Кожна гілочка-мутовки має на кінчику зонтик з ланцюжка сферичних та еліпсоподібних шипуватих чи волосистих спор (*S. baldaccii*, *S. griseocameum*, *S. viridoflavum*).

Група 30. *Мікоплазми (або молікути): бактерії без клітинної стінки.* Мікоплазми не мають істинної клітинної стінки, не здатні синтезувати таких її попередників, як мурамова і диамінопімелінова кислоти. Клітини дуже дрібні, інколи до ультрамікроскопічних (~200 нм), плеоморфні. Морфологічно — від коків до ниток, які здатні до утворення міцелієвидних структур. Розмноження відбувається за рахунок утворення у нитках кокоподібних структур — елементарних тілець, визначається також бінарний поділ і брунькування. За Грамом не фарбуються.

Мікоплазми (відділ *Tenericutes*) об'єднані у клас *Mollicutes*, який має порядок *Mycoplasmatales* з трьома родинами: *Mycoplasmataceae*, *Acholeplasmataceae* і *Spiroplasmataceae*. Поділ мікоплазм на родини базується на їх вимогах до стеринів, стійкості до дигітоніну, наявності лактатдегідрогенази, величині геному, здатності до синтезу жирних кислот з ацетату тощо. Так, стеринзалежні мікоплазми родини *Mycoplasmataceae* потребують стеринів, які є основним компонентом мембранних ліпідів паразитичних форм. Стеринзалежні мікоплазми родини *Spiroplasmataceae* із спіралевидною формою клітини характеризуються в деяких фазах (у *lag*-фазі — сферичні й короткі спіральні форми, в стаціонарній — довгі спіральні форми) здатністю до обертального і гвинтоподібного руху (джгутики чи аксіальні фібрили відсутні).

Родина *Mycoplasmataceae* представлена двома родами — *Mycoplasma* і *Ureaplasma*. Діаметр кулястої клітини коливається від 125 до 250 нм, а довжина ниткоподібних форм може досягати 150 мкм. При старінні культури нитки розпадаються на ланцюжки кокоподібних клітин. На щільних поживних середовищах вони утворюють дрібні, напівсферичні, сплющені колонії діаметром 10–600 мкм, інколи колонія досягає 4 мм. Типові колонії двофазні і мають вигляд «вилитої яєчні». Вони складаються з каламутної, гранулярної центральної частини, яка врастає в середовище, і плоскої периферійної зони, яка просвічується. Розмножуються бінарним поділом, брунькуванням або множинним вивільненням елементарних тілець. *Елементарні тільця* — це структури ~ 100 нм, які виявляються в загальній масі колонії. Вважається, що вони утворюються внаслідок якихось дегенеративних процесів, які мають місце в екстремальних умовах, тобто в умовах, коли клітина має загинути. При загибелі клітини вивільнюються частинки типу спор, котрі, потрапивши в оптимальні умови, дають початок новому поколінню. Мікоплазми є паразитами широкого кола хазяїв — ссавців і птахів.

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.Г., Сквіка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

Вони можуть викликати гострі і хронічні патологічні процеси, які протікають за типом латентних інфекцій. Доведена роль у патології людини *M. pneumoniae. M. hominis* часто висівається з урогенітального тракту і, можливо, провокує уретрити та інші запальні процеси. *M. arthritidis* висівається із синовіальної рідини уражених суглобів. *M. salivarium* і *M. oral* є коменсалами ротової порожнини. Типовим видом роду є *M. agalactiae*. Особливістю представників роду *Ureaplasma* є здатність гідролізувати сечовину — *U. diversum*, *U. felinum*, *U. urealiticum*.

Ахолеплазми не потребують для свого розвитку стеринів. На щільних поживних середовищах вони утворюють досить великі колонії (~3 мм). Це факультативні анаероби, хемоорганотрофи з бродильним типом метаболізму. Серед них є вільноживучі сапрофіти, паразити і, можливо, патогени ссавців і птахів. Типовий вид — *Acholeplasma laidlawii*.

Вперше опис родини *Spiroplasmataceae* був зроблений І. Г. Скрипалем (1978). Діаметр сферичної клітини коливається від 0,1 до 0,25 мкм. У рідкому середовищі домінують спіральні клітини діаметром ~0,12 мкм і завдовжки до 2–4 мкм. На щільних середовищах формуються округлі, неспіралеподібні форми. На щільних субстратах утворюють колонії, характерні для мікоплазм,— типу яєчні з чіткими краями. На середовищі з вологою поверхнею формуються гранульовані колонії з дифузною межею. По краях колонії з'являються «дочірні» колонії, які утворюються в результаті пересування окремих клітин з первинної колонії. Розмір колонії коливається в межах 0,2 мм. Факультативні анаероби. Температурний діапазон — 20–37 °С, температурний оптимум — 32 °С. Виділяються з листків цитрусових рослин, але захворювання не відтворюється експериментально. Типовий вид — *Spiroplasma citri*.

Група 31. *Метаногени*. Представлена грамнегативними або грампозитивними бактеріями, але клітинна стінка немає ні муреїну, ні зовнішньої мембрани. Мембрани складаються з ізопреноїдів, зв'язаних ефірними зв'язками. Облігатні анаероби. Хемоавтотрофи або хемогетеротрофи, які завжди утворюють *метан* як продукт метаболізму. Ніякі інші організми, крім метаногенів, метан не утворюють. Як джерело вуглецю й енергії використовують $H_2 + CO_2$, форміат, ацетат, сполуки, які містять метильну групу (метанол, метиламіни, метилсульфіди) та ін. Клітина може бути паличко-, ланцето- або кокоподібної форми, асимілюють $H_2 + CO_2$, форміат або H_2 + метанол. Клітинна стінка містить псевдомуреїн — *Methanobacterium* (*M. formicicum*), *Methanobrevibacter* (*M. ruminantium*), *Methanosphaera* (*M. stadtmanae*), *Methanothermus* (*M. fervidus*). Бактерії, які мають клітини коко-, паличко-, спірале- або пластинкоподібної форми, використовують $H_2 + CO_2$, форміат або спирти + CO_2, а клітинні стінки не містять псевдомуреїну, віднесені до родів: *Methanococcus* (*M. vannielii*), *Methanogenium* (*M. cariaci*), *Methanomicrobium* (*M. mobile*), *Methanospirillum* (*M. hungatei*). Псевдосарцини, коки або покриті чохлом палички, які використовують як субстрат для росту триметиламін або ацетат, складають підгрупу, яка об'єднує роди: *Methanococcoides* (*M. methylutens*), *Methanolobus* (*M. tindarius*), *Methanosarcina* (*M. barkeri*).

Біологія. Сергійчук І.М., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Група 32. ***Сульфатредукуючі археї.*** Мають клітини неправильної форми, часто трикутні, діаметром 0,4–1,3 мкм, поодинокі, у парах, із джгутиками або без них. За Грамом не фарбуються. При освітленні світлом із довжиною хвилі 420 нм дають блакитно-зелену флуоресценцію. На щільних середовищах утворюють зеленкувато-чорні гладенькі колонії діаметром 1–2 мм. Облігатні анаероби. Хемолітотрофи, хемоорганотрофи або хемоміксотрофи. Для автотрофного росту потребують тіосульфат і H_2, у присутності сульфату ріст слабкий. Утворюють H_2S. Можуть відновлювати S^0. Температурний діапазон росту 60–9 °5С, температурний оптимум — біля 83 °С. Діапазон pH — 4,5–7,5, оптимум — 6,0. Виділяються з мілководних і глибоководних морських гідротермальних екосистем. До даної групи віднесено рід *Archaeoglobus* (*A. fulgidus*).

Група 33. ***Екстремально галофільні аеробні архебактерії*** **(*галобактерії*).** Представлені організмами кокоподібної форми (0,8–2,0 мкм) або неправильних паличок (0,3–1,2 х 1,0–15,0 мкм). Рухомі за рахунок пучків полярних джгутиків або нерухомі. Грамнегативні (палички) або грамваріабельні (коки). Паличкоподібні клітини лізуються при суспендуванні в дистильованій воді. Колонії забарвлені в червоний колір різних відтінків за рахунок вмісту в клітинах каротиноїдних пігментів. Аероби, але деякі представники здатні до анаеробного росту в присутності нітрату. Хемогетеротрофи, потребують для росту не менш як 1,5 М NaCl; для більшості оптимальна концентрація NaCl — 2,0–4,0 М. Виявляються в солоних і лужних озерах, солеварнях та засолених ґрунтах: *Halobacterium* (*H. salinarium*), *Halococcus* (*H. morrhuae*), *Natronobacterium* (*N. gregoryi*), *Natronococcus* (*N. occultus*).

Група 34. ***Архебактерії, позбавлені клітинної стінки.*** Група представлена родом *Thermoplasma*, який об'єднує плеоморфні клітини з варіаціями форми від сферичної (0,1–5,0 мкм) до ниткоподібної. Клітини позбавлені клітинної стінки і оточені лише клітинною мембраною завтовшки біля 7 нм. Ліпіди клітинної мембрани представлені дибіфітанильними (C_{40}) дигліцерольними тетраефірами. Грамнегативні, можуть бути рухомими за рахунок джгутиків. Облігатні термофіли (діапазон температур для росту 33–67 °С); облігатні ацидофіли (ростуть при pH 0,5–4,0). При нейтральних pH відбувається лізис клітини. Факультативні анаероби. Анаеробний ріст стимулюється елементарною сіркою, яка відновлюється до H_2S. Поширені у вугільних териконах. Типовий вид — *T. acidophilum*.

Група 35. ***Екстремальні термофіли і гіпертермофіли, які метаболізують*** **S^0.** Це грамнегативні рухомі або нерухомі палички, нитки, коки або клітини дископодібної форми. Серед них є аероби, факультативні або облігатні анаероби. Ростуть хемоавтотрофно або хемогетеротрофно. В анаеробних умовах окиснюють H_2S або S^0 до H_2SO_4. Донорами електронів служать H_2 або органічні речовини. Діапазон температур для росту — 45–110 °С, оптимальна температура — 70–105 °С. Поширення — континентальні сольфатарні поля або морські гідротермальні системи. Група розділена на три підгрупи. Підгрупа 1 об'єднує

БІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук І.І., Скварко М.М., Сергійчук Т.М. та ін

термоацидофільні аеробні або факультативно анаеробні кокоподібні організми, які ростуть при pH нижче 4,0: рід *Acidianus* (*A. infernus*, температурний оптимум — 88 °С, максимальна температура для росту — 96 °С; *A. brierleyi*, оптимальна температура для росту — 70 °С, максимальна — 75 °С); рід *Sulfolobus* (*S. acidocaldarius*, діапазон температур — 55–87 °С, діапазон pH — 1,0–6,0). До підгрупи 2 віднесені паличко- або нитковидні бактерії, облігатні анаероби, які ростуть при pH більше 4,0. Рід *Thermofilum* (*T. pendens*, клітини паличкоподібної форми діаметром 0,15–0,35 мкм і завдовжки від 1,0 до >100 мкм; діапазон pH — 4,0–6,7; інтервал температур — 70–95 °С). Підгрупа 3 об'єднує облігатних анаеробів коко- або дископодібної форми, які ростуть при pH більше 4,0. Бактерії роду *Desulfurococcus* мають кокоподібні клітини грампозитивного типу, рухомі або нерухомі. Діапазон температури — 70–95 °С (оптимальна — 85 °С), діапазон pH — 4,5–7,0 (оптимальне — біля 6,0). Типовий вид — *D. mucosus*.

6.5. Принципи створення другого видання «Систематики бактерій Берджі»

З розвитком сучасної науки, зокрема молекулярних методій, стала можливою побудова природньої систематики мікроорганізмів. Природня систематика мікроорганізмів стала можливою на основі генотипових ознак бактерій.

Перші дослідження із визначення специфічності нуклеотидного складу ДНК бактерій з'явились в кінці 50-х — на початку 60-х років минулого століття. Дані про ГЦ склад — це перша характеристика геному, яка стала використовуватись в систематиці прокаріотів. Але, як було відмічено вище,— організми з різним відсотковим складом ГЦ-пар можуть відноситись до різних видів, в той же час неродинні організми можуть бути близькими за цим показником. Тому виникла потреба у більш інформативному методі. Таким методом став метод ДНК-ДНК гібридизації. Цей метод базується на оригінальному підході: одноланцюгові ДНК двох різних штамів будуть реасоціювати і сформують гібридну ДНК. На базі даних гібридизації довелося змінювати традіційну класифікацію, побудовану на фенотипових ознаках. Проте виявилось, що послідовності ДНК організмів, що відрізняються більш ніж на 20%, практично не реасоціюють, тому встановлення віддалених родиннних звязків між організмами цим методом виявилось неможливим.

В 1965 році було встановлено, що цистрони рРНК у бактерій досить консервативні, не підлягають впливу супресорних мутацій і не залучаються у процеси міжвидового генетичного переносу. Швидкість зміни гену 16S рРНК у різних бактерій симбіонтів склала від 2 до 4% замін нуклеотидів впродовж 60 млн років. Тобто, молекула 16S рРНК — найбільш консервативна молекула.

Тривалий час у систематиці існувало уявлення про ділення всіх живих організмів на прокаріоти та еукаріоти. В 1970 році Вьозом та Фоксом було про-

БІОЛОГІЯ. Том 1. Ковальчук М.Г., Сивка І.М., Сарнацька Т.М. та ін

аналізовано олігонуклеотидні каталоги 16S рРНК та 18S рРНК і показано що всі прокаріоти діляться на 2 групи: *Archaea* (*archaebacteria*) та *Bacteria* (*eubacteria*). В 1990 році Вьозом, Кандлером та Вілісом було запропоновано розділини організми на три доміниони (домени): *Archaea*, *Bacteria*, Eukarya.

Згідно з новою системою класифікації домени поділяються на типи (філуми), класи, порядки (відділи), родини, роди, види.

В 2001 році почало виходити 2-е видання Систематики бактерій Берджі, побудоване на базі філогенетичного аналізу. Тут представлено два домени *Archaea*, *Bacteria*.

В домені *Archaea* виділяють два філуми:

1. *Crenarhaeota* — включає один клас *Thermoprotei*.
2. *Euryarhaeota* — включає сім класів: *Methanobacteria*, *Methanococci*, *Halobacteria*, *Thermoplasma*, *Thermococci*, *Arhaeoglobi*, *Methanopyri*.

Останній часом виділяють ще два філуми архей *Korarhaeota* та *Nanarhaeota*. Для *Korarhaeota* представники не виділені в чисту культуру і їх не вдається культивувати. Філум *Nanarhaeota* запропонований у 2003 році і включає анаеробні термофільні коки, розмір геному яких не більш ніж 490 kb.

Археї — це переважно ґрунтові або водні мікроорганізми, які зустрічаються в анаеробних умовах та гіперсолоних або гідро- та геотермально нагрітих середовищах та як симбіонти травного тракту тварин.

Унікальна біохімічна особливість архей у тому, що до складу ліпідів у них входять ізопренильні ефіри гліцерилу. Відсутність муреїну в клітинній стінці архей робить їх стійкими до β-лактамних антибіотиків. Результати фарбування за Грамом можуть бути позитивними або негативними в межах одного порядку, через те що типи клітинних стінок сильно відрізняються. У грампозитивних видів клітинні стінки складаються з псевдомуреїну, метанохондроїтину і гетерополісахариду. Грамнегативні археї мають клітинну стінку, що складається з глікопротеїну. Форма клітин може бути різноманітною — сферичною, спіральною, паличкоподібною, пластинчастою тощо. Зустрічаються також одноклітинні та багатоклітинні форми у вигляді ниток та агрегатів. Розмноження відбувається шляхом бінарного поділу, перетяжкою, брунькуванням, фрагментацією або невідомим чином.

Аналіз структури геному Архей показав, що гени, що детермінують транскрипцію, трансляцію, реплікацію ДНК, більшою мірою нагадують гени еукаріотів, ніж бактерій. Нуклеотидні послідовності 5S, 16S і 23S рРНк відрізняються як від РНК прокаріотів, так і від РНК еукаріотів. Молекула тРНК містить псевдоуридин або 1-метил-псевдоуридин замість риботимідину. Специфічні рибосомні білки мають гомологи у еукаріотів. Більшість відомих факторів трансляції також еукаріотичного типу. Лише два з основних факторів транскрипції гомологічні таким у еукаріотів. Таким чином, система транскрипції Архей представляється як більш проста версія такої еукаріотичної системи. В геномі Архей виявлено лише один ген, що кодує ДНК-полімеразу, яка подібна до еукаріотичної ДНК-полімерази

епсілон. Високу гомологію з білками еукаріотів виявляють деякі білки Архей: білки, що контролюють ділення клітини, фактори елонгації і трансляції, білки системи репарації та транспорту. Для *Arhaea*, як і для *Bacteria*, притаманна організація генів у вигляді оперонів. Гени, що контролюють послідовно метаболічні реакції, можуть бути випадковим чином розподілені по геному.

В домені *Bacteria* виділяють 23 філуми.

Найбільш древніми в еволюційному відношенні є 9 філумів:

1. *Aquificae*
2. *Thermotogae*
3. *Thermodesulfobacteria*
4. *Deinococcus-Thermus*
5. *Chrysiogenetes*
6. *Cloroflexi*
7. *Thermomicrobia*
8. *Nitrospirae*
9. *Deferribacteres*.

Група грамнегативних (*Gram-negative*) бактерій представлена 12 філумами:

1. *Proteobacteria*
2. *Planctonomycetes*
3. *Chlamidiae*
4. *Clorobi*
5. *Spirochaetes*
6. *Fusobacteria*
7. *Verrumicrobia*
8. *Bacteroidetes*
9. *Acidobacteria*
10. *Fibrobacteres*
11. *Cyanobacteria*
12. *Dictioglomi*.

Традиційно у групі грампозитивних бактерій (*Gram-positive*) мікроорганізмі диференціюють на підставі відсотка (%) GC-пар. Ця група утворює дві віддалені, але філогенетично зв'язані гілки мікроорганізмів з високим та низьким вмістом GC-пар в ДНК. Гілку з низьким вмістом GC-пар складають бактерії, що відносяться до філуму 22 — *Firmicutes*. Бактерії з високим вмістом GC–пар відносять до філуму 23 — *Actinobacteria*.

Філум *Cyanobacteria* філогенетично близький до групи грамнегативних бактерій, проте він формує окрему філогенетичну лінію.

БІОЛОГІЯ.ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

6.6. Коротка характеристика доменів прокаріотів

ДОМЕН ARCHAEA

Філум 1. *Crenarhaeota*

На підставі аналізу 16S рРНК відомі представники філуму були об'єднані в єдиний клас *Thermoprotei*. На філогеничному древі клас утворює три різні гілки: порядок *Thermoproteales*, порядок *Desulfurococcales*, порядок *Sulfolobales*.

Crenarhaeota містить, у переважній більшості, гіпертермофільні сіркозалежні прокаріоти, які представлені морфологічно гетерогенними групами організмів: грамнегативними паличками (*Thermoprotheus tenax*), нитками, коками (*Desulfurococcus mucosus*, *Sulfolobus acidocaldarus*) або дисковиднми клітинами. Рухливі або нерухливі; аероби, облігатні анаероби, факультативні анаероби; ростуть хемоавтотрофно або хемоорганотрофно. Здатні до росту в спектрі значень температур 70–113 °С. За анаеробних умов відновлюють S^0 до H_2S; за аеробних умов окиснюють S^0 та H_2S до H_2SO_4. Широко росповсюджені в морських гідротермальних системах.

Філум 2. *Euryarchaeota*

Філум *Euryarchaeota* містить кілька філогенетичних ліній метаногенів, позбавлені клітинної стінки термоплазми та екстремальні галофіти представлені сьома класами: *Methanobacteria*, *Methanococci*, *Halobacteria*, *Termoplasmata*, *Arhaeglobi*, *Thermococci*, *Methanopyri*. Серед перерахованих класів лише *Methanobacteria*, *Termoplasmata* і *Halobacteria* мають більш близькі філогенетичні відносини.

Морфологічно серед *Euryarchaeota* виявляють ланцетоподібні, спіральні, дисковидні клітини, а також типові палички та коки. Є як рухливі, так і не здатні до руху види. В залежності наявності у клітинній стінці псевдомуреїну можуть забарвлюватись як грампозитивні або грамнегативні при відсутності псевдомуреїну. Джерелом карбону та енергії слугують, вуглеводи, спирти, карбонові кислоти, форміат, ацетат та інші.

Виділяють п'ять основних фізіологічних груп: метаногенні; екстремально галофільні; *Arhaea* позбавлені клітинної стінки; сульфатвідновлюючі; екстремальні термофіли, що метаболізують S^0.

ДОМЕН BACTERIA

Філум 1. *Aquificae*

Філум *Aquificae* не наведено у 9-му виданні «Визначника бактерій Берджі» (*Bergey's manual of determinative bacteriology*). Даний філум запропоновано у 2001 році і він являє найдревнішу філогенетичну лінію. Включає один клас *Aquificae* і один порядок *Aquificales*, який розгалужується на дві родини *Aquificacecae* та *Hydrogenothermaceae*.

Бактерії, що входять до даного філуму, морфологічно палички або нитки, нерухливі або рухливі за рахунок одного або полярних джгутиків. Всі представники грамнегативні. За відношенням до кисню — аероби або облігатні анаероби,

БІОЛОГІЯ. Гром І.Серійчук М.Г., Сківка Л.М., Серійчук І.М. та ін

інколи виявляють мікроаерофільні форми. За типом метаболізму хемолітитрофи або хемоорганотрофи. Донором електронів слугує H_2 або органічні речовини. Можуть відновлювати нітрати або сірку до аміаку або сірководню. Оптимальна температура для росту 65–85 °С.

Серед представників можна виділити типовий вид *Aquifex pyrophilus*. Види *Hydrogenobacter thermolitotrophum*, *Desulfobacterium thermolitotrophum* та *Thermovibrio ruber*. Систематичне положення останніх двох видів переглядається, припускають, що вони можуть представляти окремий порядок в межах філуму *Aquificae*.

Філум 2. *Thermothoga*

Це друга найбільш древня філогенетично лінія, яка, як і попередня, не представлена у «Визначнику бактерій Берджі». Філум представлено класом *Thermothogae*, порядком *Thermothogales* і родиною *Thermothogaceae*. Свою назву термотоги отримали через те, що мають структуру подібну чохлу, яка виходить у вигляді здуттів за межі клітини. Морфологічно це палички, які можуть бути рухливими за рахунок полярних, латеральних або перетрифальних джгутиків або нездатними до руху. Термотоги не мають у складі клітинної стінки мезодіамінопімелінової кислоти і володіють унікальними ліпідами. Оптимальна температура для росту 70–80 °С, але і за температури 90 °С ріст не припиняється. Метаболізують вуглеводи, триптон або дріжджовий екстракт. Основні продукти бродіння — лактат, ацетат, CO_2 та H_2. Водень інгібує ріст більшості штамів, додавання сірки нівелює інгібуючий ефект, при цьому утворюється H_2S. Виділені з геотермальних морських середовищ та гарячих джерел. Найбільш відомими представниками є: *Thermothoga maritime*, *Fervidobacterium gondwanense*, *Geotoga aestuarianus*, *Marinitogae camini*.

Філум 3. *Thermodesulfobacteria*

Філум *Thermodesulfobacteria* не наведено у 9-му виданні «Визначника бактерій Берджі». У 2-му виданні «Систематики бактерій Берджі» він представлений одноіменним класом, порядком і родиною. В межах родини виділяють лише три роди *Geothermobacterium, Termodesulfator, Thermodesulfobacterium*. Більшість представників даного філуму не вдається культивувати в лабораторних умовах.

Клітини від овальних до паличкоподібних. Рухливі за рахунок полярного джгутика або нерухливі. Облігатні анаероби. Відновлюють сульфат до H_2S. Окиснюють H_2 або лактат як джерело електронів. Органічні субстрати окислюють неповністю до ацетату. Діапазон оптимальних температур для росту 65–70 °С. Виділені з гарячих джерел та пластових вод нафтових родовищ. Типовим представником є *Thermodesulfobacterium commune*.

Філум 4. *Deinococcus-Thermus*

Наступна лінія прокаріотів визначена, в більшості своїй, на підставі оцінювання специфічних нуклеотидів 16S рРНК. Філум включає один клас *Deinococci* та два порядки *Deinococcales* (родина *Deinicoccaceae*) і *Thermales* (родина *Thermaceae*).

МІКРОБІОЛОГІЯ: ТОМ 1 / Сегеда-Гуцуляк О.М., Скібка Т.М., Сеньків Т.М. та ін

За фенотиповими ознаками філум поділяють на дві підгрупи. Першу підгрупу утворюють радіорезистентні, грампозитивні клітини сферичної форми досить великої форми відносно інших коків, зібрані найчастіше тетродами. Спор не утворюють, не здатні до руху. Аероби. Колонії зазвичай пігментовані у помаранчевий або червоний колір. Хемоорганотрофи; метаболізм дихального типу; вуглеводи не використовують. Ліпіди містять велику кількість пальмітолеату. Широко розповсюджені в довкіллі. Найбільш відомим представником є *Deinococcus radiodurans*.

Друга підгрупа представлена грамнегативними, нерухомими, неспороутворювальними паличками або нитчастими формами клітин. Клонії пігментовані у жовтий, помаранчевий та червоний колір. Аероби з хемогетеротрофним типом метаболізму. Термофіли. Оптимум температур 70–75 °С. Деякі види використовують нітрати та нітрити як кінцеві акцептори електронів. Виявлені в термальних джерелах, штучних водонагрівальних системах та природніх водоймах, що піддаються термальному забрудненню. Найбільш дослідженим видом є *Thermus aquaticus*.

Філум 5. *Chrysiogenetes*

Філум представлено лише одним видом *Crysiogenes arsenatis*, що входить до класу *Crysiogenes*, порядку *Crysiogenales*, родини *Crysiogenaceae*. Це грамнегативні, аеробні, рухливі палички. Арсенат використовують як акцептор електронів, відновлюючи його до арсеніту. Донором електронів та джерелом вуглецю виступає ацетат. Здатні відновлювати нітрати до амонію. *Crysiogenes arsenatis* було виділено із Золотих копалин Балларата в Австралії.

Філум 6. *Chloroflexi*

До філогенетичної лінії *Chloroflexi* включено зелені несіркові бактерії і споріднені до них. Даний філум не чисельний, проте об'єднує кілька фенотипів.

1. Група нитчастих ковзних бактерій.

Клас *Anaerolinae*. Тривалий час представники даного класу вважались некультивованими формами. У 2003 році було описано два термофільних види *Anaerolinae thermophile* та *Caldilinea aerophila*, ізольовані зі стічних вод і сіркових джерел в Японії. Мають грамнегативний тип будови клітинної стінки. Хемоорганотрофи. Ростуть на середовищах, що містять карбогідрати та амінокислоти, в присутності дріжджового екстракту. *Anaerolinae thermophile* — облігатний анаероб з оптимумом температур для росту 50–60 °С. *Caldilinea aerophila* — факультативно анаеробний мікроорганізм.

Клас *Chloroflexi*, порядок *Herpetosiphonales*. Морфологічно — нерозгалужені вигнуті палички або довгі нитки, часто вкриті чохлом. При масивному рості можуть утворювати структури, що нагадують плодові тіла, але такі структури не містять в собі форм спокою. За відношенням до кисню є аеробами. Мають грамнегативний тип будови клітинної стінки. Хемоорганотрофи. Метаболізм дихального типу з використанням кисню як кінцевого акцептора електронів. Серед представників виявлено як мезофілів, так і термофілів. Продукують жовті, помаранчеві і червоні каротиноїдні пігменти. Здатні розкладати целюлозу та

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Скіба П.М., Сергійчук Т.М. та ін.

хітин, де полімеризують карбоксиметилцелюлозу або гідролізують крохмаль. Мають здатність лізувати або перетравлювати живі клітини бактерій та дріжджів. Виявлені у прісних та солоних водоймах, ґрунті, перегної, гарячих джерелах. Типовим представником є вид *Herpetosiphon aurantiacus*.

2. Фототрофні нитчасті бактерії.

Клас *Chloroflexi*, порядок *Chloroflexales*. Морфологічно представлені довгими нитками, поділеними на окремі клітині септами. Іноді вкриті суцільним тонким чохлом. Клітини, що виросли при освітленні за анаеробних умов, забарвлені у жовтувато-зелений колір, в аеробних умовах — в помаранчево-червоний. Культури, що виросли за анаеробних умов на світлі, містять хлоросоми і бактеріохлорофіли *a* і *c*, а також каротиноїди (β- і γ-каротин). В анаеробних умовах ростуть переважно як фотогетеротрофи, а в аеробних — як хемогетеротрофи. Джерелом азоту є аміак. Діапазон температур для термофільних штамів 40–66 °С, для мезофільних — 20–25 °С. Термофільні штами зустрічаються по всій Землі в гарячих джерелах, вони утворюють помаранчево-червоні мати, що зазвичай знаходяться під тонким шаром ціанобактерій. Мезофільні штами утворюють морські мікробні мати на мілководдях або на освітлених ділянках донних осадів у прісних водоймах. Типовим представником є *Cloroflexus aurantiacus*.

3. Одноклітинні бактерії.

Клас *Dehalococcoidetes*. Морфологічно коковидні клітини. Представники мають особливу біотехнологічну значимість, оскільки здатні дехлорувати тетрахлоретан до етену. Типовим представником є *Dehalococcoidetes ethenogenes*.

Філум 7. *Thermomicrobia*

Філогененетичні позиції даного філуму досить суперечливі. Одні дослідники вважають за доцільне розглядати *Thermomicrobia* як клас у межах філуму *Chloroflexi*, інші, на підставі ряду суттєвих таксономічних ознак, підтверджують розглядати їх як філогенетично відокремлену гілку.

Клас *Thermomicrobia*, порядок *Sphaerobacterales*. Морфологічно представлені паличками неправильної форми або булавовидні, овальні, поодинокі або в парах іноді у вигляді римської V, але без галуження. За Грамом забарвлюються позитивно. Спор не утворюють. Не рухливі. Аероби, з оптимальною температурою для росту 55 °С. Хемоорганотрофи з метаболізмом дихального типу. Виділені зі стічних вод. Типовий представник — *Shaerobacter thermophiles*.

Клас *Thermomicrobia*, порядок *Thermomicrobiales*. Представлені паличками неправильної форми з тенденцію до поліморфізму. На препаратах розташовуються поодиноко або парами. Забарвлюються за Грамом негативно. Облігатні аероби. Оптимальна температура для росту 70–75 °С. Хемоорганотрофи, метаболізм дихального типу. Типовий представник — *Termomicrobium roseum*.

Філум 8. *Nitrospirae*

Даний філум є досить древньою лінією. На даний момент до філуму входить один однойменний клас, порядок та родина. Це грамнегативні, віброїдні або спіральні клітини. Для представників філуму притаманним є широке коло

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

метаболічних шляхів. Більшість представників — аеробні хемолітоавтотрофи, серед яких виявляють нітрифікаторів, сульфат редукторів, магнетотактиків.

Рід *Leptospirillum* представлений рухливими (монотрих) паличками. Облігатні хемолітотрофи, що використовують Fe^{2+}, використовують сульфіди синхронно з тіобацилами. Ацидофіли, діапазон pH 1,5–4,0. Типовий представник — *Leptospirillum ferrooxidans*, поширений у родовищах сульфідних руд, де може домінувати над *Thiobacillus* через більшу спорідненість до Fe(II).

Рід *Nitrospira*. Цікафим є факт, що у них відсутні внутрішньоклітинні інвагінації цитоплазматичної мембрани. Переплазматичгний простір дуже широкий, у два рази ширший, ніж у інших грамнегативних бактерій. Для росту необхідна морська вода. Виділені з різних морських середовищ. Типовий вид — *Nitrospira marina*.

Рід *Thermodesulfovibrio*. Об'єднує анаеробних, облігатно ацидофільних термофілів. Типовий представник — *Thermodesulfovibrio islandicus*.

Філум 9. *Deferribacteres*

На основі аналізу 16S рРНК філум утворює відокремлену філогенетичну лінію в домені *Bacteria*. До філуму входить один клас *Deferribacteres*, один порядок *Deferribactereales* і одна родина *Deferribacteriaceae* (роди *Flexistipes*, *Geovibrio*, *Deferribacter*), проте представники, що входять на данний момент до філуму, дуже гетерогенні, і можливо в подальшому виділення нових таксономічних груп. Морфологічно дана група представлена прямими або зігнутими паличками або спірилами; можлива рухливість за рахунок полярного джгутика. В більшості своїй це термофіли, здатні до росту за оптимуму температур 60–65 °С; *Geovibrio thiophilus* — мезофільний рід. За відношенням до кисню всі представники філуму — анаероби. Мають хемоорганотрофний тип метаболізму і як кінцеві акцептори електронів використовують Fe(II), Mn(IV), S^0, Co(III) та нітрати. Джерелом вуглецю та енергії можуть слугувати складні органічні речовини, такі як дріжджовий екстракт, триптон, пептон. Типовим представником є *Deferribacter thermophilus*.

Філум 10. *Cyanobacteria*

Ціанобактерії — найрозповсюдженіша, найбільш багата формами група фотосинтезуючих прокаріотів. До теперішнього часу немає єдиної системи класифікації ціанобактерій. Основна проблема пов'язана з невідповідністю систем класифікації, що базуються на фенотипових ознаках і філогенетичній моделі (аналіз 16S рРН). На даний момент філум представлено сьома порядками: *Chlorooccceles*, *Pleurocapsales*, *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigonemotales*, *Prochlorales та Gleobacterales*. Порядок *Gleobacterales* у 2002 році на підставі ряду вагомих таксономічних ознак висунуто в ранг окремого класу, *Gleobacteria*.

Ціанобактерії — це грамнегативні, одноклітинні, нитчасті або колоніальні прокаріоти, зі складним життєвим циклом, що здійснюють оксигенний фотосинтез. У зовнішній мембрані присутні ліпополісахариди, шар пептидоглікану тонкий, розміром 2–200 нм. Можуть бути оточені позаклітинним тонким чохлом, капсулою або слизом. Багато представників мають пілі. Джгутики відсутні, але для багатьох притаманний ковзний тип руху. Можуть утворювати червоний,

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сегінчин І.; Скіпка Г.М., Сегінчин Т.М. та ін

синьо-зелений, коричневий і навіть чорний пігмент. Одноклітинні, колоніальні і деякі нитчасті форми здійснюють бінарний поділ з утворенням перетяжки, проте більшість нитчастих форм ділиться за рахунок утворення інвагінації лише цитоплазматичної мембрани та шару пептидоглікану. Деякі одноклітинні ціанобактерії можуть ділитись брунькуванням. Представники деяких груп здатні до утворення спеціалізованих клітин — гетероцист (відповідальних за азотфіксацію) і акінет (форми спокою).

Представлена нижче схема класифікації побудована на підставі фенотипових ознак і не відображує справжньої філогенетичної спорідненості. Але, на даний момент вона є загальноприйнятою. Згідно з даною схемою філум поділяють на 5 фенотипових груп, кожна група відповідає порядку.

Група 1. Порядок *Chlorooccocceles* і порядок *Gleobacterales*. Клітини поодинокі або утворюють агрегати, об'єднані зовнішньою оболонкою або желеподібним матриксом. Одним з головних критеріїв даної групи є розмноження бінарним поділом (в одній, двох або трьох площинах) або брунькуванням. До даної групи відносяться представники родів *Chamaesiphon*, *Cyanothece*, *Mycrocystis*, *Gleobacter*.

Група 2. Порядок *Pleurocapsales*. Одноклітинні форми, які зазвичай розмножуються за рахунок внутрішнього множинного поділу, рідше — бінарного поділу. Баеоцити, що утворюються шляхом множинного поділу материнської клітини, вивільняються при розриві зовнішнього шару материнської клітини. Типовими родами даної групи є: *Chroococcidiopsis*, *Dermocarpa*, *Myxosarcina*, *Xenococcus*.

Група 3. Порядок *Oscillatoriales*. Морфологічно представлені розгалуженими, нерозгалуженими і трихомними формами. Розмножуються бінарним поділом лише в одній площині. Представники даної групи не утворюють акінет чи гетероцист. Найбільш відомими родами, що входять до даної групи, є: *Arthrospira*, *Crinalium*, *Lyngbya*, *Mycrocoleus*.

Група 4. Порядок *Nostocales*. Клітини в трихомах здатні до диференціювання в гетероцисти при зниженні в середовищі аміаку чи нітратів, деякі утворюють акінети. Розмножуються бінарним поділом клітин в одній площині. Представниками групи є: *Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix* та інші.

Група 5. Порядок *Stigonemotales*. На відміну від інших груп, розмножуються в одній або кількох площинах шляхом бінарного поділу. Додатково до поперечного поділу відбувається і поздовжний або діагональний, в результаті чого утворюються багатоядерні трихоми або трихоми зі справжнім галуженням. До даного порядку відносяться роди *Chloroglolopsis*, *Fischerella*, *Geitleria*, *Stigonema*.

Порядок *Prochlorales* не відноситься до жодної з вищеперерахованих фенотипових груп. У філогенетичному відношенні порядок гетерогенний і представлений родинами *Prochloraceae* (*Prochloron didema*), *Prochlorococcaceae* (*Prochlorococcus marinus*), *Prochlorothrichaceae* (*Prochlorothrix halandica*). Морфологічно це одноклітинні або нитчасті розгалужені чи нерозгалужені організми. У багатьох відносинах прохлофіти дуже подібні до інших порядків ціанобактерій, але вони одночасно з хлорофілом *a* містять хлорофіл *b* і не мають фікобілінових пігментів.

БІОЛОГІЯ, том 1. Сергійчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Філум 11. *Chlorobi*

Раніше існувало об'єднання філогенетичних ліній *Chlorobi* та *Bacteroidetes* у єдиний суперфілум. Зараз *Chlorobi* розглядаються у ранзі самостійного таксону. Філум представлено однойменним класом *Chlorobia*, порядком *Chlorobiales* і родиною *Chlorobiaceae*. Морфологічно одноклітинні організми паличкоподібної, овальної або спіральної форми. Схильні до утворення ниток або стрептококоподібних ланцюжків. Нерухомі. Колонії забарвлені в зелений або коричневий колір. Основні пігменти *c*, *d*, *e*, у невеликій кількості присутній бактеріохлофіл *a*. Суворі анаероби та облігатні фототрофи, що здійснюють ріст за рахунок фотоасиміляції простих органічних сполук. За фототрофного росту використовують сульфід, тіосульфат або полісульфідну сірку як донор електронів для асиміляції CO_2. При окисненні сульфіду ззовні клітин відкладаються глобули сірки; кінцевий продукт окиснення — сульфат. Більшість родів здатні до хемогетеротрофного росту в мікроаеробних або аеробних умовах. Джерелом азоту є аміак, багато штамів здатні до фіксації молекулярного азоту. Вимогливі до додаткових факторів росту (біотин, тіамін тощо). Середовищем існування є сульфідвмісний мул, вода солоних та прісних водойм. Основними представниками є: *Chlorobium limicola*, *Pelodictyon clathrotiform*, *Chloroherpeton thalassium*, *Clathrochloris sulfurica*, *Prostecochloris aestuarii*.

Філум 12. *Proteobacteria*

До даного філуму входить 1300 видів, об'єднані в 384 роди. Більшість представників культивуються на поживних середовищах. В межах філуму виділяють 5 гілок: класи *Alfaproteobacteria*, *Betaoroteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria*.

1. Клас *Alfaproteobacteria*.

Клас *Alfaproteobacteria* включає сім порядків: *Rhodospirillales*, *Ricketsiales*, *Rhodobacterales*, *Sphingomonadales*, *Caulobacterales*, *Rhizobiales*, *Parvularculales*. Це досить велика, фенотипово різноманітна лінія бактерій. Представлена наступними фенотипами:

1) бактерії, що брунькуються і/або мають вирости (*Ancalomicrobium*, *Blastobacter*, *Caulobacter*, *Dichomicrobium*, *Filomicrobium*, *Hyphomicrobium*, *Prostecomicrobium*, *Rhodopseudomonas*);
2) аноксигенні фототрофні бактерії (*Rhodobacter sulfidiphilus*, *Rhodopseudomonas blastica*, *Rhodospirillum rubrum*);
3) грамнегативні, аеробні / мікроаерофільні палички та коки (*Acetobacter aceti*, *Rhizobium leguminosarum*, *Beijerinkia indica*);
4) симбіонти і паразити хребетних та безхребетних тварин (наприклад, *Brucella melitensis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Rhizobium leguminosarum*);
5) нерухомі або рухомі звивисті грамнегативні бактерії (*Ancylobacter aquaticus*);
6) аеробні хемолітотрофні бактерії і родинні організми (*Nitrobacter winogradsky*).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін.

2. Клас *Betaproteobacteria*.

Клас включає сім порядків: *Burkholderiales*, *Hydrogenophilales*, *Methylophilales*, *Neiseriales*, *Rhodocyclales*, *Procabacteriales*. Фенотипово представників класу поділяють на наступні групи:

1) бактерії, що мають чохол (*Sphaerotilus natans*, *Leptothrix ochraceae*);
2) нефотосинтезуючі бактерії з ковзним типом руху (*Simonsiella muelleri*);
3) аеробні хемолітотрофні бактерії і родинні організми (*Thiobacillus thioparus*, *Macromonas mobilis*);
4) аноксигенні фототрофні бактерії (*Rhodocyclus purpureus*);
5) грамнегативні аеробні (мікроаерофільні) палички та коки (*Acidovorax facilis*, *Derxia gummosa*).

3. Клас *Gammaproteobacteria*.

В межах класу виділяють чотирнадцять порядків: *Chromatiales*, *Xanthomonadales*, *Cardiobacteriales*, *Thiotrichales*, *Legionelalles*, *Methylococcales*, *Oceanospirillales*, *Pseudomonadales*, *Alteromonadales*, *Vibrionales*, *Aeromonadales*, *Enterobacteriales*, *Acidithiobacillales*, *Pasteurellales*. В межах класу виділяють чотири основні фенотипові групи:

1) грамнегативні, аеробні (мікроаерофільні) палички і коки (*Methylococcus capsulatus*, *Pseudomonas aeruginosa*);
2) аноксигенні фототрофні бактерії (*Chromatium okenii*, *Thiocapsa roseopersicina*);
3) нефотосинтезуючі бактерії з ковзним типом руху (*Achromatium oxaliferum*, *Beggiatoa alba*, *Thiothrix nivea*);
4) аеробні хемолітотрофні бактерії і родинні організми (*Thiomicrospira pelophila*).

4. Клас *Deltaproteobacteria*.

Даний клас є нестабільним у таксономічному відношенні, і положення ряду таксонів в межах *Deltaproteobacteria* досить суперечливе. На даний момент в межах класу виділяють сім порядків: *Desulfurellales*, *Desulfovibrionales*, *Desulfobacterales*, *Desulfomonadales*, *Syntrophobacterales*, *Bdellovibrionalles*, *Myxococcales*. В межах класу виділяють три основні фенотипові групи:

1) ковзні бактерії, що утворюють плодові тіла (представники порядку *Myxococcales*);
2) бактерії, що здійснюють дисиміляційне відновлення сульфату або сірки (представники порядків *Desulfurellales*, *Desulfovibrionales*, *Desulfobacterales*, *Desulfomonadales*, *Syntrophobacterales*);
3) аеробні / мікроаерофільні, рухливі, спіральні / вигнуті грамнегативні бактерії (*Bdellovibrionalles*).

5. Клас *Epsilonproteobacteria*.

Вважається відносно новим класом, який включає лише один порядок *Campylobacterales*, який розгалужується на три родини: *Campylobacteraceae*, *Helicobacteraceae*, *Hydrogenimonaceae*. У фенотиповому відношенні виділяють дві групи:

1) аеробні / мікроаерофільні, рухомі спіральні / вигнуті грамнегативні бактерії. Морфологічно тонкі, віброїдні клітини, часто розташовуються у формі крил чайок. Основні представники — *Helicobacter pylori*, *Campylobacter fetus*;

МІКРОБІОЛОГІЯ. Том 1 / Сергійчук М.Г., Скивка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

2) факультативно анаеробні грамнегативні палички. Морфологічно прямі палички. Хемоорганогетеротрофи, лише незначна кількість видів здатна до автотрофного росту. Нітрати та елементарну сірку здатні використовувати як акцептор електронів. Основні представники — *Hydrogenimonas thermophila*, *Caminibacter hydrogeniphilus*.

Філум 13. *Firmicutes*

До філуму *Firmicutes* відносяться грампозитивні бактерії з низьким вмістом ГЦ-пар в ДНК, а також грамнегативні бактерії, спорідненість яких доведена при порівнянні 16S рРНК і гібридизації нуклеїнових кислот.

Клас 1. *Clostridia*. В межах класу виділяють три порядки: *Clostridiales*, *Thermoanaerobacteriales*, *Halanaerobiales*. Морфологічно палички з тенденцією до поліморфізму. В молодих культурах забарвлюються за Грамом позитивно. Часто рухливі за рахунок перитрихально розташованих джгутиків. Формують овальні або круглі спори, що розтягують клітину. Більшість видів хемоорганотрофи. Облігатні анаероби. Багато видів утворюють екзотоксини.

Порядок *Thermoanaerobacteriales*. В молодих культурах одиночні, парні, або ланцюжки паличок; в старих культурах стають плеоморфними і палички чергуються з коками. Спор не утворюють. Облігатні анаероби і термофіли. Хемоорганотрофи, метаболізм бродильного типу. Окремі види здатні відновлювати сульфати, здійснюючи сульфатне дихання.

Порядок *Halanaerobiales*. Морфологічно прямі або вигнуті палички. Представники роду *Sporohalobacter* здатні до утворення ендоспор. Облігатні анаероби і галофіли. Хемоорганотрофи, метаболізм бродильного типу.

Клас 2. *Molicutes*. В межах класу виділяють чотири окремі лінії представлені порядками: *Acholeplasmatales*, *Anaeroplasmatales*, *Entomoplasmatales*, *Mycoplasmatales*. Представники порядків фенотипово є досить близькими. Всі представники не мають клітинної стінки і не здатні до синтезу її попередників. Морфологічно плеоморфні, паличкі, грушеподібні, нитчасті, звивисті. Видимих локомоторних органів немає, але деякі види здатні до обертального поступального руху. Факультативні або облігатні анаероби. Багато видів є патогенними для людини.

Клас 3. *Bacilli*. Клас об'єднує близьки за походженням бактерії, які за рядом фенотипових та генотипових ознак розділяють на два порядки: *Bacillales* і *Lactobacillales*.

Філум 14. *Actinobacteria*

В 1997 році Stackebrandt et al. запропонували ієрархічну систему класифікації актинобактерій, засновану на таксон-специфічних (сигнатурних) ділянках в нуклеотидних послідовностях 16S рРНК. На цій підставі клас *Actinobacteria* включає п'ять підкласів, розділених на шість порядків: *Actinomycetales*, *Acidimicrobiales*, *Rubrobactereales*, *Coriobacteriales*, *Sphaerobacterales*, *Bifidobacteriales*. Порядки, в свою чергу, розділяють ще на десять підпорядків. Філум *Actinobacteria* включає грампозитивні бактерії з високим вмістом ГЦ-пар в ДНК, які виділяються серед інших еубактерій найбільш складною організацією геному і фенотипу на

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук І.І., Скібка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

прокаріотному рівні. Представники філуму характеризуються великим хемотаксономічним, морфологічним та фізіологічним різноманіттям філогенетично близьких таксонів родового рівня. На даний момент систематика даної групи базується на поліфазному підході, інтегрованому використанні молекулярно-біологічних, хімічних та нумеричних методів. Через високий ступінь варіабельності фенотипів найбільш зручно розглядати даний філум на рівні порядків.

Порядок *Actinomycetales*. Незважаючи на те, що представники групи суттєво різняться різноманіттям морфологічних форм, їх поділяють на дві великі групи: перша — від кокоподібних до паличкоподібних, здатних до більш-менш справжнього галуження; друга — з добре розвинутим субстратним та повітряним міцелієм, зі складно організованими репродуктивними структурами. Представники: *Nocardia asteroides*, *Actinopolispora halophila*, *Nocardiopsis dassonvillei*, *Promicromonospora citrea*, *Streptomyces albus*.

Порядок *Acidomicrobiales*. Порядок об'єднує нефототрофні бактерії, здатні окислювати відновлені сполуки сірки. Представником є *Acidimicrobium ferrooxidans*.

Порядок *Rubrobacterales*. Морфологічно палички, при старінні більш короткі, майже коки. Галуження та утворення повітряного міцелію не відмічають. Деяки представники здатні до руху за рахунок перитрихально розташованих джгутиків. Аероби, метаболізм дихального типу. Використовують сульфат амонію як єдине джерело азоту. Основні представники: *Rubrobacter radiotorans*, *Coxexibacter woesei*, *Solirubrobacter pauli*, *Thermoleophilum album*.

Порядок *Coriobacteriales*. Морфологічно палички неправильної форми, переважно грушеподібні, в довгих ланцюжках. Спор не утворюють. Суворі анаероби. Хеморганотрофи, метаболізм бродильного типу. Деякі види здатні отримувати енергію за рахунок окиснення лактата, форміата, азоту. Виявлено як вільно існуючі, так і симбіотичні форми. Основні представники: *Coriobacterium glomerans*, *Cryptobacterium curtum*, *Denitrobacterium detoxificans*.

Порядок *Sphaerobacterales*. Палички неправильної форми, варіабельні, в тому числі овальні, роздуті та булавоподібні, поодинокі або в парах. Нерухливі, спор не утворюють. Аероби. Термофіли, оптимальна температура для росту 55 °С. Хемоорганотрофи, метаболізм дихального типу. Типовий представник — *Sphaerobacter thermophilus*.

Порядок *Bifidobacteriales*. Морфологічно палички, дуже варіабельні за формою, дещо вигнуті, булавоподібні, часто зі справжнім галуженням. Не здатні до руху, спор не утворюють. Хемоорганотрофи; активно зброджують вуглеводи з утворенням в основному оцтової та молочної кислот. Виявляють у ротовій порожнині та кишечнику тварин та людини. Типовий вид — *Bifidobacterium bifidum*.

Філум 15. *Planctonomycetes*

Дана лінія бактерій представлена бактеріями, в клітинній стінці яких відсутній мурен. До порядку *Planctonomycetales*, родини *Planctonomycetacea* входять *Planctonomyces*, *Pirellula*, *Gemmata* та *Isosphaera*.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Серійчук І.М., Оківка П.М., Серійчук Т.М. та ін.

Планктономіцети — це грамнегативні бактерії, які утворюють розетки чи нитки. Клітини овальної, грушеподібної або кокоподібної форми. Розмножуються брунькуванням і можуть утворювати різноманітні вирости (стеблинки). За відношенням до кисню аероби. Як джерело вуглецю використовують піруват, фруктозу, глюкозу. Мають гетеротрофний тип метаболізму. Виявляють в прісних та морських водоймах.

Філум 16. *Chlamidiae*

Дослідження 16S рРНК представників родів *Chlamidiae* показало, що вони утворюють еволюційно відокремлену гілку в межах домену *Bacteria*. Порядок *Chlamydiales* на базі феногенетичних ознак ділять на п'ять родин: *Chlamydiaceae* (*Chlamydia trachomatis*), *Parachlamydiaceae* (*Parachlamydia acanthamorbae*), *Simckaniaceae* (*Simkania negevensis*), *Rhabdochlamydiaceae* (*Rhabdochlamydia porcellionis*) і *Waddliaceae* (*Wadlia chondrophila*). Фенотипово, всі представники філуму представлені нерухомими патогенами, кокоподібної форми, як правило, грамнегативними, але ця ознака є варіабельною. Розмножуються лише всередині зв'язаних з мембраною вакуолей в цитоплазмі клітин людини, тварин та птахів. Розмноження відбувається в процесі унікального циклу розвитку, який складається з перетворення дрібних елементарних тілець у більш крупні, які здатні до поділу. Їх метаболізм пов'язаний з отриманням АТФ від клітин господаря. Як і представники попереднього фільму, не містять муреїну у складі клітинної стінки.

Філум 17. *Spirochaetes*

Спірохети — завжди займали окреме місце у систематиці бактерій. На даний момент клас *Spirochaetes* включає один порядок *Spirochaetales*, який розгалужується на три родини: *Spirochaetaceae* (*Borrelia*, *Brevinema*, *Cristispira*, *Spirochaeta*, *Spirinema Treponema*), *Brachyspiraceae* (*Brachyspira*), *Leptospiraceae* (*Leptonema Leptospira*).

Філум 18. *Fibrobacteres*

Філум представлено одним родом *Fibrobacter*. Морфологічно це палички з тенденцією до поліморфізму з утворенням овальних клітин. Спор не утворюють. Не здатні до руху. Зброджують целюлозу та целобіозу. Основними продуктами бродіння є оцтова та бурштинова кислоти. Для росту потребують CO_2, леткі жирні кислоти, аміак та вітаміни. Виділені з шлунково-кишкового тракту тварин.

Філум 19. *Acidobacteria*

Філетична лінія *Acidobacteria* представлена невеликою кількістю культивованих видів, які мають практичне значення в біотехнологічних виробництвах. На даний момент до філуму входить лише три роди: *Acidobacterium*, *Geothrix* і *Halophaga*. В межах філуму виділяють дві фенотипові групи, основним диференційним критерієм для яких є відношення до кисню.

До першої групи відносяться бактерії роду *Acidobacterium* (*Acidobacterium capsulatum*). Мезофільні, грамнегативні, неспороутворювальні палички. Аеробні хемоорганогетеротрофи.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сивка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Другу групу представлено родами *Geotrix* і *Holophaga*. Це грамнегативні палички. За типом метаболізму анаеробні хемоорганогетеротрофи. Дані представники здатні до деградації ароматичних сполук до ацетату.

Філум 20. *Bacteroidetes*

Філум включає три класи: *Bacteroidetes*, *Flavobacteria*, *Sphingobacteria*. Оскільки філум включає різноманітні за фенотипом організми, розглянемо кожен з класів окремо.

1. Клас *Bacteroidetes*. До класу входить однойменний порядок та родина. Включає грамнегативні, прямі, вигнуті чи спіральні палички; в парах або коротких ланцюжках; окремі клітини вилкоподібної або Y-подібної форми. Часто клітини з термінальним або центральним здуттям; містять вакуолі. Анаероби і хемоорганотрофи. Продуктами бродіння переважно є ацетат, форміат, пропіонова кислота, сукцинат та лактат. Є як вільноіснуючі організми, так і симбіонти безхребетних і облігатні паразити людини та тварин. *Porphyromonas asaccharolica* виділено при інфекціях ротової порожнини і кореневих каналів зубів; представники роду *Bacteroides* часто ізолюються з травного тракту, осередків інфекції і нагноювань ран тварин та людини; представники роду *Anaerorhabdus* виявляються при легеневих та черевних абсцесах, апендицитах, висіваються також з фекального біотопу людини та тварин.

2. Клас *Flavobacteria*. Клас включає три родини: *Blattabacterium*, *Cryomorphacea*, *Flavobacteriaceae*. Клас фенотипово досить гетерогенний. Морфологічно представники представлені паличками із закругленими кінцями, з тенденцією до плеоморфізму. Ендоспор не утворюють. Деякі представники здатні до ковзного типу руху. Якщо аероби, то метаболізм дихального типу; у випадку анаеробіозу — метаболізм бродильного типу. Хемоорганотрофи.

3. Клас *Sphingobacteria*. До класу входять родини: *Grenatotrichaceae*, *Flammeovirgaceae*, *Flexibacteraceae*. Морфологічно можуть мати вигляд паличок із закругленими кінцями або бути кільцевої чи підковоподібної форми. Для *Flexibacter* притаманна морфологічна мінливість. В молодих культурах клітини нитчасті, рухливі, без поперечних перетинок; при старінні клітини більш короткі, нерухливі. Аероби, метаболізм дихального або бродильного типу.

Філум 21. *Fusobacteria*

До філуму входить однойменний клас, порядок і родина. В межах родини виділяють наступні роди: *Fusobscterium*, *Ilyobacter*, *Leptotrichia*, *Propionigenium*, *Sebaldella*, *Streptobacillus* та *Snaethia*. Не зважаючи на генотипову гетерегоненність, філум фенотипово одноманітний і включає прямі або зігнуті палички (*Leptotrichia buccalis*), в парах чи ланцюжках (*Ilyobacter polytropus*). У *Fuzobcterium nucleatum* клітини веретеноподібної форми. Часто клітини плеоморфні. Хемоорганотрофи; зброджують цукри та органічні кислоти. Основний кінцевий продукт метаболізму — це бутират, лактат, ацетат, пропілнат. Виділені з морських та прісних водойм, а також слини людини, виявлені у кишечнику термітів. А такий представник, як *Streptobacillus moniliformis*, наявний в носоглотці щурів і при укусі людини викликає захворювання.

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук І.М., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

Філум 22. *Verrucomicrobia*

Філум *Verrucomicrobia* був запропонований Hedlund в 1997 році. До філуму входить два роди: *Verrucomicrobium* і *Prostehecobacter.* За фенотиповими ознаками філум представлено грамнегативними, аеробними або факультативно анаеробними, мезофільними бактеріями, з хеморганотрофним типом метаболізму.

Рід *Prostehecobacter* включає веретеноподібні або віброїдні клітини. Кожна клітина утворює як мінімум одну полярну простеку, з потовщенням на кінці у вигляді прикріплювального диска, який має виражені адгезивні властивості. Виявляють у ґрунті, а також прісних та солоних водоймах.

Рід *Verrucomicrobium* представлено одноклітинними паличкоподібними клітинами з чисельними простеками, що розходяться у всі боки від клітинної поверхні. З кінчиків простек виходять фімбрії. Виявлені в ґрунтах та поверхневих шарах евтрофних озер.

Філум 23. *Dictyoglomi*

Даний філум представлено лише одним видом — *Dictioglomus thermophilum.* Це грамнегативні, екстремально термофільні палички з облігатно анаеробним типом метаболізму. Хемоорганогетеротрофи. Відмічають тенденцію до утворення агрегатів клітин, заточених у спільну оболонку.

Питання для самоконтролю

1. В чому полягають основні відмінності між прокаріотичними та еукаріотичними мікроорганізмами?
2. Дайте визначення таким таксономічним поняттям, як: таксономія, систематика, класифікація, ідентифікація, вид.
3. Що таке штам у бактерій?
4. За яких умов новий таксон вважається дійсно визнаним?
5. Яку видову особливість визначає *patovar, serovar, biovar, hemovar*?
6. Що означають букви, вказані після назви виду?
7. Принципи Адансонівської класифікації бактерій.
8. В чому особливість видань Берджі 1984–86 рр.?
9. На які категорії розділяють прокаріотичні мікроорганізми згідно з 9-м виданням «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*»?
10. Які групи належать до першої категорії? Дайте їх коротку характеристику.
11. Охарактеризуйте групи грампозитивних прокаріотів.
12. Дайте систематичне положення мікоплазм.
13. Чому саме молекулу 16S рРНК обрано для філогенетичного аналізу?
14. Назвіть групи, до яких належать архебактерії, та дайте їх коротку характеристику.
15. Який тип будови клітинної стінки у представників філуму *Proteobacteria*?

БІОЛОГІЯ. Том 1. Серінчук М.Г., Сківка І.М., Серінчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 7.
МІКРООРГАНІЗМИ І ДОВКІЛЛЯ

Мікроорганізми — це космополіти, які займають, здавалося б, найнедосяжніші куточки земної кулі. Вони визначаються на верхніх границях біосфери (20 км і більше), в надрах Землі і в глибинах морів та океанів, в гарячих гейзерах та в льодах Антарктиди.

Такому широкому розповсюдженню мікроорганізмів у природі сприяють їх біологічні особливості, а саме: висока адаптація до умов існування; унікальні метаболічні властивості; швидке розмноження; відносно висока стійкість до впливу фізичних та хімічних факторів; мала маса клітин, яка робить можливим їх розповсюдження за током повітря.

