

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

Науковий журнал

Виходить 4 рази на рік

Засновано у липні 2006 року

№ 3(35)
2016

Одеса
ОНУ
2016

Засновник
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова
Свідоцтво про державну реєстрацію: серія КВ № 19409 від 17.08.2012 р.

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР

В.О. Іваниця (Одеса, Україна)

ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА

Т.О. Філіпова (Одеса, Україна)

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ СЕКРЕТАР

Т.В. Бурлака (Одеса, Україна)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Л.Д. Варбанець (Київ, Україна), А.І. Вінніков (Дніпропетровськ, Україна), Р.А. Волков (Чернівці, Україна), Б.М. Галкін (Одеса, Україна), А. Гаміан (Вроцлав, Польща), П.І. Гвоздяк (Київ, Україна), Т. Ертле (Нант, Франція), Ю.П. Зайцев (Одеса, Україна), Г.О. Іутинська (Київ, Україна), Л.В. Капрельянц (Одеса, Україна), О.А. Кіпріанова (Київ, Україна), Н.К. Коваленко (Київ, Україна), І.К. Курдиш (Київ, Україна), Б.П. Мацелюх (Київ, Україна), І.П. Метеліцина (Чікаго, США), Г.Г. Мінічева (Одеса, Україна), В.П. Патица (Київ, Україна), Петров С.А. (Одеса, Україна), В.С. Підгорський (Київ, Україна), В.П. Поліщук (Київ, Україна), А.А. Сибірний (Львів, Україна), Л.М. Сківка (Київ, Україна), М.Я. Співак (Київ, Україна), І.А. Тихонович (Санкт-Петербург, Росія), Ф.І. Товкач (Київ, Україна), В.О. Федоренко (Київ, Україна)

Науковий редактор випуску В.О. Іваниця

Прийняті до друку статті обов'язково рецензуються

Затверджено до друку Вченою радою

Одеського національного університету імені І.І. Мечникова.

Постановою Президії ВАК від 27.05.2009 № 1-05/2 журнал внесено до переліку наукових фахових видань України

Реферативна база даних «Україніка наукова», Index Copernicus Journals Master List, Наукова періодика України (Національна бібліотека України імені В.І. Вернадського), Ulrich's periodicals, Електронний архів-репозитарій Одеського національного університету імені І.І. Мечникова, Наукова періодика України (journal.uan.ua), Українські наукові журнали (usj.org.ua), Google Академія, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Index. Reseach Bib, Наукова електронна бібліотека e-LIBRARY, IBI Factor

Завідувач редакцією Н.Г. Юргелайтіс

Редактори: Л.Б. Котлярова, І.В. Райко

Адреса редакції:

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна. Тел.: +38 (048) 723-28-39,
e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua

<http://mbt.onu.edu.ua>

Establisher
by Odesa National Mechnykov University.
Registration of state certification: KB № 19409. Date of issue 17.08.2012.

EDITOR-IN-CHIEF

V.O. Ivanytsia (Odesa, Ukraine)

CO-EDITOR-IN-CHIEF

T.O. Filipova (Odesa, Ukraine)

EXECUTIVE SECRETARY

T.V. Burlaka (Odesa, Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

V.O. Fedorenko (Kyiv, Ukraine), B.M. Galkin (Odesa, Ukraine), A. Gamian (Wroclaw, Poland), P.I. Gvozdyak (Kyiv, Ukraine), T. Haertle (Nantes, France), G.O. Iutynska (Kyiv, Ukraine), L.V. Kapreliants (Odesa, Ukraine), O.A. Kiprianova (Kyiv, Ukraine), N.K. Kovalenko (Kyiv, Ukraine), I.K. Kurdish (Kyiv, Ukraine), B.P. Matselyukh (Kyiv, Ukraine), I.P. Metelitsyna (Chicago, USA), G.G. Minicheva (Odesa, Ukraine), V.P. Patyka (Kyiv, Ukraine), Petrov S.A. (Odesa, Ukraine), V.S. Pidgorskyi (Kyiv, Ukraine), V.P. Polishuk (Kyiv, Ukraine), M.Ya. Spivak (Kyiv, Ukraine), A.A. Sybirny (Lviv, Ukraine), L.M. Skivka (Kyiv, Ukraine), I.A. Tykhonovych (St.-Peterburg, Russia), F.I. Tovkach (Kyiv, Ukraine), L.D. Varbanets (Kyiv, Ukraine), A.I. Vinnikov (Dnipropetrovsk, Ukraine), R.A. Volkov (Chernivtsi, Ukraine), Yu.P. Zaytsev (Odesa, Ukraine)

Scientific editor V.O. Ivanytsia

Accepted for publishing articles are reviewed

Approved for publishing by Academic Council
of Odesa National Mechnykov University.

The journal was included to the list of Ukrainian scientific editions by the
Presidium of High Attestation Commission (№ 1-05 /2 from 27.05.2009).

Bibliographic Database "Ukrainika scientific", Index Copernicus Journals
Master List, Scientific Periodicals in National Library of Ukraine Vernadsky,
Ulrich's periodicals, Scientific Periodicals of Ukrain (journal.uran.ua),
Ukrainian Scientific journals (usj.org.ua), Institutional Repository at Odesa
I.I. Mechnykov National University, Google Scholar, Base-search, Citefactor,
Advanced, Sciences Index. Scientific Periodicals of Ukrain (journal.uran.ua),
Reseach Bib, e-LIBRARY, IBI Factor

Publishing editor N.G. Yurgelaitis

Editors: L.B. Kotlyarova, I.V. Raiko

A d d r e s s:

Odesa National Mechnykov University,
Dvoryanska str., 2, Odesa, 65082, Ukraine

Tel.: +38 (048) 723-28-39,

e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua

<http://mbt.onu.edu.ua>

З М І С Т

ДИСКУСІЇ

П.І. Гвоздяк ЕЛЕКТРОУТРИМУВАННЯ ЯК РУШІЙНА СИЛА ЗЛАГОДЖЕНОЇ РОБОТИ ЕНЗИМІВ НА МЕМБРАНАХ ЖИВИХ КЛІТИН	6
---	---

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

О. Волнічка, Б. Ванот СУЧАСНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ І ТЕРАПІЇ <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	21
--	----

Е К С П Е Р И М Е Н Т А Л Ь Н І П Р А Ц І

О.В. Кириченко БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ РИЗОСФЕРНОГО ҐРУНТУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ В АСОЦІАЦІЇ З БАКТЕРІЯМИ <i>AZOTOBACTER CHROOCOCCUM</i> T79, МОДИФІКОВАНИМИ N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМІНОМ	30
---	----

Т.В. Васильєва, І.А. Блайда, Л.І. Слюсаренко, Н.Ю. Васильєва, В.Ф. Хитрич БАКТЕРІАЛЬНЕ ВИЛУГОВУВАННЯ МЕТАЛІВ З ВІДХОДІВ ФЛОТАЦІЙНОГО ЗБАГАЧЕННЯ ВУГІЛЛЯ ЗА УЧАСТЮ ТІОСУЛЬФАТУ, ДВОХ- І ТРИВАЛЕНТНОГО ЗАЛІЗА	43
---	----

В.П. Миколаєвський, В.Г. Сергієнко, Л.В. Титова ВПЛИВ ІНОКУЛЯНТІВ НА ФОРМУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ, РОЗВИТОК ХВОРОБ ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ СОЇ РІЗНИХ СОРТІВ	57
---	----

О.Ю. Зінченко, С.Л. Міресь ВПЛИВ МЕТАБОЛІТІВ БАЗИДІОМІЦЕТІВ НА РІСТ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ	69
---	----

ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	81
---	----

CONTENTS

DISCUSSIONS

P.I. Gvozdyak

ELECTRORETENTION AS MOTIVE FORCES OF CONCERTED ACTION
OF ENZYMES ON THE MEMBRANES OF LIVING CELLS..... 6

OBSERVATION AND THEORETICAL ARTICLES

A. Wolnicka, B. Wanot

MODERN METHODS OF DIAGNOSIS AND TREATMENT
OF *HELICOBACTER PYLORI*..... 21

EXPERIMENTAL WORKS

O.V. Kyrychenko

BIOLOGICAL ACTIVITY OF RHIZOSPHERE SOIL SPRING WHEAT IN
ASSOCIATION WITH BACTERIA *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM*
KZT79, MODIFIED N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE..... 30

**T.V. Vasylieva, I.A. Blayda, L.I. Sliusarenko, N.Yu. Vasylieva,
V.F. Chitrich**

BACTERIAL LEACHING OF THE METALS FROM WASTE FLOTATION
OF COALS WITH PARTICIPATION OF THIOSULFATE, FERROUS AND
FERRIC IRON 43

V.P. Mykolaievski, V.G. Sergienko, L.V. Tytova

INOCULANTS INFLUENCE ON THE SYMBIOTIC SYSTEMS FORMATION,
DISEASES DEVELOPMENT AND PRODUCTIVITY OF THE DIFFERENT
SOYBEAN CULTIVARS 57

O.Yu. Zinchenko, S.L. Miros

THE INFLUENCE OF THE BASIDIOMYCETES METABOLITES
ON THE OPPORTUNISTIC BACTERIA GROWTH..... 69

INSTRUCTIONS FOR THE AUTHORS 81

ДИСКУСІЯ

DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3\(35\).77953](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3(35).77953)

УДК 577.151: 543.54

П.І. Гвоздяк

Інститут колоїдної хімії та хімії води імені А.В. Думанського НАН України,
Київ, Україна, e-mail: gvozdyak@ukr.net

ЕЛЕКТРОУТРИМУВАННЯ ЯК РУШІЙНА СИЛА ЗЛАГОДЖЕНОЇ РОБОТИ ЕНЗИМІВ НА МЕМБРАНАХ ЖИВИХ КЛІТИН

Візуальне (за допомогою світлового мікроскопа) спостереження явища електроутримувannya клітин мікроорганізмів та досліді з іммобілізації ензимів на колекторах в електричному полі дають підстави передбачити визначальну роль електроутримувannya у злагодженій роботі ферментних систем в клітинах будь-якого живого організму завдяки транспорту (проходженню) крізь мембрану заряджених йонів, які створюють неоднорідне електричне поле, поляризують молекули ензимів, змушують їх до пульсуючого руху, що сприяє їх взаємному контакту між собою і забезпечує узгоджене функціонування біологічного конвеєра з біотрансформації відповідних субстратів.

Ключові слова: електроутримувannya, іммобілізація ензимів, функціонування ензимів на мембранах.

Свого часу група дослідників ІКХХВ АН України (П.І. Гвоздяк, Т.П. Чехівська, В.Д. Гребенюк і Л.П. Кошечкіна) виявили надзвичайно цікаве явище, яке дістало назву «електроутримувannya» [1] та яке, на жаль, залишається поза увагою дослідників, зокрема, ензимологів, біофізиків, мембранологів та інш.

Суть електроутримувannya полягає у тому, що поміщені в електричне поле зернисті, пористі чи волокнисті діелектрики та провідники другого роду (колектори, загрузки) утримують з води, що протікає крізь них, і накопичують дисперсні, колоїдні та розчинені у воді заряджені, чи такі, що поляризуються, речовини (живі та мертві клітини мікроорганізмів, їх детрити, віруси, білки, нуклеїнові кислоти, інші біополімери, глинисті мінерали, пігменти, барвники та деякі інші органічні речовини тощо). Після зняття електричного поля ці речовини відділяються від колектора, деагредуються, суспендуються і легко вимиваються проточною водою. Повторне накладання електричного поля на колектор знову затримує з води, що протікає, вказані об'єкти, і так без кінця [2–7].

Явище електроутримувannya та, зокрема його прикладна частина під назвою «електрофільтрування» [8, 9] стали предметом декількох кандидатських дисертацій [10–14], а найбільш детально описані в докторській дисертації [15].

© П.І. Гвоздяк, 2016



Цікаво, що при електроутримуванні на зернистому силікагелі як колекторі відомої мікробіологам «чудесної палички» – бактерії *Serratia marcescens* – присутній у ній червоний пігмент продігіозин «вибивався» з бактеріальних клітин і сорбувався на силікагелі, забарвлюючи його в яскраво багрянний колір [16]. Механізм цього явища не встановлено.

Проте особливо сильне враження справив той факт, що при електроутримуванні ензимів вони не втрачали своїх каталітичних властивостей, і таким чином електроутримування виявилось четвертим методом іммобілізації ензимів [17–19].

До речі, майже через десятиліття після наших публікацій з приводу електроутримування ферментів, відомий японський ензимолог, професор Токійського університету Shintaro Furusaki опублікував статтю про «новий метод іммобілізації ензиму на основі сил Кулона» [20] без посилань на наші роботи. З'ясувалося, проф. Furusaki, не будучи знайомим з нашими публікаціями у провідних наукових журналах «Доклады Академии наук СССР», «Микробиология», «Прикладная биохимия и микробиология» фактично заново, самостійно перевідкрив електроутримування. Невдовзі Токійський університет офіційно повідомив про включення ІКХХВ АН УРСР в число «500 кращих лабораторій світу».

У спеціалістів з колоїдної хімії та електрохімії виникало багато різноманітних, часом доволі оригінальних, проте неадекватних, спекулятивних пояснень явища електроутримування.

Для візуалізації процесу вилучення з потоку водної суспензії клітин мікроорганізмів і затримки їх на зернах колекторів під впливом електричного поля виготовили спеціальну камеру [21] рис. 1.

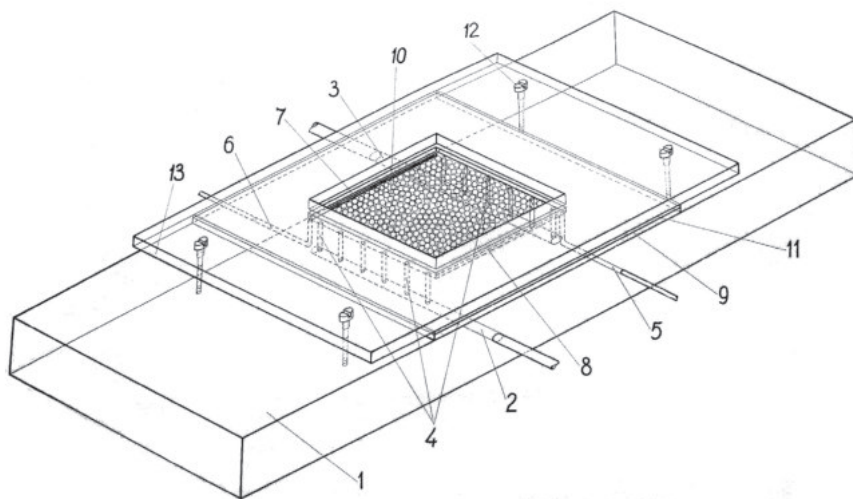


Рис. 1. Камера для спостереження електроутримування мікроорганізмів під оптичним мікроскопом

Fig. 1. The chamber for monitoring the electroretention of microorganisms under the optical microscope

Основою камери слугувала пластинка 1 із органічного скла розмірами 75 x 28 x 4 мм. В бокових стінках пластинки з протилежних сторін висвердлено канали 2 і 3, що сягають 3/4 її ширини, з виходом у вигляді тонких отворів 4 на верхню площину. Ці канали з отворами призначені для підводу і відводу суспензії. В отвори (5 і 6), що так само виходять на поверхню пластинки, просунуто дротики (7 і 8), які служили електродами. Зверху на пластинку покладена рамка (9) з тонкої (0,6 мм) еластичної листової гуми. Камеру, що утворилася, розмірами 15×15×0,6 мм заповнювали шаром кулькоподібних зерен силікагелю 10, діаметром 0,5 мм і накривали покривним скельцем (11), яке притискали за допомогою шурупів (12) до гуми (9) рамкою (13) з тонкого органічного скла. Камеру поміщали на предметний столик мікроскопа, забезпечували протік суспензії за бажанням справа наліво або зліва направо і спостерігали за поведінкою клітин мікроорганізмів при різних напруженостях електричного поля на електродах. Досліди проводили з суспензіями клітин різних мікроорганізмів на дистильованій воді. Для більшої чіткості зображення брали забарвлені фуксином і метиленовим синім силікагель і дріжджі, а спостереження вели в площині, що проходила через діаметр кульок заповнювача.

При протіканні суспензії через камеру без накладення електричного поля тільки окремі клітини адсорбуються на поверхні силікагелю, а основна кількість мікроорганізмів виноситься потоком рідини (рис. 2а). Вмикання струму приводить мікробні клітини в рух, відмінний від напрямку течії суспензії. При малій загальній напруженості електричного поля (близько до 5 В/см) цей рух не дуже інтенсивний, більш-менш упорядкований і направлений у бік анода. Клітини притягуються до поверхні зерен силікагелю, та особливо велика кількість їх накопичується в місцях контакту зерен між собою. На зверненій до катоду стороні поверхні силікагелю виникають численні ланцюжки з мікробних клітин, і якщо, наприклад, у випадку *Saccharomyces cerevisiae* кількість клітин в ланцюжку становить 3–7 (рис. 2 б) то у *Bacillus subtilis* сягає двадцяти і більше особин у кожній. У просторі між зернами силікагелю спостерігається ледь помітний рух клітин по колу, який посилюється зі збільшенням напруженості електричного поля (рис. 2 с).

В більших об'ємах, створених 4-5 зернами силікагелю, можна спостерігати по два-три центри, навколо яких обертаються клітини мікроорганізмів (рис. 2с).

Характерно, що, якщо навколо одного центру клітини рухаються за годинниковою стрілкою, то навколо сусіднього – проти годинникової стрілки. Припинення потоку суспензії або повільна зміна його на зворотній не позначається на напрямку обертання мікроорганізмів, зате зміна полярності на електродах призводить до негайної зміни напрямку обертання клітин на протилежний. При подальшому збільшенні напруженості електричного поля (порядку 70–200 В/см) клітини мікроорганізмів накопичуються в основному на стиках зерен силікагелю (рис. 2d), їх рух по колу пригнічується, і в міжзерновому просторі переважає інтенсивний поступальний рух в напрямку до аноду.



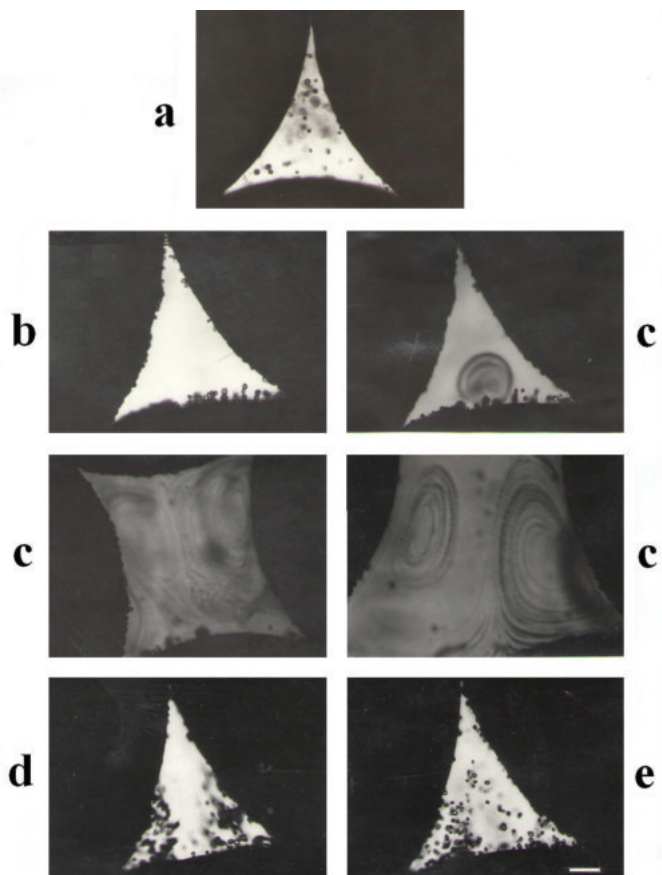


Рис. 2. Поведінка дріжджових клітин під час руху суспензії між зерен силікагелю при напруженості електричного поля (В/см):
 а – 0; б – 5; с – 20; д – 150; е – після вимкнення електричного струму.
 Масштабна лінійка 50 мкм. (мікрофотографії оптичної мікроскопії)

Fig. 2. The behaviour of yeast cells during suspension movement between the granules of silica gel in the electric field (V/cm):
 а – 0; б – 5; с – 20; д – 150; е – after switching off the electric current.
 Scale bar 50 μm , (photomicrographs of optical microscopy)

Після відключення струму клітини мікроорганізмів, що брали участь в обертальному русі, та основна маса клітин, що накопичилися на поверхні силікагелю, захоплюються потоком рідини (рис. 2е). При цьому ланцюжкові агрегати і конгломерати клітин тут же розсипаються.

Важливу роль у забезпеченні ефекту утримування мікроорганізмів відіграє, очевидно, електростатична взаємодія клітин з поляризованими полем матеріалами. Для підтвердження факту існування такої взаємодії проводили безпосереднє спостереження за поведінкою мікробних клітин в присутності частинок різноманітних матеріалів в електричному полі [22, 23]. Ми використовували гранично просту установку, схему якої представлено на рис. 3. Плоскопаралельний

скляний капіляр Перфільєва [24] (1) з'єднували зі скляними трубочками (2) за допомогою двох шматочків тонкого гумового шлангу (3). Комірку заповнювали суспензією клітин мікроорганізмів у суміші з частинками досліджуваного матеріалу, та за допомогою спеціального тримача кріпили до столика мікроскопа. В скляні трубочки поміщали електроди (4) і (5) та мікроскопіювали препарат за різних режимів електричного живлення. Досліджували поведінку клітин *Bacillus subtilis* 21 (деструктор капролактаму та гексаметилендіаміну) в присутності частинок глинистих мінералів (монтморилоніту, каоліну, вермикуліту, палигорскіту), ґрунту, піску, силікагелю (марки КСМ-2,5 та КСМ-5), аеросилу А-175, скла (у тому числі кварцового), азбесту, йонообмінних смол (АВ-17 і КУ-2), поліуретану, тефлону, графіту, активованого вугілля, заліза, міді, а також волокон целюлози, бавовни, вовни, шовку, капрону, нейлону та деяких інших під впливом постійного електричного струму.

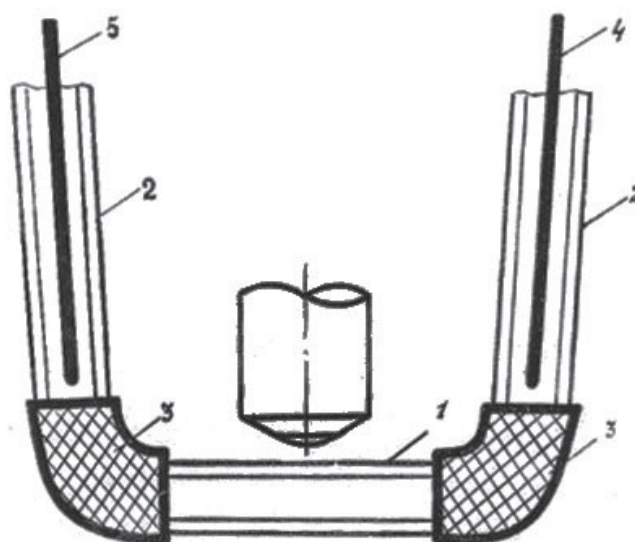


Рис. 3. Камера для дослідження поведінки клітин мікроорганізмів в електричному полі в присутності окремих частинок різноманітних матеріалів

(1 – капіляр Перфільєва; 2 – скляні трубки; 3 – з'єднувальні шланги; 4 і 5 – електроди).

Fig. 3 The chamber for the optical microscopic examination of the behavior of microbial cells in an electric field in the presence of the individual particles of various materials

(1 – Perfilev's capillary; 2 – glass tubes; 3 – connecting hoses; 4 and 5 – electrodes).

Взаємодія мікробних клітин з різноманітними матеріалами в постійному електричному полі зумовлюється природою цього матеріалу. Так, при однакових значеннях напруженості електричного поля і однієї і тієї ж суспензії мікроорганізмів дуже велика кількість клітин накопичується на частках аніоніту, глинистих мінералів, аеросилу, катіоніту, йонообмінних волокон, шовку. Провідники першого роду (вугілля, метали) абсолютно не взаємодіють з клітинами мікробів, які переміщуються в постійному електричному полі до аноду,



обходячи і протікаючи мимо цих частинок. Решта досліджуваних матеріалів займають проміжну позицію.

На рис. 4 наведено фотографії, що ілюструють поведінку клітин однодобової культури *Bacillus subtilis* в присутності частинок глинистого мінералу монтморилоніту. В звичайних умовах (без накладення електричного поля) тільки деякі клітини контактують з поверхнею глини (рис. 4 а): частинка мінералу має однойменний з клітинами від'ємний заряд, а суспензія приготовлена на дистильованій воді, яка не містить достатньої кількості катіонів, що сприяли б адсорбції. Окрема частинка мінералу в капілярі не може служити бар'єром для мікробних клітин, і вони її легко обходять при рухові суспензії відносно частинки (чого можна легко досягнути зміною рівня рідини в одній із скляних трубочок). Однак достатньо накласти на систему електричне поле постійного струму, як клітини збираються у значних кількостях на звернутій до катоду стороні поверхні глинистого мінералу та інтенсивно притягуються до нього (рис. 4б). Після відключення поля бактеріальні клітини залишають глину, утворюючи рівномірну суспензію. Повторне накладання електричного поля знову призводить до накопичення клітин на частинці; при зміні полярності на електродах всі мікробні клітини різко відштовхуються від цієї частини поверхні мінералу, а до протилежної сторони притягуються інші (рис. 4с).

Різниця у взаємодії клітин мікроорганізмів з поверхнею різноманітних матеріалів в електричному полі зумовлені не тільки природою цих матеріалів, але й їх станом, зокрема, гідрофільністю. Це можна продемонструвати на прикладі глинистих мінералів, гідрофільність яких знижується з підвищенням температури випалу.

Ми проводили досліди з природним монтморилонітом Черкаського родовища. Відомо, що при температурі 130–140 °С монтморилоніт втрачає сорбційно зв'язану воду (зворотний процес); при 550–575 °С відбувається незворотна дегідратація мінералу – він позбавляється кристалізаційної (структурної) вологи; при 850 °С змінюється кристалізаційна структура мінералу, з'являється альбіт, далі шпінель та інші високотемпературні кристалічні фази. У цій серії дослідів застосовували мінерали, нагріті до 100–1000 °С та охолоджені разом з муфелем. Монтморилоніт, що спікся, дробили, відбирали фракції з розміром частинок 30–40 мкм і змішували з суспензією мікроорганізмів у дистильованій воді. Використовували інтактні добові культури *Saccharomyces cerevisiae*, що виростили на сусло-агарі (СА) (клітини овальної форми, розміром 4,0 × 11,0 мкм), і *Bacillus subtilis*, що виростили на м'ясо-пептонному агарі (МПА) (палички 1,5–3,0 × 0,5–0,8 мкм). Концентрація мікроорганізмів у суспензії становила 10⁶–10⁸ клітин/мл. Для порівняння інтенсивності взаємодії мікробних клітин з окремими частинками глини, які піддавалися різній температурній обробці, у кожній серії дослідів користувалися однією і тією ж суспензією мікроорганізмів, а для спостереження вибирали більш-менш однакові за розміром частинки монтморилоніту. На електроди протягом однакового проміжку часу подавали випрямлений діодами струм. Картину фіксували на фотоплівці, здійснювали



зміну полярності і знову через певний час фотографували поле зору. В камері створювали напруженість електричного поля 15–25 В/см.

Відносно великі та масивні частинки монтморилоніту за такої напруженості поля не зрушувалися з місця, а клітини інтенсивно зміщувалися в напрямку аноду. Однак, як тільки вони наближалися до поляризованої часточки глини, то відразу ж притягувалися звернутою до катоду стороною поверхні, накопичувалися на ній та утворювали численні ланцюгові агрегати і нагромадження.

На рис. 4 приведено фотографії, на яких зафіксовано результат двохвилинної взаємодії клітин *Bacillus subtilis* з частинками монтморилоніту без випалу та різного ступеню (температури) випалу, в електричному полі, напруженість якого становила 25 В/см.

