

**Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного
Національної академії наук України**

Г.О. Іутинська

ҐРУНТОВА МІКРОБІОЛОГІЯ

Навчальний посібник

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



**Київ
2006**

УДК 631.461(075.8)

ББК 40.3я73

І-94

*Рекомендовано Міністерством освіти і науки України
як навчальний посібник для студентів біологічних спеціальностей
вищих навчальних закладів
(лист №14/18.2-1228 від 31.05.2005 р.).*

Рецензенти:

Харченко С.М., заслужений діяч науки і техніки, доктор біологічних наук, професор кафедри мікробіології і біотехнології Національного аграрного університету;

Позур В.К., доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри загальної мікробіології та імунології Київського Національного університету імені Тараса Шевченка;

Ісаєнко В.М., доктор біологічних наук, професор, декан факультету екологічної безпеки Національного авіаційного університету.

Іутинська Г.О.

І-94 Ґрунтова мікробіологія: Навчальний посібник. – К.: Арістей, 2006.
– 284 с.

ISBN 966-8458-95-8

Викладені основні етапи розвитку ґрунтової мікробіології, розглянуто ґрунт як середовище існування мікроорганізмів, подана характеристика біорізноманіття, структури і функціонування мікробних угруповань у природних екосистемах та антропогенно змінених ґрунтах, розглянуті кінетика і моделювання мікробних процесів у ґрунті, участь мікроорганізмів у кругообігу речовин у природі, процесах утворення ґрунтів і формування їх родючості. Обговорюються питання біобезпеки, мікробіологічного моніторингу та охорони земель.

Для студентів вищих навчальних закладів, аспірантів та практичних працівників, що спеціалізуються у галузі біології, мікробіології, екології, ґрунтознавства, землеробства.

УДК 631.461(075.8)

ББК 40.3я73

ISBN 966-8458-95-8

© Г.О. Іутинська, 2006

© Арістей, 2006

Вступ.....	6
1. Предмет ґрунтової мікробіології, основні етапи її розвитку.	8
2. Ґрунт як середовище існування мікроорганізмів	21
2.1. Екологічні функції ґрунтів.	21
2.2. Тверда фаза ґрунту.....	23
2.3. Рідка фаза ґрунту.	24
2.4. Повітряна фаза ґрунту.....	27
2.5. Морфологія і класифікація ґрунтів.....	28
2.6. Роль мікроорганізмів у ґрунтоутворенні.	30
3. Вплив екологічних факторів на розвиток мікроорганізмів у ґрунті	33
3.1. Температура	33
3.2. Вологість.....	35
3.3. Солоність.....	37
3.4. Кислотність.....	37
3.5. Окисно-відновні умови.....	38
3.6. Ґрунтове повітря.....	39
3.7. Промениста енергія.....	43
4. Типи живлення ґрунтових мікроорганізмів.	45
4.1. Автотрофія.....	48
4.2. Гетеротрофія.....	51
5. Мікробні угруповання ґрунту	52
5.1. Основні поняття екології ґрунтових мікроорганізмів.....	52
5.2. Ієрархічні рівні організації мікробної системи ґрунту	53
5.3. Типи екосистем.....	56
5.4. Просторова структура мікробних угруповань.....	58
5.5. Таксономічна структура мікробних угруповань	62
5.6. Функціональна структура мікробних угруповань.....	72
5.7. Екологічні стратегії ґрунтових мікроорганізмів.....	77
5.8. Типи взаємовідносин між мікроорганізмами.	78
5.9. Мікробні сукцесії	80
6. Кінетика мікробних процесів у ґрунті.	82