Отже, якщо поглянути на світ очима мікробіолога, то можна переконатись в тому, що практично немає природних місць, де б не зустрічались мікроорганізми. Відомий російський мікробіолог В. Омелянський писав: «Миллиарды микроорганизмов рассеяны в природе, они окружают нас повсюду. Невидимые, они постоянно сопровождают человека, вторгаясь в его жизнь то как враги, то как друзья. Во множестве присутствуют они в поедаемой нами пище, в воде, которую пьем, в воздухе, которым дышим. Окружающие нас предметы, наша одежда, тело — все это буквально "кишит" микробами».

7.1. Вплив факторів довкілля на мікроорганізми

Умови довкілля мають важливе значення для життєдіяльності мікроорганізмів. Серед факторів, які впливають на життєдіяльність мікроорганізмів, виділяють: фізичні, фізико-хімічні та хімічні (рис. 7.1).

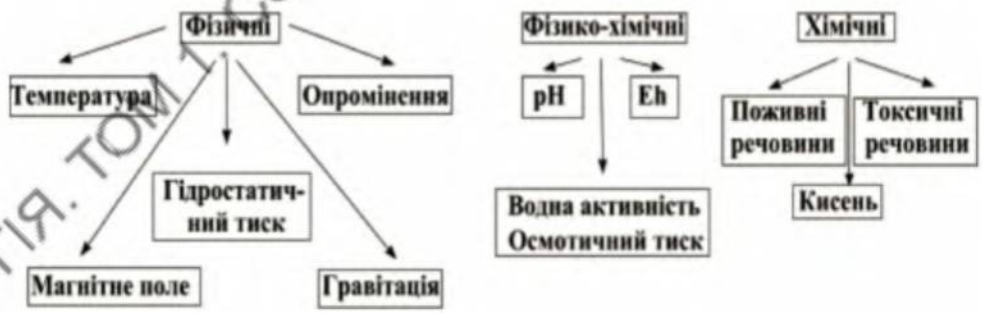


Рис. 7.1. Фактори середовищ, які впливають на життєдіяльність мікроорганізмів

Для прокаріотів характерна здатність існувати у значно ширшому діапазоні змін умов середовища, ніж в еукаріотів. Організми широкої пристосованості

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сівка Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

називають еврібіонтними (або еврітопними), а вузької пристосованості — стенобіонтними (або стенотопними).

Температура. Існування мікроорганізмів у значній мірі визначається температурою довкілля. Як і всі живі істоти, вони мають свій температурний діапазон, обмежений мінімальними і максимальними значеннями. За відношенням до температури мікроорганізми поділяють на декілька груп (табл. 7.1): психрофіли, (грец. *psychria* — холод); мезофіли (грец. *mesos* — проміжний); термофіли, термотолеранти (грец. *thermo* — тепло).

Таблиця 7.1.

Розподіл мікроорганізмів за їх ставленням до температури

Група мікроорганізмів		Температура, °С		
		мінімум	оптимум	максимум
Психрофіли	облігатні	0 і нижче	5–15	20–22
	факультативні	0	25–30	30–35
Мезофіли		10–15	30–45	35–47
Термофіли		40–45	55–75	60–105

Психрофіли не є рідкісними формами з огляду на те, що полярні регіони займають лише 14 % поверхні Землі. Мікроорганізми, які не лише здатні переносити низьку температуру, але й надають їй перевагу для свого розвитку, виявляються також у ґрунті різних широт, водах морів та океанів, де температура на дні коливається у межах 1–2 °С, а на поверхні до 5 °С. Психрофільні мікроорганізми поділяють на облігатні і факультативні.

В облігатних психрофілів мінімальна температура розвитку знаходиться біля 0 °С і нижче, а максимальна досягає 20 °С. Оптимальна температура, яка необхідна для життєдіяльності цієї групи мікроорганізмів, 5–15 °С, при температурі 25 °С вони гинуть. До облігатних психрофілів відносять *Vibrio marinus, Bacillus psychrophilus, Spirillum pleomorphum*. Облігатні психрофіли виділені із сухих долин південної Антарктиди та з арктичних морів.

До факультативних психрофілів відносять мікроорганізми, температурний оптимум яких майже такий, як мезофілів, але вони здатні розвиватись і при температурі 0 °С. Психрофіли знайдено серед бактерій (*Acinetobacter, Aerobacter, Azotobacter, Alcaligenes, Aeromonas, Arthrobacter, Bacillus, Chromobacterium, Clostridium, Cytophaga, Corynebacterium, Flavobacterium, Micrococcus, Nitrobacter, Nitrosomonas, Proteus, Pseudomonas, Vibrio*) та грибів родів *Stenphylium*, *Cladosporium*, *Olvularium* та ін.

Причини загибелі мікроорганізмів при низьких температурах пов'язують із «застиганням» мембран, втратою ними текучості та зупинкою трансляції через відсутність гідрофобних взаємодій між рибосомами, блокування ферментів.

ЕБІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук І.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Серед механізмів низькотемпературної адаптації психрофілів виділяють такі, як:

- збільшення вмісту ненасичених жирних кислот фосфоліпідів у складі цитоплазматичної мембрани (у глибоководних психрофілів у мембранах визначаються незвичні для бактерій поліненасичені жирні кислоти);
- зменшення довжини і водночас збільшення галуження ланцюгів жирних кислот фосфоліпідів у складі ЦПМ;
- стабільність ферментних систем, що забезпечується заміною в білках окремих амінокислот.

Більшість відомих видів прокаріотів відноситься до *мезофілів*, які мають температурний оптимум 30–45 °С. Мезофільні бактерії широко розповсюджені у природі. Це типові мешканці ґрунтів та представники мікробіоценозу людини. Класичним представником серед мезофілів є *E. coli*: нижня межа росту 10 °С, верхня 42 °С, оптимальна температура 37 °С. Патогенні для людини і теплокровних тварин мікроорганізми мають температурний оптимум розвитку біля 37 °С.

Мікроорганізми, температурний оптимум яких наближається до такого мезофілів (35–50 °С), але які здатні розмножуватись і при більш високій температурі (70 °С), називають термотолерантними. До них відносяться деякі представники спороутворювальних бактерій, наприклад, *Clostridium* (ростуть у межах 10–70 °С), *Desulfotomaculum* (температурний діапазон 20–70 °С, оптимум — 30–55 °С), гриби родів *Aspergillus, Culvularia, Stenfilium*.

Факультативні термофіли мають температурний оптимум значно вищий, ніж мезофіли, але здатні розвиватися і при 20 °С. Це представники спороутворювальних бактерій: *Bacillus stearothermophilus* (t_{opt} 50–65 °С); *Desulfotomacullum nigrificans* (t_{opt} 55 °С); *Clostridium thermocellum* (t_{opt} 55–60 °С, а також актиноміцети родів *Pseudonocardia, Actinomadura, Microbispora, Micropolyspora, Saccharomonospora, Streptomyces, Thermoactinomyces, Thermomonospora*, які мають $t_{opt} > 50$ °С.

З термальних джерел, температура яких досягає 70–90 °С, виділені облігатні термофіли. Особливістю цих мікроорганізмів є те, що вони не здатні розвиватися при температурі нижче 40–50 °С. Відомими термофілами є: *Thermus aquaticus* (t_{opt} 70–75 °С), *Bacillus acidocaldarius* (t_{opt} 60–65 °С), *B. caldolyticus* (t_{opt} 65–80 °С), *Thermomicrobium roseum* (t_{opt} 70–75 °С), *Thermoanaerobium brockii* (t_{opt} 70 °С), *Dictyoglomus thermophilum* (t_{opt} 73–78 °С).

Мікроорганізми, температурний оптимум яких наближається або знаходиться у межах температури кипіння води, відносять до екстремальних термофілів. Представники екстремальних термофілів об'єднані у групу 35 дев'ятого видання «Визначника бактерій Берджі» і представлені паличкоподібними, нитчастими, кулястими, дископодібними грамнегативними бактеріями, які не утворюють спор і температурний оптимум росту яких 75–105 °С. Так, у киплячих сольфатарних водах в Ісландії та Італії виділені паличкоподібні клітини *Pyrobaculum islandicum*, температурний оптимум яких 100 °С. З підводних каналів гідротерм на морському дні виділені дископодібні бактерії *Pyrodictium occultum*

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сегінчук І.М., Сківка І.М., Сегінчук Т.М. та ін.

($t_{opt.}$ 105 °С). Конічні утворення із сульфідів металів у рифових зонах середньо-океанічних хребтів, так звані «чорні курильники», виливають термальні розчини, температура яких досягає 350 ° С, і які не закипають із причини високого тиску. Їх біоценози ще мало вивчені, але в них знайдені паличкоподібні бактерії, які також можуть бути прикладом екстремальних термофілів.

Вивчення механізмів, які забезпечують існування мікроорганізмів при високих температурах, має значний інтерес. Проведені дослідження показали, що термофілія включає різні молекулярні механізми і не може бути поясненою лише якою-небудь однією властивістю організму. Запропоновано декілька гіпотез для пояснення природи термофілії:

- наявність дибіфітаніл-дигліцеринтетраефірів замість фосфоліпідів у мембранах архебактерій;
- збільшення вмісту насичених жирних кислот у фосфоліпідах у складі цитоплазматичної мембрани;
- збільшення довжини і водночас збільшення галуження ланцюгів жирних кислот фосфоліпідів у складі ЦПМ;
- термостабільність ферментів, яка забезпечується: заміною в білках окремих амінокислот для підсилення внутрішньомолекулярних взаємодій; стабілізацією ферментів у присутності іонів Mg^{2+}, NH_4^+, Ca^{2+};
- здатність синтезувати ферменти подібної субстратної специфічності, але з різним температурним оптимумом;
- синтез білків теплового шоку;
- стабілізація ДНК та РНК у присутності поліамінів (путресцину, спермідину, сперміну), низьких концентрацій Mg^{2+}.

Загалом при високотемпературній адаптації суттєвим є зниження конформаційної гнучкості макромолекул (білків, ліпідів, нуклеїнових кислот), у той час як при низькотемпературній адаптації — навпаки, збільшення їх конформаційної гнучкості.

Опромінення. Усі біологічні об'єкти знаходяться під впливом різних видів опромінення. Ефекти, які викликаються опроміненням живих організмів, залежать від довжини хвилі світла та його дози, тобто від енергії та кількості квантів, що поглинаються. Електромагнітні хвилі складаються з (рис. 7.2):

- радіохвиль, які мають найбільшу довжину хвилі (більше 1500 нм);
- світлових хвиль, серед яких виділяють інфрачервоні (до 760 нм), видимі (від 760 нм до 380 нм), ультрафіолетові (від 380 нм до 200 нм);
- іонізуючого опромінення (до 200 нм), яке включає Х-хвилі (головним чином штучного походження), γ-хвилі (утворюються при розпаді радіоактивних речовин), космічні хвилі.

Радіохвилі не здійснюють біологічного впливу на мікроорганізми. *Інфрачервоні* хвилі містять таку незначну кількість енергії, що вони не здатні викликати хімічних перетворень у матерії, що їх поглинає. Енергія інфрачервоних хвиль перетворюється у тепло.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Оксіка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

Випромінення в ділянці видимого світла забезпечує можливість здійснення упорядкованих реакцій при його поглинанні певними системами. В організмах це опромінення індукує такі процеси, як фотосинтез, фототаксис, фотореактивацію ДНК, синтез деяких макромолекул.

Ультрафіолетове опромінення має сильний бактерицидний ефект. Як дальній ультрафіолет (220–300 нм), так і ближній (300–380 нм) мають пошкоджуючу дію на біополімери клітини в результаті фотолізису, утворення піримідинових димерів, гідроксилювання нуклеотидів, індукції заміни пар основ, одноніткових та двоніткових розривів ДНК, зшивки ДНК з білками.

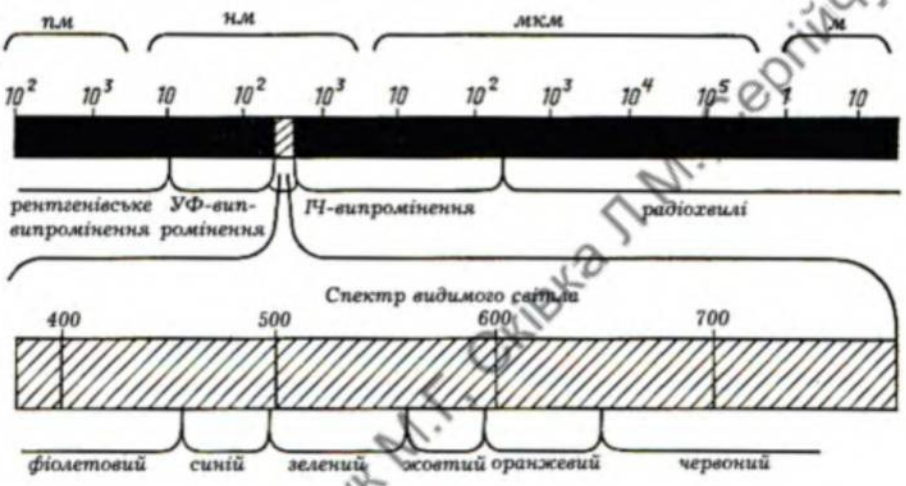


Рис. 7.2. Спектр електромагнітного випромінювання

Іонізуюче випромінювання є компонентом природної радіації, яку переважно складає корпускулярне (α-, β-опромінення), а також рентгенівське та γ-випромінювання. Радіаційний вплив забезпечують космічні промені, нестабільні ізотопи ґрунту, опадів, розробка копалин радіоактивних мінералів, штучні джерела радіації (випробовування атомної зброї, атомні електростанції, застосування радіоізотопів із медичною та науковою метою).

Дія іонізуючого опромінення на клітини мікроорганізмів виявляється у численних пошкодженнях, подібних до дії ультрафіолету, переважно одноніткових та двоніткових розривах ДНК. Опосередкований вплив опромінення пов'язаний з утворенням вільних радикалів, що сприяють перекисному окисненню ліпідів.

Мікроорганізми є найбільш стійкими до радіаційного впливу у порівнянні з іншими організмами. Летальною дозою для ссавців є рівень, наближений до 10^3 рад, для комах— 10^5 рад, для мікроорганізмів— 10^6 рад. Серед мікроорганізмів радіорезистентність коків вища за таку у паличкоподібних, проте серед високорезистентних бактерій відомі як коки (*Deinococcus radiodurans*, *D. radiophilus*), так і палички (*Deinobacter grandis*). Стійкість до опромінення

БІОЛОГІЯ: том 1 / Сергійчук М.Г., Сівілка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

притаманна також різним грибам родів *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Stenphylium*, *Stachybotris*, *Cladosporium*.

Місцями існування радіорезистентних мікроорганізмів є радонові джерела, охолоджувальні системи атомних електростанцій, об'єкт укриття атомного реактора.

Механізми радіорезистентності пов'язані із системами репарації, до яких відноситься ексцізійна репарація (видалення пошкоджених ділянок ДНК) та рекомбінаційна репарація (заповнення дефектів у нуклеотидній послідовності пошкодженої ДНК). Особливістю мікроорганізмів є також контроль систем репарації багатьма генами.

Головним джерелом природного опромінення є сонячна радіація. Основна частина сонячної енергії припадає на долю видимих променів (біля 75%), майже 20% — на інфрачервону частину спектра і лише 5% — на ультрафіолет.

Гравітація. Всі організми знаходяться під впливом земного тяжіння. Проте доказів прямого впливу гравітації на бактерії не існує. Розміри бактеріальних клітин настільки малі, що у водних розчинах вони практично знаходяться в стані невагомості. Хоча завислі у водному розчині мікроорганізми все ж поступово осідають. Деякі аеробні бактерії у стані невагомості ростуть краще. Це пояснюється більш рівномірним розподілом поживних речовин.

Ще одним прикладом впливу гравітації на мікроорганізми може бути геотропізм, який проявляється у формуванні актиноміцетами і мікроскопічними грибами різнонаправленого повітряного та субстратного міцелію.

Магнітне поле. Магнітне поле помірно впливає на більшість мікроорганізмів, неспеціалізованих форм. Доведена стимуляція росту для *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Halobacterium salinarium* магнітним полем із напруженістю $12 \cdot 10^3$ ампер/метр (А/м) та їх пригнічення магнітним полем з напруженістю $24 \cdot 10^3$ А/м і вище. Проте в природних середовищах існування магнітні поля такої напруженості не зустрічаються.

Значний вплив магнітного поля зареєстрований на спеціалізовані форми мікроорганізмів — *магнітобактерії.* Вони здатні регулювати напрямок свого руху у відповідності з напрямком силових ліній магнітного поля. Це явище було назване *магнітотаксисом.* У слабких магнітних полях (8–40 А/м) магнітобактерії рухаються зі швидкістю до 70 мкм/с уздовж ліній поля.

Магнітобактерії поширені в морських маршах, заболочених прісноводних водоймах, у збірниках для очистки стічних вод, тобто у місцях з малорухомою водою. Чисельність їх у таких умовах досягає 10^6–10^7 клітин/мл.

Найкраще з магнітобактерій вивчений *Aquaspirillum magnetotacticum* — мікроаерофільний хемогетеротроф. Його особливістю є наявність *магнітосом* — кубічних або октаедричних кристалів окису заліза — магнетиту, за рахунок якого вміст заліза в клітинах таких спірил досягає 3,8%, що набагато перевищує його вміст у клітинах неспеціалізованих форм (0,025%). Магнітосоми можуть накопичуватися в осадах водойм у вільному стані, утворюючи біогенні магнетити з високим рівнем природного залишкового магнетизму.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сквагат І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Гідростатичний тиск впливає на мікроорганізми за умови значної амплітуди змін показників цього фактора середовища. Так, в експерименті рівень тиску в 100 атм пригнічував, а в 200 атм — стимулював ріст *Escherichia coli,* однак при 400 атм швидкість росту суттєво зменшувалась, утворювались ниткоподібні клітини.

У природних умовах високий гідростатичний тиск (300–600 атм) створюється на глибині 3000–6000 м в океанах. Мікрофлора таких глибин представлена *баротолерантними* (грец. *baros* — тягар) мікроорганізмами.

1 % поверхні Землі знаходиться в океані на глибині понад 10 000 метрів, де тиск може досягати 1100 атм. Бактерії, вилучені з таких глибин, зокрема, Маріанської западини, глибина якої 11 022 м, не витримують нормального атмосферного тиску і гинуть протягом 5 год. Такі *барофільні* мікроорганізми вимагають спеціальних культиваторів для підтримання високого тиску.

Механізми баротолерантності і барофільності пов'язують із збереженням текучості мембран, що забезпечується: своєрідним жирнокислотним складом ліпідів мембран; збільшенням вмісту довголанцюгових поліненасичених жирних кислот; низькою температурою плавлення поліенових кислот.

Ці механізми подібні до механізмів низькотемпературної адаптації, що сприяє прояву барофілами психрофільних властивостей.

В умовах тиску, який значно нижче атмосферного, життєздатність мікроорганізмів зазвичай не порушується, проте при зниженні тиску зменшується вміст у середовищі газової атмосфери, що негативно впливає на ріст мікроорганізмів.

Вологість. Для забезпечення життєдіяльності всім організмам потрібна вода. Обмін речовин відбувається у водних розчинах. Вода, яка знаходиться у зовнішньому по відношенню до мікроорганізму середовищі, може бути доступною або недоступною для нього. Доступність води для мікроорганізмів найчастіше виражають через водну активність, яка корелює з тиском водяної пари над розчином і обчислюється при вимірюванні відносної вологості повітря (W_w): $W_w = \frac{P}{P_o} 100\%$, де P — тиск водяної пари над розчином, P_0 — тиск пари над водою. Наприклад, над 35 % розчином сірчаної кислоти при температурі 25 °С тиск пари в міліметрах ртутного стовпчика 15,8, а тиск пари над водою — 23,76. Тоді W_w складає 67 %. *Активність води* — це та ж відносна вологість, але не виражена у відсотках, тобто при $W_w = 67\%$, $A_w = 0{,}67$.

Різні види мікроорганізмів вимагають певного рівня водної активності. При мінімальній водній активності (0,8–0,6) можуть існувати мікроскопічні гриби (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* та ін.). Максимальної водної активності (1,0–0,9) потребують нейстонні бактерії родів *Spirillum*, *Nevskia*, *Hyphomicrobium*, *Caulobacter*, сульфат-редуктори *Desulfotomaculum* та ін.

Активність води може бути також виражена через концентрацію розчинених речовин:

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скібка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

$$A_W = \frac{П_1}{П_1 - П_2},$$

де $П_1$ — кількість молей розчинника, $П_2$ — кількість молей розчиненої речовини.

З рівняння видно, що підвищення концентрації розчинених речовин знижує водну активність, а значить, і доступність води для клітини.

Концентрація речовин, що розчинені у зовнішньому, відносно мікроорганізму, середовищі, зумовлює осмотичний тиск середовища, який знаходиться у зворотній залежності від водної активності.

Надходження води в клітину можливе, якщо осмотичний тиск в клітині більше, ніж тиск зовнішнього розчину. Нормальний тиск в клітині, зазвичай, у межах 3–6 атм, що відповідає такому середовищу існування як, наприклад, ґрунт (0,5–5 атм). В солоних середовищах, або з високим вмістом цукрів (варення, мед) осмотичний тиск може досягати 100 атм. Мікроорганізми уникають осмотичного стресу завдяки наявності *системи осморегуляції*, складовими якої є:

- білки осмосенсорів, які реагують на зміну осмотичного тиску;
- зміна співвідношення білків поринів, що утворюють гідрофільні пори;
- синтез осмопротекторів (високорозчинних речовин, концентрація яких врівноважує зовнішній тиск — аміномасляна, глютамінова кислота, пролін);
- система вибіркового накопичення іонів у клітині — збільшення концентрації K^+ при збільшенні зовнішнього тиску);
- система регуляції осмолярності периплазми — синтез олігосахаридів, що утримують катіони.

Не тільки осмотичний тиск зменшує доступність води для клітини. Інший шлях — дефіцит екзогенної води, який може призводити до матричного водного стресу, до якого мікроорганізми більш чутливі, ніж до осмотичного.

Пристосуванням мікроорганізмів в умовах дефіциту екзогенної води є спороутворення, утворення гігроскопічних слизових капсул, здатність до використання метаболічної води в результаті окиснення органічних сполук (з 100 г глюкози утворюється 60 г води).

Реакція середовища (pH). Для життєдіяльності мікроорганізмів велике значення має реакція середовища, яка визначається концентрацією іонів водню, що утворюються у водному розчині при електролітичній дисоціації води. Кількісно реакцію середовища виражають за допомогою pH-показника. Цей показник означає величину від'ємного логарифма концентрації іонів водню. Концентрація іонів водню чистої води дорівнює 10^{-7}, тобто pH = 7. Рівні pH нижче 7 визначають кислотність середовища, вище 7 — її лужність.

Кожний мікроорганізм існує в певних межах pH і має свій специфічний оптимум реакції середовища (рис. 7.3).

Ацидофіли (лат. *acidus* — кислий) існують у межах pH від 1,0 до 6,0 і представлені термофільними архебактеріями та еубактеріями, наприклад, *Thermoplasma acidophilum* (pH 1,8), *Sulfolobus acidocaldarius* (pH 2,0–3,0), *Bacillus acidocaldarius*

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скварська І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

(pH 3,0), *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* (pH 2,0), і мезофільними хемолітоавтотрофами, наприклад, *Thiobacillus acidophilus* (pH 3,0–3,5), *T. ferrooxidans* (pH 1,8–2,4), *T. thiooxidans* (pH 2,5), *T. thioparus* (pH 3,0).

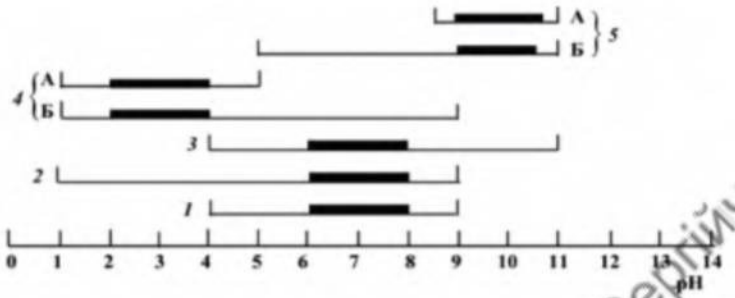


Рис. 7.3. Межі і оптимальні значення росту прокаріотів в залежності від pH: 1 — нейтрофіли; 2 — кислотостійкі; 3 — лугостійкі; 4 — ацидофіли; 5 — алкалофіли. А — облігатні; Б — факультативні форми. Жирна лінія — оптимальні pH росту.

Алкалофіли (араб. *аль-калі* — луг) розповсюджені в середовищах з pH 8,5–11,5 (в ґрунтах, місцях розкладання білків, біологічних рідинах із лужною реакцією), наприклад, *Bacillus pasteurii* потребує для свого розвитку pH 9,0, *Sporosarcina ureae* — pH 9,0, *B. firmus* — pH 9,0–10,5, *B. alcalophilus* — pH 10,5.

Вплив іонів водню на мікроорганізми може бути як прямим, так і опосередкованим. Опосередкований вплив пов'язаний із впливом іонів водню на певні компоненти середовища, дисоціація яких залежить від pH і відбивається на надходженні поживних речовин в клітину. Реакція середовища здійснює вплив на утворення і активність мікробних ферментів.

Окисно-відновний потенціал (Eh). Природні середовища існування мікроорганізмів характеризуються також окисно-відновним потенціалом (Eh), який відображає співвідношення окиснених та відновлених сполук у біологічних системах і є індикатором біохімічних процесів.

$$Eh = E_0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_{red}}{C_{ox}},$$

де R — газова константа (8,3144 Дж. град$^{-1}$ ·моль$^{-1}$; при 25 °C RT = = 2,479 кДж·моль$^{-1}$); F — число Фарадея (1 F = 96485 Кл· моль$^{-1}$); T — абсолютна температура; C_{red} — концентрація відновлених сполук; C_{ox} — концентрація окиснених сполук.

Вимірюється Eh у мілівольтах і має найвище позитивне значення при високих концентраціях окисника (+815 мВ — реакція розкладу H_2O на O_2 і H_2) та найбільше негативне значення при високих концентраціях відновників (–414 мВ — реакція відновлення атомарного водню до молекулярного).

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Високоаеровані середовища з рівнем Eh +810 мВ створюють умови для існування облігатних аеробів та деяких факультативно анаеробних мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*. *Факультативні анаероби* переважають у середовищах, окисно-відновний потенціал яких наближається до нуля.

Для нітратредукуючих та денітрифікуючих бактерій видів *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus licheniformis*, *Paracoccus denitrificans*, *Thiobacillus denitrificans* характерний Eh +440 мВ і нижче. Ці мікроорганізми розповсюджені в ґрунті, де здійснюють важливі перетворення в циклі азоту. Нітратредукуючі бактерії *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus* та ін. є представниками мікрофлори шлунково-кишкового тракту, нижні відділи якого переважно заселені анаеробними бактеріями родів *Bacteroides*, *Propionibacterium* та ін.

Облігатні анаероби існують в середовищах з високими негативними значеннями Eh. Серед них відомі метаногенні бактерії (Eh –220 мВ) з природних (лимани, болота, рисові поля, рубець жуйних тварин) та антропогенних екоціш (відстійники очисних споруд) — *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanococcus mazei*, *Methanospirillum hungatii*.

Сульфатредукуюча бактерія *Desulfotomaculum ruminis* також є представником мікрофлори рубця жуйних тварин, проте більшість сульфатредукторів (Eh –265 мВ) складають біоценози мулу озер та морських осадів, де створюються анаеробні умови, наприклад, *Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfosarcina variabilis*, *Desulfococcus multivorans*, *Desulfonema limicola*, *Desulfobacter curvatus*, *Desulfotomaculum nigrificans*. Ці мікроорганізми також мають значення як корозійнонебезпечні.

Поживні речовини. Поживними речовинами є будь-які сполуки, використані мікроорганізмами як джерела макро- та мікроелементів, електронів та енергії. Надходження поживних речовин відбувається нерівномірно у часі та просторі, тому прийнято характеризувати місця існування мікроорганізмів термінами усередненого потоку поживних речовин за добу.

Бактерії, існування яких у природі залежить від їх здатності розмножуватись у місцях з низьким потоком поживних речовин — до 0,1мг/л за добу, відносять до *оліготрофів* (грец. *oligos* — малий, *trophe* — їжа). Типовими представниками оліготрофів є мешканці водойм та ґрунтів (*Achromatium beggiatoa*, *Thiothrix beggiatoa*, *Thiothrix* та ін.)

Копіотрофами (грец. *copiosus* — надмірність, *trophe* — їжа) називають мікроорганізми, що надають перевагу багатим субстратам. Копіотрофи розвиваються в умовах надходження поживних речовин, які, якнайменше, в 50 разів перевищують такі, що сприятливі для розвитку оліготрофів. До копіотрофів відносяться *E. coli*, бактерії роду *Zymomonas* та інші мікроорганізми, виділені з середовищ з активними процесами гниття.

Оліготрофні мікроорганізми досить широко розповсюджені в природі і в багатьох випадках чисельно домінують над копіотрофами. Широкому розповсюдженню оліготрофів сприяє ряд їх особливостей, які полягають у:

БІОЛОГІЯ. Том 1. Серигін Ю.М., Сквіра Т.М., Серигіна Т.М. та ін.

- накопиченні резервних речовин (полі-β-оксимасляної кислоти, поліглюкози, поліфосфатів);
- транспортні системи функціонують в умовах мінімальних концентрацій поживних речовин і характеризуються низькою субстратною специфічністю, нездатністю дискримінувати речовини;
- здатності до мініатюризації клітин в умовах голодування;
- низькій швидкості розмноження — час генерації оліготрофів складає 20–200 год. на противагу копіотрофам, які утворюють нове покоління протягом 10–20 хв.

Досить часто мікроорганізми, виділені як оліготрофи, під час лабораторного культивування стають копіотрофами.

Шляхи адаптації до джерел живлення можуть бути спеціалізованими або неспеціалізованими. Мікроорганізми, які здатні використовувати вузький спектр субстратів або вимагають для росту конкретну, незамінну іншими, речовину, відомі як спеціалісти. До них відносяться, наприклад, тіонові бактерії. Такі мікроорганізми швидше ростуть в умовах надлишку доступного для них субстрату. Генералісти використовують різноманітні сполуки, тому легше знаходять джерела живлення. Серед оліготрофів переважають генералісти, хоча є і спеціалісти, як, наприклад, метилотроф *Hyphomicrobium vulgare*.

Токсичні речовини. Можливість нормального існування тих чи інших бактерій залежить не лише від доступності поживних речовин, а й від їх можливості протистояти згубній дії токсичних для них речовин. Найбільш рідкісне явище в природних еконішах — повна відсутність токсичних речовин.

За типом впливу токсичних речовин на клітину їх дія може бути бактерицидною, або бактеріостатичною. *Бактеріостаз* (грец. *bacterion* — паличка, *stasis* — стояти на місці) — затримка росту і розмноження бактерій. Припинення дії фактора призводить до відновлення росту. При *бактерицидності* (лат. *caedere* — вбивати) — дія фактору призводить до загибелі клітини.

В багатьох випадках речовина в малих концентраціях буде мати бактеріостатичний ефект, тоді як у високій — бактерицидний.

За характером впливу хімічні речовини розділяють на такі, що призводять до:

- пошкоджень клітинної стінки (поверхнево-активні речовини, жирні кислоти, мила, детергенти);
- пошкоджень клітинної стінки та білків цитоплазми (фенол, крезол та їх похідні);
- порушень процесів клітинного ділення завдяки спорідненості до нуклеїнових кислот (акридини);
- денатурації білків (формальдегіди);
- коагуляції білків (солі важких металів).

Присутність токсичних речовин зменшує можливості збалансованого обміну між клітинами мікроорганізмів та середовищем. Це активізує контролюючі та захисні системи мікроорганізмів, до яких належать:

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Сківка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

- система строгого контролю, що регулюється синтетазою фосфонуклеотидів-алармонів (фр. *alarme* — тривога) і спрямована на обмеження поглинання сполуки із середовища;
- система SOS-відповіді, яка активує каскадні реакції дерепресії білків з протеолітичною активністю, репараційних систем, зміни складу білків зовнішньої мембрани клітин бактерій;
- система адаптивної відповіді — індуцибельна антимутагенна система репарації, що активується концентраціями мутагенів у 10–100 разів менших, ніж необхідно для прояву їх мутагенної дії;
- синтез білків теплового шоку, який відбувається не тільки в умовах температурного стресу, але й під впливом опромінення та токсичних речовин;
- синтез ферментів захисту від окисників — каталази, пероксидази, супероксиддисмутази, глутатіон-редуктази, алкілгідропероксидредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази;
- формування резистентності шляхом активної депортації токсичних сполук із клітини, синтезу гідролаз, редуктаз, трансфераз.

Мікроорганізми здатні концентрувати токсичні речовини в поверхневих структурах і навіть всередині клітини. Коефіцієнти концентрування різні для різних мікроорганізмів та сполук. Іноді накопичення таких речовин є летальним для клітини, в інших випадках — ні. Цю властивість мікроорганізмів використовують з практичною метою в технологіях біосорбції, трансформації сполук важких металів, детоксикації природних середовищ.

Важливою адаптаційною ознакою є здатність певних мікроорганізмів використовувати речовини, які відомі своєю токсичною дією, як джерела енергії. Так, серед нітрифікуючих бактерій відомі *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, єдиним джерелом енергії яким слугує нітрит у реакції його окиснення до нітрату. Така властивість цих мікроорганізмів забезпечується нітритоксиредуктазною активністю. Бактерії роду *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* окиснюють аміак до нітриту завдяки активності ферментів монооксигенази та гідроксиламін-оксидоредуктази. Сіркоокиснюючі бактерії родів *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiosphaera*, *Thermothrix* використовують як джерело енергії відновлені сполуки сірки — потенційно токсичні субстрати — сірководень, тіоціонат, сульфіти.

Деякі мікроорганізми, наприклад, коринебактерії, псевдомонади здатні утилізувати продукти нафтопереробки, нафталін, фенол тощо.

Кисень. Сучасний стан атмосфери Землі, яка містить ~21 % кисню, зумовив формування певних груп організмів за їх відношенням до цього газу. Деякі з існуючих форм мікроорганізмів обрали місця існування, де O_2 практично відсутній і тим самим забезпечили собі умови «безкисневої епохи» — це *облігатні анаероби* (наприклад, представники родів *Desulfotomaculum*, *Syntrophospora*). Інші — *облігатно аеробні* мікроорганізми — пристосувались до кисневих умов і активно використовують кисень у своїх метаболічних процесах (наприклад, представники роду *Acetobacter*). *Факультативні анаероби* мають альтернатив-

ОБІОЛОГІЯ» том 1. Сергійчук І.М., Скіцька Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

ні шляхи енергетичного обміну і можуть розвиватися як при наявності, так і у відсутності кисню (наприклад, представники родів *Escherichia, Proteus*). Деякі аеробні мікроорганізми потребують для свого розвитку молекулярний кисень, але у значно меншій концентрації, ніж він міститься в атмосфері — їх називають *мікроаерофілами* (наприклад, представники родів *Campylobacter*, *Helicobacter*). Виділяють також *аеротолерантні* мікроорганізми, які мають бродильний тип метаболізму, але при контакті з киснем не гинуть.

Дія молекулярного кисню на клітину досить агресивна і пов'язана з його здатністю окиснювати клітинні метаболіти, що не є бажаним для клітини. Крім того, при окиснені флавопротеїдів утворюється пероксид водню — токсична для бактерій речовина. В реакціях окиснення утворюється, хоча і невелика кількість, але ще більш токсичного вільного перекісного радикалу — O_2^-.

Сучасні аеробні та аеротолерантні прокаріоти для боротьби з токсичними формами кисню виробили захисні механізми, основою яких є здатність спеціальних ферментів каталізувати реакції їх руйнування. Наприклад, супероксиддисмутаза запобігає накопиченню потенційно летального для прокаріотів перекисного радикалу, каталізуючи його перетворення на кисень та перекис водню. Каталаза, в свою чергу, каталізує розпад перекису водню на кисень та воду.

Ці ферменти містяться лише в клітинах аеробів. У аеротолерантних та факультативних анаеробів, як правило, каталаза відсутня. В клітинах анаеробних мікроорганізмів не виявлено жодного з цих ферментів, тому вони беззахисні проти токсичної дії кисню. Єдино досяжні для них шляхи нейтралізації кисню — витіснення його з середовища існування завдяки інтенсивному виділенню CO_2 та H_2.

В природних умовах неможливо відокремити вплив на мікроорганізми якогось одного фактора. Сукупність впливу факторів може різко впливати на дію досліджуваного. Так, наприклад, pH середовища змінює летальний вплив температури. Мікроорганізми швидше гинуть при нагріванні у кислому середовищі, ніж у нейтральному або лужному. Летальний вплив рентгенівських променів значно підвищується в присутності молекулярного кисню. Тобто терміни «оптимальна температура» або «оптимальний pH» мають реальне значення, коли відомі всі інші фактори довкілля.

7.2. Мікроорганізми ґрунту

Вчення про ґрунт було створене В. Докучаєвим, П. Костичевим, С. Виноградським, В. Вільямсом та ін. С. Виноградський по праву вважається засновником ґрунтової мікробіології. Він довів, що родючість ґрунту визначається наявністю не лише неорганічних і органічних речовин, а й діяльністю різних видів мікроорганізмів, котрі зумовлюють якісний склад ґрунту.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скібка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Ґрунт є сприятливим середовищем для багатьох прокаріотичних і еукаріотичних організмів. Його мінеральний та хімічний склад, фізико-хімічний стан регулюють чисельність і видовий склад мікробних біоценозів, до яких входять бактерії, гриби, найпростіші та бактеріофаги.

Серед природних середовищ ґрунт є найбільш придатним середовищем для розвитку мікроорганізмів. Він містить необхідні поживні речовини, має достатню кількість вологи, має значення pH та Eh, які забезпечують розвиток різних фізіологічних груп мікроорганізмів, ґрунтове повітря містить необхідну кількість газів, що забезпечує розвиток аеробних, факультативно-анаеробних та анаеробних мікроорганізмів, ґрунт має певну температуру, що забезпечує розвиток психрофільних, мезофільних та термофільних мікроорганізмів; у різних ґрунтах визначаються різні концентрації солей.

У ґрунті виділяють три фази: тверду, рідку (або ґрунтовий розчин) і газоподібну (ґрунтове повітря). *Тверда фаза* займає до 50 % ґрунту і складається з трьох типів механічних елементів — мінеральних, органічних та органо-мінеральних. Механічні елементи об'єднуються в ґрунтові агрегати діаметром 0,5–5,0 мм, кожен з яких, ніби губка, пронизаний численними порами різного діаметра. Проміжки між ґрунтовими агрегатами і великі пори добре дренованого ґрунту заповнені повітрям, вода крізь них проходить під дією сил тяжіння, а в дрібних порах затримується капілярними силами. Навіть у дуже сухому ґрунті залишається деяка кількість капілярної води і води, яка знаходиться в адсорбованому стані на поверхні ґрунтових агрегатів. На твердих частинках ґрунту (ґрунтових агрегатах) зосереджені основні поживні речовини.

Рідка фаза, або ґрунтовий розчин, заповнює капіляри ґрунтових агрегатів і утворює навколо них плівки різної товщини. Ґрунтовий розчин містить мінеральні, органо-мінеральні та органічні сполуки. Вміст цих речовин неоднаковий у ґрунтах різних типів, він залежить також від горизонту ґрунту та пори року. Верхні шари ґрунту містять більше органічних речовин, ніж нижні. Вміст води в ґрунті визначає його аерацію.

Газоподібна фаза ґрунту (ґрунтове повітря) відрізняється від атмосферного значним вмістом CO_2 (у ґрунтовому повітрі його вміст складає 0,3–3,0 %; в атмосферному— 0,03 %), меншою кількістю O_2 (у ґрунтовому повітрі вміст кисню становить 7,0–9,0 %; в атмосферному— 21,0 %). Вміст N_2 (~78,0 %) однаковий і в ґрунтовому, і в атмосферному повітрі. Повітря ґрунту збагачене метаном, воднем, оксидами азоту та вуглецю, леткими сполуками. З ґрунту постійно виділяється CO_2, а його місце займає атмосферне повітря, тобто відбувається постійний газообмін. Такий процес називається «*диханням*» ґрунту.

Ґрунт — це не тільки середовище для перебування мікроорганізмів, а й продукт їх життєдіяльності.

Роботи М. Холодного, Д. Новогрудського, Б. Перфільєва і Д. Габе, Д. Звягінцева дозволили встановити основні принципи розподілу мікроорганізмів у ґрунті в природному стані. Було показано, що одні мікроорганізми розташовуються

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук І.М., Скіцька Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

на поверхні ґрунтових агрегатів, інші займають внутрішньо агрегатний простір. Як в одному, так і в другому випадку вони можуть знаходитися в ґрунтовому розчині, який заповнює проміжки між агрегатами; у плівковій воді у вільному стані або адгезованими на поверхні твердих частинок; у капілярах у вільному або прикріпленому стані між агрегатами або всередині них. При цьому бактерії заселяють ґрунтові агрегати будь-яких розмірів, а міцеліальні форми (актиноміцети й гриби) тяжіють до більш великих агрегатів, пронизуючи їх. Однак, при цьому вони не утворюють суцільної мікробної плівки, а розміщені у вигляді невеличких колоній (угруповань) в окремих зонах, тобто для мікроорганізмів характерна зональність у їх розташуванні.

Для підрахунку кількості мікробних клітин у ґрунті використовують різні методи: посіву розведень ґрунту на щільні поживні середовища; прямого підрахунку мікробних клітин (метод Виноградського та люмінесцентний метод); електронної мікроскопії.

При визначені кількості мікробних клітин методом посіву на поживні середовища роблять відповідні розведення ґрунту (10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}…), ретельно їх перемішують, відстоюють і висівають певний об'єм на поверхню (або в товщу) середовища. Посіви інкубують, підраховують кількість колоній, що виросли на середовищі, і розраховують на кількість мікробних клітин в 1 г абсолютно сухого ґрунту. При цьому вважається, що кожна колонія виросла з однієї мікробної клітини.

Більш достовірні результати підрахунку кількості мікробних клітин у ґрунті дають прямі методи мікроскопії ґрунтових розведень. Принцип методу був запропонований С. Виноградським. Він полягає в тому, що 0,01 мл певного розведення ґрунту наносять на предметне скло і ретельно розподіляють на площі 4 см^2 (або 8 см^2). Після висушування і фіксації мазок фарбують, а потім розглядають під мікроскопом, підраховуючи кількість паличкоподібних бактерій, дрібних і великих коків, обривки міцелію грибів і актиноміцетів та інших мікроорганізмів. Визначають кількість мікробних клітин в 1 г ґрунту за формулою:

$$X = \frac{C \cdot (A + 100) \cdot ab}{V},$$

де C — показник розведення ґрунту; A — вологість ґрунту; a — середня кількість клітин у полі зору; b — кількість полів зору на визначеній площі; V — об'єм суспензії, нанесеної на площу мазка (0,01 мл).

Визначення кількості бактеріальних клітин методом мікроскопіювання полегшується при використанні люмінесцентного мікроскопа. При цьому мікроорганізми краще видно серед дрібних частинок ґрунту. Для обробки препаратів використовують акридиновий оранжевий, ізотіоціонат та інші флюорохроми. При обробці препаратів акридиновим оранжевим мертві клітини дають червону люмінесценцію, а живі — зелену.

Біологія. Том 1. Сергійчук І.Г., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Кількість мікробних клітин в 1 г ґрунту обчислюють за формулою:

$$X = \frac{4an}{S} \cdot 10^{10}$$

де a — середня кількість клітин у полі зору; n — показник розведення ґрунту; S — площа препарату.

Для дослідження мікробних пейзажів ґрунту використовують метод обростання пластинок за М. Холодним. Для цього предметні скельця занурюють в ґрунт, а через певні проміжки часу розглядають під мікроскопом як фіксовані забарвлені препарати. Російські вчені Б. Перфільєв і Д. Габе запропонували метод капілярної мікроскопії. З цією метою вони сконструювали спеціальний прилад — капілярний педоскоп (рис. 7.4). Педоскопи мають канали прямокутної форми, що дозволяє захистити мікробні пейзажі від механічних ушкоджень.

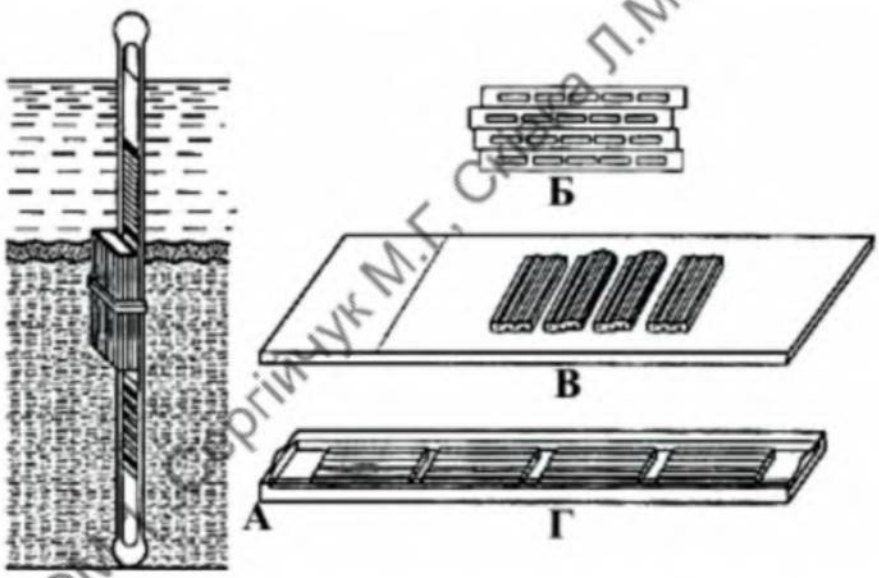


Рис. 7.4. Капілярний педоскоп Б. Перфільєва і Д. Габе: А — капілярний педоскоп, занурений у мул; Б — набір капілярних комірок у поперечному розрізі; В — комірки на предметному склі; Г — капілярні комірки в захисному футлярі

Д. Нікітін використовував для підрахунку мікроорганізмів у ґрунті електронний мікроскоп. Останнім часом для прямого аналізу мікрофлори ґрунту використовують скануючий електронний мікроскоп, який дає об'ємне зображення об'єктів (рис. 7.5).

Ступінь обсіменіння ґрунту мікроорганізмами залежить від його характеру та хімічного складу (табл. 7.2).

ЕКОБІОЛОГІЯ. Т.О. Сергійчук М.Г., Сергійчук Л.М., Сергійчук Г.М. та ін.

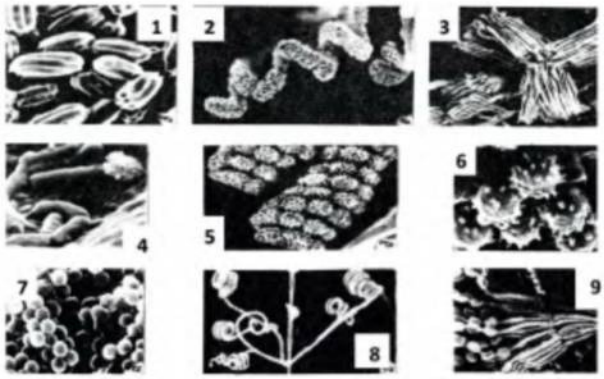


Рис. 7.5. Ґрунтові мікроорганізми під скануючим мікроскопом: 1 — спори бацил; 2, 5 — спороносці стрептоміцетів; 3 — конідієносець *Aspergillus*; 4 — спороутворююча бактерія; 6 — конідії *Penicillium*; 7 — аспорогенна бактерія; 8 — *Streptomyces* sp.; 9 — конідієносець *Penicillium*

Таблиця 7.2.

Загальна кількість мікроорганізмів у різних ґрунтах, визначена методом прямого підрахунку

Тип ґрунту	Кількість мікробних клітин в 1 г а.с.ґ.*	Кількість спор в 1 г а.с.ґ.
Підзол глинистий	$8{,}0 \times 10^8$	4×10^3
Лісовий	$1{,}2 \times 10^9$	$1{,}2 \times 10^4$
Чорнозем	$4{,}8 \times 10^9$	$1{,}0 \times 10^5$–$1{,}8 \times 10^5$
Піщаний	$2{,}8 \times 10^9$	$2{,}0 \times 10^5$–$4{,}0 \times 10^5$
Світлозем	$2{,}7 \times 10^9$	$7{,}0 \times 10^5$
Рихлі піски	$9{,}0 \times 10^8$	$6{,}0 \times 10^5$–$1{,}2 \times 10^6$
Сірозем	$8{,}9 \times 10^8$	$7{,}6 \times 10^5$–$1{,}5 \times 10^6$

Примітка: а.с.ґ. — абсолютно сухий ґрунт.*

Найбільша кількість мікроорганізмів (понад 10^6 клітин/г абсолютно сухого ґрунту (а.с.г.) визначається у верхньому (орному) шарі ґрунту на глибині 5–15 см. У глибоких шарах (понад 1,5 м) зустрічаються поодинокі мікробні клітини, вони є також в артезіанській воді. У родовищах нафти домінують «нафтові» види бактерій, здатні асимілювати парафіни і трансформувати частину нафти в густу асфальтоподібну масу, що може закупорювати природні резервуари нафти.

Мікроорганізми ґрунту — це не інертна маса клітин, вона є фондом біологічно важливих елементів для рослин, джерелом поживних речовин для багатьох представників педофауни, акумулятором енергії в біогеоценозах, трансформатором речовин у природі.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сівка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

Ґрунт є несприятливим середовищем для більшості патогенних видів бактерій, грибів, вірусів, найпростіших, хоча деякі збудники інфекційних процесів можуть виживати в ґрунті тривалий час (табл. 7.3).

Таблиця 7.3.

Тривалість виживання деяких патогенних мікроорганізмів у ґрунті

Збудник захворювання	Середній термін виживання, тижнів	Максимальний термін збереження, місяців
Сальмонели черевного тифу	2–3	12
Шигели	1,5–5	9
Холерний вібріон	1–2	4
Мікобактерії туберкульозу	13	7
Бруцели	0,5–3	2
Збудники чуми	0,5	1
Збудники туляремії	1,5	2,5

Відмирання патогенних бактерій у ґрунті зумовлено відсутністю необхідних поживних речовин, антагонізмом ґрунтових мікроорганізмів, дією сонячних променів.

Постійним компонентом ґрунтового мікробного ценозу, крім бактерій та актиноміцетів, є гриби — багатоклітинні міцеліальні еукаріотичні організми. В ґрунті вони здатні реалізувати гетеротрофний (вільноживучі гриби ґрунту, ризосфери вищих рослин) та біотрофний (паразити рослин і тварин) способи живлення. Гриби відіграють важливу роль у кругообігу речовин у природі, трансформуючи численні органічні та неорганічні сполуки. В неокультурених ґрунтах і особливо в ризосфері, вони займають чільне місце в ґрунтовій біоті. Кількість біомаси грибів, визначена методом прямого спостереження, становить до 80–95 % від загальної кількості мікробної біомаси.

Санітарно-мікробіологічні дослідження ґрунту проводять з метою попереджувального, поточного санітарного нагляду або за епідемічними показниками (при розслідуванні причин спалахів інфекційного захворювання і наслідків екологічних аварій).

При проведенні поточного санітарного нагляду обмежуються встановленням факту і оцінки фекального забруднення ґрунту. Для визначення давності фекального забруднення ґрунту визначають наявність санітарно-показових мікроорганізмів. Наявність у ґрунті певних концентрацій *Escherichia coli* і *Streptococcus faecalis* вказує на свіже, бактерій родів *Citrobacter* і *Enterobacter* — на несвіже, а *Clostridium perfringens* — на давнє фекальне забруднення.

При санітарно-мікробіологічному дослідженні ґрунту з метою попереджувального нагляду визначають; *колі-індекс* — кількість бактерій групи кишкової

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.Г. Сівка Л.М., Сергійчук І.М. та ін

палички (БГКП) в 1 г ґрунту; *перфрингенс-титр* — найменша маса ґрунту в грамах, в якій виявляються клітини *Clostridium perfringens* та *загальну чисельність* сапрофітних, термофільних і нітрифікуючих бактерій в 1 г ґрунту.

Суттєвою особливістю ґрунту, як середовища існування мікроорганізмів, є його гетерогенність. Мікрозони розділені тут у просторі й у часі, тому у ґрунті існує велика кількість екологічних ніш. Завдяки мікрозональності у ґрунті можуть одночасно відбуватись різні, іноді несумісні процеси — аеробні та анаеробні, автотрофні та гетеротрофні. Кожний процес кругообігу елементів, що відбувається у ґрунті, здійснюється декількома формами мікроорганізмів, які дублюють один одного. Отже для ґрунту не зовсім підходить визначення Вольтерри — Гаузе, що два види не можуть займати в екосистемі одну й ту саму екологічну нішу.

7.3. Мікроорганізми води

Мікроорганізми виявляють у найрізноманітніших типах водойм — солоних та прісних, прозорих та мутних, мілких та глибоких, стоячих та проточних, гарячих та льодяних. У воді розчинені речовини необхідні для живлення мікроорганізмів. Мікроорганізми у воді живуть, розмножуються, засвоюють поживні речовини і виділяють продукти обміну.

На кількісний склад мікроорганізмів у воді впливає її біо- та фізико-хімічний склад (вміст органічних та неорганічних речовин, температура, значення pH, опромінення, насиченість CO_2 та O_2 тощо), глибина водойм, швидкість течії, флора та фауна, надходження стічних вод та інші чинники. На поверхні води на мікроорганізми згубно діють промені сонця, а на глибині — високий тиск, низька температура, нестача кисню.

У воді є постійні її мешканці, але й багато потрапляє мікроорганізмів з ґрунту, особливо після дощів. Так, якщо в 1 мл води озера визначається біля 10 мікробних клітин, то після дощу їх кількість зростає до 1200. Це представники родів *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Flavobacterium*, *Nitrobacter*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Spirillum* та ін. При надходженні великої кількості органічних речовин виявляються представники родів *Clostridium*, *Spirochaeta*, *Vibrio*. У водоймах, багатих на сірководень, розвиваються фотосинтезуючі бактерії.

На кількість мікроорганізмів у воді впливає також близькість населених пунктів — міст та сіл. Вгору за течією від населених пунктів мікроорганізмів у воді значно менше, ніж біля населеного пункту і вниз за течією.

Змінюється кількість мікроорганізмів і в залежності від глибини. Так, наприклад, професор М. Федоров, дослідивши мікрофлору озер, наводить такі дані: на поверхні водойми в 1 мл води визначається 73 мікробні клітини; на глибині 5 м — 142; 10 м — 197; 20 м — 147; 40 м — 50; 54,5 м — всього 6 клітин.

Мікроорганізми, які потрапляють у воду з ґрунту, можуть виживати там різний час. Це залежить від виду мікроорганізму та характеру води. У воді ви-

БІОЛОГІЯ: ТОМ 1. Сергійчук І.М., Сківка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

являють холерні вібріони, черевнотифозні та дизентерійні бактерії, збудників туляремії, бацили сибірки та багато інших небезпечних для людей та тварин мікроорганізмів.

Вважається, що біля 25 % інфекційних захворювань передається саме через воду. Наприклад, у чистій колодязній воді сальмонели можуть зберігатися від 2 діб до 3 місяців, шигели — 5–9 діб, лептоспіри — 7–150 діб. Туберкульозні палички у річній воді зберігають свою життєздатність до 5 місяців. Черевнотифозні бактерії можуть навіть перезимовувати в льоду, не втрачаючи хвороботворних властивостей.

Якість води визначається, перш за все, загальною кількістю виявлених у ній мікроорганізмів. Питна вода вважається придатною до вживання, якщо в 1 мл міститься до 100 мікробних клітин. Ступінь біологічного забруднення води оцінюють за колі-титром та колі-індексом. *Колі-титр* — це найменший об'єм води, з якого висівається одна клітина *Escherichia coli. Колі-індекс* — це та кількість клітин *E. coli*, яка виявляється в 1 л води. За діючими нормативами для водопровідної води колі-титр не повинен бути менше 300, а колі-індекс — більше 3.

Ще більш інтенсивне життя у мулі річок та озер. Так, 1 г вологого мулу містить від 200 до 400 млн мікробних клітин. У поверхневому шарі мулу міститься багато залізо- та сіркобактерій. Оскільки у воді живе та відмирає велика кількість живих істот, а в результаті гниття органічних речовин утворюється сірководень (H_2S), то особливо багато цього отрутного для рослин і тварин газу накопичується в мулі. Сіркобактерії ж здатні окиснювати сірководень до сірчаної кислоти. Якщо б цього не відбувалося, сірководень надходив би в товщу води і вбивав живі організми.

Мікроорганізми живуть також і в глибоких шарах мулу. Це анаероби, які отримують необхідну для їх життєдіяльності енергію шляхом бродіння.

Видовий склад мулу досить різноманітний. В 1 г мулу міститься від 100 тис. до 1 млн клітин сульфатредукуючих бактерій, від 10 до 100 тис. амоніфікаторів, біля тисячі нітрифікаторів (здійснюють процеси окиснення аміаку до азотної кислоти і сприяють утворенню селітри), від 10 до 100 тис. денітрифікаторів і приблизно 100 анаеробних та аеробних бактерій, здатних руйнувати клітковину.

Багаті мікроорганізмами і води морів та океанів. Вони пристосувались не лише до розвитку у сильно солоних середовищах, а й до умов надвисокого тиску. Так, мікроорганізми були виявлені в одній з найглибших западин світового океану (10 462 м). На такий глибині мікроорганізми розвивались при температурі 2,5 °С і тиску біля 1000 атм. Мікрофлора морів та океанів бере безпосередню участь у кругообігу вуглецю, заліза, азоту, сірки, фосфору, марганцю, калію. Бактерії морів розкладають складні органічні речовини і перетворюють їх у придатний стан для живлення водної флори та фауни. Важлива також роль хітинруйнуючих бактерій. Хітин — речовина, з якої складаються тверді покриви морських тварин.

Водна мікробіологія займається також питаннями участі мікроорганізмів в корозії металевих та залізобетонних конструкцій.

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сквірська І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Виняткова здатність мікроорганізмів пристосовуватись до умов довкілля знайшла своє відображення і в умовах високих температур. В гарячих гейзерах при температурі вище 90 °С були виявлені термофільні бактерії. Цікавим є факт, що ці мікроорганізми розмножуються лише при високих температурах.

Санітарно-мікробіологічне дослідження води проводиться з метою поточного нагляду, а також за епідеміологічними показниками. Основними об'єктами такого дослідження є:

- питна вода централізованого водопостачання;
- питна вода нецентралізованого постачання;
- вода поверхневих і підземних джерел;
- стічні води;
- вода прибережних зон морів;
- вода плавальних басейнів.

Основними офіційно регламентованими показниками якості санітарно-мікробіологічного стану води є:

1. *Загальне мікробне число* (ЗМЧ) — кількість мезофільних бактерій в 1 мл ($см^3$) води.
2. *Індекс бактерій групи кишкової палички* — кількість БГКП в 1 л води.

За необхідності розслідування водних спалахів інфекційних захворювань проводять більш детальне санітарно-мікробіологічне дослідження води, встановлюється наявність ентерококів, сальмонел, холерного вібріона, ентеровірусів.

7.4. Мікроорганізми повітря

Повітря — це несприятливе для розвитку мікроорганізмів фізичне середовище. Відсутність поживних речовин, дія сонячних променів та інших факторів зумовлює швидку загибель мікроорганізмів у повітрі. Проте деякі види здатні зберігатися в ньому досить тривалий час.