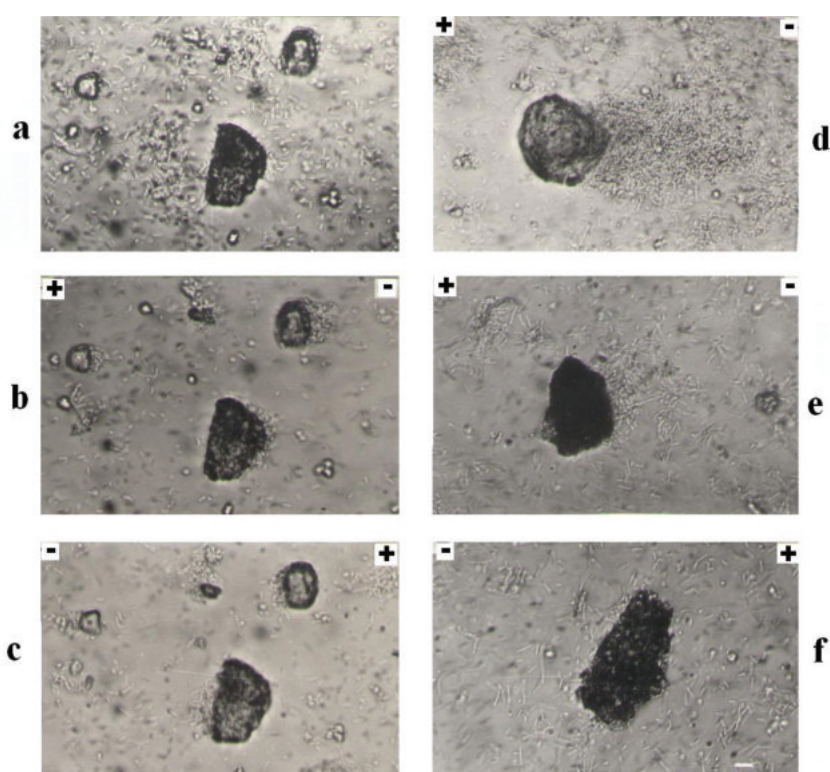


Рис. 4. Поведінка клітин *Bacillus subtilis* в присутності частинок глинистого мінералу монтморилоніту:

без накладення електричного поля (а), в електричному полі постійного струму (b) та після зміни полярності на електродах (c); в електричному полі невипаленого монтморилоніту (d); після випалу глини при 500 °С (e); та після випалу глини при 800 °С (f).

Fig. 4. The behavior of *Bacillus subtilis* cells in the presence of particles of a clay mineral montmorillonite:

without the imposition of an electric field (a), in electric field of direct current (b) and after change of the polarity on the electrodes (c); in electric field of not scorched montmorillonite (d); after firing the clay at 500 °C (e); after firing the clay at 800 °C (f). Scale bar 1 μm, (photomicrographs of optical microscopy)

Проведені дослідження показали, що частинки необробленого глинистого мінералу та зразки, випалені за температури нижчої за 500-600 °С, при дії електричного поля постійного струму інтенсивно накопичують на своїй звернутій до катоду поверхні мікробні клітини. Зміна полярності на електродах призводить до різкого обопільного відштовхування частинок глини та клітин мікроорганізмів. У цей момент при значному скупченні мікробних клітин на поверхні мінералу, чого можна досягти збільшенням часу подачі напруги або застосуванням більш густої суспензії, спостерігається різке зміщення частинки глини у бік, протилежний до напрямку руху клітин. Такого самого роду сили відштовхування діють і між окремими клітинами мікроорганізмів під час зміни полярності. Після вимкнення струму клітини з часом знову розподіляються рівномірно по всьому об'єму камери, не утворюючи конгломератів або скупчень.

Така поведінка частинок глини та клітин мікроорганізмів свідчить про суттєву роль подвійного електричного шару (ПЕШ) в їх поляризації. Відомо, що частинки глинистого мінералу та мікробні клітини мають у воді певні подвійні електричні шари, зовнішня обкладинка яких представлена позитивно зарядженими йонами (рис. 5a). Ця обставина перешкоджає клітинам мікробів інтенсивно адсорбуватися на поверхні частинки природної глини. Накладання постійного електричного поля призводить до зміщення ПЕШ, поляризації частинок, в результаті чого клітини підтягуються до частинки на близьку відстань (рис. 5b). При відключенні електричного поля подвійні електричні шари частинок мінералу і мікроорганізмів повертаються у вихідне, «нормальне» положення та перекриваються (рис. 5c) і, будучи однойменно зарядженими, викликають різке взаємне відштовхування частинок і клітин одне від одного (рис. 5d). Це одне з проявів відомих електрокінетичних явищ.

Таким чином, ефект електроутримування зв'язаний, очевидно, з поляризацією речовин в електричному полі, перерозподілом зарядів, електростатичною, диполь-дипольною взаємодією матеріалів (колекторів) і мікробних клітин, які, як відомо, мають у водному середовищі значний дипольний момент. Така взаємодія визначальним чином забезпечує утримання дисперсних часток різними зернистими, пористими і волокнистими матеріалами в електричному полі.

Процеси електроутримування мікробних клітин, що спостерігаються безпосередньо за допомогою світлового мікроскопа, можуть служити моделлю тих процесів, які поки-що неможливо експериментально побачити: йдеться, зокрема, про іммобілізацію ензимів на колекторах, розміщених в електричному полі.

Як колектор ензимів використовували вату або знежирену хлороформом овечу шерсть. Через таку загрузку, поляризовану електричним полем постійного струму, пропускали розчини кристалічної бактеріальної амілази (Daiwa Kasei К.К.), очищеного амілолітичного ферментного препарату із гриба *Aspergillus awamori* (УкрНДІ Харчової промисловості, Харків), амілосубтиліну ГЗх-1 (Вільнюський завод ферментних препаратів) або безклітинний екстракт культури *Bacillus subtilis 21*, що містить дезаміназу гексаметилендіаміну (ГМД) –

токсичної синтетичної речовини, що знаходиться у стічних водах виробництва анідного волокна.

Через загрузку з закріпленням на ній за принципом електроутримання ензимом пропускали розчин відповідного субстрату в дистильованій воді – 1 % розчин оклейстеризованого водорозчинного картопляного крохмалю або 0,1 % розчин ГМД.

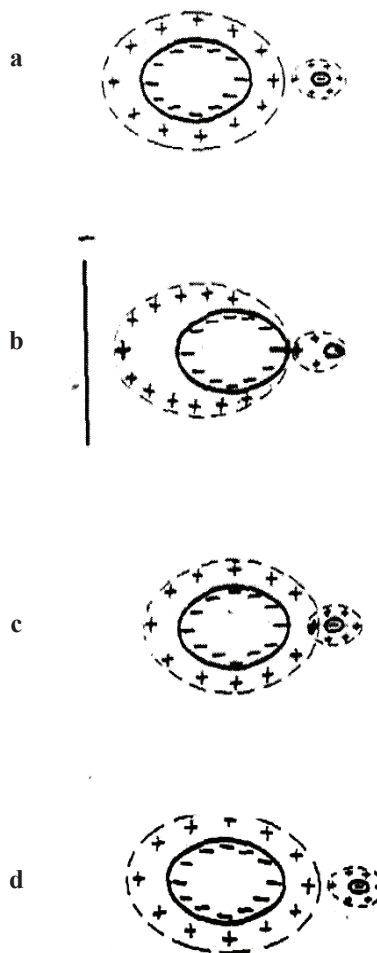


Рис. 5. Схема взаємодії мікробної клітини з частинкою глинистого мінералу у водній суспензії – а; при накладанні електричного поля – б; після відключення поля – с і d

Fig. 5. The scheme of interaction of microbial cell with a clay mineral particle in an aqueous suspension – a; in imposing electric field – b; after disabling the field- c and d

Показано, що утримувані поляризованим колектором кристалічна і технічна амілази гідролізують крохмаль до декстринів, які не забарвлюються йодом, а також до мальтози і глюкози. Експерименти тривали до 12 тижнів без суттєвої втрати активності ензимів.



Імобілізовані в електричному полі ферментні системи з *Bacillus subtilis* розкладали ГМД практично повністю. Експеримент тривав протягом 2 тижнів [25, 26].

Отже, ензими, що утримуються в електричному полі, здійснюють відповідні перетворення субстратів. Слід зазначити, що при виключенні поля ензими вимиваються потоком рідини з об'єму загрузки. При цьому вони не втрачають своїх каталітичних властивостей і можуть бути повторно імобілізовані.

Встановлення факту зберігання активності ензимів при їх електроутримуванні відкриває перспективу для використання цього явища в біотехнології при імобілізації ензимів а також при розробці методів очистки і виділення ензимів з біологічних сумішей.

Закріплення ензимів за типом електроутримування має переваги порівняно з іншими типами імобілізації. Так, для його здійснення не потрібно спеціально підготовлених колекторів і будь-яких реактивів; джерелами придатних до закріплення ензимів можуть бути як чисті кристалічні, так і технічні препарати, навіть безклітинні екстракти; ензими можна легко зняти з колектора (для цього досить відключити електричне поле і промити систему водою), а потім використати його для закріплення тих самих або інших ензимів; є можливість імобілізувати комплекс ензимів або суміш різноманітних мікробних культур та ензимів; електроутримування зводить до мінімуму небезпеку мікробного псування імобілізованих ензимів.

Істотним обмеженням і недоліком електроімобілізації ензимів є те, що систему весь час необхідно тримати під напругою, а це утруднює роботу у випадках, коли субстрат чи продукт реакції дуже рухливі в електричному полі, або коли для проведення ферментативної реакції необхідне середовище з високою йонною силою.

Описана імобілізація ензимів аналогічна, очевидно, електроутримуванню мікроорганізмів і реалізується завдяки електростатичній і диполь-дипольній взаємодіям між поляризованими частинками колектора і молекулами білка, що несуть відповідний заряд і мають в електричному полі, як відомо, великий дипольний момент. Через те що матеріал колектора має відмінну від рідини діелектричну проникливість і поляризується, електричне поле в об'ємі робочої камери різко неоднорідне, з численними градієнтами потенціалу. Це створює умови для діелектрофоретичного переміщення білків-диполів у зони більшої напруженості поля, і ензими до поверхні колектора доставляються за рахунок електро- та діелектрофорезу. При вимкненні електричного поля диполь-дипольна взаємодія зникає, і білок вимивається з колектора.

Як відомо, ензими у будь-якій живій клітині об'єднані на різноманітних мембранах в ансамблі з чіткою просторовою організацією і фіксацією, причому всі ензими ансамблю працюють злагоджено у просторі та часі, здійснюючи поступово, по-стадійно, як на конвеєрі, перетворення хімічних сполук: продукт однієї ензиматичної стадії служить субстратом наступної. Деякі ензими такого конвеєру вмонтовані в тіло мембрани, пронизують її, фіксовані в ній і не мо-



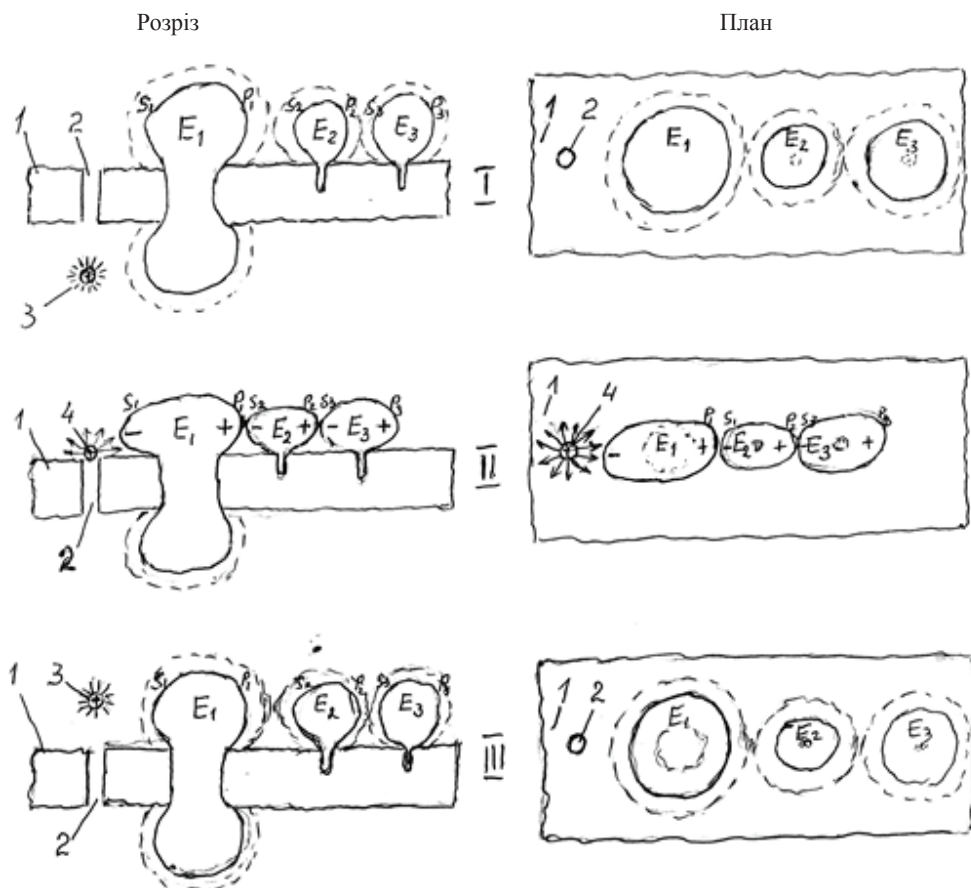


Рис. 6 Фрагментарна схема функціонування ансамблю ензимів на мембрані живої клітини за принципом електроутримання.

1 – мембрана; 2 – йонний канал; 3 – гідратований (нейтралізований) катіон; 4 – «голий» катіон; E_1 , E_2 , E_3 – ензими ансамблю; S , P – субстрати і продукти відповідних ензиматичних реакцій; $P_1=S_2$, $P_2=S_3$. I, III – ситуація за відсутності неоднорідного електричного поля; II – ситуація за наявності неоднорідного електричного поля.

Fig. 6. Fragmentary scheme of the function of the enzyme ensemble on the membrane of a living cell on the basis of electroretention.

1 – membrane; 2 – ion channel; 3 – hydrated (neutralized) cation; 4 – «naked» cation; E_1 , E_2 , E_3 – enzymes of the ensemble; S , P – substrates and the respective products of enzymatic reactions; $P_1=S_2$, $P_2=S_3$. I, III – the situation in the absence of inhomogeneous electric field II – the situation in the presence of an inhomogeneous electric field.



жуть інтенсивно переміщатися у мембрані, інші ж – розміщені на мембрані та мають можливість латерально рухатися (звісно, у певних межах) по її поверхні.

Процеси, описані у явищі електроутримувannya, забезпечують механіку переміщення та злагодженої взаємодії ензимів у їх ансамблях на (у) мембранах, що дозволяє запропонувати нову гіпотезу біофізичного механізму функціонування ланцюгів ензиматичних реакцій. Саме неоднорідне електричне поле точкових зарядів катіонів, що проходять крізь мембрану під впливом трансмембранного потенціалу, примушує локалізовані у мембранах ензими поляризуватися, утворюючи тимчасові диполі, а розміщені на мембранах ензими не тільки поляризуватися, а ще й переміщатися у напрямку більш напруженого електричного поля і таким чином вступати у безпосередній фізичний контакт з відповідними сусідами ензиматичного ансамблю (рис. 6), під час якого й здійснюється передача хімічних сполук – продукту попереднього ензиму біоконвеєра як субстрату до наступного ензиму і т.д. Після зникнення електричного поля в результаті гідратації йону (наприклад, K^+) чи його нейтралізації протийоном (наприклад, Cl^-), молекули ензимів позбавляються дипольного статусу, відновлюють свій нормальний подвійний електричний шар (чи гідратну оболонку), і це призводить до їх розштовхування, роз'єднання, повернення у вихідне положення на мембрані; ензими здійснюють притаманні їм трансформації хімічних сполук і чекають появи наступного неоднорідного електричного поля, зумовленого появою на внутрішній стороні мембрани чергового дегідратованого («голоного») йона, яке знову спричиняє утворення диполів на ензимах і забезпечує рух і фізичний контакт між ними для злагодженої передачі проміжних продуктів чергового ензиматичного акту.

Цей йон при виході на поверхню мембрани (байдуже з якого боку – внутрішньоклітинної, чи зовнішньої) створює об'ємне неоднорідне електричне поле, яке викликає поляризацію і спричиняє взаємодію, рух та контакт між собою ензимів, що розташовані на/в мембрані навколо йонного каналу, тобто один йон може «обслуговувати» не один, а декілька ансамблів ензимів, розташованих з усіх сторін поблизу йонного каналу.

До речі, запропонована гіпотеза пояснює також, для чого молекули ферментних білків мають значно більші розміри, ніж це потрібно для здійснення суто ензиматичних реакцій: великий розмір молекули ферментного білку створює можливість більшої її поляризації, утворення потужнішого дипольного моменту, так необхідного для переміщення в неоднорідному електричному полі.

Таким чином, ферментативні реакції в клітині чітко організовані та керовані і детермінуються проходженням йонів крізь мембрану. Субстрати – продукти багатоступеневих ензиматичних реакцій передаються від ензиму до ензиму при їх безпосередньому контакті, що здійснюється за принципом явища електроутримувannya.

Цією публікацією автор має на меті привернути увагу наукової спільноти і запросити фахівців до дискусії щодо запропонованої гіпотези про роль електроутримувannya в узгодженому функціонуванні комплексів ензимів.



П.И. Гвоздяк

Институт коллоидной химии и химии воды имени А.В. Думанского НАН Украины,
Киев, Украина, e-mail: gvozdyak@ukr.net

**ЭЛЕКТРОУДЕРЖИВАНИЕ КАК ДВИЖУЩАЯ СИЛА
СЛАЖЕННОЙ РАБОТЫ ЭНЗИМОВ НА МЕМБРАНАХ
ЖИВЫХ КЛЕТОК**

Реферат

Визуальное (с помощью светового микроскопа) наблюдение явления электроудерживания микробных клеток и опыты по иммобилизации энзимов на коллекторах, помещенных в электрическое поле, дают основания предположить определяющую роль электроудерживания в слаженной работе ферментных систем в клетках любого живого организма благодаря транспорту (прохождению) через мембрану ионов, которые создают неоднородное электрическое поле, поляризуют молекулы энзимов и приводят их в пульсирующее движение, что способствует их взаимному контактированию между собой и обеспечивает согласованное функционирование биологического конвейера по биотрансформации соответствующих субстратов.

Ключевые слова: электроудерживание, иммобилизация энзимов, функционирование энзимов на мембранах.

P.I. Gvozdyak

A.V. Dumansky Institute of Colloid and Water Chemistry,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
e-mail: gvozdyak@ukr.net

**ELECTRORETENTION AS MOTIVE FORCES OF
CONCERTED ACTION OF ENZYMES
ON THE MEMBRANES OF LIVING CELLS**

Summary

Visual (by light microscope) observation of the phenomenon of the electroretention of microbial cells and the experiments with immobilization of the enzymes on the collectors in electric field suggests a decisive role of the electroretention coordinated action of enzyme systems in the cells of any living organism due to the transmembrane transport of ions, which create an inhomogeneous electric field, polarize the molecules of the enzymes that cause them to pulsating movement which contributes to their mutual contact with each other and provides the coordinated functioning of the biological conveyor biotransformation of the respective substrates.

Key words: electroretention, immobilization of enzymes, the functioning of enzymes on membranes.



References

1. Gvozdyak PI Electrorretention. *Vodoochistka. Vodopodgotovka. Vodossnabzhenie*. 2014, 8, 32-43 (in Russian).
2. Gvozdyak PI, Grebenyuk VD, Koshechkina LP, Chekhovskaya TP, Gvozdyak RI, Rotmistrov MN, Schucheva AV The method of water purification. *USSR Patent* 470503, 15.05.1975 (in Russian).
3. Gvozdyak PI, Chekhovskaya TP, Grebenyuk VD, Koshechkina LP Retention of microorganisms on granular media, placed in an electrical field. *Doklady Akademii nauk USSR*. 1974, 214, (2), 454-455 (in Russian).
4. Gvozdyak PI, Mogilevich NF Retention of nucleic acids in an inhomogeneous electric field of direct current. *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1975, B. 5, 453-454 (In Ukrainian).
5. Gvozdyak PI, Grebenyuk VD, Koshechkina LP, Chehovska TP, Gvozdyak RI Electrorretention of particles with varying degrees of dispersion from fluid flow. *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1975, 7, 621-622 (In Ukrainian).
6. Gvozdyak PI, Chekhovskaya TP Electrorretention of microorganisms. *Mikrobiologiya*. 1976, 45(5), 897-901 (in Russian).
7. Nikonenko VU, Bashkirova ND, Dobrovolskaja GM, Gvozdyak PI Electrorretention of the nuclear polyhedrosis virus of *Galleria mellonella*. *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1978, B. 6, 557-558 (In Ukrainian).
8. Gvozdyak PI, Chekhovskaya TP, Grebenyuk VD, Koshechkina LP, Rotmistrov M.N. Removal of microorganisms from water by electrofiltration. *Actual questions of sanitary microbiology*. Moscow, 1973, 118 (in Russian).
9. Kurilenko OD, Bazhal IG, Grebenyuk VD, Duhin SS, Gvozdyak PI. Problems of Electrofiltration of liquids. *Visnyk Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1975, 3, 29-36 (In Ukrainian).
10. Chekhovskaya TP Electrorretention of microorganisms in water purification. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. tekhn. nauk*, Kiev, 1984, 17 (in Russian).
11. Sobolevskaya TT Influence of salts and colloids on the process of electrochemical regeneration of ionites. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. khim. nauk*, Kiev, 1975, 24 (in Russian).
12. Skubko TP Removal of microorganisms and pathogens from the water in the production of injection solutions. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. biol. nauk*. Kiev, 1982, 17 (in Russian).
13. Strizhak NP Research in the branch of the electrofiltration of suspensions *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. khim. nauk*, Kiev, 1981, 23 (in Russian).
14. Verbich SV Electromembranes of dispersed particles. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. khim. nauk*, Kiev, 24 (in Russian).
15. Gvozdyak PI The study of microbial destruction of synthetic nitrogen-containing substances and electrorretention of microorganisms in connection with water purification. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni doctora biolog. nauk*, 1976, 34 (in Russian).



16. Gvozdyak PI, Gavrish OG, Chekhovskaya TP Emission of prodigiosin from *Serratia marcescens* at the electroretention. *Doklady Akademii nauk USSR*. 1981, 261(1), .214-215 (in Russian).
17. Gvozdyak PI, Mogilevich NF, Rotmistrov MN Concentration of the protein solutions in a nonuniform electric field. *Doklady Akademii nauk USSR*. 1974, 218(4), 970-971 (in Russian).
18. Gvozdyak PI, Mogilevich NF, Poberezhets ZM, Gvozdyak RI, The method derive products of enzymatic reactions. *USSR Patent* 526623, 30.08.76 (in Russian).
19. Gvozdyak PI, Rotmistrov MN, Mogilevich NF Immobilized enzymes *Visnyk Akademii nauk Ukrainkoji RSR*, 1979, 43(5) 52-60(In Ukrainian).
20. Furusaki Sh, Nobuhiro A. Enzyme immobilization by the Coulomb force. *Biotechnology and Bioengineering*, 1983, 25(9), 2209-2219.
21. Gvozdyak PI The behavior of microbial cells during suspension movement in an inhomogeneous electric field *Doklady Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1975, Б. 3, 254-257 (In Ukrainian).
22. Gvozdyak P1, Garbara SV, Chehovska TP, Minchenko VV, Voronkova RM. Effect of temperature montmorillonite firing on its interaction with microbial cells. *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR.*, 1975, Б 10, 905-908 (In Ukrainian).
23. Gvozdyak P1, Garbara SV, Chehovska TP, Rotmistrov MN, About the interaction of microbial cells with the polarized materials. *Mikrobiologiya*, 1977, 46(1), 118 –122 (in Russian).
24. Perfilev BV Microzonal structure of lacustrine deposits of silt and methods of its research. Leningrad: Nauka, 1972, 216 (in Russian).
25. Gvozdyak PI, Mogilevich NF, Nikonenko VU Electroretention of microorganisms and biological macromolecules. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 1977, 13(2), 295-299 (in Russian).
26. Gvozdyak PI, Mogilevich NF, Nikonenko VU Electroretention of enzymes // *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1977, Б 5, 436-438 (In Ukrainian).

Стаття надійшла до редакції 26.06.2016 р.



A. Wolnicka, B. Wanot

Polonia University, Institute for Health and Nursing, Poland gen. Kazimierza Pułaskiego 4/6, 42-200
Częstochowa, e-mail: markockaaleksandra@gmail.com

MODERN METHODS OF DIAGNOSIS AND TREATMENT OF HELICOBACTER PYLORI

*In this review the modern data about the history of discovery, biology, virulence factors, infection, pathogenesis and modern methods of diagnostics of gram-negative, mobile bacteria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), being a major cause of chronic gastritis and peptic ulcer disease are having been investigated. *H. pylori* inhabits the surface epithelial cells of the gastric mucosa of the stomach and part of under-pyloric. *H. pylori* is a bacterium with numerous cilia located at both poles. It has virulence factors allowed breaking the body's natural defense. *H. pylori* infection spreads by the faecal-oral route. *H. pylori* infection plays an important role in the pathogenesis of gastric and duodenal ulcers, gastric cancer or gastric lymphoma type mucosa associated lymphatic tissue (MALT). The diagnosis of *H. pylori* may be invasive included an urease test and bacterial cultures, and non-invasive – a serological test, breathing tests, testing of stool antigen Hp.*

Key words: H. pylori, virulence factors, adaptive characteristics, pathogenesis, methods of diagnosis, medicines dosage.

Introduction

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is a gram-negative bacterium, known to sticks. It inhabits the surface epithelial cells of the gastric mucosa and in the under-pyloric part of the stomach. According to the World Health Organization (WHO) in developing countries, 70% of human population is a carrier of *H. pylori* without any symptoms. Infection occurs most often between 40–50 years of age. A carrier is not so common in the developed countries (according to WHO, 30% of the population) [1]. Infection with this bacterium concerns in Poland is 84% of adults and 32% of children and adolescents up to 18 years of age [27]. The fact that there are so many carriers of *H. pylori* without any disease symptoms is allowing a microbiologist to suggest that we should consider this bacterium as a representative of the physiological biota of the stomach [2]. The bacteria *H. pylori* were discovered in 1875 by German scientists, but they failed to breed them artificially in the laboratory and quickly forgot about them [3]. Once again, regardless of the German research scientists, these bacteria



were discovered in 1899 by Walery Jaworski from the Jagiellonian University. He observed the characteristic spirals of bacteria and named them *Vibrio rugula*. At first he suggested that they can cause stomach disorders. His observations were published in the “Handbook of diseases of the stomach”, but they went unnoticed. The organism was grown in 1982, then also they noticed the high degree of morphological similarity to the family *Compylobacter*. Initially, in 1984 it was named the bacterium *Compylobacter pyloridis* that in 1987, changed it into *Compylobacter pylori* [4]. After researching the genome in 1989, the strains were eventually qualified as *Helicobacter*. The discovery is attributed to two Australian pathologists at the University of Perth, Barry Marshall and Robin Warren, who with this discovery were awarded the Nobel Prize in 2005 in the medical field [5].

Morphology and physiology of *Helicobacter pylori*

H. pylori is a mobile, spiral microaerophilic bacterium, forming a tight usually three rolls [6]. Morphologically similar to *Campylobacter*, although they are generally larger. The length of the bacteria is in the range of 3–6 microns and a width of 0.6 microns. The microorganism does not produce spores. It is characterized by the presence of numerous cilia on both ends [8].

The bacterium exists under small amount of oxygen on the surface of the epithelial cell lining of the stomach and duodenum, less the membrane lining of the esophagus. It has high motility in the mucus covering the mucous membranes. Mobility is the result of the aforementioned, a number of cilia, usually six per each pole. *H. pylori* produces hydrogenase – the enzyme, which enables to extract energy from the oxidation of hydrogen molecules (H^+) produced by other intestinal bacteria. It can also move from the spiral form to cocci, which probably facilitates its survival and proliferation [8]. *H. pylori* is sensitive to external conditions, however, it can survive in the acidic environment (pH of the stomach 2–4). It is characterized by five major types of outer membrane proteins: adhesins porins, iron transporters, proteins linked to the cilia and protein of unknown function. Like other Gram-negative bacteria, the outer membrane of *H. pylori* consists phospholipids and lipopolysaccharide. The outer membrane has also glucosides cholesterol, which exists in a small number of other bacteria. Biochemical properties can be used to differentiate bacteria in the genus [9].