7. Участь ґрунтових мікроорганізмів у кругообігу речовин у природі. Біогеохімічна діяльність мікроорганізмів.	91
7.1. Кругообіг вуглецю	94
7.2. Кругообіг азоту	102
7.2.1. Біологічна азотфіксація	102
7.2.2. Амоніфікація	128
7.2.3. Нітрифікація	130
7.2.4. Денітрифікація	135
7.3. Кругообіг сірки	137
7.4. Участь мікроорганізмів у трансформації сполук фосфору	152
7.5. Мікробна трансформація сполук заліза	156
8. Мікробна трансформація гумусу.	161
8.1. Загальні уявлення про органічну частину ґрунту	161
8.2. Джерела утворення гумусу	165
8.3. Синтез гумусових сполук	168
8.4. Деструкція гумусових сполук	174
8.5. Екологічне й агрономічне значення гумусу	177
8.6. Особливості трансформації гумусу в сучасних агроценозах	178
9. Взаємодія мікроорганізмів і рослин	185
9.1. Коренева зона рослин як специфічне місцеіснування ґрунтових мікроорганізмів	185
9.2. Мікориза	187
9.3. Аллопатичні взаємовідносини мікроорганізмів і рослин	190
10. Мікробні препарати на основі ґрунтових мікроорганізмів.	193
10.1. Бактеріальні добрива	193
10.2. Мікробні препарати для боротьби із збудниками хвороб і шкідниками рослин	199
10.3. Основи технології виробництва мікробних препаратів для рослинництва	202
10.4. Мікробні препарати на основі генетично модифікованих мікроорганізмів	203
10.5. Проблема біобезпеки	205
11. Роль мікроорганізмів у формуванні родючості ґрунтів за різних систем землеробства.	209

12. Антропогенний вплив на ґрунтові мікроорганізми	213
12.1. Вплив агротехнічних заходів на ґрунтову мікробіоту	213
12.1.1. Системи удобрення.....	213
12.1.2. Системи обробітку ґрунту.....	216
12.1.3. Регулятори росту рослин.....	219
12.1.4. Засоби хімічного захисту рослин від хвороб, шкідників і бур'янів	231
12.2. Техногенне забруднення ґрунтів.....	237
12.2.1. Забруднення іонами важких металів.....	238
12.2.2. Забруднення нафтою та продуктами її переробки.....	250
12.2.3. Забруднення органічними полімерними ксенобіотиками.....	255
12.3. Мутагенний вплив полютантів на ґрунтові мікроорганізми	258
13. Охорона ґрунтів.....	267
13.1. Мікробіологічний моніторинг ґрунтів.....	267
13.2. Антропогенні зміни ґрунтів як основного компоненту біосфери	276
Рекомендована література	280

ВСТУП

Ґрунт є незамінним природним самовідновлювальним ресурсом, який забезпечує життя на Землі, він є середовищем існування живих організмів, і в першу чергу, мікроорганізмів. Підраховано, що в різних біогеоценозах продукція мікробної біомаси перевищує продуктивність водоростей у 5 разів, птахів і ссавців – у 1500–7000 разів. Мікробне населення відіграє важливу роль в утворенні і еволюції ґрунтів, формуванні їх родючості, а також самоочищенні від органічних і хімічних забруднень.

Становлення та успіхи класичної ґрунтової мікробіології пов'язані з іменами С.М. Виноградського, В.Л. Омелянського, М.Г. Холодного, Є.М. Мішустіна, Л.Й. Рубенчіка. Історично дослідження ґрунтової мікробіології розвивалися від опису та інвентаризації мікроорганізмів окремих груп, вивчення їх фізіологічних властивостей. Далі з'являються роботи з основ системного підходу у дослідженні ґрунтової мікробіоти. Це надає можливості математичного моделювання окремих параметрів мікробних систем та прогнозування стану мікробних ценозів ґрунту в певних екологічних умовах.

Сучасний етап розвитку цієї науки характеризується використанням нових методів біохімічних і молекулярно-генетичних досліджень, а також математичного аналізу та інформаційних технологій. Тому постає необхідність оновлення і видання сучасної навчальної літератури з ґрунтової мікробіології.

Ґрунт є складним гетерогенним середовищем, в якому існують мікроорганізми. Тому перш за все необхідно знати екологічні функції ґрунтів, їх морфологію і генезис, а також вплив екологічних факторів на життєдіяльність мікробного населення. У навчальному посібнику відображений сучасний системний підхід до вивчення ґрунтової мікробіоти як відкритої, складної, самоврегульованої, ієрархічної системи, яка характеризується певною просторовою, таксономічною і функціональною структурою. Подані поняття про екологічні стратегії ґрунтових мікроорганізмів, типи взаємовідносин між ними. З екологічних позицій розглянуті мікробні сукцесії та кінетика мікробіологічних процесів у ґрунті. Висвітлені актуальні питання збереження мікробного різноманіття та методи його вивчення. Вони об'єднують класичні фізіолого-біохімічні характеристики виділених чистих культур, а також методи молекулярної екології, що не потребують виділення мікроорганізмів у чисті культури (рибосомна філогенетика, застосування функціональних генних зондів, FISH-аналіз).