Склад мікрофлори повітря визначається його забрудненістю мінеральними та органічними частками, температурою, характером місцевості, мікрофлорою ґрунту і води, а також порою року та метеорологічними умовами. Повітря великих міст більш забруднене мікроорганізмами, ніж у сільській місцевості. Повітря лісів, гір, над водною поверхнею морів і великих озер містить ще меншу кількість мікробних клітин.

Літом повітря забруднене мікроорганізмами вдвічі більше, ніж взимку. Якщо прийняти загальну кількість мікроорганізмів взимку за одиницю, то весною вона становитиме 1,7, влітку — 2, восени — 1,2. Завдяки опадам (дощ, сніг) повітря очищується від пиловидних частинок і мікроорганізмів, які на них осіли.

Видовий склад мікроорганізмів повітря досить різноманітний. Вони потрапляють у нього з ґрунту, рослин та живих організмів. Найбільш розповсюджені в повітрі спорові форми, пігментоутворювальні бактерії (стафілококи,

Біологія. Підручник М.І. Сівка Л.М. Сергійчук Т.М. та ін

мікрококи), цвільові гриби, дріжджі та актиноміцети. Кількість мікроорганізмів у повітрі приміщень залежить від частоти провітрювання, способу прибирання, освітленості та інших факторів.

Кількість мікроорганізмів у повітрі коливається в широких межах — від декількох одиниць до багатьох десятків тисяч в 1 $м^3$. Так, у повітрі Арктики визначається 2–3 мікробних клітини на 20 $м^3$, у промислових містах — більше 3000 мікробних клітин на 1$м^3$. Спороутворювальні бактерії та конідії грибів визначаються на висоті понад 20 км. В 1 г пилу може міститися до 10^6 мікробних клітин. Розповсюдження мікроорганізмів у повітрі пов'язане з утворенням аерозолю — колоїдної системи, яка складається з крапель рідини (чи дрібних твердих часток), завислих у газовому середовищі. Мікроорганізми, які містяться в повітрі, можуть перебувати в трьох станах бактеріального аерозолю — крапельному, крапельно-ядерному і пиловидному. Стійкість аерозолю залежить від розмірів часток, поверхневої енергії, величини електричного заряду та властивостей дисперсійного середовища. Частинки розміром більше 10 мкм швидко осідають, бо їх сила тяжіння перевищує опір повітря.

У повітря закритих приміщень потрапляє мікрофлора з верхніх дихальних шляхів та покривів людини і тварин. У приміщенні, де перебувають хворі тварини або люди, в повітрі можуть визначатися патогенні форми мікроорганізмів — коки, мікобактерії туберкульозу, збудники дифтерії, сибірки, коклюшу, легеневої форми чуми, туляремії та ін. Збудники цих інфекцій можуть передаватися разом з краплями слизу чи мокроти при чханні, кашлі, розмові.

При чханні та кашлі в повітря викидається до 60 000 крапель різного розміру на відстань до 2–3 м. Великі краплі (розміром 100–2 000 мкм) швидко осідають, а дрібні краплі бактеріального аерозолю (1,0–10 мкм) можуть протягом тривалого часу (від кількох годин до кількох діб) перебувати в завислому стані. Навіть короткочасне перебування патогенних форм мікроорганізмів у повітрі може стати причиною розповсюдження інфекційних захворювань.

Для дослідження мікрофлори повітря використовують різні методи:

1. *Природна седиментація* (чашковий метод Коха) з пасивним осадженням мікробних клітин на поверхню щільного поживного середовища за певний проміжок часу (зазвичай 5–10 хв).

2. *Вимушена седиментація* з використанням спеціальних приладів — імпакторів типу приладу Кротова (мікробні клітини осідають на поверхню щільного поживного середовища) та імпінджерів типу приладу Дьяконова (при продуванні повітря мікроорганізми надходять в рідке поживне середовище). Ці методи більш надійні, оскільки дозволяють дати кількісну характеристику мікробного забруднення повітря.

3. *Фільтраційний метод* — повітря продувають через воду або мембранні фільтри з наступним висівом у поживне середовище.

Критеріями оцінки санітарно-мікробіологічного стану повітря закритих приміщень є:

Мікробіологія: підруч. / М.І. Сергійчук, І.М. Сергійчук, Т.М. та ін.

1. *Загальне мікробне число* (ЗМЧ) — кількість бактерій у перерахунку на 1 м^3 повітря, які виросли про посіві на поверхню поживного агару (посіви інкубують протягом 24 год при 37 °С, потім ще 24 год при 20 °С);
2. *Індекс санітарно-показових бактерій* — кількість в перерахунку на 1м^3 повітря умовно-патогенних мікробів дихальних шляхів — гемолітичних стрептококів, золотистого стафілокока, грамнегативних бактерій, дріжджеподібних грибків та цвілей.

7.5. Взаємовідносини мікроорганізмів у природі

В процесі еволюції кожна група організмів мала пристосуватися не лише до умов неживої природи (довкілля), але й до інших живих організмів. Адаптація при тривалому тісному співіснуванні різних організмів призвела до набуття ними нових метаболічних особливостей, які дозволяють організмам або отримувати користь від свого співіснування, або витримувати конкуренцію один з одним. Явище співіснування організмів називають симбіозом (грец. *symbiosis* — сумісне життя).

Симбіотичні асоціації, які утворюють мікроорганізми з рослинами і тваринами, а також іншими мікроорганізмами, розділили за ступенем їх взаємної близькості на ектосимбіоз та ендосимбіоз. При ектосимбіозі мікроорганізми зберігають зовнішнє положення відносно свого хазяїна, тоді як при ендосимбіозі мікроорганізм розвивається всередині клітини хазяїна.

Залежно від впливу який здійснюють симбіонти один на одного, він може розглядатись як позитивний та негативний. Серед позитивних взаємовідносин виділяють:

- мутуалізм (лат. *mutuus* — взаємний) — форма симбіозу, при якому обидва партнери отримують користь від свого існування. Часто цей зв'язок є нерозривним;
- синтрофія (грец. *syn* — разом, *trophe* — харчування) — ріст одного або декількох видів мікроорганізмів на середовищі, яке кожному з них окремо є недоступним;
- коменсалізм (лат. *com* — разом, *mensa* — стіл, трапеза) — форма симбіозу, при якій один з партнерів покладає на іншого регуляцію своїх відносин з довкіллям. Існування коменсала для хазяїна залишається непомітним, тобто спостерігається однобічна синтрофія;
- синергізм — форма співіснування, коли в асоціантів відбувається підсилення фізіологічних функцій.

При негативних взаємовідносинах говорять про конкуренцію (лат. *concurrere* — стикатися), або антагонізм (гр. *antagonisma* — суперечка, боротьба). Конкуренція може бути пасивною — коли різні організми використовують однакові поживні речовини (перевага за швидкоростучими формами) та активною — зумовленою виділенням бактерицидних речовин. Жорстким прикладом

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.І., Сніжкіна І.М., Сергійчук Т.М. та ін

конкурентних взаємовідносин може бути також паразитизм (гр. *parasitos* — нахлібник, дармоїд), коли один із симбіонтів використовує іншого як середовище існування, та хижацтво — коли один використовує іншого як поживу.

Природні взаємовідносини між різними організмами настільки складні і багатогранні, що досить часто неможливо їх віднести до конкретного типу симбіотичних взаємовідносин.

На відміну від лабораторних умов, де мікроорганізмам штучно створюються умови чистої культури, в природі бактерії змушені витримувати боротьбу за існування. Неконкурентноздатні мікроорганізми неминуче зникнуть із спільноти.

При *пасивному антагонізмі* спостерігають витіснення одного мікроорганізму іншим, якщо збільшення чисельності обох видів лімітовано одним і тим самим життєво важливим ресурсом, кількість та (або) доступність якого обмежені. Так, при вирощуванні на штучному поживному середовищі туберкульозних бактерій та сапрофітної мікрофлори переважно розвиваються сапрофіти через їх більшу швидкість росту. Експериментально було доведено, що при зміні умов досліду можна змінити кінцевий результат конкурентних взаємовідносин, що у багатьох випадках може бути реальним відображенням сезонних змін. Наприклад, при сумісному культивуванні *Spirillum* sp. та *Pseudomonas* sp. при температурі 16 °С і вище перевага була за *Spirillum* sp., тоді як при зниженні температури до 2 °С на тому ж самому субстраті швидше розвиваються *Pseudomonas* sp.

Активний антагонізм зумовлено виділенням бактерицидних речовин. Такими речовинами можуть бути неспецифічні продукти обміну (органічні кислоти, спирти, аміак, феноли, пероксид водню та ін.) або специфічні (антибіотики).

Такі продукти обміну, як кислоти та спирти, токсичні для будь-якої клітини. Так, при розвитку бактеріальних популяцій у молоці, спочатку спостерігається незалежний розвиток різних видів мікроорганізмів. Але за наявності бактерій, які здійснюють молочнокисле бродіння, молоко поступово підкислюється і перевага залишається за кислотостійкими молочнокислими коками та паличками. З часом молочнокислі палички, які є більш кислотостійкими, витісняють і коки.

Оцтовокислі бактерії можна підтримувати в чистій культурі, не здійснюючи особливих заходів проти їх контамінації. Висока концентрація оцтової кислоти в середовищі запобігає розвитку інших мікроорганізмів.

Уролітичні бактерії в процесі гідролізу сечовини сприяють накопиченню аміаку, за рахунок якого середовище стає сильно лужним. Висока лужність та висока концентрація аміаку в середовищі запобігають розвитку інших мікроорганізмів.

Дія специфічних продуктів обміну (антибіотиків) спрямована на пригнічення чутливих до них мікроорганізмів. Проте остаточної думки з приводу значення для мікроорганізму продукції антибіотиків не існує. В природних умовах антибіотики, як правило, не можуть бути накопичені в достатній кількості, щоб здійснити нейтралізуючий вплив на інші мікроорганізми. Так, *Streptomyces olivocinereus* — продуцент геліоміцину — пригнічує в нестерильному ґрунті

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук А.І., Сквіра І.І., Сергійчук Т.М. та ін

популяцію *Arthrobacter crystallopoietes*, але ефект пригнічення спостерігається при щільності продуцента не менш як 10^6 колонієутворюючих одиниць в 1 г ґрунту. Інший приклад, коли одночасно проводили культивування кишкової палички та стрептоміцета, який продукує антибіотик, що пригнічує ріст *Escherichia coli*. При їх сумісному вирощуванні з'являються стійкі до дії цього антибіотика мутанти кишкової палички. З часом швидкоростучі кишкові палички повністю витісняють клітини стрептоміцета, які характеризуються більш повільним ростом.

Існує припущення, що деякі антибіотики можуть здійснювати регуляцію певних процесів у їх продуцентів. Синтез поліпептидних антибіотиків ендоспороутворювальними бактеріями, наприклад, співпадає з інтенсивним спороутворенням. Розглядаються антибіотики і як випадкові продукти метаболізму, які не мають значення для організмів, що їх продукують. Хоча питання про біологічне значення антибіотиків остаточно не вирішене, проте в деяких випадках доказано, що їх накопичення сприяє виживанню мікроорганізму в природному середовищі.

Найбільш різко виражені форми конкуренції проявляються у формі *паразитизму* та *хижацтва*. Між цими типами взаємовідносин важко провести чітку межу, оскільки і паразити, і хижаки задовольняють свої харчові потреби за рахунок жертви. Різниця між ними в тому, що хижаки вбивають свою жертву досить швидко, тоді як паразити живляться за рахунок живого організму.

Паразитизм мікроорганізмів на мікроорганізмах спостерігається досить рідко. Так, *Vampirovibrio chlorellavorus* є облігатним паразитом одноклітинної водорості *Chlorella*. Цей вібріон не здатний розвиватись на органічних середовищах і навіть на мертвих клітинах хлорели. Бактерії прикріплюються до оболонки водорості. До однієї клітини може прикріпитись декілька десятків вібріонів. Прикріплені вібріони збільшують проникність оболонки водорості і ростуть за рахунок речовин, що надходять в клітину водорості. З часом клітина водорості перестає рости і гине. Проте за допомогою антибіотиків (наприклад, пеніциліну) можна вбити бактерії-паразити, не зашкодивши водорості. Вилікувані клітини хлорели здатні далі нормально розвиватись.

Інший вібріон (*Bdellovibrio*) може розглядатись як справжній хижак. Клітини бделовібріона можуть прикріплюватися до клітин інших бактерій і проникати в них. Після проникнення хижак росте, використовуючи вміст клітини-жертви як поживний субстрат, і ділиться. З часом клітина-жертва лізується, а хижак знаходить нову жертву. Коло можливих жертв досить широке, але найчастіше це представники кишкових бактерій.

Позитивні взаємовідносини між різними видами мікроорганізмів можна характеризувати як синтрофію. *Синтрофія* — це здатність двох або декількох видів бактерій здійснювати сумісно такий процес, який жодний з них не здатен здійснити самостійно. Основою таких взаємовідносин може бути передача факторів росту, утворення одним організмом субстрату, придатного для розвитку

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скібка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

іншого, видалення одним організмом продуктів токсичних для іншого. Декілька механізмів можуть діяти одночасно.

Синтрофія, основою якої є обмін субстратом, спостерігається, наприклад, при руйнуванні мікроорганізмами целюлози у середовищі, яке не містить зв'язаного азоту. Целюлозоруйнуючі бактерії не здатні до фіксації молекулярного азоту. Вони отримують продукти фіксації азоту від азотфіксуючих бактерій. В той же час азотфіксуючі бактерії не можуть використовувати клітковину як джерело енергії та вуглецю. Вони використовують продукти їх гідролізу від целюлозоруйнуючих бактерій. Для цієї спільноти, що розвивається в аеробних умовах, важливим є також поглинання кисню целюлозоруйнуючими аеробами, оскільки знижений вміст кисню в середовищі є сприятливим для азотфіксації.

Синтрофія, основою якої є видалення з середовища токсичних продуктів, є прикладом в асоціаціях, де відбувається окиснення метану. Метилобактерії мають відносно малоспецифічну монооксигеназу, яка, крім метану, частково окиснює інші вищі вуглеводні, в результаті чого утворюються високотоксичні для метилобактерій продукти. Якщо метилобактерії розвиваються в асоціаціях з мікроорганізмами, які здатні окиснювати ці токсичні сполуки, то метаноокиснюючі асоціації стабільні, тоді як чисті культури можуть бути швидко втрачені.

В деяких випадках симбіотичні взаємовідносини приводять до формування консорціуму (лат. *consortium* — співучасть, співтовариство), в якому клітини двох видів об'єднані нібито в один організм. Такий консорціум утворюють бактерії роду *Desulfotomaculum* та клітини *Chlorobium phaeobacteroidus*. В центрі асоціації знаходяться сульфатредуктори *Desulfotomaculum*, а на поверхні — фотосинтезуючі сіркобактерії. Перебуваючи у світлій зоні водойм в анаеробних умовах, фотосинтезуючі бактерії забезпечують сульфатредукуючі бактерії органічними речовинами і окисненою сіркою, а *Desulfotomaculum* виділяє сірководень і забезпечує фотосинтезуючі бактерії відновником. В результаті таких взаємовідносин консорціум може розвиватись у таких водоймах, де в анаеробній зоні присутні лише сліди сірководню. Консорціум проявляє фото- і хемотаксис. Ділення організмів, що входять в консорціум, відбувається синхронно, що свідчить про високу ступінь інтеграції їх метаболізму.

Якщо наявність симбіонта необхідна лише одному з партнерів, говорять про коменсалізм. Наприклад, навколо колонії мікроорганізмів, що активно синтезують ціанкоболамін, можуть розвиватись мікроорганізми, які не здатні синтезувати його самостійно, але потребують для свого розвитку. Існування симбіонта для мікроорганізму-продуцента вітамінів залишається непомітним. Або, інший приклад — руйнування пеніциліну пеніциліназою аеробних спороутворювальних бактерій дає можливість розвиватись пеніцилін-чутливим мікроорганізмам.

Механізми «взаємодопомоги» у бактерій можуть бути пов'язані не лише з живленням. Так, патогенні для людини нерухомі *Veillonella parvula* та *Actinomyces viscosus* у ротовій порожнині прикріплюються до поверхні представників нор-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

мальної мікрофлори рота, здатних до ковзного типу руху, і таким чином направляються до ділянок, сприятливих для їх розвитку.

Явище синергізму (в асоціантів відбувається підсилення фізіологічних функцій) знайшло застосування в біотехнології при проведенні мікробіологічного синтезу біологічно-активних сполук. Сумісне культивування двох культур актиноміцетів,—*Streptomyces rimosus* — продуцента протеаз і *S. violocinereus* — несинтезуючого ферменту,— супроводжується збільшенням виходу ферменту в шість разів. Виявилося, що *S. violocinereus* продукує стимулятор, який впливає на розвиток продуцента ферменту.

Прикладами синтрофічних взаємовідносин можуть бути також полімікробні інфекції. Наприклад, газова гангрена зумовлена дією декількох видів роду *Clostridium* в асоціації зі стафілококами та стрептококами.

Таким чином, між мікроорганізмами в природних асоціаціях встановлюються певні динамічні взаємовідносини, які часто не мають чітких меж. Причини, які сприяють прояву тих або інших форм взаємовідносин, зумовлені конкретними умовами існування, а також особливостями обміну речовин самих мікроорганізмів.

7.6. Взаємовідносини мікроорганізмів з рослинами

Мікроорганізми утворюють цілий ряд симбіотичних угрупувань з вищими рослинами. Як ектосимбіонти або епіфіти (гр. *epi* — на, *phyton* — рослина) вони заселяють поверхню листків — філосферу (гр. *phyllon* — лист, *sphaire* — куля, шар), та ґрунт, що безпосередньо оточує корені рослини — ризосферу (гр. *rhiza* — корінь). Як ендосимбіонти мікроорганізми проникають у корінь і утворюють мікоризи (якщо проникає гриб), або бульбочки (при проникненні бактерій).

Мікроорганізми, що утворюють *філосферу* рослин, не лише перебувають на їх поверхні, а й активно там розвиваються. Розвиток філосфери забезпечується вимитими водою з листків поживними речовинами. Роса і змиви з листків містять амінокислоти, вуглеводи, вуглеводні, органічні кислоти, фітогормони, неорганічні сполуки. Поживні речовини можуть також міститися у пилюці, що осідає на поверхню листків.

Систематичний склад філосфери досить різноманітний. На різних рослинах можуть переважати певні види, але строга специфічність філосфери не доведена. До 80 % від загальної кількості епіфітів складають клітини *Erwinia herbicola*. Зустрічаються також деякі молочнокислі бактерії, наприклад, *Lactobacillus plantarum*. Завжди виявляються бактерії, здатні до фіксації молекулярного азоту, їм належить певна роль у накопиченні азоту. В філосфері фіксується ~15 %, від загальної кількості, молекулярного азоту. Бацил та актиноміцетів мало, частіше зустрічаються спори та проростки грибів (*Penicillium, Fusarium, Mucor* та ін.). Особливістю більшості бактерій філосфери є здатність до утворення меланінових

Біологія том 1, Сергійчук І.М., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

та (або) каротинових пігментів, які захищають клітини від згубної дії сонячної радіації. Синтез позаклітинних полісахаридів захищає мікробні клітини як від радіації, так і від висихання. Крім того, слиз підсилює адгезію клітин, так що навіть під сильним дощем бактерії не змиваються з листків.

Крім того що епіфітні мікроорганізми отримують від рослин поживні речовини, вони в свою чергу продукують речовини, які рослини здатні використовувати як стимулятори росту. Проте у складі філосфери можуть зберігатись і фітопатогенні мікроорганізми, які за певних умов можуть викликати захворювання рослини.

Завжди щільно заселена бактеріями коренева система рослин. Мікроорганізми знаходяться безпосередньо на поверхні коренів, а також у ґрунті, що оточує корені рослин. Кількість бактерій *різосфери* у 10–100 разів перевищує їх кількість у зоні, віддаленій від коренів.

Підсилене розмноження бактерій у ризосфері зумовлене надходженням у прикореневу зону кореневих виділень та кореневого опаду (відмираючих коренів), які містять різні органічні речовини.

Популяція багаточисельних видів мікроорганізмів ризосфери не є облігатною мікрофлорою коренів, але вона здійснює суттєвий вплив на найважливіші процеси життєдіяльності рослин — дихання, фотосинтез, запліднення, фосфатний, азотний обміни та ін. Так, наприклад, бактерії ризосфери продукують тіамін та ряд інших вітамінів, руйнують складні органічні сполуки і роблять їх придатними для використання рослинами, синтезують стимулятори росту — гіббереллін та гетероауксин. Розвиток у складі ризосферної мікрофлори різноманітних бактерій створює умови для конкуренції між ними за поживні субстрати, що запобігає розвитку випадкових форм, в тому числі і фітопатогенних. В ризосфері переважають гетеротрофні грацилікутні палички. Склад ризосферної мікрофлори біля різних рослин відрізняється, але суворої приуроченості певних бактерій до конкретних рослин не спостерігають. Так у складі мікробних спільнот ризосфери різних сільськогосподарських культур на фоні загальних представників виявляють характерні види: у люцерни — *Rhizobium meliloti*, *Pseudomonas ocawthe*, *P. liquida* та *P. carnea*; у кукурудзи — *P. sinuosa*, *P. caudatus*, *Aerobacterium liquefaciens*.

Найбільш інтенсивне розмноження бактерій в ризосфері спостерігається у період інтенсивного росту та перед цвітінням. Після завершення розвитку однорічних рослин або відмирання багаторічних, корені починають використовуватись як джерело живлення. В цей період склад ризосфери змінюється: розвиваються бактерії, що використовують пектин, клітковину, збільшується кількість грампозитивних форм.

Корені більшості вищих рослин знаходяться у тісному симбіотичному зв'язку з грибами. При такій формі симбіозу, також як і при багатьох інших, створюються динамічні умови взаємної експлуатації, з якої обидва партнери мають користь. В результаті такого зв'язку структура кореня рослини змінюється специфічним

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скіпка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

чином. Така складна структура, що складається з коренів вищої рослини і гіф гриба, називається *мікоризою.*

Наявність чи відсутність мікориз, а також особливості їхньої будови визначаються, насамперед, систематичним положенням рослини-хазяїна. У вищих спорових рослин не мають мікориз спорофіти плавунів і хвощів. Голонасінні — всі мікотрофи. Серед покритонасінних у осокових, ситникових, хрестоцвітих, макових, гвоздичних, гречаних та маревих мікориза зустрічається рідше, ніж серед рослин інших родин. Бобові рослини, які перебувають у симбіозі з бульбочковими бактеріями,— мають і мікоризу. Відомо, що біля 90% судинних вищих рослин мають мікоризоване коріння. Доказано, що при мікоризації корінь змінюється як морфологічно (рис. 7.6), так і цитологічно (рис. 7.7).

На думку В. Вільямса, «мікотрофізм — це спосіб засвоєння вищими зеленими рослинами зольних елементів і азоту із середовища, яке містить ці елементи живлення у формі органічної речовини, що зберігається в умовах анаеробіозу. При цьому живлення здійснюється за рахунок симбіотичного співіснування зелених рослин з міцелієм грибів. Мікотрофний тип живлення рослин поширений у природі чи не більше, ніж автотрофний».

Зовнішній вигляд і будова мікориз може значно варіювати. Розрізняють ектотрофну, ендотрофну і перехідну (ектоендотрофну) мікоризи.

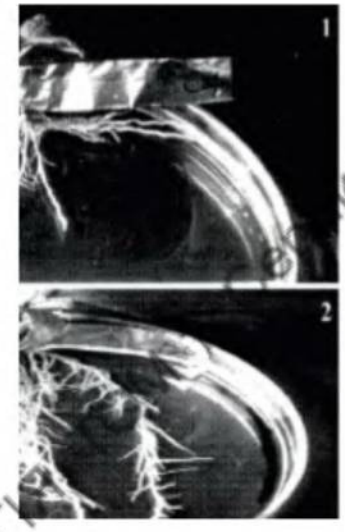


Рис. 7.6. Сіянець *Prunus cerasifera* мікоризований (2) грибом *Glomus* sp. і без нього (1). У мікоризованих рослин корені більш розгалужені і товщі

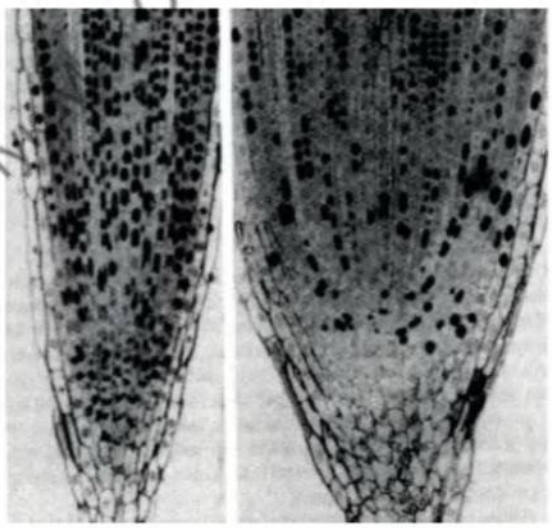


Рис. 7.7. Зріз апекса кореня *Allum porum*: а — контроль; б — мікоризований грибом *Glomus* sp. Товщина апексів мікоризованих рослин більша, ніж у контрольних

Ектотрофна мікориза (рис. 7.8) притаманна переважній більшості лісових деревних рослин. При цьому корінь щільно обплітається грибним чохлом, від якого відходить густа сітка гіф. Гіфи гриба проникають у корінь на невелику глибину, не торкаючись центрального циліндра (переважно до міжклітинників ектодерми, де переплітаючись, утворюють так звану сітку Гартінга). Грибний чохол настільки сильно огортає корінь, що кореневі волоски зникають, а вода і поживні речовини поглинаються міцелієм гриба. Лише головні закінчення коренів залишаються імунними щодо гриба. Мікоризи цього типу можуть утворюватися за участю різних грибів, індивідуальні особливості яких визначають колір чохла та його зовнішній вигляд. Грибний чохол найчастіше буває білуватим, рожевим і навіть чорним, а його поверхня — повстяною або щетинистою. Ектотрофна мікориза — це однорічний утвір, який поновлюється щорічно.

Види, що утворюють ектомікоризу, мають різний ступінь специфічності щодо рослини-хазяїна. Типові мікоризоутворювальні види реалізують мутуалістичний спосіб живлення (здатні доставляти рослині необхідні їй джерела фосфору та азоту і одержувати від неї джерела вуглецю). Неспецифічні ектомікоризні гриби можуть вступати в симбіоз з вищими рослинами, а при відсутності останніх живуть як типові гетеротрофи. За даними палеомікології ектомікоризні гриби відносяться до найбільш давніх — вік перших ектомікоризних коренів становить ~ 50 млн років.

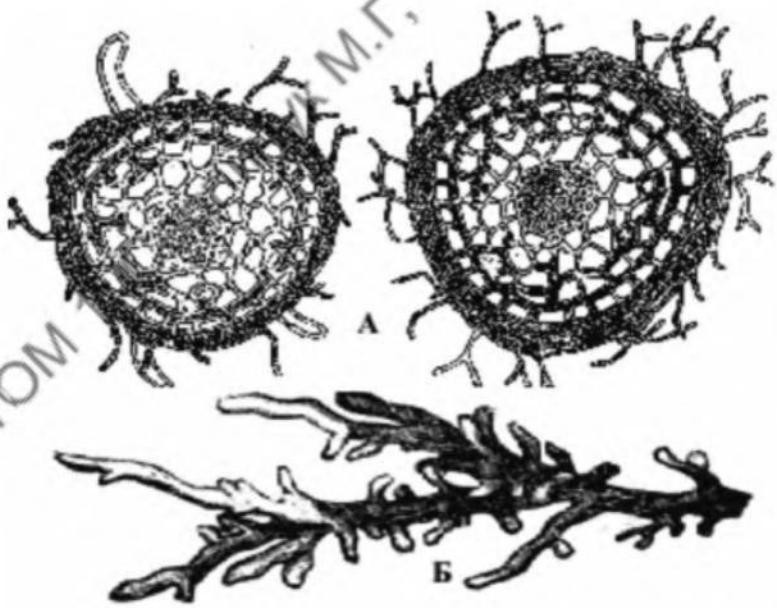


Рис. 7.8. Ектотрофна мікориза: А — поперечний розріз корінця горобини, огорнутої оболонкою грибного міцелію; Б — коренева мочка зрілого дуба, яка є коралоподібною мікоризою

Ендотрофний тип мікоризи (рис. 7.9) виявляється в орхідей, вересових рослин і багаторічних трав, на кореневій системі багатьох дерев і кущів. Вона відрізняється від ектотрофної тим, що грибний міцелій розповсюджується не лише між клітинами корової паренхіми, але й проникає в них. При цьому клітини корової паренхіми залишаються життєздатними і можуть навіть перетравлювати міцелій, котрий проник у них. Під впливом вмісту клітини рослини внутрішньоклітинний грибний міцелій може утворювати клубки (пелетони), інколи деревовидні розгалуження (арбускули) або здуття на кінцівках гіф (спорангіоли і везикули). Центральний циліндр кореня рослини завжди залишається вільним від інфекції. Частина міцеліальних закінчень виходить у грунт, не утворюючи грибного чохла. На відміну від ектотрофної, при ендотрофній мікоризі кореневі волоски рослини завжди зберігаються і можуть виконувати свої фізіологічні функції.

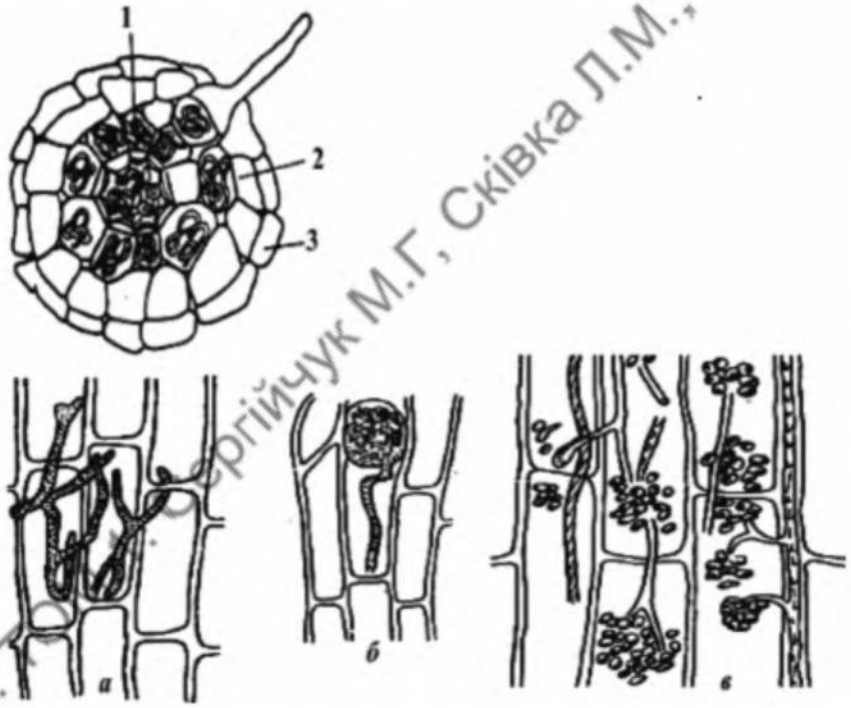


Рис. 7.9. Ендотрофна мікориза пшениці: 1 — паренхімні клітини зі скупченнями гриба; 2 — ендодерма; 3 — епідерміс; а — клітини паренхіми з гіфами гриба; б — утворення везикул; в — утворення арбускул

У створені ендотрофної мікоризи беруть участь види роду *Glomus* (відділ *Zygomycota*). Вони доставляють рослині легкодоступні сполуки фосфору, засвоюючи вуглецеві сполуки рослини. Поряд з цим, наявність екто- та ендомікоризних видів сприяє збільшенню життєздатності та резистентності рослини завдяки

підвищеній адсорбційній здатності грибного міцелію щодо токсинів, важких металів, радіонуклідів. Останні залишаються в міцелії і не поступають в рослину. Наявність грибів-симбіонтів захищає рослину від кореневих фітопатогенів, зокрема видів родів *Fusarium, Phoma, Rhizoctonia* та інших.

Мікориза перехідного типу має властивості обох попередніх.

Інколи виявляється *перитрофна* мікориза, при якій гриб-мікоризоутворювач не вступає в тісний зв'язок із рослиною. Вони поселяються у ризосфері, огортаючи корінь.

У деяких випадках утворюються псевдомікоризи, які формуються паразитичними грибами.

За відносинами з грибами-мікоризоутворювачами вищі рослини поділяють на групи:

- облігатно-мікотрофні рослини, які не можуть розвиватися без гриба (підялинник, орхідея);
- рослини, які покращують свій ріст і розвиток за наявності мікоризи. До цієї групи належать деревні (граб, дуб, хвойні тощо), чагарникові породи та трав'янисті рослини;
- рослини, які розвиваються без мікориз. Це, як правило, водні і невеличка група наземних рослин.

Мікоризу в однієї й тієї ж рослини можуть утворювати різні гриби, які здатні до симбіозу з нею. Один і той же гриб може утворювати мікоризу з різними рослинами, але деякі гриби виявляють певну специфічність щодо рослини-хазяїна. Цим можна пояснити досить характерний склад шапинкових грибів у різних деревних порід лісів.

Істинні мікоризи значно покращують розвиток як кореневої системи, так і наземної части рослини.

Ще один вид ендосимбіотичних взаємовідносин виникає між бульбочковими бактеріями та бобовими рослинами (утворення бульбочок). Відомо два шляхи проникнення бульбочкових бактерій у корінь рослини: через кореневі волоски та «розщілини», які утворюються у основі бокових відростків кореня. Рослини, які інфікуються через бокові волоски, мають більшу специфічність до рослини-симбіонта.

У кореневому волоску бактерії утворюють так звану «інфекційну гіфу» — слизову масу, в якій знаходяться бактеріальні клітини, що інтенсивно розмножуються. З кореневого волоска ця гіфа проникає через клітини кори в паренхіму. Інфекційна гіфа в процесі росту вкривається целюлозною оболонкою, яку синтезує рослина.

Бульбочкові бактерії здатні розмножуватись лише в тетраплоїдних клітинах рослини. Коли інфекційна гіфа пронизує тетраплоїдні клітини, частина бактерій переходить з гіфи в цитоплазму рослинних клітин і там починає розмножуватись. Ці клітині, в свою чергу, стимулюють ділення сусідніх клітин. Таким чином формується тканина бульбочки. Бактерії, що перейшли в цитоплазму клітини

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

рослини, ростуть, діляться, але потім перетворюються на бактероїди — не здатні до ділення клітини. В клітинах рослин бактероїди найчастіше містяться у вакуолях. Бактероїди мають більше полі-β-оксимасляної кислоти, глікогену та поліфосфатів, ніж вільноживучі клітини, але менше ДНК. Бактероїди стають чимось подібним до азотфіксуючих органел рослини-хазяїна.

Бульбочки, що активно фіксують азот, зазвичай червоного кольору через наявність леггемоглобіну. Леггемоглобін виявляють вже на другий день після появи бульбочки, а фіксація азоту розпочинається на четвертий день. У синтезі леггемоглобіну — найважливішого продукту симбіозу — беруть участь обидва симбіонти — рослина і бактерії. Якщо культивувати бактерії і рослини окремо, то леггемоглобін не утворюється ні в тих, ні в інших. Леггемоглобін має дві особливості: він може зворотно окиснюватись і стійко зв'язувати кисень. Як відомо, азотфіксуюча система чутлива до кисню, можливо внутрішня частина бульбочки забезпечує регуляцію окисно-відновного потенціалу.

Крім позитивних взаємовідносин між бактеріями та рослинами можуть виникати й негативні. Бактерії, що паразитують на рослинах, називають *фітопатогенами*. Види фітопатогенних бактерій зустрічаються серед аеробних та факультативно-аеробних грамнегативних паличок, серед яких *Pseudomonas*, *Xanthamonas*, *Erwinia*, *Agrobacterium* та інші, а також серед грампозитивних корінеформних бактерій і мікоплазм. Як і патогени тварин, патогени рослин мають фактори патогенності, які дозволяють їм перемагати захисні бар'єри рослин. До факторів патогенності, перш за все, належать ферменти пектиназа та целюлаза, а також фітотоксини та фактори адгезії.

Бактерії заражують рослини при проникненні крізь продихи, сочевиці, нектарники, інколи можуть передаватися з насінням. Деякі бактерії можуть проникати в рослину лише через свіжі механічні пошкодження (ранки), навіть несуттєві. Наприклад, збудник бактеріального раку томатів заражує рослину при поломці волосків на стеблі або плодах. Зараженню рослин часто сприяють комахи. *Erwinia amylovora* переноситься бджолами і проникає у рослину крізь нектарники. *Erwinia stewarti*, патоген кукурудзи, розноситься жуками і заражує рослину через погризи. Клітини бактерій знаходяться у слині та шлунку комах і навіть можуть перезимовувати там.

Фітопатогенні бактерії, що проникли в рослину, зазвичай розмножуються у міжклітинному просторі та судинах. Вони викликають різноманітні гнилі, опіки, плямистості, пухлиноподібні вирости.

Між фітопатогенними бактеріями та рослинами склались певні взаємовідносини, які включають процеси взаємного впізнавання і наступних за ним фізіологічних та регуляторних реакцій. Впізнавання бактеріями рослини-хазяїна може стимулювати її захисні функції. Суттєву роль у цьому можуть відігравати лектини рослин.

Важливим фактором стійкості рослин до фітопатогенних бактерій є утворення ними фітоалексинів — низькомолекулярних сполук, які мають бактерицидні

БІОЛОГІЯ том 1, Сергійчук І.М., Сергійчук Т.М. та ін

властивості. Фітоалексини не утворюються в здорових рослинах. Індукторами синтезу фітоалексинів можуть бути різні сполуки, в тому числі елементи клітинної стінки бактерій.

7.7. Взаємовідносини мікроорганізмів з безхребетними тваринами

Мікробні ендосимбіонти широко розповсюджені серед найпростіших, червів, комах та інших безхребетних тварин.

Бактеріальні клітини неодноразово виявляли в цитоплазмі, вакуолях, ядрах клітин амеб. Функції такого симбіозу вивчені недостатньо. Вважають, що в клітинах амеб, у яких відсутні мітохондрії, їх функції виконують саме бактерії.

При досліджені анаеробних мікроорганізмів були відкриті їх симбіотичні взаємовідносини з морськими амебами та інфузоріями. В клітинах цих тварин виявляють метаногенні архебактерії, асоційовані з мікротілами — гідрогеносомами, в яких відбувається утворення з піруват водню, CO_2 та ацетату. Метаногени використовують ці продукти в своєму метаболізмі й утворюють метан. Для хазяїна симбіонти є кінцевими акцепторами електронів, а самі архебактерії знаходять у клітині найпростішого захист і джерело харчування.

Цікавим є потрійний симбіоз між бактеріями, найпростішими та комахами. Так, таргани і терміти, які живляться деревиною, містять у своєму кишківнику велику кількість джгутикових найпростіших. Джгутиконосці щільно заповнюють мішкоподібне потовщення задньої кишки комахи. В свою чергу, джгутиконосці є хазяїнами для позаклітинних спірохет та внутрішньоклітинних бактерій. При тісному співіснуванні мікроорганізмів та найпростіших відбувається продукування ферменту целюлази, яка забезпечує засвоєння комахами деревини. Однією з дивовижних особливостей циклу передачі симбіонтів у комах є те, що цистоутворення у джгутиконосців регулюється гормонами комахи.

За допомогою антибіотиків можна звільнити комах від симбіонтів. Таргани без симбіонтів слабо пігментовані, менш активні, розвиваються повільно, не уникають світла, на відміну від нормальних особин, і врешті-решт дегенерують. Припускають, що симбіонт постачає хазяїну ряд ферментів азотного обміну, які особливо необхідні комасі на стадії личинки.

Симбіоз з бактеріями є особливістю і у цикад. В них описано понад 50 різних типів симбіонтів. Цикади можуть мати від одного до шести симбіонтів одночасно. Крім бактерій у цикад, нерідко, симбіонтами є гриби. Симбіонти передаються нащадкам через яйця. Клітини симбіонтів мають неправильну форму і на ультратонких зрізах виглядають дещо незвично. Вони оточені трьома мембранами: дві власні, а третя утворена хазяїном. ДНК-вмісні зони не вияв-

БІОЛОГІЯ ПОМ. Серійчук М.І., Скрипка І.М., Серійчук Т.М. та ін

ляються. Слід зазначити, що життєздатні особини цикад розвиваються лише з яєць, інфікованих симбіонтами.

Ще одним цікавим прикладом симбіотичних взаємовідносин є симбіоз погонофора і бактерії. Один вид із таких симбіонтів мешкає на глибині 2500 м біля Галапагоських островів. Особливістю цієї форми життя є її повна незалежність від енергії сонця, оскільки тут використовується виключно геотермальна енергія. Травний тракт у погонофор повністю відсутній і обмін речовин здійснюється безпосередньо через епідерміс. Живлення організму забезпечується процесами, які відбуваються у трофалосомах — спеціалізованих ділянках тканини тваринн, що включає клітини бактеріоцити. Бактеріоцити щільно заповнені клітинами грамнегативних бактерій. У воді, де живе погонофора, міститься значна кількість сірководню, який і окиснюють бактерії-симбіонти. Трофалосоми мають сильно розгалужену систему судин. Через кров здійснюється постачання бактеріям O_2 та CO_2. В клітинах, які мають симбіонтів, знаходиться цитоплазматичний гемоглобін, який забезпечує перенос кисню до симбіонтів через цитоплазму. Автотрофні бактерії здійснюють синтез органічних речовин за рахунок енергії від окиснення сірководню. Продукти хемосинтезу — єдине джерело харчування як для мікроорганізмів, так і для їх хазяїна.

Будь-які бактерії можуть виявитись жертвою безхребетних, для яких вони є їжею. Бактерій поїдають різноманітні безхребетні тварини — від амеби до молюсків та кліщів. Доля бактеріальних клітин, які проковтнув безхребетний, може бути різною. При наявності у тварини відповідних гідролітичних ферментів, які руйнують клітинні стінки бактерій, останні перетравлюються. Якщо ж такі ферменти відсутні, то мікроорганізми зберігають життєздатність, а інколи й інтенсивно розмножуються у тілі безхребетних.

7.8. Угруповання анаеробних мікроорганізмів

Між бактеріями в екологічних нішах можуть складатися різноманітні стосунки, що зумовлено наявністю чи відсутністю спільних джерел живлення, складом метаболітів, термінальних акцепторів електронів, низкою фізико-хімічних чинників довкілля (температура, pH, ОВП, наявність молекулярного кисню, освітлення тощо). Аероби пов'язані з іншими організмами не дуже тісно, часто одноосібно вони розщеплюють складні органічні сполуки до вуглекислого газу і води. На відміну від них, анаеробні мікроорганізми надзвичайно залежні від інших видів і існують у мікробних угрупованнях. *Мікробні угруповання* (*мікробні асоціації, microbial communities*) — це скупчення видів популяцій мікроорганізмів, які живуть разом у просторі і часі. Вони об'єднані трофічними зв'язками, й одні види в результаті своєї життєдіяльності створюють сприятливі умови для існування інших. Мікробне угрупування, як правило, отримує назву за фізіологічною групою, що домінує.

БІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук М.І., Сківка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Метаногенним мікробним угрупованням називають трофічну систему анаеробних бактерій, кінцевим продуктом якої є метан. У розщепленні субстрату метаногенним угрупованням задіяно кілька фізіологічних груп мікроорганізмів, але свою назву воно отримало за одним із кінцевих продуктів — метаном, який накопичується в довкіллі і за анаеробних умов далі практично не перетворюється. Кількастадійний процес перетворення складних органічних субстратів за допомогою метаногенного мікробного угруповання, на кінцевому етапі якого має місце метаногенез, часто називають *метановим бродінням*. Цей термін технологічний, а не науковий, оскільки визначає не конкретні біохімічні реакції метаболізму мікроорганізмів, а сумарний результат життєдіяльності мікробної асоціації.

Розщеплення органічних сполук до метану і CO_2 — поширене явище у безкисневих умовах за нестачі таких акцепторів електронів, як кисень, нітрати, сульфати, окиснені форми Феруму та Мангану. Метанове бродіння — типовий процес для прісноводних осадів, боліт, затоплених ґрунтів, наприклад рисових чеків, біореакторів, для анаеробного очищення стічних вод (метантенків). Воно також важливе для перетравлення їжі у травних трактах жуйних тварин та деяких комах. Серед усіх відомих процесів перетворення органічних сполук (аеробне й анаеробне дихання, бродіння) метаногенез — енергетично найменш вигідний. Це може спричинюватися тим, що він відбувається на останній стадії перетворення субстрату, коли вже відновилися всі можливі акцептори. Оскільки в реакціях метаногенезу виділяється мало енергії, то кінцевий продукт цього процесу — метан надзвичайно енергоємний. Енергію метану в подальшому можуть використовувати інші мікроорганізми за наявності кисню, наприклад метанотрофами за аеробного окиснення метану або людиною для різних фізичних процесів. Порівняно з аеробним окисненням метанове бродіння — енергетично менш вигідний процес. При перетворенні гексози на метан і вуглекислий газ виділяється лише 15 % від енергії, що утворюється за аеробного окиснення гексози:

$$C_6H_{12}O_6 + O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O \ (\Delta G^{0'} = -2870 \text{ кДж/моль});$$

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3CO_2 + 3CH_4 \ (\Delta G^{0'} = -390 \text{ кДж/моль})$$

Малий вихід енергії за метанового бродіння змушує деякі анаеробні мікроорганізми об'єднуватися в дуже ефективну кооперацію. Взаємна залежність бактерій-партнерів від обмеженої енергії настільки сильна, що жоден із партнерів цього об'єднання не може існувати без інших, і жоден із них неспроможний перетворити субстрат самостійно. Таку кооперацію називають *синтрофною взаємодією*.

Перетворення складних органічних сполук, наприклад, целюлози у метан і діоксид Карбону ***у природних прісних екосистемах*** можливе лише при взаємодії як мінімум чотирьох різних груп бактерій:

- первинних бактерій-бродильників;

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.М., Скакальський Т.М. та ін.

- вторинних бактерій-бродильників;
- двох типів метаногенів.

Ступінь взаємної залежності між цими бактеріями дуже різний. Так, види, що знаходяться на кінцевих ділянках ланцюга живлення, залежать від своїх попередників, бо отримують від них харчові субстрати. Водночас вони істотно впливають на початкових членів ланцюга, бо видаляють із середовища продукти їх метаболізму. Полімери (полісахариди, білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди) спочатку розщеплюються до олігомерів і мономерів (цукрів, амінокислот, пуринів, піримідинів, жирних кислот, гліцерину) за участю позаклітинних гідролітичних ферментів, які продукуються «класичними» первинними бактеріями-бродильниками. Ці ж бактерії потім зброджують утворені мономери до жирних кислот, лактату, сукцинату, спиртів тощо (рис. 7.10, група 1). Деякі з цих метаболітів, особливо ацетат, H_2, CO_2 та інші C_1-сполуки, можуть безпосередньо перетворюватись на метан і діоксид Карбону метаногенними археями (див. рис. 7.10, групи 2 і 3). Для розщеплення інших продуктів бродіння, зокрема жирних кислот, які містять більше як два атоми Карбону або мають розгалужений карбоновий ланцюг, також ароматичних кислот, необхідна додаткова група бактерій — так званих вторинних бактерій-бродильників, або облігатних протоноредукторів (див. рис. 7.10, група 4). Ці бактерії перетворюють свої субстрати до ацетату, CO_2, H_2 (і, можливо, фумарату), які в подальшому використовуються метаногенами. Між вторинними бактеріями-бродильниками і метаногенами, які окиснюють молекулярний водень, існує тісна синтрофна взаємодія. Утилізувати водень можуть також гомоацетогени й хемолітотрофні сульфатредуктори, тому в різних екологічних нішах між метаногенами, сульфатредукторами і гомоацетогенами існує жорстка конкуренція за це джерело енергії. За звичайних умов метаногени, які окиснюють водень, отримують від цього процесу більше енергії, ніж гомоацетогени, що не можуть конкурувати з метаногенами за молекулярний водень у разі його низької концентрації в довкіллі.

У безкисневих прісних еконішах за слабокислого середовища й низьких температур гомоацетогени перемагають метаногенів у боротьбі за водень, де весь потік електронів проходить через пул ацетату, а метан, шляхом прямого відновлення CO_2, зовсім не утворюється. Такі умови є несприятливими для життєдіяльності метаногенів, що окислюють молекулярний водень, тому гомоацетогени перебирають на себе їх функцію.

Загальну схему потоку електронів у метаногенних довкіллях (рис. 7.10.) для умов зі слабокислим середовищем і низькою температурою (< 20 °C) слід дещо модифікувати (рис. 7.11): тут відсутні воднезалежні метаногени (група 2), а потік електронів проходить через гомоацетогенів (група 5) і метаногенів, що споживають ацетат (група 3).

У прісних безкисневих еконішах за температури довкілля понад **30 °C** домінують метаногени, а роль гомоацетогенів в утилізації H_2 та CO_2 стає незначною (рис. 7.12). Вони можуть лише синтрофно окиснювати ацетат до $2CO_2$

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук І.М., скіка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

і $4H_2$ (група 5). Окиснення ацетату шляхом ацетил-КоА в окисному напрямку характерне для деяких штамів гомоацетогенів, наприклад штаму AOR, культур *Thermoacetogenium phaeum*, *Clostridium ultunense*. Процес можливий у разі постійного видалення молекулярного водню метаногенами.

Рис. 7.10. Загальна схема потоку Карбону та електронів через різні трофічні групи мікроорганізмів, що беруть участь у метаногенному зброджені складних органічних сполук у безкисневих прісних еконішах. Групи мікроорганізмів включають: 1 — первинні бактерії-бродильники; 2 — метаногени, що окиснюють водень; 3 — метаногени, що розщеплюють ацетат; 4 — вторинні бактерії-бродильники (синтрофні бактерії); 5 — гомоацетогенні бактерії

Рис. 7.11. Схема потоку Карбону та електронів через різні трофічні групи мікроорганізмів, що беруть участь у метаногенному зброджені складних органічних сполук у безкисневих прісних еконішах, модифікована для умов з низькими температурами довкілля. Групи мікроорганізмів включають: 1 — первинні бактерії-бродильники; 3 — метаногени, що розщеплюють ацетат; 4 — вторинні бактерії-бродильники (синтрофні бактерії); 5 — гомоацетогенні бактерії, що утворюють ацетат

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сінка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Рис. 7.12. Схема потоку Карбону та електронів через різні трофічні групи мікроорганізмів, що беруть участь у метаногенному зброджені складних органічних сполук у безкисневих прісних еконішах, модифікована для умов з підвищеними температурами довкілля. Групи мікроорганізмів включають: 1 — первинні бактерії-бродильники; 2 — метаногени, що окиснюють водень; 4 — вторинні бактерії-бродильники (синтрофні бактерії); 5 — AOR-гомоацетогенні бактерії розщеплюють ацетат

Термофільні метаногенні мікробні угруповання мешкають у двох типах екосистем: штучних (метантенки) і природних (ціанобактеріальні мати у вуглекислотних гідротермах). Мікроорганізми метантенків, які живуть за температури 55–65 °С, відрізняються від мезофільних метаногенних угруповань лише наявністю термофільних видів, вищою швидкістю і тоншою регуляцією процесів обміну речовин. Для гідротермальних мікробних асоціацій, що мешкають за значно вищих температур, характерна наявність великої кількості протеолітичних бактерій. Оскільки основним джерелом органічного Карбону в цій екосистемі є багата на нітрогеновмісні сполуки біомаса ціанобактерій, кількість протеолітичних бактерій на порядок перевищує кількість цукролітичних. Крім того, для таких екосистем характерне накопичення ацетату, що знижує pH середовища і гальмує метаногенез.

У багатих на сульфати анаеробних екосистемах, таких як осади морів, ситуація дещо інша. Тут процеси розщеплення полімерів також здійснюють первинні бактерії-бродильники, з утворенням цукрів, амінокислот, пуринів, піримідинів, жирних кислот і гліцерину (рис. 7.13, група 1), але на відміну від метаногенів, сульфатредуктори, які домінують у солоних екологічних нішах, за своїм метаболізмом різноманітніші. Вони можуть використати всі метаболіти первинних бактерій-бродильників і окиснити їх до CO_2, спряжено відновивши сульфат до сульфіду (рис. 7.13, групи 2–4). Як результат, повне окиснення складних органічних речовин до CO_2 з паралельним відновленням сульфату є двостадійним процесом, який не залежить від синтрофних бактерій-бродильників.

БІОЛОГІЯ. ЕКОЛОГІЯ. ГЕОЛОГІЯ. Скіпський М.І., Сергійчук Т.М. та ін.

Рис. 7.13. Потоки Карбону і електронів через різні трофічні групи мікроорганізмів, що беруть участь у сульфатзалежній деградації складних органічних речовин у морських осадах. Групи бактерій включають: 1 — первинні бактерії-бродильники; 2–4 — сульфатредуктори

В анаеробних осадах морів сульфатредуктори також можуть брати участь у процесі *анаеробного окиснення метану* (АОМ-процес), що відбувається за рівнянням:

$$CH_4 + SO_4^{2-} \rightarrow HS^- + HCO_3^- + H_2O.$$

Механізм цього окиснення наразі недостатньо вивчений. Існують дві гіпотези щодо нього:

1) окиснення здійснює лише одна культура мікроорганізмів, якою можуть бути сульфатредуктори чи невідомі археї;

2) окиснення здійснює консорціум різних мікроорганізмів, що складається з анаеробних метанотрофних археїв (ANMA), які власне окиснюють метан, і сульфатредукторів; між першою і другою групами мікроорганізмів відбувається синтрофна взаємодія, яка полягає у міжвидовому перенесенні невідомих сполук, можливо водню; це може відбуватися так:

Мікроорганізм, що окиснює метан: $CH_4 + 3H_2O \rightarrow 4H_2 + HCO_3^- + H^+$

Сульфатредуктор: $4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$

Метан для цього процесу надходить шляхом дифузії з морських осадів у місцях, названих «метановими каналами».

У гіперсолоних водоймах (рис. 7.14) деструкція целюлози загальмована, тому основними джерелами органічного Карбону для мікробних угруповань є біомаса синьо-зелених водоростей та низькомолекулярні осморегуляторні речовини галофільних організмів. Джерело C_1-сполук — бетаїн та холін. Вони не використовуються метаногенами безпосередньо, але розкладаються бактері-

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скібіна М., Сергійчук Т.М. та ін

ями до ацетату й метиламіну. В гіперсолоних екосистемах, на відміну від моря, домінують протеолітичні бактерії, а процеси сульфідогенезу та метаногенезу йдуть паралельно, практично не конкуруючи між собою. Такий нейтралізм між сульфатредукторами й метаногенами можна пояснити різними джерелами живлення. У гіперсолоних водоймах мешкають галофільні метаногени, що розвиваються в діапазоні солоності від 3 до 30 % NaCl. Характерною особливістю цієї групи археїв є їх здатність використовувати лише C_1-субстрати. Вони віддають перевагу три- та монометиламінам, але ростуть і на метанолі. Оскільки сульфатредуктори не можуть споживати згадані вище сполуки, метаногени, що живляться ними, опиняються поза конкуренцією. Водночас метаногени у гіперсолоних водоймах не використовують молекулярний водень та ацетат, тому потоки водню й ацетату перехоплюють сульфатредуктори.

Мікробне угруповання рубця великої рогатої худоби. Рубець — це початковий відділ чотирикамерного шлунка жуйних тварин, що займає 4/5 усього його об'єму. Складки внутрішньої стінки рубця утворюють кишені, де затримується корм (рис. 7.15).

На внутрішньому епітелії є вирости — сосочки. У рубці корм перемішується, розщеплюється бактеріями і найпростішими, летючі кислоти всмоктуються крізь поверхню слизової оболонки. Рубець є прикладом симбіозу між теплокровною твариною і мікроорганізмами: у рубці створюються оптимальні умови для життєдіяльності мікроорганізмів, а мікробна асоціація, що налічує понад 200 видів бактерій, грибів і найпростіших, забезпечує розщеплення корму до летких органічних кислот, є джерелом білка та вітамінів для тварини.

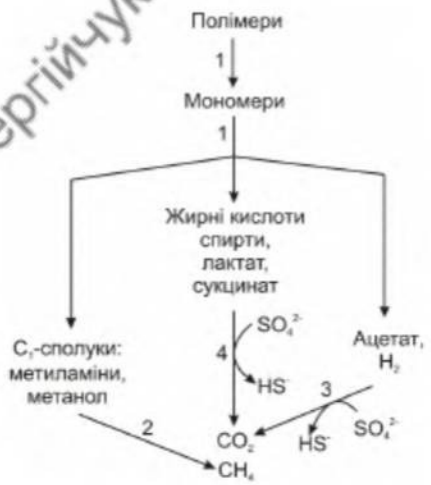


Рис. 7.14. Потоки Карбону і електронів через різні трофічні групи мікроорганізмів, що мешкають у гіперсолоних екосистемах. Групи мікроорганізмів включають: 1 — первинні бактерії-бродильники; 2 — метаногени; 3–4 — сульфатредуктори

МІКРОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скіра П.М., Сергійчук Т.М. та ін

Рис. 7.15. Будова рубця великої рогатої худоби

Рубець функціонує як біореактор з оптимальними фізико-хімічними умовами й безперервним культивуванням. Тут підтримуються:

- висока концентрація органічних речовин;
- напівбезперервне надходження органічних речовин;
- подрібнення органічних речовин при пережовуванні;
- постійне перемішування субстрату, мікроорганізмів і слини (волога + ферменти) в результаті стискання стінок рубця;
- постійна оптимальна температура 38–42 °С;
- ОВП = –250…—450 мВ;
- стале значення pH 6,5;
- буферність у рубці, що забезпечується карбонатно-бікарбонатною буферною системою (HCO_3^- потрапляє зі слиною і частково з крові, CO_2 — утворюється в результаті мікробної трансформації органічних речовин); буферна система нейтралізує кислоти, що постійно утворюються у рубці;
- анаеробні умови (незначна кількість кисню, що надходить із кормом, швидко поглинається факультативно анаеробними бактеріями);
- швидке видалення продуктів трансформації субстрату (швидке всмоктування органічних кислот крізь стінку рубця та напівбезперервне виведення неперетравлених решток корму в інші ділянки кишківника);
- оптимальний час перебування корму (рідкої фази — 0,7–1 доба, твердої — 2 доби).

Мікрофлора рубця виконує такі необхідні для тварини функції:

- розщеплює своїми ферментами полімерні сполуки (целюлозу, пектин, геміцелюлозу, крохмаль);
- ферменти бактерій перетворюють продукти гідролізу полімерів на речовини, що можуть всмоктуватися рубцем;
- із продуктів мінералізації рослинного матеріалу синтезується біомаса бактерій, які є джерелом білка для великої рогатої худоби;
- бактерії синтезують вітаміни й біологічно-активні речовини для тварини.

Кількість бактерій у рубці надзвичайно велика (понад 10^{10} КУО/г вмісту). Властивості основних рубцевих бактерій наведено у таблиці 7.4.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сківка М.Ф., Сергійчук Т.М. та ін.

Таблиця 7.4.