Virulence factors of *Helicobacter pylori*

Virulence factor defines the characteristics of the bacteria that allow it to overcome the natural defenses of the body. *H. pylori* lives in unfavorable environment, which is the human stomach. The stomach content has a very low pH 2–4, which for the majority of bacteria is fatal. The characteristics for survival of *H. pylori* in such a very difficult environment are: (1) urease – production of large quantities of this enzyme, allows the *H. pylori* decomposition of urea to ammonia and carbon dioxide. The final product, which is ammonia, neutralizes the acidic gastric juice and increases the pH in the immediate vicinity of the bacteria. (2). Cilia – cilia pole arrangement allows movement of bacteria and penetrates the mucous layer of the



stomach. The mucous layer protects the epithelial cells lining the stomach by the action of hydrochloric acid bacteria thus uses the host defense system. Cilia are composed of two flagella: FlaA and FlaB. (3). The pump is pumped H⁺ ions from the cells. Locking these pumps by some drugs raises the pH in the stomach. (4) System antioxidant – neutralizes free radicals generated by the immune system cells – neutrophils. It consists of: catalase, superoxide dismutase, protein MdaB and Napa and an efficient system of repairing DNA. (5) Adhesins are responsible for the adhesion of bacteria to the gastric epithelium. (6) Cytotoxins – vacA genes encoded in (50% of strains) and cagA (70% strain). Vacuole toxin (vacA) causes epithelial cells to the fusion of the endosomes with lysosomes and promotes the formation of large vacuoles. Facilitates the free flow of urea to the stomach. The toxin disrupts the cytoskeleton of epithelial cells and enhances the adhesion of bacteria to damaged epithelium [1, 10–12].

Infection and pathogenesis

The infection spreads by the faecal-oral route and is associated with poor hygiene and low standard of living. Numerous virulence factors allow *H. pylori* colonization of epithelial cells and cause the pathological changes [6]. *Helicobacter pylori* infection plays an important role in the pathogenesis of gastric and duodenal ulcers, gastric cancer and gastric lymphoma type mucosa associated with lymphatic tissue (MALT). Defensive reactions of the body caused by infection are not able to eliminate bacteria. This bacterium is causing 80–90% of cases of gastritis [6]. Epithelial damage is a result of substance affected produced by bacteria, such as amonia, protease, cytotoxin A, and some of phospholipase are making epithelia damage [13]. Unfortunately, in most cases there is a chronic infection phase, which is the most common cause of gastritis. In 80% of cases there are no obvious symptoms of the disease. The level of gastrin and acid secretion are correct. 15% indicates the production of large amounts of hydrochloric acid led to inflammatory changes within the under-pylorus of the stomach. This in turn causes the secretion of gastrin enhanced by increased secretion of hydrochloric acid, and thus the possibility of ulcers of the stomach and duodenum. In the remaining 5% of the cases the infection causes changes in the gastric mucosa within the body and fundus. Chronic gastritis associated with *H. pylori* infection is causing atrophy of the mucous membrane and the occurrence of outbreaks of intestinal metaplasia [17]. Most people suffering from peptic ulcer disease (80-90%) have an infection with *H. pylori*. Underlying ulceration it may have several mechanisms, depending on *H. pylori* infection: increased production of hydrochloric acid, the formation of foci of gastric metaplasia, the development of local inflammatory reaction mucosal defense whether the reduction process of mucosa [13]. Gastric cancer is characterized by two types: the intestinal and diffuse [14]. *H. pylori* is known as a cause of gene mutations leads to loss of the primary function of gastric epithelial cells and their uncontrolled growth and unlimited division. Well documented is the effect of chronic *H. pylori* infection on the development of intestinal form of cancer, without affecting the other morphological type of cancer [21]. Prolonged stimulation of the immune system in *H. pylori* infection results in a risk of lymphoma of gastric



mucosa. The bacterium has an effect on the development of 90% stomach MALT lymphoma. The risk of the occurrence of this condition is higher when the bacteria present in the genome gene *VacA* [15]. Infection with *H. pylori* is not without effect on the absorption of medicines. It was found necessary to administer higher doses of thyroxine in the patients with hypothyroidism, in which there is concurrent infection with *H. pylori* [25]. *H. pylori* also affects the immune system response in vitro by activating B cells, followed by the production of antibodies, T cell activation, activation of macrophages, neutrophils and their chemotactic activity [26].

Diagnosis of *H. pylori* infection

A prerequisite for the initiation of treatment is to identify infection. Diagnostics, depending on the performance of endoscopy, can be invasive or non-invasive [16]. The decrease in the accuracy of the test may emerge the use of medicines, that is why it is necessary to discount for 7–14 days before the planned screening of *H. pylori*. Medicines that can affect the accuracy of the study are: medicines with proton pump inhibitors, the drugs from the group of H⁺-blockers and antibiotics. The kind of method of diagnostic *H. pylori* is this that requires endoscopy with biopsy. The downloaded material (approximately 5 mm) may be tested for the production of urease, histological evaluation or assumption of culture [16]. Cuttings are taken from the pylorus, less of the cardiac and fundus (the material is taken when there was a shift towards the top of the stomach colony, which is a consequence of taking proton pump inhibitors). The rapid urease test involves placing a previously downloaded a piece of the lining of the stomach to the paper soaked in a solution of urea. If the material is *H. pylori* bacteria it reaches the decomposition of urea to ammonia, thereby raising the pH and the change in color paper. The test has a high specificity (> 90%) and sensitivity (> 90%). Reading is possible after 15 minutes [17]. The investigation has two main advantages. Firstly, you conduct research on antimicrobial sensitivity. Secondly, the material can be characterized in detail. The sensitivity of laboratory cultures of *H. pylori* is 95%. In addition, breeding *H. pylori* requires special conditions. It requires micro-aerobic environment, high humidity, and the incubations are 35–37 °C for 7–10 days. Positive cultures were detected after 3–5 days of incubation. Such method of diagnosing the organism is associated with high costs [18]. Histological evaluation involves staining of *H. pylori* with hematoxylin and eosin (H & E). The material for dyeing is taken from the stretch of the gastric mucosa. H & E staining, however, may be unreliable, as in the formulation have different bacteria, as this dye is not specific for *H. pylori*. A better way is to identify the staining of *H. pylori* by Warthin-Starry staining with Giemsa and modified. Histological identification of bacteria with characteristic morphology *H. pylori*, is partly based on the observation. The factors that affect the ability to correctly identifying are: the density of colonies of bacteria, types of dyeing and experienced analyst. Sensitive staining technique is the connection of methods of H & E staining, silver Steiner and blue – a method of Genta. Staining is evident bacteria *H. pylori*, and also enables the assessment of the histology of the stomach,



which eliminates the need for different coloring. This procedure may, however, be difficult for the technical execution [18]. Non-invasive diagnosis of *H. pylori* include: urea breath test consisting of administration to the patient to drink a solution of urea labeled carbon ^{13}C or ^{14}C . In the event of possible *H. pylori* infection there is a distribution of the labeled urea by urease, and bacteria formed isotopically labeled carbon dioxide eliminated from the body of the exhaled air. With sensitivity and specificity of this method there are estimated at 95% accurate, this method compares favorably to other similar diagnostic procedures to detect *H. pylori*. Before starting the test, carefully brush your teeth, tongue and throat surface, because the normal flora that lives there can produce urease and generate false positive. Due to the costs and technical difficulties urea breath test is not widely used [19]. Urinary urea breath test involves administering to drink the solution of urea labeled with an isotope of nitrogen. When the existence of *H. pylori* infection in the stomach urea decomposes to carbon dioxide, ammonia is labeled. Ammonia enters the circulation and is rapidly excreted by the kidneys. If the test is positive, this means that present in the urine will be labeled nitrogen. The result is obtained in 12–15 hours [20]. Reliability of both urease tests is similar. There is also another method of labeling atoms in urea. Part of the stripe-labeled carbon dioxide is passed into the bloodstream, and the labeled carbon is determined by a blood test, but not exhaled air [19]. There are two methods for labeling carbon (^{14}C or ^{13}C), with which the method of ^{13}C -labeling. While the first method is cheaper and does not require specialized analyzer, but may be more dangerous for the patient because of the biological half-life in living organisms carbon is short, so there is a potential risk of irradiation of the body [19]. The PCR involves the proliferation assay for bacteria-specific DNA fragment encoding the toxin – *vacA* and *cagA*. Typically, the test sample is feces. The sensitivity of the test for the presence of DNA in the material-specific *H. pylori* is judged to 50–60%. The genome of the bacteria is also present in the saliva or the sensitivity of the assay is very low (about 25%). The advantages of PCR tests have got very high specificity [21]. Another method for diagnosing *H. pylori* infection is ELISA. The principle of the test consists in the fact that the antibody bound to a specific enzyme can specifically recognize the protein (contained in the membrane of *H. pylori*), which has been previously immobilized. After administration of the antibody immune complex is formed, which resulted in antibody immobilization. After addition of substrate the enzymatic reaction takes place and new product is formed. Presence of protein in tested material is resulted in formation of colorful product from colorless substrate [24]. Another research method is to study the presence of *H. pylori* antigens in stool (HpSA-*pylori* Stool Antigen). This assay is non-invasive, sensitivity and specificity are similar to the test tract (approximately 90%). It is particularly useful in the diagnosis of *H. pylori* infection in children. Nowadays it is not available in Poland [27]. The best method to be used to diagnose *H. pylori* infection is the above-described non-invasive breath test that is fast, easy and has a high sensitivity and specificity (> 90%). Top-breath test to confirm the result of serological tests to assess the levels of IgM, IgG and IgA in the serum of patients.



Treatment of *H. pylori*

The target of treatment is to completely remove bacteria embedded in the gastric mucosa known as eradication. The vast majority of people with asymptomatic *H. pylori* infection does not apply it routinely. In case of ulcers caused by *H. pylori* the infection early eradication and prevention of relapse in fact leads to permanent cure the patient [23]. Since the use of antibiotics against *H. pylori*, it was observed that monotherapy – one antibiotic using – does not provide a complete therapeutic success, despite the sensitivity of *H. pylori* in vitro to a variety of antibiotics. The consensus achieved in Maastricht in 1997 was recognized as an effective therapy, combinations of three medicines for seven days: proton pump inhibitor (PPI), metronidazole or tinidazole and amoxicillin. The second consensus – Canadian in 1999 introduced additional clarithromycin, an antibiotic was used interchangeably alongside metronidazole and amoxicillin [23]. According to that, it should be used: the first-line medicines, so-called triple therapy: bismuth salts or proton pump inhibitor and clarithromycin and metronidazole or amoxicillin, second-line medicines, so-called quadruple therapy, include salts of bismuth, a proton pump inhibitor, metronidazole, tetracycline. Triple therapy is effective in 80–90% of cases, unless it is carried out among the strains with high sensitivity to antibiotics. The most common used in treatment are the aforementioned antibiotics and chemotherapeutics, and fluoroquinolones, as well as proton pump inhibitors: omeprazole, pantoprazole, lansoprazole, rabeprazole, esomeprazole [23]. The problem of treatment *H. pylori* infection is an infection, as well as the increasing resistance of bacteria to standard medicines. The strains in Poland are the most resistant to metronidazole and clarithromycin. The resistance to antibiotics is common and often is caused by chronic using of medicines. This resistance is common in the developed countries, where resistance to clarithromycin is in the US 10–12.5%, in Canada below 4%, and in Europe, depending on the region – 4.2% northern, eastern, 9.3%, and in the south up to 18%. It is assumed that regardless of the type of used antibiotics the treatment should last for 1–2 weeks. The chances of successful eradication decline, after two attempts unsuccessful clarithromycin treatment, up to 60%. This demonstrates the presence of medicines-resistant strains of *H. pylori* to antibiotics and chemotherapeutic agents, considering the introduction of standard quadruple therapy or sequential therapy due to the increasing resistance of *H. pylori*. Sequential therapy involves the use of proton pump inhibitor and amoxicillin of 1.0 mg for 5 days and for the next 5 days proton pump inhibitor, clarithromycin and tinidazole in doses of 2 x 500 mg [22]. It should be marked that in addition to a high rate of resistance of *H. pylori* to the medicines, adversely affect the performance of antibiotics has also the low pH of the stomach, which inactivates the antibiotics, and thus complicates treatment [22].



О. Волніцка, Б. Ванот

Польський університет, Інститут здоров'я та догляду за хворими,
вул. Казимира Пуласкі 4/6, 42-200 Ченстохов, Польща, e-mail: markockaaleksandra@gmail.com

СУЧАСНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ І ТЕРАПІЇ *HELICOBACTER PYLORI*

Реферат

*В огляді представлені сучасні дані про історію відкриття, біологію, чинники патогенності, інфекційний процес та сучасні методи діагностики грамнегативних рухливих бактерій *Helicobacter pylori* – одного з основних збудників хронічного гастриту та виразкової хвороби. *Helicobacter pylori* заселяє поверхню епітеліальних клітин слизової оболонки шлунка та частини пілоричного відділу. Інфекція, яку викликає *Helicobacter pylori*, сприяє розвитку і визначає патогенез виразки шлунка або низькодиференційованої лімфоми шлунка (MALT-лімфоми). В діагностиці *Helicobacter pylori* використовують як інвазивні (уреазний тест і вилучення збудника), так і неінвазивні (серологічний та дихальні тести, визначення Нр-антигенів в калі) методи.*

Ключові слова: Helicobacter pylori, чинники патогенності, адаптивні характеристики, патогенез, методи діагностики, дозування препаратів.

А. Волницка, Б. Ванот

Польский университет, Институт здоровья и ухода за больными
ул. Казимира Пуласки 4/6, 42-200 Ченстохов, Польша, e-mail: markockaaleksandra@gmail.com

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ *HELICOBACTER PYLORI*

Реферат

*В данном обзоре представлены современные данные об истории открытия, биологии, факторах патогенности, инфекционном процессе и современных методах диагностики грамотрицательных подвижных бактерий – *Helicobacter pylori* – одного из основных возбудителей хронического гастрита и язвенной болезни. *H. pylori* заселяет поверхность эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка и части привратника. Инфекция, вызванная *H. pylori*, способствует развитию и определяет патогенез язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, рака желудка или низкодифференцированной лимфомы желудка (MALT-лимфомы). В диагностике *H. pylori* используют как инвазивные (уреазный тест и выделение возбудителя), так и неинвазивные (серологический и дыхательные тесты, определение Нр-антигена в кале) методы.*

Ключевые слова: Helicobacter pylori, факторы патогенности, адаптивные характеристики, патогенез, методы диагностики, дозировка препаратов.



References:

1. Yomaoko Y. *Helicobacter pylori* Genetics and cellular Biology Caister. Academic Press. 2008;10-50
2. Salyers AA. Whitt DD. *Microbiology. Variety. Pathogenicity and Environment.* Polish Scientific Publishers. 2005;5-25
3. Blaser MJ. An Endangered Species in the Stomach. *Scientific American.* 2005;23-29
4. Zaremba ML. Borowski J. *Medical Microbiology.* State Department of Medical Publications. 2006;19-30
5. Medical newspaper, available at: <http://www.gazetalekarska.pl/?p=11072> 22.03.2016 article of: 27.12.2014
6. Heczko PB. *Mikrobiology.* State Department of Medical Publications. 2006;36-47
7. Olson JW. Maier RJ. Molecular hydrogen as energy source for *Helicobacter pylori*. *Science.* 2002; 29;298(5599):1788-90.
8. Chan WY. Hui PK. Leung KM. Chow J. Kwok F. Ng CS. Coccoids forms of *Helicobacter pylori* in the human stomach. *An J. Clin Pathol.* 1994; 102(4):503-7
9. Kusters JG. van Vilet AH. Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Mikrobiology revueurs.* 2006;21-36
10. Maslinski S. Ryzewski J. Bankowski E. *Pathophysiology. Textbook for medical students.* State Department of Medical Publications. 1998;5-19
11. Wang G. Alamuri P. Maier RJ. The diverse antioxidant system of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol.* 2006; 61(4):847-60
12. Ge Z. Taylor DE. Contributions of genome sequencing to understanding the biology of *Helicobacter pylori*. *Annu Rev Microbiol.* 1999; 53:353-87
13. Selmbert ML. Peura DA. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology.* 2008; 134(7):1842-60
14. Vinay K. Ramzi S. Stanley LR. *Robbins basic pathology.* 2003;14-21
15. Swisher SC. Barbati AJ. *Helicobacter pylori* strikes again gastric mucosa – associated lymphoma. *Gastroenterol Nurs.* 2007; 30(5):348-54
16. Repici A. Pellicano R. Astegiano M. Saracco G. De Angelis C. Deverbarch W. Berrutti M. Rizzetto M. Invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in the 2006. *Clinical practice.* 2006;29-36
17. Odcil E. Unlusoy AA. Dernitos Z. Dalgic B. Rare disorder can be an underlying cause of cyclic vomiting Familial Mediterranean fever *Helicobacter pylori* gastritis and cavernous transformation of the portal vein. *Turk J. Gastroenterol.* 2015; 26(6):461-7
18. Dunn BE. Cohen H. Blaser MJ. *Helicobacter pylori.* American Society of Microbiology. 2015;3-9
19. Chua TS. Fock KM. Teo EK. Ng TM. Validation of ¹³C-urea breathtest for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in the Singapore population. *Singapore Med J,* 2002; 43(8):408-11



20. Pathak CM. Avti PK. Bungler D. Khanduja KL. Kineticsof (14) carbon dioxide excretion from ¹⁴C-urea by oral commensal flora. *J. Gastroenterol Hepatol.* 2008; 23(10):1603-7
21. Kabir S. Detection of Helicobacter pylori DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction. *Helicobacter.* 2004;9(2):115-23
22. Kishikawa H. Kimura K. Takarabe S. Kaida S. Nishida J. Helicobacter pylori. Antibody Titerand Gastric Cancer Screening. Hindawi Publishing Corporation. 2015. Article ID 156719; available at: <https://www.hindawi.com/journals/dm/2015/156719/>
23. Stenstrom B. Mendis A. Marshall B. Helicobacter pylori – the latest in diagnosis and treatment. *Australia Family Physician.* 2008;12-18
24. Opiela J. Analysis of gene expression at the protein level. *Zootechnical Messages.* 2006;10-21
25. Lahner E. Annibale B. Delle Fave G. Helicobacter pylori infection and impaired drug absorption. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2009; 5;29(4):379-86
26. Amieva MR. El-Omar EM. Host bacterial interaction in Helicobacter pylori infection. *Gastroenterology.* 2008; 34(1):306-23
27. Skwara E. Stankowiak – Kulpa H. Marcinkowska E. Grzymislowski M. The clinical aspects of diagnosis of Helicobacter pylori infection, *Medical News.* 2009;2-9

Стаття надійшла до редакції 01.03.2016 р.



УДК 631.461.5

Е.В. Кириченко

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины,
ул. Васильковская, 31/17, Киев 03022, Украина,
тел. (044) 257 31 08; e-mail: leki07@mail.ru

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РИЗОСФЕРНОЙ ПОЧВЫ ПШЕНИЦЫ ЯРОВОЙ В АССОЦИАЦИИ С БАКТЕРИЯМИ *AZOTOBACTER CHROOCCUM* T79, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНОМ

Цель. Исследование биологической активности ризосферной почвы растений пшеницы яровой в ассоциации с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозамином. **Методы.** В условиях вегетационных опытов исследованы такие показатели биологической активности почвы как ростоактивирующая способность (методом фитотестов), численность (методом количественного разведения почвенной суспензии, посева на селективную среду роста Эшби и подсчета бактериальных колоний) и нитрогеназная активность (ацетиленовым методом) азотфиксирующих микроорганизмов при функционировании ассоциации пшеницы яровой с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79 в комбинации с N-ацетил-D-глюкозамином (0,1 М). **Результаты.** Установлено существенное увеличение численности (в 1,4–3,9 раза) и нитрогеназной активности (в 2,1–5,6 раза) азотфиксирующих микроорганизмов на протяжении вегетации растений, а также ростоактивирующей способности почвы (в 1,2 раза) на раннем этапе формирования фитобактериальной ассоциации. **Выводы.** Обработка семян пшеницы бактериями *Azotobacter chroococcum* T79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозамином по сравнению с моноинкулянтном азотобактера, способствовала активации функционирования бактериальной нитрогеназы (на 10–38 %) и увеличению популяции азотфиксирующих микроорганизмов (в 1,2–2,2 раза) в большей мере, нежели их способности накапливать биологически активные вещества в ризосферной почве растений.

Ключевые слова: пшеница яровая, азотобактер, глюкозамин, ризосфера.

Ризосферная почва – зона активной коммуникации растений и микроорганизмов, осуществляемой посредством обмена молекулярными метаболитами [19, 20]. Биологически активные вещества (флавоноиды, лектины, сапонины, гормоны, аминокислоты, сахара и др.), накапливаемые в ризосферной почве растений, определяют развитие и функциональную активность почвенных



микроорганизмов. При экзогенном действии на бактериальные клетки данные соединения влияют на развитие, метаболическую и физиологическую активность бактерий [12, 18, 22], в том числе и ризобактерий, характеризующихся комплексом агрономически ценных свойств [7]. Так, предварительная инкубация клубеньковых бактерий сои и гороха со специфичными фитолектинами привела к более высокому уровню реализации симбиотического потенциала ризобий – клубенькообразующей способности, нитрогеназной активности и эффективности бобово-ризобияльных систем [6]. Стимулирующее влияние на развитие и метаболизм ризосферных diaзотрофов родов *Azospirillum* и *Azotobacter* оказывали агглютинин зародышей пшеницы и лектин картофеля [2, 5, 7]. Вещества углеводной природы, синтезируемые бактериями (полисахариды) также проявляли биоэффекторное действие по отношению к микроорганизмам, влияя на процессы их роста и размножения в чистой культуре [10], а также на реализацию продуктивного потенциала фитобактериальных симбиозов [7, 10, 11]. N-ацетил-D-глюкозамин – вещество углеводной природы, принимающее участие во взаимодействии растений и микроорганизмов посредством лектин-углеводного рецептинга [2, 6]. В условиях чистой культуры нами показана способность азотобактера связывать N-ацетил-D-глюкозамин, что предполагает наличие бактериальных агглютининов, обладающих специфичностью к данному аминсахару [9]. О влиянии N-ацетил-D-глюкозамина на бактериальные клетки азотобактера при формировании ассоциаций с растениями данные отсутствуют. Известно, что одним из основных показателей биологической активности ризосферной почвы является ростоактивирующая способность, определяемая качественным и количественным составом аккумулялированных в ней разнообразных БАВ, источниками насыщения которых являются корневые экссудаты растений [3] и экзометаболические микроорганизмов [16, 17]. Исходя из вышесказанного, целью работы было исследование биологической активности ризосферной почвы – ростоактивирующей способности, численности и нитрогеназной активности азотфиксирующих микроорганизмов в течение вегетации растений пшеницы в ассоциации с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозамином.

Материалы и методы

Объектами исследования была ризосферная почва пшеницы яровой (*Triticum aestivum* L.) сортов Коллективная 3 и Ранняя 93 в ассоциации с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79 [14] (титр инокулюма 10^7 кл/мл), предварительно проинкубированными в течение суток с N-ацетил-D-глюкозамином (концентрация аминсахара 0,1 М) («Лектинотест», Львов).

Микробиологические показатели биологической активности почвы оценивали в условиях вегетационных опытов, которые проводили на вегетационной площадке ИФРГ НАНУ при природном освещении и температуре в 6–7-кратных повторностях по вариантам в сосудах Вагнера (9 кг) на почвенном субстрате с внесением минеральных солей по Прянишникову с 0,5 нормой азота [4] согласно схеме:



1. Обработка семян водой (контроль);
2. Инокуляция семян штаммом *A. chroococcum* T79 (штамм-контроль);
3. Обработка семян *A. chroococcum* T79, проинкубированным (24 ч) при температуре 28 °С с раствором (0,1 М) глюкозамина (T79 + GlcNAc, 1:1)

Отборы ризосферной почвы осуществляли в фазы развития всходов, кущения, начала колошения и полной спелости зерна пшеницы. Экспресс-оценку ростоактивирующей способности почвы (уровень накопления биологически активных веществ, БАВ) проводили по интенсивности развития тест-объекта (кресс-салат посевной сорта Забава) на почвенных образцах (метод фитотестов) [3]. В качестве контроля была почва варианта с обработкой семян водой. В экспериментах также оценивались азотфиксирующая активность ризосферных микроорганизмов (ацетиленредуктазным методом по Харди с соавт. [23]) и численность азотфиксирующих микроорганизмов в ризосферной почве (методом количественного разведения почвенной суспензии, посева на селективную среду Эшби и подсчета выросших бактериальных колоний [1]). Для определения азотфиксирующей активности использовали корни растений с почвой. В герметичные флаконы с образцами вводили по 5 мл ацетилена, инкубировали 2 ч и анализировали на приборе «Chromatograf 504» (Польша, «Mera Elwgo»). Результаты статистически обработаны (*Statgraphyc Plus*) и представлены в виде средних значений и их ошибок ($M \pm m$), рассчитанных по данным не менее трех биологических повторностей.

Результаты и обсуждение

С использованием экспресс-метода оценки ростоактивирующей способности ризосферной почвы показано (табл. 1), что при бактеризации семян пшеницы яровой активным штаммом *A. chroococcum* T79 [8] существенно повышалась ростоактивирующая способность ризосферной почвы, результатом чего было активное развитие проростков тест-объекта на почвенных образцах опытного варианта во все фазы вегетации растений. Так, масса проростков кресс-салата, на образцах ризосферы пшеницы сорта Коллективная 3 в 1,2–1,8 раза превышала контрольные значения (обработка семян водой). Для сорта Ранняя 93 данная разница составила 1,1–1,5 раза. Активное развитие проростков тест-объекта свидетельствует о накоплении в ризосферной зоне БАВ, источником поступления которых являются экзометаболиты микроорганизмов и корневые выделения растений, что может свидетельствовать как о повышении способности ризосферных микроорганизмов к продуцированию веществ росторегуляторного действия, так и об интенсификации процесса фотосинтеза, образования фотоассимилятов и выделительной функции корневой системы растений.

Бинарный инокулянт (T79 + GlcNAc) активировал ростостимулирующую способность ризосферной почвы пшеницы сортов Коллективная 3 и Ранняя 93 в 1,2–1,4 и 1,1–1,4 раза, соответственно, по сравнению с контролем (табл. 1). При этом эффективность его действия относительно данного показателя биологической активности почвы находилась на уровне эффекта азотобактера (вариант T79).



Таблица 1

Средняя масса (мг) проростка кресс-салата на образцах ризосферы пшеницы яровой

Table 1

Average weight (mg) seedling of cress on samples of the rhizosphere of spring wheat

Образец ризосферы пшеницы	Исследуемая группа	Фаза вегетации пшеницы			
		Всходы	Кущение	Начало колошения	Полная спелость зерна
Сорта Коллективная 3	1	—	7,5±0,5 100%	13,0±1,3 100%	15,5±0,6 100%
	2	-	11,6±1,4 155%	23,3±1,0 179%	18,0±0,5 116%
	3	-	10,8±1,2 144% 93% ¹	14,9±0,5 115% 64% ¹	18,6±0,9 120% 103% ¹
Сорта Ранняя 93	1	19,6±0,4 100%	18,2±0,5 100%	25,2±1,2 100%	20,6±0,6 100%
	2	21,9±0,4 112%	20,4±1,2 112%	36,9±1,0 146%	25,2±0,7 122%
	3	25,1±1,9* 128% 115% ¹	20,2±0,6 111% 99% ¹	34,9±1,0 139% 95% ¹	25,7±0,7 125% 102% ¹

Примечания к табл. 1.