Важлива екологічна функція ґрунтових мікроорганізмів полягає у забезпеченні і підтримці кругообігу речовин у природі. У посібнику висвітлена участь мікроорганізмів у кругообігу вуглецю й азоту, а також у трансформації сполук фосфору, сірки, заліза.

До найбільш важливих біологічних процесів, що впливають на родючість ґрунтів, слід віднести трансформацію органічних речовин і гумусу. Це зумовило необхідність подання характеристики процесів мікробного синтезу і деструкції гумусу, яка базується на вивченні його елементного складу, молекулярно-масових характеристик, функціональних груп.

Із позицій системного підходу розглядаються взаємовідносини мікроорганізмів і рослин, ризосферні й апелопатичні взаємодії, утворення мікоризи. Показана можливість керованого впливу на ці процеси шляхом використання екологічно безпечних бактеріальних добрив та мікробних препаратів для захисту рослин від хвороб і шкідників. Розглядаються питання біобезпеки, пов'язані із застосуванням мікробних препаратів на основі генетично модифікованих мікроорганізмів.

Інтенсифікація сільськогосподарського виробництва, а також розвиток промислових підприємств викликали зміни природних екосистем. На часі існує проблема оптимізації функціонування мікробних угруповань в антропогенно змінених ґрунтах. У посібнику подані відомості щодо впливу на ґрунтову мікробіоту агротехнічних заходів (добрив, систем обробітку ґрунту, застосування регуляторів росту рослин і пестицидів), а також обґрунтована необхідність переходу до екологічно безпечних агротехнологій вирощування сільськогосподарських культур.

За умов техногенного забруднення постає необхідність вивчення впливу поліутантів на ґрунтову мікробіоту, врахування можливого мутагенного впливу забруднень, а також прогнозування розвитку мікробіологічних процесів за допомогою методів математичного моделювання. Зважаючи на негативні наслідки антропогенного впливу, заключний розділ посібника присвячений мікробному моніторингу й охороні земель.

1. ПРЕДМЕТ ҐРУНТОВОЇ МІКРОБІОЛОГІЇ, ОСНОВНІ ЕТАПИ ЇЇ РОЗВИТКУ

Ґрунтова мікробіологія – наука, що вивчає закономірності розповсюдження, життєдіяльності, фізіологічні особливості мікроорганізмів у ґрунті, а також їх взаємозв'язки в угрупованнях та з ґрунтом і рослинами.

Мікроорганізми широко розповсюджені в різних ґрунтах: від полярних широт до пісків пустель та гірських порід; вони є найважливішою складовою ґрунтової біоти.

Ґрунтова мікробіологія почала розвиватися після становлення загальної мікробіології, основи якої були закладені мікроскопічними спостереженнями Антонія ван Левенгука, відкриттями анаеробіозу і бродіння Луї Пастером, дослідженнями Роберта Коха щодо ролі мікроорганізмів в інфекційному процесі. *Етап морфологічного опису* мікроорганізмів, який був характерний для загальної мікробіології, стосувався і ґрунтової мікробіології, коли вивченню підлягали нові, ще не досліджені мікроорганізми, виділені із ґрунтів різних типів.

Фундатором ґрунтової мікробіології як нової самостійної науки був С.М. Виноградський, у роботах якого не тільки були окреслені об'єкти досліджень (мікроорганізми ґрунту), але й розроблено принципи їх вивчення (досліджувати мікроорганізми у самому ґрунті або середовищах, близьких до нього). Роботи С.М. Виноградського поклали початок розвитку двох етапів ґрунтової мікробіології одночасно: *морфологічного опису* й *еколого-фізіологічних досліджень*.