Основні ферментативні властивості бактерій рубця великої рогатої худоби

Види бактерій	Субстрати	Кінцеві продукти
Fibrobacter succinogenes	Целюлоза, ксилан	Сукцинат, форміат, ацетат
Ruminococcus albus	Целюлоза, геміцелюлоза	Ацетат, форміат, етанол, H_2, CO_2
Ruminococcus flavefaciens	Целюлоза, геміцелюлоза	Ацетат, форміат, сукцинат, H_2, CO_2
Butyrivibrio fibrisolvens	Целюлоза, геміцелюлоза, ксилан, крохмаль, пектин, цукри, білок	Бутират, ацетат, лактат, форміат, етанол, H_2, CO_2
Clostridium lochheadii	Целюлоза, білок	Бутират, ацетат, форміат, етанол, H_2, CO_2
Streptococcus bovis	Сукцинат, цукри, білок	Ацетат, форміат, лактат
Ruminobacter amylophilus	Пропіонат, білок	Ацетат, форміат, сукцинат, етанол
Provotella ruminicola	Ксилан, пропіонат, крохмаль, пектин, цукри, білок	Сукцинат, ацетат, форміат, пропіонат
Succinimonas amylolytica	Крохмаль	Ацетат, сукцинат
Selenomonas ruminantium	Крохмаль, декстрин, цукри, лактат, сукцинат	Ацетат, лактат, пропіонат, H_2, CO_2
Lachnospira multiparus	Пектин, цукри, білок	Ацетат, форміат, етанол, H_2, CO_2
Succinivibrio dextrinosolvens	Пектин, декстрин, цукри	Сукцинат, ацетат, форміат, лактат
Methanobrevibacterim ruminantium	Форміат, H_2, CO_2	CH_4
Methanobacterium formicicum	Метанол, метиламін, форміат, H_2, CO_2	CH_4
Methanomicrobium mobile	Метанол, метиламін, форміат, H_2, CO_2	CH_4
Methanosarcina barkeri	Метанол, метиламін, форміат, H_2, CO_2	CH_4, CO_2
Treponema bryantii	Пектин, цукри	Форміат, ацетат, лактат, сукцинат, етанол
Megasphaera elsdenii	Цукри, лактат	Ацетат, пропіонат, бутират, валеріат, капронат, H_2, CO_2
Lactobacillus sp.	Цукри	Лактат

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1 · Сергійчук І.Г., Сівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Закінчення табл. 7.4.

Види бактерій	Субстрати	Кінцеві продукти
Anaerovibrio lipolytica	Ліпіди, цукри, гліцерин	Ацетат, пропіонат, сукцинат
Eubacterium ruminantium	Цукри	Форміат, ацетат, бутират, H_2
Oxalobacter formigenes	Оксолат	Форміат, CO_2
Wolinella succinogenes	Органічні кислоти, H_2, форміат	Сукцинат, CO_2

Серед бактерій, які живуть у рубці, розрізняють целюлозолітичні, ксиланолітичні, пектинолітичні, амілолітичні, протеолітичні та метаногенні. Целюлозолітичні бактерії розщеплюють целюлозу. Ці облігатні анаероби прикріплюються до поверхні рослинних волокон чітко вираженими капсулами. Ферменти целюлази локалізовані біля поверхні клітин, що запобігає їх марним втратам, тому целюлазна активність рідини рубця незначна. Адгезія целюлозолітиків на рослинних волокнах не тільки поліпшує їх гідроліз, а й захищає бактерії від хижих найпростіших. Джерелом живлення ксиланолітиків є ксилоза — деревний цукор із класу пентоз, який входить до складу пектинових речовин. Механізм зброджування ксилану досліджений менше, ніж целюлози. Амілолітичні бактерії містять ферменти, що розщеплюють крохмаль, який є їх основним субстратом, але утилізувати вони можуть і органічні кислоти, наприклад лактат. Амілолітики становлять 22–51 % загальної кількості життєздатних мікроорганізмів рубця. Протеолітична активність спостерігається у 38 % ізолятів рубця. Ці адгезовані на стінках рубця бактерії швидко зброджують амінокислоти з виділенням амонію, відіграють певну роль у гідролізі сечовини. Більшість протеолітиків — факультативні анаероби. Більшість метаногенів рубця існує внаслідок відновлення CO_2 молекулярним воднем. Крім того, субстратами для метаногенезу можуть бути метанол, метиламін, форміат. Основна функція метаногенів полягає в підтриманні низької концентрації H_2, що забезпечує існування синтрофних бактерій рубця.

Мікроорганізми рубця представлені грибами, кількість яких іноді досягає 8 % мікробної маси. Гриби мають велике значення для жуйних тварин у зимовий період, коли переважають сухі корми. Вони руйнують рослинний матеріал — целюлозу і ксилан.

У рубці жуйних тварин живуть облігатно анаеробні найпростіші. Їх кількість за масою дорівнює або переважає масу бактерії. Типова кількість найпростіших у рубці — 10^4–10^6 особин/мл, однак ця цифра може коливатися залежно від віку тварини. *Protozoa* зброджують цукрозу, глюкозу, крохмаль, пектин, целобіозу, мальтозу, геміцелюлозу, поглинають мікробні клітини, накопичують Нітроген і глікоген.

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук М.Т., Сквіка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

Мікроорганізми в рубці великої рогатої худоби перебувають у трьох станах:

1) 25 % мікробної маси знаходиться в планктонному стані в рідкій фазі вмісту шлунка; ці організми поглинають розчинені вуглеводи і білки, ростуть швидко;
2) 70 % мікроорганізмів прикріплюються до твердих часточок корму, живляться нерозчинними полісахаридами (крохмаль, волокна) і слабкорозчинними білками, ростуть повільно; сорбція цих мікроорганізмів на часточках корму запобігає їх винесенню з рубця;
3) 5 % біомаси адсорбовано на епітелії рубця.

Свіжа рослинна біомаса заселяється мікробоценозом рубця під час акту відригування.

Схему біохімічних процесів, що відбуваються в рубці жуйних тварин, наведено на рис. 7.16. У результаті розщеплення рослинних полімерів і цукрів целюлозолітичними, ксиланолітичними, пектинолітичними й амілолітичними мікроорганізмами утворюються гексози, які зброджуються первинними бактеріями-бродильниками до органічних кислот і спиртів: лактату, сукцинату, пропіонату, ацетату, бутирату, етанолу. Лактат і сукцинат у шлунку не накопичуються. Лактат зброджується синтрофними бактеріями, наприклад *Veillonella alcalescens*, до ацетату, пропіонату і H_2. Сукцинат частково (25 %) асимілюється мікробною асоціацією рубця для синтезу глутамінової кислоти, а решта (75 %) перетворюється на пропіонат синтрофними культурами, наприклад *Selenomonas ruminantium*. Етанол синтезується у незначних кількостях, бо якщо водень споживається метаногенами постійно, процеси окиснення йдуть глибше. Основними продуктами енергетичного обміну анаеробних мікроорганізмів у рубці є оцтова, пропіонова і масляна кислоти. За добу з целюлози тут утворюється 3,7 кг оцтової кислоти, 1,1 — пропіонової, 0,6 кг — масляної, тому буферність рубця має велике значення. Ці кислоти постійно всмоктуються крізь стінки рубця у кров, у зв'язку з чим їхня концентрація у шлунку зазвичай невисока.

Водночас у рубці виділяються гази CO_2, H_2, CH_4. За добу їх кількість досягає 800 л (до 40 л/год за максимальної інтенсивності травлення). Баланс перетворення вуглеводів у рубці жуйних тварин передає рівняння:

$$57{,}6\ \text{Глюкоза} \rightarrow 65\ \text{Ацетат} + 20\ \text{Пропіонат} + 15\ \text{Бутират} +$$
$$+ 60\ CO_2 + 35\ CH_4 + 25\ H_2O$$

Молекулярний водень утворюється при окисненні піруват до ацетил-КоА (фосфорокластична реакція), при розщепленні форміату форміатгідрогеназою та при регенерації відновлених еквівалентів синтрофними бактеріями. У подальшому він швидко окиснюється метаногенами, тому його парціальний тиск у рубці дуже низький (100 Па). З організму великої рогатої худоби виділяється суміш CO_2 та CH_4 у співвідношенні близько 60:40 (до 200 л метану за добу з кожної особини, а всі жуйні тварини виділяють в атмосферу до 27,4 % цього газу).

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скакун Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

Рис. 7.16. Схема потоків Карбону й електронів через різні трофічні групи мікроорганізмів, які живуть у рубці великої рогатої худоби. Групи мікроорганізмів включають: 1 — первинні бактерії-бродильники; 2 — вторинні бактерії-бродильники (синтрофні бактерії); 3 — метаногени

Порівняно з іншими метаногенними системами рубець має низку особливостей, найважливішою з яких є всмоктування у травному тракті жирних кислот, тому харчові потреби синтрофної мікрофлори у цих кислотах дещо обмежені конкуренцією з процесом всмоктування. Всмоктування ацетату лімітує розвиток метаногенів, які його розщеплюють. У рубці інтенсивно розвиваються метаногени, субстрати яких не всмоктуються травним трактом, а саме ті, що ростуть на суміші $CO_2 + H_2$ і форміаті.

Залишається незрозумілим, чому в природі у кишковому тракті травоїдних тварин не реалізувалися такі умови, за яких домінували б гомоацетогенні бактерії.

Біомаса мікроорганізмів, що утворюється у рубці великої рогатої худоби, потрапляє до кишківника, гідролізується і слугує джерелом амінокислот для хазяїна. Амінокислоти мікробного походження всмоктуються у кров. Частина бактеріальної маси поглинається найпростішими, які також гідролізуються і постачають амінокислоти ВРХ. Амінокислоти *Protozoa* засвоюються організмом хазяїна краще, ніж бактеріальні.

Співвідношення видів мікроорганізмів у рубці великою мірою залежить від раціону тварини, і його різка зміна призводить до порушення балансу в мікробному угрупованні. Наприклад, за різкого збільшення в раціоні тварини кількості вуглеводів, які легко зброджуються, у шлунку накопичується молочна кислота, а pH знижується з 6,5 до 5,2. Починається захворювання тварини на ацедозис, яке може призвести до діареї, утворення грамнегативними бактеріями ендотоксинів, підвищення осмотичного тиску в рубці, зневоднення організму, руйнування клітин епітелію і, як результат, інвазії клітин бактерій у кров та абсцесу. Зниження pH у рубці спричиняє різку зміну популяції бактерій, які утворюють та утилізують молочну кислоту в шлунку. Щоб адаптуватись до но-

Біологія. Том 1. Сергійчук Т.М. та ін.

вого складу кормів, мікробній асоціації потрібно до 7 діб. Упродовж цього часу бактерії, що зброджують лактат і чутливі до низьких значень pH, замінюються на лактатзброджувальні кислоторезистентні.

Накопичення в рубці більш відновлених продуктів, таких як пропіонат, лактат, сукцинат, етанол, може бути пов'язане з низькою активністю метаногенів і збільшенням концентрації H_2. Це, у свою чергу, призводить до сповільнення росту всіх членів мікробного угруповання, й отже, до зменшення надходження амінокислот у кров великої рогатої худоби.

Окрім жуйних тварин, метаногенні мікробні асоціації виявлено у сліпій та товстій кишках інших тварин, таких як коні, зайці, чорні й білі носороги, карликові бегемоти, свині, пацюки, павіани, зелені мавпочки, гуси, кури, індики, таргани, терміти.

Питання для самоконтролю

1. На які групи поділяють мікроорганізми в залежності від діапазону температур їх існування?
2. Які фізичні фактори і яким чином здійснюють свій вплив на прокаріотичні організми?
3. Як називають мікроорганізми, що живуть у діапазоні pH від 1,0 до 6,0 (від 8 до 11)?
4. На які групи поділяють токсичні речовини за типом дії на клітину?
5. Особливості мікробіоти ґрунту.
6. Як оцінюють ступінь забруднення питної води?
7. Які методи використовують для дослідження мікрофлори повітря, в чому їх суть?
8. Дайте визначення поняттям та наведіть приклади: мутуалізму, синтрофії, коменсалізму, синергізму, пасивному та активному антагонізму.
9. Особливості взаємовідносин мікроорганізмів з рослинами.
10. Особливості будови ектотрофного та ендотрофного типів мікориз.
11. Яку користь отримують рослини від свого співіснування з мікоризними грибами?
12. Яку користь можуть отримувати безхребетні тварини від свого співіснування з бактеріями?
13. Назвіть особливості і склад анаеробних мікробних угруповань у прісних, солоних еконішах та в рубці жуйних тварин.
14. Яким чином процеси всмоктування в рубці великої рогатої худоби впливають на склад метаногенного мікробного угруповання?
15. Чому у морській воді пригнічені процеси метаногенезу?

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Серійчук М.Г., Співка Л.М., Серійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 8.
МІКРООРГАНІЗМИ — КАТАЛІЗАТОРИ РЕАКЦІЙ ГЛОБАЛЬНИХ БІОГЕОХІМІЧНИХ ЦИКЛІВ ЕЛЕМЕНТІВ

8.1. Цикл Карбону

Карбон — найголовніший для життя й один з найпоширеніших елементів на Землі. Він входить до складу органічних і неорганічних сполук, міститься в земній корі, океані, атмосфері. Нижче перелічено сполуки Карбону, що трапляються у природі. Карбон належить до четвертої групи періодичної системи елементів Д. І. Менделеєєва, та має змінний ступінь окиснення від –4 до +4.

Сполука	Формула	Ступінь окиснення Карбону
Органічні речовини (містить 0,1–26 % карбону)	$(CH_2O)n$	-4 до +4
Вуглеводні (рідкі, тверді, газоподібні)	(CH_2) n	-4 до +4
Діоксид Карбону(газ)	CO_2	+4
Вугільна кислота	H_2CO_3	+4
Карбонати (солі вугільної кислоти): ($CaCO_3$ — кальцит (вапняк), $MgCO_3$ магнезит (доломіт), $FeCO_3$ — сідерит)	RCO_3	+4
Оксид Карбону (газ)	CO	+2
Алмаз, графіт, вугілля (на 99 % складається з Карбону)	C	0
Метан (газ)	CH_4	-4

Вміст Карбону в земній корі становить 0,2 % (10^{13} т), в атмосфері— 0,03 % ($6{,}4 \cdot 10^{11}$ т). Найбільше його міститься у Світовому океані у вигляді розчинних і нерозчинних сполук. Маса розчинних сполук Карбону (гідрокарбонати та карбонати)— $3 \cdot 10^{13}$ т, або майже у 50 разів більше, ніж в атмосфері. Нерозчинні карбонати представлені вапняком $CaCO_3$ і доломітом $MgCO_3$, їх маса найбільша і становить $1{,}8 \cdot 10^{16}$ т. У земній корі поклади Карбону представлені каустобіолітами (нафта, вугілля, природний газ) масою 10^{13} т. Перетворення Карбону формує головний біогеохімічний цикл, який об'єднує всі складові біосфери в єдине ціле (рис. 8.1).

На Землі є шість головних резервуарів Карбону:

1) діоксид Карбону (CO_2) атмосфери;
2) карбонати, гідрокарбонати та розчинений діоксид Карбону (CO_2) гідросфери;
3) органічний Карбон у складі живої й відмерлої речовин (біомаса тварин, рослин, мікроорганізмів, сапропель, детрит);

БІОЛОГІЯ. ГОМ І. Сергійчук М.Г. Сківка Л.М. Сергійчук Г.М. та ін

4) органічний Карбон у складі ґрунтів (гумус, торф);
5) нерозчинні карбонати в осадових породах (вапняки, доломіти);
6) органічний відновлений Карбон біогенного походження корисних копалин (природний газ, нафта, вугілля).

Рис. 8.1. Схема основних потоків глобального циклу Карбону. Цифри наведено в мільярдах тон (10^9 т)

Основні перетворення глобального циклу Карбону поділяють на геологічні й біологічні. *Геологічні перетворення* відбуваються, в основному, у п'ятому та шостому резервуарах. Гірські осадові породи й корисні копалини сформувалися мільйони років тому, нині це депо Карбону на Землі. Внаслідок перебігу метаморфічних та ерозійних процесів вуглекислий газ повертається в атмосферу в результаті окиснення захороненої органічної речовини та спалювання корисних копалин. Особливого значення ці процеси набули в період техногенезу.

Між гідросферою та атмосферою постійно відбувається масообмін вуглекислого газу. За низької температури розчинність CO_2 зростає і він поглинається океаном, а за високої — мігрує в атмосферу. Щорічний масообмін становить $1{,}2 \cdot 10^{11}$ т/рік.

Біологічні перетворення Карбону можуть тривати від кількох діб до сотень років. Вони відбуваються в основному, у першому — четвертому резервуарах, і частково у п'ятому та шостому із залученням ферментних систем живих організмів. Роль біоти в цих процесах неоднозначна. Рослини відіграють важливу роль у фіксуванні CO_2, тобто в перетворенні неорганічного Карбону на орга-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Савгійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

нічний. В організмах тварин розкладаються рослинні полімери і синтезуються інші органічні сполуки (білки, амінокислоти, ліпіди), при цьому в атмосферу частково виділяється Карбон у вигляді CO_2. Основна роль у перетворенні різних сполук Карбону належить мікроорганізмам (рис. 8.2).

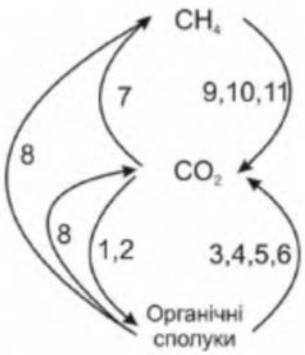


Рис. 8.2. Перетворення Карбону в природі різними фізіологічними групами мікроорганізмів: 1 — фіксація CO_2 автотрофами; 2 — асиміляція CO_2 гомоацетогенами; 3, 4 — окиснення органічних сполук хемоорганогетеротрофами відповідно при аеробному й анаеробному диханні; 5 — зброджування органічних сполук; 6 — окиснення органічних сполук фототрофними мікроорганізмами; 7 — метаногенез на суміші вуглекислого газу і водню; 8 — метаногенез на метанолі й ацетаті; 9 — окиснення метану аеробними метилотрофами; 10, 11 — окиснення метану синтрофним мікробним угрупованням в умовах відповідно сульфатредукції та нітратредукції

Фіксація CO_2 автотрофами з утворенням органічних сполук. Фіксувати вуглекислий газ можуть вищі рослини, водорості та автотрофні бактерії. Вищі рослини і водорості використовують для цього лише цикл Кальвіна. Мікроорганізми можуть включати CO_2 у біосинтез різними шляхами: за циклами Кальвіна, Арнона, 3-гідроксипропіонатним та відновлювальним шляхом ацетил-КоА. Вуглекислий газ фіксують наземні рослини і фітопланктон, що населяє товщу Світового океану. До складу фітопланктону входять мікроскопічні водорості, хемо- і фотолітоавтотрофні бактерії. Маса наземних рослин у 525 разів більша за масу фітопланктону, але продуктивність останнього надзвичайно висока. Наземні рослини продукують у 14 разів менше органічної речовини за їх власну масу, а кількість органічної речовини, яку синтезує фітопланктон, у 325 разів більша за його масу.

На відміну від вищих рослин, мікроорганізми фіксують CO_2 і за екстремальних умов. Так, на територіях із постійним сніговим покривом особливе значення в утворенні органічних сполук мають автотрофні зелені водорості та ціанобактерії. Поверхня снігу в Антарктиді, Гренландії та на гірських льодовиках населена різноманітними представниками цих мікроорганізмів. На висоті понад 6500 м над рівнем моря трапляються лише ціанобактерії, а сніг

ОБІОЛОГІЯ: ТОМ 1 / Сергійчук І.Т., Сивій М.І., Сергійчук Т.М. та ін

за їх масового розмноження набуває жовтого або червоного забарвлення. Внаслідок цього, при таненні снігу й льоду поверхня скель збагачується органічною речовиною.

На дні анаеробних погано освітлених водойм за наявності сульфідів вуглекислий газ можуть фіксувати пурпурні й зелені бактерії.

У ґрунтах, затопленому мулі та гірських породах основну роль у фіксації CO_2 відіграють аеробні та анаеробні хемолітотрофні бактерії — тіонові, нітрифікатори першої і другої фаз, водневі бактерії, автотрофні сульфатредуктори й метаногени.

У наземних і морських гідротермах термофільні метаногени, використовуючи CO_2 вулканічного походження, виступають первинним продуцентами органічної речовини.

У прісних водоймах із зниженим pH та за низьких температур значну частину CO_2 можуть асимілювати анаеробні гомоацетогенні бактерії з накопиченням у довкіллі ацетату.

Окиснення органічних сполук до CO_2. Органічні речовини, синтезовані автотрофами, стають доступними для інших мікроорганізмів і можуть використовуватися як:

1) джерела Карбону (аеробні та анаеробні гетеротрофи);
2) джерела електронів (аеробні та анаеробні хемоорганотрофи);
3) екзогенні донори електронів (фотоорганотрофи).

Аеробні мікроорганізми є основними постачальниками CO_2 в атмосферу, оскільки більшість органічних сполук вони окиснюють повністю. Виділяється CO_2 і за анаеробного (нітратного, сульфатного, фумаратного) дихання. Бродіння не завжди супроводжується виділенням CO_2. Це характерно лише для спиртового, гетероферментативного молочнокислого, мурашинокислого бродіння, тощо. Аноксигенні фотосинтетики можуть використовувати органічні сполуки не тільки як джерело Карбону, а й як екзогенний донор електронів. Крім того, за відсутності світла деякі з них здатні переключатися на бродіння чи дихання.

Внаслідок перебігу цих процесів органічні речовини окиснюються, зазнають перетворень, включаються у біосинтез, Карбон, що входив до їх складу, частково або повністю переходить у неорганічну форму. Отже, на цьому етапі колообігу Карбон у вигляді CO_2:

1) повертається в атмосферу;
2) надходить у гідросферу, розчиняється у воді з утворенням вугільної кислоти, після чого повертається в атмосферу;
3) надходить у гідросферу, розчиняється у воді з утворенням вугільної кислоти, а потім нерозчинних карбонатів (вапняків, доломітів);
4) не окиснюється до CO_2, є джерелом гумусу і сапропелю.

У різних екологічних нішах перетворення органічного Карбону має свої особливості, які пов'язані фізико-хімічними умовами довкілля.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сквалецький М.І., Сергійчук Т.М. та ін.

Перетворення органічних сполук Карбону в ґрунтах. Рештки біомаси рослин, до складу яких входять складні полімерні сполуки (целюлоза — 40–80 %, ксилан — 7–30 %, лігнін — 3–35 %, пектинові речовини), мікроорганізми розкладають доволі повільно. У результаті в ґрунтах формується гумус. Гумус ґрунту — це складний конгломерат, що складається з гумусових кислот (гумінові, фульвокислоти) та нерозчинного залишку (гуміну). Ця динамічна система постійно оновлюється внаслідок гуміфікації нових органічних решток, трансформації і мінералізації раніше утвореного гумусу. Мікроорганізми беруть участь як у створенні, так і в розкладанні гумусу.

Роль мікробів у гумусоутворенні багатогранна. Вони розкладають органічні рештки, синтезують структурні компоненти молекул гумусових речовин, продукують ферменти *фенолоксидази*, які використовуються в окисненні поліфенолів до хінонів та їх конденсації у гумус. Процес гумусоутворення відбувається в кілька етапів (таблиця 8.1).

Таблиця 8.1.

Етапи гумусоутворення в ґрунті

Етап	Субстрат, що розщеплюється	Процес
Потемніння листків (3–4 доби після обпадання)	Вуглеводи, пектини, прості білки, амінокислоти	Дія ферментів гідролаз та оксидоредуктаз
Розчинення клітин епідермісу (7–8 діб після обпадання)	Целюлоза, ксилан	Дія ферментів целюлаз, ксиланаз та інших гідролаз
Утворення слизистої, бурої маси (15–20 діб після обпадання)	Лігнін, компоненти, які важко розкладаються	Дія різних ферментів; поліконденсація новоутвореного гумусу

У бідних на мінеральні компоненти ґрунтах формується кислий гумус. У ґрунтах, збагачених мінеральними компонентами, гумінові і фульвокислоти нейтралізуються й утворюють комплекси з глинистими мінералами.

Деструкцію гумусу у ґрунті здійснюють специфічні мікроорганізми (автохтонні), які здатні розщеплювати гетероциклічні сполуки. До них належать представники родів *Nocardia*, *Bactoderma*, *Micromonospora*, *Arthrobacter*. Деструкція гумусу позитивно впливає на родючість ґрунту, якщо її швидкість не перевищує швидкості гумусоутворення.

Перетворення органічного Карбону у водоймах. Органічні сполуки Карбону у водоймах представлені:

1) біомасою фітопланктону (одноклітинні водорості та ціанобактерії);
2) біомасою вищих водних рослин;
3) гумусовими речовинами, що надходять з суходолу.

БІОЛОГІЯ. ГОМ І. Сергійчук М.Г., Сівіга Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

В *оліготрофних водоймах* (Світовий океан, глибокі континентальні водойми з малим вмістом органічних речовин) основним джерелом органічного Карбону є біомаса одноклітинних організмів фітопланктону, яка в товщі води практично повністю мінералізується до CO_2. Вуглекислий газ, що при цьому виділяється, розчиняється у воді з утворенням вугільної кислоти. У подальшому він фіксується автотрофами, виходить в атмосферу або взаємодіє з Кальцієм і Магнієм. $CaCO_3$ використовують водяні організми для побудови вапнякових скелетів. Нерозчинні карбонати беруть участь у формуванні вапняків і доломітів у результаті:

1) відмирання організмів з вапняковим скелетом;

2) осадження нерозчинних карбонатів;

3) ерозії гірських порід суходолу.

Нерозчинні карбонати фоссилізуються (захоронюються) й утворюють товщі осадових порід, надовго виключаються з колообігу. Потрапивши в зону метаморфізму, вони розкладаються, і Карбон повертається в атмосферу з вулканічними газами. Метаморфічний цикл триває близько 350 тис. років.

В *евтрофних водоймах* (континентальні водойми, річки з великим вмістом органічних речовин) частина органічного Карбону використовується гетеротрофними організмами у водній товщі, інша значна його частина осаджується і фоссилізується. Часто ці органічні рештки перетворюються на *сапропелі* — тонкоструктуровані колоїдні відкладення, які містять близько 50 % органічної речовини, представленої напіврозкладеними рештками діатомей та інших водоростей, неорганічними елементами біогенного й абіогенного походження.

В *дистрофних водоймах* (болота) міститься велика кількість органічного Карбону, представленого в основному полімерами вищих рослин, які важко розкладаються і є основою для формування торфу. *Торф* — це порода біогенного походження, що утворювалась протягом тисяч років із решток дерев, мохів, трав, які внаслідок високої вологості мінералізувалися мікроорганізмами лише частково. Вік сучасних торф'яників становить 5–10 тис. років.

Утворення та розкладання нафти мікроорганізмами. До складу земної кори входять породи — *біоліти*, що сформувались в результаті діяльності живих організмів. Серед біолітів виділяють окрему групу горючих порід, які складаються з органічної речовини, їх називають *каустобіолітами* (нафта, кам'яне вугілля).

Процес утворення нафти розпочався в кембрійський період як анаеробне розкладання органічної речовини сапропелевих мулів за участю мікроорганізмів за підвищених температури й тиску з утворенням рідких гідрофобних продуктів.

До складу нафти входять: Карбон — 82–88 %, Гідроген — 11–14 %, Оксиген, Сульфур — 0,1–7 %, Нітроген — 0,3–0,4 %. ЇЇ основою є вуглеводні — алкани (парафіни), нафтени (циклопарафіни) та арени (ароматичні вуглеводні). Компонентами нафти можуть бути присутні високомолекулярні сполуки гібридної природи, що містять ароматичні речовини, циклопарафіни, парафінові ланцюги

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сквіра І.І., Сергійчук Т.М. та ін

(смоли та асфальтени), а також нафтенові кислоти, які містять кисень. Сульфур може міститись у вигляді тіофену, тіофану, гідрогенсульфіду та елементарної сірки. Нітроген представлений піридином, хіноліном, індолом, піролом.

Протягом тривалого часу нафта знаходилася між водонепроникними породами і не брала участі в колообігу Карбону в природі. Її вихід на поверхню Землі пов'язаний з тектонічними процесами та промисловою діяльністю людини. За контакту нафти з повітрям вона частково трансформується під впливом фізичних, хімічних і біологічних чинників.

Специфіка трансформації вуглеводнів мікроорганізмами зумовлена властивостями їхніх молекул: гідрофобністю та максимальною відновленістю Карбону. Кінцевим продуктом їх окиснення за аеробних умов є CO_2.

Мікробіологічне утворення метану. Метан, що надходить у довкілля, має біогенне та абіогенне походження. Джерела його надходження в атмосферу (за T. D. Brok, 1991) наведені нижче:

Джерело	Об'єм, 10^6 т/рік
Біогенні (58 %)	
Рубець великої рогатої худоби	85
Затоплені ґрунти	45
Болота	35
Термітники	3,5
Океан / озера	4
Інші	7
Абіогенні (42 %)	
Спалювання біомаси	75
Вугільні шахти	30
Втрати на газопроводах	24
Автотранспорт	1
Вулкани	0,5

Особливу роль в його утворенні відіграють чисті культури облігатно анаеробних метаногенних археїв та метаногенні мікробні асоціації, які живуть, в основному у прісних анаеробних еконішах (затоплені мули, рисові поля, анаеробні очисні споруди, кишківники жуйних тварин, термітів тощо).

На затоплених водою рисових полях створюються оптимальні умови для метаногенезу через відсутність кисню та життєдіяльність целюлозолітичних бактерій, первинних і вторинних бродильників, нітрат- і сульфатредукторів. Вони постачають метаногенам такі субстрати, як ацетат (60 %), молекулярний водень

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

і вуглекислий газ (20–30 %), форміат (5–6 %). Кількість метаногенів у ґрунтах рисових полів становить 10^2–10^6 кл/мл. Проте майже 80 % біологічного метану окиснюється в поверхневих аеробних горизонтах метанотрофами.

У прісних водах міститься 10^2–10^5 кл/мл метаногенів. Метаногенез відбувається в анаеробних донних відкладах, а потім підіймається вгору. Якщо у водній товщі велика кількість кисню, то метан окиснюється до вуглекислого газу і не потрапляє в атмосферу. За відсутності кисню він у вигляді бульбашок виділяється в атмосферу.

Для всіх типів боліт характерна відсутність рівноваги між утворенням та деструкцією органічної речовини. Органіка накопичується у вигляді торфу, метан із болота вивільнюється у вигляді болотного газу, який іноді може самозайматись. Кількість мікроорганізмів у цій еконіші становить 10^6 кл/мл, а субстратами є CO_2 і H_2.

Стічні води метантенків характеризуються високим вмістом органічної речовини, сталою температурою. Переважають мікроорганізми, які засвоюють ацетат, їх кількість сягає 10^8 кл/мл.

Метаногени розвиваються також в пластових водах нафтових родовищ, на ділянках відмерлої деревини, в екосистемах з високою температурою.

У гідротермальних джерелах метаногени можуть використовувати вулканічні гази, а також органічну речовину, яка утворюється в ціанобактеріальних матах. Термофільні метаногени (*Methanothermus fervidus*, *Methanococcus jannaschii, Methanothrix thermoacetophila*) розвиваються в температурному інтервалі 80–110 °С.

З організму великої рогатої худоби виділяється суміш CO_2 та CH_4 у співвідношенні близько 60:40. Кожна особина виділяє у довкілля до 200 л метану за добу, а загалом жуйні тварини постачають у атмосферу до 27,4 % цього газу. Метан, що виділяється кишківником тварин, потрапляє в атмосферу, не окислюючись метанотрофами.

Метаногенні мікробні асоціації в анаеробних умовах розщеплюють органічні субстрати до метану й вуглекислого газу. Крім того, метан може утворюватись і хемолітотрофно із суміші CO_2 та H_2.

Крім біогенного (рецентного) в біотичний колообіг включається і викопний (фоссильний) метан. Велика кількість його похована під морським дном у вигляді розчинів, твердих кристалогідратів та вільного газу. Частково метан виділяється з морських донних осадів внаслідок дифузії крізь «метанові канали».

Мікробне окиснення метану до вуглекислого газу. Окиснення CH_4 до CO_2 зазвичай здійснюють аеробні метанотрофи. Вони запобігають емісії метану в довкілля, є своєрідним фільтром, що перешкоджає підвищенню концентрації цього газу в атмосфері. Це унікальна група мікроорганізмів, яка використовує однокарбонові сполуки як джерела Карбону й електронів та включає метан у біотичний колообіг речовин. Метанотрофи зустрічаються в шахтних водах, вугіллі, ґрунтах над нафтогазовими родовищами, у підземних і наземних водах, на рисових полях.

ОБІОЛОГІЯ. Ю.І. Сергійчук М.І., Сквірка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

Можливе й анаеробне окиснення метану в морських глибинах та осадах прісних водойм. У цьому разі процес здійснюють не чисті культури, а синтрофні асоціації мікроорганізмів.

У морях метаногенез не витримує конкуренції з сульфатредукцією, тому походження метану в морській воді в основному абіогенне. Він зникає в анаеробних шарах і практично не досягає аеробних зон та атмосфери (рис. 8.3, а). Кількість метану, який окислюється анаеробно, становить 5–20 % від загальної його кількості, що щорічно надходить в атмосферу.

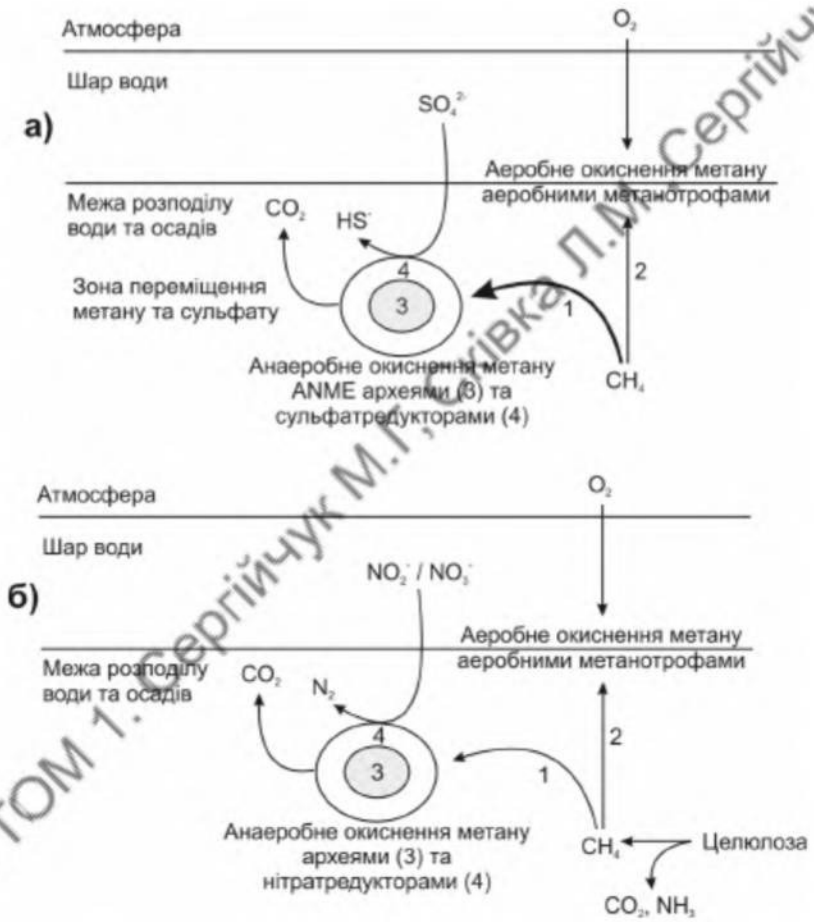


Рис. 8.3. Окиснення метану в морських донних відкладах (а) та в осадах прісних водойм (б): 1 — анаеробне окиснення метану синтрофною асоціацією археїв та сульфатредукторів; 2 — окиснення незначної частки аеробними метанотрофами

Анаеробне окиснення метану відбувається у багатих на органічні сполуки осадах уздовж континентальних шельфів. Ці зони характеризуються чітко

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сергійчук Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

вираженим переміщенням сульфатів і метану. Вважається, що цей процес має важливе значення в окисненні CH_4 до CO_2 та відіграє особливу роль у сучасному формуванні доломітів (карбонвмісні мінерали) у морських відкладах.

Наразі не виділено жодного організму, здатного самостійно анаеробно окиснювати метан, тому вважають, що цей процес пов'язаний із життєдіяльністю синтрофної мікробної асоціації, яка переносить електрони, що відщеплюються від метану, на сульфати як термінальні акцептори електронів.

Анаеробні метанотрофні археї (ANME-культури) окиснюють метан з виділенням молекулярного Гідрогену:

$$CH_4 + 3H_2O \rightarrow 4H_2 + HCO_3^- + H^+,$$

а хемолітотрофні сульфатредуктори поглинають молекулярний Гідроген:

$$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O.$$

В анаеробних зонах прісних водойм більша частина органічного Карбону перетворюється на метан внаслідок інтенсивного метаногенезу. Більшість цього газу окиснюється аеробними метанотрофами в насиченій Оксигеном товщі води. Водночас нещодавно виявлено, що у прісних водоймах також може відбуватися анаеробне окиснення метану, але тут воно пов'язане з денітрифікацією (див. рис. 7.3, б). Процес відбувається за рівнянням:

$$5CH_4 + 8NO_3^- + 8H^+ \rightarrow 5CO_2 + 4N_2 + 14\ H_2O.$$

8.2. Цикл Нітрогену

Нітроген є важливим елементом для життя, оскільки входить до складу амінокислот, нуклеїнових кислот та багатьох ферментів. Від колообігу Нітрогену залежить біологічна продуктивність Землі. Він належить до V групи періодичної системи елементів Д. І. Менделєєва, має змінний ступінь окиснення від –3 до +5. Нижче наведено найважливіші сполуки Нітрогену:

Сполука (іон)	Формула	Ступінь окиснення Нітрогену
Нітрат-іон	$(NO_3)^-$	+5
Нітрит-іон	$(NO_2)^-$	+3
Моноксид Нітрогену (газ)	NO	+2
Теміоксид Нітрогену (газ)	N_2O	+1 — середній
Азот (газ)	N_2	0
Аміак (газ)	NH_3	-3
Амонію іон	$(NH_4)^+$	-3
Органічний амін	RNH_2	-3

БІОЛОГІЯ-ГОМ І. Серійчук М.Г., Співак Л.М. Серійчук Т.М. та ін

Нітроген — один із елементів, який на ранніх етапах формування Землі при ударній дегазації відокремився в газовій фазі й акумулювався в атмосфері. Первинний міграційний цикл Нітрогену, що відбувався без участі живих організмів, був доволі простим (рис. 8.4).

В атмосферу внаслідок дегазації потрапляли газоподібні сполуки Нітрогену, які з часом вступали у фотохімічні реакції, перетворювалися на розчинні й вимивалися атмосферними опадами. Такі процеси не стосувалися молекулярного азоту N_2, атоми якого сполучені потрійним зв'язком (N≡N). Цей інертний газ залишався в атмосфері і продовжував накопичуватися.

Рис. 8.4. Первинний міграційний цикл Нітрогену

Нині в атмосфері молекулярний азот значно переважає інші гази за масою ($3{,}87 \cdot 10^{15}$ т) та об'ємом (78,7 %). Кларк цього елемента в літосфері становить $1{,}9 \cdot 10^{-3}$, а в живій речовині — 0,3. Крім N_2 в атмосферу постійно надходять також інші газуваті сполуки: NH_3, N_2O, NO, NO_2, але вони не накопичуються, оскільки внаслідок дисоціації води утворюється сильний окисник OH^-, який сполучається з NO, NO_2 в нітритну та нітратну кислоти. Аміак може взаємодіяти з оксидами Сульфуру і перетворюватись на розчинний гідросульфат амонію NH_4HSO_4. Ці сполуки легко виводяться з атмосфери та з опадами потрапляють на землю.

Гірські породи містять 20–800 г/т Нітрогену, причому основну частку (50–90 %) становить його амонійна форма. При формуванні земної кори аміак атмосфери заміщував Калій при утворенні силікатних мінералів внаслідок близькості їхніх іонних радіусів (К — 0,133, NH_3— 0,143 нм). Найбільша кількість амонійного азоту трапляється в осадових породах і шаруватих силікатах, таких як біотит, мусковіт.

Нітроген у тій чи іншій формі міститься у всіх складових частинах біосфери: в живій речовині тварин і рослин, в органічних рештках, у вигляді іонів NO_3^-, NO_2^-, NH_4^+ (табл. 8.2).

Мікроорганізми значно змінили й ускладнили цикл Нітрогену. Саме мікробіологічні процеси створили передумови для формування ґрунтів, розвитку наземних

Мікробіологія. Ред. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

рослин і тварин. З появою наземної рослинності за участю тварин та під впливом діяльності людини виник «великий» біологічний колообіг Нітрогену (рис. 8.5).

Рослини здебільшого використовують головним чином мінеральні сполуки Нітрогену, тварини — органічні. Мікроорганізми утилізують як органічний, так і неорганічний Нітроген, переводячи його з однієї форми в іншу в результаті свого метаболізму. Цикл Нітрогену, що його здійснюють мікроорганізми, наведено на рис. 8.6.

Таблиця 8.2.

Загальні резервуари різних форм азоту (Ленгелер Й., 2005)

Резервуар	Вміст азоту, Гт	
	Суходіл	Світовий океан
Рослини	12	0,3
Тварини	0,2	0,17
Органічні рештки	300	550
Розчинний неорганічний Нітроген	160	557
Молекулярний азот атмосфери	1 000 000	2 700 000

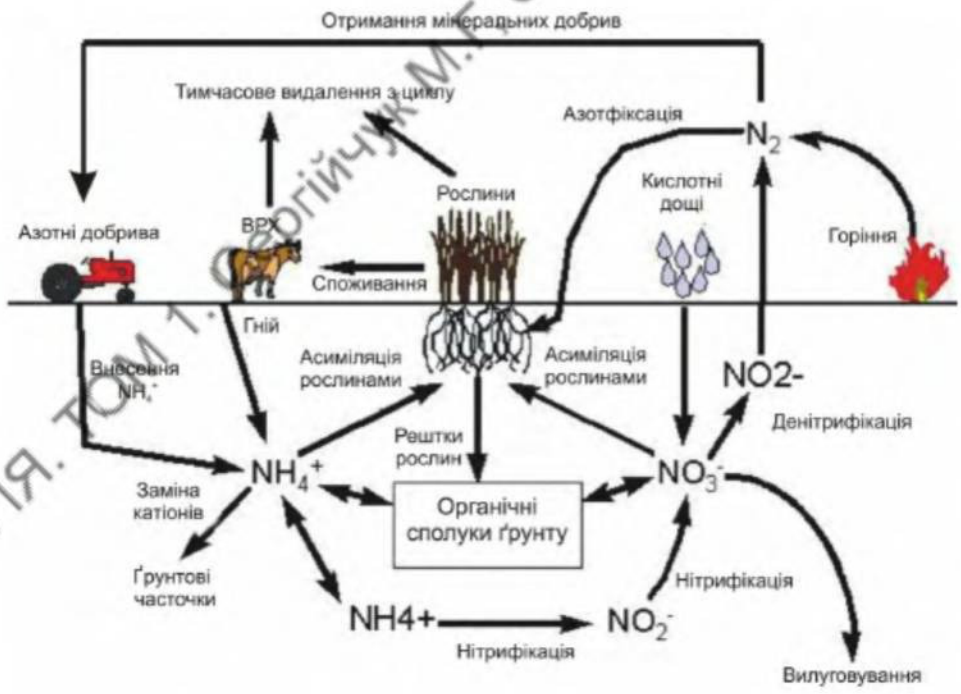


Рис. 8.5. «Великий» біологічний колообіг Нітрогену

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Він передбачає такі етапи:

1. Окиснення відновлених форм:
   а) нітрифікація I та II фаз,
   б) анаеробне окиснення амонію (анамокс-процес).
2. Відновлення окиснених форм:
   а) асиміляційна нітратредукція,
   б) дисиміляційна нітратредукція, що включає дисиміляційну амоніфікацію та денітрифікацію,
   в) фіксація молекулярного азоту.
3. Перетворення органічних форм азоту в неорганічні без зміни ступеня окиснення:
   а) амоніфікація,
   б) асиміляція.

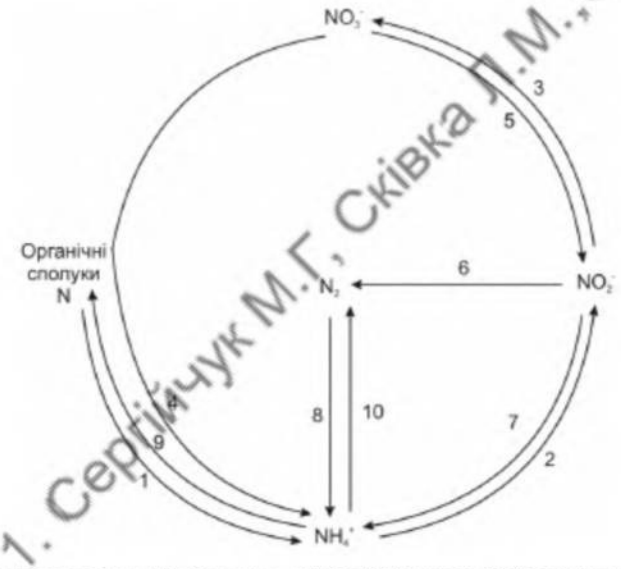


Рис. 8.6. Перетворення Нітрогену в природі різними фізіологічними групами мікроорганізмів: 1 — амоніфікація; 2 — нітрифікація (I фаза); 3 — нітрифікація (II фаза); 4 — асиміляційна нітратредукція; 5, 6, 7 — дисиміляційна нітратредукція (нітратне дихання); 5, 6 — денітрифікація; 8 — азотфіксація; 9 — асиміляція (включення амонію в біосинтез); 10 — анаеробне окиснення амонію (анамокс-процес)

Амоніфікація — це процес розкладання нітрогенвмісних органічних речовин гетеротрофними мікроорганізмами з утворенням аміаку. До таких органічних речовин належать: сечовина, білки, амінокислоти, нуклеїнові кислоти, гумус, хітин та ін.

Сечовина містить 47 % азоту. Щорічно в довкілля надходить понад 50 млн т сечовини. Мікроорганізми, що містять уреазу, здатні гідролізувати сечовину

Біологія. 10 кл. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

з утворенням карбонату амонію, який самочинно розпадається на аміак, вуглекислий газ і воду:

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \rightarrow (NH_4)_2CO_3 \rightarrow 2NH_3 + CO_2 + H_2O.$$

Уробактерії були відкриті Л. Пастером у 1862 р. Це аеробні бактерії, що живуть за pH 9–10 і не використовують сечовину як джерело Карбону. Типовими їх представниками є *Micrococcus urea*, *Sarcina urea, Bacillus pasteurii*.

Білкові речовини розкладають мікроорганізми, які містять протеолітичні екзоферменти. В результаті гідролізуються пептидні зв'язки й утворюються поліпептиди та амінокислоти. Продуктами мінералізації білкових речовин також можуть бути вуглекислий газ, аміак, аміни, меркаптани, органічні кислоти, гідрогенсульфід, кадаверин, індол, вода та ін.

Нуклеїнові кислоти РНК і ДНК, нуклеопротеїди розщеплюються під впливом ферментів дезоксирибонуклеази і рибонуклеази, які синтезуються бактеріями, актиноміцетами та грибами. Внаслідок перебігу цього процесу утворюються аміак та органічні кислоти.

Гумусові речовини розкладаються надзвичайно повільно, особливо в каштанових ґрунтах та чорноземах. Найбільша швидкість їх деструкції у сіроземах Середньої Азії навесні, коли висока температура поєднується з достатньою вологістю ґрунтів.

Хітин — це нітрогенвмісний полісахарид, міститься в клітинних оболонках мікроорганізмів, зовнішніх покривах комах та ракоподібних. Зазнає деструкції під впливом ферменту хітинази з утворенням аміаку й розчинних цукрів:

$$C_{32}H_{54}O_{21}N_4 + 7H_2O \rightarrow 4C_6H_{11}C_5NH_2 + 4CH_3COOH;$$
$$4C_6H_{11}C_5NH_2 + 7\,H_2O \rightarrow 4C_6H_{12}O_6 + 4NH_3.$$

Такі перетворення хітину здійснюють бактерії *Bacterium chitinophillum*, *Bacterium chitinovorum* та деякі актиноміцети.

Аміак, що виділяється в процесі амоніфікації, може розчинятись у воді, утворювати амонійні солі, окиснюватись або залишатись у газуватому стані.

Найбільш відновлені форми Нітрогену, такі як іони амонію NH_4^+ та аміак NH_3, надходять у довкілля не лише внаслідок амоніфікації нітрогенвмісних сполук мікроорганізмами, а й з амонійними добривами, атмосферними опадами, що містять NH_4HSO_4, при вивітрюванні осадових порід, силікатних мінералів біотиту, мусковіту.

Нітрифікація — мікробне окиснення амонію до нітрату. Цей процес можуть здійснювати (таблиця 8.3):

1) деякі хемоорганогетеротрофні мікроорганізми (*Fusarium*, *Nocardia*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*), які перетворюють амоній на нітрит внаслідок побічної діяльності ферментів; таке окиснення не є джерелом енергії для клітин, а роль мікроорганізмів у колообігу Нітрогену незначна;

Біологія. Том І. Сергійчук І.Г., Скіпка П.М., Сергійчук Г.М. та ін.

2) нітрифікувальні бактерії — дві вузькі фізіологічні групи аеробних бактерій, які здійснюють нітрифікацію для отримання енергії, тобто мають хемолітотрофний метаболізм; саме вони мають основне значення в окисненні сполук Нітрогену в природі.

Нітрифікувальні бактерії живуть у ґрунтах, прісних і солоних водоймах, стічних водах, гірських породах, на бетонних спорудах. Інтенсивність їх розмноження залежить від умов довкілля. Оптимальними є значення pH 4–9 та концентрація Оксигену не менш як 0,1–0,25 мг/л.

Розвиток нітрифікаторів у ґрунтах призводить до виділення нітратної кислоти. Так, у черноземах у шарі завтовшки 50 см її може утворюватись до 300 кг/га. Кислоти, з одного боку, сприяють мобілізації Фосфору, Феруму, Магнію у ґрунті, роблять їх доступними для рослин, а з іншого — можуть спричинити вимивання з ґрунтів цих елементів і збільшення вмісту нітратів у річках та морях. Нітрифікаторам належить провідна роль у біохімічному вивітрюванні гірських порід, оскільки внаслідок перетворення амонію на нітрати руйнується кристалічна гратка мінералів. За наявності іонів Na^+, K^+ утворюються натрієва й калійна селітри ($NaNO_3$, KNO_3). Хоча ці солі розчинні, проте в умовах сухого клімату (Чилі, Колумбія, Болівія, Аргентина, деякі країни Африки) можливе їх значне накопичення.

Таблиця 8.3.

Нітрифікація, яка здійснюється хемолітотрофними та хемоорганотрофними мікроорганізмами

Мікроорганізм	Форма Нітрогену		Питома швидкість окиснення, мг N/добу/(на суху масу)
	відновлена	окиснена	
Nitrosomonas (автотроф)	NH_4^+	NO_2^-	1000–30000
Nitrobacter (автотроф)	NO_2^-	NO_3^-	5000–70000
Aspergillus (гетеротроф)	NH_4^+	NO_3^-	1,3
Arthrobacter (гетеротроф)	NH_4^+	NO_2^-	0,25–0,65
Arthrobacter (гетеротроф)	NH_4^+	NO_3^-	0,37–9,0

Асиміляція — включення неорганічної форми Нітрогену в біосинтез. Це відбувається шляхом прямого амінуванням, тобто, безпосереднім приєднанням амонію до карбонового скелету амінокислоти. При асиміляції нітратів прямому амінуванню передує процес *асиміляційної нітратредукції* (асиміляційної амоніфікації).

Денітрифікація — це вивільнення газоподібних форм Нітрогену (NO, N_2O, N_2) у атмосферу з ґрунтів та водних екосистем. Денітрифікація може відбуватися в результаті перебігу двох анаеробних процесів:

1) нітратного дихання (на суходолі, у прісних водоймах та океані);

Біологія. Том 1. Сергійчук І.Г. Сківка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

2) життєдіяльності анамокс-бактерій (у Світовому океані).

Внаслідок денітрифікації зменшується кількість Нітрогену в ґрунтах та водоймах. Це має негативне значення для рослин, але сприяє поверненню в атмосферу. Крім того, накопичення нітратної й нітритної кислот могло б спричинити зміну кислотності води Світового океану.

Азотфіксація — це процес, протилежний денітрифікації. В результаті азотфіксації молекулярний азот відновлюється, тобто змінює ступінь окиснення від 0 до –3, перетворюється на аміак (амоній), стає доступним для більшості живих організмів.

Фіксація молекулярного азоту може бути:

1) атмосферною — під час грозових розрядів за високої температури, підвищеного тиску та сонячної радіації, за рівнянням:

$$N_2 + O_2 \rightarrow 2NO;$$

2) індустріальною — здійснюється у виробництві азотних добрив за температури 400–500 °С, тиску 27–34 МПа, за наявності каталізаторів;
3) біологічною — здійснюють лише прокаріотичні вільноіснуючі та симбіотичні азотфіксатори за рівнянням:

$$N_2 + 8e^- + 8H^+ + 16АТФ = 2NH_3 + H_2 + 16АДФ + 16Ф_н$$ (див. розд. 3).

Внаслідок симбіотичної азотфіксації ґрунт щорічно збагачується Нітрогеном (90–180 кг/га). У симбіоз з азотфіксувальними бактеріями можуть вступати близько 1300 видів бобових і понад 200 видів — небобових. Вільноіснуючі азотфіксатори у середніх широтах у ґрунт площею 1 гектар за такий же період часу зв'язують 25–94 кг азоту, у тропіках — до 600 кг. Біологічна фіксація азоту дуже важлива в оліготрофних водоймах. Першість у цих процесах належить ціанобактеріям роду *Trichodesmium*.

У прісних водоймах азотфіксація може лімітуватись Фосфором. Високий вміст сульфатів у морській воді може призводити до зв'язування Молібдену і, як наслідок, уповільненню процесу азотфіксації в океані.

Анаеробне окиснення амонію (*Anoxic* (*anaerobic*) *ammonium oxidation* – ANAMMOX) — це мікробне перетворення амонію та нітриту на молекулярний азот за анаеробних умов. Процес відбувається за температури 6–43 °С, pH 6,7–8,3. Для інтенсивного анамокс-процесу потрібно, щоб нітрит утворювався з амонію аеробно нітрифікаторами I фази. Тому найкраще функціонує сокультура з аеробних та анаеробних окисників амонію за концентрації кисню близько 0,5 %. Внаслідок анаеробного окиснення амонію у Світовий океан надходить до 50–70 % молекулярного азоту.

Особливості колообігу Нітрогену в прісних водоймах (рис. 8.7). У невеликі прісні водойми основна маса Нітрогену потрапляє із суходолу у вигляді мінеральних солей та органічних речовин (гумітів), де гуміти розкладаються мікроорганізмами з виділенням амонійного Нітрогену. Крім того, амонійний

ОБІОЛОГІЯ. 10 кл. Серійчук М.І., Сківка Л.М., Серійчук Т.М. та ін.

Нітроген утворюється внаслідок азотфіксації фіто- й бактеріопланктоном. Планктон спочатку асимілює амонійний Нітроген у процесі розмноження, а згодом частково мінералізує відмерлі клітини у водній товщі. Частина відмерлих організмів потрапляє у донні відклади. У верхній товщі води за аеробних умов амоній окислюється нітрифікаторами до нітриту й нітрату. Останній денітрифікується і перетворюється на молекулярний азот.

Рис. 8.7. Схема різних потоків Нітрогену в прісних водоймах

Особливості колообігу Нітрогену в Світовому океані. На відміну від невеликих прісних водойм вплив нітрогенвмісних сполук суходолу на води Світового океану незначний. Основні процеси перетворення Нітрогену здійснюються у водній товщі з різним насиченням Оксигеном. У морській воді виявлено анамокс-бактерії, які важливі для утворення молекулярного азоту в цих еконішах.

Мікробіологічне перетворення Нітрогену в океані ілюструє рис. 8.8.

В океані Нітроген представлений як неорганічними сполуками (нітратами, нітритами, амонієм), так і органічними (розчинними і нерозчинними). У шельфовій зоні сполуки Нітрогену потрапляють у Світовий океан із суходолу. Нітрат та амоній асимілюються водяними рослинами і мікроорганізмами. В цій зоні можливі процеси азотфіксації, які здійснюються в ціанобактеріальних матах. Утворена органічна речовина, представлена фіто-, зоо- та мікробіомасою, осаджується на дно (рис. 8.8, I) і може зазнавати подальших перетворень у глибших шарах води.

Поверхневі насичені Оксигеном шари води (0–200 м) представлені зоною фотосинтезу (див. рис. 8.8, III). Синтез нерозчинної органічної речовини в цій зоні пов'язаний із двома потоками Нітрогену: азотфіксацією та асиміляцією його розчинних неорганічних сполук (потоки A і B). Азотфіксація відбувається

БІОЛОГІЯ.ТОМ 1 Серпічук М.Г., Сківа Л.М., Серпічук Т.М. та ін

за участю азотфіксувальних бактерій. Найбільше значення в цьому мають ціанобактерії *Nodularia*, *Trichodesmium* та ті, що утворюють симбіоз із діатомовими водоростями. Процес може пригнічуватись за нестачі Феруму, Фосфору, низької температури довкілля. Органічна речовина, що утворилася, може мінералізуватись (потік Б) з виділенням аміаку або осаджуватись. В цій зоні можлива нітрифікація (потік Д), проте більшість нітрифікаторів пригнічується світлом, і тому основний процес нітрифікації здійснюється в глибших шарах води з лімітованим вмістом Оксигену (рис. 8.8, II).

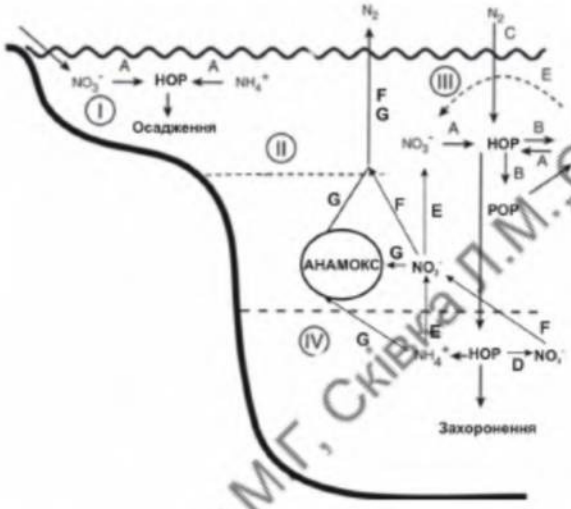


Рис. 8.8. Схема головних потоків Нітрогену в різних зонах Світового океану: I — прибережна аеробна шельфова зона, II — водна товща з лімітованим вмістом кисню, III — поверхневі аеробні шари відкритого океану, IV — глибоководна анаеробна зона; А — асиміляція розчинного неорганічного Нітрогену, Б — амоніфікація, В — азотфіксація, Г — дифузія нітратів з глибин, Д — нітрифікація, Е — денітрифікація, Є — анамокс-процес, HOP, POP відповідно — нерозчинні і розчинні органічні речовини

У глибоководних анаеробних зонах (див. рис. 8.8, IV) органічні нерозчинні нітрогенвмісні сполуки захоронюються та частково перетворюються на амоній і нітрат внаслідок амоніфікації та розкладання відмерлого планктону. Механізм утворення нітрату в анаеробних глибинах Світового океану ще потребує детального вивчення. Процеси денітрифікації: велика кількість нітрату дифундує у водну товщу з дна (потік Г) й відновлюється до газоподібних форм (потік Е) за рахунок нітратного дихання (а саме, денітрифікації).

Основний процес виділення молекулярного азоту (50–70 %) у товщі вод Світового океану відбувається за рахунок анамокс-бактерій за наявності амонію та нітриту (див. рис. 8.8, II, потік Є).