Исследуемая группа: 1 – предпосевная обработка семян водой (контроль),

2 – бактериями *A. chroococcum* T79 (T79, моноинокулянт, штамм-контроль),

3 – бактериями *A. chroococcum* T79, предварительно проинкубированными с N-ацетил-D-глюкозаминном 0,1M (T79+GlcNAc, биинокулянт);

* – достоверно ($p \leq 0,05$) по сравнению с 2 группой;

% по отношению к контролю, %¹ – к штамм-контролю;

«—» – не определяли.

Было выявлено достоверно значимое увеличение биологической активности ризосферной почвы по признаку ростактивирующей способности в группе с использованием бинарного инокулянта по сравнению с таковой в случае штамма азотобактера (15 %) отмечена лишь в раннюю фазу онтогенеза пшеницы сорта Ранняя 93 (всходы), в фазу колошения отмечена тенденция противоположной направленности, что может указывать на регуляцию GlcNAc способности бактерий к продукции БАВ на начальных этапах формирования фитобактериальной ассоциации.

В фазу полной спелости зерна пшеницы ростактивирующая способность ризосферной почвы обоих сортов яровой пшеницы в опытных группах в 1,2 и



1,3 раза превышала контрольные значения (вариант с обработкой семян водой), но находилась на уровне значений при инокуляции семян азотобактером, что свидетельствует об отсутствии токсического влияния на почву интродуцированных в составе инокулянтов бактерий *A. chroococcum* Т79 и аминоксахара N-ацетил-D-глюкозамина.

Применение штамма азотобактера (Т79) и его комбинации с N-ацетил-D-глюкозамином (Т79+GlcNAc) для предпосевной обработки семян пшеницы яровой изменяло функциональную (нитрогеназную) активность ризосферных микроорганизмов (табл. 2). Азотфиксирующая активность (АФА) diaзотрофов пшеницы сорта Ранняя 93 при использовании моноинокулянта Т79 существенно превышала (в 2,1 и 2,5 раза) активность микрофлоры контрольных растений в фазы кущения и начала колошения пшеницы. Для сорта Коллективная 3 в фазу начала колошения данная разница составила 1,8 раза ($2,10 \pm 0,10$ по сравнению с $1,16 \pm 0,22$ нмоль C_2H_4 / (растение·час) в контроле).

Таблица 2

Нитрогеназная активность (нмоль C_2H_4 / (растение·час)) ризосферных микроорганизмов пшеницы яровой сорта Ранняя 93 на разных фазах вегетации

Table 2

Nitrogenase activity (nmol C_2H_4 / (plant·HR)) of rhizosphere microorganisms of spring wheat cv. Rannay 93 at different phases of vegetation

Исследуемая группа	Фаза вегетации пшеницы		
	Кущение	Начало колошения	Полная спелость зерна
1	$2,00 \pm 0,15$ 100%	$1,03 \pm 0,12$ 100%	0
2	$4,24 \pm 0,22$ 212%	$2,56 \pm 0,38$ 249%	$0,44 \pm 0,27$ 100%
3	$4,68 \pm 0,29$ 234% 110 ¹ %	$3,53 \pm 0,27^*$ 343% 138% ¹	$2,45 \pm 1,36^*$ 557%

Примечания к табл. 2.

Исследуемая группа: 1 – предпосевная обработка семян водой (контроль),

2 – бактериями *A. chroococcum* Т79 (Т79, моноинокулянт, штамм-контроль),

3 – бактериями *A. chroococcum* Т79, предварительно проинкубированными с N-ацетил-D-глюкозамином 0,1М (Т79+GlcNAc, биинокулянт);

* – достоверно ($p \leq 0,05$) по сравнению с 2 группой;

% по отношению к контролю, %¹ – к штамм-контролю;

«→» – не определяли.

В варианте с бинарным инокулянтом (Т79+GlcNAc) отмечена интенсификация процесса фиксации азота ризосферными микроорганизмами, что проявлялось в значительном увеличении показателя АФА бактерий по сравнению с контролем (1 группа): в 2,3 и 3,4 раза для сорта Ранняя 93 (табл. 2),



в 2,1 раза ($2,46 \pm 0,22^*$ по сравнению с $1,16 \pm 0,22$ нмоль C_2H_4 / (растение·час) в контроле) для сорта Коллективная 3. Регуляторное действие глюкозамина по отношению к бактериям *A. chroococcum* T79 выражалось более высоким уровнем функционирования нитрогеназы интродуцированных и аборигенных почвенных микроорганизмов в ассоциациях с растениями пшеницы, активность которых в 3 группе (T79+GlcNAc) в 1,1; 1,4; 5,6 раза (соответственно фазам вегетации растений) превышала АФА штамма T79 для сорта Ранняя 93 (табл. 2) и в 1,2 раза ($2,46 \pm 0,22^*$ по сравнению с $2,10 \pm 0,10$ нмоль C_2H_4 / (растение·час) во 2 группе) для сорта Коллективная 3. При этом получены значения АФА, как достоверно отличимые от контроля (обработка семян водой) и варианта с обработкой семян азотобактером (фазы колошения и полной спелости зерна пшеницы сорта Ранняя 93), так и находящиеся на границе ошибки эксперимента (сорт Коллективная 3), что свидетельствует о тенденции повышения уровня способности ризосферных микроорганизмов к фиксации азота в фазу колошения пшеницы сорта Коллективная 3.

Отмечено, что в фазу полной спелости зерна пшеницы сорта Ранняя 93 при использовании для инокуляции семян бактерий *A. chroococcum* T79, активированных GlcNAc, АФА диазотрофов в 5,6 раза была больше показателя в варианте с инокуляцией семян азотобактером. При этом в контрольном варианте (обработка семян водой) способность ризосферных бактерий к азотфиксации не фиксировалась (табл. 2). Полученные результаты указывают на продление периода активной фиксации азота ризосферными микроорганизмами (вплоть до фазы полной спелости зерна пшеницы), что максимально выражено в ассоциациях, сформированных растениями с бактериями, обработанными глюкозамином. При этом отмечено снижение абсолютных значений азотфиксирующей активности почвенных микроорганизмов в ризосфере на протяжении вегетации растений во всех вариантах опыта.

Повышение уровня азотфиксирующей способности ризосферных диазотрофов может объясняться активирующим действием веществ углеводной природы на функционирование бактериальной нитрогеназы. Так, в условиях чистой культуры клубеньковых бактерий люпина установлено [13], что углеводная фракция метаболитов корневых клубеньков повышала азотфиксирующую активность ризобий. В условиях *in situ* при изучении влияния добавок искусственных корневых экссудатов и отдельных сахаров, как источников углерода, на активность и качественный состав несимбиотических диазотрофов показано [21], что только те субстанции, которые содержали в своем составе углеводный компонент, индуцировали азотфиксацию в ризосфере.

При сравнении изменения показателей биологической активности ризосферной почвы пшеницы – ростостимулирующей (табл. 1) и азотфиксирующей (табл. 2) способности можно отметить, что GlcNAc при совместной инкубации со штаммом T79 существенно активировал нитрогеназную функцию ризосферных диазотрофов на протяжении всех фаз вегетации растений по сравнению с действием моноинокулянта азотобактера. При этом ростостимулирующая способность почвы в данной группе находилась на уровне показателей варианта



с применением штамма Т79. Более того, при достаточно низкой ростоактивирующей способности почвы (сорт Коллективная 3) в группе Т79 + GlcNAc (на 36% меньше, чем в варианте с азотобактером, табл. 1, начало колошения), АФА ризосферного микробного комплекса была в 1,2 раза большей. На основании полученных результатов можно предположить, что глюкозамин, как вещество углеводной природы, влияет на активность основного фермента фиксации азота – нитрогеназы в большей мере, чем на способность микроорганизмов к продукции БАВ.

При бактеризации семян пшеницы яровой сорта Коллективная 3 азотобактером (Т79) существенно изменялась численность азотфиксирующих микроорганизмов в ризосферной почве на протяжении вегетации растений (табл. 3). Количество жизнеспособных азотфиксирующих бактериальных клеток увеличилось в 2,5; 1,3; 1,3 и 1,8 раза по сравнению с контролем в разные фазы вегетации растений.

Таблица 3

Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) азотфиксирующих бактерий (10^m кл/г) в ризосферной зоне на разных фазах вегетации пшеницы яровой сорта Коллективная 3

Table 3

The number of colony forming units (CFUS) of nitrogen-fixing microorganisms (10^m cells/g) in rhizosphere soil at the different phases of vegetation of spring wheat cv. Kollektivnaya 3

Почва перед посевом семян	Исследуемая группа	Фаза вегетации пшеницы			
		Всходы	Кущение	Начало колошения	Полная спелость зерна
$(71,4 \pm 14,6) \times 10^8$ кл/г	1	$(38,3 \pm 2,4) 10^{10}$ 100%	$(11,9 \pm 1,2) 10^{12}$ 100%	$(12,4 \pm 1,0) 10^{12}$ 100%	$(48,8 \pm 6,7) 10^9$ 100%
	2	$(94,6 \pm 6,1) 10^{10}$ 247%	$(15,8 \pm 2,0) 10^{12}$ 133%	$(16,3 \pm 0,4) 10^{12}$ 131%	$(87,9 \pm 9,6) 10^9$ 180%
	3	$(132,3 \pm 10,3) 10^{10}$ * 345% 140% ¹	$(16,4 \pm 0,4) 10^{12}$ 138% 104% ¹	$(18,7 \pm 0,5) 10^{12}$ * 151% 115% ¹	$(192,2 \pm 3,7) 10^9$ * 394% 219% ¹

Примечания к табл. 3.

Исследуемая группа: 1 – предпосевная обработка семян водой (контроль),

2 – бактериями *A. chroococcum* Т79 (Т79, моноинокулянт, штамм-контроль),

3 – бактериями *A. chroococcum* Т79, предварительно проинкубированными с N-ацетил-D-глюкозаминном 0,1М (Т79+GlcNAc, биинокулянт);

* – достоверно ($p \leq 0,05$) по сравнению с 2 группой;

% по отношению к контролю, %¹ – к штамм-контролю;

«←» – не определяли.



В асоціаціях пшениці з азотобактером, модифіцированим глюкозаміном (Т79 + GlcNAc), численність ризосферних діазотрофів і олигонитрофілів збільшилась в 3,5; 1,4; 1,5 і 3,9 рази по порівнянню з контролем (табл. 3). При цьому по відношенню до варіанту з азотобактером (№ 2) різниця по даному показателю складала 1,4; 1,2 і 2,2 рази.

Полученні результати свідчать про активуючий вплив N-ацетил-D-глюкозаміну на розвиток популяції азотфіксуючих бактерій в ризосферній зоні пшениці. Порівняння числа азотфіксуючих мікроорганізмів в вихідному субстраті росту рослин (10^8 кл/г) і в ґрунті в кінці вегетації пшениці (10^9 кл/г) свідчить про покращення мікробіологічних показателів ґрунту за рахунок розвитку агрономічно корисної групи азотфіксуючих мікроорганізмів.

При порівнянні показателів численності бактерій (табл. 3) і їх АФА в ризосферній ґрунті пшениці сорту Колективна 3 в фазу початку колосіння (дані представлені в тексті вище) відмічено, що число КОЕ мікроорганізмів в варіанті Т79 + GlcNAc перевищувало контрольне (№ 1) значення в 1,5 рази, їх АФА – в 2,1 рази, що вказує на активацію глюкозаміном функціонування нітрогенази однієї бактеріальної клітки. При цьому кількість КОЕ бактерій і їх азотфіксуюча активність в асоціаціях пшениці з модифіцированим штаммом азотобактера (Т79 + GlcNAc) на 15 і 17 % відповідно перевищувало кількість і функціональну активність азотфіксуючих бактерій в варіанті з інокуляцією насіння штаммом Т79, що свідчить про збільшення рівня АФА мікробного комплексу, ймовірно за рахунок збільшення численності бактерій, здатних до фіксації молекулярного азоту.

Результати, представлені в літературі, свідчать про те, що деякі ґрунтові бактерії (*Enterobacter*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*), в більшій або меншій ступені, здатні зв'язувати глюкозу і її похідні, в тому числі і глюкозамін [9, 15]. Дане зв'язування здійснюється за рахунок вуглевод-білкового взаємодіяння, в тому числі і при участі бактеріальних лектинів. В умовах *in vitro* показано [9], що культура *A. chroococcum* Т79 мала агглютинуючу активність, що вказує на здатність даних бактерій синтезувати агглютиніни. В реакції затримання гемоглобіну встановлено, що азотобактер зв'язував (до 50%) і глюкозамін (0,01–0,1 М), що передбачає наявність специфічності бактеріального агглютиніну до даного вуглеводу. Повністю ймовірно, що при спільному інкубуванні кліток *A. chroococcum* Т79 з глюкозаміном в чистій культурі лектин-вуглеводне взаємодіяння (агглютинін азотобактера+глюкозамін) включає каскад передачі сигналів в бактеріальну клітку, що призводить до зміни метаболізму і функціонування бактерій, результатом чого є встановлений нами більш високий рівень функціонування асоціації «пшениця–Т79+GlcNAc» в умовах *in situ* в порівнянні з асоціацією, сформованою монокультурою азотобактера.



Исходя из анализа экспериментальных результатов можно предположить, что реализация активности глюкозамина при экзогенном действии на культуру клеток азотобактера при совместной инкубации (Т79 + GlcNAc) осуществляется, вероятнее всего, во-первых, за счет влияния углевода на численность бактерий в суспензии, что в конечном итоге повышает титр бактериальных клеток в инокулянте а, во-вторых, за счет биоинформационного лектин-углеводного сигналинга, триггером которого является взаимодействие глюкозамина с агглютинином бактерий, а конечным результатом – увеличение численности и функциональной активности микроорганизмов в ризосфере растений пшеницы при инокуляции семян азотобактером в комбинации с глюкозамином.

В ассоциациях пшеницы яровой с почвенными микроорганизмами при инокуляции семян активным и эффективным штаммом *A. chroococcum* Т79 в комбинации с N-ацетил-D-глюкозамином изменялась биологическая активность ризосферной почвы, что проявлялось в существенном увеличении показателей численности и нитрогеназной активности азотфиксирующих микроорганизмов на протяжении вегетации растений, а также ростоактивирующей способности почвы на раннем этапе формирования фитобактериальной ассоциации. Обработка семян пшеницы бактериями *Azotobacter chroococcum* Т79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозамином по сравнению с моноинокулянт азотобактера, способствовала активации функционирования бактериальной нитрогеназы (на 10–38%) и увеличению популяции азотфиксирующих микроорганизмов (в 1,2–2,2 раза) в большей мере, нежели их способности накапливать биологически активные вещества в ризосферной почве растений.

О.В. Кириченко

Институт фізіології рослин і генетики НАН України,
вул. Васильківська, 31/17, Київ 03022, Україна,
тел. (044) 257 31 08; e-mail: leki07@mail.ru

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ РИЗОСФЕРНОГО ҐРУНТУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ В АСОЦІАЦІЇ З БАКТЕРІЯМИ *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* Т79, МОДИФІКОВАНИМИ N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМІНОМ

Реферат

Мета. Дослідження біологічної активності ризосферного ґрунту рослин пшениці ярої в асоціації з бактерією *Azotobacter chroococcum* Т79, модифікованими N-ацетил-D-глюкозамином. **Методи.** У вегетаційних умовах досліджено такі показники біологічної активності ризосферного ґрунту як рістактивувальна здатність (методом фітотестів), чисельність (методом кількісного розведення ґрунтової суспензії, висіву на селективне середовище Ешбі та підрахунку бактеріальних колоній) і нитрогеназна активність (ацетиленовим методом) азотофіксувальних мікроорганізмів при функціонуванні асоціації пшениці ярої з бактерією *Azotobacter chroococcum* Т79 у комбинації з N-ацетил-D-глюкозамином



(0,1 М). **Результати.** Встановлено суттєве збільшення чисельності (в 1,4–3,9 рази) і нітрогеназної активності (в 2,1–5,6 рази) азотофіксувальних бактерій протягом вегетації рослин, а також рістактивувальної здатності ґрунту (в 1,2 рази) на ранньому етапі формування фітобактеріальної асоціації. **Висновки.** Обробка насіння пшениці бактеріями *Azotobacter chroococcum* T79, модифікованими N-ацетил-D-глюкозаміном порівняно до моноінокулянту азотобактера, сприяла активації функціонування бактеріальної нітрогенази (на 10–38 %) та збільшенню популяції азотофіксувальних мікроорганізмів (в 1,2–2,2 рази) більшою мірою, ніж їхньої здатності накопичувати біологічно активні речовини у ризосферному ґрунті рослин.

Ключові слова: пшениця яра, азотобактер, глюкозамін, ризосфера.

O.V. Kyrychenko

Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv,
31/17, Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine,
tel. (044) 257-31-08; e-mail: leki07@mail.ru

BIOLOGICAL ACTIVITY OF RHIZOSPHERE SOIL SPRING WHEAT IN ASSOCIATION WITH BACTERIA *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* KZT79. MODIFIED N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE

Summary

Aim. The study of the biological activity of rhizosphere soil of the plants of spring wheat in association with bacteria *Azotobacter chroococcum* T79, modified N-acetyl-D-glucosamine. **Methods.** The biological activity of the rhizosphere soil such as the growth-activating ability (method of phytotest), number (by quantitative dilutions of the soil suspension, plating on selective medium growth Eshbi, and counting bacterial colonies) and nitrogenase activity (acetylene method) of nitrogen-fixing microorganisms in the functioning of the association of spring wheat with bacteria *Azotobacter chroococcum* T79 in combination with N-acetyl-D-glucosamine (0.1 M) in the greenhouse experiments were study. **Results.** It was shown the significant increase of the number (in 1.4–3.9 times) and nitrogenase activity (in 2.1–5.6 times) of nitrogen-fixing microorganisms during the vegetation of wheat plants as well as the growth-activating ability of the soil (in 1.2 times) in the early stage of formation phytobacteriology association. **Conclusion.** The treatment of wheat seeds by *Azotobacter chroococcum* T79, modified N-acetyl-D-glucosamine vs. *azotobacter* monoinoculant was promoted activation of the functioning of the bacterial nitrogenase (by 10–38 %) and increasing populations of nitrogen-fixing microorganisms (in 1.2–2.2 times) more than their ability to accumulate biologically active substances in the rhizosphere soil of plants.

Key words: spring wheat, *Azotobacter*, glucosamine, rhizosphere.



Список использованной литературы

1. Антипчук А.Ф., Піляшенко-Новохатний А.І., Євдокименко Т.М. Практикум з мікробіології. Навчальний посібник. – К.: Університет «Україна», 2011. – 156 с.
2. Антонюк Л.П. Регуляція метаболізму бактерії *Azospirillum brasilense* sp. 245: особливості азотного обміну і вплив лектина пшениці (аглютинина зародка пшениці): автореф. дис. ... докт. біол. наук: 03.00.04 – біохімія. – М., 2002. – 47 с.
3. Гродзинский А.М. Аллелопатия растений и почвоутомление: Избр. тр. – К: Наук. думка, 1991. – 432 с.
4. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. – К: Наук. думка, 1973. – 388 с.
5. Жеребор Т.А. Дія лектину картоплі на синтез мікроорганізмами фітогормонів // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – 2008. – 2, в. 3 (46). – С. 107–112.
6. Кириченко Е. Роль фитолектинов в регуляции функционирования симбиозов и ассоциаций. Биологическая активность лектинов бобовых и зерновых культур. – Saarbrücken, Deutschland: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 84 с.
7. Кириченко Е.В. Биотехнологии в растениеводстве. – Николаев: Илион, 2014. – 436 с.
8. Кириченко Е.В., Титова Л.В., Коць С.Я. Эффективность бактериализации семян пшеницы яровой новым штаммом *Azotobacter chroococcum* T79 // Stiinta Agricola. – 2010. – № 1. – С. 21–24.
9. Кириченко О.В. Зміна активності лектину пшениці та ступеню його взаємодії з різними компонентами при створенні композицій лектинової природи // Український біохімічний журнал. – 2006. – 78, № 6. – С. 105–112.
10. Косенко Л.В., Михалкив Л.М., Кругова Е.Д., Мандровская Н.М., Коць С.Я. Биологическая активность глюкана *Sinorhizobium meliloti* // Микробиология. – 2003. – 72, № 5. – С. 633–638.
11. Кругова О.Д. Интенсифікація симбіотичної азотфіксації за допомогою біологічно активних речовин синтетичного і природного походження // Фізіолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом. – К.: Логос, 2001. – С. 157–168.
12. Леонова Н.О. Фізіологічна активність *Bradyrhizobium japonicum* та ефективність соєво-ризобіального симбіозу за дії фіторегулювальних речовин: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.07 – мікробіологія. – К., 2006. – 23 с.
13. Маліченко С.М., Кругова О.Д., Старченков Ю.П. Нітрогеназа чистих культур *Rhizobium lupini* та дія на її активність метаболітів бульбочок бобових рослин // V Укр. біохім. з'їзд: тез доп. – К., 1987. – Ч. 1. – С. 102–103.
14. Патент України на винахід № 62820А С05F11/08, С12N1/20. Штам бактерій *Azotobacter chroococcum* T79 для одержання бактеріального добрива під сою // Коць С.Я., Титова Л.В., Кириченко О.В., Омельчук С.В., Жемойда А.В.: заявник та патентовласник Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. – опубл. 15.12.2003. – Бюл. № 12.
15. Подгорский В.С., Коваленко Э.А., Симоненко И.А. Лектины бактерий. – К.: Наукова думка, 1992. – 200 с.



16. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцев Т.А., Нетрусов А.И. Микроорганизмы – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 133–143.

17. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцев Т.А., Нетрусов А.И. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 3. – С. 261–268.

18. Barazani Oz, Friedman J. Effect of exogenously applied L-tryptophan on allelochemical activity of plant-growth-promoting rhizobacteria // J. Chem. Ecol. – 2000. – V. 26, N 2. – P. 343–349.

19. Barea J.M., Pozo M.J., Azcon R. Microbial cooperation in the rhizosphere // J. Exp. Bot. – 2005. – V. 56. – P. 1761–1778.

20. Brencic A., Winans S.C. Detection and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2005. – V. 69. – P. 155–194.

21. Burgmann H., Meier S., Bunge M. Effects of model root exudates on structure and activity of a soil diazotroph community // Environ. Microbiol. – 2005. – V. 7, N 11. – P. 1711–1724.

22. Fons F., Amellal N., Leyval C. Effects of gypsophila saponins on bacterial growth kinetics and on selection of subterranean clover rhizosphere bacteria // Can. J. Microbiol. – 2003. – V. 49, N 6. – P. 367–373.

23. Hardy R.W.F., Burns R.C., Holsten R.D. Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation // Soil. Biol. Biochem. – 1973. – V. 5, N 1. – P. 41–83.

References

1. Antypchuk AF, Pilyashenko-Novokhatniy AI, Evdokimenko TM Practicum on Microbiology. Manual. University “Ukraine”, Kyiv, 2011. 156 p. (In Ukr.).

2. Antonyuk LP Regulation of *Azospirillum brasilense* sp. 245 bacterium metabolism: characteristics of nitrogen metabolism and the effect of wheat lectin (wheat germ agglutinin). The dissertation for doctor sciences degree in biology, thesis, Institute of Biochemistry of RNS of Moscow, 2002:47. (In Russ.).

3. Grodzinskiy AM Allelopathy of plants and soil exhaustion: Izbr. Tr. Naukova dumka, Kiev, 1991. 432 p. (In Russ.).

4. Grodzinskiy AM, Grodzinskiy DM A short handbook to plant physiology. Naukova dumka, Kiev, 1973. 388 p. (In Russ.).

5. Zherebor TA The effect of potatoes lectin on the microorganismes phytohormones synthesis. Visnyk agrarnoyi nauky Prychornomor'ya. 2008;2(3/46):107–112.

6. Kirichenko E The role of lectins in the regulation of the formation and functioning of phytobacterial symbiosis and association. Biological activity of the legumes and cereals lectins. Palmarium Academic Publishing, Saarbrucken, Deutschland, 2012:84 p. (In Russ.).

7. Kyrychenko O Crop biotechnology. Piion, Nikolaev, 2014:436 p. (In Russ.).

8. Kirichenko EV, Titova LV, Kots SYa Efficiency of the spring wheat seed bacterization of the new strain of *Azotobacter chroococcum* T79. Stiinta Agricola. 2010;(1):21–24. (In Russ.).



9. Kyrychenko OV Change of the wheat lectin activity and degree of its interaction with different components of compositions of lectin nature. Ukr. Biochem. J. 2006;78(6):105–112. (In Ukr.).
10. Kosenko LV, Mykhalkiv LM, Krugova ED, Mandrovskaya NM, Kots SYa Biological activity of *Sinorhizobium meliloti* glucan. Russ. J. Microbiol. 2003;72(5):633–638.
11. Krugova OD Intensification of nitrogen fixin by synthetic and natural biological activity substances. In: *Phyziologo-biokhimichni osoblyvosti zhyvlennya roslyn biologichnym azotom*. Logos, Kyiv, 2001:157–168. (in Ukr.).
12. Leonova NO Physiological activity of *Bradyrhizobium japonicum* and soybean-rhizobium symbioses efficiency by effect of phyto-regulation substances: PhD thesis, Institute of Microbiology and Virology of NASU of Kyiv, 2006:23. (In Russ.).
13. Malichenko SM, Krugova OD, Starchenkov YuP Nitrogenase of the pure culture *Rhizobium lupine* and her effect on the metabolites of the legume plants nodules In: Abstracts of V Ukr. Biochem. Cong. Kyiv, 1987;1:102-103. (in Ukr.).
14. Pat. Ukr. № 62820A, C05F11/08, C12N1/20. Strain of bacteria *Azotobacter chroococcum* T79 for bacterial fertilizer to soybeans / SYa Kots, LV Tytova, OV Kyrychenko, SV Omelchuk, AV Zhemoyda; zayavnyk ta patentovlasnyk Instytut fiziologii roslyn i genetyky NAN Ukrainy. – № 2003065695; zayavl. 19.06.2003; opubl. 15.12.2003., byul. № 12, 6 p. (in Ukr.).
15. Podgorskiy VS, Kovalenko EA, Simonenko IA Lectins of bacteria. Naukova dumka, Kiev, 1992. 200 p. (In Russ.).
16. Tsavkelova EA, Klimova SYu, Cherdyntseva TA, Netrusov AI Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. Rus. J. Appl. Biochem. Microbiol. 2006;42(2):117–126.
17. Tsavkelova EA, Klimova SYu, Cherdyntseva TA, Netrusov AI Hormones and hormone-like substances of microorganisms: A review. Ibid. 2006;42(3):229–235
18. Barazani Oz, Friedman J Effect of exogenously applied L-tryptophan on allelochemical activity of plant-growth-promoting rhizobacteria. J. Chem. Ecol. 2000;26(2):343–349.
19. Barea JM, Pozo MJ, Azcon R Microbial cooperation in the rhizosphere. J. Exp. Bot. 2005;56:1761–1778.
20. Brencic A, Winans SC Detection and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2005;69:155–194.
21. Burgmann H, Meier S, Bunge M Effects of model root exudates on structure and activity of a soil diazotroph community. Environ. Microbiol. 2005;7(11):1711–1724.
22. Fons F, Amellal N, Leyval C Effects of gypsophila saponins on bacterial growth kinetics and on selection of subterranean clover rhizosphere bacteria. Can. J. Microbiol. 2003;49(6):367–373.
23. Hardy RWF, Burns RC, Holsten RD Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. Soil. Biol. Biochem. 1973;5(1):41–83.

Стаття надійшла до редакції 04.07.2016 р.