**Сергій Миколайович
ВИНОГРАДСЬКИЙ**
(1856–1953 рр.)

С.М. Виноградський народився у м. Києві 1 вересня 1856 року в родині юриста. У 1873 році закінчив 2-у Київську гімназію і вступив на юридичний факультет Київського університету, проте невдовзі перевівся на природниче відділення фізико-математичного факультету. На третьому курсі залишив університет для занять музикою, вступивши до Петербурзької консерваторії. Але у 1877 році знову повернувся до навчання на дру-



гому курсі природничого відділення Петербурзького університету. Після його закінчення залишився працювати в університетській лабораторії фізіології рослин. У 1885–1888 рр. працював у ботанічній лабораторії Страсбурзького університету, вивчав морфологію і фізіологію залізо- і сіркобактерій. Наступні три роки стажувався у Цюриху, виконав цикл робіт із дослідження нітрифікації. Повернувся у Росію і працював завідувачем відділом загальної мікробіології Інституту експериментальної медицини (С. Петербург).

У 1892 р. йому було присуджено ступінь доктора ботаніки без захисту дисертації; у 1894 р. був обраний членом-кореспондентом Російської академії наук, у 1902 р. – почесним членом Французької академії наук. С.М. Виноградський був засновником Мікробіологічного товариства у Росії (1903 р.).

У 1901 р. С.М. Виноградський фактично припинив працювати в інституті, відмовився від окладу завідувача відділом із тією умовою, що ці фінанси підуть на будівництво нового будинку для відділу загальної мікробіології. Офіційно у 1912 р. він пішов у відставку. Л. Пастер запросив С.М. Виноградського на роботу у свій інститут і запропонував очолити відділ ґрунтової мікробіології, який було відкрито на кошти, зібрані за міжнародною підпискою. Так С.М. Виноградський через 10 років перерви повернувся до експериментальної роботи на посаді завідувача Агробактеріологічним відділом Пастерівського інституту (Париж), де і працював до кінця свого життя. Помер 24 лютого 1953 року у Парижі.

Наукову спадщину С.М. Виноградського важко переоцінити. Йому належать відкриття хемосинтезу, азотфіксації, принципово нових підходів до вивчення ґрунтової мікробіоти. Він першим сформулював системний підхід до вивчення участі мікроорганізмів у кругообігу речовин у природі, що стало основою нової науки – біогеохімії.

Відкрите С.М. Виноградським явище хемосинтезу полягає у тому, що мікроорганізми шляхом окиснення неорганічних сполук сірки, заліза, а також аміаку отримують енергію, необхідну для відновлення і засвоєння диоксиду вуглецю. На чистих культурах сіркобактерій родів *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Chromatium* С.М. Виноградський довів, що мікроорганізми можуть окиснювати сірку з отриманням енергії для засвоєння диоксиду вуглецю. Для культивування цих мікроорганізмів звичайні органічні середовища були непридатними, тому у дослідях імітувалися умови, в яких сіркобактерії зустрічаються у природі – їх вирощували у краплі води, насиченої сірководнем, причому вода періодично замінювалась на свіжу порцію, також насичену сірководнем.

В дослідях із залізобактеріями *Leptothrix ochracea* С.М. Виноградський, перш за все, вивчав їхні природні місця існування – болота, луки, охристі джерела. Для культивування цих бактерій у лабораторних умовах необхідний був закис заліза, який клітини окиснювали до окису й

екскретували назовні, при цьому енергію цієї окисної реакції використовували для утилізації вуглекислого газу.

Дослідження окиснення аміку до нітратів виявили біологічну природу цього процесу. Були виділені чисті культури нітрифікуючих бактерій, здатні використовувати для життєдіяльності енергію окиснення аміаку; виявлена двостадійність цього процесу, при якому на першому етапі відбувається окиснення NH_4 до NO_2 , а на другому етапі – NO_2 до NO_3 . Для нітрифікуючих бактерій був розрахований коефіцієнт залежності між окисненням аміаком і відновленням вуглекислим газом.

Усі зазначені вище мікроорганізми С.М. Виноградський об'єднав у групу анопроксидантів – мікроорганізмів, які володіють специфічною функцією: здатністю окиснювати неорганічні речовини. Це явище аналогічне до дихання і є для них єдиним джерелом енергії, а єдиним джерелом вуглецю – вуглекислота, яка асимілюється в процесі хемосинтезу.