Антропогенний вплив на колообіг Нітрогену. Інтенсивний розвиток промисловості і сільського господарства вносить істотні зміни у традиційний колообіг

БІОЛОГІЯ том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Нітрогену в природі. По-перше, з атмосфери щорічно відбирається $6 \cdot 10^7$ т молекулярного азоту, який використовують для виготовлення мінеральних добрив. Крім того, значно підвищується рівень штучної біологічної фіксації азоту внесенням у ґрунт препаратів на основі азотфіксувальних мікроорганізмів. По-друге, спостерігається значне надходження оксидів Нітрогену в атмосферу з викидами промислових підприємств, транспорту, при спалюванні мінерального палива. По-третє, застосування добрив призводить до масового накопичення нітратів у ґрунтах та їх потрапляння у водні екосистеми. Це спричинює евтрофікацію водойм, надмірне розмноження фітопланктону, замор риби тощо.

8.3. Цикл Сульфуру

Сульфур — біогенний елемент, що входить до складу деяких амінокислот (цистеїну, метіоніну, цистину), вітамінів групи В (тіаміну, біотину), глюкозидів, тіосечовини, алкалоїдів. Він належить до VI групи періодичної системи елементів Д. І. Менделєєва, має змінний ступінь окиснення від –2 до +6, що визначає його рухливість у біосфері. Найважливіші хімічні сполуки Сульфуру наведено нижче.

Сполука (іон)	Формула	Ступінь окиснення сульфуру
Сульфат-іон	SO_4^{2-}	+6
Триоксид Сульфуру (газ)	SO_3	+6
Сульфіт іон	SO_3^{2-}	+4
Двооксид Сульфуру (газ)	SO_2	+4
Тіосульфат	$S_2O_3^{2-}$	+2 (середній)
Тетратіонат	$S_4O_6^{2-}$	+2 (середній)
Елементарна сірка	S	0
Сульфід іон	SH^-, S^{2-}	–2
Гідрогенсульфід (газ)	H_2S	–2
Органічний сульфур	R-SH	–2

Сульфати можуть бути розчинними (Na_2SO_4, $MgSO_4$, $CuSO_4$) та нерозчинними ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$ — гіпс, алебастр; $BaSO_4$ — барит). Діоксид Сульфуру (SO_2) — газувата нестійка сполука, яка при розчиненні у воді утворює сульфітну кислоту, триоксид сульфуру (SO_3) — сульфатну кислоту. Гідрогенсульфід (H_2S) — безбарвний газ із характерним запахом, в анаеробних умовах стійкий, в аеробних — окиснюється до сульфатів. При взаємодії з розчинами металів утворює солі — сульфіди. Сульфіди важких металів — це нерозчинні сполуки темного кольору, серед яких багато цінних руд: PbS — свинцевий блиск; ZnS — цинкова обманка; Cu_2S — мідний

БІОЛОГІЯ. 10 КЛ. 1. Сергійчук М.Г. Сківка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

блиск; FeS_2 — пірит. Елементарна (самородна) сірка трапляється у колоїдному і кристалічному стані, погано розчиняється у воді. Сульфур у відновленому стані може входити до складу органічних речовин у вигляді дисульфідних (–SH) та сульфгідрильних (–S–S–) груп. Основна зміна геохімічної поведінки сульфурвмісних сполук відбувається на межі аеробно-анаеробної зони.

У природі Сульфур поширений нерівномірно, що пов'язано з історією розвитку Землі. Нижче наведено кларки його концентрації:

Геохімічні системи	Кк
Глина та сланці	6
Ґрунти	1
Гумус	6
Біота	1
Гідросфера	1,9
Гіпсоліти	200
Сульфурвмісні руди	2000
Солоні сульфатні води	10–100

У ранньому археї, коли вільного Оксигену в атмосфері ще не було, переважали процеси відновлення хімічних елементів із накопиченням сульфідів і гідрогенсульфіду. У верхньому археї та нижньому протерозої внаслідок фотосинтезу ціанобактерій в атмосфері Землі почав накопичуватись Оксиген. На цьому етапі домінували процеси окиснення й утворювались оксиди сульфуру і сульфати металів. Фанерозой і кайнозой характеризувались накопиченням решток рослин і тварин у замкнених водоймах, формуванням відновних зон. У цей період окиснювальні й відновні процеси йшли паралельно. Геохімічна діяльність мікроорганізмів почалася у верхньому археї і триває досі.

Нині Сульфур перетворюється за участю фізичних, хімічних та біологічних чинників. У надрах Землі домінують фізико-хімічні процеси, на поверхні — хімічні й біологічні. В результаті високотемпературних реакцій у надрах Землі утворюються, переважно, молекулярна сірка, гази (H_2S, SO_2, SO_3) та сульфіди металів:

$$S_2 \text{ (газ)} + 2MeO \text{ (розплав.)} \leftrightarrow 2MeS + O_2$$

$$FeS + H_2O \leftrightarrow FeO + H_2S$$

$$FeS + FeSiO_3 + 3H_2O \leftrightarrow Fe_2SiO_4 + SO_2 + 3H_2$$

$$FeS + FeSiO_3 + H_2O \leftrightarrow Fe_2SiO_4 + H_2S$$

$$SO_2 + 2CO \leftrightarrow 2CO_2 + S$$

$$H_2S + 2H_2O \leftrightarrow SO_2 + 3H_2.$$

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

На поверхні Землі, в атмосфері за нормальних умов сульфурвмісні гази взаємодіють між собою та з іншими газами:

$$2SO_2 + O_2 \leftrightarrow 2SO_3$$
$$SO_2 + 2H_2S \leftrightarrow 3S + 2H_2O$$
$$2H_2S + O_2 \leftrightarrow 2S + 2H_2O.$$

Крім газів, які утворюються внаслідок перебігу хімічних реакцій, в атмосферу потрапляють також біогенні гази: біогенний гідрогенсульфід, диметилсульфід, карбонілсульфід.

За участю газуватих сполук через атмосферу здійснюється масообмін Сульфуру між суходолом і океаном як у прямому, так і зворотному напрямках (рис. 8.9).

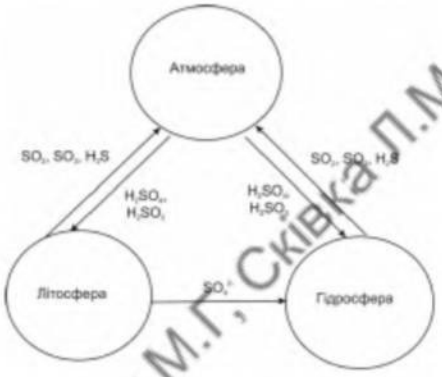


Рис. 8.9. Основні потоки Сульфуру між літосферою, гідросферою та атмосферою

Сульфурвмісні гази мають кислотні властивості, добре розчинні у воді, тому з опадами повертаються з атмосфери на суходіл та у Світовий океан (так звані кислотні дощі). У гідросферу Сульфур надходить також і з літосфери у вигляді розчинних сульфатів, які річковою водою виносяться у Світовий океан, де накопичуються у значних кількостях.

Перетворення сполук Сульфуру включає процеси окиснення, відновлення, а також реакції, в яких ступінь окиснення Сульфуру не змінюється. Сполуки сульфуру окиснюються хімічно (за наявності сильних окисників: H_2O_2, O_3, кисневих радикалів) та біологічно, а відновлюються — тільки біологічно. Основна роль у біологічному перетворенні сполук Сульфуру належить мікроорганізмам (рис. 8.10).

Колообіг Сульфуру, який здійснюється мікроорганізмами, поділяється на етапи:

1. Окиснення відновлених форм Сульфуру з використанням їх:
   а) як джерела електронів хемолітотрофними бактеріями;
   б) як екзогенного донора електронів бактеріями, які здійснюють аноксигенний фотосинтез;

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук І.М. та ін

в) для детоксикації гідроген пероксиду.

2. Відновлення окиснених форм сульфуру шляхом:
   а) асиміляційної сульфатредукції;
   б) дисиміляційної сульфатредукції (сульфатного дихання);
   в) відновлення елементарної сірки в процесі сіркового дихання.
3. Перетворення органічних форм Сульфуру на неорганічні без зміни ступеня його окиснення:
   а) мінералізацією сульфурвмісних органічних речовин;
   б) асиміляцією Сульфуру.

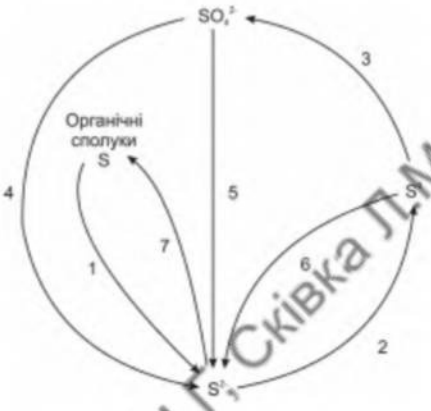


Рис. 8.10. Перетворення Сульфуру в природі різними фізіологічними групами мікроорганізмів: 1 — мінералізація сульфурвмісних органічних речовин; 2, 3 — окиснення сульфіду хемолітотрофами і фотолітотрофами; 4 — асиміляційна сульфатредукція; 5 — дисиміляційна сульфатредукція (сульфатне дихання); 6 — сіркове дихання; 7 — асиміляція (включення сульфіду в біосинтез)

Мінералізація сульфурвмісних органічних сполук. Органічні сполуки, що містять Сульфур (амінокислоти, глюкозиди, тіосечовина, алкалоїди), розкладаються гетеротрофними мікроорганізмами. За аеробних умов у результаті мінералізації утворюються переважно сульфіти, тіосульфати та гідрогенсульфід, за анаеробних — тіоспирти (меркаптани, метилмеркаптани) та диметилсульфіди.

Мікробне окиснення сполук сульфуру. Бактерії здатні окиснювати такі сполуки сульфуру, як сульфіди, гідросульфіди (S^{2-}, HS^-), сульфіти (SO_3^{2-}), тіосульфати ($S_2O_3^{2-}$), тритіонати ($S_3O_6^{2-}$), тетратіонати ($S_4O_6^{2-}$), елементарну сірку (S^0), роданіди (CNS^-), диметилсульфіди (CH_3SCH_3), диметилдисульфіди (CH_3SSCH_3), сульфурвмісні руди. Відновлені сполуки сульфуру окиснюються внаслідок перебігу трьох основних процесів:

1) хемолітоавтотрофного метаболізму термофільних археїв і тіонових бактерій за умов аеробного та нітратного дихання;
2) детоксикації гідроген пероксиду деякими хемоорганогетеротрофними безбарвними сіркобактеріями;

ОБІОЛОГІЯ.ПРОМ.ua Сергійчук І.Т., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

3) фототрофного метаболізму (аноксигенний фотосинтез) пурпурних і зелених бактерій.

Відновлені сполуки Сульфуру як джерело електронів за аеробних умов використовують хемолітотрофні тіонові бактерії родів *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Paracoccus* (колишня назва *Thiosphaera*), *Thiodendron* та ін. Вони досить поширені в довкіллі, бо існують у широкому діапазоні pH (від 0,5 до 9) та температури. Тіонові бактерії живуть у водоймах, корі вивітрювання сульфідних руд, вулканічних сіркових джерелах. Сульфіди окиснюються ними за рівнянням:

$$H_2S + 2CO_2 + 2H_2O \rightarrow 2(CH_2O) + H_2SO_4.$$

Їх кінцевим метаболітом, як правило, є сульфат, проте можуть накопичуватись і недоокиснені продукти. Елементарна сірка у клітинах і середовищі не накопичується. Зазвичай тіонові бактерії дихають киснем, однак *Thiobacillus denitrificans* може окиснювати сполуки Сульфуру до сульфатів і за умов анаеробного дихання, відновлюючи нітрати до молекулярного азоту згідно з рівнянням:

$$5S + 6KNO_3 + 4NaHCO_3 \rightarrow 2Na_2SO_4 + 3K_2SO_4 + 2CO_2 + 3N_2.$$

Використовувати відновлені сполуки Сульфуру, а саме сульфіди, тетратіонати, елементарну сірку, за аеробних умов здатні і термофільні археї *Sulfolobus acidocaldarius, S. solfataricus*. Вони живуть у термальних джерелах та кальдерах за 55–87 °C і pH 1,0–6,0:

$$4H_2S + CO_2 + O_2 \rightarrow CH_2O + 4S + 3H_2O.$$

Тіонові бактерії та термофільні археї *Sulfolobus*, внаслідок окиснення сполук Сульфуру, накопичують у довкіллі сульфатну кислоту, яка спричинює руйнування сульфідних руд, утворення гіпсу ($CaSO_4$), галунів та кислих солончаків (галуни — кристалогідрати подвійних сульфатів загальної формули $Me^1Me^3(SO_4)_3 \cdot 12H_2O$; солончаки — ґрунти, що містять у поверхневому шарі понад 1 % водорозчинних солей).

Безбарвні сіркобактерії (родів *Achromatium*, *Macromonas*, *Thiothrix*, *Thioploca*, *Thiospirillopsis*, *Beggiatoa*) можуть тимчасово накопичувати елементарну сірку в периплазматичному просторі і згодом окиснювати її до сульфату. Вони живуть лише в зонах із невисоким вмістом сульфідів (до 40 мг/л): гіпервологих ґрунтах, верхніх горизонтах морських та озерних мулових відкладів, у водній товщі морів і океанів. Здатність до окиснення сірки, тіосульфатів і сульфідів металів показана також для багатьох інших хемоорганогетеротрофних бактерій та міксоміцетів. Значення цього процесу наразі повністю не з'ясоване. Вважають, що ці мікроорганізми використовують відновлені сполуки Сульфуру для інактивації токсичного гідроген пероксиду, який утворюється при диханні. Через низьку власну каталазну активність, цим організмам необхідна наявність у довкіллі невеликої кількості сульфідів. Отже, відкладання елементарної сірки у периплазмі є результатом взаємодії H_2O_2 та S^{2-}:

$$H_2S + H_2O_2 \rightarrow S + 2H_2O.$$

Біологія. Том 1. Сергійчук М.Г., Співак Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Бактерії, що здійснюють аноксигенний фотосинтез, можуть використовувати відновлені сполуки Сульфуру як екзогенний донор електронів. При цьому сульфурвмісні сполуки через сульфіт та елементарну сірку окиснюють до сульфату. У сіркових пурпурних і зелених бактеріях елементарна сірка може накопичуватися всередині або поза клітиною:

$$2H_2S + CO_2 \rightarrow CH_2O + 2S + H_2O.$$

Сіркові фототрофи живуть у гіполімніоні й мулових відкладах стратифікованих водойм різної солоності, де є гідрогенсульфід (табл. 8.4).

Таблиця 8.4.

Місця існування деяких сіркових фотобактерій

Фізіологічна група	Представник	Місце існування
Пурпурні сіркові бактерії	*Amoebobacterroseus*	Стратифіковані прісноводні озера
	Chromatium okenii	Прісноводні і солоні водойми
	Lambrobacter modestohalophilus	Мул солоних водойм
	Lambrocystis roseapersicia	Гіполімніон стратифікованих прісноводних озер
	Thiocapsa roseopersicina	Забруднені лагуни, соляні озера, морські узбережжя
	Thiocistis volacea	Сульфурвмісні джерела, забруднені солоні лагуни
	Thiodictyon elegans	Прісноводні озера
	Thiope diarosea	Прісноводні озера
	Thiospirillum jenense	Неглибокі водойми із стоячою водою
	Ectothiorhodos piramobilis	Екстремально солоні водойми
Зелені сіркові бактерії	*Chlorobium limicola*	Морські види
	Chlorobium limicola	Гіполімніон стратифікованих прісноводних озер
	Prosthecochloris aestuarii	Солоні водойми з 18 % NaCl

Мікробне відновлення сполук Сульфуру. Відновлювальні процеси циклу Сульфуру відбуваються переважно біологічним шляхом за участю прокаріотичних організмів. Розрізняють асиміляційну та дисиміляційну сульфатредукції.

Асиміляційне відновлення сульфату до сульфіду з метою включення останнього у біосинтез здійснюють різні організми: бактерії, гриби, рослини.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сивак Л.М., Сергійчук Г.М. та ін

Це енерговитратний процес, у результаті якого відновлений Сульфур відразу включається в біосинтез і не накопичується у довкіллі.

Дисиміляційну сульфатредукцію (сульфатне дихання) здійснюють лише облігатно анаеробні бактерії (*Desulfovibrio*, *Desulfobulbus*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfosarcina*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*, *Desulfotomaculum*, *Thermodesulfobacterium*) та деякі археї роду *Archaeglobus*. У цьому процесі сульфат є термінальним акцептором електронів і, відновлюючись до сульфіду, накопичується у довкіллі. Мезофільні сульфатредуктори мешкають у анаеробних зонах прісних і солоних водойм. Їх кількість залежить від наявності сульфат-іонів та доступних органічних сполук (жирних кислот, спиртів), тому особливо вони поширені на узбережжях морів. Ці бактерії відновлюють сульфат до сульфіду, який, взаємодіючи з двовалентним Ферумом, утворює гідротроїліт ($FeS \cdot nH_2O$), що надає мулу чорного забарвлення. За недостатньої кількості Феруму та інтенсивної сульфат редукції гідрогенсульфід накопичується у водній товщі. Іншим місцем існування сульфатредукторів є гіпсоносні породи, що знаходяться біля нафтових родовищ. У результаті відновлення мікроорганізмами Сульфуру гіпсу утворюються елементарна сірка та сульфідні руди. Термофільні сульфатредуктори живуть у морських і наземних гідротермах, що є найдревнішими біоценозами Землі. Геохімічна роль сульфатвідновлювальних бактерій дуже значна, бо завдяки їм інертна сполука сульфат включається в коло обіг Сульфуру.

Сульфіди можуть накопичуватись у довкіллі також унаслідок *сіркового дихання*, яке полягає у використанні бактеріями елементарної сірки (S^0) як термінального акцептора електронів за анаеробного дихання. Здійснювати сіркове дихання здатні облігатно анаеробні бактерії (*Desulfuromonas acetoxidans*, *Desulfurella acetivorans*, *Wolinella succinogenes*, *Desulfovibrio gigas*, *Desulfomicrobium* sp.); деякі аеробні бактерії (*Pseudomonas mendocina*, *Alteromonas putrefaciens*) та термофільні анаеробні археї (*Acidianus infernos*, *Desulfolobus ambivalens*, *Pyrobaculum islandicum*, *Pyrodictium occultum*, *Thermoproteus neutrophilus*).

Деякі бактерії можуть відновлювати елементарну сірку внаслідок неспецифічних реакцій — побічного процесу при бродінні.

Інтенсивний розвиток промисловості призвів до збільшення кількості сполук Сульфуру, що потрапляють у біосферу, порушуючи баланс її природного циклу. Розрізняють декілька потоків антропогенного Сульфуру:

1. Основний техногенний потік цього елемента пов'язаний із надходженням в атмосферу сульфурвмісних газів, в основному SO_2, що виділяються при спалюванні палива, виплавлянні металів, із викидами целюлозно-паперових комбінатів; при взаємодії з парою SO_2 трансформується в SO_3, а потім у H_2SO_4, що призводить до випадання «кислотних дощів» із рівнем pH 5,5–4,0 та збільшення вмісту сульфатів у ґрунті;

2. Розчинні сполуки Сульфуру потрапляють у біосферу в результаті широкого використання добрив у сільському господарстві та з промисловими стічними водами хімічних і нафтопереробних підприємств;

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Серія «Академічний курс». Скіба Т.М., Сергійчук Т.М. та ін.

3. При розробці родовищ сульфідних руд, сульфурвмісного вугілля та самородної сірки під впливом Оксигену активуються процеси мікробного окиснення відновлених сполук сірки до сульфатної кислоти, що спричинює значне зниження pH довкілля, утворюються кислі ґрунти, накопичуються сульфати.

Через діяльність людини кількість антропогенних сульфатів, що надходить до Світового океану, нині різко зросла і дорівнює її природному рівню. Частково «надлишкова маса» сульфатів виводиться з міграційних потоків внаслідок:

- хімічної взаємодії з кальцієм та утворення осаду сульфату кальцію (гіпс);
- мікробного відновлення сульфатредукторами до сульфідів та їх осадженню у вигляді ферум сульфідів.

8.4. Цикл Фосфору

Фосфор — біогенний елемент, що належить до V групи періодичної системи елементів Д. І. Менделєєва і має змінний ступінь окиснення від –3 до +5. Вміст Фосфору в земній корі незначний, його кларк становить лише 0,1 %. Відомо понад 200 мінералів, до складу яких входить Фосфор, проте вони не є породоутворювальними. Найпоширені серед них: апатит — $Ca_5(PO_4)_3(F, Cl, OH)$, фторапатит — $Ca_5F(PO_4)_3$, гідроксил апатит $Ca_5(PO_4)_3OH$, фосфорит $Ca_3(PO_4)_2$, вівіаніт — $Fe_3(PO_4)_2 \cdot 8H_2O$.

Фосфор відіграє виняткову важливу роль у біосфері, оскільки без нього неможливий синтез білків, утворення сполук, багатих на енергію. Він міститься в нуклеїнових кислотах, фітині, лецитині, інозитфосфаті. До складу органічних речовин він входить лише у п'ятивалентному стані й невеликій кількості. Співвідношення мас Карбону і Фосфору в живих організмах становить 100:1, Нітрогену до Фосфору— 10:1. Незважаючи на його незначну кількість у живих клітинах, саме Фосфор до останнього часу лімітував утворення маси живої речовини на Землі. Це пов'язано з тим, що більшість сполук Фосфору нерозчинні, а тому не засвоюються живими організмами.

Колообіг Фосфору має низку особливостей:

1. Газова форма Фосфору (PH_3) в його циклі практично не задіяна.
2. Для колообігу не має значення зміна ступеня його окиснення.
3. Перетворення фосфоровмісних сполук відбувається на рівні їх розчинності (розчинні / нерозчинні) та хімічної будови (органічні / неорганічні).
4. Основний потік Фосфору рухається з літосфери у гідросферу.

Масообмін Фосфору відбувається між суходолом і океаном (рис. 8.11).

На суходолі Фосфор знаходиться в *органічній та неорганічній* формах, тут він перетворюється внаслідок:

1. Вивітрювання первинних мінералів;
2. Переведення нерозчинних форм фосфору в розчинні;
3. Асиміляції розчинних сполук фосфору живими організмами;

БІОЛОГІЯ. ЕКОЛОГІЯ. ЕКОНОМІКА. Сергійчук І.М., Сівка І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

4. Мінералізації органічного фосфору;
5. Осадження та утворення вторинних мінералів.

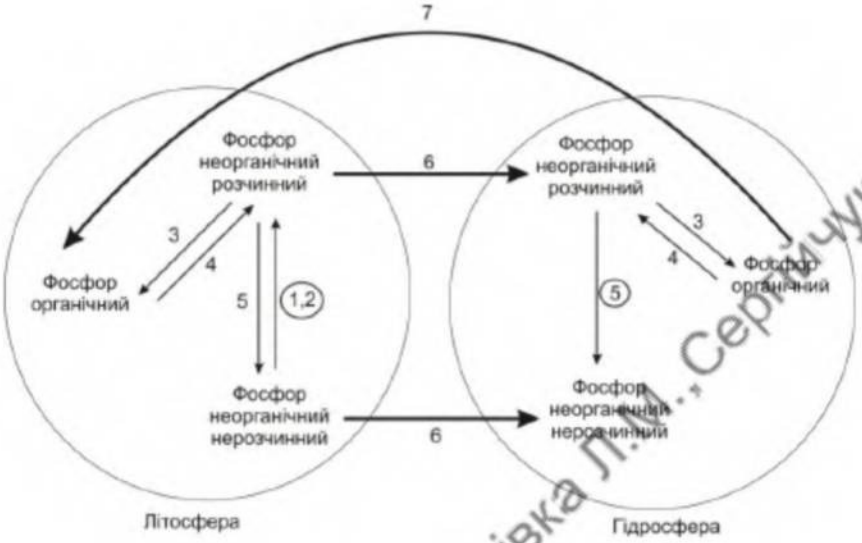


Рис. 8.11. Основні потоки Фосфору в біосфері: 1 — вивітрювання вихідних мінералів; 2 — перехід нерозчинних форм Фосфору в розчинні; 3 — асиміляція розчинних сполук Фосфору живими організмами; 4 — мінералізація органічного Фосфору; 5 — осадження та утворення вторинних мінералів; 6 — потоки Фосфору з літосфери у гідросферу; 7 — потік Фосфору з гідросфери у літосферу (кружечками позначено номери процесів, що домінують)

Вивітрювання первинних мінералів. Основні запаси Фосфору на Землі знаходяться у вигляді мінералів, тому єдиним способом його надходження у глобальний цикл є вивітрювання гірських порід, що забезпечується фізичними, хімічними та біологічними процесами. Руйнування мінералів прискорюють корені рослин, грибні мікоризи та ґрунтові мікроорганізми внаслідок механічного впливу та виділення органічних і мінеральних кислот, які взаємодіють з мінералами:

$$Ca_3(PO_4)_2 + 2HNO_3 = 2CaHPO_4 + Ca(NO_3)_2;$$

$$Ca_3(PO_4)_2 + H_2SO_4 = 2CaHPO_4 + CaSO_4.$$

Виділення мікроорганізмами CO_2 та його розчинення у воді з утворенням H_2CO_3 призводить до реакції:

$$Ca_3(PO_4)_2 + 2H_2CO_3 = 2CaHPO_4 + Ca(HCO_3)_2.$$

Внаслідок цих процесів Фосфор вивільнюється з мінералів у вигляді розчинних сполук, наприклад $CaHPO_4$, і стає доступним для рослин і мікроорганізмів.

ЕКОЛОГІЯ. Том 1. Левчук О.М., Сорочівка Л.І., Серкічук Т.М. та ін

Нерозчинні форми Фосфору переходять у розчинні під впливом метаболітів мікроорганізмів. Наприклад, сульфатредуктори, виділяючи гідрогенсульфід, переводять нерозчинний ферум фосфат у розчинний:

$$2FePO_4 + H_2S = 2FeHPO_4 + S.$$

Асиміляція розчинних сполук Фосфору живими організмами спричинює переведення його в органічну форму. Біомаса тварин і рослин врешті-решт слугує субстратом для мікроорганізмів, що мінералізують її.

Мінералізація органічного Фосфору відбувається виключно мікроорганізмами за участю ферменту фосфатази, який каталізує відщеплення фосфатної групи від органічної молекули. Фосфатазу містять різні мікроорганізми: бактерії, актиноміцети, мікроскопічні гриби, дріжджі. Найпростіше відщеплюється Фосфор нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, складніше — лецитину, найважче — фітину. При взаємодії фосфат-іонів з Na, K, NH_3 утворюються розчинні солі, а з Ca, Mg, Fe, Al — нерозчинні.

Осадження та утворення вторинних мінералів. Частина фосфат-іонів, що виділились внаслідок мінералізації фосфоровмісних органічних сполук, зв'язується з катіонами ґрунту з утворенням вторинних мінералів. Їх формування залежить від рівня pH ґрунту. Так, у нейтральних і лужних ґрунтах утворюються переважно Кальцію фосфати — апатити і фторапатити, у кислих — Феруму та Алюмінію фосфати.

У вигляді розчинних і нерозчинних *неорганічних* сполук Фосфор вимивається з ґрунтів і надходить у Світовий океан (див. рис. 8.11, 6). Це основний потік Фосфору в природі. В океані цей елемент частково асимілюється, включається у харчові ланцюги, переходить в органічну форму і накопичується у морський біоті, але більша його частина осідає на дно у вигляді нерозчинних сполук. Повертається Фосфор із водних екоціш на суходіл (див. рис. 8.11, 7) переважно за участю морських птахів, які поїдають рибу і вносять Фосфор у ґрунти у вигляді екскрементів (гуано). Кількість цього біогенного елемента, що повертається на суходіл, значно менша, ніж та, що надходить до гідросфери.

Наявність у природі незначної кількості розчинних фосфатів, які можуть асимілюватися живими організмами, лімітувала розмноження останніх. Діяльність людини порушила співвідношення Карбону, Нітрогену й доступного Фосфору, що призвело до екологічно негативних наслідків. Внесення на поля великої кількості фосфорних добрив і вимивання їх у водойми спричинюють зростання концентрації розчинного Фосфору. Внаслідок цього масово розмножується водяна рослинність, спостерігаються явища замору риби та евтрофікації водойм.

БІОЛОГІЯ. ГОМ І. Сергійчук І.Г., Сивак Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

Питання для самоконтролю

1. Назвіть основні резервуари карбону на Землі.
2. Поясніть важливість автотрофного циклу Карбону.
3. Які особливості має колообіг Карбону в оліготрофних і евтрофних водоймах?
4. Назвіть основні етапи глобального циклу Нітрогену.
5. Назвіть основні роди амоніфікаторів.
6. Які вільно існуючі бактерії здатні до фіксації молекулярного Нітрогену?
7. За рахунок яких перетворень Нітроген повертається у атмосферу?
8. Які біогеохімічні процеси обумовлюють структуру колообігу Сульфуру?
9. Як впливає на колообіг Сульфуру діяльність людини?
10. Які особливості має колообіг Фосфору?
11. В чому полягає роль мікроорганізмів у переведенні нерозчинних сполук Фосфору у розчинні?

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г, Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 9.
ВИКОРИСТАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ЛЮДИНОЮ

Традиційні мікробіологічні виробництва та сучасні технології є невід'ємною складовою *біотехнології*. Практичне використання мікроорганізмів має тисячолітню історію. Найдревнішими виробництвами, які грунтуються на процесах їх життєдіяльності, є пекарство, виноробство, пивоваріння, приготування оцту та молочних продуктів. У сучасній харчовій промисловості, медицині, технологіях мікробного синтезу, в сільському господарстві, у біогеотехнологіях та біоремедіації довкілля знайшли застосування як прокаріотичні організми (бактерії, актиноміцети), так і еукаріотичні (міцеліальні гриби, дріжджі).

Мікробіологічні виробництва складаються з певних етапів:

1. Отримання та збереження мікроорганізмів, продуцентів певних речовин.
2. Розробка оптимальних поживних середовищ для культивування мікроорганізмів.
3. Підбір режимів культивування.
4. Проведення культивування.
5. Отримання готового продукту.

Перший етап — найголовніший. За допомогою селекції і генетичної інженерії створюються та впроваджуються у виробництво високоактивні штами мікроорганізмів. Промислові штами повинні відповідати наступним вимогам:

- швидко синтезувати чи перетворювати певні речовини;
- швидко розмножуються;
- мати стабільний метаболізм в умовах виробництва;
- рости на дешевих субстратах;
- бути стійкими до фагів;
- бути безпечними для людей і довкілля.

Створення технологій, з використанням мікроорганізмів є економічно вигідним, екологічно безпечним та надзвичайно перспективним.

9.1. Мікроорганізми в технологіях виготовлення харчових продуктів

В харчовій промисловості мікроорганізми використовують у наступних галузях:

- пивоварінні;
- пекарстві;
- виноробстві;
- отриманні етанолу;
- одержанні кисломолочних продуктів та сичужних сирів;
- ферментації м'ясних та рибних продуктів.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Здавна людство споживає продукти, які отримані шляхом мікробного бродіння — спиртового, молочнокислого, пропіоновокислого, тощо.

Напої, які нагадують сучасне пиво, почали виробляти майже 7000 років до н.е. у Вавілоні, потім у Єгипті, Персії, Греції. В пірамідах Єгипту знайдені малюнки, які відтворюють процеси приготування вина. Для отримання тіста використовували залишки пивного сусла.

Використання процесу спиртового бродіння. Процес спиртового бродіння є основою виробництва спирту, пива, вина. Для виготовлення цих продуктів використовують дріжджі роду *Saccharomyces.* Крім дріжджів, спирт утворюють ряд мікроорганізмів: бактерії — *Zimomonas mobilis, Z. anaerobica, Sarcina ventricula, Ervinia amilovora* та гриби — *Aspergillus oryzae.*

Утворення етанолу відбувається згідно з реакцією:

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5OH + 2CO_2.$$

Джерелом Карбону для дріжджів можуть бути цукри, альдегіди, гліцерин, спирт та вуглеводні. Полісахариди дріжджі використовують лише після попереднього гідролізу. Оптимальна концентрація цукрів для клітин дріжджів — 10–18 %. Найкращим джерелом Нітрогену є мінеральні форми. Дріжджам необхідні також сполуки Фосфору, солі Калію та Натрію. При відсутності останнього дріжджі не ростуть. Оптимальна температура росту 25–30 °С. Зі зниженням температури розмноження уповільнюється, проте фізіологічний стан не змінюється. В аеробних умовах відбувається інтенсивний приріст біомаси, в анаеробних — процес бродіння і біомаса практично не збільшується.

Штами дріжджів, які добре зарекомендували себе і використовуються як найкращі в певних умовах виробництва, прийнято називати *расами.*

Раси дріжджів поділяють на верхові та низові. *Верхові дріжджі* в процесі бродіння спливають і містяться у верхній частині культуральної рідини. Вони більш інтенсивно і повно зброджують субстрат. Оптимальна температура для їх розвитку 20 °С. *Низові раси* дріжджів зброджують цукри менш інтенсивно і під час бродіння знаходяться в придонному шарі рідини. Оптимальна температура росту становить 12–15 °С.

Отримання етилового спирту. Різний характер сировини, що використовується в спиртовій промисловості, визначає особливості її переробки, а також вимоги до дріжджів, які застосовуються. Найчастіше використовують таку сировину:

- матеріали, які містять крохмаль — зерно (жито, пшеницю, кукурудзу, ячмінь, овес, просо), картоплю;
- сировину, що містить цукри — меласу (відходи цукрового виробництва;
- деревину — гідролізати рослинної сировини, сульфітні луги.

З сировини, що містить крохмаль, найчастіше використовують зерно, оскільки воно містить до 52 % крохмалю та 3 % простих цукрів. Використання такої сировини потребує проведення процесу ферментативного гідролізу крохмалю.

БІОЛОГІЯ: ТОМ І / Сергійчук І.Г., Сивак І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Для цього у виробництві спирту використовують амілазу, отриману з міцеліальних грибів. Для екстракції крохмалю з клітин і переведення його в розчинний стан проводять процеси подрібнення та водно-теплову обробку сировини (рис. 9.1).

В кінці процесу бродіння концентрація спирту в бражці сягає 6–8,5 %. Далі проводять процес відгону (дистиляції) спирту та його ректифікацію Дистиляцію здійснюють з метою відділення та концентрування етанолу до 30–96 % від рідини та твердих частинок. За ректифікації зі спирту видаляють леткі сполуки, наприклад сивушні масла.

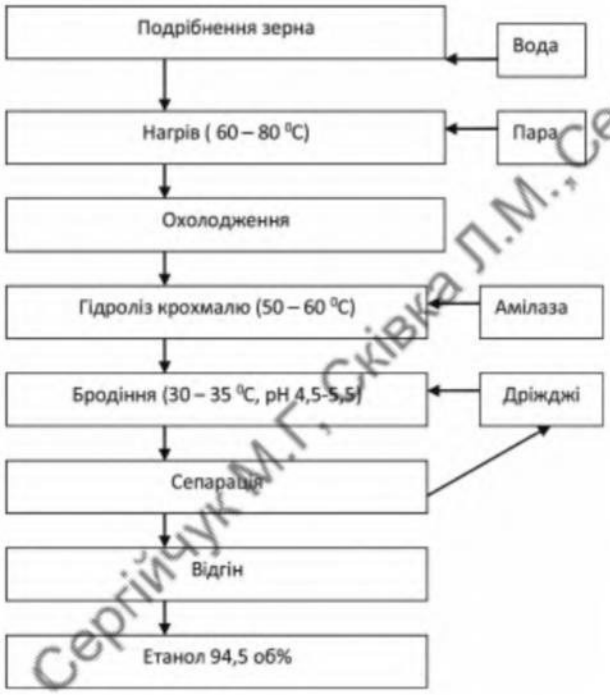


Рис. 9.1. Технологічна схема отримання етанолу на зерновій сировині

Як субстрат активно використовують мелясу — побічний продукт цукрового виробництва. Меляса містить біля 80 % сухої речовини і 20 % води. Сухі речовини — цукри, органічні речовини та мінеральні речовини. Підготовка меляси до зброджування полягає в збагаченні її поживними речовинами та розведенні водою.

Деревина хвойних та листяних дерев містить від 40 до 75 % полісахаридів (геміцелюлози і пектинові речовини). Для отримання доступних для дріжджів гексоз (глюкози, манози, галактози), пентоз (ксилози, арабінози, рамнози) здійснюють процес кислотного гідролізу деревини. Гідролізати нейтралізують, збагачують Нітрогеном та Фосфором, додають дріжджі і проводять ферментацію. Після завершення бродіння бражка містить 1–1,5 % етанолу і побічні продукти

БІОЛОГІЯ ТЕМ І Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

бродіння (0,05–0,1 % метанолу, складні ефіри, альдегіди). Цих речовин не можна позбутися при дистиляції та ректифікації.

Дешевою сировиною є відходи целюлозного виробництва — сульфітні луги. Вони містять 3,0–3,5 % продуктів гідролізу геміцелюлози — манозу, ксилозу, галактозу, глюкозу, арабінозу та інші речовини. Кислий гарячий сульфітний луг інтенсивно продувають повітрям, нейтралізують розчином вапна або аміаку до pH 4,8–5,0. В підготовлену таким чином сировину додають фосфор та вітаміни. У кінці бродіння накопичується 0,5–1,0 % етанолу і багато інших речовин: альдегідів, ефірів, вищих спиртів, метанол від 2 до 8 %, фурфурол, оксид сульфуру, гідроген сульфід. Сульфітний спирт є найдешевшим, у 3 рази дешевше харчового.

На сировині, що містить крохмаль, мелясі, гідролізатах деревини, сульфітних лугах використовують переважно пиловидні раси *Saccharomyces cerevisiae*.

Дріжджі *Kluyveromyces fragilis* використовують при отриманні етанолу на молочній сироватці. Вона містить біля 4,5 % лактози, 0,7–0,8 % білкових речовин і 0,5–0,6 % мінеральних компонентів. Молочну сироватку звільняють від білків шляхом ультрафільтрації чи теплової денатурації (95 °C) у комплексі з кислотно-лужною коагуляцією.

Інулін — поліфруктозид теж може бути сировиною для отримання спирту. Він міститься в плодах земляної груші (топінамбур). Готують водні екстракти клубнів або листів цієї рослини. Використовують різні раси дріжджів *Kluyveromyces fragilis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Пивоваріння. Пиво — слабоалкогольний напій, який одержують із зернових культур спиртовим зброджуванням охмеленого сусла пивними дріжджами. Додавання хмелю при виготовленні напою винайдено слов'янськими племенами. В Україні першу пивоварню було збудовано сім'єю Белзецьких у Львові у 1715 році. З часом її було перейменовано на завод «Колос». У 1892 року у Львові нараховувалось 5 великих пивзаводів.

Як сировина у виробництві пива використовується переважно зерно ячменю. Технологія виробництва пива представлена на рис. 9.2.

Перший етап — отримання солоду. *Солод* — це пророщене і висушене зерно, яке має характерний запах і смак. Під час пророщення активізуються амілолітичні та протеолітичні ферменти, які містяться в ендоспермі зерна. Амілаза гідролізує крохмаль, протеїназа розщеплює білки. В результаті утворюються прості цукри та розчинні азотисті сполуки, які необхідні для розвитку дріжджів.

Наступним етапом є отримання охмеленого сусла. *Сусло* — водний екстракт солоду. Процес виготовлення сусла включає ряд етапів:

- підготовка зерна — сортування, подрібнення;
- переведення екстрактивних речовин зерна (крохмаль, білки) у розчин. Подрібнений солод змішують з водою і витримують при 70 °C;
- відокремлення дробини (нерозчинної частини) від сусла;
- охмелення сусла — кип'ятіння сусла з хмелем або хмелевими препаратами;
- охолодження і освітлення сусла (відстоюють 9–12 годин).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сегінчук М.Г., Сквіра Ю.І., Сегінчук Т.М. та ін.

Рис. 9.2. Основні етапи пивоваріння

Хміль містить дубильні речовини, поліфеноли, ефірну олію, 20 гірких сполук, які більше ніде не зустрічаються, бактерицидну речовину — лопулін. Під час охмелення сусла проходять такі процеси:

- гіркі і ароматичні речовини хмелю переходять в сусло;
- ферменти інактивуються;
- білки коагулюють, утворюючи комплексні сполуки з дубильними речовинами хмелю.

Сусло містить: 60–70 % мальтози, 2–10 % сахарози, 13–20 % мальтотріози, 15–20 % декстринів, 3–6 % білкових речовин, 1,5–2 % зольних елементів.

До сусла додають дріжджі роду *Saccharomyces*, наприклад *S. cerevisiae*, *S. uvarum*, *S. carlsbergensis*. В пивоварінні використовують як верхові, так і низові раси дріжджів. *Верхові дріжджі* використовують для виготовлення міцних темних та світлих сортів пива з високою щільністю сусла. Головне бродіння проводять при температурі 15–20 °С. *Низові раси* використовують для отримання світлих легких сортів пива з низьким вмістом алкоголю. Ферментацію здійснюють при 5–15 °С.

Процес бродіння проводять періодичним або безперервним способом. Під час бродіння цукри перетворюються дріжджами у спирт і вуглекислий газ, накопичуються продукти, які визначають смакові якості пива. Концентрація спирту на кінець бродіння складає від 4 до 8 об.% в залежності від сорту пива. Після закінчення бродіння дріжджі осідають на дно. Їх відокремлюють від молодого пива, промивають і можуть використовувати знову.

Процес доброджування пива проводять при 0–2 °С у великих ємностях —«танках». Під час доброджування відбуваються процеси:

- пригнічення життєдіяльності та автоліз клітин дріжджів, які залишились;
- вихід з клітин амінокислот, пептидів, вітамінів, фосфатів, ферментів (кількість амінокислот може збільшитись у 150 разів);

БІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

- осідання залишкових дріжджів і завислих часточок;
- насичення напою вуглекислим газом. (Вуглекислий газ зв'язується з аміногрупами та спиртами. Хімічно зв'язаний вуглекислий газ виділяється повільно і напої тривалий час перебувають у стані насичення CO_2).

Фільтрацію здійснюють крізь товстий шар кізельгуру, а потім через систему мембранних фільтрів. Кізельгур (діатоміт) складається із залишків одноклітинних діатомових водоростей, вкритих кремнієвою оболонкою.

Дріжджі створюють певний смак та аромат пива. До складу напою входять близько 400 речовин, серед яких:

a) дикетони: диацетил — має сильний запах, який зумовлює зрілість та якість пива, надає пиву «масляний» смак; 2–3 пентадіон — зумовлює «медовий присмак» пива;
b) 12 альдегідів: оцтовий, пропіоновий, ізомасляний; всі вони утворюються в значній кількості під час головного бродіння і зменшуються під час доброджування;
c) 45 ефірів, серед них переважають етилацетат, ізоамілацетат;
d) органічні кислоти: оцтова, піровиноградна, молочна, яблучна, лимонна;
e) 48 вищих спиртів, кількість яких зростає в процесі доброджування пива;
f) основний ізоаміловий;
g) леткі сірковмісні сполуки: гідроген сульфід, оксид сульфуру, меркаптани.

При дозріванні пива кількість цих речовин знижується.

Виноробство. В основі виробництва вина лежить зброджування розчинних цукрів (глюкози і фруктози) виноградного або плодово-ягідного соків дріжджами з утворенням етилового спирту і вуглекислого газу. Існують декілька класифікацій вин за різними параметрами. Якщо вина отримані з одного сорту винограду, їх називають *сортовими*, якщо із суміші сортів — *купажними*. Залежно від терміну витримки, вина, розрізняють за категоріями:

- *ординарні* — випускають без витримки;
- *марочні* — витримані не менше 1,5 років;
- *колекційні* — витримані тривалий час у пляшках, високої якості.

Вина класифікують також за вмістом вуглекислого газу, кількістю спирту та цукру, які вони містять (табл. 9.1).

Вина, в яких цукор винограду зброджується повністю (насухо), називають *сухими*. Для того, щоб залишити певну кількість цукру у вині, бродіння зупиняють, додаючи бісульфіт натрію або спирт.

Сік, отриманий з виноградних ягід, називають виноградним *суслом*. Білі вина виготовляють з чистого соку білих та червоних сортів винограду. Шкірки і насіння, відокремлені від м'якоті, називають *мезгою*.

Виноградне сусло містить:

- цукри, загальний вміст яких складає від 10 до 25 %; головні з них глюкоза і фруктоза (майже в однакових кількостях); вміст сахарози незначний

БІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук І.Г., Сківка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

і залежить від сорту винограду (0,05–0,4 %); незначний вміст пентоз, які входять до складу полісахаридів, слизу, глікозидів:

- нітрогенвмісні речовини представлені амінокислотами, поліпептидами і білками;
- з органічних кислот переважають винна, яблучна, лимонна (кислотність 3–10 г/л);
- головні мінеральні компоненти — K^+, Ca^{2+}, фосфорна кислота.

Таблиця 9.1.

Класифікація деяких виноградних вин

Тип вина	Різновидність вина	Вміст спирту, об.%	Вміст цукру,%
Тихі вина			
Столові (природне бродіння)	сухі	9–14	до 0,3
	напівсолодкі	9–14	3–8
Кріплені (додають спирт)	міцні	17–20	1–14
	десертні напівсолодкі	14–16	5–12
	десертні солодкі	15–17	14–20
	десертні лікерні	12–17	21–35
	десертні ароматизовані (містять рослинні екстракти)	16–18	6–16
Вина, що містять CO_2			
Ігристі (шампанські)	Ігристе брют	10,5–12,5	до 0,3
	Ігристе сухе	10,5–12,5	до 1,3
	Ігристе напівсухе	10,5–12,5	до 5,0
	Ігристе солодке	10,5–12,5	до 10,0

Шкірка винограду багата на целюлозу, пектинові речовини, білки, органічні кислоти. Багато в ній фенольних сполук — пігментів (флавонолів і антоціанідів), які зумовлюють її забарвлення. Містяться також флавоноїдні компоненти (катехіни, лейкоантоціани). В червоних сортах винограду їх удвічі більше, ніж у білих. Ароматичні речовини шкірки представлені похідними терпенів, саме вони зумовлюють аромат різних сортів.

У виноробстві використовують дикі раси дріжджів, які знаходяться на ягодах винограду, або спеціально селекціоновані промислові раси винних дріжджів. Винні дріжджі мають забезпечити повне зброджування вуглеводів, бути стійкими до інфекції, високої кислотності, а також витримувати досить високі концентрації спирту (до 18 %). На поверхні винограду мешкає велика

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

кількість різних мікроорганізмів. Умови, які створюються в процесі бродіння, пригнічують розвиток більшості з цих мікроорганізмів за винятком деяких видів дріжджів. Для ефективнішого пригнічення сторонньої мікрофлори у виробничих умовах перед внесенням промислових рас дріжджів виноматеріали обробляють оксидом сульфуру.

Технологія виробництва вина складається з таких етапів:

1. Розчавлення виноградних ягід.
2. Відокремлення соку від шкірки та насіння (для білих вин).
3. Додавання до виноградного сусла дріжджів *Saccharomyce vini*, *S. bayanus*, *S. oviformis*, або використання диких, що знаходяться на ягодах.
4. Бродіння виноградного соку з мезгою (червоні вина) або без неї (білі вина).
5. Настоювання з мезгою для червоних вин.
6. Відокремлення вина від дріжджового осаду.
7. Друге зброджування вина молочнокислими бактеріями (яблучно-молочне бродіння) для зниження кислотності з 5–6,5 до 3–3,8 г/л. Може відбуватись спонтанно, або після внесення спеціальних бактерій *Leuconostoc gracile* та *Lactobacillus hulgardii*.
8. Фільтрування вина.
9. Витримка та дозрівання вина.

Раси дріжджів мають різну здатність до утворення вторинних продуктів, але всі вони накопичують леткі кислоти (оцтову, пропіонову, масляну, валеріанову), гліцерин, диацетил, ацетоін, 2,3-бутиленгліколь. З'являються також ліпіди, вищі спирти, сульфгідрильні сполуки. При автолізі клітин відбувається збагачення вина ферментами і вітамінами. Смак та склад вина залежить від раси дріжджів, тривалості та режимів процесу бродіння та способу настоювання з мезгою.

Стадії дозрівання і старіння вина включають час *резервуарної* (діжкової) і *пляшкової витримки*. При дозріванні вино стає стабільним, стійким при розливі, отримує аромат і смак. Тривала витримка може призвести до покращення смакових якостей (херес), або, навпаки до поступового відмирання вина.

Виробництво ігристих вин. Ігристі вина — продукт вторинного бродіння вина в герметично закритих ємностях, при якому відбувається насичення його вуглекислим газом. Існують чотири методи виготовлення ігристих вин: традиційний, резервуарний, метод трансфера та інжекції. У перших трьох методах вуглекислий газ утворюється дріжджами під час повторного бродіння. В останньому — зовнішнє джерело CO_2.

Традиційний метод виготовлення ігристих вин. Технологія отримання вина, насиченого вуглекислим газом, зародилась у Франції в XVII ст. Проте роль дріжджів у цьому процесі була розкрита лише у другій половині XIX ст. У 1662 році у північній провінції Франції — Шампань було вироблено багато вина, яке виявилось кислим і не знайшло покупців. Монах-винороб П'єр Періньон в пляшки з вином додав цукор та ягоди винограду (як джерело дріжджів), герметично закрив їх та поклав у підвал. Через декілька років, відкривши одну

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

з пляшок, монах був здивований дивовижним смаком вина, насиченого вуглекислим газом. П'єр Періньон вперше провів другу ферментацію у пляшках, проте дріжджовий осад не зміг видалити. Лише у XIX ст. вдова Кліко запропонувала простий і ефективний спосіб вилучення осаду дріжджів, яким користуються дотепер. Вино, вироблене у Франції в провінції Шампань, називають шампанським. Традиційно для виробництва шампанського використовують білі вина.

Технологія отримання шампанського включає такі етапи:

1. Змішування різних сортів вин з районів Шампані.
2. Додавання у вино цукрового сиропу або лікеру до кінцевої концентрації цукру 2,2 %.
3. Внесення дріжджів та розливання у міцні пляшки. Пробки закручують проволокою (мюзле).
4. Зброджування цукру проходить повільно, триває від 9 місяців до 3 років у темних підвалах при температурі 12–14 °С. Вуглекислий газ, який утворюється при бродінні, призводить до збільшення тиску у пляшці до 6 атмосфер. Періодично здійснюють перевертання та струшування пляшок для запобігання прикріплення мікроорганізмів до скла.
5. Збирання дріжджового осаду на корку пляшки. Для цього пляшки кладуть під невеликим нахилом, вниз корком, на який поступово осідають дріжджі. Пляшки повільно і періодично повертають протягом 2 місяців.
6. Заморожування горла пляшки та видалення корку разом з осадом. При цьому падає тиск і втрачається частина вина. Тому додають вихідне вино, лікер (при необхідності), закривають новим корком. Відправляють пляшки у підвал на відпочинок.

В Україні існують заводи, які виробляють ігристі вина за класичною французькою технологією: «Новий світ» (нагороджений 50 золотими медалями) та «Артемівський завод шампанських вин» (має 10 золотих та 15 срібних медалей).

Резервуарний метод виготовлення ігристих вин може здійснюватись періодично або безперервно. За періодичного способу другу ферментацію проводять у великих закритих сталевих ємностях. В резервуари вносять вино, лікер та дріжджі. Після закінчення процесу бродіння резервуар охолоджують, вино фільтрують під тиском, і розливають у пляшки. Процес триває місяць. За безперервного способу процес другого бродіння здійснюють в послідовно з'єднаних герметично закритих резервуарах (7 шт.), які мають охолоджуючі кожухи. Резервуари заповнюють буковими ошурками чи поліетиленом та іммобілізують на них дріжджі. Поступово заповнюють всі ємності, які мають іммобілізовані клітини, вином. Відбувається процес бродіння. На виході ігристе вино охолоджують і фільтрують, при необхідності додають лікер.

Метод трансфера при виготовлення ігристих вин полягає в тому, що другу ферментацію проводять у пляшці. Після завершення бродіння пляшки з ігристим вином охолоджують, вміст виливають у великий резервуар, фільтрують під тиском і розливають у інші пляшки.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін.

За *методом інжекції при виготовлення ігристих вин* в охолоджене вино вводять під тиском вуглекислий газ.

Органолептичні якості ігристих вин визначаються хімічним складом вина, біохімічними властивостями дріжджів, технологічним режимом та витримкою. Зазвичай ігристі вина містять: фенольні сполуки (брют— 300 мг/л, солодке — 450 мг/л); ізопентанол до 33–40 мг/л; ацетальдегід до 90–100 мг/л; вищі спирти (н-бутанол, в-фенфлетанол); складні ефіри (етілкапронат, етілкапрілат, етилсукцинат); терпеноїди.

В умовах виробництва ігристих вин життєдіяльність дріжджів проходить на межі їх фізіологічних можливостей. Наприкінці процесу кількість мертвих клітин сягає 40–50 %. Використовують дріжджі *S. vini*, *S. oviformis*.

Пекарство. Виробництво хліба — складний процес мікробіологічних і біохімічних перетворень, що відбуваються у тісті з моменту змішування борошна з водою, мікроорганізмами і закінчуючи випічкою. В пекарстві використовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae.* До складу борошна входять:

- крохмаль, який гідролізується амілолітичними ферментами борошна до вуглеводів, переважно мальтози. Це є основний субстрат бродіння;
- 0,7–1,8 % цукрів складають глюкоза, фруктоза, мальтоза, сахароза, рафіноза, які грають суттєву роль на початкових етапах бродіння;
- нітрогеновмісьні речовини — переважно різні групи білків (альбуміни, глобуліни, глютеніни, проламіни), в борошні сильних сортів не менше 14 % білку; є також вільні амінокислоти та аміни;
- жири та жироподібні речовини — до 2 %;
- мінеральні речовини до 2 % і вітаміни.

Головна функція дріжджів при випіканні хліба — зброджування цукрів з утворенням спирту та вуглекислого газу, який необхідний для підйому тіста. Дріжджі також змінюють структуру тіста внаслідок розщеплення дисульфідних зв'язків амінокислот. При випіканні хліба спирт та частина води випаровується, цукри карамелізуються, дріжджі гинуть. Мікробіологічні процеси і пов'язані з цим біохімічні перетворення визначають пористість, колір, міцність розрізу, надають хлібу смак, аромат (211 ароматичних сполук), підвищують харчову цінність.

Крім дріжджів, у пекарстві використовують також суміш дріжджів і молочнокислих бактерій. За таких умов у тісті, крім спиртового бродіння, відбувається молочнокисле, pH при цьому знижується до 4,7–4,8. Такі закваски використовують для виробництва житнього хліба.

Виробництво хлібного квасу. Хлібний квас — продукт незакінченого спиртового і молочнокислого бродіння. Сировиною для отримання квасу є житній і ячмінний солод, житнє борошно, вода, цукор. Технологія виробництва включає ряд етапів:

1. Змішування житнього борошна і житнього солоду з водою.
2. Отримання сусла, його фільтрація, згущення, витримка при 105–115 °С для карамелізації цукрів, та надання напою кольору та аромату.

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.І., Скіканатій, Сергійчук Т.М. та ін

3. Внесення цукрового сиропу та закваски молочнокислих бактерій та дріжджів *S. cerevisiae*. В процесі спиртового та молочнокислого бродіння накопичується: 0,3–0,5 % спирту, молочна кислота, оцтова кислота, вуглекислий газ, леткі ароматичні речовини — етилацетат, диацетил.
4. Відокремлення від осаду, додавання цукрового сиропу, розлив. В готовому квасі міститься спирту 1,2 об%.

Використання процесу молочнокислого бродіння. Чисті культури молочнокислих бактерій та їх асоціації застосовують для виготовлення кисломолочних продуктів, сирів, а також у виробництві сиров'ялених м'ясних та рибних виробів.

Молочнокислі бактерії, що здійснюють процес молочнокислого бродіння, розповсюджені у філосфері (на листях, квітках, стеблах, плодах овочів та фруктів), шлунково-кишковому тракті ссавців.

До групи молочнокислих бактерій віднесені різні за морфологією мікроорганізми, які мають такі спільні властивості: накопичують у середовищі молочну кислоту; позитивно фарбуються за Грамом; не мають спор; нерухомі; вимогливі до джерел Нітрогену; не утворюють каталазу; мають бродильний тип метаболізму; аеротолерантні.

Молочнокислим бактеріям притаманний антагонізм до інших мікроорганізмів. Він зумовлений продукцією молочної кислоти, а також утворенням ряду антибіотичних речовин. Так, *Lactococcus lactis* синтезує нізін, *Lactococcus cremoris* — диплококцин, *Lactobacillus acidophilus* — ацидофілін і лактоцин, *Lactobacillus plantarum* — лактолін, *Lactobacillus brevis* — бревін. Досліджено, що нізін бактеріостатично діє на пропіоновокислі бактерії, стафілококи, але не пригнічує ріст грамнегативних бактерій, мікроміцетів, грибів.

І. І. Мечніков вперше застосував антагоністичні властивості молочнокислих бактерій у боротьбі з гнилосною мікрофлорою. Молочнокислі бактерії розділяють на гомоферментативні (утворюють молочну кислоту) та гетероферментативні (крім молочної кислоти утворюють оцтову кислоту, спирт, CO_2).

Молочнокислі бактерії належать до родів: *Streptococcus* (*Lactococcus*), *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*.

Отримання кисломолочних продуктів. Кисломолочні продукти — це продукти, які виготовлені сквашуванням пастеризованого молока або вершків чистими культурами молочнокислих бактерій з додаванням при необхідності дріжджів чи оцтовокислих бактерій.

Субстратом для розвитку кисломолочних бактерій є молоко, яке містить:

- воду;
- вуглеводи: лактозу, глюкозу;
- білки: казеїн, лактоальбумін, лактоглобулін;
- ліпіди: холестерин, ергостерин, лецетин, кефалін;
- пігменти: каротиноїди, ксантофіли, лактохром;
- небілкові азотисті речовини: креатин, аміак, амінний азот, сечова кислота, холін;

БІОЛОГІЯ том 1 Сергійчук М.І., Скібка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

- неорганічні речовини: K, Ca, Na_3PO_4, MgCl, $MnSO_4$, цитрат заліза, I, Cu, Zn;
- вітаміни: A, B, C, D, E, G;
- ферменти: ліпазу, амілазу, лактазу, пероксидазу, редуктазу, фосфатазу, олеїназу, протеазу, альдегідразу;
- клітинні елементи;
- розчинні гази: O_2, N_2, CO_2.

Білок молока — казеїн — $NH_2R(COOH)_8$ — амфотерна сполука, проте для нього характерні кислотні властивості через наявність 144 кислотних (COOH) і лише 83 аміногруп (NH_2). В ізоелектричній точці (при pH 4,5–4,7) у вигляді осаду виділяється чистий казеїн. Під дією кислот і ферментів у присутності солей кальцію казеїн денатурує. Казеїн складається з двох компонентів: кальцієвої солі казеїну (казеїнату кальцію) та фосфату кальцію. Вони утворюють казеїн-кальцій фосфатний комплекс (ККФК). При дії молочної кислоти на білок молока від ККФК відщеплюється фосфат кальцію і органічний кальцій, при цьому чистий казеїн випадає в осад у вигляді згустку. Молочна кислота також впливає на сольовий склад молока. Як сильна кислота вона витісняє фосфорну і лимонну кислоту, руйнуючи буферні системи молока. Фосфати і цитрати кальцію переходять у більш розчинні лактати кальцію:

$$CaHPO_4 + 2C_3H_6O_3 = (C_3H_5O_3)\,Ca + H_3PO_4,$$

$$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 + 6C_3H_6O_3 = 3\,(C_3H_5O_3)\,Ca + 2C_5H_8O_7.$$

Вуглеводи молока — молочний цукор — лактоза (дисахарид). Вміст його в молоці 4,7–4,8 %.

Вміст мінеральних речовин молока (до 80 елементів) складає близько 1 %. Кальцій 22–26 % зв'язаний з казеїном, 78 % — у вигляді неорганічних солей.