**Т.В. Васильева, И.А. Блайда, Л.И. Слюсаренко, Н.Ю. Васильева,
В.Ф. Хитрич**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, тел.: (048) 746 51 02, e-mail: iblayda@ukr.net

БАКТЕРИАЛЬНОЕ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ МЕТАЛЛОВ ИЗ ОТХОДОВ ФЛОТАЦИОННОГО ОБОГАЩЕНИЯ УГЛЕЙ ПРИ УЧАСТИИ ТИОСУЛЬФАТА, ДВУХ- И ТРЕХВАЛЕНТНОГО ЖЕЛЕЗА

***Цель.** Изучение влияния тиосульфата, двух- и трехвалентного железа на процесс бактериального выщелачивания германия и других ценных компонентов из техногенных отходов центральной обогатительной фабрики (ЦОФ) Львовско-Волинского угольного бассейна (ЛВУБ). **Методы.** Классические микробиологические, стандартные физико-химические (атомно-эмиссионная и атомно-абсорбционная спектроскопия), авторская запатентованная электрохимическая ячейка. **Результаты.** Получены сравнительные данные эффективности извлечения металлов при использовании $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, Fe^{2+} и Fe^{3+} . Показано, что тиосульфат малоэффективен в процессах бактериального выщелачивания. Максимальный переход металлов из твердой фазы в раствор отмечен при использовании Fe^{3+} . **Выводы.** Показана высокая эффективность бактериального извлечения германия и других ценных компонентов из отходов углеобогащения при участии трехвалентного железа.*

Ключевые слова: техногенные отходы углеобогащения, бактериальное выщелачивание.

При добыче и обогащении углей основными побочными продуктами служат отходы углеобогащения, которые характеризуются высоким содержанием угля, аргиллитов, песчаников, обладают высокой плотностью и, как правило, трудно поддаются разрушению. В их состав в промышленных концентрациях, кроме тяжелых, входят редкие металлы – германий, галлий, цирконий и др. [1]. В связи с этим породные отвалы рассматривают как нетрадиционное сырье для получения редких металлов и других ценных компонентов. Это особенно важно для получения германия, сырьевые ресурсы которого ограничены, и который во многом определяет уровень получения материалов для микроэлектроники, радиотехники, электротехники, атомной энергетики [2, 3]. Извлекают германий в результате сложных и трудоёмких операций в основном из промышленных свинцово-цинковых и медно-цинковых концентратов в виде оксида GeO_2 , который восстанавливают водородом при 600 °С до простого вещества:





Поэтому в условиях дефицита этого металла использование нетрадиционного техногенного сырья и новейших биотехнологий для его получения является важной задачей.

Важным резервом повышения эффективности бактериального извлечения редких металлов из отходов углеобогащения является поиск оптимальных условий, в том числе использование различных энергетических субстратов. Обычно в процессах бактериального выщелачивания применяется двухвалентное железо, которое играет роль источника энергии для хемолитотрофных ацидофильных бактерий. Однако скорость микробного окисления двухвалентного железа ниже, чем скорость восстановления трехвалентного, поэтому целесообразно использовать трехвалентное железо для выщелачивания металлов из минерального сырья. Ряд исследователей приводят данные по использованию трехвалентного железа для бактериального выщелачивания медно-цинкового и золото-мышьякового сырья, а также пирротинового концентрата [5, 6]. В литературных источниках отсутствуют сведения об окислении техногенных отходов ионами Fe^{3+} и их влиянии на эффективность извлечения металлов.

Цель – Изучение влияния тиосульфата, двух- и трехвалентного железа на процесс бактериального выщелачивания германия и других ценных компонентов из техногенных отходов центральной обогатительной фабрики (ЦОФ) Львовско-Волынского угольного бассейна (ЛВУБ).

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы выполнена в Биотехнологическом научно-учебном центре Одесского национального университета имени И. И. Мечникова. Объектами исследования служили отходы флотационного обогащения углей ЦОФ ЛВУБ. Химический анализ твердых субстратов осуществляли на атомно-эмиссионном спектрометре ЭМАС-200 CCD. Концентрацию металлов в выщелачивающих растворах определяли методом спектроскопии атомной абсорбции на приборе ААС-1 и С-115ПК Selmi [7]. Измерение рН и Eh проводили с помощью рН-метра InoLab и авторской запатентованной ячейки [8].

При бактериальном выщелачивании одним из основных параметров, определяющих кинетику и полноту вскрытия отходов, являются размеры выщелачиваемого субстрата. В связи с этим проводили предварительное измельчение породных отвалов до частиц размером 1–3 мм. Бактериальное выщелачивание ценных компонентов из породных отвалов осуществляли с использованием мезофильного сообщества ацидофильных хемолитотрофных бактерий (АХБ), обитающих в отвалах ЦОФ [9, 10]. В качестве выщелачивающего раствора использовали минеральный фон стандартной среды Сильвермана-Лундгрема 9К (состав: г/л – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 3,0; MgSO_4 – 0,5; KCl – 0,1; K_2HPO_4 – 0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$). Источником энергии при выщелачивании металлов из породных отвалов были химическое двухвалентное железо и тиосульфат; в отдельной серии



експериментів вищелачивання проводили з участю тривалентного заліза. В середі 9К концентрація двовалентного заліза становила $44,5 \text{ г/дм}^3$ (або $8,96 \text{ Fe}^{2+} \text{ г}$), яка вважається оптимальною для вищелачивання металів [11]. Тіосульфат додавали до мінерального фону середі 9К в концентрації $5,0 \text{ г/дм}^3$ ($0,85 \text{ г S}^{+2}$). Концентрація тривалентного заліза в вищелачиваючому розчині становила $15,0$ ($2,3 \text{ Fe}^{3+} \text{ г}$); $9,0$ ($1,4 \text{ Fe}^{3+} \text{ г}$); $6,0$ ($1,0 \text{ Fe}^{3+} \text{ г}$) і $3,0$ ($0,5 \text{ Fe}^{3+} \text{ г}$) г/дм^3 , її підбирали емпіричним шляхом.

Бактеріальне вищелачивання здійснювали чановим методом в лабораторних установках об'ємом $0,5 \text{ л}$ при співвідношенні твердої (Т) і рідкої (Ж) фаз – Т:Ж=1:10, $\text{pH} \leq 2,0$ впродовж від 1 до 4 тижнів. Моделювання чанового бактеріального вищелачивання в лабораторних установках ґрунтується на тому факті, що розміри установки мало впливають на кінетику і вилучення металів. Тому визначення можливості і ефективності вилучення металів методом бактеріального вищелачивання можна проводити з використанням малооб'ємного лабораторного обладнання. Експерименти, проведені в колбах, є важливим тестом для оцінки використовуваних прийомів бактеріального вищелачивання. Вони дозволяють отримати цінну інформацію про оптимальні умови вищелачивання навіть при використанні для вищелачивання невеликої кількості (декілька десятків грамів) твердої субстрату [9–11].

Про біогеохімічну діяльність спільноти АХБ судили за з'явленням металів в вищелачиваючому розчині і розвитку мікробних клітин, кількість яких визначали шляхом десятикратних послідовних розведень і вивченням під мікроскопом окрашеного по Граму мікроскопічного препарату [12]. Після закінчення процесу вищелачивання проводили розділення рідкої і твердої фаз.

Результати і їх обговорення

Отримані нами результати хімічного складу породних отвалів ЦОФ свідчать про те, що вони є складним багатокомпонентним мінеральним сировиною, породообразуючими елементами в якій є кремній, алюміній, залізо і сірка, які формують достатньо стійкі алюмосилікати, сульфідні і кислі структури. В складі досліджуваних техногенних відходів входять метали, як рідкі, так і важкі (табл. 1).

Згідно з даними табл. 1, цінні компоненти в породних отвалах з однієї сторони в рази перевищують ПДК, що обумовлює їх токсичність. З іншої сторони, вміст металів в промислових концентраціях робить їх перспективними для отримання розчину, що містить рідкі метали. Крім того, використання для вторинної переробки породних отвалів сучасного екологічно безпечного біотехнологічного методу сприятиме їх обезвреженню.

Важливим резервом підвищення ефективності бактеріального вилучення рідких металів, наприклад германію і галію, з відходів углеобогачення є пошук оптимальних джерел енергії. Зазвичай в процесах бакте-



риального выщелачивания применяется двухвалентное железо, которое играет роль источника энергии для АХБ [13]. Для повышения степени извлечения металлов из природных руд часто стали применять трехвалентное железо [5, 6]. Технологии, основанные на выщелачивании сульфидов раствором Fe^{3+} , разработаны для пирротинового, медно-цинкового, золото-мышьякового, медного концентратов [14–17]. В последнее время рассматривается вопрос тиосульфатного окисления минерального сырья природного происхождения [18, 19].

Таблица 1

Химический состав породных отвалов центральной обогатительной фабрики (ЦОФ) «Червоноградська»

Table 1

Chemical composition of the “Chervonogradska” central concentrating factory (CCF) waste dumps

Химический элемент	ПДК для почвы, мг/кг	Промышленные концентрации, мг/кг	Концентрации в отвалах, мг/кг
Медь	3,0	45,0-60,0	62,18±0,05
Цинк	23,0	65,0-70,0	112,52±0,05
Марганец	1,5·10 ³	850,0 – 10 ³	317,72±0,05
Свинец	30,0	18,0-22,0	42,20±0,05
Никель	4,0	80,0-120,0	134,20±0,05
Кадмий	2,0	45,0-55,0	2,82±0,05
Железо	3,7·10 ³	(1,5-2,0)·10 ³	(44,57±0,05)·10 ³
Алюминий	Данных нет	(2,5-5,0)·10 ³	(13,9±0,1)·10 ³
Сера	160,0	Данных нет	(11,7±0,1)·10 ³
Кремний	Данных нет	Данных нет	(158,6±0,1)·10 ³
Галий	Данных нет	10,0-15,0	12,1±0,1
Германий	Данных нет	5,0-7,0	26,0±0,1
Цирконий	Данных нет	160,0-220,0	173,0±0,1

Полученные нами результаты выщелачивания металлов из породных отвалов при использовании разных источников энергии приведены на рис. 1.



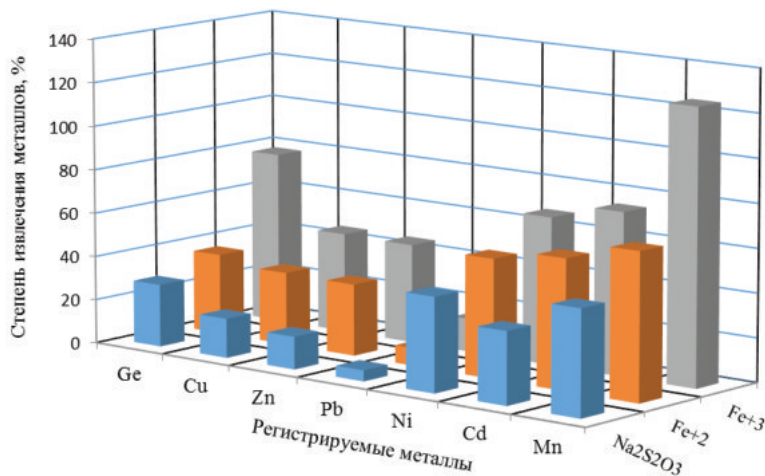


Рис. 1. Степень извлечения металлов (%) мезофильной ассоциацией ацидофильных хемолитотрофных бактерий при использовании различных источников энергии

Fig. 1. The degree of metals extraction (%) of mesophilic association of chemolithotrophic acidophilus bacteria using different energy sources

Данные, приведенные на рис. 1, свидетельствует о том, что переход всех металлов из твердой фазы в раствор происходит независимо от источников энергии. Однако эффективность этого процесса зависит от энергетического субстрата (рис. 1). Сравнительный анализ полученных результатов свидетельствует о том, что тиосульфат, как источник энергии, был малоэффективен при выщелачивании металлов из породных отвалов. Двухвалентное железо – стандартный энергетический субстрат при бактериальном выщелачивании металлов. При его использовании степень извлечения металлов ассоциацией АХБ из породных отвалов значительно увеличивалась. Так, количество германия, перешедшего в раствор, в присутствии двухвалентного железа увеличивалась на 8,1%; меди – на 15,33%; цинка – на 17,7%; свинца – на 3,0%; никеля – на 11,0% ; кадмия – на 26,0% и марганца – на 19,0%. При использовании трехвалентного железа, независимо от его концентрации, достигнуты максимальные показатели извлечения германия и других ценных компонентов из отходов флотационного обогащения углей. Превышение проверяемого показателя по сравнению с тиосульфатом и двухвалентным железом составляло 41,0–49,0%; 27,5–12,3%; 30,3–12,4%; 10,0–7,0%; 24,0–13,0%; 41,0–15,0% и 77,0–58,0% для германия, меди, цинка, свинца, никеля, кадмия и марганца, соответственно. Независимо от источника энергии, раствор, в основном, обогащается ионами никеля, кадмия и марганца. Вероятно, в первую очередь ускоряется растворение электроотрицательных и замедляется растворение электроположительных сульфидов. Таким образом, несмотря на действие буферной окислительно-восстановительной системы Fe^{3+}/Fe^{2+} , окисление полиметаллического техногенного сырья идет по электрохимическому принципу.

Исследование кинетики бактериального выщелачивания германия ассоциацией АХБ из техногенных отходов при использовании двух-, трехвалентного железа и тиосульфата также свидетельствует о высокой эффективности трехвалентного железа как источника энергии (рис. 2).

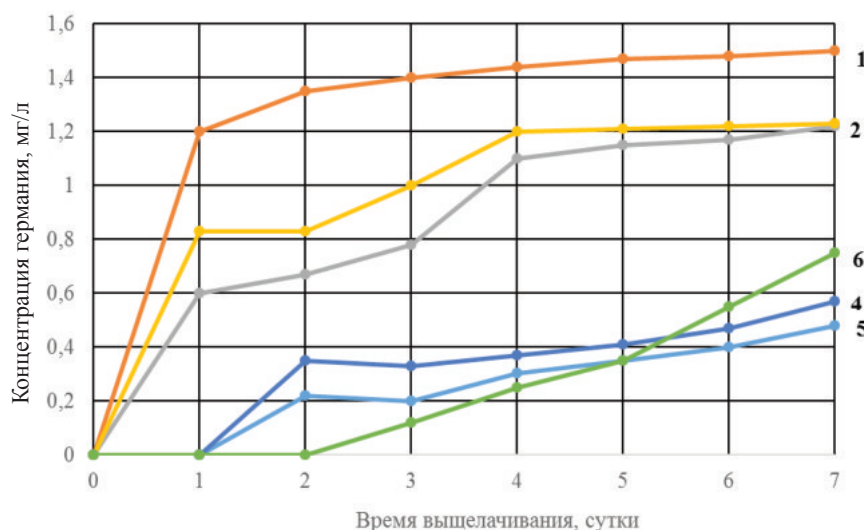


Рис. 2. Динамика выщелачивания германия из породных отвалов при использовании различных источников энергии:

1 – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 15,0 г/дм³, 2 – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 9,0 г/дм³, 3 – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 6,0 г/дм³,
4 – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 3,0 г/дм³, 5 – FeSO_4 – 44,4 г/дм³, 6 – $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ – 5,0 г/дм³

Fig. 2. The dynamics of germanium leaching from waste dumps using different sources of energy:

1 – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 15,0 g/dm³, 2 – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 9,0 g/dm³, 3 – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 6,0 g/dm³,
4 – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 3,0 g/dm³, 5 – FeSO_4 – 44,4 g/dm³, 6 – $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ – 5,0 g/dm³

Содержание германия в выщелачивающем растворе при добавлении $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ уже через сутки в 3,0–1,9 раза превышало его конечную концентрацию при использовании двухвалентного железа и тиосульфата (рис. 2). Даже при минимальной концентрации трехвалентного железа – 3,0 г/дм³ степень извлечения германия из породных отвалов в 1,2 раза была больше, чем в присутствии 44,4 г/дм³ двухвалентного железа. Таким образом, эффективность бактериального выщелачивания германия сообществом АХБ в присутствии трехвалентного железа достигала 15,0 %, что в 3,0–2,0 раза превышало показатели его извлечения при использовании двухвалентного железа и тиосульфата.

Известно, что основными параметрами, влияющими на эффективность выщелачивания металлов, являются показатели рН и Eh [11, 13]. На рис. 3 и 4 показана динамика изменений этих показателей в процессе бактериального выщелачивания металлов при использовании в качестве энергетических субстратов двух- и трехвалентного железа.



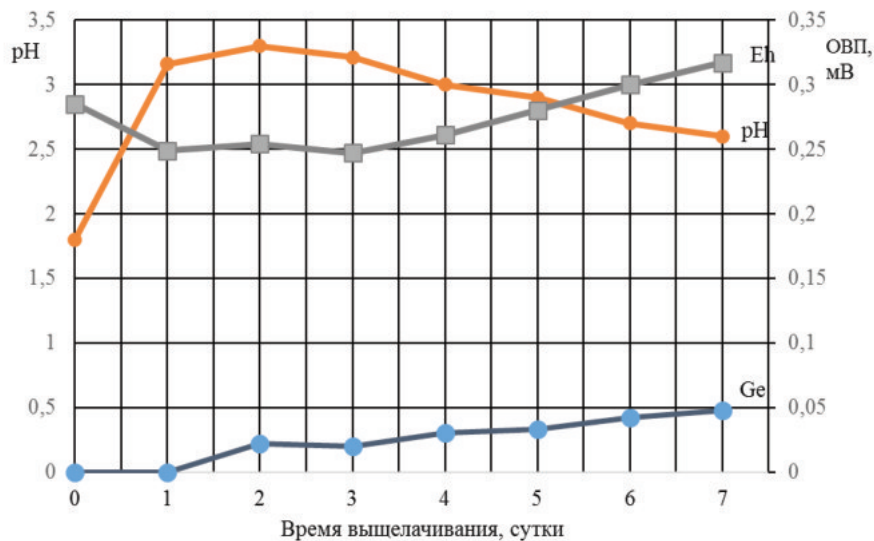


Рис. 3. Динамика изменений показателей pH, Eh и концентрации германия при использовании в качестве энергетического субстрата двухвалентного железа

Fig. 3. The dynamics of pH, Eh and concentration of germanium changes when ferrous iron was used as an energy substrate

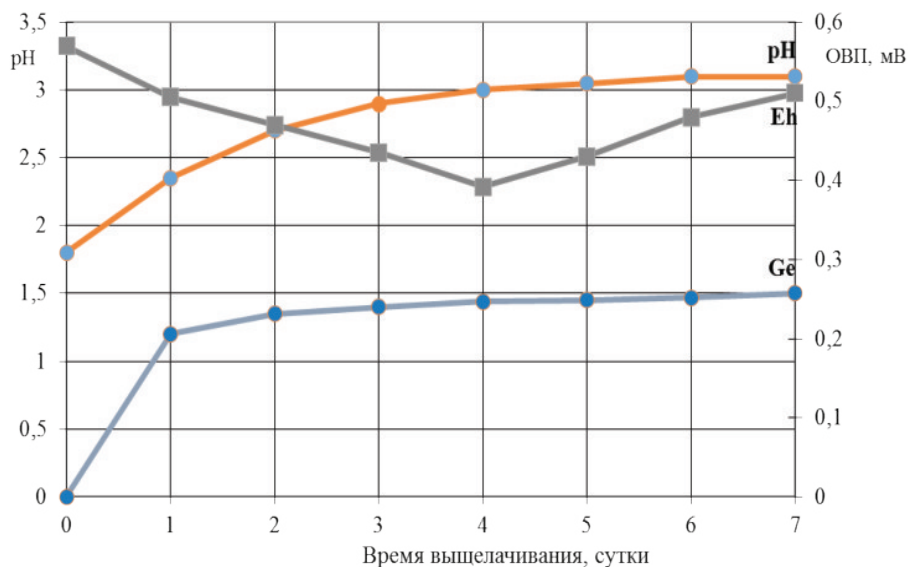


Рис. 4. Динамика изменений показателей pH, Eh и концентрации германия при использовании в качестве энергетического субстрата трехвалентного железа

Fig. 4. The dynamics of pH, Eh and concentration of germanium changes when ferric iron was used as an energy substrate

В условиях наших экспериментов начальные значения рН в обоих вариантах опыта соответствовали 2,0. Исходные значения Eh определяются формой железа; при использовании в качестве источника энергии FeSO_4 в концентрации 44,4 г/л значения Eh соответствуют 0,25 мВ, а при использовании $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 0,65 мВ. Известно, что степень перехода металлов в раствор из твердой фазы тем выше, чем больше значения Eh. Так, по данным Каравайко Г.И. наиболее эффективное извлечение металлов происходит в интервале значений Eh от 0,58 до 0,75 мВ. [11]. Таким образом, регистрация показателя Eh также подтвердила эффективность использования трехвалентного железа в процессах бактериального выщелачивания металлов. Независимо от источника энергии резкого подкисления раствора, как при работе с природными минералами, в условиях наших экспериментов не происходило. Конечные значения рН не достигали исходных показателей и составляли 2,6–3,1 в растворах с двух- и трехвалентным железом, соответственно (рис. 3 и 4). По-видимому, бактериальное выщелачивание техногенных отходов, как и природных сульфидных руд начинается с пирита – FeS , который обладает наименьшим электродным потенциалом [6]. Выделяющийся из минерального сырья Fe^0 , переходит, преимущественно, в форму FeSO_4 и $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, связывая ионы SO_4^{2-} и препятствуя снижению рН. Кроме того переход Fe^0 из твердой фазы в жидкую сопровождается образованием осадка $\text{Fe}(\text{OH})_3$, что также способствует подщелачиванию раствора и замедлению извлечения металлов. В условиях наших экспериментов наиболее интенсивно образование и выпадение осадка происходит в присутствии FeSO_4 . Полученные нами результаты совпадают с имеющимися литературными данными [5, 6, 19].

Микробиологический контроль, который проводили в течение бактериального выщелачивания металлов, позволил установить, что в присутствии тиосульфата в выщелачивающем растворе регистрировали тонкие грамотрицательные бактерии, численность которых соответствовала $2,7 \times 10^4$ – $4,5 \times 10^5$ кл/мл. На некоторых клетках отмечены биполярные включения. В присутствии двухвалентного железа отмечали интенсивный рост клеток бактерий; их численность в выщелачивающем растворе была достаточно высока и в течение эксперимента возрастала с $5,6 \times 10^7$ до $4,7 \times 10^{10}$ кл/мл. В окрашенном микроскопическом препарате сплошь регистрировали грамотрицательные короткие тонкие бактерии, а также в небольшом количестве округлые с закругленными концами грампозитивные клетки. При проведении процесса выщелачивания с трехвалентным железом рост бактерий в жидкой фазе не наблюдался. Их численность на протяжении всего срока экспериментов находилась в пределах от $2,7$ – $3,7 \times 10^4$ до $3,5 \times 10^5$ – $4,3 \times 10^5$ кл/мл. Микробный пейзаж составляли округлые клетки с темной оболочкой, непрокрашенным содержимым и биполярными включениями. Эти включения, согласно имеющимся литературным данным, являются глобулами серы, которая образуется в результате окисления минерального сырья [13].

Сравнительный анализ литературных данных и собственных результатов химического и микробиологического контроля позволяет предположить



возможные механизмы выщелачивания металлов при использовании различных энергетических субстратов. Необходимо отметить, что рассматриваемые механизмы извлечения металлов являются спорными и окончательно не установленными. Так, при использовании двухвалентного железа происходит активный рост культуры. При этом клетки бактерий выполняют только каталитическую функцию, ускоряя окисление Fe^{2+} до Fe^{3+} , и извлечение металла может быть описано следующей реакцией:



Активно растущая и окисляющая двухвалентное железо ассоциация АХБ в основном находится в растворе и можно предположить, что она не вносит значительного вклада в выщелачивание металлов из отходов углеобогащения. Следовательно, если выщелачивание происходит по непрямому механизму, то он не является ведущим в процессах бактериального выщелачивания.

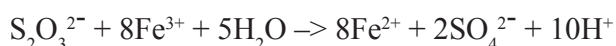
При использовании трехвалентного железа в жидкой фазе находится незначительное количество не активных клеток бактерий, их роль заключается в восстановлении Fe^{3+} до Fe^{2+} . В этом случае выщелачивание проходит по прямому механизму и суммарная реакция бактериального выщелачивания, катализируемая ферментами, выглядит следующим образом:



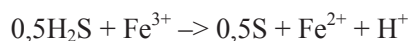
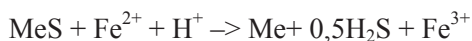
где MeS – сульфид металла.

В результате прямого бактериального выщелачивания нерастворимые сульфиды металлов переходят в растворимые сульфаты [17].

Тиосульфат является начальным промежуточным продуктом, который далее превращается в промежуточные продукты -тетратионат, тритионат, политионат с формированием сульфата в качестве конечного продукта согласно общей реакции:



В данном случае растворение сульфида происходит вследствие комбинированного действия Fe^{3+} и протонов. Основным промежуточным продуктом становится элементарная сера, которая относительно стабильна, но может окисляться АХБ до сульфата:



В результате каталитической активности АХБ образующееся Fe^{2+} может быть вновь преобразовано в Fe^{3+} :



Это достаточно длительный путь, чем можно объяснить низкий эффект извлечения металлов. Возможно при увеличении сроков выщелачивания удастся добиться повышения степени выщелачивания. Таким образом, и в присутствии тиосульфата роль микроорганизмов также заключается в образовании серной кислоты и Fe^{3+} .

Несмотря на различные предположения ведущей роли того или иного механизма выщелачивания металлов, по-видимому, этот процесс достаточно сложный, многостадийный и включает ряд механизмов, возможно, многие из них еще не изучены.

Таким образом, в настоящей работе исследованы процессы перехода германия и других металлов из твердой фазы в раствор и установлена эффективность бактериально-химических методов обработки отходов углеобогащения при использовании различных энергетических субстратов. При проведении исследований по извлечению ценных компонентов ассоциацией АХБ и установлению эффективности бактериального выщелачивания металлов в условиях наших экспериментов отходы углеобогащения подвергались обработке различными источниками энергии – тиосульфатом, двух- и трехвалентным железом. Сравнительный анализ данных физико-химического и микробиологического контроля показал, что наиболее интенсивно извлечение германия и других ценных компонентов происходит при использовании трехвалентного железа. Установлены основные закономерности извлечения германия из породных отвалов в присутствии тиосульфата, двух- и трехвалентного железа. Полученные результаты подтвердили, что выщелачивание германия и других ценных компонентов основано на каталитических окислительно-восстановительных реакциях ассоциации хемолитотрофных ацидофильных бактерий, населяющих техногенное сырье. Полученные результаты позволили предположить возможные пути выщелачивания металлов ассоциацией АХБ; вероятнее всего этот процесс осуществляется комплексом биохимических реакций.

**Т.В.Васильєва, І.А. Блайда, Л.І. Слюсаренко, Н.Ю. Васильєва,
В.Ф. Хитрич**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, тел.: (048) 746 51 02,
e-mail: iblayda@ukr.net

БАКТЕРІАЛЬНЕ ВИЛУГОВУВАННЯ МЕТАЛІВ З ВІДХОДІВ ФЛОТАЦІЙНОГО ЗБАГАЧЕННЯ ВУГІЛЛЯ ЗА УЧАСТЮ ТІОСУЛЬФАТУ, ДВОХ- І ТРИВАЛЕНТНОГО ЗАЛІЗА

Реферат

Мета. Вивчення впливу тіосульфату, двох- і тривалентного заліза на процес бактерійного вилуговування германію і інших цінних компонентів з техноген-



них відходів центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) Львівсько-Волинського вугільного басейну (ЛВВБ). **Методи.** Класичні мікробіологічні, стандартні фізико-хімічні (атомно-емісійна і атомно-абсорбційна спектроскопія), авторський запатентований електрохімічний осередок. **Результати.** Отримані порівняльні дані ефективності витягання металів при використанні $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, Fe^{2+} і Fe^{3+} . Показане, що тиосульфат малоефективний в процесах бактерійного вилуговування. Максимальний перехід металів з твердої фази в розчин відмічений при використанні Fe^{3+} . **Висновки.** Встановлена висока ефективність бактеріального вилучення германію та інших цінних компонентів з відходів вуглезбагачення за участю тривалентного заліза.

Ключові слова: техногенні відходи вуглезбагачення, бактерійне вилуговування.