Сутність явищ біологічної азотфіксації полягає у тому, що мікроорганізми здатні зв'язувати азот атмосферного повітря в органічні сполуки. С.М. Виноградський була виділена чиста культура анаеробної спороутворюючої бактерії *Clostridium pasteurianum*, яка росла на середовищах без зв'язаного азоту і фіксувала його з повітря, використовуючи для цього як джерело енергії вуглеводи.

С.М. Виноградський першим сформував екологічний підхід до вивчення ґрунтової мікробіоти, суть якого полягає у тому, що необхідно вивчати мікроорганізми у самому ґрунті або середовищах, близьких до нього, які відповідають фізіологічним потребам мікроорганізмів. Виходячи з цього, були розроблені елективні середовища, які є оптимальними для окремих груп мікроорганізмів. Наприклад, середовища з H_2S – для сіркобактерій, з амонійними солями – для нітрифікуючих бактерій, безазотові середовища – для азотфіксаторів. Використання елективних середовищ дозволило виявити наявність у ґрунті двох груп мікроорганізмів. До першої були віднесені мікроорганізми, які швидко розмножуються в умовах забезпечення легкозасвоюваними органічними субстратами – це “зимогенні мікроорганізми”. До другої групи віднесені мікроорганізми, які росли повільно і здатні були засвоювати гумусові речовини ґрунту – це “автохтонна мікрофлора”, яка переважає у ґрунті під паром, тобто в умовах збіднення його доступними поживними сполуками.

Одним з основних принципів екологічного підходу в мікробіології С.М. Виноградський вважав вивчення функцій мікроорганізмів у природному стані, не зміненому тими умовами, які створюються в лабораторії. Він перший звернув увагу на невідповідність між мікроорганізмами, що культивуються в лабораторії, та їхніми дикими видами у природі. Відсут-

ність у лабораторних середовищах інших мікроорганізмів, тобто відсутність конкуренції створює біологічно неприродні умови, тому еколог повинен із пересторогою ставитись до властивостей чистої культури.

С.М. Виноградським був розроблений метод прямої мікроскопії ґрунту. Метод полягає у тому, що на покрівне скельце наноситься водна суспензія ґрунту. Мазок має чітко визначену площу (квадрати розміром 10x10 або 18x18 мм). Після підсихання мазок фіксують у спирті і забарвлюють еритрозином карболовим. На мазку мікроорганізми забарвлені в яскраво червоний колір, їх капсули і слиз залишаються безбарвними. Це дає змогу вивчати структуру слизових мікроколоній. Органічні колоїди на препараті мають слабо рожевий або світло-коричневий колір і їх легко відрізнити від червоних бактеріальних клітин. Після промивання і висушування мазок мікроскопують, підраховують чисельність мікроорганізмів. Можна диференційовано враховувати кількість бактерій, які мають форму паличок, коків, вібріонів, спороутворюючих і т.п. Розрахунки чисельності мікроорганізмів у ґрунті проводять з урахуванням його маси, яка була нанесена на скельце, та площі поля зору мікроскопу. Отже, цей метод може бути використаний для підрахунку чисельності і біомаси мікроорганізмів у ґрунті та визначення їх морфологічного різноманіття.

Продовжувачами еколого-фізіологічного напрямку в ґрунтовій мікробіології були В.Л. Омелянський і М.Г. Холодний.



Василь Леонідович ОМЕЛЯНСЬКИЙ (1867–1928 рр.)

В.Л. Омелянський народився у м. Полтаві 26 лютого 1867 р. у родині вчителя. Після закінчення у 1886 р. гімназії вступив на природниче відділення фізико-математичного факультету Петербурського університету, який закінчив у 1890 р. Наступні два роки працював у цьому університеті, спеціалізувався на кафедрі хімії. За відсутності коштів йому довелося залишити університет і працювати хіміком-лаборантом на металургійному заводі в Сулині. Невдовзі С.М. Виноградському, який у ті роки завідував відділом загальної мікробіології Інституту експеримен-

тальної медицини, знадобився помічник і йому порекомендували кандидатуру В.Л. Омелянського. У 1893 р. він був прийнятий помічником завідувача відділом і працював у цьому інституті 35 років, заступивши С.М. Виноградського на посаді завідувача відділом, коли той залишив інститут.