Свіже молоко містить бактерії, дріжджі, цвільові гриби (декілька тисяч в 1 мл). Тривале зберігання молока при температурі вищій за +10 °С призводить до зміни складу певних груп мікроорганізмів, яка характеризується такими фазами:

1. Бактерицидна фаза. Розвиток бактерій не спостерігається, оскільки в молоці містяться речовини, які пригнічують розвиток мікроорганізмів (лактенін). Продовжити цю фазу можна швидким охолодженням молока.

2. Фаза змішаної мікрофлори. Відбувається розвиток всіх груп мікроорганізмів, що є в молоці. Наприкінці цієї фази починають домінувати молочнокислі бактерії.

3. Фаза молочнокислих бактерій. Розвиваються молочнокислі бактерії. Вони виділяють молочну кислоту, що призводить до денатурації казеїну. Поступово зменшується кількість молочнокислих лактококів і збільшується кількість паличок — лактобацил.

4. Фаза дріжджів та міцеліальних грибів. Коли молоко має високу кислотність, на поверхні молока починають розвиватись дріжджі і гриби, які, в свою чергу, зменшують кислотність і створюють оптимальні умови для розвитку мікрофлори, що спричиняє розклад (гниття) білків молока.

БІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сівгінчук М.Г., Сівгінчук Т.М. та ін

Для отримання високоякісних продуктів на основі молока, необхідно пригнітити розвиток присутньої у молоці мікрофлори. Для цього застосовують пастеризацію, а при необхідності — стерилізацію. Пастерізацію здійснюють, витримуючи молоко за температури 72–85 °С упродовж 10–20 хвилин. Для інактивації фагів в умовах виробництва молоко витримують при 90 °С 30 хвилин.

В результаті молочнокислого бродіння отримують такі кисломолочні продукти: вершкове масло, сметану, йогурт, ряжанку, наріне та інші. В результаті молочнокислого та спиртового бродіння отримують кефір (на кефірних грибках, містить до 2,2 % спирту, не містить CO_2) та кумис (з кобилячого молока, де вміст лактози більше 6 %, містить CO_2).

Схема процесу виробництва кисломолочних продуктів представлена на рис. 9.3.

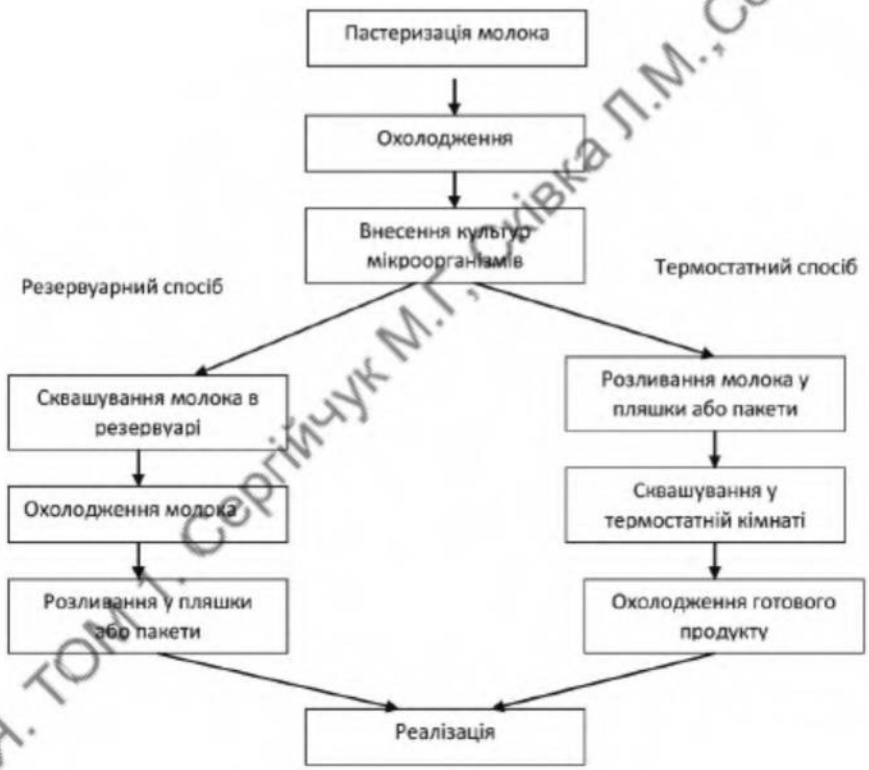


Рис. 9.3. Етапи отримання кисломолочних продуктів резервуарним та термостатним способами

В залежності від виду мікроорганізму, а також від особливостей сировини отримують різні продукти, які мають характерний смак, аромат, консистенцію. Мікроорганізми, які використовують для одержання деяких кисломолочних продуктів, наведені в таблиці 9.2.

БІОЛОГІЯ. ТОМ І. Сергійчук М.Г., Сергійчук Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Таблиця 9.2.

Кисломолочні продукти та мікрофлора їх заквасок

Продукт	Процес	Основні мікроорганізми
Вершкове масло	Молочнокисле бродіння	*Lactobacillus bulgaricus, Lactococcus lactis, Lactococcus lactis, Lactococcus cremoris, Leuconostoc cremoris*
Йогурт	Молочнокисле бродіння	*Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, Lactococcus thermofillus*
Кефір	Спиртове і молочнокисле бродіння	*Lactococcus lactis, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus acidophilus,* дріжджі *Torula*
Кисломолочні сири	Молочнокисле бродіння	*Lactococcus lactis, Lactococcus cremoris, Leuconostoc cremoris, Lactobacillus thermofillus*
Сичужні сири	Молочнокисле бродіння Протеоліз і ліполіз	*Lactococcus lactis, Lactococcus cremoris, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus lactis*
Швейцарська група сичужних сирів	Молочнокисле бродіння, пропіоновокисле бродіння, протеоліз і ліполіз	*Lactococcus lactis, Lactococcus cremoris, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus lactis, Propionibacterium* sp.
Сичужні сири з цвіллю (рокфор)	Молочнокисле бродіння, активний ліполіз, протеоліз, виділення грибами органічних кислот	*Lactococcus lactis, Lactococcus cremoris, Lactobacillus lactis, Lactobacillus acidophilus, Penicillium roqforti*

Виробництво сиру передбачає дві основні стадії: одержання сирної маси і дозрівання сиру. Сирну масу одержують, використовуючи мікробіологічний процес — молочнокисле бродіння (кисломолочні сири) або ферментативний процес — обробка молока комплексом протеолітичних (сичужних) ферментів (сичужні сири).

Загальна схема виробництва сичужних сирів наведена на рис. 9.4.

Після того, як молоко потрапило на завод, проводять його пастерізацію при 74–76 °С протягом 20–25 секунд. В охолоджене молоко вносять сичужні ферменти (отримують з шлунку телят) та закваски мікроорганізмів (молочнокислих, пропіоновокислих). Процес проводять при температурі 32–34 °С протягом 25–30 хвилин. Під дією ферменту казеїн взаємодіє з солями кальцію з утворенням згустку. Утворений згусток перемішують з метою відокремлення його від сироватки, при цьому утворюється сирне зерно. Процес здійснюють при температурі 38–41 °С. Сирне зерно розкладають у різні форми і пресують.

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківко Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

Внаслідок останніх операцій утворюються сирні головки. Далі їх солять і відправляють у кімнати з певною вологістю і температурою на визрівання під впливом різних бактерій та грибів.

Рис. 9.4. Технологічна схема отримання сичужних сирів

Останній етап виготовлення сиру є найбільш важливим. Він може тривати від тижнів до років, залежно від сорту сиру, який необхідно отримати. Мікроорганізми ростуть у сирній масі, гинуть, автолізуються, вивільнюють гідролітичні ферменти. По мірі дозрівання сиру білок розщеплюється на розчинні пептиди та амінокислоти. Далі амінокислоти можуть розщеплюватись з утворенням аміаку, жирних кислот, амінів. В чедері і швейцарському сирі на розчинні продукти перетворюється лише 25–35% білку, а в м'яких сирах — майже весь. По мірі дозрівання відбувається також гідроліз значної частини жирів, утворення органічних кислот.

Деякі мікроорганізми грають специфічну роль у дозріванні певних сортів сиру. Наприклад великі дірки в швейцарському сирі утворюються завдяки виділенню CO_2 — продукту пропіоновокислого бродіння молочної кислоти під дією бактерій роду *Propionibacterium*.

Діяльність молочнокислих бактерій знайшла своє застосування при ***біологічному консервуванні деяких продуктів***: квашенні капусти, яблук, буряку, огірків, помідорів та інших овочів.

Рослинна сировина витримується в сольовому розчині, де бактерії, які знаходяться на поверхні овочів та фруктів, здійснюють молочнокисле бродіння. Наприклад, при квашенні капусти після її подрібнення, соління та виділення соку, проходять такі процеси:

a) перший етап (триває декілька годин): збільшується кількість ентеробактерій, накопичуються мурашина, оцтова, янтарна кислоти, етанол, вуглекислий газ;

b) другий етап (триває 2–3 доби): розвиваються гетероферментативні молочнокислі коки, переважно *Leuconostoc mesenteroides*, утворюються молочна, оцтова кислоти, спирт, вуглекислий газ, ефіри, маніт;

ОБІОЛОГІЯ.ГОМ | Сергійчук І.Т., Сівіна Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

с) третій етап (настає на 4–6 дібу бродіння): домінують паличковидні гомоферментативні молочнокислі бактерії, переважно *Lactobacillus plantarum*; при цьому накопичується 1,5–2 % молочної кислоти; крім того ці бактерії використовують маніт, який надає капусті гіркий смак.

Молочнокислі бактерії у м'ясній та рибній промисловостях. Селекціоновані штами застосовують як компоненти для сиров'ялених та сирокопчених ковбас окороків. Бактеріальна закваска складається з *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*. Молочнокислі бактерії надають м'ясним виробам специфічні смакові якості, запобігають розвитку сторонньої мікрофлори. Дозрівання посолсної риби відбувається за рахунок діяльності молочнокислих бактерій: *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*.

9.2. Мікробний синтез

Мікробний синтез — це синтез структурних елементів або продуктів обміну речовин за рахунок ферментних систем мікроорганізмів.

За допомогою мікроорганізмів отримують: антибіотики, ферменти, органічні кислоти, вітаміни.

Мікробний синтез включає ряд технологічних етапів, які є багатьох технологій:

1. Підготовка мікроорганізма-продуцента.
2. Підготовка поживного середовища.
3. Проведення ферментації — культивування мікроорганізмів-продуцентів.
4. Фільтрування (відділення біомаси від культуральної рідини).
5. Виділення з культуральної рідини або мікробної біомаси та очищення необхідного продукту.

Синтез антибіотиків. Антибіотики відносять до вторинних метаболітів — речовин, які синтезуються після закінчення поділу клітин і не мають безпосереднього значення для росту мікроорганізму. Синтез антибіотиків проходить в культурах мікроорганізмів, які досягли стаціонарної фази росту. Саме ця фаза характеризується інтенсивним накопичення антибіотика при низькій швидкості росту.

Для забезпечення максимального біосинтезу антибіотика здійснюють ретельний підбір середовищ та умов культивування для кожного продуцента.

Промислове отримання антибіотиків включає ряд послідовних етапів (рис. 9.5).

Підготовка посівного матеріалу — це багатоступеневе вирощування культури — продуцента з постійним збільшенням її об'єму. Продуцент культивують на багатих середовищах, які забезпечують високу фізіологічну активність мікроорганізмів.

Промислову ферментацію здійснюють на середовищах, які забезпечують гарний ріст продуцента та максимальне накопичення антибіотика; містять до-

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Славіч М.Г., Сівіка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

ступні та дешеві компоненти; є однорідними, гарно фільтруються. Для кожного продуцента розробляють відповідне середовище.

Рис. 9.5. Основні етапи отримання антибіотиків

Сучасне культивування проводять глибинно періодичним або безперервним способом при інтенсивній аерації, оскільки продуценти є аеробним мікроорганізмами. Середовище для росту продуцента повинно містити необхідні макро- та мікроелементи в оптимальних кількостях. Використовують, як правило, комплексні поживні середовища.

Синтез ряду антибіотиків потребує додаткового внесення в середовище певних елементів або попередників антибіотиків — речовин, близьких за будовою до певної частини антибіотика та стимулюючих його синтез. Наприклад, для синтезу пеніциліну в середовище вносять залізо (у 100 разів більше, ніж необхідно для росту), попередник синтезу — фенілоцтову кислоту. Її використовує гриб для побудови бічного ланцюга молекули бензилпеніциліна.

Забезпечують оптимальні умови культивування, температуру, pH, аерацію. Процес росту продуцента у ферментері ретельно контролюється.

Після завершення культивування застосовують певні методи вилучення антибіотика. Спочатку відокремлюють біомасу від культуральної рідини, використовуючи фільтрацію або сепарацію. Якщо антибіотик знаходиться в культуральній рідині, його виділяють методами екстракції розчинниками, або осаджують у вигляді нерозчинних сполук, або сорбують іонообмінними смолами. Виділення антибіотика з клітин проводять за допомогою екстракції органічними розчинниками.

Наступною стадією отримання антибіотичних препаратів є очистка їх від різних домішок. Оскільки антибіотики застосовують у медичній практиці, приділяють особливу увагу ступеню очистки та стерильності препаратів.

БІОЛОГІЯ. 10 клас. Сергійчук М.І., Оківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

В залежності від властивостей антибіотика, його стабільності використовують два види сушки: ліофільну або розпилювальну. Ліофільна сушка полягає у висушуванні з замороженого стану у вакуумі. При розпилювальній сушці розчин антибіотика розпилюється до дрібних часточок (5–25 мкм) в потоці нагрітого до 160 °С повітря. Такий процес висушування триває декілька секунд, при цьому навіть термолабільні препарати не втрачають свої властивості. Готовий антибіотик підлягає контролю на стерильність та біологічну активність.

Напівсинтетичні антибіотики отримають шляхом модифікації вже існуючих антибіотичних речовин. Вони мають більш цінні властивості, порівняно з вихідними препаратами. В основі напівсинтетичного способу отримання антибіотиків покладений наступний принцип. В результаті мікробного синтезу отримують вихідні антибіотики (пеніцилін, цефалоспорин, тетрациклін), які потім хімічно модифікують.

Іноді використовують не всю молекулу антибіотика, а лише основне ядро. Наприклад, для отримання напівсинтетичних пеніцилінів і цефалоспоринів використовують відповідно 6-амінопеніціланову кислоту, 7-аміноцефалоспоранову та 7-амінодезацетоксицефалоспоранову кислоти, які хімічно модифікують.

Отримання ферментних препаратів. Ферменти знайшли широке використання в промисловості, сільському господарстві, медицині, дослідницькій роботі. Наприклад, амілази застосовуть для гідролізу крохмалю при виробництві спирту, пива, для отримання, декстрина і патоки, для видалення клею з тканини. У промисловості використовують, як правило, неочищені чи напівочищені ферменти, які називають ферментними препаратами.

Мікроорганізми є активними продуцентами ферментних препаратів, оскільки мають низку особливостей:

- Високу інтенсивність метаболізму (сумарна інтенсивність ферментних реакцій по поглинанню молекулярного кисню у вигляді коефіцієнту QO_2 ($см^3$ кисню, який споживається одним мг сухої біомаси за одну годину), для клітин печінки становить — 2–5; нирки — 10–20; дріжджів — 50–100; у бактерій роду *Acetobacter* — 1800; у *Azotobacter* — 2000.
- Високу швидкість приросту біомаси.
- Високий вміст деяких ферментів у клітинах мікроорганізмів. Кількість рибулозобісфосфаткарбоксилази у фототрофних бактерій іноді сягає 40–60 % від усіх розчинних білків.
- Наявність позаклітинних ферментів, які легко виділити з культуральної рідини. Наприклад, гідролази, які розщеплюють білки, крохмаль, целюлозу, жири та інші нерозчинні у воді речовини.
- Ряд ферментів знайдено тільки у мікроорганізмів. До таких ферментів належать: танназа (розщеплює дигаллат до галлової кислоти), рацемази багатьох амінокислот, кератинази (гідролізують сіркомісні білки — кератини, що входять до складу волосся, пір'я, рогів і копит), пеніцилліназу (розщеплює пеніцилін до пеніцилінової кислоти і води).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.М., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Основними продуцентами ферментів до недавнього часу були гриби. Проте зараз широке використання знаходять також ферменти актиноміцетів та деяких інших бактерій (табл. 9.3).

Таблиця 9.3.

Мікроорганізми — продуценти ферментів

Ферменти	Гриби	Бактерії
Альфа-Амілаза	*Aspergillus oryzae* *Aspergillus niger*	*Bacillus amyloliquefaciens* *Bacillus licheniformis*
Глюкоамілаза	*Aspergillus niger* *Rhizopus niveus* *Endomycopsis* sp.	
Декстраназа	*Penicillium* sp.	
Бета-Глюконаза	*Aspergillus niger*	*Bacillus amyloliquefaciens*
Глюкозоізомераза	*Rhizopus formosaensis*	*Actinoplanes missouriensis* *Streptomyces olivaceus*
Інвертаза	*Aspergillus* sp. *Saccharomyces cerevisiae*	
Целюлази	*Aspergillus niger* *Trihoderma roseum* *Trihoderma viride*	
Пектинази	*Aspergillus niger* *Trihoderma avamiori*	
Протеїнази	*Aspergillus niger* *Aspergillus oryzae* *Mucor mihei* *Mucor rouxii* *Mucor pusillus* *Endothia parasitica*	*Bacillus subtilis* *B. amyloliquefaciens* *B. licheniformis* *B. staerothermophilus*
Ліпази	*Aspergillus oryzae* *Aspergillus avamori* *Candida cylindrica,* *Mucor mihei* *Rhizopus* sp.	
Глюкозооксидаза	*Aspergillus niger* *Penicilium amagaskiense* *Penicilium vitale* *Penicilium notatum*	
Каталаза	*Aspergillus* sp.	
Деацетілаза	*Aspergillus* sp.	
Аспартаза		*Escherichia coli*
Фумараза		*Escherichia coli*
Пеніцілінамідаза		*Escherichia coli*

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук Т.М., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Процес утворення того чи іншого ферменту залежить як від виду мікроорганізму, так і від складу середовища. Для отримання ферментів використовують переважно комплексні, напівсинтетичні середовища. Вони містять синтетичну основу (мінеральні солі, органічні сполуки) та природні компоненти. Деякі ферменти є індуктивними і потребують присутності індуктора у середовищі. Так, для синтезу ліпази необхідна наявність олії, рибонуклеази — нуклеїнові кислоти, протеїназ — глюкоза, органічний азот.

Найширшого використання набули ферменти, що належать до гідролаз, — глікозидази, пептидази та ін. Вони розщеплюють глікозидні, пептидні та деякі інші зв'язки за участю води. Серед гідролаз багато позаклітинних ферментів, які накопичуються в культуральному середовищі. Одержання таких ферментів простіше і дешевше, ніж виділення з клітин. Максимальне накопичення ферментів відбувається зазвичай на початку стаціонарної фази, після закінчення фази активного росту.

Поверхневий спосіб, як правило, використовують для культивуванні цвільових грибів. Гриби вирощують на поверхні рідкого поживного середовища в кюветах при вологості повітря 70–95 %, температурі 28–320 °С, постійній циркуляції повітря. Один і той же продуцент може утворювати різні ферменти в певний період культивування. Наприклад, *Aspergillus oryzae* синтезує амілази на 21–30 годину культивування, протеолітичні ферменти — на 48 годину, пектолітичні — на 3 добу, целюлозолітичні — на 10 добу.

Глибинне культивування здійснюється у великих ферментерах з інтенсивною аерацією.

Методи виділення і очистки ферментів різні і визначаються локалізацією ферменту (в клітинах чи культуральній рідині); метою застосування. Розрізняють неочищені та очищені ферментні препарати. Неочищені ферментні препарати — це сухі препарати, отримані шляхом висушування і подрібнення міцелію гриба разом із щільним субстратом або культуральною рідиною. Ферментативна активність таких препаратів невелика, але вони дешеві і добре зберігаються. Таким чином отримують амілази, протеази, целюлази для сільського господарства та деяких галузей промисловості. При виділенні ферменту в культуральну рідину можливе її згущення та отримання сиропу.

Очищені препарати застосовують як терапевтичні засоби. Очищують за допомогою гельфільтрації, діалізу, іонообмінних смол.

Окрім ферментів, отриманих у виробничих умовах і промисловому масштабі, є ряд ферментів, що використовуються поки що в обмеженій кількості, але деякі з них дуже важливі. До їх числа відносяться рестриктази (ендонуклеази), які розщеплюють нуклеїнові кислоти, і лігази, що беруть участь в їх синтезі. І ті, й інші необхідні для генної інженерії.

Одержання органічних кислот. Промислове одержання органічних кислот методом мікробного синтезу почалося у 20–30 роки XX століття. До цього часу в харчовій промисловості використовували кислоти, отримані від природних

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.І., Скіба Г.М., Сергійчук Т.М. та ін

джерел: лимонну — з лимонів, винну — з винного каменю. Оцтову кислоту одержували з вина, залишаючи його відкритим.

На сьогодні в промисловості за допомогою мікроорганізмів виробляють 18 видів органічних кислот (можливо отримати 50) з максимальним виходом від 35 % (ізолимонна) до 100 % (галова) (табл. 9.4).

Таблиця 9.4

Органічні кислоти та їх продуценти

Кислота	Мікроорганізм	Джерело Карбону
Молочна	*Lactobacillus delbrueckii* *Rhizopus oryzae*	Глюкоза Глюкоза
Масляна	*Clostridium butyricum*	Крохмаль
Пропіонова	*Propionibacterium shermanii*	Глюкоза
Койєва	*Aspergillus oryzae*	Глюкоза
Глюконова	*Aspergillus niger*	Глюкоза
2-Кетоглюконова	*Pseudomonas fluorescens*	Глюкоза
5-Кетоглюконова	*Gluconobacter suboxydans*	Глюкоза
Винна	*Gluconobacter suboxydans*	Глюкоза
Піровиноградна	*Pseudomonas aeruginosa*	Глюкоза
Оцтова	*Acetobacter aceti* *Acetobacter* sp.	Етанол
Цитринова	*Aspergillus niger* *Candida lipolytica*	Сахароза Парафін
Ітаконова	*Aspergillus terreus*	Глюкоза
Трео-D-ізолимонна	*Candida brumptii* *Candida lipolytica*	Глюкоза Алкани Етанол
Аллоізолимонна	*Penicillium purpurogenum*	Глюкоза
2-Кетоглутарова	*Pseudomonas fluorescens* *Candida lipolytica*	Глюкоза Парафін
Бурштинова	*Bacterium succinicum*	Яблучна кислота
Фумарова	*Rhizopus delemar* *Candida hydrocarbofumarica*	Глюкоза Парафін
Яблучна	*Schizophyllum commune* *C. hydracarbofumarica* + *Pichia membranaefaciens*	Глюкоза Парафін
Тетрадекандикарбонова	*Candida cloacea*	Гексадекан

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скавка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Отримання молочної кислоти. Молочну кислоту використовують у харчовій промисловості для виробництва сиропів, напоїв, мармеладу тощо. Молочна кислота має антимікробні властивості, тому додається як консервант у деякі продукти (рибу, оливи, тощо). Лактат кальцію застосовують у фармацевтиці.

Розділення ізомерів молочної кислоти, одержаної шляхом хімічного синтезу, є технічно складним. Перевага мікробіологічного способу отримання молочної кислоти полягає в можливості спрямованого синтезу певного ізомеру (наприклад, L+). Щорічно мікробіологічним шляхом отримують більш ніж 20 тис. тон молочної кислоти.

Хоча бродіння відбувається без участі молекулярного кисню, продуценти — молочнокислі бактерії є аеротолерантними анаеробами, тому повітря з ферментера повністю не видаляють.

Ферментацію здійснюють переважно періодичним способом у великих ферментерах, за 49–50 °С. Під час ферментації періодично вносять $Ca(OH)_2$, $CaCO_3$ чи $MgCO_3$ для нейтралізації кислоти, що утворилась. Кристалізації лактату Са у ферментері перешкоджає активне перемішування. Цикл бродіння завершується за 2–10 діб залежно від складу середовища.

Після закінчення процесу ферментації культуральну рідину нейтралізують та фільтрують для відокремлення клітин. Фільтрат, який містить 12–13 % молочної кислоти, очищують багатоступенево і згущують до певної концентрації

Отримання оцтової кислоти. Виробництво оцтової кислоти із спиртових розчинів відомо понад 10 тис. років. Греки та римляни отримували цей продукт, лишаючи вино відкритим.

Утворення оцтової кислоти здійснюють оцтовокислі бактерії. Вони характеризуються здатністю до окислювальної трансформації (неповного окиснення) первинних спиртів, гліколей, альдо- і кетоцукрів та їх похідних (близько 80 трансформацій). Це аеробні грамнегативні бактерії *Acetobacter aceti, A. pasteurianus*. Продуценти ростуть при значенні pH 4,0, оптимум pH 5,0–6,0, витримують високу концентрацію оцтової кислоти, не здійснюючи її переокиснення.

Поверхневе культивування здійснюють у струменевих генераторах, які заповнені дерев'яними ошурками. Посівний матеріал розпилюють по поверхні ошурок. Середовище містить 3–5 % спирту, 5–6 % оцтової кислоти, мінеральні солі. Воно повільно протікає крізь ошурки з культурою і збирається у нижній частині апарату. В результаті 88–90 % спирту перетворюється на оцтову кислоту, що складає біля 1,4 кг/м^3/добу.

При глибинному культивуванні швидкість утворення оцтової кислоти майже у 10 разів більша, ніж при поверхневому. Процес проводять у серії з шести ферментерів, які з'єднані послідовно. Кожний ферментер інтенсивно аерують та підтримують оптимальну температуру. В перший ферментер вносять середовище, яке містить 1,4–1,5 % оцтової кислоти і 4,05 % спирту. У всі інші додатково додають спирт. Концентрація оцтової кислоти поступово зростає, а спирту — знижується. В першому ферментері культура активно розмножується, далі —

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скварча Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

лише накопичується оцтова кислота — 30 кг/м^3/добу. Крім 6–9 % оцтової кислоти, культуральна рідина містить невелику кількість складних ефірів, які надають продукту приємного смаку.

Одержання лимонної кислоти. Виробництво ряду органічних кислот здійснюють за допомогою мікроскопічних грибів — продуцентів. Метаболізм цих грибів при нестачі Феруму, Мангану, Купруму, Магнію, Калію чи Кальцію порушується. Гриби починають виділяти у середовище глюконову, щавлеву, цитринову, ітаконову, фумаролу, яблучну, бурштинову, мурашину кислоти.

З усіх органічних кислот за об'ємом виробництва лимонна кислота займає перше місце в світі— 350 тис. т/рік. Близько 70 % кислоти використовується у харчовій промисловості, 18 % — у фармацевтичній, 12 % — для технічних цілей: як антиспінювач, як комплексоутворювальний агент при обробці текстилю, у виробництві чистих металів, детергентів, для поглинання SO_2. Застосування знаходять і побічні продукти ферментації: міцелій грибів і культуральна рідина.

Здатність утворювати лимонну кислоту поширена серед міцеліальних грибів. Сьогодні перевага надається різним штамам *A. niger.* Штами, які використовуються у виробництві, відрізняються високою швидкістю росту, легкістю культивування і великим виходом лимонної кислоти. Коли ріст гриба завершений, дихання пригнічено, залишкова глюкоза за певних умов може перероблятись у вторинні метаболіти, у даному випадку — у лимонну чи інші кислоти.

Для синтезу лимонної кислоти грибом-продуцентом необхідно створити такі умови:

- висока концентрація Карбону (15–20 %);
- як джерело Нітрогену — амонійні солі;
- лімітування за Фосфором та металам (особливо Zn, Fe, Mn);
- значення pH нижче 2,0 (для пригнічення утворення щавелевої і глюконової кислот);
- активна аерація.

У виробництві органічних кислот мікроскопічними грибами застосовують три способи ферментації: *твердофазна ферментація* — культивування на поверхні щільного поживного середовища; *поверхневе культивування* на рідкому середовищі; *глибинне культивування.*

Культивування на поверхні щільного середовища. Гриб-продуцент культивують в неглибоких лотках на поверхні вологих висівок рису або пшениці. Під час ферментації pH складає 1,8–2,0. По закінченні процесу лимонна кислота разом з невеликою кількістю глюконової, щавелевої кислот, що утворилися одночасно, екстрагується водою, а потім осаджується у вигляді солі кальцію. Процес триває 5–8 діб. Такий найпростіший метод одержання лимонної кислоти застосовується лише в Японії.

Метод поверхневого культивування широко використовується для виробництва лимонної кислоти в країнах Європи та Америки. Поверхня рідкого

БІОЛОГІЯ. Том 1. Серимук М.І., Сквірська М.О., Серимук Т.М. та ін

середовища, яке розливають у неглибокі кювети, засівається конідіями гриба-продуцента. Кювети розміщують на стелажах в термостатованих «бродильних камерах». Гриб розвивається у вигляді тонкої плівки на поверхні поживного середовища, яке містить високі концентрації цукру. Лимонна кислота, що утворюється, переходить з клітин міцелію в розчин, з якого по закінченні процесу її осаджують у вигляді кальцієвої солі, а потім переводять у форму вільної кислоти і кристалізують. Активність кислотоутворення грибної плівки сягає максимуму на 5–6 добу культивування (100–105 г лимонної кислоти/м^2 плівки/год$^{-1}$) і далі утримується на високому рівні (60–50 г кислоти/м^2 плівки/год$^{-1}$). Ферментацію можна продовжити підводячи під плівку свіже середовище.

При отриманні лимонної кислоти *поверхневим способом* одним із найважливіших факторів є повітряний режим в камерах, тобто аерація, температура і вологість.

Глибинний спосіб культивування має низку переваг у порівнянні з методом поверхневого культивування. Процес ферментації здійснюють у ферментері при інтенсивній аерації, використовуючи спеціально селекціоновані природні штами або мутанти.

Виробництво амінокислот. Амінокислоти знаходять застосування в різних галузях народного господарства. Найбільш важливі амінокислоти для збалансування білкового харчування. В найбільших кількостях виробляються такі амінокислоти, як L-лізін, L-глутамінова кислота, DL-метіонін, L-аспарагінова кислота, гліцин. Існують основні три способи отримання амінокислот: екстракція з білкових гідролізатів рослинної сировини, хімічний синтез, мікробний синтез. Суттєва перевага мікробного синтезу амінокислот перед хімічним методом полягає в отриманні певних ізомерів (L-форм).

Мікроорганізми здатні накопичувати амінокислоти в процесі росту. Проте продуцентів, які здійснюють економічно вигідний синтез амінокислот, не так багато. Як правило, використовують ауксотрофні мутанти, які, завдяки відсутності ряду ферментних систем, здатні до надсинтезу одного з метаболітів. Амінокислоти максимально накопичуються в середовищі наприкінці експоненційної фази росту культури. Найбільш розповсюдженими продуцентами амінокислот вважають грампозитивні, неспороутворювальні бактерії родів *Corynebacterium*, *Micricoccus*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*.

Синтез вітамінів, провітамінів, коферментів. Шляхом мікробного синтезу отримують вітаміни B_{12}, B_2, ергостерин, використовують в одному з етапів при отриманні вітаміну С. Мікробний синтез вітамінів має велике практичне значення, незважаючи на переваги хімічних методів.

Вітамін B_{12} використовують в медицині та тваринництві. Як продуценти використовують різні мікроорганізми: *Propionibacterium freudenreichii*, термофільні метаногенні бактерії, актиноміцети.

Рибофлавін (B_2). Продуцентами рибофлавіну у природі є вищі рослини, дріжджі, міцеліальні гриби, бактерії. Більшість мікроорганізмів утворює вільний

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

рибофлавін та його коферментні форми — ФМН та ФАД. Найбільш активні продуценти — цільові гриби *Aspergillus niger*, *Eremotecium ashbyii*.

Ергостерин — вихідний продукт виробництва жиророзчинного вітаміну D_2. Джерелом ергостерину є фітопланктон, бурі та зелені водорості, дріжджі та цвільові гриби. У дріжджів ергостерин складає 60–90 % від інших стеринів. Вміст його в клітині може бути від 0,2 до 10 % від сухої біомаси дріжджів. В промисловості ергостерин отримують, використовуючи дріжджі *Saccharomyces serevisiae*, *Saccharomyces carlsbergensis*, гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium*. Культивування проводять при високій температурі та інтенсивній аерації в середовищі, яке містить надлишок Карбону порівняно з Нітрогеном. Отримують як очищений кристалічний вітамін D_2, так і концентрат, який являє собою висушену і опромінену біомасу дріжджів. При дії рентгенівського опромінення рівень ергостерину збільшується у 2–3 рази за рахунок стимуляції ліпідного обміну.

Вітамін С — L-аскорбінова кислота використовується в медицині, для стабілізації вина, пива, масла, морозива та інших продуктів (знижує окисно-відновний потенціал середовища). З семи послідовних стадій синтезу вітаміну лише одна здійснюється за допомогою бактерій *Gluconobacter oxydans* — трансформація Д-сорбіта в L-сорбозу.

Бактерії вирощують на середовищах з 20 % сорбіту та дріжджовим екстрактом. В глибинних умовах в ферментерах періодичної дії, які мають мішалки для посиленої аерації (8–10 гO_2/л/год), вихід сорбози складає 98 % за 20–40 годин. Після завершення циклу сорбозу вилучають хімічним шляхом.

9.3. Мікробні технології в медичній галузі

В медицині мікроорганізми використовують для:

- виготовлення вакцин;
- створення пробіотиків;
- отримання діагностичних препаратів.

Виготовлення вакцин. Вакцини — це препарати, які здатні створювати активний специфічний захисний імунітет в організмі. *Живі вакцини* — створені на основі живих мікроорганізмів зі зниженою патогенністю (атенуйовані мікроорганізми). Наприклад, для профілактики туберкульозу використовують вакцинний штам БЦЖ. *Інактивовані вакцини* — створені на основі збудника, попередньо інактивованого хімічним або фізичним способом. Використовують для профілактики кашлюку, черевного тифу, кору. *Хімічні вакцини* — певна композиція антигенних матеріалів, отриманих зі збудника або культурального середовища. Наприклад, дифтерійний або правцевий анатоксин. *Кон'юговані вакцини* — різновид хімічних вакцин, в яких антигенний матеріал ковалентно зв'язується з імуностимулюючим носієм. *Синтетичні вакцини* — штучно синтезований макромолекулярний комплекс зі встановленою структурою.

БІОЛОГІЯ. ТОМ І. Сергійчук М.І., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Перший етап отримання вакцин — це накопичення біомаси мікроорганізмів, або продуктів їх життєдіяльності. Наступний етап — інактивація мікроорганізмів, яка може бути різною в залежності від використаних методів. Далі проводять концентування, очистку та ліофілізацію. Обов'язково здійснюють контроль вакцини на стерильність, антигенність, імуногенність та ряд інших властивостей.

Створення пробіотиків. Пробіотики — препарати на основі живих культур мікроорганізмів — представників нормо- або транзитної флори людини. Пробіотики мають відповідати певним вимогам:

- не пригнічувати розвиток нормальної мікрофлори;
- мати антагоністичну активність до патогенних мікроорганізмів;
- бути абсолютно безпечними для людини і довкілля;
- зберігати активність що найменше 12 місяців.

Пробіотики можуть містити лише один штам мікроорганізму, або складатись з декількох культур. Пробіотичні препарати являють собою ліофілізовані (висушені з замороженого стану під вакуумом) культури бактерій, розфасовані у ампули, флакони, або у вигляді таблеток.

Стадії виготовлення препаратів пробіотиків однакові. Різними є поживні середовища, умови культивування, які відповідають фізіологічним особливостям певних бактерій. Виробництво пробіотиків аналогічне технологіям отримання біомаси мікроорганізмів. Обов'язковою є перевірка готового препарату на вміст живих мікроорганізмів, їх активність та наявність сторонньої мікрофлори. Найбільш розповсюдженими є пробіотики, основою яких є біфідо-, лактобактерії, кишкова паличка або їх композиції.

Пробіотики на основі кишкової палички. Колібактерин — сухий препарат, що є ліофілізованим штамом *Escherichia coli* М–17. Даний штам має антагоністичні властивості до широкого кола патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів. Біомасу отримують на казеїновому середовищі з желатиною, при температурі 37 °С, при інтенсивній аерації за 6–7 годин культивування. До суспензії мікроорганізмів, яка містить $4x10^9$ кл/мл, додають 10 % сахарози і ліофілізують в спеціальних камерах, які забезпечують високий вакуум. Обов'язковим є проведення контролю препарату на стерильність, кількість живих клітин, антагоністичні властивості до збудників дизентерії, визначення безпечності препарату на лабораторних тваринах. Кишкова паличка стала основою для створення таких препаратів, як нормофлорин, коліфлорин, севакол, мутафлор, тощо.

Препарати на основі біфідобактерій. Промисловий випуск вітчизняного препарату на основі біфідобактерій (біфідумбактерину) було розпочато в 1971 р. Для створення препаратів використовують культури *Bifidobacterium adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. thermofilum*. Біомасу нарощують на середовищі з печінкового бульйону з хлоридом натрію, пептоном і лактозою. Ліофілізацію культури проводять з додаванням суміші сахарози, желатини та знежиреного молока. Контроль готового препарату здійснюють аналогічно колібактерину.

Біологія. Том 1. Сергійчук І.М., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Препарати на основі лактобацил. Іншою відомою групою мікроорганізмів, на основі яких створено велику кількість пробіотиків,— є лактобацили. Пробіотики з лактобацил включають: *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. amilovorus*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. delbueckii subsp. bulgaricus*, *L. brevis* та ін. Культури вирощують на середовищах, виготовлених на основі гідролізату молока, солодового екстракту, або відвару капусти з додаванням 1,5% желатини з перемішуванням, без аерації. Перед ліофілізацією у суспензію бактерій додають як стабілізатор сахарозу, пептон, знежирене молоко.

Препарати на основі бактерій роду Bacillus. Широке застосування у створенні пробіотиків знайшов феномен мікробного антагонізму. Особливо вираженими антагоністичними властивостями характеризуються аеробні спороутворюючі бактерії роду *Bacillus*. Перші повідомлення про використання живих мікроорганізмів роду *Bacillus* у медицині та ветеринарії з'явились у Франції в 50-х роках коли було встановлено, що при проростанні спор *B. subtilis* продукується низка ферментів, здатних лізувати клітини стафілококів, протеїв та деяких інших умовнопатогенних та патогенних бактерій. Югославське об'єднання «Galenika» в 70-х роках XX ст. розпочало випуск комерційного препарату — бактисубтилу, який було рекомендовано використовувати особам з дисбактеріозами, що виникли внаслідок антибіотикотерапії інфекційних захворювань різної етіології. Основу різних біопрепаратів з бацил складають *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. polymyxa*, *B. coagulans*, *B. brevis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. laterosporus* та *B. licheniformis.*

У біопрепарати іноді вводять речовини, які стимулюють ріст культур пробіотиків (цукри, амінокислоти, вітаміни, тощо). Такі речовини називають симбіотиками.

Отримання сучасних діагностичних препаратів. Для швидкої діагностики збудників інфекції часто використовують імуноферментний та імунофлуоресцентний аналізи, які ґрунтуються на застосуванні високоспецифічних антитіл до певних мікробних антигенів. Сучасна біотехнологія створює штучні антигени, які повністю відтворюють структуру природного білка і використовуються як компоненти діагностичних систем. Штучні антигени — це природні хімічно модифіковані сполуки, або повністю синтезовані штучно.

9.4. Мікробні препарати для сільського господарства

В сільському господарстві мікроорганізми використовують для підвищення родючості ґрунту; боротьби з шкідниками рослин; силосування кормів; отримання харчового білку.

Застосування біопрепаратів у сільському господарстві має ряд переваг:

- Біологічні препарати створюються на основі живих мікроорганізмів та їх метаболітів.
- Мікроорганізми, що входять до їх складу, є постійними мешканцями довкілля.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скіцька І.М., Сергійчук Т.М. та ін

- Дія біопрепаратів ґрунтується на використанні природних процесів (фіксування азоту, переведення фосфору в доступну для рослин форму, природному антагонізмі між мікроорганізмами).
- Речовини, що входять до складу біопрепаратів, легко руйнуються у довкіллі.
- Біопрепарати не шкідливі для людей і тварин.

Бактеріальні препарати для підвищення родючості ґрунтів. Зразу після відкриття бульбочкових бактерій виникла ідея їх використання для покращення врожайності сільськогосподарських культур шляхом підсилення фіксації молекулярного азоту. Вперше ця ідея була реалізована в Німеччині у 1896 р. Ф. Ноббе і Л. Гільтнером. Використання препаратів бульбочкових бактерій особливо необхідно, коли у даній місцевості вводяться нові культури бобових рослин і у складі мікрофлори ґрунту нема відповідних бактерій. Бобові культури інтенсивно розвиваються лише за наявності своїх рас бульбочкових бактерій і в достатній кількості, яка не завжди спостерігається в природних умовах. Посіви окремих бобових рослин обмежені певними районами, тому ґрунти містять не всі раси бульбочкових бактерій. В Україні вони слабо заселені бульбочковими бактеріями сої. У ґрунтах перехідних районів від лісостепової до поліської зони, на Поліссі, в Передкарпатті й Закарпатті мало бактерій, спеціалізованих до люцерни, вики, еспарцету й гороху. Це зумовлено тим, що дані культури тут раніше сіяли зрідка або зовсім не вирощували.

Спостерігається позитивна дія інокуляції бобових рослин культурою *Rhizobium* у тих випадках, коли ґрунти мають у складі своєї мікробіоти бульбочкові бактерії. Це пояснюється тим, що у природних умовах може відбуватися перехресне інфікування, тобто бобові рослини інфікуються бактеріями близьких груп рослин. У таких випадках бульбочки можуть утворюватися, але вони функціонують неповноцінно або утворюються неактивні бульбочки. При штучній інокуляції у корінь бобової рослини проникає активна раса бульбочкової бактерії, яка нанесена на насіння. Крім того, бульбочкові бактерії, які є у ґрунті, який використовується для вирощування не бобових рослин, існують як звичайні сапрофіти. Часто умови, які складаються у такому ґрунті, виявляються несприятливими для бульбочкових бактерій, а їх кількість суттєво зменшується. Тому у таких випадках природне інфікування не дає ефективного симбіозу.

Достатня заселеність ґрунтів аборигенними (місцевими) бульбочковими бактеріями також не завжди задовольняє потреби сільського господарства, оскільки вони можуть бути недостатньо активними. Мікробіологи-селекціонери пропонують більш активні штами.

Препарати на основі бульбочкових бактерій — нітрагін, N-germ, нітразон, ризоторфін та ін.

Нітрагін — препарат живих клітин певного виду бульбочкових бактерій. Основна функція препарату — фіксація атмосферного азоту. Промисловість виробляє дві форми нітрагіну — ґрунтовий і сухий. Ґрунтовий препарат нітрагіну — це культура бульбочкових бактерій, вирощена у стерильному ґрунті. В 1 г

БІОЛОГІЯ Том 1. Сергійчук І.М., Скіпка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

такого препарату повинно міститися не менше 300 млн клітин. Доза препарату для обробки насіння складає 500 г/га. Для виготовлення препарату беруть ґрунт (торф), багатий органікою, додають до 30 % пісок, крейду і встановлюють pH 6,6–7,0. Ґрунт стерилізують, фасують у поліетиленові мішечки, інокулюють відповідним штамом бульбочкової бактерії з наступним культивуванням при 26–28 °С протягом 4–6 (10–11 для тих штамів, що ростуть повільно) діб. Сухий препарат нітрагіну — це порошок живих клітин бульбочкових бактерій. В 1 г препарату повинно міститися 8–10 млрд клітин. Це полегшує перевезення, але перед використанням препарат перемішується з наповнювачем. Препарат бульбочкових бактерій специфічний і призначений для обробки насіння певного виду бобових рослин, що зазначається на пакетах (наприклад, «Соя», «Віка», «Еспарцет» та ін.). Ефективність від застосування препарату на посівах трав становить на одиницю затрат 1015 одиниць прибутку, на зернобобових — 20–30 і більше.

Створено препарати на основі вільноіснуючих азотфіксаторів — азотобактерин, діазобактерин, діазофіт.

Азотобактерин — це препарат живих клітин *Azotobacter chroococcum*. Використовується для забезпечення приросту врожаю овочевих культур в закритому та відкритому ґрунті за рахунок поживних речовин, що виділяють мікроорганізми (вітамінів, гормонів, амінокислот), поліпшення мінерального та водного живлення рослин, підвищення їх стійкості до хвороб. Технологія виробництва така ж, як і нітрагіну. В 1 г ґрунтового препарату повинно міститися не менше 50 млн. клітин. Для обробки насіння на 1 га витрачають 3–6 кг азотобактерину. В 1 г сухого препарату повинно міститися не менше 10 млрд клітин *A. chroococcum*. Азотобактерин є цінним ще й тим, що *A. chroococcum* синтезує низку біологічно активних речовин: нікотинову і пантотенову кислоти; пірідоксин; біотин; гетероауксин; гіберелін та інші сполуки, які стимулюють проростання насіння і прискорюють їх ріст.

Основна частина зв'язаного Нітрогену відчужується з урожаєм, певна кількість залишається у ґрунті. Бульбочкові бактерії забезпечують формування врожаю більшості бобових рослин без збіднення ґрунту на азот. Лише після вирощування гороху та сої може спостерігатися незначне зменшення його вмісту в ґрунті. Завдяки такій властивості бобові культури є добрими попередниками у сівозмінах, що дає можливість зменшувати норми азотних добрив під наступні культури або зовсім не вносити азотних добрив.

Культури, які складають основу як нітрагіну, так і азотобактерину — це аспорогенні бактерії, і при їх зберіганні кількість життєздатних клітин зменшується, тому такі препарати виробляють напередодні їх використання.

Розроблені препарати для мобілізації важкорозчинних форм фосфору в грунті — фосфобактерин, альбобактерин, поліміксобактерин.

Фосфобактерин — це препарат, що містить спори *Bacillus megaterium var. phosphaticum*, які трансформують складні фосфорорганічні сполуки і малодоступ-

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук М.І., Скіпка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ні мінеральні фосфати у доступні для рослин форми фосфору. Промисловість виробляє ґрунтовий і сухий препарати фосфобактерину. В 1 г сухого препарату повинно міститися 8 млрд спор. Гектарна доза для обробки насіння зернових становить 5 г препарату, а кукурудзи, картоплі й овочевих культур— 15 г. Термін зберігання фосфобактерину практично не обмежений. Культура, яка складає препарат, синтезує низку біологічно активних речовин: тіамін; піридоксин; біотин; пантотенову і нікотинову кислоти; вітамін В12.

Використовують також препарати комлексної дії, які містять асоціації різних культур. Наприклад, бактофіл — препарат на основі бактерій *Azospirillum brasilens*, *Azotobacter vinelandii*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymixa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces albus*, використовують для збагачення ґрунту доступними джерелами Нітрогену та Фосфору.

Препарати мікроорганізмів проти шкідників рослин. Для виготовлення таких препаратів як продуценти використовують бактерії, гриби, віруси. Основні вимоги, які висувають до мікробних препаратів: висока вірулентність до шкідників, швидкість дії, безпека для людини, флори та фауни, зручність у застосуванні, тривалість зберігання.

Бактеріальні ентомопатогенні препарати, такі як: енторобактерин, інсектин, алестин, токсобактерин, бітоксибацилін, створюються на основі бактерії *Bacillus thuringiensis*. Ця грампозитивна спорова бактерія продукує такі токсичні для комах продукти:

- фосфоліпазу — фермент, що розкладає фосфоліпіди в тканинах комах;
- β-екзотоксин, що порушує синтез РНК в клітинах комах;
- δ-ендотоксин — параспоральний кристалічний ендотоксин, що утворюється в клітині *Bacillus thuringiensis* під час спороутворення. Токсин, потрапляючи в кишківник комах, розкладається на токсичні компоненти та викликає параліч комах. *Bacillus thuringiensis* є антагоністами до 150 видів комах.

Ентомопатогенні гриби не знайшли такого широкого використання, як бактеріальні препарати. Це зумовлено тим, що вони проявляють активність лише в умовах високої і стабільної вологості.

Препарат для боротьби з колорадським жуком та іншими комахами, являє собою конідії гриба *Beauveria bassiana*. Конідії, потрапляючи у тіло комахи, проростають, викликаючи її загибель.

Для боротьби з гризунами використовують мікробні препарати, які містять *Salmonella enteritidis*. Природній імунітет гризунів до сальмонел у різних видів різний. Найбільше виражений він у крупних видів (щурів, ховрахів та ін.) Дрібні види — менш імунні. Набутий імунітет нестабільний та нетривалий. Бактерії володіють строгою специфічністю, тобто вибірковою патогенністю. Вони безпечні для людини, домашніх та диких тварин.

Силосування кормів — складний мікробіологічний процес, який проходить за участю молочнокислих бактерій, які мешкають на рослинах. Поживним середовищем для розвитку бактерій є переважно соки рослин.

Біологія: том 1. Серійний І.Г., Сквіка Л.М., Серійна Т.М. та ін

Рослинну масу закладають у силосну споруду і щільно трамбують. Це призводить до майже повного відмирання аеробних бактерій. Активно розмножуються мікроорганізми, здатні до розвитку при недостатній кількості кисню: ентеробактерії, *Clostridium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*. Накопичується переважно молочна кислота, знижується pH до 4,0. Це призводить до пригнічення розвитку гнилісних та інших мікроорганізмів.

Прискорюють процес силосування внесенням заквасок молочнокислих бактерій та поживних речовин (меляси, солоду). Використовують ліофілізовані культури бактерій *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis*, які перед внесенням у рослинну масу розводять водою.

Отримання кормового білку. Мікробна біомаса — гарна добавка до раціону домашніх тварин, риб, птахів. Мікробна біомаса містить незамінні амінокислоти, вітаміни, мікроелементи, ненасичені жирні кислоти.

Для отримання мікробного білку у промислових масштабах використовують:

- дріжджі *Pichia guilliermondii*, *Candida tropicalis*, які культивують на різній сировині, що містить вуглеводи і вуглеводні (n-алкани);
- бактерії *Methilophillus methylotrophus*, які вирощують на метанолі;
- водорості.

Сировиною для отримання біомаси дріжджів можуть бути: відходи сільського господарства — рисові висівки, кукурудза, зерно, картопля; відходи харчової промисловості — меляса, мелясно-спиртова барда, молочна сироватка; гідролізати рослинної сировини — гідролізати деревини, гідролізно-спиртова барда, сульфітні луги; n-алкани.

Після культивування дріжджів на середовищах, що містять вуглеводи, їх відокремлюють від культуральної рідини. Клітини інактивують, обробляючи сухим паром протягом 45 хвилин. Біомасу опромінюють ультрафіолетом, при цьому ергостерин перетворюється у вітамін $Д_2$. Суху біомасу отримують, використовуючи розпилювальну сушку.

Накопичення біомаси дріжджів на n-алканах має ряд особливостей. Дріжджі культивують на насичених вуглеводнях з нерозгалуженим ланцюгом різної довжини високого ступеню очистки. Концентрація вуглеводнів становить 2 %. При більшій концентрації можливе накопичення останніх у клітинах. Замість води використовують центрифугат культуральної рідини. До середовища додають мінеральні компоненти: фосфати, KCl, $MgSO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, NH_3, мікроелементи. Культивування проводять при температурі 50–60 °C і підвищеній аерації. Торгова назва кормових дріжджів, які отримують на вуглеводнях,— папрін.

9.5. Біогеотехнології

Геохімічну діяльність мікроорганізмів використовують у таких біотехнологіях:

- гідрометалургії (бактеріальне вилуження металів, сорбція металів з розчинів);
- вилучення Сульфуру з вугілля;

БІОЛОГІЯ том 1, Сергійчук М.І., Скібка Л.М., Серійчук Т.М. та ін

• зниження концентрації метану в шахтах;
• збільшення нафтовіддачі пластів.

Властивість мікроорганізмів засвоювати вуглеводневі гази знайшла застосування у пошуку нафтових родовищ за участю мікроорганізмів.

Гідрометалургія. Бактеріальне вилуження — це вилучення і переведення у розчин певних хімічних елементів з твердих матеріалів: гірських порід, руд та концентратів за участю бактерій і їх метаболітів.

Процеси вилуження металів із руд використовувались людиною досить давно. Починаючи з XVI ст. вилуження міді здійснювалось в Угорщині, Німеччині, Іспанії. Проте механізм цього процесу не був відомий. Мікробіологічне вилуження почало широко розвиватись і впроваджуватись після виділення з кислих рудних вод у 1947 році бактерії *Acidithiobacillus* (*Thiobacillus*) *ferrooxidans.*

Метали входять до складу сульфідних, силікатних, карбонатних мінералів, деякі утворюють окисли, або знаходяться в самородному стані, чи у вигляді вкраплень у мінералах. Тому механізми вилуження і роль мікроорганізмів у вилученні металів — різна.

Зараз у гідрометалургії застосовують певні види мікроорганізмів (табл. 9.5).

Таблиця 9.5.

Сфери застосування мікроорганізмів у гідрометалургії

Мікроорганізми	Сфери застосування
Хемолітоавтотрофи *Acidithiobacillus ferrooxidans,* *T. thiooxidans, T. organoparus,* *Leptospirillum ferrooxidans,* *Sulfobacillus termosulfidooxidans,* *Sulfolobus acidocaldarius*	Купне, підземне, чанове вилуження металів з руд і концентратів, з відходів пірометалургійних виробництв, для звільнення вугілля від сульфідного Сульфуру
Хемоорганогетеротрофи Бактерії, дріжджі, мікроміцети та їх метаболіти	Вилучення хімічних елементів із карбонатних і силікатних руд, гірських порід, вилуження Ауруму, Мангану, вилучення металів з розчинів

Найбільш широко в технологіях вилуження металів використовують аеробну бактерію *Acidithiobacillus ferrooxidans* — грамнегативну рухливу паличку, яка має полярний джгутик і не утворює спор. Це облігатно автотрофний мікроорганізм, тобто джерелом Карбону є вуглекислий газ. Отримує енергію від окиснення різних сполук сірки, сульфідних руд, ряду елементів з перемінною валентністю: Fe^{2+}, Cu^{+}, Zn^{2+}, Sb^{3+}, Se^{2-}, U^{4+}. Оптимальні умови для росту — pH 1,3–4,5, температура 30–35 °С. Інші види тіобацил не здатні до окиснення двовалентного Феруму, проте активно окиснюють різні сполуки Сульфуру.

Leptospirillum ferrooxidans — облігатно автотрофна бактерія, яка окиснює Fe^{2+}. Це невеличка спірила, має полярний джгутик, мешкає у водоймах та сульфідних родовищах при pH 1,5–4,0.

БІОЛОГІЯ ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Співка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

Sulfobacillus thermosulfidooxidans, *Sulfolobus acidocaldarius* — автотрофи, термофіли, археї, оптимальна температура росту 45–75 °С, pH 1–4. Крім Феруму окиснюють Сульфур та сульфідні мінерали.

Поряд з автотрофними мікроорганізмами в геотехнологіях найшли застосування гетеротрофні мікроорганізми. Наприклад, бактерії, які використовують сульфати як акцептор електронів, відновлюючи його до гідроген сульфіду. Сульфатвідновлювальні бактерії — строгі анаероби, мають різну морфологію клітин. Ці бактерії використовують для осадження металів з розчину шляхом зв'язування останніх з бактеріальним гідроген сульфідом.

Ряд мікроорганізмів здатні руйнувати мінерали гірських порід за рахунок виділення органічних кислот, полісахаридів та інших метаболітів у широкому діапазоні pH. Наприклад, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus megaterium* руйнують силікатні мінерали за рахунок розриву Si–O–Si зв'язку.

Сульфідні мінерали є основним джерелом отримання більшості металів. Бактеріальне окиснення сульфідних мінералів включає такі етапи:

1. Адсорбцію бактерій на поверхні мінералу.
2. Деструкцію кристалічної ґратки.
3. Транспорт в клітину елементів, які окислюються.
4. Ферментативне окиснення всередині клітини.

Такі процеси проходять за законами електрохімічної корозії і залежать від складу і структури мінералу. Наслідком бактеріального вилуження є утворення розчинних сульфатів металів, H_2SO_4 та $Fe_2(SO_4)_3$. Наприклад, окиснення халькопіриту здійснюється згідно з реакціями:

$$CuFeS_2 + 4O_2 \rightarrow CuSO_4 + FeSO_4 \text{ (}A.\ ferrooxydans\text{)}$$

$$2FeSO_4 + 0{,}5O_2 + H_2SO_4 \rightarrow Fe_2(SO_4)_3 + H_2O \text{ (}A.\ ferrooxydans\text{)}$$

$$CuFeS_2 + 2\,Fe_2(SO_4)_3 \rightarrow CuSO_4 + 5FeSO_4 + 2S \text{ (хімічно)}.$$

Розрізняють купне, підземне та чанове вилуження металів. Технологічна схема купного та підземного вилуження наведена на рис. 9.6. Водний розчин H_2SO_4, який містить Fe^{3+} та бактерії, повинен просочити рудну породу. В руді, в присутності бактерій та кисню, нерозчинні сульфіди окиснюються, утворюючи розчинні сульфати. Рідкісні елементи, присутні у сульфідних мінералах, переходять у розчин внаслідок руйнування кристалічної ґратки.

Розчини металів збирають у спеціально обладнаних відстійниках, звідки метали вилучають різними способами, а розчин знову подається на руду, утворюючи замкнену систему.

Купне вилуження проводять у відвалах бідних руд, які залишились після основного добутку, або якщо вилучення металів звичайним способом не є рентабельним. Таку руду насипають шарами на спеціально підготовлених майданчиках, створюючи купи. Розчин подають шляхом розбризкування на поверхню купи (рис. 9.7).

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук І.І., Сквіка Л.М., Серінчук Т.М. та ін

Рис. 9.6. Схема купного та підземного вилуження металів з руд

Підземне вилуження проводять у місцях залягання руди. Розчин для вилуження подається через свердловини.

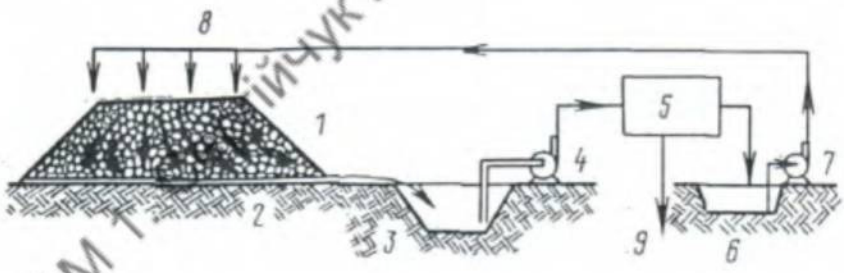


Рис. 9.7. Схема процесу купного вилуження. 1 — купа руди; 2 — поверхня ґрунту; 3 — ставок, для збирання розчинів; 4 — насос; 5 — пристрій для осадження металу з розчину; 6 — ставок для відпрацьованого розчину; 7 — насос; 8 — система зрошення відвалу; 9 — метал

Собівартість металів, отриманих бактеріальним, купним або підземним вилуженням, у 1,5–2 разів нижча, ніж при звичайних способах добутку.

Чанове вилуження використовують для переробки складних сульфідних концентратів та руд цінних металів. Процес здійснюють у спеціальних ємностях (пачуках), які послідовно з'єднані між собою. В пачуки вносять *пульпу* — подрібнену руду, змішану з водою, та мікроорганізми. Здійснюють постійне

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1 ... Сківка Л.М., Серійчук Т.М. та ін

перемішування, аерацію, забезпечують оптимальну температуру, pH. Використовують адаптовану до певної руди культуру мікроорганізмів у кількості (10^{10}–10^{11} кл/мл).