T.V. Vasylieva, I.A. Blayda, L.I. Sliusarenko, N.Yu. Vasylieva, V.F. Chitrich

I.I. Mechnykov Odesa National University,
2, Dvoryanska St., Odesa, 65082, Ukraine, tel : +38 (0482) 63 51 63,
e-mail: iblayda@ukr.net

BACTERIAL LEACHING OF THE METALS FROM WASTE FLOTATION OF COALS WITH THE PARTICIPATION OF THIOSULFATE, FERROUS AND FERRIC IRON

Summary

Aim. To study the effect of thiosulfate, ferrous and ferric iron on the process of bacterial leaching of germanium and other valuable components from industrial waste of the Central Enrichment Plant (CEP) of the Lviv-Volyn Coal Basin (LVCB). **Methods.** Classical microbiological, standard physico-chemical (atomic emission and atomic absorption spectroscopy), the author's patented electrochemical unit. **Results.** The received comparative data of efficiency of extraction of metals using $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, Fe^{2+} and Fe^{3+} . It is shown that the thiosulfate is ineffective in the processes of bacterial leaching. The maximum transition metals from the solid phase into the solution was detected using Fe^{3+} . **Conclusions.** The high efficiency of bacterial extraction of germanium and other valuable components from waste coal preparation, with the participation of ferric iron has been shown.

Key words: industrial waste coal, bacterial leaching.

Список использованной литературы

1. Баранов В.І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ "Львівсистеменерго", як об'єкта для озеленення // Вісник Львівського університету. Сер. біол. – 2008. – Вип. 46. – С. 172–178.
2. Галецький Л.С., Науменко У.З., Пилипчик А.Д. Техногенні родовища – нове нетрадиційне джерело мінеральної сировини в Україні // Екологія довкілля та забезпечення життєдіяльності. – 2002. – № 5–6. – С. 77–81.
3. Ломашов И.П., Лосев Б.М. Германий в ископаемых углях. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 312 с.



4. *Шпирт М.Я.* Физико-химические основы переработки германиевого сырья. – М.: Металлургия, 1977. – 264 с.
5. *Трухин Ю.П., Левенец О.О.* Трехстадийная технология биовыщелачивания сульфидной кобальт-медно-никелевой руды. – Горно-информационно-аналитический бюллетень. – 2011. – № 6. – С. 102–110.
6. *Левенец О.О.* Научно-техническое обоснование способов биовыщелачивания в мезофильных условиях сульфидной кобальт-медно-никелевой руды. – Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук. Улан-Удэ, 2012. – С. 21.
7. *Хавезов И., Цалев Д.* Атомно-абсорбционный анализ. – Л.: Химия, 1983. – 144 с.
8. *Пат. 104788 UA.* Спосіб виготовлення двокамерної триелектродної електрохімічної комірки // Джамбек О.А., Джамбек О.І., Блайда І.А., Іваниця В.О., Васильева Т.В. Бюл. № 4. Заявл. 05.05.2015. Опубл. 25.02.2016.
9. *Васильева Т.В., Блайда І.А., Слюсаренко Л.І., Баранов В.И., Хитрич В.Ф., Барба И.Н., Джамбек О.И., Джамбек А.А., Сауляк Н. И., Іваниця В.А.* Структура и выщелачивающая активность сообщества хемолитотрофных ацидофильных бактерий техногенных отходов // Сборник докладов II Международной научно-практической конференции «Современные ресурсосберегающие технологии. Проблемы и перспективы». – 2012. – С. 216–222.
10. *Blayda I., Vasyleva T., Slyusarenko L., Abisheva Z., Ivanytsia V.* The germanium extraction from industrial wastes by microbiological methods // XXVI International Mineral Processing Congress (IMPC 2012), New Delhi, India, September 24-28, 2012. – P. 550–558.
11. *Каравайко Г.И., Росси Дж., Агате А., Грудев С., Авакян З.А.* Практическое руководство. – М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1999. – 375 с.
12. Практикум по микробиологии / под ред. Н.С. Егорова. – М.: Изд-во Московского университета, 1976. – 507 с.
13. *Каравайко Г.И., Дубинина Г.А., Кондратьева Т.Ф.* Литотрофные микроорганизмы окислительных циклов серы и железа // Микробиология. – 2006. – Т. 75, № 5. – С. 593–629.
14. Патент 2367691 C1 RU. Способ переработки сульфидных руд и пирротинового концентрата // Суханова М.А., Пивоварова Т.А., Меламуд В.С. Заявл. 25.01.2008. Опубл. 20.09.2009.
15. *Славкина О.В., Фомченко Н.В., Бирюков В.В.* Исследование технологии бактериального выщелачивания медно-цинкового рудного концентрата // Биотехнология. – 2005. – № 3. – С. 48–54.
16. *Palencia I., Mazuelos A., Caanza F.* Treatment of secondary copper sulphides (chalcocite and covellite) by the BRISA process // Hydrometallurgy. – 2002 – V. 66. – P. 85–93.
17. *Rawlings D.E.* Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates // Microbial Cell Factories. – 2005. – V. 4. – 13. – P. 4–11.



18. *Schippers A., Sand W.* Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1999. – V. 65. – № 1. – P. 319–321.

19. *Кузякина Т.И., Хайнасова Т.С., Левенец О.О.* Биотехнология извлечения металлов из сульфидных руд // *Вестник наук о Земле*. – 2008. – Т. 60, Вып. 12. – С. 76–85.

References

1. *Baranov VI* Ecological description of the waste dump of coal mines CPP CJSC “Lvovsystemenergo” as an object for planting // *Herald of Lviv University. Ser. Biology* – 2008. – Vol. 46. – С.172 – 178.

2. *Galetckii LS, Naumenko UZ, Pilipchik AD* Technogenic field – a new non-traditional sources of mineral raw materials in Ukraine // *Ecology of environment and life support*. – 2002. – №. 5–6. – С 77–81.

3. *Lomashov P, Losev BM* Germanium in fossil coals. – М.: Publishing House of the USSR Academy of Sciences, 1962. – 312 p.

4. *Shpirt MIa* Physical and chemical basis of raw germanium processing. – М.: Metallurgy, 1977. – 264 p.

5. *Trukhin YuP, Levenetc OO* The triple-step bioleaching technology of sulphidic copper-cobalt-nickel ore. – *Mining-Information-analytical bulletin*. – 2011. – № 6. – P.102 – 110.

6. *Levenetc OO* Scientific and technical substantiation of bioleaching methods by sulphide copper-cobalt-nickel ore in mesophilic conditions. – Abstract of dissertation for the degree of candidate of technical sciences. Ulan-Ude, 2012. – P. 21.

7. *Khavezov I, Tsalev D* Atomic absorption analysis. – L: Chemistry, 1983. – 144 p.

8. A.s. 104788 UA, MBI H 01M 4/00. Two-cell production method with three electrode electrochemical cell. *Dzhambek OA, Dzhambek OI, Blayda IA, Ivanytsia VO, Vasileva TV (UA)*. – *zayavl.* 05.05.2015; *opubl.* 25.02.2016, *Byul.* N 4.

9. *Vasileva TV, Blaida IA, Sliusarenko LI, Baranov VI, Khitrich VF, Barba IN, Dzhambek OI, Dzhambek AA, Sauliak NI, Ivanytsia VA* The structure and leaching activity of community of chemolithotrophic acidophilus microorganisms from technogenic waste/ *Proceedings of the 11th International scientific-practical conference “Modern technologies resource technologies. Problems and Prospects”*, 2012. – P. 216-222.

10. *Blayda I, Vasyleva T, Sliusarenko L, Abisheva Z, Ivanytsia V* The germanium extraction from industrial wastes by microbiological methods//*XXVI International Mineral Processing Congress (IMPC 2012)*, New Delhi, India, September 24-28, 2012.- P.550-558

11. *Karavayko GI, Rossi Dzh, Agate A, Grudev S, Avakian ZA* A Practical Guide. – М: Center for International projects SCS & T, 1999. – 375 p.

12. A Practical Guide by microbiology/ edited by NS Egorova. – Moscow: Publishing House of Moscow State University, 1976. – 507 p.



13. *Karavayko GI, Dubinina GA, Kondrateva TF* Lithotrophic microorganisms oxidizing sulfur and iron cycles // *Microbiology*– №. 5, Vol. 5. – P. 593–629.
14. A.s 2367691 RU. Method for processing of sulfide ores and pyrrhotite concentrate // *Sukhanova MA, Pivovarova TA, Melamud VS* – *zayavl* 25.01.2008; *opubl.* 20.09.2009.
15. *Slavkina OV, Fomchenko NV, Biriukov VV* Research of technology of bacterial leaching of copper-zinc ore concentrate // *Biotechnology*. – 2005. – №3. – P. 48-54.
16. *Palencia I, Mazuelos A, Caanza F* Treatment of secondary copper sulphides (chalcocite and covellite) by the BRISA process // *Hydrometallurgy*. – 2002 – V. 66. – P. 85 – 93.
17. *Rawlings DE* Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates // *Microbial Cell Factories*. – 2005. – № 13, V. 4. – P. 4-11.
18. *Schippers A, Sand W* Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1999. – № 1, V. 65. – P. 319–321.
19. *Kuziakina TI, Khainasova. TS, Levenetc OO* Biotechnology of metals extraction from sulphide ores // *Herald of the Earth Sciences*. – 2008. – № 60, Vol. 12. – P. 76–85.

Стаття надійшла до редакції 01.09.2016 р.



В.П. Миколаєвський¹, В.Г. Сергієнко¹, Л.В. Титова²

¹Інститут захисту рослин НААН України, вул. Васильківська, 33,
Київ, 03022, тел.: +38(044) 257 11 24, e-mail: vg_serghienko@bigmir.net

²Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, вул. Заболотного, 154,
Київ, 03143, тел.: +38 (044) 526 34 87, e-mail: luti.07@mail.ru

ВПЛИВ ІНОКУЛЯНТІВ НА ФОРМУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ, РОЗВИТОК ХВОРОБ ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ СОЇ РІЗНИХ СОРТІВ

У світовому землеробстві соя займає одне з перших місць серед сільськогосподарських культур за масштабами виробництва. На сьогодні значно збагатився сортовий спектр і підвищився валовий збір зерна сої, проте реалізація генетичного потенціалу сучасних сортів залишається доволі низькою.

Мета. Вивчити вплив інокулянтів на розвиток рослин, формування симбіотичних систем, захворюваність та продуктивність сучасних сортів сої, що належать до різних груп стиглості. **Методи.** Мікробіологічні, газово-хроматографічний, польових досліджень, статистичної обробки. **Результати.** Встановлено позитивний вплив обробки насіння моно- та комплексним інокулянтами на розвиток рослин, формування симбіотичних систем, зменшення ураженості хворобами та продуктивність сої сортів Медея, Моравія та Медісон, що належать до різних груп стиглості. Показано стимулювальну дію цих інокулянтів на схожість, ріст, формування та нітрогеназну активність нодуляційного апарату, а також урожай сої досліджуваних сортів. **Висновки.** Інокуляція препаратами азотфіксувальних і фосфатмобілізувальних бактерій сприяла зниженню захворюваності рослин мікозами та бактеріозами, а також підвищенню урожаю зерна на 18,4–120,0% порівняно з контролем. Найбільший приріст урожаю отримано на ранньостиглому сорті Медея за комплексної інокуляції.

К л ю ч о в і с л о в а: соєво-ризобіальний симбіоз, сорти, захворюваність, продуктивність.

За масштабами виробництва у світовому землеробстві соя займає одне з перших місць серед сільськогосподарських культур завдяки своїм цінним біологічним та господарським властивостям. У насінні сої міститься більше 40% білка, який добре збалансований за амінокислотним складом, до 18% олії, 25–30% вуглеводів, різноманітний набір вітамінів і мінеральних речовин, що робить її чудовою альтернативою продуктам тваринного походження [2, 9]. Соя випереджає всі інші культури за темпами зростання посівних площ. В Україні за останні 10 років посіви сої зросли майже вдвітьє, збільшуючись щороку в середньому на 30% [1, 9].



На сьогодні значно збагатився сортовий спектр і підвищився валовий збір зерна сої. Проте реалізація генетичного потенціалу сучасних сортів залишається доволі низькою, а середня урожайність в Україні становить 1,2–1,9 т/га [3].

Важливим завданням, поряд із збільшенням урожаю, є збереження та покращення якісних показників насіння сої. Розвиток рослин у період вегетації та їх продуктивність значною мірою залежать від якості насіннєвого матеріалу (схожості, санітарного стану та ін.). З насінням (на поверхні, у тканинах насіння і в домішках) передається більше 30% збудників хвороб [4, 10, 11, 15]. Тому важливим запобіжним заходом оздоровлення агроценозів є обробка насіннєвого матеріалу препаратами фунгіцидної та бактерицидної дії [12, 13].

Одна з найбільш унікальних особливостей сої – здатність у симбіозі з азотфіксувальними бактеріями утворювати кореневі бульбочки і накопичувати біологічний азот, що сприяє підвищенню її стресостійкості та продуктивності [5]. Оскільки бульбочкових бактерій у складі епіфітного та ендоефітного мікробіоценозу насіння сої не виявлено [6, 7, 8], очевидно, для формування ефективного соєво-ризобіального симбіозу обов'язковим агрозаходом повинна бути штучна інокуляція насіння високоактивними штамми специфічних бульбочкових бактерій, що характеризуються високою екологічною пластичністю і комплементарні до широкого спектру сучасних сортів, у тому числі, – до сортів з різними строками дозрівання. Такий захід сприятиме підвищенню реалізації генетичного потенціалу культури.

Метою роботи було вивчення впливу різних інокулянтів на розвиток рослин, формування симбіотичних систем, захворюваність та продуктивність сучасних сортів сої, що належать до різних груп стиглості.

Матеріали і методи

Об'єктами досліджень були: інокулянти для обробки насіння сої на основі високоєфективного штаму бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6023 (Ризобін, 2,0 л/т) та на основі композиції *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6023 і фосфатмобілізувальних бактерій *Bacillus megaterium* УКМ В-5724 (Комплексний інокулянт, 1,0 л/т). Штами селекціоновані в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ. Вплив бактеріальних препаратів на розвиток та продуктивність сої порівнювали з контрольним варіантом (без обробки) та варіантом обробки насіння хімічним протруйником Максим XL 035 FS (флудіоксоніл, 25 г/л + металаксил-М, 10 г/л) з нормою витрати 1,0 л/т (згідно рекомендацій виробника). Досліди проводили на сортах сої Медея (ранньостиглий), Медісон (середньоранній) та Моравія (середньостиглий).

Роботу виконували протягом 2013–2015 рр. на Державному підприємстві «Експериментальна база «Олександрія» Білоцерківського району Київської обл. Ґрунт дослідного поля – чорнозем типовий мало гумусний крупнопилувато-середньосуглинковий із вмістом гумусу 3,15%, рухомого фосфору – 105 мг/кг Ґрунту, калію – 110 мг/кг Ґрунту, рН – 5,8. Ґрунт мало забезпечений азотом



органічних сполук, що легко гідролізується. Посів сої здійснювали суцільним методом спеціальною селекційною сівалкою з розрахунку 800 тис. рослин на 1 га. Площа дослідних ділянок – 10 м², повторність – 4-кратна.

Погодні умови у роки проведення досліджень суттєво відрізнялись по місяцях і декадах вегетаційних періодів. Однак в усі роки середньодобова температура повітря перевищувала середньобагаторічну на 1,6–2,3 °С. Оподи в період онтогенезу сої були здебільшого нерівномірні. В середньому за вегетаційний період (травень–серпень) їх випадало дещо менше за норму. Більше за середньостатистичний показник (на 31 мм) опадів випало лише у 2014 р., а найменше – у 2015 р.: дефіцит вологи становив 52%.

Оцінку нодулювальної активності досліджуваних інокулянтів проводили у фазу цвітіння та у фазу утворення бобів. Визначали також масу кореня та кореневих бульбочок. Урожай визначали методом збору бобів з кожної ділянки та зважування насіння після їх обмолоту. Активність азотфіксувального апарату сої оцінювали ацетилен-редуктазним методом у фазу цвітіння рослин [14]. Статистичну обробку результатів експериментів, а саме розрахунок стандартного відхилення та величини найменшої істотної різниці виконували, використовуючи стандартні комп'ютерні програми Statgraphics та Excel 2013.

Результати досліджень та їх обговорення

Польові експерименти засвідчили, що обробка насіння досліджуваними інокулянтами позитивно впливала на ріст і продуктивність сої різних строків дозрівання.

Бактеріальні препарати стимулювали схожість і розвиток рослин сої (табл.1). Схожість у цих варіантах була на 9,9 і 36,1% на сорті Моравія та на 10,7 і 11,6% на сорті Медісон вищою, ніж у контролі. Найбільшу схожість спостерігали за використання комплексного інокулянту на обох сортах сої, при цьому показники схожості статистично достовірно відрізнялись від контрольних. Дещо нижча схожість сої обох сортів була у варіантах із застосуванням хімічного протруйника Максим XL 035 FS. У 2014 р. рослини сої розвивалися значно повільніше у зв'язку з прохолодною дощовою погодою на початку вегетації. Проте і в цих умовах інокуляція насіння мала позитивний вплив на ріст і розвиток рослин.

За використання досліджуваних бактеріальних препаратів зафіксовано прискорення онтогенезу сої. Якщо у контролі через місяць після посіву рослини сорту Моравія перебували у фазі двох справжніх листків, то у варіантах з обробкою інокулянтами – у фазі трьох і чотирьох справжніх листків. Рослини сорту Медісон у цей період 2014 року знаходились у фазі розвитку одного і двох справжніх листків відповідно (що, очевидно, пояснюється особливостями реакції сорту Медісон на погодні умови). Прискорення онтогенезу рослин сої за інокуляції спостерігали і через 2 місяці після посіву.

Слід підкреслити, що в ранній фазі онтогенезу сої проявилась більш висока стимулювальна дія комплексного інокулянту.



Таблиця 1

Вплив обробки насіння інокулянтами на розвиток рослин сої

Table 1

Effect of inoculants seeds treatment on the soybean plants development

Варіант		Схожість (фаза одного справж. листка)		Фази розвитку	
		індекс схожості, %	% до контролю	через місяць після посіву	через 2 місяці після посіву
Сорт Моравія	Контроль (без обробки)	73,5	-	2 справж. листки	цвітіння-початок утворення бобів
	Ризобін, 2,0 л/т	80,8	109,9	3 справж. листки	утворення бобів
	Комплексний інокулянт, 1,0 л/т	100*	136,1	3-4 справж. листки	утворення-налив бобів
	Максим XL 035 FS, 1,0 л/т	76,9	104,6	2-3 справж. листки	кінець цвітіння-початок утворення бобів
	НІР 05	10,2			
Сорт Медісон	Контроль (без обробки)	89,6	-	1-2 справж. листки	бутонізація
	Ризобін, 2,0 л/т	99,3*	110,7	2 справж. листки	бутонізація-початок цвітіння
	Комплексний інокулянт, 1,0 л/т	100*	111,6	2 справж. листки	бутонізація-початок цвітіння
	Максим XL 035 FS, 1,0 л/т	78,5	87,6	1 справж. листок	бутонізація
	НІР 05	7,0			

Примітка: * – різниця у порівнянні з контролем достовірна.

Note: * – significant different from control.

Очевидно, полівекторна дія комплексного інокулянту забезпечила кращі умови для проростання насіння і розвитку проростків за рахунок покращання фосфорного живлення та ширшого спектру біологічно активних речовин з рістстимулювальними та протекторними властивостями.

Фізіологічний стан рослин у варіантах з інокуляцією був кращим порівняно з контрольними: вони відрізнялись потужнішим стеблом і листовим апаратом, інтенсивним зеленим забарвленням та значно менше уражувались хворобами. В період вегетації від сходів до дозрівання було виявлено ураження рослин альтернаріозом, бактеріозом, пероноспорозом та фузаріозом. У всіх фазах онто-



генезу сої сорту Моравія найвищий рівень розвитку (9,6–20,2% у контрольному варіанті) мав альтернаріоз (рис. 1), сорту Медісон (рис. 2) – альтернаріоз та пероноспороз (7,6–28,0% та 8,4–26,8% відповідно).

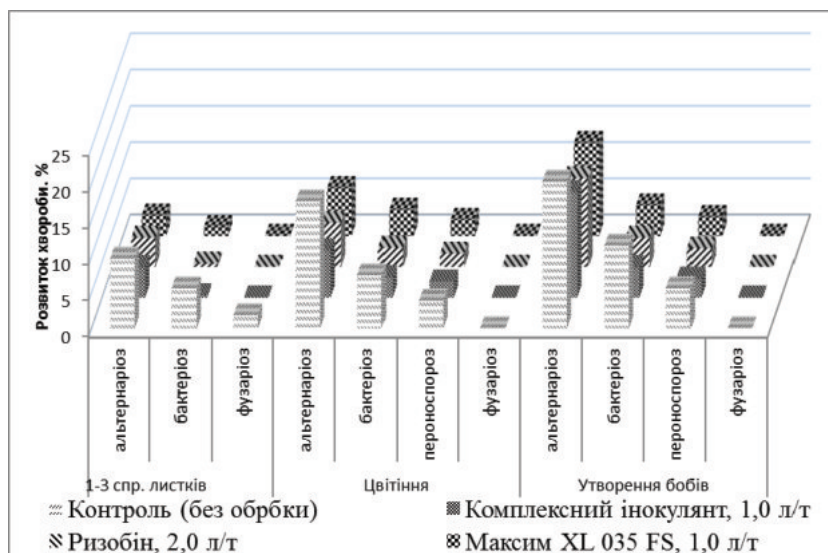


Рис.1. Вплив інокулянтів на розвиток хвороб сої сорту Моравія

Fig.1. Effect of inoculants on diseases development of soybean cv. Moravia

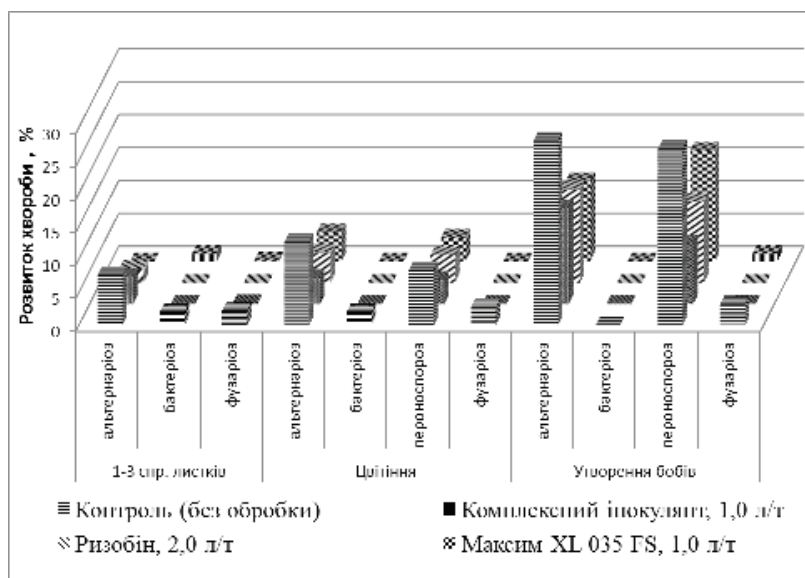


Рис. 2. Вплив інокулянтів на розвиток хвороб сої сорту Медісон

Fig. 2. Effect of inoculants on diseases development of soybean cv. Medison

Інокуляція насіння досліджуваними препаратами сприяла зниженню ураження сої фітопатогенами. Розвиток хвороб за використання інокулянтів був у 1,5–2,6 рази меншим, ніж у контролі. Варто відмітити, що зниження ураження рослин сої грибними хворобами за дії інокулянтів знаходилося практично на рівні варіанту з хімічним протруйником, а розвиток бактеріальних хвороб виявився найменшим.

Обробка насіння препаратами на основі специфічних бульбочкових бактерій *B. japonicum* сприяла активному утворенню бульбочок на коренях сої. У роки досліджень їх кількість у фазі цвітіння у варіантах із застосуванням інокулянтів достовірно переважала контрольні показники і була в 1,9–4,3 рази ($p \leq 0,05$) вищою порівняно з контролем та в 1,7–2,6 рази – порівняно з хімічним препаратом (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив інокулянтів на формування нодуляційного апарату сої різних сортів (фаза цвітіння)

Table 2

Inoculants influence on the nodule apparatus formation of different soybean cultivars (mid-flowering stage)

Варіант	Кількість бульбочок на коренях, шт./роsl., $X \pm S_x$					
	Сорт Медея		Сорт Моравія		Сорт Медісон	
	Фаза цвітіння	Фаза утворення бобів	Фаза цвітіння	Фаза утворення бобів	Фаза цвітіння	Фаза утворення бобів
Контроль (без обробки)	3±1	5±1	3±1	5±2	9±3	14±3
Ризобін, 2,0 л/т	10±2	23±4	10±2	24±4	23±2	36±3
Комплексний інокулянт, 1,0 л/т	12±3	18±3	13±3	21±5	17±3	33±2
Максим XL 035 FS, 1,0 л/т	6±3	9±3	5±2	9±3	10±3	15±3

($p \leq 0,05$); n=15

Значно більша кількість бульбочок формувалась у фазу утворення бобів. Порівняно з фазою цвітіння, цей показник зростав у 1,4–2,4 рази залежно від варіанту досліду, що, очевидно, відіграло важливу роль у формуванні врожаю. Серед досліджуваних сортів сої дещо більшу кількість бульбочок спостерігали на рослинах сорту Медісон.

При вивченні особливостей формування та функціонування азотфіксуючого апарату у сої сорту Медісон було встановлено, що нодуляційний процес відбувався активно в усіх варіантах, у тому числі, в контролі, де бульбочки



утворювались завдяки аборигенним ризобіям. Найбільш потужний нодуляційний апарат формувался за інокуляції насіння *V. japonicum* УКМ В-6023 – маса бульбочок у 4,2 рази перевищувала контрольний показник. За використання комплексного інокулянту маса бульбочок була у 1,6 рази більшою, ніж у контролі (табл. 3). При цьому формувалась найбільша коренева система: маса кореня рослин становила 4,3 г проти 2,9 г в контролі. Загальна азотфіксувальна активність симбіотичного апарату була найвищою у варіанті з використанням Ризобіну: 32 мкмоль C_2H_2 на 1 рослину за 1 добу, або в 4,9 рази вищою порівняно з контролем. За використання комплексного інокулянту загальна азотфіксувальна активність збільшувалась порівняно з контролем у 2,2 рази. Це сприяло збагаченню процесу азотного живлення рослин біологічним азотом, що відобразилось в інтегральному показнику ефективності соєво-ризобіального симбіозу – урожайності.

Таблиця 3

Вплив інокулянтів на формування кореневої системи та функціонування нодуляційного апарату сої сорту Медісон

Table 3

Effect of inoculants on the rhizogenesis and nodule apparatus functioning of soybean cultivar Medison

Варіант	Маса кореня, г	Маса бульбочок на рослині, г	Загальна нітрогеназна активність, мкмоль C_2H_2 /росл. за добу
Контроль (без обробки)	2,9±0,9	1,2±0,4	6,5±1,0
Ризобін, 2,0 л/т	3,9±1,1	5,0±0,5	32,0±7,1
Комплексний інокулянт, 1,0 л/т	4,3±0,7	1,9±0,2	14,4±1,4

($p \leq 0,05$); $n=15$

Передпосівна бактеризація насіння позитивно вплинула на підвищення продуктивності сої (табл. 4).

У варіантах з обробкою насіння інокулянтами сформувалась більша кількість бобів на рослині та їх маса, що забезпечило в цілому вищий урожай зерна. Найбільший урожай одержано на середньоранньому сорті Медісон у 2014 р. – 5,8–6,0 т/га у варіантах з інокуляцією і 4,9 т/га в контролі. На середньостиглому сорті Моравія за інокуляції насіння урожай становив 5,2–5,6 т/га проти 3,8 т/га в контролі, а на ранньостиглому сорті Медея – 4,7–5,5 т/га при 2,5 т/га в контролі. Саме на скоростиглому сорті сої дія інокулянтів (особливо, комплексного) проявилась найбільшою мірою: приріст урожаю становив 2,2–3,0 т/га або 88% – 120%, що свідчить про найбільше стимулювання біологічного потенціалу сорту.