У 1909 р. В.Л. Омелянського запросили викладати мікробіологію на природничо-історичних курсах. Із цього приводу Василь Леонідович написав перший російськомовний підручник "Основы микробиологии", який витримав 10 перевидань. Потім він видав і практикум "Практическое руководство по микробиологии".

У 1916 р. В.Л. Омелянський був обраний членом-кореспондентом Російської академії наук, у 1917 р. отримав вчений ступінь доктора ботаніки, у 1923 р. був обраний дійсним членом Академії наук СРСР. Ботанічне і Мікробіологічне товариства обрали його почесним членом. Він також був обраний членом-кореспондентом Туринської Медичної академії, Американського товариства бактеріологів, Ломбардської Академії наук.

Взимку 1928 р. стан здоров'я Василя Леонідовича погіршився і він поїхав лікуватися в Гагри, але, незважаючи на зусилля лікарів, помер там же 21 квітня 1928 р.

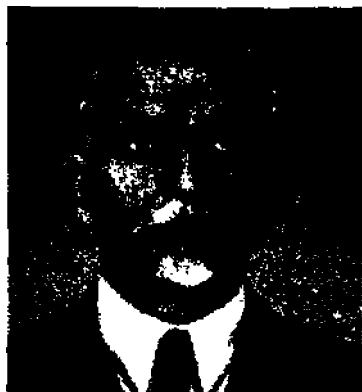
Особливістю наукової діяльності В.Л. Омелянського було поєднання мікробіологічних робіт із хімічними. Він досліджував не тільки морфологію мікроорганізмів, але й фізіологію та біохімічну діяльність.

Дослідження деструкції целюлози, проведені В.Л. Омелянським, є пріоритетними в науці. На той час цей процес був майже невивченим, стосовно його у літературі були досить нечисленні і протирічні дані. В.Л. Омелянський застосував принцип елективних середовищ, розроблений С.М. Виноградським. Він вперше виділив анаеробних збудників деструкції клітковини, показав шляхи її зброджування, ідентифікував органічні кислоти, які утворюються при розкладі цього субстрату, провів аналіз газоподібних продуктів бродіння. У 1899 р. виділив мікроорганізм, який розкладав клітковину. Він показав, що існує два типи бродіння клітковини: водневий і метановий. Враховуючи заслуги В.Л. Омелянського в цій галузі, один із видів целюлозоруйнівних бактерій був названий на його честь *Clostridium omelianskii*.

Працюючи разом із С.М. Виноградським, Василь Леонідович також досліджував нітрифікуючі бактерії і відкрив, що органічні сполуки мають токсичний вплив на ці мікроорганізми, а також показав, що амідни не можуть бути ними окиснені.

В.Л. Омелянський розширив дослідження азотфіксуючих бактерій. На відміну від С.М. Виноградського, який працював з анаеробними азотфіксаторами, він вивчав аеробних діазотрофів, представників роду *Azotobacter*, їх розповсюдження, засвоєння різних джерел вуглецю, умови синтезу пігменту, а також питання використання вільноіснуючих азотфіксуючих бактерій для удобрення ґрунтів.

Крім наукових праць, В.Л. Омелянський написав книги з історії мікробіологічної науки: "Луи Пастер", "И.И. Мечников и его труды", "С.Н. Виноградский", а також талановито популяризував досягнення мікробіології.



**Микола Григорович
ХОЛОДНИЙ
(1882–1953 рр.)**

Микола Григорович Холодний народився 22 квітня 1882 р. у м. Тамбові у родині вчителя. Закінчив у 1902 р. Новочеркаську гімназію і вступив на природниче відділення фізико-математичного факультету Київського університету ім. Св. Володимира. Після закінчення курсу навчання (1906 р.) йому запропонували залишитися працювати асистентом на кафедрі фізіології рослин. У 1908/1909 навчальному році на факультеті

почалась організація лабораторії мікробіології. М.Г. Холодному запропонували читати курс лекцій із мікробіології, для підготовки якого він поїхав у 1912 р. стажуватися до Петербургу в Інститут експериментальної медицини, лабораторію загальної мікробіології, якою на той час керував В.Л. Омелянський.