Вилуження з силікатних мінералів. Ряд металів входять до складу силікатних мінералів. Мікроорганізми, виділяючи метаболіти, здатні руйнувати силікатні і алюмосилікатні мінерали, переводячи у розчин різні хімічні елементи. Гетеротрофні мікроорганізми сприяють вилученню з гірських порід та мінералів Ауруму, Алюмінію, Нікелю, Купруму та інших металів.

Мікробіологічне вилуження Алюмінію з алюмосилікатів здійснюють за допомогою грибів *Aspergillus niger*. Розчин для вилуження отримують з культуральної рідини гриба, який культивують на мелясі. Цей мікроорганізм синтезує високі концентрації лимонної та щавлевої кислот, концентрація яких в культуральній рідині сягає 200 г/л.

Процес здійснюють чановим способом у спеціальних кислотостійких реакторах при температурі 90–100 °С. За таких умов 90–95 % алюмінію екстрагується протягом 5-ти годин.

Вилуження Мангану. В довкіллі Манган присутній більш ніж у ста мінералах. Основні запаси існують у вигляді окислів (піролюзит MnO_2), карбонатів (родохрозит $MnCO_3$), силікатів (родоніт $(CaMnO_4)[Si_5O_{15}]$).

Для вилучення Мангану з цих руд необхідно перевести його з чотирьохвалентного стану до двовалентного. Таке відновлення може відбуватись різними шляхами, проте практичне застосування має дія органічних кислот бактеріального синтезу, особливо мурашиної і щавлевої:

$$MnO_2 + HCOOH + 2H^+ \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O + CO_2$$

$$MnO_2 + HOOCCOOH + 2H^+ \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O + 2CO_2.$$

Для відновлення Mn^{4+} використовують мікроорганізми, віднесені до родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*. За допомогою бактеріального вилуження отримують Mn до 90–96 % з оксидних руд, 60 % з карбонатних і до 85 % з силікатних.

Вилуження Ауруму. В основі бактеріального вилуження Ауруму лежить реакція взаємодії його з амінокислотами в присутності сильних окисників. Амінокислоти і білки в лужному середовищі (pH 9–10), в присутності H_2O_2 можуть взаємодіяти з Аурумом з утворенням Au-N зв'язку. Роль гідроген пероксиду полягає у переведенні Au в іонний стан.

Найбільшу активність у вилученні Ауруму проявляють бактерії роду *Bacillus*, такі як *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*.

Мікробіологічне вилучення металів з розчинів. Завершальна стадія гідрометалургійних процесів — вилучення металів з розчинів. Крім хімічних способів осадження металів з розчинів існують також мікробіологічні. Ці процеси базуються на здатності мікроорганізмів до сорбції, осадження металів у вигляді сульфідів, відновлення та окислення металів.

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук М.І., Скляр П.М., Серпінчук Т.М. та ін

Осадження сульфідів металів. Сульфатвідновлювальні бактерії утворюють гідроген сульфід, який практично повністю осаджує метали з розчину. Культивування цих бактерій проводять в анаеробних умовах при постійному перемішуванні. Джерелом органічної речовини можуть бути гас, олеїнова кислота, терпенол, ксантогенат натрію. Ступінь вилучення металів, наприклад Купруму Молібдену, Вольфраму, сягає 94–98 %.

Окиснення та відновлення металів. Арсен в тривалентному стані більш розчинний, ніж у п'ятивалентному. Для вилучення Арсену з розчинів необхідно його окиснити, тобто перевести у п'ятивалентну форму. Культура *Pseudomonas putida* здатна до окиснення As(III) в слабколужному та нейтральному середовищі.

Практичне застосування має процес відновлення шестивалентного Хрому. Культура *Pseudomonas dechromaticans* в анаеробних умовах відновлює шестивалентний хром до тривалентного, який осаджується у вигляді $Cr(OH)_3$. Процес здійснюють при pH 8–9, використовуючи побутові стічні води як джерело органічної речовини.

Біосорбція металів. В основі біосорбції лежать процеси взаємодії з поверхневими структурами клітин мікроорганізмів, мікробними метаболітами та екзополімерами. Для сорбції використовують бактерії, дріжджі, міцеліальні гриби, водорості.

Бактерії активно сорбують метали з розчинів в основному за рахунок фосфатних і уронових груп екзополісахаридів, а міцеліальні гриби — за рахунок наявності в клітинній стінці хітину.

Використання знайшли жива і мертва біомаса, екзометаболіти, а також препарати, створені на їх основі. Культура *Zoogloea raminera* утворює велику кількість екзополісахаридів при рості на середовищі з вуглеводами. Її використовують для сорбції Купруму, Кадмію, Урану.

Вважається перспективним використання інактивованої біомаси та виготовлених на її основі сорбентів. Наприклад, біосорбент М, який розроблений в Чехії. Для його отримання міцелій *Penicillium chrisogenum* (відходи виробництва антибіотиків) обробляють сечовиноформальдегідним поліконденсатом. В результаті утворюється щільний продукт, який подрібнюють до гранул розміром 0,3–0,8 мм.

За допомогою мікроорганізмів можливо вилучити з розведених розчинів до 100 % Плюмбуму, Меркурію, Цинку, Купруму, Нікелю, Кобальту, Мангану, Хрому, Урану, до 96–98 % Ауруму і Аргентуму, до 84 % Платини, 93 % Селену.

Вилучення Сульфуру з вугілля. Вугілля містить до 10–12 % Сульфуру. При спалюванні вугілля Сульфур перетворюється у діоксид сульфуру, який потрапляє в атмосферу, де окиснюється до сульфатної кислоти, що призводить до утворення кислотних дощів. Для видалення Сульфуру з вугілля використовують *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *A. thiooxidans*, *T. organoparus*. Мікроорганізми окиснюють Сульфур з утворенням сульфатної кислоти. За 5 діб вилучається майже 100 % Сульфуру з вугілля.

БІОЛОГІЯ том 1. Сергійчук І.М., Сківка Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

Зниження концентрації метану у вугільних шахтах здійснюється за допомогою мікроорганізмів, які окиснюють метан. Незважаючи на широке розповсюдження метанокиснювальних мікроорганізмів в довкіллі, у вугільних пластах вони практично відсутні. Мікробну біомасу вирощують у ферментерах. Бактеріальну суспензію, разом з розчином солей Нітрогену та Фосфору, закачують насосами у вугільний пласт. Концентрацію метану знижують у 2 рази, використовуючи мікробіологічний метод.

Підвищення нафтодобутку мікробіологічними методами застосовують для важких, смолянистих нафт, або при закупорці свердловин важкими фракціями нафти. Суспензію вуглеводеньокиснювальних та метанутворювальних мікроорганізмів разом з розчином солей Нітрогену і Фосфору закачують у нафтові свердловини. Мікроорганізми починають активно розмножуватись, використовуючи вуглеводні нафти. Внаслідок розвитку вуглеводеньокиснювальних бактерій утворюється вуглекислий газ, гідроген, низькомолекулярні органічні кислоти. Ці метаболіти потрапляють в анаеробну зону, де перетворюються метаногенами у метан. Руйнування поверхневих шарів нафти з одночасним утворенням газів призводить до розрідження нафти, підчищення газового тиску в нафтовому пласті. Всі ці перетворення дозволяють підвищити добуток нафти.

9.6. Біоремедіація довкілля

Біоремедіація — це будь-який процес, у якому використовуються мікроорганізми, гриби, рослини або їх ферменти, спрямований на повернення забрудненого довкілля у його природний стан. За допомогою мікроорганізмів очищають стічні побутові та промислові води, ґрунтові води, забруднені ґрунти, а також при переробці відходів сільського господарства отримують біогаз.

Очищення стічних вод. Стічні води можуть містити ксеноботики. *Ксенобіотик* (від грецького *xenos* — чужий, *bios* — життя) — це сполуки, які є чужими, нетиповими, неприйнятними для живих організмів та довкілля. Більшість із них штучно синтезована людиною. Це різноманітні синтетичні полімери, барвники, пестициди, фармацевтичні препарати, мийні засоби. Оскільки речовини з такою структурою молекул у природі раніше не існували, мікроорганізми зазвичай не мають відповідних метаболічних шляхів і ферментів для їх утилізації. До ксенобіотиків належать також речовини і природного походження, але отримані в надзвичайно великих кількостях і переміщені в місця, не властиві їм (наприклад, нафта, важкі метали). Більшість ксенобіотиків руйнуються повільно або зовсім не піддаються біологічному руйнуванню, тобто є *персистентними* сполуками. Вони часто мають токсичні, мутагенні, канцерогенні й алергенні властивості.

Мікроорганізми очищають стічні, використовуючи забрудники як субстрат для свого харчування. *Біологічне руйнування* (*біодеградація*) — це перетворення складних речовин за допомогою біологічних процесів. Залежно від глибини перетворення субстрату мікроорганізмами розрізняють:

БІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

a) трансформацію — незначні зміни молекули;
b) фрагментацію — розщеплення складної молекули до більш простих фрагментів;
c) деструкцію (мінералізацію) — перетворення складної речовини у найпростіші сполуки (H_2O, CO_2, H_2, NH_3, CH_4 тощо).

Біологічні методи очищення стічних вод поділяються на ґрунтові та індустріальні. *Ґрунтові методи* передбачають влаштування примітивних споруд, обвалувань та дамб. До них належать поля зрошення, поля фільтрації, фільтрувальні колодязі, піщано-гравійні фільтри, біологічні ставки. Усе це малопотужні споруди з низькою пропускною здатністю. Стічна вода очищається в них за рахунок як біологічних процесів (гниття, біоокиснення), так і фізичних (випаровування, фільтрація, виморожування). Біологічні процеси здійснюють ґрунтові мікроорганізми. Перші поля зрошення вперше у Російській імперії були створені в Україні: в Одесі у 1887 р., а у Києві в 1894 р. Загальні недоліки ґрунтових методів наступні. Очисні споруди займають великі площі, вони малопотужні, малоефективні, функціонують переважно в теплу пору року. Процеси, що в них відбуваються, практично не керовані. Ґрунтові методи непридатні для очищення промислових стічних вод, а при очисці побутових стоків можуть бути джерелом розповсюдження патогенних бактерій та яєць гельмінтів. Частина забруднень з цих примітивних очисних споруд може потрапляти у відкриті водойми та підземні води.

Індустріальні методи передбачають застосування складних за конструкцією очисних споруд, кількаступеневих технологічних схем та складних асоціацій мікроорганізмів, які знаходяться у планктонному (вільноплаваючому) стані, у вигляді пластівців, біоплівки чи гранул. Очистка може здійснюватися як за аеробних, так і за анаеробних умов. До аеробних очисних споруд належать аеротенки, біофільтри та обертові біоконтактори, до анаеробних — метантенки, анаеробні реактори різних конструкцій (UASB-реактори, EGSB-реактори, тощо).

Аеробні біологічні очисні споруди (аеротенки, біофільтри, обертові біоконтактори) очищають стічні води за рахунок життєдіяльності аеробних мікроорганізмів, які в них знаходяться у планктонному стані або у вигляді біоплівок.

Аеротенки — це аеробні біологічні очисні споруди. Перший аеротенк був створений в Англії у 1914 році. Зазвичай, це залізобетонні канали, глибиною 4–5 м і шириною 3–11 м. Головною і необхідною ознакою роботи аеротенків є постійне насичення води киснем, тобто аерація. Забрудники води в аеротенках руйнуються за рахунок життєдіяльності активного мулу. *Активний мул* — це складний біоценоз, що складається з бактерій, грибів, водоростей, найпростіших, червів та деяких членистоногих. Він має вигляд коричневих флокул і утворюється в аеротенку за певних умов. Основну роль в очищенні стічної води відіграють бактерії. Саме вони забезпечують біохімічне перетворення органічних та неорганічних сполук. У порівнянні з іншими членами біоценозу, бактерії є найбільш стійкими до токсичної дії забрудників, вони

БІОЛОГІЯ ТОМ 1, Сергійчук М.Г., Скіпка І.М., Сергійчук І.М. та ін

досить швидко адаптуються до зміни складу стоків та коливань концентрації кисню. Бактерії є джерелом харчування для гідробіонтів. У активному мулі мешкає широкий спектр аеробних, анаеробних та факультативно-анаеробних бактерії. Саме останні мають найбільше значення для виживання мулу при можливій тимчасовій відсутності кисню. Серед хемоорганотрофних бактерій домінують роди *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Sarcina*, *Mycobacterium*. Зустрічаються і хемолітотрофні види, наприклад, *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*. Точну кількість бактерій і їх видовий склад визначити неможливо, бо на відомих поживних середовищах культивується не більше 10–20 % бактерій активного мулу. Так, на оптимальному середовищі з муловою витяжкою виростає приблизно $1{,}75 \cdot 10^8$ КУО/1 г сухого мулу.

Найбільша технологічна цінність активного мулу полягає у його здатності утворювати великі і досить важкі конгломерати — *флокули* або *пластівці*, які відносно легко і швидко осідають у відстійниках і відокремлюються від очищеної води. Основна роль у формуванні флокул належить бактерії *Zoogloea ramigera* — капсульній грамнегативній монотрихіальній гетеротрофній аеробній паличці. Вона синтезує багато позаклітинного полімеру, схожого на целюлозу, який складається з N-ацетилглюкозаміну та N-ацетилфукозаміну у співвідношенні 1: 2. Ця позаклітинна капсула сорбує зі стічної води органічні забрудники та метали, а також адгезує інші бактерії. Процес утворення флокули остаточно не вивчено. Вважається, що мають місце такі механізми:

- негативно заряджені клітини з'єднуються між собою катіонними містками;
- клітини з'єднуються за рахунок гетерополісахаридих полімерів, які поводять себе як поліелектроліти;
- клітини з'єднуються між собою целюлозними фібрилами.

Порушення технології роботи аеротенків, такі як: недостатня аерація, залпове надходження великої кількості концентрованої стічної води, потрапляння в очисну споруду токсичних сполук, різка зміна pH, недостатня кількість азоту та фосфору, тощо, може призвести до порушення рівноваги у біоценозі активного мулу. За таких умов мул спучується і виноситься з аеротенка потоком води. Очисна споруда виходить з ладу. Для відновлення її роботи після такої аварії необхідно завозити активний мул з інших очисних споруд, поступово нарощувати потрібну кількість біомаси, адаптувати до даних стічних вод, що іноді вимагає 2–3 місяців. Спучення активного мулу супроводжується активним розвитком нитчастих форм бактерій — *Nostocoida limicola*, *Microthrix parvicella*, *Sphaerotilus natans*, *Sphaerotilus dichotomus*, *Leptothrix ochracea*, *Beggiatoa*.

Анаеробні біологічні очисні споруди (метантенки, анаеробні біореактори) очищають стічні води за рахунок життєдіяльності анаеробних мікроорганізмів, які в них знаходяться у планктонному стані або у вигляді біоплівок.

Метантенки — це герметичні закриті споруди, у яких перетворення органічних речовин забезпечується життєдіяльністю складного угрупування анаеробних

БІОЛОГІЯ. Том 1. Серпінський М.І., Сікітка І.М., Серпінський Т.М. та ін

мікроорганізмів. Традиційно метантенки використовуються для зброджування сирих осадів первинних відстійників та надлишкового активного мулу аеротенків. Осади та активний мул завантажується у метантенк і витримуються без доступу кисню протягом 10–30 діб у мезофільних (30–35 °С) чи термофільних (50–55 °С) умовах, тобто цей технологічний процес є періодичним. Анаеробне угрупування мікроорганізмів метантенка — *анаеробний мул* — здійснює складне перетворення органічних речовин, що включає чотири стадії:

1. Стадія ферментативного гідролізу складних полімерних молекул (полісахаридів, білків, ліпідів) до простих (цукрів, органічних кислот, гліцерину, амінокислот) за допомогою позаклітинних ферментів целюлозолітичних, пектинолітичних, ксиланолітичних, амілолітичних, протеолітичних бактерій.

2. Стадія кислотогенезу характеризується накопиченням коротколанцюгових органічних кислот завдяки життєдіяльності бактерій первинних бродильників: 20 % органічних речовин перетворюється на ацетат, 15 % — на пропіонат, 65 % — на інші леткі жирні кислоти, спирти, CO_2 та H_2. Інтенсивне протікання цієї стадії може призвести до різкого зниження pH середовища і пригнічення наступних стадій.

3. Стадія ацетогенезу. Органічні кислоти і спирти перетворюються на ацетат за рахунок синтрофних бактерій (вторинних бродильників).

4. Стадія метаногенезу характеризується утворенням біогазу. Основний його компонент — метан виділяється як кінцевий метаболіт метаногенних археїв при їх рості на суміші CO_2 та H_2, метанолі, метиламінах, ацетаті. Друга складова біогазу — CO_2 накопичується в основному в результаті метаногенезу на ацетаті. Мінорні гази: молекулярний азот утворюється за рахунок процесів денітрифікації, а сірководень — дисиміляційної сульфатредукції.

Оскільки перетворення органічних речовин у метантенку закінчується виділенням метану, цей процес отримав загальну технологічну назву *метанове бродіння*. Однак, слід зазначити, що власне метаногенез відбувається лише на четвертій стадії, а перші три не є метаногенними.

Метантенки та аналогічні анаеробні реактори використовуються не лише для утилізації складних органічних відходів, а й для отримання біогазу. Часто ці дві задачі виконуються одночасно.

Біогаз — це суміш газів, що утворюються при біодеструкції органічних матеріалів за анаеробних умов. На 50–70 % він складається з метану, на 30–40 % — з вуглекислого газу, а також містить інші гази у слідових кількостях. Можливий склад біогазу наведено у табл. 9.6.

Біогаз на 20 % легший за повітря, температура його займання становить 650–750 °С. Він безбарвний, не має запаху, горить світлим блакитним полум'ям. Його калорійність становить 20 мегаДж на $м^3$, а ефективність згорання— 60 %.

На вихід біогазу впливають такі фактори, як співвідношення вуглецю та азоту у сировині (C/N рівень), розчинність та консистенція сировини, кількість летких сполук.

БІОЛОГІЯ том 1, Сегінчук Л.М., Сегінчук Т.М. та ін

Таблиця 9.6.

Приблизний склад біогазу

Речовини	Позначення	Кількість,%
Метан	CH_4	50–70
Вуглекислий газ	CO_2	30–40
Молекулярний водень	H_2	5–10
Молекулярний азот	N_2	1–2
Водяна пара	H_2O	0,3
Сірководень	H_2S	Сліди

Співвідношення кількості Карбону до Нітрогену в сировині називається *C/N рівнем* і має значення для метаногенгезу. Оптимальним C/N рівнем для анаеробних процесів є 20–30. Якщо C/N рівень дуже високий, клітини мікроорганізмів будуть мати недостатньо азоту для біосинтезу і приросту біомаси. Як результат — рівень метаногенезу буде низьким. З іншого боку, при низькому C/N рівні, азот буде акумулюватися у середовищі у вигляді аміаку, підвищувати рівень pH у реакторі та інгібувати метаногенез. Метаногени інгібуються при pH 8,5.

Аеробні та анаеробні біологічні методи очищення стічних вод мають свої переваги і недоліки, наведені у табл. 9.7.

Таблиця 9.7.

Переваги і недоліки аеробних та анаеробних меодів біологічного очищення стічних вод

Методи	Переваги	Недоліки
Аеробні	Глибоке очищення стічних вод	Очищає стічні води з ХСК не вище 3000 мг/л
	Проста технологічна схема	Лімітація киснем через його низьку розчинність у воді
	Процес досить швидкий (час перебування 7–24 години)	Високий приріст надлишкової біомаси, яку потрібно утилізувати
	Стічну воду можна очищати як від органічних сполук, так і від амонію шляхом нітрифікації	Енергозатрати на постійну аерацію достатньо високі
		Надлишковий активний мул може містити патогенні мікроорганізми та гельмінти і потребує подальшої обробки

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сквірка П.М.,Сергійчук Т.М. та ін

Закінчення табл. 9.7.

Методи	Переваги	Недоліки
Анаеробні	Очищає висококонцентровані стічні вод (ХСК від 3000 до 50000 мг/л) та розкладає тверді органічні відходи	Очистка недостатньо глибока. З води не видаляється NH_4^+, H_2S, а БСК знижується лише на 80–90 %. Тому після анаеробної очистки необхідне біологічне аеробне чи фізико-хімічне доочищення води
	Не потребує аерації, тому споживання електроенергії (якщо непотрібно обігрівати реактор) складає всього 10 % у порівнянні з аеробною очисткою	Технологічне обладнання потребує герметичності та певних заходів щодо техніки безпеки у зв'язку з утворенням біогазу
	Потреба у біогенних елементах невисока, бо приріст біомаси незначний	Процес очистки займає багато часу (від 15 до 30 діб)
	Можливе утворення біогазу (0,26–0,34 м^3 CH_4 на 1 кг за ХСК)	Анаеробні бактерії ростуть дуже повільно, тому запуск реактора із зануреним біофільтром чи гранульованим мулом займає багато часу (до кількох місяців)
	Стічну воду можна очищати як від органічних сполук, так і від сульфатів, нітратів, важких металів в результаті процесів сульфатредукції, нітратредукції, утворення та висадження сульфідів важких металів	Анаеробні бактерії досить чутливі до багатьох речовин (аміак, катіони, ціаніди, хлорвмісні вуглеводні, іони важких металів)
	За допомогою фізико-хімічних методів із води після анаеробної очистки можна регенерувати такі корисні продукти, як аміак та сірку	
	Утворення надлишкового мулу незначне	
	Анаеробний мул достатньо стабільний і не потребує подальшої обробки	
	Анаеробний мул можна зберігати без втрати активності в умовах відсутності харчування. Це дуже важливо для галузей з періодичним циклом виробництва	
	Зброджений осад після термофільного процесу не містить патогенних мікроорганізмів і може використовуватися як добриво	

Позначення: ХСК — Хімічне споживання кисню — це показник забруднення води органічними речовинами.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Т., Сківка Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

Традиційну і найбільш розповсюджену у світі *технологічну схему очищення муніципальних (побутово-фекальних) стічних вод* наведено на рис. 9.8, вона включає три етапи:

1. Механічна очистка

a) У граберному відділенні вода проходить крізь решітки, на яких затримуються грубі механічні домішки. Ці домішки вивозять на сміттєспалювальний завод.

b) На піскоуловлювачах осідає пісок, відділяється від води і вивозиться.

c) На первинних відстійниках силами гравітації від води відділяються нерозчинні домішки, осідають на дно і відкачуються у метантенки. Жири збираються на поверхні відстійника, згрібаються певними пристроями в бункер і також направляються у метантенки.

2. Біологічне очищення

a) В аеротенках відбувається аеробне окиснення розчинних органічних забрудників води активним мулом.

b) У вторинних відстійниках активний мул осідає і відділяється від води. Частина його подається знову в аеротенки, а надлишок — у метантенки, або вивозиться на мулові майданчики.

c) У метантенках відбувається анаеробна деструкція сирого осаду та жирів з первинних відстійників та надлишкової біомаси активного мулу зі вторинних відстійників.

3. Фізико-хімічне доочищення води полягає у її знезараженні, тобто знищенні патогенних мікроорганізмів. Це може здійснюватися хлоруванням, іноді опроміненням ультрафіолетом чи озонуванням. Існує думка, що хлорування очищеної води є недопустимим, бо при цьому утворюються токсичні хлорорганічні сполуки. Для повного і безпечного доочищення води її можна обробляти коагулянтами та флокулянтами, відстоювати і фільтрувати крізь пісок та активоване вугілля.

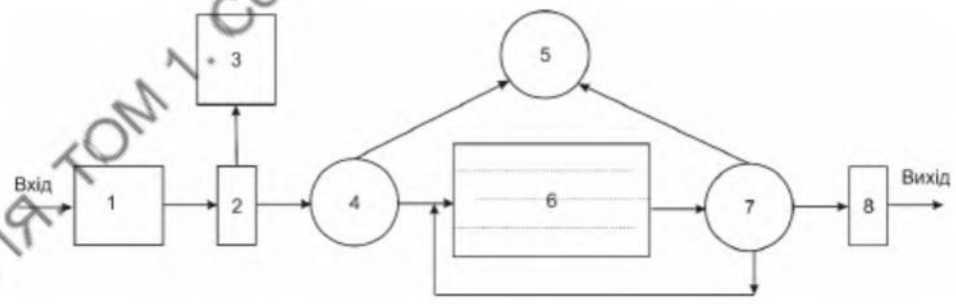


Рис. 9.8. Технологічна схема очистки господарсько-фекальних стічних вод. 1 — граберне відділення; 2 — піскоуловлювач; 3 — майданчик для вивезення піску; 4 — первинний відстійник; 5 — метантенк; 6 — аеротенк; 7 — вторинний відстійник; 8 — фізико-хімічне доочищення води

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.Г., Сквірська Т.М., Сергійчук Т.М. та ін

Біоремедіація ґрунтів та ґрунтових вод. Біоремедіація грунтів може здійснюватися двома способами:

1. Шляхом внесення у забруднений ґрунт біоелементів (Нітрогену та Фосфору), води, кисню, що сприяє збільшенню активності ґрунтових мікроорганізмів, а отже і деструкції забрудників.

2. Шляхом *біоаугментації* — внесенням у забруднений ґрунт спеціально селекціонованих чи генетично-модифікованих високоактивних штамів-деструкторів.

Біоремедіацію забрудненого ґрунту здійснюють у біореакторах — емностях чи контейнерах, у яких контрольовано відбувається біодеструкція забрудників. Конструкція біореактора залежить від типу забрудника, складу забрудненого грунту та вартості технології. Існує два основних типи біореакторів:

1. Сухі реактори застосовуються у випадках неглибокого забруднення ґрунту. Очищення відбувається за допомогою ґрунтових мікроорганізмів. Невелика кількість рідини надходить у біореактор шляхом спеціальної системи розбризкування води або в результаті природного випадання осадів. У ґрунт додають також біогенні елементи. Необхідний рівень кисню забезпеується шляхом фізичного перемішування землі. У ґрунті може бути прокладена система труб для видалення летких випаровувань.

2. Пульпові реактори є більш ефективними для очистки ґрунту від складних забруднень. В них ґрунт змішується з великою кількістю води, мікроорганізмами та поживними речовинами до утворення ґрунтової пульпи. У пульпових реакторах легше підтримувати необхідні параметри процесу очистки, ніж у сухих. В них деструкція забрудників відбувається швидше за рахунок меншого утворення грудок, гомогенізації ґрунту та кращого контакту ксенобіотиків з біомасою. Однак, у пульпових реакторах можуть виникати труднощі при розділенні води та землі, особливо у випадку високого вмісту глини. Крім того, вода, що контактувала із забрудненим ґрунтом, потребує додаткового доочищення.

Біоремедіацію ґрунтових вод здійснюють у реакторах із імобілізованою біоплівкою за аеробних чи анаеробних умов. Ґрунтові води попередньо піднімають на поверхню, пропускають крізь біореактор, а потім повертають назад під землю.

Питання для самоконтролю

1. Яким вимогам мають відповідати промислові штами мікроорганізмів?
2. Назвіть прокаріотитчні та еукаріотичні мікроорганізми, що беруть участь у процесі спиртового бродіння.
3. Опишіть технологічні схеми виготовлення пива і вина, вкажіть схожі риси і відмінності.
4. Назвіть мікроорганізми, які використовують для отримання кисломолочних продуктів.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчик І.М., Скіпка І.М., Остапчук Т.М. та ін

5. Які основні етапи отримання антибіотиків?
6. Назвіть продуцентів органічних кислот, які використовують у промисловості.
7. Які мікроорганізми використовують для підвищення родючості ґрунту?
8. Поясніть роль мікроорганізмів у процесі вилуження металів з руд.
9. Які процеси відбуваються при мікробній деструкції ксенобіотиків?
10. Охарактеризуйте ґрунтові та індустріальні біологічні методи очищення стічних вод.
11. Які очисні споруди здійснюють аеробне очищення стічних вод?
12. Що таке активний мул? Які його технологічні переваги і недоліки?
13. Які стадії трансформації субстрат проходить у метантенку?
14. Який склад, енергетична цінність і практичне значення біогазу? Яка технологія його отримання?
15. Яким способом можна очистити ґрунти і підземні води від ксенобіотиків за допомогою мікроорганізмів?

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РОЗДІЛ 10.
САНІТАРНА МІКРОБІОЛОГІЯ

10.1. Мікробіологічні показники санітарно-гігієнічної оцінки об'єктів навколишнього середовища

Санітарна мікробіологія — наука, що вивчає мікрофлору навколишнього середовища та ті процеси її життєдіяльності, які можуть негативно впливати на здоров'я людей та довкілля.

Задачами санітарної мікробіології є: розробка методів мікробіологічних і вірусологічних досліджень ґрунту, води, повітря, предметів побуту, харчових продуктів та ін.; вивчення джерел забруднення навколишнього середовища мікрофлорою, що становить небезпеку для людини; дослідження життєдіяльності мікроорганізмів у навколишньому середовищі, особливо в умовах його хімічного і біологічного забруднення; визначення нормативів для гігієнічної оцінки об'єктів навколишнього середовища, в тому числі харчових продуктів (за мікробіологічними показниками); обґрунтування заходів для оздоровлення об'єктів навколишнього середовища і контроль за ефективністю їх виконання (якість водопостачання, робота підприємств харчової промисловості і громадського харчування, знезаражування стічних вод та ін.).

Мікрофлора навколишнього середовища представлена, головним чином, сапрофітними мікроорганізмами. Потенційно небезпечною для людини є лише частина (близько 1:30000), проте саме ці мікроорганізми з гігієнічної точки зору — один з найважливіших, постійно діючих несприятливих факторів середовища.

Особливістю санітарно-мікробіологічної оцінки довкілля є одночасний облік як кількісних показників мікрофлори, так і показників, що характеризують її стан. При санітарно-мікробіологічних дослідженнях з'ясовується лише потенційна небезпека того чи іншого об'єкта для людей та тварин, тобто можлива присутність патогенних мікроорганізмів, а не пряме їхнє виявлення. У цьому полягає одна із відмінностей санітарно-мікробіологічних досліджень від діагностики.

Знання основних положень санітарної мікробіології необхідне для санітарно-гігієнічної оцінки стану ґрунтів, води, повітря, харчових продуктів; дослідження випадків харчових отруєнь та їхньої профілактики; організації, гігієнічної оцінки очищення та знезараження різних об'єктів; контролю особистої гігієни працівників дитячих, лікувальних, фармацевтичних та оздоровчих закладів, харчових підприємств тощо.

У зв'язку з цим санітарний мікробіолог повинен знати біологічні властивості мікроорганізмів, які викликають забруднення довкілля, псування харчових продуктів, методи мікробіологічних та вірусологічних досліджень об'єктів навколишнього оточення (ґрунту, води, повітря), а також методи оцінки шляхів та ступеня інфікування тваринами та людиною оточуючого середовища пато-

Мікробіологія, том 1, Сергійчук І.Г., Сивко І.М., Сергійчук Т.М. та ін

генними бактеріями та вірусами; нормальний взаємообмін мікрофлорою між тваринами, людиною, довкіллям; виробничі та побутові процеси, що викликають порушення природного самоочищення та знезараження середовища.

Для виявлення патогенних мікроорганізмів необхідні спеціальні дослідження з використанням елективних живильних середовищ, складних методик та обладнання. Тому такі дослідження застосовуються лише при виникненні загрози зараження.

Найчастіше санітарно-гігієнічний стан об'єктів довкілля оцінюють за непрямими мікробіологічними показниками, які дозволяють визначити ступінь потенційної небезпеки. До них відносять загальне мікробне число (ЗМЧ) (загальне мікробне забруднення), та забрудненість об'єкта виділеннями людини і тварин, яку визначають кількісним підрахунком санітарно-показових мікроорганізмів (СПМ), показників фекального та повітряно-крапельного забруднення (індекс).

Практична санітарна мікробіологія використовує два основних методи оцінки санітарно-епідемічного стану зовнішнього середовища: пряме виявлення патогенних мікроорганізмів та виявлення непрямих ознак перебування патогенів у довкіллі.

Методи прямого виявлення патогенних мікроорганізмів є найбільш точні і надійні критерії оцінки епідемічної загрози довкілля. Найчастіше проводять посіви досліджуваного матеріалу на живильні середовища. Однак на очікувані результати досліджень можуть вплинути наступні фактори:

- Вміст патогенних мікроорганізмів у довкіллі відносно малий, близько 1:30000 всього видового складу мікрофлори зовнішнього середовища. При цьому патогенна мікрофлора розподілена нерівномірно, що робить необхідним проведення серійних досліджень у динаміці певного періоду.
- Виділення одного збудника далеко не завжди свідчить про присутність інших патогенів. Вказане робить необхідним проведення багатьох рівноправних досліджень. Ситуацію значно ускладнює збільшення ролі умовно-патогенних мікроорганізмів, здатних викликати епідемічні спалахи захворювань.

Методи непрямої ідентифікації передбачають застосування двох критеріїв, за якими можна опосередковано робити висновок про можливу присутність збудника у зовнішньому середовищі: *загальне мікробне число* (ЗМЧ), та забрудненість об'єкта виділеннями людини і тварин, яку визначають кількісним підрахунком *санітарно-показових мікроорганізмів* (СПМ).

ЗМЧ визначають шляхом підрахунку всіх мікроорганізмів, що виросли на живильному середовищі в 1 г або 1 мл субстрату. Використовуючи цей критерій, вважають, що чим більше забруднений об'єкт органічними речовинами, тим більше ЗМЧ і тим вирогідніша присутність патогенів. Наприклад, ЗМЧ для води не має перевищувати 100. Однак це не завжди так: ЗМЧ може бути високим за рахунок сапрофітів, а патогени можуть бути відсутніми, або збільшення сапрофітів значно зменшує строки виживання патогенів у довкіллі. Тому більш

адекватно розцінювати ЗМЧ як показник інтенсивності забруднення навколишнього середовища органічними речовинами.

СПМ називають мікроорганізми, за якими можна опосередковано робити висновок про можливу присутність патогенів у довкіллі. Тобто при їх визначенні вважають, що чим більше об'єкт забруднений виділеннями людини і тварини, тим більше буде СПМ і тим вірогідніша присутність патогенів.

Вміст СПМ визначають двома методами:

1) прямий підрахунок під мікроскопом у рахувальних камерах (наприклад, Петрова або Гельбера). Цей метод застосовується рідко, лише в екстренних ситуаціях при необхідності термінової відповіді про кількісний вміст бактерій (наприклад, при аваріях в системі водопостачання, при оцінці ефективності роботи очисних споруд);

2) посів на щільні середовища — менш точний метод, оскільки виявляє тільки мікроорганізми, що ростуть при заданому режимі (на певних живильних середовищах при певній температурі).

Кількість санітарно-показових мікроорганізмів у досліджуваному матеріалі виражають у вигляді титру чи індексу.

Титр СПМ — це найменший об'єм досліджуваного матеріалу (в мл) чи вагова кількість (у г), в яких виявлена одна клітина санітарно-показового мікроорганізму.

Індекс СПМ — кількість клітин санітарно-показового мікроорганізму в 1 л (г) досліджуваного матеріалу.

Санітарно-показові мікроорганізми повинні відповідати певним вимогам:

- постійно мешкати в організмі людини та тварин і у великій кількості виділятися в навколишнє середовище;
- зберігати життєздатність у зовнішньому середовищі протягом термінів, близьких до виживання патогенних мікроорганізмів, які виділяються тими ж шляхами;
- не повинні розмножуватися в довкіллі;
- не повинні мати у навколишньому середовищі «двійників» або аналогів, з якими їх можна переплутати;
- повинні легко виділятися з об'єктів і не пригнічуватися сапрофітами;
- не повинні змінювати своїх біологічних властивостей;
- не повинні мати іншого природного резервуара, крім організму людини та тварин;
- повинні бути більш стійкими до дії фізичних та хімічних факторів зовнішнього середовища, ніж патогенні мікроорганізми;
- індикація, ідентифікація та кількісний облік повинні здійснюватися сучасними, простими, легко доступними та економічними мікробіологічними методами.

Індикатори забруднення. Між групами СПМ немає чітких меж. Деякі мікроорганізми є показниками як фекального, так і орального забруднення.

БІОЛОГІЯ: ТОМ 1 / Сергійчук М.І., Скітка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Деякі — показниками процесів самоочищення. У зв'язку з цим всі СПМ розцінюють як індикатори біологічного забруднення.

Група А включає мешканців кишечнику людини і тварин. Ці мікроорганізми розцінюють як індикатори фекального забруднення. До цієї групи належать БГКП — ешеріхії, ентерококи, протеї, сальмонели, а також сульфатвідновлювальні клостридії (*Clostridium perfringens*), термофіли, бактеріофаги, *Bacteroides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*.

Група В налічує мешканців верхніх дихальних шляхів та носової порожнини. Мікроорганізми розцінюються як індикатори орального забруднення. До групи В входять патогенні представники родів *Streptococcus* і *Staphylococcus*.

Група С включає сапрофітні мікроорганізми навколишнього середовища. Мікроорганізми цієї групи розцінюються, як індикатори самоочищення. До групи С входять бактерії-протеолізи, бактерії-амоніфікатори і бактерії-нітрифікатори, деякі спороутворювальні бактерії, мікроскопічні гриби, актиноміцети, целюлозоруйнівні бактерії та синьо-зелені водорості.

Санітарно-показові мікроорганізми. Основними джерелами розповсюдження патогенних мікроорганізмів у навколишньому середовищі є люди та теплокровні тварини (хворі, бактеріо- та вірусоносії). Виділення мікроорганізмів до оточуючого середовища відбувається переважно фекальним та повітряно-крапельним шляхами.

До основних СПМ належать БГКП, ентерококи, протеї, сальмонели, *Clostridium perfringens*, термофільні бактерії і бактеріофаги ентеробактерій (коліфаги).

Бактерії групи кишкової палички. БГКП в основному є представниками родини *Enterobacteriaceae*. В залежності від мети і об'єкту дослідження до санітарно-показових БГКП висувають різні вимоги. Їх умовно поділяють на три підгрупи і за різних умов використовують факт їх наявності для бактеріологічної характеристики об'єкту або субстрату.

Підгрупа І містить БГКП, які намагаються виявити, але яких не повинно бути при дослідженні об'єктів і субстратів, «чистих» за своєю природою або які стали чистими в результаті їх обробки (наприклад, термічної). Об'єктами, що мають такі властивості, є: питна і дистильована вода; термічно оброблені харчові продукти (аналізують проби з товщі продукту); молоко (взяте з пастеризатора), супи, соуси, компоти, другі страви (відібрані з котлів); змиви, взяті при проведені контролю ефективності дезінфекції в певні строки (не раніше 45 хв і не пізніше 1 год після обробки).

До бактерій групи кишкових паличок відносяться грамнегативні неспороутворювальні палички, які збродживають лактозу з утворенням кислоти і газу при 37 °С протягом 1–2 діб чи збродживають глюкозу з утвореннями кислоти та газу протягом 1 доби, в яких відсутня оксидазна активність. Позитивна відповідь про наявність у досліджуваному об'єкті БГКП дається на основі визначення грамнегативних паличок і негативного оксидазного тесту.

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

До підгрупи II входять БГКП, що вказують на невизначене за часом фекальне забруднення. Мікроорганізми зброджують лактозу і глюкозу до кислоти і газу при 43–44,5 °С. До цієї підгрупи відносять бактерії (*E. coli*, клебсіели, цитробактери, ентеробактери та ін.), що зберегли здатність до газоутворення за високої температури. Подібні вимоги висувають до БГКП за неможливості вберегти субстрат від забруднення. При цьому слід обмежитись визначенням лише показників епідемічного неблагополуччя. До таких об'єктів відносять: воду відкритих водойм, стічні води, ґрунт і всі харчові продукти, для яких високий ризик забруднення після термічної обробки. В подібних випадках досліджують тверді харчові продукти (поверхневий шар), рідкі харчові продукти, другі і треті страви при роздачі, змиви з обладнання і посуду. Посіви культивують при 43–44,5 °С. *E. coli* диференціюють від інших бактерій за здатністю ферментувати лактозу і глюкозу або тільки глюкозу.

Підгрупа III нараховує БГКП, що вказує на свіже фекальне забруднення. Відмінність бактерій цієї групи — здатність розщеплювати лактозу до газу за 43–44,5 °С.

Бактерії роду Enterococcus. Всі види ентерококів мають санітарно-показове значення і відповідають цілому ряду вимог, що ставляться до СПМ. Ентерококки постійно мешкають у кишечнику людини. Ці бактерії не проявляють вираженої мінливості і не мають аналогів у зовнішньому середовищі, що полегшує їх ідентифікацію. Лише на рослинах виявляють схожі на них стрептококи, але вони не ростуть на лужних середовищах, що використовують для виділення ентерококів. Ентерококи гинуть у довкіллі значно швидше, ніж *E. coli*, тому вони завжди свідчать про свіже фекальне забруднення. За кількістю кишкової палички і ентерококу роблять висновок про масивність свіжого фекального забруднення.

Бактерії роду Proteus. Найбільш санітарно-показове значення мають *Proteus vulgaris* та *Proteus mirabilis*. При цьому *Proteus vulgaris* зазвичай розглядаються як показник забруднення об'єкту органічними речовинами (найчастіше виявляють в гниючих залишках), а *Proteus mirabilis* — як показник фекального забруднення (найчастіше виявляють у фекаліях). *Proteus rettgeri* виділяють з виділень при кишкових інфекціях, тому його виявлення свідчить про епідемічне неблагополуччя. Присутність протеїв у воді, харчових продуктах, змивах завжди свідчить про забруднення об'єкта субстратами, що розкладаються, та про неблагополучний санітарний стан. Харчові продукти, що забруднені протеєм, зазвичай вибраковують, а воду, що містить протей, вживати забороняється.

Clostridium perfringens. З метою ідентифікації бактерій використовують ентеритний тест, який включає посів на молоко і виявлення бурного зброджування субстрату («штормова реакція»). Для диференціювання клостридій фекального походження від клостридій довкілля, використовують середовище Вілсона — Блера. Кишкові клостридії викликають почорніння середовища, за рахунок відновлення сульфітів, а вільноживучі клостридії не змінюють його колір, оскільки не мають сульфатредуктази. Про давність фекального забруднення судять за

Мікробіологія / Сергійчук І.Т., Скібка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

відношенням кількості спорових і вегетативних форм *Clostridium perfringens*. З цією метою визначають кількість клостридій у прогрітих і непрогрітих пробах. За співвідношенням індексу *E. coli* та індексу *C. perfringens* роблять висновок про давність фекального забруднення. Якщо обидва показники мають високе значення, тоді це свідчить про свіже фекальне забруднення. У вітчизняній практиці кількісний облік клостридій проводиться при дослідженні ґрунту, лікувальних грязей та води відкритих водойм.

Бактерії роду Salmonella. Сальмонели потрапляють у зовнішнє середовище тільки з фекаліями людини і тварини. Їх виділення завжди свідчить про фекальне забруднення. Сальмонели не розмножуються у ґрунті; у воді вони розмножуються лише за високої температури і високому вмісті органічних речовин (при цьому вони добре зберігаються навідь у чистій воді).

Термофіли представлені поліморфною групою в основному спороутворювальних бактерій, що здатні розмножуватись при 50–70 °С. Термофіли виділяють з об'єктів зовнішнього середовища, рідше з кишківника тварин і людини. За кількістю термофілів говорять про ступінь забрудненості об'єкта навозом і компостами. Як індикатор ефективності автоклавування пошук термофілів також проводять у консервах.

Бактеріофаги ентеробактерій (*коліфаги*). В якості СПМ використовують бактеріофаги кишкових бактерій. Коліфаги постійно виявляються там, де є бактерії, до яких вони адаптовані. Однак як показники можливої присутності патогенних бактерій вони мають ряд недоліків.

До основних об'єктів санітарно-мікробіологічних досліджень належать об'єкти зовнішнього середовища (ґрунт, вода, повітря), харчові продукти, лукувально-профілактичні заклади (ЛПЗ), аптеки та лікувальні препарати (ЛП).

10.2. Санітарно-мікробіологічне дослідження ґрунту

Ґрунтові мікроорганізми впливають на формування ґрунту, на мінералізацію органічних залишків і утворення гумусу. На площі в 1 га в ґрунті може знаходитись від 1 до 5 т мікробної маси. У ґрунті є необхідні для розвитку бактерій поживні речовини і волога, внаслідок чого їх кількість в 1 г ґрунту досягає величезних кількостей: від 200 млн у глинястому ґрунті до 5 млрд у чорноземному. Найбільше (1 000 000 в 1 мм^3) бактерій у верхньому шарі ґрунту — на глибині 5–15 см. У глибоких шарах (1,5–6 м) трапляються одиничні особини; їх виявлено і в артезіанській воді. У родовищах нафти живуть нафтові бактерії. Живлячись парафінами (відходи нафти), вони перетворюють частину нафти в густу асфальтоподібну масу, внаслідок утворення якої закупорюються природні резервуари нафти. В орному шарі окультуреного ґрунту товщиною 15 см на площі 1 га може бути 5–6 т бактеріальної маси, міститься 1–10 млрд бактерій.

Мікрофлора родючого ґрунту складається з популяцій водоростей, актиноміцетів, нітрифікуючих, денітрифікуючих, целюлозоруйнівних бактерій, сірко-

бактерій, пігментних мікроорганізмів, грибів і найпростіших. Особливо велике значення мають азотфіксуючі бактерії, які можуть жити не тільки в коренях бобових, а й на тютюнових рослинах. У збагаченні ґрунту азотом важливу роль відіграють синьо-зелені водорості. Ступінь обсіменіння ґрунту мікроорганізмами залежить від його характеру та хімічного складу. Тому не маючи уявлення про основні екологічні, фізіологічні, морфологічні групи ґрунтової мікрофлори, неможливо оцінити санітарний стан ґрунту, активність його самоочищення від патогенних мікроорганізмів. При проведенні санітарно-мікробіологічних досліджень особливу увагу приділяють фізіологічним групам ґрунтових мікроорганізмів.

Фізіологічні групи ґрунтових мікроорганізмів включають види, що беруть участь у колообізі нітрогену, карбону, сірки і фосфору. Однак для повної оцінки санітарного стану ґрунту і процесів його самоочищення необхідно визначати не лише види, що беруть участь у колообізі речовин, але й окремих груп мікроорганізмів, які сприяють швидкій деструкції органічних речовин: спороутворювальних бактерій (насамперед бактерії роду *Bacillus*), актиноміцетів, грибів (*Penicillum*, *Candida*).

Представники нормальної мікрофлори людей і тварин, а також патогенні мікроорганізми, що потрапили в ґрунт і не утворюють спор, внаслідок нестачі потрібних поживних речовин, а також в результаті згубної дії світла, висихання, бактерій-антагоністів і фагів, як правило, довго в ньому не виживають, зберігаються у ґрунті від кількох діб до кількох місяців. У той же час, ґрунт відіграє основну роль в епідеміології правця, ботулізму та газової гангрени (особливо під час війни), оскільки він є основним резервуаром збудників цих захворювань.

Групи ґрунтових мікроорганізмів, патогенних для людини, поділяють на три групи: мікроорганізми, для яких ґрунт є природнім біотопом — збудник ботулізму, актиноміцети, збудники глибоких мікозів, утворюючі мікотоксини аспергіли; мікроорганізми, які потрапляють у ґрунт з виділеннями людини, тварин і зберігаються тривалий час (роками, десятиліттями) — *Bacillus anthracis*, *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*; мікроорганізми, які потрапляють у ґрунт з виділеннями людини, тварин, але зберігаються порівняно нетривалий час (тижні та місяці) — *E. coli* (до 8 міс.), *Salmonella* (до року при низьких температурах), *Shigella* (до 100 діб), *Vibrio cholera* (2 міс.).

Здійснення санітарного нагляду за станом ґрунту населених пунктів має велике значення у профілактиці кишкових інфекцій і інших захворювань. Тому для адекватної оцінки ґрунту особливе значення має вибір індикаторних мікроорганізмів. До СПМ, що вказують на фекальне забруднення ґрунту, входять: БГКП, *Clostridium perfringens*, термофільні бактерії та нітрифікуючи бактерії. З усіх ентеробактерій найдовше у ґрунті зберігається *E. coli,* тому за її вмістом визначають про наявність у ґрунті інших ентеробактерій. Термофільні бактерії потрапляють у ґрунт з перегноєм або компостом, тому їх виявляють з метою визначення характеру і давності забруднення ґрунту. Свіжий перегній, стічні

Біологія: том 1, Сергійчук І.Г., Скиба Л.І., Сергійчук Т.М. та ін

води зазвичай містять велику кількість БГКП, але малу кількість термофілів. По мірі розкладання органічних речовин кількість термофілів збільшується. Поява нітрифікуючих бактерій вказує на процес самоочищення, оскільки вони завершують цикл розкладання азотовмісних сполук, перетворюючи аміак в азот. При свіжому фекальному забрудненні нітрифікаторів немає, оскільки субстрат для їх розвитку відсутній. В процесі життєдіяльності мікроорганізмів, що розкладають органічні речовини, утворюється аміак, що призводить до розвитку нітрифікаторів.

Таким чином, на свіже фекальне забруднення ґрунту вказують високі титри БГКП при низьких титрах нітрифікаторів, термофілів, а також відносно високий вміст вегетативних форм *C. perfringens*. Виявлення ентерококів завжди свідчить про свіже фекальне забруднення, які б не були інші показники. Великий вміст усіх СПМ свідчить про закінчення самоочищення ґрунту та його вивільнення від патогенних ентеробактерій і органічних речовин.

Санітарно-мікробіологічне дослідження ґрунту в залежності від мети дослідження передбачає короткий та повний аналіз. Відбір матеріалу проводять з квадратної ділянки (не менш ніж 5х5 м). Зразки відбирають з глибини 20–30 см з кожного кута і центру квадрата. В стерильну банку беруть по 200–300 г із кожної точки, змішують, відбирають наважку в 30 г і вносять у колбу, що містить 300 $см^3$ стерильної води. Суміш ретельно збовтують протягом 10 хв, потім відстоюють 2–3 хв для осідання грубих частинок.

При необхідності брати пробу з глибших шарів ґрунту використовують спеціальний земляний бур Некрасова, який дає змогу відбирати проби на заданій глибині.

З метою визначення ЗМЧ з отриманої суспензії готують серійні десятикратні розведення до 10^{-6} і більше. 1 $см^3$ із останніх двох розведень висівають глибинним методом (суспензію вносять на дно стерильної чашки Петрі й заливають 15 $см^3$ розтопленого й охолодженого до 45 °С МПА). Після застигання середовища чашки інкубують 48 год при 28–30 °С. Із суми колоній, що виросли на двох чашках одного розведення, вираховують середнє арифметичне й визначають ЗМЧ.

При визначенні титру БГКП по 1 $см^3$ різних розведень ґрунту засівають у 9 $см^3$ глюкозо-пептонного або лактозо-пептонного середовища. В разі розкладу вказаних цукрів до кислоти й газу висів роблять на середовище Ендо, темно-червоні колонії, що виросли, мікроскопіюють, ставлять пробу на оксидазу й вираховують титр БГКП.

Титр ентерококів визначають шляхом посіву відповідних розведень на середовище Каліни або ДИФ-3; перфрінгенс-титр вираховують посівом розведень суспензії на середовище Вілсона — Блера; кількість грибів — на середовище Сабуро, актиноміцетів — на крохмально-аміачний агар. Для визначення титру термофільних бактерій різні розведення суспензії ґрунту вносять у чашки Петрі, заливають розтопленим і охолодженим МПА. Посіви інкубують 24 год за 60 °С, підраховують кількість виросліх колоній і роблять перерахунок на 1 г ґрунту.

Мікробіологія: том 1. Серпінчук М.Г., Скіба І.М., Серпінчук Т.М. та ін

Оцінку ступеня забруднення ґрунту проводять шляхом визначення загального мікробного числа й кількісного аналізу основних індикаторних мікроорганізмів (таблиця 10.1).

Таблиця 10.1.

Санітарно-мікробіологічна оцінка ґрунту

Характеристика ґрунту	ЗМЧ	Титр БГКП	Титр нітрифікуючих бактерій	Титр *C. perfringens*	Кількість термофільних бактерій в 1 г
Чистий	$< 5 \cdot 10^5$	1,0 і більше	0,1 і більше	0,01 і більше	10^2–10^3
Помірно забруднений	$5 \cdot 10^6$	0,9–0,01	0,01–0,001	0,009–0,0001	10^3–10^5
Сильно забруднений	$> 5 \cdot 10^6$	0,009 і менше	0,0001 і менше	0,00009 і менше	10^5–10^7

Санітарно-показові бактерії ґрунту: кишкова паличка, ентерокок, *Clostridium perfringens* — показники фекального забруднення і термофільні мікроорганізми.

Колі індекс — кількість бактерій групи кишкової палички в 1 г ґрунту. Ґрунт вважається чистим, якщо його колі-індекс не перевищує 1000.

Короткий санітарно-мікробіологічний аналіз передбачає визначення ЗМЧ, титрів БГКП, ентерококів, *C. perfringens,* термофільних та нітрифікуючи бактерій. Отримані показники свідчать про наявність і ступінь фекального забруднення. Також можливо визначити стан процесів самоочищення ґрунту від патогенних ентеробактерій та органічних речовин. Короткий аналіз ґрунту здійснюється при проведенні планового санітарного нагляду за станом ґрунту.

Повний санітарно-мікробіологічний аналіз передбачає визначення всіх показників короткого аналізу, а також загальної чисельності сапрофітів; ЗМЧ і процентного вмісту спорових мікроорганізмів; аеробних бактерій, руйнуючих клітковину; бактерій-амоніфікаторів. Крім того, досліджують токсичність ґрунту для мікроорганізмів. Повний аналіз проводять при здійсненні попереднього санітарного огляду, первинному дослідженні, при виборі території для розміщення окремих об'єктів і т.д.

Відбір зразків для контролю забруднення ґрунту дитячих садків, ЛПЗ, зон відпочинку проводять не менше двох раз на рік — навесні і восени. На інших контрольованих об'єктах аналіз ґрунту проводять з періодичністю, регламентованою нормативами, але не рідше ніж раз на рік. При вивченні динаміки самоочищення ґрунту на забруднених територіях проби беруть протягом першого місяця після забруднення — щотижнево, в наступні місяці — один раз на місяць протягом вегетаційного періоду до завершення активної фази самоочищення.

ОБІОЛОГІЯ» том 1 / Сергійчук І.М., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

10.3. Санітарно-мікробіологічне дослідження води

Вода — природнє середовище існування для різноманітних мікроорганізмів. У воді річок, відкритих водойм, морів, океанів виявляють представників всіх таксономічних груп бактерій, а також гриби, водорості і найпростіші. Сукупність всіх мікроорганізмів, що заселяють водойми, позначають терміном «мікробний планктон». Мікрофлора природних вод у значній мірі залежить від їх походження, вмісту органічних і неорганічних речовин, швидкості течії, температури, пори року й забрудненості. Розрізняють прісні і морські води. Прісні води поділяють на поверхневі, включаючи проточні (річки, струмки) і стоячі (озера, ставки, водосховища); підземні (ґрунтові, артезіанські) і атмосферні (дощ, сніг).

Мікрофлора і гігієнічна характеристика води різні в залежності від її походження і використання. Для господарсько-питного водопостачання можна використовувати міжпластові, ґрунтові підземні води, досить добре захищені від мікробного забруднення фільтруючими шарами ґрунту (наприклад, в артезіанських свердловинах в 1 мл води містяться одиничні бактерії). Більш широко для водопостачання використовують відкриті поверхневі водойми. Характер мікрофлори поверхневих водойм залежить від особливості водного середовища.

Мікрофлору водойм складають дві групи мікроорганізмів: автохтонні (або водні) і алохтонні (потрапляють ззовні при забрудненні водоймищ стічними водами). До автохтонної мікрофлори належать актиноміцети, мікрококи, псевдомонади, спірохети, непатогенні вібріони; до алохтонної — кишкові палички, ентерококи, клостридії, спірили, вібріони, ентеровіруси, ротавіруси.

Ступінь обсіменіння води організмами прийнято виражати сапробністю (грец. *sapros* — гнилий), під якою розуміють сукупність живих істот, які живуть у водах з великим скупченням тварин або рослинних решток. Розрізняють чотири зони сапробності.

Полісапробна зона — дуже забруднена вода, бідна на кисень і багата на органічні сполуки. Кількість бактерій в 1 мл досягає 1 млн і більше, переважають *E. coli* та анаеробні бактерії, які спричинюють процеси гниття і бродіння.

У *мезосапробній зоні* (зона помірного забруднення) мінералізуються органічні речовини з інтенсивним окисленням і вираженою нітрифікацією. Кількість бактерій в 1 мл становить сотні тисяч.

Олігосапробна зона характерна для чистої води. Кількість бактерій у ній незначна, в 1 мл налічується кілька десятків або сотень: *E. coli* у цій зоні немає.

Катаробна зона — зона дуже чистої води (особливо в осінньо-зимовий період), вона розташована на відстані від населених пунктів і берегів.

Переважну більшість мікробіоти прісних водойм становлять сапрофітні бактерії, які належать до родів *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium* та ін. Мікрофлора води річок залежить від ступеня їх біологічного забруднення та якості очистки стічних вод, які спускають у русла річок.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Серійний М.І., Скібка Л.М., Серійний Ю.М., Т.М. та ін

Мікроорганізми дуже поширені також у водах морів і океанів, де їх виявляли на різних глибинах (3700–10 000 м). До них належать галобактерії (рід *Halobacterium*) і галококи (рід *Halococcus*), які адаптувались до існування в умовах високих концентрацій солей. Галобактерії і галококи — хемоорганотрофи, аероби, плеоморфні мікроорганізми, утворюють пігменти різного кольору, індол, сірководень, оксидазу, каталазу, розріджують желатину.

Із морської води прибережної зони систематично висіваються галофільні вібріони — *V. parahaemolyticus*, *V. angilolyticus*, які спричиняють у людей гострий гастроентерит, що виникає в результаті вживання у їжу малосольної риби, а також недостатньо термічно оброблених креветок і мідій.

Регулярний санітарно-мікробіологічний контроль проводять: *води питної*: централізованого водопостачання і місцевого із забором води з відкритих водойм (річки, водосховища) або з підземних джерел (свердловини, джерела, колодязі); *води плавальних басейнів*; *льоду медичного і господарського*; *стічних вод*: господарсько-фекальні, промислові, змішані (господарсько-фекальні та промислові), талі та дощові.

Всі санітарно-мікробіологічні дослідження води регламентують відповідні нормативні документи. Підставами для санітарно-мікробіологічних досліджень води є:

- вибір джерела централізованого господарсько-питного водопостачання та періодичний контроль над ним;
- контроль ефективності знезараження питної води централізованого водопостачання; нагляд за підземними джерелами централізованого водопостачання (артезіанські свердловини, ґрунтові води і т.д.);
- оцінка стану і ступеню придатності води джерел індивідуального водовикористання (колодязів, природніх джерел і т.д.);
- нагляд за санітарно-епідеміологічним станом води відкритих водойм; контроль ефективності знезараження води плавальних басейнів;
- перевірка якості і ступеня очистки стічних вод;
- розслідування спалахів інфекційних хвороб.

Санітарно-мікробіологічне дослідження води, перш за все, повинно вирішувати питання про наявність або відсутність у ній патогенних бактерій, вірусів і грибів. Але їх безпосереднє виявлення має ряд методичних труднощів. У зв'язку з цим широкого розповсюдження набули методи непрямої оцінки її епідеміологічного благополуччя шляхом виявлення так званих санітарно-показових мікроорганізмів і визначення загального мікробного числа (ЗМЧ).

Основним джерелом збудників заразних хвороб є люди й теплокровні тварини, які виділяють їх в оточуюче середовище фекальним або повітряно-краплинним шляхом разом з численними представниками нормальної мікрофлори кишечника й верхніх дихальних шляхів. Тому санітарно-показові мікроорганізми для різних об'єктів довкілля відібрані саме з представників автохтонної мікрофлори. Для води такими санітарно-показовими мікроорга-

Мікробіологія / Сергійчук І.М., Сківка П.М., Сергійчук Т.М. та ін

нізмами в усіх лабораторіях світу прийняті бактерії групи кишкової палички (БГКП).