Таблиця 4

Вплив інокулянтів на продуктивність сої різних сортів

Table 4

Effect of inoculants seeds treatment on the grain yield of different soybean cultivars

Варіант		Урожай		
		г/м ²	т/га	% до контролю
Медєя (2013р.)	Контроль (без обробки)	247	2,5	-
	Ризобін, 2,0 л/т	472	4,7	188,0
	Комплексний інокулянт, 1,0 л/т	547	5,5	220,0
	Максим XL 035 FS, 1,0 л/т	396	4,0	160,0
	НІР ₀₅	8,1		
Моравія (2013р.)	Контроль (без обробки)	379	3,8	-
	Ризобін, 2,0 л/т	562	5,6	147,4
	Комплексний інокулянт, 1,0 л/т	517	5,2	136,8
	Максим XL 035 FS, 1,0 л/т	484	4,8	126,3
	НІР ₀₅	15,2		
Медісон (2014 р.)	Контроль (без обробки)	489	4,9	-
	Ризобін, 2,0 л/т	604	6,0	122,4
	Комплексний інокулянт, 1,0 л/т	579	5,8	118,4
	Максим XL 035 FS, 1,0 л/т	584	5,8	118,4
	НІР ₀₅	21,7		
Медісон (2015 р.)	Контроль (без обробки)	184	1,8	-
	Ризобін, 2,0 л/т	338	3,4	188,9
	Комплексний інокулянт, 1,0 л/т	281	2,8	155,5
	Максим XL 035 FS, 1,0 л/т	249	2,5	138,9
	НІР ₀₅	16,4		



В цілому, урожайність сої сортів Медея, Моравія та Медісон у дослідних варіантах була в середньому на 104%, 42% та 46% більшою відносно контролю. На сортах Моравія та Медісон найвищий приріст урожаю сої забезпечив препарат Ризобін, на сорті Медея – комплексний інокулянт. Слід підкреслити, що в умовах посухи 2015 року досліджувані інокулянти забезпечили збільшення врожаю сої порівняно з контролем на 88,9% та 55,5% (сорт Медісон). Це може свідчити про антистресову активність даних біопрепаратів.

Таким чином, передпосівна обробка насіння досліджуваними інокулянтами мала позитивний вплив на ріст, розвиток, хворобостійкість та урожайність сортів сої різних строків дозрівання, а також сприяла підвищенню продуктивності симбіотичних соєво-ризобіальних систем за дії несприятливих факторів довкілля.

В.П. Миколаевский,¹ В.Г. Сергиенко,¹ Л.В. Титова²

¹ Інститут захисту рослин НААН України, ул. Васильковская, 33, Київ, 03022, тел.: (044) 257 11 24, e-mail: vg_sergienko@bigmir.net

² Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, ул. Заболотного, 154, Київ, 03143, тел.: (044) 526 34 87, e-mail: luti.07@mail.ru

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯНТОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМ, РАЗВИТИЕ БОЛЕЗНЕЙ И ПРОДУКТИВНОСТЬ СОИ РАЗНЫХ СОРТОВ

Реферат

В мировом земледелии соя занимает одно из первых мест среди сельскохозяйственных культур по масштабам производства. На сегодня значительно обогатился сортовой спектр и повысился валовый сбор зерна сои, однако реализация генетического потенциала современных сортов остается достаточно низкой. Цель. Изучить влияние инокулянтов на развитие растений, формирование симбиотических систем, заболеваемость и продуктивность современных сортов сои, принадлежащих к разным группам спелости. Методы. Микробиологические, газово-хроматографический, полевых исследований, статистические. Результаты. Установлено позитивное влияние обработки семян моно- и комплексным инокулянтами на развитие растений, формирование симбиотических систем, уменьшение заболеваемости и продуктивность сои сортов Медея, Моравия и Медисон, принадлежащих к разным группам спелости. Показано стимулирующее действие этих инокулянтов на всхожесть, рост, формирование и нитрогеназную активность нодуляционного аппарата, а также урожай сои исследованных сортов. Выводы. Инокуляция препаратами азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих бактерий способствовала снижению заболеваемости растений микозами и бактериозами, а также повышению урожая зерна на 18,4–120,0 % по сравнению с контролем. Наибольший прирост урожая получен на раннеспелом сорте Медея при комплексной инокуляции.

К л ю ч е в ы е с л о в а: соєво-ризобіальний симбіоз, сорта, захворюваність, продуктивність.



V.P. Mykolaievski¹, V.G. Sergienko¹, L.V. Tytova²

¹Institute of Plant Protection of NAAS of Ukraine, 33, Vasylkivska str., Kyiv, 03022,
tel.: +38 (044) 257 11 24, e-mail: vg_sergienko@bigmir.net

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine, 154, Zabolotny str., Kyiv, 03143,
tel:+38 (044) 526 34 87, e-mail: luti.07@mail.ru

INOCULANTS INFLUENCE ON THE SYMBIOTIC SYSTEMS FORMATION, DISEASES DEVELOPMENT AND PRODUCTIVITY OF THE DIFFERENT SOYBEAN CULTIVARS

Summary

In the global farming the soy takes one of the first places among the crops on the scale of production. Today the cultivar range has greatly enriched and improved gross grain soybeans, but the realization of the genetic potential of modern cultivars is relatively low. Aim. To study the inoculants influence on the plants development, soybean-rhizobia symbiotic systems formation, morbidity and productivity of modern soybean cultivars belonging to the different maturity groups. Methods. Microbiological, gas-chromatographic, statistical, the method of field research. Results. The positive effect of seeds treatment by mono- and complex inoculants on plant development, symbiotic system formations, disease manifestation reduction and productivity of soybean cultivars Medea, Moravia, Madison belonging to different groups of ripeness has been established. The stimulating effect of these inoculants on germination, growth, development and nitrogenase activity of nodulation apparatus and crop of soybean cultivars has been shown. Conclusions. Inoculation by nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacteria formulations has helped to reduce the morbidity of plants with bacteriosis and mycosis, and promoted the increasing of grain yield in 18,4 -120,0% compared with the control. The largest increase in yield has been obtained by complex inoculation of early ripening cultivar Medea.

Keywords: soybean-rhizobia symbiosis, cultivars, diseases, productivity.

Список використаної літератури

1. *Агрономія сьогодні. Здоров'я рослин: СОЯ (Довідкове видання).* – ТОВ «Прес-медія», 2015. – 152 с.
2. *Бабич А.О., Бабич-Побережна А.А.* Світові та вітчизняні тенденції розміщення виробництва і використання сої для розв'язання проблеми білка// Корми і кормовиробництво. – 2012. – Вип. 71. – С. 12–26.
3. *Гаркавенко Ю.* Олійні культури сезону 2013–2014 // Агробізнес сьогодні. – 2013. – № 7. – С. 14.
4. *Григор'єва О.М.* Основні хвороби сої і заходи по зниженню їх шкодо-чинності в умовах північного Степу України: Автореф. дис. ... канд. с.-г. наук. К., 1996. – 21 с.
5. *Магомедов Р.Д., Цехмейструк Н.Г., Шелякин В.А., Рябуха С.С., Дидович С.В.* Влияние различных штаммов *Rhizobium japonicum* (Kircher) Buchanan на урожайность сои // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень



Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2011. – Вып. 2. – С. 148–149.

6. Крутило Д.В. Вивчення мікрофлори насіння сої як одного з ймовірних факторів розповсюдження *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* // Сільськогосподарська мікробіологія. – 2007. – Вип. 6. – С. 84–91.

7. Крутило Д.В., Ковалевська Т.М. Особливості поширення бульбочкових бактерій сої в різних регіонах України // Агроекологічний журнал. – 2003. – № 3. – С. 59–63.

8. Кошевський І.І., Житкевич Н.В., Митько В.С. Епіфітна мікрофлора сої в умовах Лісостепу України // Наук. вісн. УжНУ. – 2001. – № 9. – С. 114–115.

9. Маслак О. Соя: зростання виробництва та споживання // Пропозиція: український журнал з питань агробізнесу. Інформаційний щомісячник. – 2011. – N 8. – С. 52–54.

10. Петренко В. П., Черняєва І.М., Маркова Т.Ю. та ін. Насіннева інфекція польових культур. Ін-т рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН. – Харків, 2004. – 56 с.

11. Потлайчук В.Н., Семенов А.Я. Фитопатологическая экспертиза семян // Защита растений. – 1979. – № 3. – С. 25–26.

12. Шендрюк К.М. Ефективність біологічних та хімічних засобів захисту сої від кореневих гнилей // Захист і карантин рослин: міжвід. темат. наук. зб. – 2008. – Вип. 54. – С. 494–497.

13. Forsberg G. Control of cereal seed-borne diseases by hot humid air seed treatment. Doctoral thesis, Swedish University of agricultural sciences, Uppsala, 2004: 48.

14. Hardy R.W.F., Burns R.C., Holsten R.D. Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. Soil. Biol. Biochem. 1973; 5(1):41-83.

15. Harman G.E. Mechanisms of seed infection and pathogenesis / GE Harman // Phytopathology. 1983; 73(2): 326-329.

References

1. Agriculture today. Plant health: soy (Reference Edition). Ltd. “Press-Media». 2015. 152 p.

2. Babich AO, Babich-Poberezhna AA. Global and domestic trends in location of production and use of soy to swagger the protein problem. Feed and fodder. 2012; (71):12 – 26.

3. Harkavenko Yu. Oilseeds of season 2013-2014. Agribusiness today. 2013; (7): 14.

4. Grigorieva A. Main soybean diseases and measures to reduce of their harmfulness in the northern steppe of Ukraine. PhD thesis, Kyiv, 1996: 21.

5. Magomedov RD, Tshmeystruk NG, Shelyakin VA, Ryabukha SS, Didovich SV. Influence of different strains of *Rhizobium japonicum* (Kircher) Buchanan on soybean yields .Oilseeds. Scientific – technical bull. of the All- Scientific Research Institute of oilseeds. 2011; 2:148-149.



6. Krutylo DV. Studying of soybean seeds microorganisms as one of the likely factors of *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* distribution. Agricultural Microbiology. 2007; 6:84-91.
7. Krutylo DV, Kovalevska TM. Features of soybean rhizobia in different regions of Ukraine. Agroecology journal. 2003; (3): 59-63.
8. Koshevskyy II, Zhytkevych NV, Mytko VS. Soybean epiphytic microflora under steppes of Ukraine. Scientific Bulletin of the Uzhgorod National University. 2001; (9): 114-115.
9. Maslak O. Soya: the growth of production and consumption. Offer: Ukrainian journal on agribusiness. Information Monthly. 2011; (8): 52-54.
10. Petrenkova VP, Chernyayeva IM, Markova TYu et al. Seed infection of crops. Yur'yeva Institute of Plant of UAAS. Kharkiv. 2004. 56 p.
11. Potlaychuk VN, Semenov A Ya. Phytopathological seeds expertise. Plants protection. 1979; 3:25-26.
12. Shendryk KM. The effectiveness of biological and chemical protection from soybean root rot. Protection and Plant Quarantine: interdepartmental thematic scientific collection. 2008; 54: 494-497.
13. Forsberg G. Control of cereal seed-borne diseases by hot humid air seed treatment. Doctoral thesis, Swedish University of agricultural sciences, Uppsala, 2004: 48.
14. Hardy RW F, Burns RC, Holsten RD. Application of the acetylene- ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. Soil. Biol. Biochem. 1973; 5(1): P.41-83.
15. Harman G.E. Mechanisms of seed infection and pathogenesis / GE Harman // Phytopathology. 1983; 73(2): 326-329.

Стаття надійшла до редакції 30.08.2016 р.



О.Ю.Зінченко, С.Л. Міресь

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна, e-mail: farmikr78@gmail.com, till2002@mail.ru.

ВПЛИВ МЕТАБОЛІТІВ БАЗИДІОМІЦЕТІВ НА РІСТ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ

Мета роботи. Визначення впливу базидіоміцетів на ріст умовно-патогенних мікроорганізмів. **Матеріали та методи.** Методом дифузії в агар визначали антимікробну активність плодових тіл, їх екстрактів та вегетативного міцелію п'яти комерційних штамів лікарських базидіоміцетів *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst ONU F101, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. ONU F101, *Lentinus edodes* (Berk) Singer ONU F401, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer ONU F601, *Hericiium erinaceus* (Bull.) Pers. ONU F601. Як тест-об'єкти використовували штами бактерій *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та дріжджоподібних грибів *Candida albicans* ATCC. **Результати.** Найширший спектр активності встановлено у *L. edodes*. Показано, що в деяких випадках антимікробні екзометаболіти синтезуються на стадії міцелію, але відсутні в тканинах плодових тіл. Отримання екстрактів з плодових тіл грибів в деяких випадках призводить до зниження активності. **Висновки.** Незважаючи на традиційне використання плодових тіл грибів як джерела біологічно активних сполук, спектр речовин з антимікробними властивостями може бути суттєво розширений за рахунок використання грибів на різних стадіях їх життєвого циклу, зокрема, стадії вегетативного міцелію.

Ключові слова: базидіоміцети, антибактеріальна активність, умовно-патогенні мікроорганізми.

У вітчизняній та світовій науці наразі спостерігається підвищений інтерес до вивчення макроміцетів. Це пов'язано, насамперед, з кардинальним переглядом значущості та унікальності екологічних функцій, що контролюють гриби в природних екосистемах. По-друге, гриби були і залишаються одним із основних і перспективних об'єктів біотехнології [4].

В останні роки спостерігається помітний сплеск уваги до створення на основі вищих грибів та продуктів їх метаболізму харчових і кормових добавок та лікарських препаратів. Об'єктами більшості таких розробок є широко досліджувані в різних країнах світу базидіоміцети з родів *Coprinus*, *Lentinula*,



Grifola, Laetiporus, Panus, Pleurotus. Серед метаболітів базидіоміцетів виявлено сполуки, що проявляють антибластому, антибактеріальну, гепатопротекторну дію тощо [1, 3].

Метою даної роботи було визначення впливу базидіоміцетів на ріст умовно-патогенних мікроорганізмів.

Лікарські гриби, до яких відносяться досліджувані макроміцети забезпечують свої лікувальні властивості завдяки біологічно активним речовинам вуглеводної, ліпідної, білкової природи, терпеноїдам, стероїдам, алкалоїдам, фенольним сполукам, вітамінам, мінеральним елементам. Певні з цих речовин у різних концентраціях присутні у екзометаболітах міцелію та можуть бути екстраговані полярними або неполярними розчинниками. Наприклад, *L. edodes* притаманні протипухлинні, противірусні та імуномодулювальні властивості, що забезпечуються головним чином глікогенами: поліцукридами (лентинан), глюканами та гетероглюканами, вільними цукрами (маноза, трегалоза, манітол, гліцерол, арабітол, арабіноза) [13].

Серед терпеноїдів грибів роду *Ganoderma* виділяють ганодерові та люциденові кислоти, ганодеріоли, ганодерани. Вважається, що ланостанові три-терпеноїди, такі як ганодерові і люциденові кислоти володіють найбільшою біологічною активністю серед даних органічних сполук [10, 11]. Імуномодулювальну, протипухлинну, антиоксидантну, гіпотензивну, антибактеріальну, протигрибкову, противірусну активність *Flammulina velutipes* забезпечують полісахариди, протеїн-глюканові комплекси, стерол, лектини, пероксидази, протеази тощо [12, 16].

Активні речовини *Hericium erinaceus* – поліцукриди, жирні кислоти, херіцинони А, В, С, D, Е, F, G і Н. Міцелій містить групу дитритерпенів – ерінацинів, які імітують фактор нервового наростання, один з ерінацинів представляє опіюїд, що є анальгетиком [13].

Матеріали і методи

Визначали антагоністичну активність п'яти комерційних штамів лікарських базидіоміцетів *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst ONU F101, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. ONU F101, *Lentinus edodes* (Berk) Singer ONU F401, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer ONU F601, *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. ONU F601, отриманих з колекції Інституту сільськогосподарської генетики м. Ханой.

Як тест-об'єкти використовували штами бактерій, рекомендовані для визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та дріжджоподібних грибів *Candida albicans* ATCC 18804 [15]. Тест-штами отримані з музею культур мікроорганізмів Інституту епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського АМН України.



Здатність макроміцетів до пригнічення росту тест-штамів мікроорганізмів визначали на фрагментах плодових тіл, вегетативному міцелії, водних та спиртових екстрактах плодових тіл.

Субстратом для вирощування грибів слугувала подрібнена та термічно оброблена солома пшениці. Як інокулюм використовували міцелій, який вирощували без біододатків на ячмінному зерні. Плодові тіла вирощували за умов природної вентиляції при температурі 15–18 °С, освітлення – 8 годин лампами денного світла з розрахунку 5 Вт/м². Вологість повітря складала 85–90% і досягалася шляхом поливу та зрошення туманом [2].

За допомогою стерильного скальпеля вирізали фрагмент тканини гриба та розміщували на поверхні м'ясо-пептонного агару, попередньо засіяного газонном тест-штаму. Для отримання газону добові культури тест-штамів, вирощені на скошеному м'ясо-пептонному агарі, змивали стерильним фізіологічним розчином та доводили концентрацію мікробних клітин до 10⁹ у мл за оптичним стандартом мутності. Отриману суспензію клітин об'ємом 1 мл наносили на поверхню м'ясо-пептонного агару та розтирали шпателем Дригальського [15].

Посіви інкубували при 30 °С протягом 24 та 48 год.

Антагоністичну активність оцінювали, вимірюючи розміри зон затримки росту тест-штамів навколо фрагментів плодових тіл.

Антагоністичну активність вегетативного міцелію визначали методом радіальних штрихів. Для цього гриби вирощували на поверхні скошеного сусло-агару в пробірках при температурі 25 °С протягом 4–5 діб до повного заростання субстрату міцелієм [8]. Далі за допомогою інокуляційної петлі вирізали шматочок міцелію гриба діаметром 25 мм та розміщували на поверхні м'ясо-пептонного агару, попередньо засіяного газонном тест-штаму мікроорганізму аналогічно попередній методиці. Після інкубації протягом 24 год. при 30 °С вимірювали розміри зон затримки росту тест-штамів навколо фрагментів міцелію.

Активність екстрактів плодових тіл визначали методом лунок, вносячи в кожну лунку водний або спиртовий екстракт в об'ємі 100 мкл. Інокуляцію м'ясо-пептонного агару тест-штамами здійснювали аналогічно попередній методиці. Для отримання водних екстрактів подрібнені плодові тіла грибів заливали гарячою водою у співвідношенні 1:5 та нагрівали у ємності з киплячою водою протягом 90 хв, охолоджували та фільтрували через стерильні паперові фільтри.

Для отримання спиртових екстрактів 10 г подрібнених плодових тіл грибів заливали 400 мл 40% етилового спирту і настоювали протягом семи днів. Для визначення впливу спирту на ріст тест-штамів у контрольну лунку вносили 100 мкл 40% етилового спирту [5]. Посіви інкубували при 37 °С протягом 24 год. Вплив екстрактів оцінювали, вимірюючи діаметр зони затримки росту навколо лунки.

Результати та їх обговорення

У проведенному нами дослідженні найбільшу чутливість до метаболітів плодового тіла *L. edodes* виявлено у *B. subtilis* та *S. aureus*. Розміри зони затримки росту для цих мікроорганізмів через 24 год перевищували 20 мм (табл. 1). Усі інші мікроорганізми виявилися нечутливими до метаболітів даного гриба.

При дослідженні впливу *G. lucidum* усі бактеріальні культури виявилися нечутливими до метаболітів гриба. Лише на газоні *C. albicans* зареєстровано наявність зони затримки росту діаметром 12 ± 2 мм.

Фрагменти плодових тіл *P. ostreatus* також не викликали пригнічувального ефекту на ріст тест-мікроорганізмів, за винятком культури *E. coli*, однак діаметр зони затримки її росту не перевищував 7 мм.

Навколо тканин *H. erinaceus* та *F. velutipes* також не спостерігали інгібування росту тест-штамів (табл. 1).

Таблиця 1

**Діаметри зон затримки росту тест-штамів навколо
фрагментів плодових тіл грибів, мм**

Table 1

**The diameters of growth inhibition zones of the test-strains around
the fragments of fruiting bodies of fungi, mm**

Тест-мікроорганізм	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Hericium erinaceus</i>	<i>Lentinus edodes</i>	<i>Flammulina velutipes</i>	<i>Ganoderma lucidum</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	25 ± 2	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	22 ± 3	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	7 ± 1	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	12 ± 2

Примітка: «-» – зона затримки росту відсутня.

Note: «-» no zone of growth inhibition

Наступним етапом дослідження було визначення антагоністичної активності макроміцетів щодо тест-штамів на стадії міцелію. Для цього експерименту



відібрали гриби, для яких було показано пригнічення росту тест-штамів фрагментами плодових тіл, а саме, *P. ostreatus*, *L. edodes* та *G. lucidum*.

При вивченні антагоністичної активності *P. ostreatus* найбільшою чутливістю до метаболітів гриба характеризувалися *P. aeruginosa* та *M. luteus* (розмір зони затримки росту $9,5 \pm 0,2$ та $9 \pm 0,4$ мм відповідно) (табл. 2). Значну чутливість також проявили *P. vulgaris* та *E. faecalis* ($7,5 \pm 0,5$ мм та $6,5 \pm 0,1$ мм відповідно). Затримка росту *C. albicans* та *B. subtilis* була приблизно однаковою ($5,5 \pm 0,3$ мм і $5 \pm 0,1$ мм відповідно). Найменшого впливу зазнавали культури *S. aureus* та *E. coli*.

Мицелій *L. edodes* спричиняв найзначніше пригнічення росту *P. vulgaris* та *C. albicans*, для яких розмір зони затримки росту складав $9 \pm 0,4$ та $9 \pm 0,6$ мм відповідно (табл. 2). Високу чутливість проявили також *B. subtilis* ($8 \pm 0,5$ мм), *E. faecalis* ($7 \pm 0,2$ мм), *M. luteus* ($6 \pm 0,3$) та *P. aeruginosa* ($6 \pm 0,4$ мм), та помірну – *S. aureus* (затримка росту по штриху $4 \pm 0,2$ мм). Ріст культури *E. coli*, як і в попередньому випадку, не зазнавав змін.

При сумісному культивуванні *G. lucidum* з тест-штамами мікроорганізмів найбільшу чутливість до метаболітів гриба проявляв *P. vulgaris*. Розмір зони затримки росту по штриху складав $7 \pm 0,3$ мм через 24 год (табл. 2). Найменш чутливими до метаболітів гриба виявилися *E. faecalis* та *S. aureus*. Культури *P. aeruginosa*, *M. luteus*, *B. subtilis* і *C. albicans* проявляли середню чутливість. Клітини *E. coli* були нечутливими до метаболітів гриба.

Таблиця 2

Розміри зон затримки росту тест-штамів мікроорганізмів по штриху при сумісному культивуванні з макроміцетами, мм

Table 2

The sizes of growth inhibition zones of the test-strains of microorganisms under co-cultivation with macromycetes, mm

Тест-мікроорганізм	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Lentinus edodes</i>	<i>Ganoderma lucidum</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	$5 \pm 0,3$	$8 \pm 0,5$	$4 \pm 0,1$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$3 \pm 0,2$	$4 \pm 0,2$	$2 \pm 0,1$
<i>Micrococcus luteus</i>	$9 \pm 0,4$	$6 \pm 0,3$	$5 \pm 0,2$
<i>Escherichia coli</i>	$3 \pm 0,2$	0	0
<i>Proteus vulgaris</i>	$7,5 \pm 0,5$	$9 \pm 0,4$	$7 \pm 0,3$
<i>Enterococcus faecalis</i>	$6,5 \pm 0,1$	$7 \pm 0,2$	$3 \pm 0,2$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$9,5 \pm 0,2$	$6 \pm 0,4$	$6 \pm 0,2$
<i>Candida albicans</i>	$5,5 \pm 0,1$	$9 \pm 0,6$	$4 \pm 0,1$



Оскільки найбільшу активність у попередньому експерименті показали *P. ostreatus* та *L. edodes*, в подальшому здійснювали визначення активності водних та спиртових екстрактів плодових тіл даних грибів.

При вивченні впливу водних екстрактів *P. ostreatus* було встановлено, що найбільш чутливою до метаболітів даного гриба є культура *E. coli*, діаметр зон затримки росту для якої складав 10 ± 1 мм. Усі інші тест-штами не проявляли чутливості до метаболітів гриба (рис. 1).

Водні екстракти гриба *L. edodes* найбільше пригнічували ріст *M. luteus* та *E. faecalis* (діаметри зон затримки росту 22 ± 3 та 18 ± 2 мм, відповідно). Досить значний антибактеріальний ефект спостерігали і для культур *B. subtilis* та *S. aureus* ($14,5 \pm 1$ мм та 12 ± 1 мм, відповідно). Несуттєву затримку росту спостерігали для *P. aeruginosa*.

За даними літератури відомо, що водні екстракти з активних компонентів головним чином містять β -глюкан та водорозчинний поліцукрид – лентинан [10, 13].

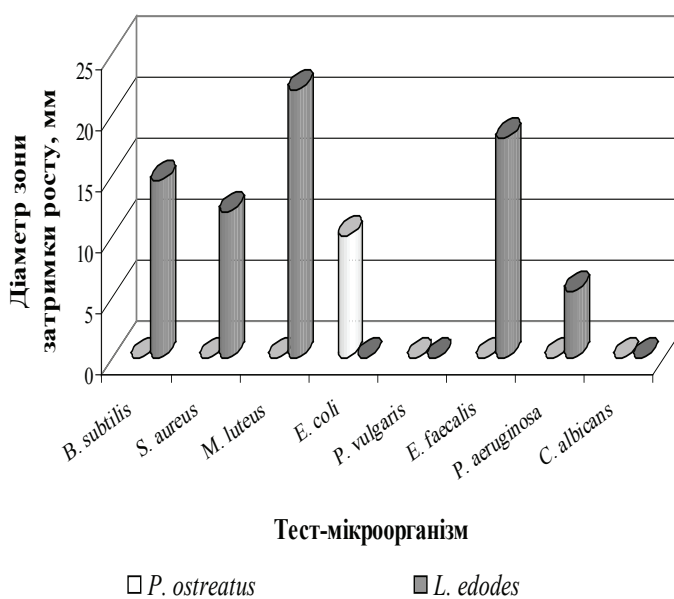


Рис. 1. Вплив водних екстрактів плодових тіл грибів на ріст тест-мікроорганізмів

Fig. 1. The effect of aqueous extracts of the fruiting bodies of fungi on the growth of test microorganisms

Екстракти плодових тіл *P. ostreatus*, отримані за допомогою етанолу не спричиняли жодного впливу на ріст тест-мікроорганізмів (рис. 2). Екстракти *L. edodes* значно пригнічували ріст *M. luteus* (діаметр зони затримки росту 21 ± 2 мм). Також спостерігали затримку росту *B. subtilis* (12 ± 1 мм) та *S. aureus* ($7 \pm 0,4$). Решта тест-штамів росла без змін.

Таким чином, встановлено, що як водні, так і спиртові екстракти *L. edodes* містять метаболіти, здатні пригнічувати ріст деяких умовно-патогенних мікроорганізмів. Водні екстракти проявили більш високу активність.

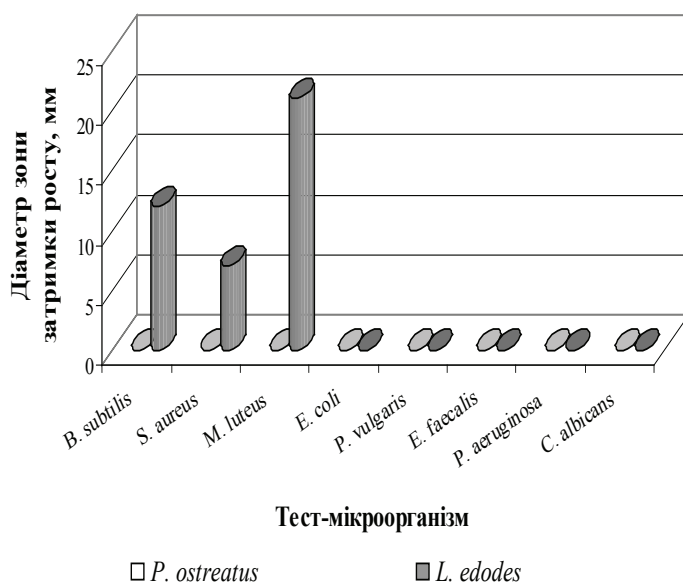


Рис. 2. Вплив спиртових екстрактів плодових тіл грибів на ріст тест-мікроорганізмів

Fig. 2. The effect of ethanol extracts of fruiting bodies of fungi on the growth of test microorganisms

Водний екстракт *P. ostreatus* був активним лише щодо *E. coli*, в свою чергу інші мікроорганізми не зазнавали впливу метаболітів цього гриба. В цілому активність водних екстрактів була значно вищою, ніж спиртових.