Восени 1912 р. М.Г. Холодний почав вести приват-доцентський курс із мікробіології. 3 січня 1918 р. він працює доцентом університету, читає курси лекцій із фізіології рослин і мікробіології. У березні 1919 р. йому було присуджено ступінь магістра ботаніки. У 1916–1920 рр., незважаючи на революційні події, окупацію Києва, він проводив наукову роботу з дослідження залізобактерій. Результати цих робіт були узагальнені в монографії "Залізобактерії", що була видана німецькою у 1924 р. а потім перекладена на російську. За цю працю йому був присуджений ступінь доктора ботаніки (1926 р.), а також він був обраний членом-кореспондентом Української Академії наук (1925 р.). Навесні 1928 р. за ініціативою Д.К. Заболотного був створений Науково-дослідний інститут мікробіології і епідеміології (нинішній Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного). В структурі цього інституту було 2 відділи: 1– медичної мікробіології і епідеміології; 2 – загальної і ґрунтової мікробіології. М.Г. Холодний був першим завідувачем відділом загальної і ґрунтової мікробіології. У 1929 р. він був обраний дійсним членом Академії наук УРСР. З 1933 р., коли був заснований Інститут ботаніки, працював завідувачем відділом фізіології рослин і поєднував цю роботу з керівництвом кафедрою мікробіології Київського університету. Під час Великої Вітчизняної війни і окупації Києва працював у дослідних установах Краснодару, Сочі, Єревану. Після війни повернувся до Києва і працював в Інституті ботаніки. Помер 4 травня 1953 р. у Києві.

Перші мікробіологічні дослідження М.Г. Холодного були присвячені вивченню морфології залізобактерій. За допомогою власно розроблених методик за 4 роки він із початківця виріс до класика, якого цитували і цитують донині всі визначники мікроорганізмів. М.Г. Холодний встановив, що мікроорганізм роду *Gallionella* являє собою маленьку клітину з передньою опуклою і задньою угнутою сторонами. Тільки через угнуту сторону виділяється гідрат окису заліза, який завдяки обертовому рухові клітини закручується в стебельце. Саме ці спіральні закручені нитки попередники М.Г. Холодного помилково вважали бактеріями. М.Г. Холодний вивчав залізобактерії роду *Leptothrix* і описав три нових види цього роду. На визнання заслуг вченого в цій галузі один із видів хламідобактерій названий на його честь – *Leptothrix cholodnii*.

На прикладі залізобактерій М.Г. Холодний обговорював і загальну біологічну проблему – хемолітотрофії і підтримував точку зору С.М. Виноградського щодо можливості отримання мікроорганізмами енергії шляхом окиснення неорганічних сполук.

Дослідження залізобактерій, яким було присвячено більш як 15 років, стосувались їхньої морфології і метаболізму; вони привели до подальшого узагальнення їхньої ролі в міграції заліза у земній корі. Саме залізобактеріям М.Г. Холодний відводив провідну роль у рудоутворенні і переводі заліза з розсіяного в концентрований стан. Ці думки співзвучні з теорією концентраційної функції живої речовини Землі, сформульованої В.І. Вернадським. Але це не дивно, оскільки обидва вчені товаришували і разом обговорювали цю проблему.

У своїх роботах М.Г. Холодний постійно повертався до думки про взаємовідносини організму і середовища, про значення екологічних підходів у вивченні ґрунтових мікроорганізмів. В основу своїх досліджень він поклав екологічний принцип: "культивувати і вивчати ґрунтові мікроорганізми в умовах, найбільш близьких до тих, що є у природному середовищі їх існування". Згідно з цим принципом М.Г. Холодний розробив власні методики: пластинок обростання, ґрунтових камер та пророщування ґрунтового пилу на предметному склі.

Метод пластинок обростання полягає в тому, що у ґрунті роблять вертикальний розріз у декілька сантиметрів, у нього вставляють чисте предметне скло. Впродовж короткого часу поверхня скла вкривається ґрунтовим розчином, до неї налипають тверді часточки, адгезуються і починають розвиватись мікроорганізми, які поступово обростають скло. Через певний проміжок часу (від 3 діб до 2 тижнів) скло виймають із ґрунту обережно, щоб не ушкодити біоплівку з мікроорганізмами, яка покриває його. Потім препарати фіксують, відмивають від крупних часточок ґрунту і забарвлюють карболовим ерітрозиним. Методом мікроскопії

вивчають морфологічне різноманіття мікробного угруповання і щільність обростання ним скла. Метод дає можливість вивчати мікробні угруповання, що сформувалися на момент вилучення скла з ґрунту, і дає уявлення про залежність між розвитком мікроорганізмів і фізичними та хімічними умовами їхнього існування.