До категорії БГКП належать бактерії родини *Enterobacteriaceae*, що об'єднує роди *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*. Це грамнегативні, безспорові, оксидазонегативні палички, які ферментують глюкозу і лактозу до кислоти й газу при 37 °С. Вони виділяються в зовнішнє середовище з випорожненнями людей і теплокровних тварин і є кількісним показником ступеня фекального забруднення води. Тому чим більше її фекальне забруднення, тим вища ймовірність контамінації води відповідними патогенними мікроорганізмами.

Серед БГКП окремо виділяють групу коліформних бактерій, а в ній — фекальні кишкові палички (ФКП), які розкладають лактозу при 44,5 °С. До *E. coli* відносять бактерії, що не ростуть на цитратному агарі. Саме вони є показником свіжого фекального забруднення.

При проведенні повноцінного санітарно-мікробіологічного дослідження води визначають ЗМЧ, БГКП, *E. coli*, ентерококи, стафілококи, патогенні мікроорганізми (холерні вібріони, сальмонели, шигели, лептоспіри, ентеровіруси та ін.).

Визначення БГКП проводять за методом мембранних фільтрів або за методом бродильних проб.

Взяття проб води. З метою проведення мікробіологічного аналізу відбирають 500 см^3 води у стерильні флакони, закриті ватно-марлевою пробкою, покритою зверху паперовим ковпачком. Взяття проб з водопровідних кранів проводять після обпалювання їх спиртовим факелом і наступного випускання води впродовж 10 хв. Проби хлорованої води беруть у флакони з дехлоратором (на 500 см^3 води 2 см^3 1,5 % розчину гіпосульфіту натрію, простерилізованого в автоклаві).

Якщо дослідження проводять на виявлення не лише індикаторних, а й патогенних мікроорганізмів, потрібно брати пробу об'ємом 2500 см^3 води. Коли визначають ще й індекс коліфагів, об'єм проби збільшують до 3500 см^3.

У відкритих водоймах проби беруть за допомогою батометра. На потрібній глибині корок відкривають, потягнувши за шнур. Після заповнення флакона його відпускають, завдяки чому ємність автоматично закривається. Після виймання флакона з батометра притертий корок замінюють ватно-марлевою пробкою. Як правило, пробу води беруть на глибині 15 см, але не ближче як за 10–15 см від дна водойми.

На флаконі із відібраною водою вказують місце взяття проби, її номер, дату і час, температуру води й повітря, прізвище санітарного лікаря, мету дослідження й адресу лабораторії, яка буде проводити аналіз.

Мікробіологічне дослідження води необхідно провести не пізніше 2 год після її відбору. Якщо це неможливо, вказаний строк може бути продовжений до 6 год, але при умові транспортування проби при температурі 1–5 °С.

Визначення загального мікробного числа води. Цей показник визначає кількість мезофільних, мезотрофних аеробів і факультативних анаеробів, які виростають на МПА при 37 °С упродовж 24 год. Залежно від ступеня ймовірного бакте-

рійного забруднення воду сіють із таким розрахунком, щоб на агарі в чашках виростало від 30 до 300 колоній. Звичайну водопровідну або артезіанську воду сіють у нерозведеному стані в об'ємі 1 см^3. Проби з відкритих водойм, криниць, джерел і т. п. сіють після попереднього їх розведення від 10^{-1} до 10^{-3} і більше (особливо стічних вод).

Нерозведену або розведену воду в об'ємі 1 см^3 засівають глибинним методом. Через добу культивування за 37 °С підраховують число колоній у двох чашках і знаходять середнє арифметичне. При значній кількості колоній підрахунки проводять за допомогою спеціального приладу АПК (апарат для підрахунку колоній). Методика користування ним регламентована спеціальною інструкцією.

Відповідно до існуючих вимог звичайна водопровідна вода може містити не більше 100 КУО/мл. ЗМЧ відкритих водойм і криничної води не повинно перевищувати 1000.

Визначення кількості бактерій групи кишкових паличок. Цей показник (індекс БГКП) визначають за допомогою методу мембранних фільтрів і бродильним методом. Мікробіологічні лабораторії частіше використовують метод мембранних фільтрів. Він значно простіший і дає стабільні результати.

Метод мембранних фільтрів. Сутність методу полягає в концентруванні бактерій з певного об'єму досліджуваної води на мембранний фільтр, вирощуванні на середовищі Ендо при 37 °С і підрахунку індексу БГКП в 1 дм^3 води

При аналізі водопровідної води необхідно фільтрувати не менш як 333 см^3. При дослідженні води невідомої якості слід фільтрувати менші об'єми: наприклад 3, 30, 100, 200 см^3.

Для дослідження води використовують нітроцелюлозні фільтри № 2 і № 3. Їх вміщують у підігріту до 80 °С дистильовану воду і ставлять на слабкий вогонь до закипання. Кип'ятять тричі по 15 хв, кожного разу замінюючи воду. Після останнього кип'ятіння воду не зливають, фільтри залишають в ній до вживання.

Прилади для фільтрування води фламбують, а після охолодження їх монтують на колбі Бунзена. На нижню частину апарата (столик) кладуть стерильним пінцетом підготовлений мембранний фільтр, прижимають його верхньою частиною приладу (стакан, воронка) і закріплюють пристроєм, передбаченим конструкцією. У воронку (стакан), дотримуючись правил асептики, наливають досліджуваний об'єм води й за допомогою насоса створюють вакуум у колбі Бунзена. Після закінчення фільтрування знімають воронку (стакан), мембранний фільтр беруть обпаленим на вогні пінцетом і вміщують на середовище Ендо так, щоб між агаром і фільтром не було бульбашок повітря. Чашки з фільтрами на середовищі Ендо вміщують у термостат догори, інкубують при 37 °С протягом 18–24 год.

Облік результатів проводять через добу. При відсутності будь-яких колоній або при рості колоній, не характерних для ешеріхій, видають негативний результат. Якщо виростають типові для коліформних бактерій колонії, з них виготовляють мазки. У випадках виявлення грамнегативних паличок, колонії пересівають на

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сквіра Н.М., Серпінських Т.М. та ін

глюкозо-пептонне середовище й при позитивній бродильній пробі присутність БГКП вважають позитивною. Дослідження закінчують постановкою тесту на оксидазу. Коліформні бактерії оксидазонегативні.

Дослідження на виявлення фагів кишкових паличок проводять у випадках, якщо індекси БГКП і ФКП перевищують допустимі норми або підозрюють забруднення води патогенними ентеровірусами. Коліфаги відповідають вимогам, що висуваються до санітарно-показових мікроорганізмів: їх розміри, будова, властивості, джерело надходження, терміни виживання такі ж, як і у патогенних ентеровірусів. При дослідженні на коліфаги найчастіше використовують метод агарових шарів. Облік результатів проводять, підраховуючи число бляшкоутворюючих одиниць (БУО), і перераховують на 1 дм^3 досліджуваної води. Для слабозабруднених вод використовують метод збагачення або осадження сіллю магнію.

У 1996 р. МОЗ України видало наказ № 383 про затвердження державних санітарних правил і норм «Гігієнічні вимоги до якості води централізованого господарсько-питного водопостачання». У ньому визначені основні мікробіологічні нормативи (таблиця 10.2).

Таблиця 10.2.

Мікробіологічні показники безпеки питної води

№	Найменування показників	Нормативи	Одиниці виміру
1.	Число бактерій в 1 см^3 води (ЗМЧ)	не більше 100	КУО / см^3
2.	Число бактерій групи кишкових паличок в 1 дм^3 води (індекс БГКП)	не більше 3	КУО / дм^3
3.	Число термостабільних кишкових паличок в 100 см^3 води (індекс ФК)	Відсутність	КУО / 100 см^3
4.	Число патогенних мікроорганізмів у 1 дм^3 води	Відсутність	КУО / дм^3
5.	Число коліфагів у 1 дм^3 води	Відсутність	БУО / дм^3

Позначення: КУО — колонієутворюючі одиниці (мікроорганізми); БУО — бляшкоутворюючі одиниці (віруси).

Санітарно-бактеріологічне дослідження води плавальних басейнів, стічних вод. Прісна вода, що надходить в басейн, повинна відповідати гігієнічним вимогам, що пред'являються до якості води централізованих систем водопостачання. Морська вода в системах водозаборів повинна містити коліформні бактерії в кількості не більше 1000 КУО в літрі. В процесі експлуатації басейну як із прісною водою, так і з морською, вона повинна відповідати наступним вимогам: у 100 мл води мають бути відсутні бактерії родини *Enterobacteriacea*, термотолерантні коліформні бактерії, лецітіназопозитивні стафілококи, а також будь-які збудники інфекційних захворювань людини; у 100 мл допускається наявність не більше двох БУО коліфагів.

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук М.Т., Скібка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

Основне завдання санітарно-мікробіологічного дослідження стічних вод — перевірка ефективності очищення та знезараження стічних вод та їх опадів перед спуском у водойми і на поля зрошення. У ряді випадків досліджують стічні води неочищені або на етапах очистки до хлорування для контролю роботи очисних споруд на наявність тільки лактозопозитивних коліформних бактерій, а після хлорування визначають бактерії родини *Enterobacteriacea* як у питній воді.

10.4. Санітарно-мікробіологічне дослідження повітря

Повітря — несприятливе середовище для бактерій і вірусів. Відсутність поживних речовин, вологи, оптимальної температури, згубна дія сонячного проміння і висушування не створюють умов для їх збереження. Однак і порівняно короткого перебуванням мікроорганізмів у повітрі цілком досить для того, щоб зумовити передачу патогенних видів мікроорганізмів від хворих осіб здоровим.

Мікрофлора повітря дуже різноманітна. Склад її залежить від ступеня забрудненості повітря мінеральними й органічними зависями, температури, осадів, характеру місцевості, вологості та інших факторів. Чим вища концентрація у повітрі пилу, газів, кіптяви, тим більше в ньому бактерій. Кожна частинка пилу або диму може адсорбувати їх на своїй поверхні.

Кількість бактерій у повітрі коливається у великих діапазонах від кількох одиниць до десятків тисяч екземплярів в 1 м^3. Так, наприклад, у повітрі Арктики міститься 2–3 КУО на 20 м^3; у промислових містах в 1 см^3 повітря виявляється величезна кількість бактерій. У лісі, особливо хвойному, бактерій у повітрі дуже мало, бо на них згубно діють леткі речовини рослин — фітонциди, що мають бактерицидні властивості.

У зв'язку з розвитком біотехнологічної промисловості, що використовує різні мікроорганізми-продуценти БАР, істотно зріс ризик викиду в атмосферу великих концентрацій мікробів, у тому числі зі зміненим генотипом. При цьому, технологія виробництва деяких речовин прямо включає періодичний випуск мікроорганізмів. Вищевказане надає проблемі контролю за мікрофлорою атмосферного повітря та знезараження викидів біотехнологічних підприємств особливу актуальність.

При розгляді якісного складу мікрофлори повітря слід розрізняти мікрофлору атмосферного повітря та повітря житлових приміщень.

Мікрофлора атмосферного повітря. В атмосферному повітрі СПМ (стафілококи і стрептококи) виявляють лише в 37 % проб, узятих в місцях великого скупчення людей. Серед мікроорганізмів домінують види, що мешкають в ґрунті. В атмосферному повітрі, в основному, зустрічають три групи мікроорганізмів: пігментоутворюючі коки (*Micrococcus*, *Sarcina* тощо) в сонячні дні складають до 70–80 % всієї флори (пігмент захищає бактерії від інсоляції); ґрунтові спорові і гнилісні мікроорганізми (бактерії роду *Bacillus*, актинобактерії), їх вміст різко

Мікробіологія. Гомін Г.І., Сергійчук М.І., Сергійчук Т.М. та ін.

збільшується в суху і вітряну погоду; цвілеві гриби і дріжджі, їх вміст збільшується при підвищенні вологості повітря.

На відміну від повітря закритих приміщень, в атмосферному повітрі постійно відбуваються процеси самоочищення. Цей процес відбувається завдяки опадам, інсоляції, температурним впливів і іншим факторам. У свою чергу, атмосферне повітря саме по собі — фактор очищення повітря житлових приміщень.

Мікрофлора повітря закритих приміщень більш одноманітна і відносно стабільна. Серед мікроорганізмів домінують мешканці носоглотки людини, у тому числі патогенні види, що потрапляють в повітря при кашлі, чханні або розмові. Основне джерело забруднення повітря патогенними видами — бактеріоносії. Рівень мікробного забруднення залежить головним чином від щільності заселення, активності руху людей, санітарного стану приміщення, в тому числі пилової забрудненості, вентиляції, частоти провітрювання, способу збирання, ступеня освітленості і інших умов. Так, регулярні провітрювання та вологе прибирання приміщень знижують забрудненість повітря в 30 разів (у порівнянні з контрольними приміщеннями). Самоочищення повітря закритих приміщень не відбувається.

Основна задача санітарно-мікробіологічного дослідження повітря — гігієнічна та епідеміологічна оцінка повітряного середовища, а також розробка комплексу заходів, спрямованих на профілактику збудників інфекційних хвороб аерогенної передачі. При оцінці санітарного стану закритих приміщень в залежності від завдань дослідження визначають ЗМЧ, наявність СПМ (стафілококів та гемолітичних стрептококів, які є показниками контамінації мікрофлорою носоглотки людини).

Патогенні мікроорганізми потрапляють в повітря від хворого і можуть тимчасово там знаходитись — збудники дифтерії, туберкульозу, коклюшу, скарлатини, менінгіту, ангіни, парагрипу, грипу, кору, аденовірусних інфекцій тощо.

Санітарно-бактеріологічне дослідження повітря проводять у плановому порядку в дитячих закладах, лікарняних палатах, операційних, пологових залах тощо. При цьому визначають загальну кількість бактерій в 1 м^3 повітря і наявність санітарно-показових мікроорганізмів (гемолітичних стрептококів і золотистих стафілококів).

Оцінку чистоти повітря закритих приміщень проводять на основі визначення загальної кількості мікроорганізмів в 1 м^3 і наявності санітарно-показових бактерій. З цією метою проби повітря відбирають седиментаційним, аспіраційним та фільтраційним методами.

Седиментаційний метод Коха використовують для визначення мікрофлори повітря закритих приміщень. Для цього чашки Петрі з МПА або спеціальними середовищами для стафіло- і стрептококів залишають відкритими у місцях взяття проб. Строки експозиції залежать від очікуваного мікробного забруднення повітря: при великій кількості бактерій чашки відкривають на 5–10 хв, при малій — на 20–40 хв. Після експозиції чашки закривають і вміщують у термостат

при 37 °С на 18 год, а потім ще добу витримують при кімнатній температурі. Підраховують кількість колоній і визначають число бактерій в 1 м^3 повітря. За даними В. Л. Омельського, на площу в 100 см^2 за 5 хв осідає стільки бактерій, скільки їх міститься в 10 л повітря.

Аспіраційний метод ґрунтується на ударній дії повітряного струменя об поверхню живильного середовища і прилипанні до нього бактерій. Дослідження проводять за допомогою апарата Кротова. Повітря в кількості 100–250 л пропускають зі швидкістю 25 л/хв через клиноподібну щілину над чашкою з живильним середовищем. Електромотор приладу обертає чашку з постійною швидкістю, що рівномірно розподіляє втягнуті через щілину бактерії по всій площі середовища. Засіяну чашку інкубують при 37 °С протягом доби і ще 24 год при кімнатній температурі. Після інкубації визначають кількість КУО/м^3 повітря. Видову характеристику мікрофлори визначають після макро- і мікроскопічного дослідження колоній, виділення чистих культур і їх ідентифікації.

Фільтраційний метод. Для його використання запропоновані спеціальні прилади: Дяконова, Речменського, Кіктенко, ПАБ-1, ПОВ-1 та ін. Принцип їх дії зводиться до пропускання певного об'єм рідини в приладі й визначають число мікроорганізмів у 1 м^3 повітря.

Фільтраційний метод можна також використовувати у дослідженні повітря на присутність патогенних мікроорганізмів, які не культивуються на живильних середовищах. Рідину, що поглинула бактерійні аерозолі повітря, можна використати для зараження лабораторних тварин або проведення спеціальних бактеріологічних та вірусологічних досліджень.

Безпосереднє виявлення патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів (стафілококи, стрептококи, псевдомонади, інші грамнегативні бактерії), які викликають госпітальні інфекції, проводять при аналізі повітря хірургічних, акушерсько-гінекологічних та інших стаціонарів.

При виникненні внутрішньолікарняних інфекцій, спричинених стафілококами, проводять дослідження на виявлення джерела й шляхів їх розповсюдження. При цьому визначають ідентичність культур, виділених із повітря, інших об'єктів оточуючого середовища, а також від хворих і медичного персоналу за допомогою фаготипування.

У зв'язку з тим, що державні стандарти для оцінки санітарно-бактеріологічних показників повітря ще не розроблені, запропоновані тимчасові положення про допустимі норми мікробного забруднення окремих лікарняних та інших приміщень. У повітрі операційних, реанімаційних, пологових зал, перев'язувальних і процедурних загальна кількість бактерій в 1 м^3 до роботи не повинна перебільшувати 500, після роботи — 1000; кількість *S. aureus* не більше 4, а наявність гемолітичних стрептококів взагалі не допускається. У повітрі лікарняних палат взимку ЗМЧ не повинно перевищувати 3500 КУО/м^3, *S. aureus* — до 24 КУО/м^3, а гемолітичних стрептококів не більше 24 КУО/м^3. Влітку ці показники не повинні перевищувати відповідно 5000, 52 і 36 КУО/м^3.

10.5. Санітарно-мікробіологічний контроль лікарських препаратів

Сучасний арсенал лікарських засобів включає великий асортимент препаратів, у тому числі і рослинного походження. При цьому технологія їх виробництва далеко не завжди гарантує повну мікробну чистоту. Мікробна контамінація лікарської сировини порушує її стабільність, а іноді й властивості, призводить до зменшення вмісту корисних компонентів і одночасно сприяє накопиченню токсичних речовин, що може спричинити захворювання у людини. Одним з найважливіших джерел інфікування лікарської рослинної сировини є власна мікрофлора рослин. Крім того, існує ціла група так званих фітопатогенних мікроорганізмів, які спричинюють хвороби рослин і псування лікарської рослинної сировини, що призводить до неможливості її використання і економічних втрат.

Серед показників, що характеризують якість ліків, — таблеток, капсул, розчинів, мазей тощо, які не стерилізують у процесі виробництва, є їх мікробіологічна чистота. ЛП, до яких не висуваються вимоги щодо стерильності, як правило, контаміновані мікроорганізмами. Наявність у ЛП мікроорганізмів небажана у зв'язку з ризиком інфікування хворого (при контамінації препарату патогенною мікрофлорою) і можливі зміни фізико-хімічних властивостей (при перевищенні припустимої кількості сапрофітних бактерій). У нестерильних ЛП частіше наявні сапрофітні бактерії, які поширені в повітрі, воді, ґрунті, на рослинних залишках, і рідкі випадки виявлення патогенних мікроорганізмів. Типовими представниками мікрофлори ЛП є різні спороутворювальні та аспорогенні палички, коки, дріжджі, плісеневі гриби. Однак слід враховувати, що сапрофітні бактерії, маючи широкий набір ферментних систем, здатні розщеплювати й використовувати як живильні субстрати крохмаль, сахарозу, лактозу, розщеплювати білки, утворювати індол, сірководень. Деякі види мікроорганізмів продукують токсини й можуть викликати не лише псування сировини й допоміжних речовин, але й зробити їх шкідливими для людини в тому випадку, якщо вони розвиваються в умовах, що підтримують токсиноутворення. Крім мікробних токсинів, мікроорганізми виробляють органічні кислоти й аміни, які також можуть бути токсичними для людини. Високий рівень мікробної контамінації ЛП може стати причиною утворення речовин, що викликають алергічні реакції. Мікроорганізми можуть знижувати активність БАР, руйнувати консерванти, дезінфектанти, а також активні субстанції. Наприклад, бактерії роду *Corynebacterium* активно руйнують атропін, анальгетики, аспірин, фенацетин, парацетамол та ін. *Proteus vulgaris* за добу зростання на середовищах, що містять пірамідон, призводить до руйнування його більш ніж удвічі, використовуючи речовину як джерело нітрогену та карбону.

Інтенсивність руйнування допоміжних речовин, сировини й ЛП залежить від рівня їх контамінації, вологості, температури навколишнього середовища. У

МІКРОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сивкій І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

твердих лікарських формах мікроорганізмів значно менше, тому що залишкова вологість майже у всіх випадках нижче мінімального рівня, необхідного для їхнього розмноження. Мікроорганізми практично відсутні в порошкоподібних речовинах з вологістю менше 6%. Але якщо вони зберігаються в полімерних пакуваннях при значних температурних коливаннях, відбувається випотівання, що створює умови для розмноження мікроорганізмів. У рідких і м'яких лікарських формах умови для росту й розмноження мікроорганізмів більш сприятливі. Мазі, олії не містять води й теоретично не повинні підтримувати ріст мікроорганізмів. Але якщо вони поміщені в ємкості з великим повітряним простором, з'являється можливість контамінації грибами, тому що при випаровуванні виділяється волога, яку гриби утилізують у процесі розвитку. При недотриманні умов зберігання сиропів (коливання температури) з'являється конденсат, що зумовлює можливість росту грибів на його поверхні. Питанням контамінації м'яких лікарських форм належить особливе місце. Це пов'язано з наявністю в мазях, як правило, двох фаз і включенням до складу мазей консервантів, навіть якщо діючими речовинами є антибіотики, сульфаніламіди й інші препарати з антимікробною активністю. Наявність у складі ЛП речовин, що проявляють антимікробну активність, значною мірою може вплинути на життєдіяльність мікроорганізмів. Однак антимікробні речовини не завжди гарантують мікробіологічну чистоту цих ЛП, що може бути зумовлено відсутністю самостерилізуючого ефекту відносно мікроорганізмів, які не входять до спектру його специфічної дії.

Ознаками наявності мікроорганізмів можуть бути поява осаду, каламуті, плівки, газоутворення в рідких лікарських формах, зміни кольору внаслідок окиснення або утворення пігментів. На твердих лікарських формах можуть з'явитися колонії бактерій і грибів. Мікроорганізми можуть викликати змінення консистенції речовин, смакових властивостей, запаху ліків. Основні джерела мікробної контамінації ЛП можна розділити на екзогенні та ендогенні. При екзогенній контамінації мікроорганізми проникають у препарат унаслідок забруднення виробничих приміщень, повітря, обладнання, інвентаря й технологічного одягу, а також у разі недотримання особистої гігієни персоналом, безпосередньо зайнятим у технологічному процесі. Внаслідок екзогенної контамінації у препарат може проникнути від 60 до 80% мікроорганізмів, які знаходяться у виробничому оточенні. Основними джерелами ендогенної контамінації є сировина (діючі та допоміжні речовини), вода і первинна упаковка. Причиною мікробної контамінації найчастіше є сировина природного походження (желатин, крохмаль, цукор, тальк, пепсин, панкреатин та ін). Зміни фізико-хімічних, біологічних і органолептичних властивостей можливі лише при високому забрудненні сировини, висушуванні напівфабрикатів при температурі від 20–40 °С, а також при неправильних умовах зберігання. При порушенні режимів зберігання й транспортування (підвищена вологість, температура 25–30 °С) навіть невелика кількість мікроорганізмів, якщо вони розмножуються, може бути причиною псування фармацевтичного продукту.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук І.М., Сквара І.М., Сергійчук Т.М. та ін

ВООЗ та Міжнародною федерацією фармацевтів було рекомендовано ввести мікробіологічний контроль ЛП у національні фармакопеї. Згідно із запропонованою схемою аналізу в ЛП слід визначати загальну кількість життєздатних бактерій і грибів та виявляти деякі види патогенних мікроорганізмів, наявність яких у ліках неприпустима. Дослідження проводять в асептичних умовах з використанням наведених у ДФУ 1.4 двох методів (метод глибинного або поверхневого посіву на чашки Петрі або метод мембранної фільтрації) і живильних середовищ для контролю всіх видів ЛП, а також сировини, яка використовується при їх виробництві.

Відповідно до категорії препарату визначені кількісні нормативи, які характеризують рівень мікробної контамінації ЛП:

1-ша категорія — препарати, відносно яких висуваються вимоги щодо стерильності відповідно до загальних статей на ЛП (парентеральні, офтальмологічні; для введення у порожнини тіла, де в нормальному стані відсутні мікроорганізми) та інші, марковані як стерильні, повинні бути стерильними;

2-га категорія — препарати для місцевого, трансдермального, інтравагінального застосування, для введення у порожнини вуха, носа і застосування у ротовій порожнині, ліки для інгаляцій (за винятком тих, до яких висуваються вимоги щодо стерильності) — в 1 г (мл) цих препаратів загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів повинна бути не більше 10^2;

3-тя категорія — препарати для орального застосування й ректального введення — в 1 г (мл) загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів повинна бути не більше 10^3 бактерій і 10^2 грибів (пліснявих і дріжджових сумарно). Якщо до складу препарату входять речовини рослинного і тваринного походження, які неможливо піддати деконтамінації, то загальна кількість життєздатних мікроорганізмів може бути збільшена до 10^4;

4-та категорія — препарати, що складаються лише з рослинних компонентів — в 1 г (мл) загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів повинна бути не більше 10^7 бактерій і 10^5 грибів (пліснявих і дріжджових сумарно).

Визначені також кількісні нормативи, які характеризують рівень мікробної контамінації допоміжних речовин. Допоміжні речовини за ступенем мікробної контамінації запропоновано розділити на три категорії: до першої належать допоміжні речовини, що містять не більше $1 \cdot 10^2$ життєздатних мікроорганізмів, у т. ч. грибів, в 1 г (мл); до другої — не більше $1 \cdot 10^3$ життєздатних мікроорганізмів, у т. ч. не більше $1 \cdot 10^2$ грибів в 1 г (мл); до третьої — не більше $1 \cdot 10^4$ життєздатних мікроорганізмів, у т. ч. не більше $1 \cdot 10^2$ грибів в 1 г (мл).

ЛП і допоміжні речовини не повинні містити бактерій родин *Enterobacteriacea*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*. Однак на сьогодні не існує єдиних для всіх країн вимог щодо допустимого рівня мікробної контамінації ліків, а тому в національних фармакопеях у показнику «мікробіологічна чистота» є суттєві відмінності. Для забезпечення якості ЛП, у т. ч. мікробіологічної чистоти, необхідне виконання правил GMP, які передбачають систему заходів

щодо профілактики можливих відхилень у процесі виробництва. Ці правила спрямовані на виявлення та усунення тих несприятливих виробничих умов, які можуть призвести до виготовлення неякісної продукції.

10.6. Санітарно-мікробіологічний контроль харчових продуктів

Харчові продукти можуть обсіменятися різними мікроорганізмами, що призводить до їх псування, розвитку харчових токсикоінфекцій та інтоксикацій, а також таких інфекцій, як сибірська виразка, бруцельоз, туберкульоз тощо. Захворювання тварини, травми або несприятливі умови її утримання сприяють порушенню захисних бар'єрів організму і транслокації (перенесенню) мікроорганізмів в зазвичай стерильні тканини і органи (прижиттєве обсіменіння). В результаті відбувається обсіменіння тканин забитої тварини протеями, клостридіями та іншими мікробами, потрапляння при маститах в молоко стафілококів і стрептококів. Можливе й вторинне обсіменіння мікроорганізмами харчових продуктів. У цьому випадку джерелом забруднення є об'єкти довкілля (ґрунт, вода, транспорт і т. д.), а також хворі люди і бактеріоносії.

Збудники захворювань, пов'язаних з вживанням харчових продуктів, досить різноманітні. Наявність у харчових продуктах деяких мікроорганізмів або метаболітів, що утворюються в результаті їх зростання, може викликати різні захворювання людини, які діляться на два види: харчові отруєння та харчові інфекції.

Харчовим отруєнням, або харчовою інтоксикацією, зазвичай називається хвороба, зумовлена дією токсинів, що утворюються при розвитку мікроорганізмів в харчовому продукті до його споживання. Прикладами харчової інтоксикації є стафілококове харчове отруєння і ботулізм.

Іншою формою захворювання є харчова інфекція, яку викликає присутність в продукті живих мікроорганізмів, таких як сальмонели і т. д.

Всесвітня організація охорони здоров'я розробила перелік харчових продуктів за ступенем забруднення мікроорганізмами і частотою випадків отруєнь.

Категорія 1 — Харчові продукти або їх компоненти, які найбільш часто слугують прямим джерелом харчових отруєнь, наприклад, цільні молочні та сухі молочні продукти, кондитерські вироби з борошна з вершковим кремом.

Категорія 2 — Харчові продукти або їх компоненти, які є джерелом харчових отруєнь людини, наприклад, злакові продукти, меланж, мед, шоколад.

Категорія 3 — Харчові продукти або їх компоненти, які при недотриманні санітарних вимог до їх виробництва можуть стати причиною харчового отруєння, наприклад, начинка для борошняних кондитерських виробів.

Категорія 4 — Харчові продукти або їх компоненти, які в рідкісних випадках є причиною харчових отруєнь, наприклад, вироби з швидкозаморожених фруктів.

ОБІОЛОГІЯ. ГОМ І. Сівгійчук М.Г., Сівгійчук І.М., Сівгійчук Т.М. та ін

Категорія 5 — Харчові продукти або їх компоненти, які зазнали термічної обробки, що забезпечує їх безпеку, наприклад, галети, крекери, печиво, льодяникова карамель.

Категорія 6 — Харчові добавки, що забруднюють основний продукт, наприклад, барвники, ароматичні речовини, желатин, агар-агар, ферменти.

Кулінарну продукцію виробляють у вигляді страв, кулінарних виробів та кулінарних напівфабрикатів.

Страви, кулінарні вироби та напівфабрикати відрізняють за такими основними ознаками:

- видом сировини, що використовується — картопля, овочі, гриби, фрукти та ягоди, крупи, бобові, макаронні вироби, яйця, сир, риба, морепродукти, м'ясо та м'ясні продукти, птиця, дичина та ін.;
- способом кулінарної обробки — відварні, припушені, тушковані, смажені, запечені, випечені;
- характером вживання — закуски, десерти, супи, другі страви та ін.;
- призначенням — для дієтичного, шкільного харчування та ін.,
- термічним станом — холодні, гарячі, охолоджені;
- консистенцією — рідкі, напіврідкі, густі, пюреподібні, в'язкі, сипучі.

Безпека харчової продукції для здоров'я визначається відповідністю її мікробіологічним нормативам, встановленими Санітарними правилами.

Мікробіологічні показники кулінарної продукції характеризують дотримання технологічних та санітарно-гігієнічних вимог при її виготовленні, умови зберігання, реалізації та транспортування.

Гігієнічні нормативи за мікробіологічними показниками включають контроль за 4 групами мікроорганізмів:

- санітарно-показові, до яких належать мезофільні аеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми (МАФАнМ) та бактерії групи кишкових паличок — БГКП (коліформи);
- потенційно-патогенні мікроорганізми, до яких відносяться кишкова паличка (*E. coli*), коагулазопозитивні стафілококи (*S. aureus*), бактерії роду *Proteus*, *Bacillus cereus* та сульфітредукуючі клостридії;
- патогенні мікроорганізми, в тому числі бактерії роду *Salmonella*, віруси;
- мікроорганізми, що викликають псування продукту — в основному це дріжджі та плісневі гриби.

При епідемічній необхідності показники контролю безпеки кулінарних виробів можуть бути розширені за рахунок визначення: лістерій, шигел, єрсиній, парагемолітичних вібріонів, фекальних стрептококів, а також вірусів: ентеровіруси (поліомієліту, Коксакі, ECHO, 70, 71 типу), гепатиту А, ротавіруси, аденовіруси (40, 41 типів).

Метою мікробіологічного контролю безпеки продукції підприємств громадського харчування, що здійснюється відповідно до Державних санітарних правил і норм «Мікробіологічні нормативи та методи контролю продукції громадського

Мікробіологія. Том 1. Сергійчук М.І., Скібка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

харчування» від 07.11.2001, № 139, є профілактика гострих кишкових інфекційних захворювань та харчових отруєнь мікробної природи серед споживачів.

Мікробіологічний контроль безпеки продуктів, що виготовляються закладами громадського харчування, є ретроспективним, оскільки результати мікробіологічних аналізів можуть бути одержані через 72–96 годин, тобто в термін, коли продукція вже реалізована, він дає змогу дати об'єктивну оцінку дотримання санітарно-гігієнічного та технологічного режиму, санітарних правил для кожного конкретного підприємства громадського харчування, а також якості та епідеміологічної безпеки виготовленої продукції.

Виявлення підвищеної кількості мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів свідчить про порушення температурних режимів в процесі виготовлення або зберігання харчового продукту, незадовільний санітарний стан виробництва.

Наявність бактерій групи кишкових паличок, *E. coli*, коагулазопозитивних стафілококів в масі продукту, яка нормується, вказує на незадовільні санітарні умови під час виготовлення продукту або вторинне інфікування його (за рахунок обладнання, рук та носоглотки працівника, санітарного одягу та ін.).

Виявлення бактерій роду *Proteus* свідчить про порушення умов, термінів зберігання як сировини, так і готової продукції, незадовільний санітарно-гігієнічний режим виробництва.

Суворі вимоги до відсутності бактерій роду *Salmonella* в харчових продуктах введені в зв'язку із здатністю цих мікроорганізмів викликати не тільки харчові токсикоінфекції при їх масивному розмноженні в продукті, а й інфекційні захворювання при малій дозі інфікування.

Кількість мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів відповідає наведеним нормативам для кожного виду страв і виражається в КУО г/куб. см продукту. Цей показник не визначають у стравах, які за рецептурою містять специфічну мікрофлору (салат із маринованих овочів, квашена капуста, солоні огірки; окрошки овочеві та м'ясні на квасі та кефірі, юшка з буряків, холодний борщ (холодник), сир, сметана та заправи з неї тощо).

Санітарно-показові, умовно-патогенні та патогенні мікроорганізми відповідно до сучасних вимог та з метою спрощення схеми аналізу контролюються за альтернативним принципом, при цьому нормується їх відсутність в певній масі продукту, вираженій в грамах або сантиметрах кубічних:

відсутність бактерій групи кишкових паличок (БГКП) нормується в усіх стравах в межах від 1,0 г/см^3 до 0,1 г/см^3;

E. coli не повинна висіватися із 1,0 г/см^3 у тому випадку, коли страви або кулінарні вироби є найбільш уразливими з епідеміологічної точки зору або коли за технологією передбачені ручні операції після проведення термічної обробки;

відсутність коагулазопозитивних стафілококів нормується у межах від 1,0 г/см^3 до 0,1 г/см^3 за винятком деяких видів гарячих страв (борщі, суп-харчо, розсольники, солянки, картопляні, овочеві супи, бульйони);

Біологія. Том 1. Сергійчук І.М., Скіба І.М., Сергійчук Т.М. та ін.

відсутність бактерій роду *Proteus* нормується в більшості страв в 0,1 г/см^3;

відсутність патогенних мікроорганізмів, в тому числі бактерій роду *Salmonella*, вірусів нормується в більшості видів продуктів в 25 г. Для ряду виробів та страв, які за даними епідеміологічних розслідувань найбільш часто є чинниками виникнення гострих кишкових захворювань, введений більш жорсткий норматив — відсутність патогенних мікроорганізмів, в тому числі бактерій роду *Salmonella*, а також вірусів в 50 г продукту.

У всіх видах доброякісної рибної продукції *Vibrio parahaemolyticus* не допускається в кількості більш як 10 КУО/г. Контроль проводиться при епідеміологічному неблагополуччі в регіоні.

У салатах та сумішах із сирих овочів, готових до вживання, бактерії роду *Yersinia* не допускаються в 25 г продукту. Контроль проводиться при епідеміологічному неблагополуччі.

Виробник зобов'язаний забезпечити постійний — не рідше одного разу на місяць — контроль виробництва за мікробіологічними показниками, готової продукція, напівфабрикатів, води, об'єктів, довкілля та ін. Вибірковий контроль здійснюють органи держсанепіднагляду у встановленому порядку.

При одержанні незадовільних результатів аналізу хоча б по одному з мікробіологічних показників, проводиться відбір проб розширеного асортименту страв, сировини та напівфабрикатів, а також відбір змивів з об'єктів довкілля та обладнання.

У тому випадку, коли виявляється стійке санітарно-гігієнічне неблагополуччя продукції громадського харчування, проводять додатковий мікробіологічний і вірусологічний контроль сировини, напівфабрикатів, допоміжних матеріалів, води та повітря, санітарного одягу працівників підприємств, контроль за веденням технологічних процесів, санітарно-гігієнічного стану всіх виробничих приміщень.

На підставі одержаних результатів лабораторних досліджень вживають відповідні санітарно-гігієнічні заходи, контроль за дотриманням санітарних правил, проведення з персоналом додаткових занять з санітарного мінімуму, організація санітарних днів з генеральним прибиранням приміщень, проведення реконструкції або ремонту підприємств громадського харчування.

При порушенні вимог Санітарних правил рішення про адміністративні заходи та кримінальну відповідальність приймають компетентні органи.

Отже, мікробіологічний контроль повинен проводитися систематично. Він здійснюється на всіх етапах технологічного процесу, починаючи з сировини і закінчуючи готовим продуктом. Для окремих харчових виробництв є свої схеми мікробіологічного контролю, в яких визначені об'єкти контролю, точки відбору проб, періодичність контролю, вказується, який мікробіологічний показник необхідно визначити, наводяться норми обсіменіння. Відповідність харчових продуктів вимогам санітарних правил та інших нормативних документів підтверджується в ході санітарно-епідеміологічної експертизи в установленому

Мікробіологія. ТДМА. Серійчук М.Г., Скварко М.І., Серійчук Т.М. та ін

порядку. При проведенні сертифікації відповідності харчових продуктів контроль безпеки за мікробіологічними показниками є обов'язковим.

Питання для самоконтролю

1. Що вивчає санітарна мікробіологія?
2. Які принципи проведення санітарно-мікробіологічних досліджень?
3. Охарактеризуйте мікробіологічні показники санітарного стану.
4. Які мікроорганізми вважаються санітарно-показовими?
5. Які є методи виявлення санітарно-показових мікроорганізмів?
6. Перелічить вимоги до санітарно-показових мікроорганізмів.
7. Перелічіть індикатори забруднення.
8. З якою метою проводяться санітарно-мікробіологічного дослідження ґрунту?
9. Що таке короткий та повний санітарний аналіз ґрунту?
10. Які показники свідчать про самоочищення відкритих водойм?
11. Як здійснюється санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води?
12. Охарактеризуйте методи виділення мікроорганізмів з повітря.
13. Які показники визначаються при проведенні санітарно-мікробіологічного контролю якості харчових продуктів?
14. Які об'єкти підлягають обов'язковому бактеріологічному дослідженню?
15. Охарактеризуйте кількісні нормативи рівеня мікробної контамінації лікарських препаратів та допоміжних речовин.

БІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Скіба Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. *Алдерс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др.* Молекулярная биология клетки. В 3 томах. М.: Мир, 1994. 1565 с.
2. *Андреюк К. І., Козлова І. П., Коптєва Ж. П. та ін.* Мікробна корозія підземних споруд. К.: Наук. думка, 2005. 259 с.
3. *Антипчук А. Ф., Кірєєва І. Ю.* Водна мікробіологія. К.: Нац. аграрн. ун-т, 2003. 310 с.
4. *Безугова О. С., Орлов Д. С.* Биогеохимия. М.: Феникс, 2000. 320 с.
5. *Брюханов А. Л., Рыбак К. В., Нетрусов А. И.* Молекулярная микробиология: учебник для вузов. М.: Изд-во Московского университета, 2012. 573 с.
6. *Воробьёв А. В., Быков А. С., Пашков Е. П., Рыбакова А. М.* Микробиология: учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2003. 336 с. (Учеб. лит. для студ. фарм. вузов). ISBN 5–225–04411–5
7. Генетика: підручник / А. В. Сиволоб, С. Р. Рушковський, С. С. Кир'яченко та ін.; за ред. А. В. Сиволоба. К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. 320 с.
8. Генетика / Бартон Гуттман, Энтони Гриффитс, Дэвид Сузуки, Тара Куллис. Пер. с англ. О. Перфильева. М.: ФАИР-ПРЕСС, 2004. 448 с.: ил.
9. *Готтшалк, Г.* Метаболизм бактерий. М.: Мир, 1982.
10. *Громов Б. В.* Строение бактерий. Л.: ЛГУ,1983. 189 с.
11. *Громов Б. В.* Удивительный мир архей // *Соросовский Образовательный Журнал.* 1996. № 9, С. 33–39.
12. *Гудзь С. П., Гнатуш С. О., Білінська І. С.* Мікробіологія: підручник: [для студ. вищ. навч. закл.]. Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2009. 360 с.
13. *Гусев М. В., Минеева Л. А.* Микробиология. 9-е изд., стер. М.: Издательский центр «Академия», 2010. 464 с. (Серія: Классическая учебная книга). ISBN 978–5–7695–7372–9.
14. Державні санітарні правила і норми України «Мікробіологічні нормативи та методи контролю продукції громадського харчування» від 07.11.2001 № 139
15. *Дмитрук Ю. М., Бербець М. А.* Основи біогеохімії. Чернівці: Книги XXI, 2009. 336 с.
16. *Добровольский В. В.* Основы биогеохимии. М.: Академия, 2003. 400 с.
17. *Егорова Т. А., Клунова С. М., Живухина Е. А.* Основы биотехнологии: учеб. пособие для студ. М.: Academia, 2003. 208 с.
18. *Емцев В. Т., Мишустин Е. Н.* Микробиология: учеб. для студ. вузов. 6-е изд., испр. М.: Дрофа, 2006. 445 с. (Высшее образование). ISBN 5–358–00443–2.
19. *Заварзін А. А., Хазарова А. Д., Молатвин М. М.* Биология клетки: Общая биология. С.-Пб., 1992. 320 с.
20. *Заварзин Г. А.* Эволюция прокариотной биосферы: «Микробы в круговороте жизни». 120 лет спустя: Чтение им. С. Н. Виноградского. М.: МАКС Пресс, 2011. 144 с.
21. *Заварзин Г. А., Колотилова Н. Н.* Введение в природоведческую микробиологию. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2001. 255 с.
22. *Зверев В. В., Бойченко М. Н.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: Учебник в 2-х томах. 2010.

БІОЛОГІЯ: ТОМ 1 Сергійчук І.М., Ольшанський П.М., Сергійчук Т.М. та ін

23. *Климинюк С. І., Ситник І. О., Творко М. С., Широбоков В. П.* Практична мікробіологія: посібник. Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. 440 с.
24. *Козлова І. П., Радченко О. С., Степура Л. Г., Кондратюк Т. О., Піляшенко-Новохатній А. І.* Геохімічна діяльність мікроорганізмів та її прикладні аспекти: навч. посібник. Наук. думка, 2008. 528 с.
25. *Ланчини Д. и др.* Антибиотики. М.: Мир, 1985.
26. *Ленгелер Й., Древс Г., Шлегель Г.* Современная микробиология. Прокариоты. М.: Мир, 2005.
27. *Люта В. А., Загорова Г. І.* Основи мікробіології, вірусології та імунології: навчальний посібник. 2001. 336 с.
28. *Лысак В. В.* Микробиология. Минск: БГУ, 2007. 430 с.
29. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад / За редакцією В. П. Широбокова. 2-е вид. Вінниця: Нова книга, 2011. 952 с. ISBN 978–966–382–325–6.
30. Молекулярная биология / под ред. А. С. Спирина. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
31. Определитель бактерий Берджи / под ред. Дж. Хоулта и соавт. М.: Мир, 1997. Т. 1–2.
32. *Паников Н. С.* Кинетика роста микроорганизмов: Общие закономерности и экологическое приложение. Наука, 1992. 311 с.
33. *Печуркин Н. С., Брильков А. В., Марченкова Т. В.* Популяционные аспекты биотехнологии. Новосибирск: Наука, 1990. 172 с.
34. Санітарна мікробіологія: підруч. / С. П. Гудзь, С. О. Гнатуш, Г. І. Звір. Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2016. 348 с. (Біологічні Студії).
35. Санітарні норми та правила в Україні. К.: КНТ, 2004. 460 с.
36. Санітарно-гігієнічні методи дослідження харчових продуктів і води: Довідковий посібник / під ред. проф. Г. С. Яцулы. К.: Здоровье, 1999. 286 с.
37. *Сергійчук М. Г.* Будова бактеріальної клітини та методи її дослідження. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 232 с.
38. *Сергійчук М. Г., Позур В. К., Фурзікова Т. М., Радченко О. С., Степура Л. Г., Домбровська І. В., Швець Ю. В.* Мікробіологія: навч. підручник ВПЦ «Київський університет», 2008. 541 с.
39. *Сингер М., Берг П.* Гены и геномы: в 2 т. М.: Мир, 1998.
40. *Слободян В. О.* Основи біотехнології: навч. посіб. / Ін-т менеджменту та економіки. Івано-Франківськ, 2002. 188 с.
41. *Скубко Т. П.* Микробная контаминация лекарственных средств // Технология и стандартизация лекарств / под ред. В. П. Георгиевского и Ф. А. Конева. Х., 1996. Т. 1.
42. *Скороходов Л. Я.* Как развивалась микробиология. М.: Медицина, 1965. 50 с.
43. *Степура Л. Г., Радченко О. С.* Закономірності росту мікробних популяцій. Методичні рекомендації до спецпрактикуму «Закономірності росту мікроорганізмів». Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2010. 38с.
44. *Турова Т. П.* Филогения прокариот на основании анализа аминокислотных и нуклеотидных последовательностей / *Успехи микробиологии.* 1983. № 18, С. 92–112.
45. *Шлегель Г. Г.* История микробиологии / Перевод с немецкого. М: изд-во УРСС, 2002. 304 с. ISBN 5–354–00010–6.

МІКРОБІОЛОГІЯ-ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сківка Л.М. Сергійчук Т.М. та ін

46. *Alexander N. Glazer, Hiroshi Nikaido.* Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology. Cambridge University Press, 2007. 557 p.
47. **B**ergey's manual of Systematic Bacteriology. Williams, Wilkins, 1984. 1986. V. 1, 2, 3.
48. **B**ergey's Manual of Systematic Bacteriology / Editor-in-Chief G. M. Garrity. New York: Springer, 2001–2003, V. 1–5.
49. ***B**renner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T. & Garrity, G. M.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., Vol. 2, parts A, B and C. Springer-Verlag, New York, NY, 2005.
50. ***B**rown T. A.* Genomes. New York; London: Garland Science, 2002.
51. ***G**arrity, G. M., Boone, D. R. & Castenholz, R. W.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., Vol. 1, Springer-Verlag, New York, NY, 2001.
52. ***M**ichele Swanson, Gemma Reguera, Moselio Schaechter, et al.* Microbe, Second Edition, 2016.
53. ***W**hitman, W. B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Ludwig, W. & Suzuki, K.-i.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., Vol. 5, parts A and B, Springer-Verlag, New York, NY, 2005.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1. Сергійчук М.Г., Сківка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін

ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК

А

Аберація 33
- сферична 33
- хроматична 33

Автотрофи 184, 395
Аероби 357
Аеробні аноксигенні фотосинтетики 225, 226
Аеробні біологічні очисні споруди 459
Аеротолерантні 358
- анаероби 186

Азотфіксація 243, 408
Акінети 96-97
Акрилатний шлях пропіонатного бродіння 259-261
Активація амінокислот 140
Активний транспорт 183
Алкалофіли 354
Актинобактерії 46
Амоніфікація 405
- дисиміляційна (дихальна) 271, 272

Амфіболічний шлях 183
Анаболізм 183, 231
Анаероби 357
- факультативні 186

Анаеробне окиснення амонію (анамокс) 274, 408
Анаеробні біологічні очисні споруди 460
Анаплеротична реакція 183, 232
Аноксигенний фотосинтез 214, 218
Антагонізм 368
Апертура об'єктива 34
Асиміляційна нітратредукція 246
Асиміляційна сульфатредукція 247
Асиміляція 407
- формальдегіду 238

Атенюація 137
Ауксотроф 145, 180
Ацидофіли 353

Б

Баеоцити 104
Бактерії 40
- водневі 207
- гомоацетогенні 286-290
- групи кишкової палички (БГКП) 470, 474, 479, 489
- зелені 222, 223
- молочнокислі 432, 435
- нітрифікувальні 208
- пурпурні 220, 221, 222
- тіонові 211, 415

Бактеріостаз 356
Бактерицидна дія 356
Барофіли 352
Безбарвні сіркобактерії 212, 415
Біогаз 462
Біоліти 398
Біоплівка 114-118
Біоремедіація 458
- ґрунтів 465

Біохімічні мутанти 145
Бродіння 248, 249
- аеробне 200
- бутандіолове мурашинокисле (форміатне) 263
- гетероферментативне (фосфокетолазне) молочнокисле 250, 252, 253
- гетероферментативне молочнокисле *Bifidobacterium bifidum* 253, 254
- гомоферментативне молочнокисле 250, 251
- змішане мурашинокисле (форміатне) 262
- мурашинокисле (форміатне) 262
- пропіоновокисле 258
- синтрофне (вторинне) 266-269
- спиртове (етанольне) 255-258

Брунькування 102

В

Валова швидкість росту 108
Варбурга — Діккенса — Хорекера шлях, гексозомонофосфатний шунт 188

ОБІОЛОГІЯ ТОМ 1 Сергійчук М.Г. Сидір І.М., Сергійчук Т.М. та ін

Врожай клітин 109
Вібріони 45
Відновлювальний цикл трикарбонових кислот (цикл Еванса — Бухана — Арнона, rTCA) 234, 235, 236
Відновлювальний шлях ацетил-КоА (відновлювальний шлях Люнгдаля — Вуда, rACA) 234, 237
Верхові раси дріжджів 423
Вивітрювання мінералів 419
Вид 304
Вилуження металів із руд 453-456
Виноробство 427
Водойми 398
- оліготрофні 398
- мезотрофні 398
- евтрофні 398
- дистрофні 398

Ворсинки (пілі, фімбрії) 65-67
Вуда — Веркмана реакція 232, 233

Г

Галобактерії 226-228
Геліказа 125
Геліобактерії 224, 225
Ген 120
Генерації час 105, 109
Гетеротрофи 184
Гідрометалургія 453
Гліколіз, Емдена — Мейєргофа — Парнаса шлях, гексозодифосфатний шлях 188, 189, 190
Гліоксилатний цикл 241
Гліоксилатний шунт 233
Глутаматний шлях прямого амінування 246
Глутаміновий шлях прямого амінування 246, 247
Глюконеогенез 242, 243
Гомологічна рекомбінація 167
Гумус 397

Д

Діауксія 111
Денітрифікація 271, 404
Джгутики бактерій 79-84
- амфітрихи 80
- будова 80-82
- лофотрихи 80
- монотрихи 80
- перитрихи 80,82

Диплокок 41
Дисмутація (диспропорціонування) сульфуровмісних сполук 281
Дифузія 182
- пасивна 182
- полегшена 182-183

Дихання
- аеробне 187
- анаеробне 186, 187, 269
- вуглецеве 286
- залізне 283
- манганове 283
- нітратне (дисиміляційна нітрат-редукція) 269
- сіркове 282
- сульфатне (дисиміляційна сульфат-редукція) 276
- фумаратне 284

ДНК-полімераза 123
ДНК-топоізомераза 126

Е

Еврібіонти 346
Електронотранспортне фосфорилювання 187
Електронотранспортний ланцюг 195-200, 205, 206, 207, 217, 218, 219, 229, 230
Елементарні тільця 327
Ендоспора 87-93
- бацилярний тип 92
- клостридіальний тип 92
- латеральний тип 92
- плектридіальний тип 92

Економічний коефіцієнт 110
Ентнера — Дудорова шлях, 2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконатний шлях 188, 191, 192

БІОЛОГІЯ ТОМ 1 . Сергійчук М.Г., Скіпка І.М., Сергійчук Т.М. та ін

З

Загальне мікробне число 468, 475, 478
Запасні речовини 73-76
Збродження амінокислот клостридіями 265

І

Ігристі вина 429
Ідентифікація 303
Індикатори забруднення 469
Інсерційні послідовності 162

К

Кальвіна цикл, відновлювальний пентозофосфатний або рибулозобіфосфатний шлях 234, 235
Капсула 61-64
Карбоксидобактерії 213
Катаболізм 183, 187
Каустобіоліти 398
Колі-індекс 363, 365
Колі-титр 365
Коменсалім 368, 371
Копіотрофи 355
Класифікація 303
Клітинний цикл (мономорфний, диморфний, поліморфний) 99, 100, 101, 102, 103
Клітинна стінка 49-61
- грамнегативного типу (грацилікутна) 50, 51
- грампозитивного типу (фірмікутна) 50, 51

Культивування 105-113
- періодичне 105-111
- безперервне 111-113

Кон'югація 173

Л

Лактозний оперон 135
Ліпополісахарид 58-60
- ліпад А 58
- О-специфічний ланцюг 59
- ядро (коровий олігосахарид) 58
- R-фенотип 59
- S-фенотип 59

Літотрофи 184

М

Магнетосоми 79
Макроелементи 180
Мезосоми 71
Мезофіли 347
Мезофільні аеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми (МАФАнМ) 488, 489
Меляса 424
Мембрана цитоплазматична 67-70
Метаболізм 183
- основний 188
- підготовчий 187

Метаногенез 187, 290, 400
Метаногени (метаногенні археї, метаноархеї) 290, 399
Метанотрофи 400
Мікроаерофіли 358
Мікрокок 41
Мікроскоп 32
- електронний 39-40
- загальне збільшення 36
- люмінесцентний 38
- роздільна здатність 35
- світловий 32
- темнопольний 36-37
- фазово-контрастний 37-38

Мінливість 144
- модифікаційна 144
- спадкова (генотипова) 144, 145

Мобільні (мігруючі) генетичні елементи 162
Молекулярна організація рибосом 138
Муреїн (пептидоглікан) 53-55
Мутагени 148
Мутуалізм 368

Н

Незаконна рекомбінація 169
Нітрифікація 406
Нітрогеназний комплекс 243, 244
Низові раси дріжджів 423

ОБІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сенюк Г.М., Сергійчук Т.М. та ін.

Нитчасті форми 45, 46
Номенклатура 303
Нуклеоїд 48-49, 121-122

О

Облігатні аероби 185, 186, 187
Облігатні анаероби 186
Об'єктив 32, 34
Окисненя пірувату 194
Окисно-відновний потенціал 205, 217, 218, 219, 220, 228, 229, 230, 269, 270
Оксигенний фотосинтез 215, 228
Оліготрофи 355
Оператор 135
Оперон 120
Органотрофи 184, 187
Отримання 424 – 452
- амінокислот 445
- етанолу 424
- вакцин 446
- кормового білку 452
- пробіотиків 447
- препаратів для підвищення родючості ґрунтів 449
- препаратів проти шкідників рослин 451

Очищення стічних вод 458

П

Паличкоподібні форми 43
- аспорогенні 43, 44
- спороутворювальні 43, 44

Паразитизм 370
Параспоральні тіла 79
Патовар 305
Пека схема 211
Пентозофосфатний шлях, окисний пентозофосфатний шлях, фосфоглюконатний шлях 188, 192, 193
Пептидоглікан (муреїн) 52-55
Перенесення радикалів 183
Пілі (фімбрії ворсинки) 65-67
- загального типу 66
- статеві 66-67

Пивоваріння 424
Питома швидкість росту 108, 110
Плазміда 122, 156
- резистентності 160

Плеоморфізм 46
Поживне середовище 180-182
Популяція 105
Праймаза 125131
Промотор бактеріальний
Протопласти 55
Прототроф 145, 180
Псевдомуреїн 59-60
Психрофіки 347

Р

Раси дріжджів 423, 426
Рекомбінація ДНК 167
Репарація ДНК 151
Реплікативна виделка 122
Реплікація 98, 99, 122
Реплікон 122
Реплісома 128
Ріст 98
Розмноження 98
- швидкість 109

Рибосоми 73
Рибулозомонофосфатний цикл асиміляції формальдегіду (гексулозофосфатний шлях, RuMP) 238, 239

С

Сайт-специфічна рекомбінація 168
Санітарна мікробіологія 467
Санітарно-показові мікроорганізми 468-470
- індекс 469
- титр 469

Сарцини 42
Сериновий шлях асиміляції формальдегіду 238
Серовар 305
Синергізм 368, 372
Синтез
- антибіотиків 437
- ферментів 439, 440
- органічних кислот 441, 442

БІОЛОГІЯ Т.М. Сергійчук М.Г. Сивка, І.М. Сергійчук Т.М. та ін

– вітамінів, провітамінів, коферментів 445
Синтрофія 368, 370
Систематика 303
Системи модифікації і рестрикції 150
Солод 425
Спейсерна ДНК 120
Спірохети 45
Спірили 45
Спори 87-95
– актиноміцетів (актинобактерій) 93-95
– бактерій 87-93
Стенобіонти 347
Сферопласти 55
Стафілококи 43
Стрептокок 41, 42
Субстратне фосфорилювання 187, 211, 249
Сукцинат-пропіонатний шлях (шлях метилмалоніл-КоА) утворення пропіонату 259-261
Сусло 425

Т

Таксон 303
Таксономія 303
Тейхоєві кислоти 57-58
– гліцеротейхоєві 57-58
– рибіттейхоєві 57-58
Термінатор бактеріальний 134
Термофіли 347
Тетракоки 42
Трансамінування 246, 247
Трансдукція 175
– загальна 176
– специфічна 178
Транс-елементи 135
Транскарбоксилування 259
Транскриптон 120
Транскрипція 130
Трансляція 138
Транспозони 163
Трансформація 170
Трикарбонових кислот цикл, Кребса цикл 194
Тритіонатний шлях відновлення сульфіту 280
Турбідостат 112

Ф

Фази росту 106, 107, 108 , 114-116
– культури 106, 107,108
– біоплівки 114-116
Фарбування за Грамом 52
Фіксація вуглекислого газу 234
Фімбрії (ворсинки, пілі) 65
Фенолоксидаза 397
Фотосинтез 214
Фоторофи 184
Фотофосфорилювання 214, 218
Фотохімічний реакційний центр 217, 218

Х

Хемовар 305
Хемолітотрофи 204
Хемоорганотрофи 187
Хемостат 112
Хемотрофи 184, 187
Хижацтво 370
Хроматофори 72

Ц

Цикл 3-гідроксипропіонатний 234, 237
Цис-елементи 135
Цисти 95
Цистрон 120
Цитоплазма 67
Ціанобактерії 229, 230

Ч

Час генерації 105, 109

Ш

Штам 305

Я

Ядро бактеріальне 48-49

БІОЛОГІЯ. Том 1. Сергійчук М.Г., Сивівка Л.М., Сергійчук Т.М. та ін.

МІКРОБІОЛОГІЯ

Підписано до друку 25.02.020 р.
Формат 70х100/16. Папір офсетний.
Ум. друк. арк. 40,6.
Наклад 1000 прим.

ФО-П Маслаков Руслан Олексійович
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до державного реєстру видавців, виготівників
і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК №4726 від 29.05.2014 р.
Тел. (095) 699-25-20, (098) 366-48-27.
E-mail: osvita2005@gmail.com, www.rambook.com.ua

ВД «Освіта України»™
Видавничий дім «Освіта України» запрошує авторів до співпраці
з випуску видань, що стосуються питань управління,
модернізації, інноваційних процесів, технологій, методичних
і методологічних аспектів освіти та навчального процесу
у вищих навчальних закладах.
Надаємо всі види видавничих та поліграфічних послуг.

ОБІОЛОГІЯ. ТОМ 1 Сергійчук М.Г., Сківка І.М., Сергійчук Т.М. та ін