Порівняння активності метаболітів плодових тіл, міцелію та екстрактів макроміцетів щодо умовно-патогенних мікроорганізмів показало, що загалом найбільш значне пригнічення росту спостерігається при дії водних екстрактів (табл. 3).

Однак у випадку *S. aureus* фрагменти плодових тіл *L. edodes* викликали більш значне пригнічення росту, ніж екстракт. Вірогідно, при гарячій екстракції метаболітів частина термолабільних сполук може інактивуватися, що призводить до зміни ефекту. Відомо, що деякі глюкани грибів, які мають високу біологічну активність, асоційовані з протеїновим компонентом [7], що може денатуруватися при високих температурах. Крім того, глюкани різної будови дуже різняться за ступенем розчинності у воді та органічних розчинниках.

Тим не менш, водні екстракти були у всіх випадках більш активними, ніж спиртові, що свідчить про відмінності у спектрі метаболітів, які екстрагуються різними способами.

Вода, що є полярним розчинником має здатність розчиняти солі алкалоїдів, сапоніни, вітаміни С, К, Р, РР, органічні кислоти, солі, цукри та ін. У воді не розчиняються неполярні речовини – основи алкалоїдів, воски, смоли, жири, масла, аглікони сапонінів, флавоноїдів. Малополярні розчинники, до яких відноситься етиловий спирт розчиняють солі алкалоїдів, глікозиди, флавоноїди, кумарини, каротиноїди, вітаміни групи В, Р, РР, ефірні масла, пігменти, хлорофіл та ін., але не розчиняють білки, пектини, цукри, воски, таніни [8].

Таблиця 3

Активність метаболітів грибів щодо умовно-патогенних мікроорганізмів

Table 3

The activity of fungal metabolites towards opportunistic microorganisms

Тест-мікроорганізм	<i>Pleurotus ostreatus</i>				<i>Lentinus edodes</i>			
	П	М	В	С	П	М	В	С
<i>B. subtilis</i>	-	5±0,3	-	-	25±2	8±0,5	14,5±1	12±1
<i>S. aureus</i>	-	3±0,2	-	-	22±3	4±0,2	12±1	7±0,4
<i>M. luteus</i>	-	9±0,4	-	-	-	6±0,3	22±3	21±2
<i>E. coli</i>	7±1	3±0,2	10±1	-	-	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	-	7,5±0,5	-	-	-	9±0,4	-	-
<i>E. faecalis</i>	-	6,5±0,1	-	-	-	7±0,2	18±2	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	9,5±0,2	-	-	-	6±0,4	6±0,3	-
<i>C. albicans</i>	-	5,5±0,1	-	-	-	9±0,6	-	-

Примітка: П – плодове тіло, М – міцелій, В – водний екстракт, С – спиртовий екстракт, «-» – відсутня зона затримки росту.

Note: П – fruiting body, М – mycelium, В – water extract, С – ethanol extract, «-» – no zone of growth inhibition.

Крім того, у більшості випадків спостерігали пригнічення росту тест-штамів міцелієм, що росте, в той час, як в інших варіантах досліду такого ефекту не виявлено. Отже, здатність макроміцетів пригнічувати ріст умовно-патогенних мікроорганізмів залежить також від стадії росту гриба. Дійсно, деякими авторами [4, 14] вказується на те, що, незважаючи на традиційне використання плодових тіл грибів, зокрема *G. lucidum*, як джерела активних метаболітів, діючі речовини можуть бути отримані також з вегетативного міцелію. Це дозволяє не тільки розширити спектр отримуваних метаболітів, але й інтенсифікувати процес їх синтезу.



О.Ю. Зинченко, С.Л. Мирось

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одеса, 65082, Украина,
e_mail: farmikr78@gmail.com, till2002@mail.ru

ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ БАЗИДОМИЦЕТОВ НА РОСТ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Реферат

Цель работы. Определение влияния базидиомицетов на рост условно-патогенных микроорганизмов. **Материалы и методы.** Методом диффузии в агар определяли антимикробную активность плодовых тел, их экстрактов и вегетативного мицелия пяти коммерческих штаммов лекарственных базидиомицетов *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst ONU F101, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. ONU F101, *Lentinus edodes* (Berk) Singer ONU F401, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer ONU F601, *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. ONU F601. В качестве тест-объектов использовали штаммы бактерий *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и дрожжеподобных грибов *Candida albicans* ATCC. **Результаты.** Наиболее широкий спектр активности утановлен у *L. edodes*. Показано, что в некоторых случаях антимикробные экзометаболиты синтезируются на стадии мицелия, но отсутствуют в тканях плодовых тел. Получение экстрактов из плодовых тел грибов в некоторых случаях приводит к снижению активности. **Выводы.** Несмотря на традиционное использование плодовых тел грибов как источника биологически активных соединений, спектр веществ с антимикробными свойствами может быть существенно расширен за счет использования грибов на разных стадиях их жизненного цикла, в частности, стадии вегетативного мицелия.

Ключевые слова: базидиомицеты, антибактериальная активность, условно-патогенные микроорганизмы.

O.Yu. Zinchenko, S.L. Miros

Odesa National Mechnykov University, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e_mail: farmikr78@gmail.com, till2002@mail.ru

THE INFLUENCE OF THE BASIDIOMYCETES METABOLITES ON THE OPPORTUNISTIC BACTERIA GROWTH

Summary

Aim. The detection of basidiomycete influence on the growth of opportunistic microorganisms. **Materials and methods.** Antimicrobial activity of fruiting bodies, their extracts and vegetative mycelium of five commercial strains of medicinal basidiomycetes *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst ONU F101, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. ONU F101, *Lentinus edodes* (Berk) Singer ONU F401, *Flammulina velutipes*



(Curtis) Singer ONU F601, *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. ONU F601 has been detected by agar diffusion method. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Candida albicans* ATCC were used as the test-objects. **Results.** The widest activity spectrum has been detected for *L. edodes*. It has been shown that in some cases antimicrobial exometabolites are secreted at the mycelium stage but not the fruiting body stage. Obtaining of the extracts from the fruiting bodies of fungi may in some cases lead to reduced activity. **Conclusions.** Despite the traditional use of fruiting bodies of fungi as a source of biologically active compounds the range of substances with antimicrobial properties can be significantly extended by the use of fungi in various stages of their life cycle, in particular during vegetative mycelium stage.

Key words: basidiomycetes, antibacterial activity, opportunistic microorganisms.

Список використаної літератури

1. Бухман В.М., Исакова Е.Б., Антимонова А.В., Белицкий И.В., Либензон А.В., Краснопольская Л.М. Изучение противоопухолевых свойств мицелия лекарственного гриба *Ganoderma lucidum* (Рейши) (Curt.: Fr) P. Karst. в опытах *in vivo* // Успехи медицинской микологии / Под ред. Ю. В. Сергеева. – М. : Национальная Академия Микологии, 2015. – 504 с.
2. Іваниця В.О., Бобрешова Н.С., Дуденко Ю. Ю., Васильєва Т.В., Мірсь С.Л., Ужєвська С.П., Гудзенко Т.В., Драгуновська О.І. Поживний субстрат для отримання посівного міцелію лікувального гриба *Ganoderma lucidum* (Curt: Fr.) P. Karst. // Патент України на корисну модель № 78917 опбул. 10.
3. Мірсь С.Л., Зінченко О.Ю., Білоконь С.В., Алексєєва Т.Г. Вплив біологічно активних речовин лікарських базидіоміцетів на про- та еукаріотичні організми // 70 наукова конференція професорсько-викладацького складу і наукових працівників. – Одеса: «Одеський національний університет» – 2015. – С. 29.
4. Сафронова М.А., Титова Л.В. Феликсова Л.В. Антибиотическая активность грибов // Детские инфекции. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 60–62.
5. Турецкова В.Ф., Талыкова Н.М. Экстракционные препараты из сырья растительного и животного происхождения: учебное пособие для студентов фармацевтического факультета. – Барнаул: ГОУ ВПО АГМУ, 2007. – 268 с.
6. Филиппова И.А. Лекарство нового тысячелетия. Грибы против рака. – Санкт-Петербург: Изд. «Диля», 2003. – 160 с.
7. Хмелев К. Ф., Афанасьев А. А. Биоразнообразие и экологические особенности базидиальных макромицетов. – Воронеж: Изд. ВГУ, 2000. – С. 122–125.
8. Шариков А.М. Исследования антибактериальной активности метаболитов некоторых высших грибов // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 6. – С. 128–129.



9. *Bisen P.S., Baghel R.K., Sanodiya B.S. et al. Lentinus edodes: A Macrofungus with Pharmacological Activities // Current Medicinal Chemistry. – 2010. – Vol. 17. – P. 2419–2430.*
10. *Bojana B. Isolation and quantification of triterpenoid acids from Ganoderma applanatum of Istrian Origin // Food technology biotechnology. – 2000. – V. 38. – № 1. – P. 11–18.*
11. *Chen D., Chen W. Determination of ganoderic acids in triterpenoid constituents of Ganoderma tsugae // Journal of food and drug analysis. – 2003. – Vol. 11. – № 3. – P. 195–201.*
12. *Choquer M., Dekkers K.A. The CTBI gene encoding a fungal polyketide synthase is required for cercosporin biosynthesis and fungal virulence of Cercospora nicotianae // Mol. Plant-Microbe Interact. – 2005. – V. 7. – P. 468–476.*
13. *Lai P.L., Naidu M., Sabaratnam V. et al. Neurotrophic properties of the Lion's mane medicinal mushroom, Hericium erinaceus (Higher Basidiomycetes) from Malaysia // Int J Med Mushrooms. – 2013. – Vol. 15(6). – P. 539–540.*
14. *Lyndal M.R. Australian Ganoderma: identification growth and antibacterial properties / Submitted in total fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Philosophy. – July 2004. – P. 2–12, 28–36, 137–177.*
15. *NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Ninth informational supplement. – M100-S9, 1999. – V.19, N. 1. – 38 p.*
16. *Wasser S.P., Weis A.L. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review) // International Journal of Medicinal Mushrooms. – Vol. 1. – P. 31–62.*

References

1. *Bukhman VM, Isakova EB, Antimonova AV, Belitsky IV, Libenzon AV, Krasnopolskaya LM. The study of antitumor properties of the mycelium of medicinal fungus Ganoderma lucidum (Reishi) (Curt.: Fr) P. Karst. in vivo. The progress of medical mycology. Ed. by Yu. V. Sergeev. National Academy of Mycology, Moscow, 2015. 504 p.*
2. *The nutrient substrate for seed treatment mycelium fungus Ganoderma lucidum (Surt: Fr.) P. Karst. Ivanytsia V., Bobreshova N., Dudenko Yu., Vasilieva T, Miros S, Uzhevska S, Gudzenko T, Dragunovsky A. – Ukraine patent for utility model number 78917 published 04/10/2013, Byul. N 7.*
3. *Miros SL, Zinchenko OYu, Biokon SV, Alekseeva TG. The influence of biologically active substances of medicinal basidiomycetes on pro- and eukaryotic organisms. In: Materials of 70th scientific conference of professors and researchers. Ed. Odessa: Odessa Mechnikov National University, 2015:29.*
4. *Safronova MA, Titova LV, Feliksova LV. Antibiotic activity of fungi. Children infections. 2007;(6):60-62.*
5. *Turetskova VF, Talykova NM. Extraction preparations from plant and animal raw materials. GOU VPO AGMU, Barnaul, 2007. 268 p.*



6. *Philippova IA*. The medicine of the new millennium. Fungi against cancer. Dilya, Saint-Petersburg, 2003. 160 p.
7. *Khmelev KF, Afanasiev AA*. Biodiversity and ecological features of basidial macromycetes. VGU, Voronezh, 2000:122-125.
8. *Sharikov AM*. The study of antibacterial activity of the metabolites of some higher fungi. Modern scientific technologies. 2010;(6):128-129.
9. *Bisen PS, Baghel RK, Sanodiya BS. et al*. *Lentinus edodes*: A Macrofungus with Pharmacological Activities. Current Medicinal Chemistry. 2010;(17):2419-2430.
10. *Bojana B*. Isolation and quantification of triterpenoid acids from *Ganoderma applanatum* of Istrian Origin. Food technology biotechnology. 2000;(38):11–18.
11. *Chen D, Chen W*. Determination of ganoderic acids in triterpenoid constituents of *Ganoderma tsugae*. Journal of food and drug analysis. 2003;(11):195–201.
12. *Choquer M, Dekkers KA*. The *CTB1* gene encoding a fungal polyketide synthase is required for cercosporin biosynthesis and fungal virulence of *Cercospora nicotianae*. Mol. Plant-Microbe Interact. 2005;(7):468-476.
13. *Lai PL., Naidu M, Sabaratnam V. et al*. Neurotrophic properties of the Lion's mane medicinal mushroom, *Hericium erinaceus* (Higher Basidiomycetes) from Malaysia. Int J Med Mushrooms. 2013;(15(6)):539-540.
14. *Lyndal MR*. Australian *Ganoderma*: identification growth and antibacterial properties. Submitted in total fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Philosophy, 2009:2-12, 28-36, 137-177.
15. *NCCLS*. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Ninth informational supplement. M100-S9, 1999;(19(1)). 38 p.
16. *Wasser SP, Weis AL*. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review). International Journal of Medicinal Mushrooms. 1999;(1):31-62.

Стаття надійшла до редакції 23.08.2016 р.



Шановні автори!

До правил оформлення рукописів статей внесено зміни, які будуть діяти з 2016 року. До розгляду редколегія буде приймати рукописи оформлені належним чином за вимогами журналу.

Внесення змін до оформлення списку використаних джерел продиктовано вимогами міжнародних наукометричних баз, для ідентифікації авторів, визначення індекса цитування авторів.

«ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ»

Науковий журнал «Мікробіологія і біотехнологія» запрошує Вас до співпраці з питань висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології і біотехнології.

Програмні цілі видання: висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології та біотехнології, об'єктами яких є прокаріотні (бактерії, архебактерії), еукаріотні (мікроскопічні гриби, мікроскопічні водорості, найпростіші) мікроорганізми та віруси.

Тематична спрямованість: мікробіологія, вірусологія, імунологія, молекулярна біотехнологія, створення та селекція нових штамів мікроорганізмів, мікробні препарати, антимікробні засоби, біосенсори, діагностикуми, мікробні технології в сільському господарстві, мікробні технології у харчовій промисловості; захист та оздоровлення навколишнього середовища; отримання енергоносіїв та нових матеріалів тощо.

Мова (мови) видання: українська, російська, англійська.

Рубрики журналу: «Оглядів та теоретичні статті», «Експериментальні праці», «Дискусії», «Короткі повідомлення», «Хроніка наукового життя», «Сторінки історії», «Ювілеї і дати», «Рецензії», «Книжкова полиця».

До статті додається рекомендація установ, організацій, у яких виконувалася робота, за підписом керівника та письмова згода керівників установ, організацій, де працюють автори.

Вимоги до оформлення статей, які подаються до редакції журналу:

Стаття має відповідати тематичному спрямуванню журналу і, відповідно до п. 3 Постанови ВАК України від 15.01.2003 р. №7-5/1, включати такі структурні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано вирішення даної проблеми і на які опирається автор; виокремлення раніше не вирішених частин загальної проблеми, котрим присвячується стаття; формулювання мети статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням наукових результатів; висновки з даного дослідження і перспективи подальших пошуків у даному напрямі.

До друку приймаються рукописи (2 примірники) обсягом не більше 15 сторінок (з урахуванням рисунків, таблиць і підписів до них, анотації, реферату,



списку літератури), огляди – до 30 стор., рецензії – до 3 стор., короткі повідомлення – до 2 стор. Відхилені рукописи не повертаються.

До рукопису додається електронний варіант рукопису шрифт Times New Roman, кегль 14, інтервал автоматичний, не більше 30 рядків на сторінці, поля по 2 см).

При написанні статті необхідно дотримуватися такого плану:

- індекс УДК у лівому верхньому кутку першого аркуша;
- Реферат мовою оригіналу статті:
 - назва статті великими літерами;
 - прізвища та ініціали автора (авторів),
 - місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail).
 - Прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
 - реферат із зазначенням новизни дослідження (200– 250 слів);
 - ключові слова (не більше п'яти);
- Реферат англійською мовою:
 - назва статті великими літерами;
 - прізвища та ініціали автора (авторів), транслітерація
 - місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail).
 - Прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
 - реферат із зазначенням новизни дослідження (200 – 250 слів);
 - ключові слова (не більше п'яти);
- Повний текст статті мовою оригіналу.

Текст статті має включати такі складові:

вступ; матеріали і методи; результати та їх обговорення; висновки; список використаної літератури мовою оригіналу цитованої статті, список використаної літератури (Referens) англійською мовою (за вимоги міжнародних наукометричних баз).

До кожного примірника статті додаються реферати українською, російською та англійською мовами.

Враховуючи, що реферат відображає основний зміст статті і використовується в інформаційних, в тому числі автоматизованих системах для пошуку документів та інформації, необхідно дотримуватися певних вимог при його написанні:

- реферат має бути інформативним (не містити зайвих слів);
- структурованим, тобто містити розділи: мета; методи, що використані в роботі та/або методологія проведення досліджень; результати та сфера їх застосування; висновки.
- англійська версія реферату має бути написана якісною англійською мовою (за потреби доцільно користуватися послугами кваліфікованих



спеціалістів-лінгвістів з подальшим науковим редагуванням тексту автором), з використанням термінології, яка використовується в англійськомовних медикобіологічних журналах, уникати використання термінів, які є прямою українською/російською калькою;

– компактним (200-250 слів).

• ключові слова (не більше 5-ти) розміщуються з абзацу після реферату.

У кінці тексту статті вказати прізвища, імена та по-батькові усіх авторів, поштову адресу, телефон, факс, e-mail (для кореспонденції).

Стаття має бути підписана автором (усіма авторами) з зазначенням дати на останній сторінці.

Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, особливо за правильну наукову термінологію (її слід звіряти з фаховими термінологічними словниками).

Латинські біологічні назви видів, родів подаються курсивом латиницею.

Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то аббревіатури за першого вживання обумовлюють у дужках. Наприклад: полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Посилання на літературу подаються у тексті статті, цифрами у квадратних дужках, згідно з порядковим номером у списку літератури.

• Розділ «Матеріали і методи»:

– Методи дослідження та схеми експерименту мають бути представлені так, щоб їх можна було відтворити.

– Для використаних реактивів та матеріалів вказати назву компанії та країни-виробника.

– Одиниці вимірювання вказати в системі СІ.

– Концентрацію розчинів представляти в М, мМ, мкМ (молярна концентрація).

– Молекулярну масу (Мм) – Да (дальтони) або кДа.

– При використанні ферментів навести їх номенклатурну систематичну назву та шифр.

– Активність ферментів виражають в мкмолях використаного субстрату або утвореного продукту за 1 хв на 1 мг протеїну або використати стандартну одиницю активності U (IU) і катал (скорочено кат), питома активність ензиму виражається в ммоль/хв на 1 мг протеїну або в од.акт/мг, кат/кг.

– Вказати умови проведення ферментативної реакції (температура, рН, концентрація субстрату).

– Вказати використані методи статистичного аналізу, програму статистики.

Таблиці мають бути компактними, мати порядковий номер; графи, колонки мають бути точно визначеними логічно і графічно. Матеріал таблиць (як і рисунків) має бути зрозумілим і не дублювати текст статті. Цифровий матеріал таблиць слід опрацювати статистично.



Рисунки виконуються у вигляді чітких креслень (за допомогою комп'ютерного графічного редактора у форматі Word, TIF, JPG). Осі координат на графіках мають бути позначені. Рисунки розміщуються у тексті статті.

Підписи, а також пояснення, примітки до таблиць та рисунків подаються мовою оригіналу та англійською мовою.

Розділ «Результати досліджень та їх обговорення» має бути написаний коротко: необхідно чітко викласти виявлені ефекти, показати причинно-результативні зв'язки між ними, порівняти отриману інформацію з даними літератури, дати відповідь на питання, поставлені у вступі.

- **Список використаної літератури**

1. Список використаної літератури в оригіналі цитованої статті

складається за алфавітно-хронологічним порядком (спочатку кирилиця, потім латиниця). Якщо перший автор у декількох працях один і той самий, то праці розміщуються у хронологічному порядку. Список посилань треба пронумерувати, а у тексті посилатися на відповідний номер джерела літератури (у квадратних дужках).

У посиланні пишуть прізвища усіх авторів. В експериментальних працях має бути не більше 15 посилань літературних джерел.

Патентні документи розміщуються у кінці списку посилань.

2. Список використаної літератури англійською мовою (**Referens**), за вимогами міжнародних наукометричних баз.

Стиль шрифту – NLM (National Library of Medicine).

Прізвища, імена та по-батькові авторів, назву цитованого видання (журнал, монографія, збірник тощо) наводять послуговуючись безкоштовними сайтами (<http://www.easybib.com/>, <http://www.bibme.org/>, <http://www.sourceaid.com/>, <https://www.citethisforme.com/>), що дозволяють здійснити переклад з використанням однієї з міжнародних систем транслітерації.

Назви статей наводять англійською мовою.

Порядок подання посилань Referens (список 2) має повністю співпадати зі списком використаної літератури (список 1).

Зразки посилань літератури

Вимоги до оформлення бібліографічних посилань мовою оригіналу (в тому числі цитовані англомовні джерела)

На книги

Векірчик К.М. Мікробіологія з основами вірусології. – К.: Либідь, 2001. – 312 с.

Патика В.П., Тихонович І.А. Мікроорганізми і альтернативне землеробство. – К.: Урожай, 1993. – 176 с.

Промышленная микробиология / Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Высш. шк., 1989. – 688 с.

Методы общей бактериологии: В 3 т. / Под ред. Ф. Герхардта. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.; Т. 2. – 470 с.; – Т. 3. – 263 с.



Шлегель Г. Общая микробиология. – М.: Мир, 1987. – 566 с.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. – 9th ed. – Baltimore; London, 1986. – Vol. 2. – 1599 p.

Rogers H., Perkins H., Ward I. Microbial cell walls and membranes. – London; New York: Fcfd. Press, 1980. – 364 p.

На журнальні статті

Подгорский В.С. Систематическое положение, экологические аспекты и физиолого-биохимические особенности микроорганизмов, имеющих промышленное значение // *Мікробіол. журн.* – 1998. – 60, № 5. – С. 27-42.

Андреюк Е.И., Козлова И.А., Рожанская А.М. Микробиологическая коррозия строительных материалов // *Биоповреждения в строительстве.* – М.: Стройиздат, 1984. – С. 209 – 221.

Глоба Л.І., Подорван Н.І. Біотехнологія очищення забрудненої природної води // *Вісник ОНУ.* – 2001. – т. 6, в. 4. – С. 65 – 67.

Eaton R.W., Ribbons D.V. Utilization of phtalate esters by micrococci // *Arch. Microbiol.* – 1982. – **132**, № 2. – P. 185 – 188.

На тези доповідей

Мацелюх Б.П. Розробка біотехнології одержання ландоміцину Е // Міжнародна наук. конф. „Мікробні біотехнології» (Одеса, вересень, 2006 р.): тез. доп. – О.: „Астропринт», 2006. – С. 17.

На депоновані наукові роботи

Лопатина Н.В., Терентьев А.Н., Наталич Л.А., Янгулов Ш.У. Оптимизация питательной среды для культивирования вакцинного штамма чумного микроба с применением метода математического планирования эксперимента / Редкол. «Микробиол. журн.» – К., 1991. – 7 с. – Деп. в ВИНТИ 03.01.92, № 1-В92.

На стандарти

ГОСТ 20264.4-89. Препараты ферментные. Методы определения амилалитической активности. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 17 с.

На автореферати дисертацій

Онищенко О.М. Таксономія і антибіотична активність *Alteromonas*-подібних бактерій Чорного моря: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2003. – 21 с.

Зразки посилань літератури в романській абетці.

References

Стиль шрифту для англomовного варіанту списку джерел – NLM (National Library of Medicine), зразок:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49-53.



Статті в журналах:

DeLong EF, Karl DM. Genomic perspectives in microbial oceanography. *Nature*. 2015;(437):336–342.

Klochkov VK, Kavok NS, Malyukin YuV. The effect of specific interaction of nanocrystals GdYVO₄:Eu³⁺ with cell nuclei. *Dop Nats Akad Nauk Ukr*. 2010;(10):81–86.

Книги:

Best RJ. Tomato spotted wilt virus. In: *Advances Virus Res* Eds Smith KM, Lauffer MA. Academic Press, New York, 1968:65–146.

Speissel B, Beahrs OH, Hermanek P, Hutter RVP, Scheibe O. TNM atlas: illustrated guide to the TNM. pTNM classification of malignant tumours. Berlin New York: Springer-Verlag. 1989. 12.

Sastry SK. Seed-borne plant virus diseases. India: Springer, 2013. 327 p.

Матеріали з'їздів, конференцій:

Dikova B, Djourmanski A, Lambev H. Establishment of economically important viruses on *Echinacea purpurea* and their influence on the yield. In: *Proceedings of the conference «Innovative aspects to coneflower study»*. Ed. Pospelov S. Poltava: Dyvosvit, 2013:36–45.

Yin R, Francis F, Bragard C, Liu Y, Chen J. Study on transmission efficiency of CMV transmitted by *Myzus persicae* from different places. In: *Proceedings of 9th International Symposium on Aphids*, Beijing, China. 2013:49–50.

Диссертационные работы:

Koreneva AA. Biological properties of medicinal plants viruses. PhD thesis, Taras Shevchenko National University of Kyiv, 2009: 22.

Сборники:

Dunich A, Mishchenko L. Heavy metals content in virus infected purple coneflower plants. *Bull T Shevchenko Nat Univ Kyiv Ser Biol*. 2013; 65(3):22–26.

Rose PI. Gelatin. In: *Encyclopedia of polymer science and engineering* Eds: Mark HF, Bikales NM, Overberger CG, Menges G, Kroschwitz JI New York: Wiley; 1987;7, 2nd ed. 488–513.

Shrago MI, Guchok MM, Kalugin YuV. Some principles of direct synthesis of cryoprotectants. In: *Current Problems of Cryobiology*. Eds. Pushkar NS and Belous AM. Kiev: Naukova Dumka, 1981:157–201.

Патенти, заявки:

A.s. 4411066/14 SSSR, MBI G 01 N 33/50. A method of determining bile acids in biological fluids. Veselskiy SP, Lyashchenko PS, Лукьяненко IA. (SSSR). – N 1624322; zayavl. 25.01.1988; opubl. 30.01.1991, Byul. N 4.

Статті з електронних журналів:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49-53, available at: www.ascusc.org/jcmc/vol5/issue2/

За наявності в статті DOI (Digital Object Identifier), яка є міжнародним ISO стандартом (<http://www.doi.org/>), в списку літератури бажано вказати її ідентифікатор, наприклад:



Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49-53. Cited 2 times. doi: 10.1134/S1023193508080077

Датою надходження статті вважають день, коли до редколегії надійшов перший варіант тексту статті.

Після одержання коректури статті автор повинен виправити лише помилки і терміново відіслати статтю на адресу редколегії або повідомити про свої правки по телефону чи електронною поштою.

У разі затримки редакція, додержуючись графіка, залишає за собою право здати коректуру до друкарні (у виробництво) без авторських правок.

Підпис автора у кінці статті означає, що автор передає права на видання своєї статті редакції. Автор гарантує, що стаття оригінальна; ні стаття, ні рисунки до неї не були опубліковані в інших виданнях.



Увага: передрук, усі види копіювання та відтворення матеріалів,
що надруковані у журналі «Мікробіологія і біотехнологія»,
можливі лише за умови посилання на джерело інформації
та з дозволу редакційної колегії.

Усі права захищені згідно законодавства України.

Верстка В. Г. Вітвицька

Підписано до друку 23.09.2016 р. Формат 70x100/16.

Ум.-друк. арк. 7,9. Тираж 100 пр.

Зам. № 1469.

Видавець та виготовлювач

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: +38 (048) 723 28 39