Метод ґрунтових камер передбачає, що на поверхні предметного скла формується ґрунтова пластинка (18х18 см) завтовшки 1–2 мм, всередині якої є порожнина діаметром до 4 мм. Пластинка накривається покривним склом і таким чином утворюється невелика камера, наповнена повітрям і з боків обмежена ґрунтом. Якщо такий препарат залишити у вологому приміщенні при 25–30°C, то всередині камери і на покривному скельці починають рости різні мікроорганізми, які можна спостерігати *in vivo* тривалий час і відзначати ріст, розмноження, відмирання, автоліз клітин, заміну одних видів іншими. Особливо придатний цей метод для спостережень за ґрунтовими грибами.

Метод пророщування ґрунтового пилу передбачає проведення дослідів із ґрунтом, висушеним до повітряно-сухого стану при кімнатній температурі. Використовують вимиті, висушені і простерилізовані в полум'ї предметні скельця з лункою посередині, а також покривні скельця. Ґрунтовий пил наноситься у центр покривного скельця цяткою діаметром 6–7 мм за допомогою скляної трубочки, один із кінців якої закритий сіткою з маленькими очками, що не пропускають крупних ґрунтових часточок. Для кращого прилипання ґрунтового пилу покривне скельце можна потримати над паром гарячої води декілька секунд. Потім скельце накладають напilenням донизу над лункою предметного скла. На дні лунки знаходиться маленька (не більше макового зерна) краплинка дистильованої стерильної води. Капілярний простір між предметним і покривним скельцем частково заповнюється дистильованою водою, а незаповнені проміжки слугують для вентиляції і газообміну камери. Через 1–2 доби навколо ґрунтових часточок з'являються і розмножуються мікроорганізми, а через 5–6 діб можна спостерігати мікроколонії бактерій, міцелій грибів і актиноміцетів, амеб та інфузорій. Тобто можна спостерігати взаємовідносини як між мікроорганізмами, так і мікроорганізмами та простішими. Як відмітив М.Г. Холодний, якісний склад мікробного населення значною мірою залежить від властивостей ґрунтів, що дозволяє використовувати цей метод для їх агрономічної діагностики. Крім того, вміщуючи камери в різні умови, змінюючи температуру, освітлення, вологість, хімічний склад повітря, можна вивчати вплив зазначених факторів на мікробіоту дослідного ґрунту.

М.Г. Холодному належать також оригінальні роботи з фізіології рослин, зокрема він був засновником вчення про фітогормони. Тому цілком

природно, що в мікробіологічних дослідженнях вченого значна увага була приділена визначенню впливу фізіологічно активних речовин на мікроорганізми різних груп – бацили, неспороутворюючі бактерії, дріжджі. Було виявлено, що гетероауксин викликає зміни морфологічних і культуральних властивостей мікроорганізмів.

Одними з найбільш складних у методичному відношенні були дослідження повітряного живлення мікроорганізмів, засвоєння ними петючих поживних сполук (аміаку, вуглеводнів жирної і ароматичної природи та продуктів розкладу гумусу у вигляді газів), а також вивчення продукції мікроорганізмами газоподібних гормонів.

Становлення ґрунтової мікробіології відбувалося завдяки працям багатьох вчених. Дослідження ґрунтових мікроорганізмів окремих еколого-фізіологічних груп проводились у багатьох країнах. А. Дегерен, У. Гайон, П. Дюпеті (Франція) вивчали мікробіологічні процеси денітрифікації та анаеробного розкладу клітковини. М. Бейєрінк (Голландія) вперше виділив чисту культуру бульбочкових бактерій і показав їх роль у формуванні симбіозу з бобовими рослинами. А. Мюнц досліджував процеси нітрифікації, а Г. Гельригель і Г. Вільфарт (Німеччина) – азотфіксації у ґрунті. С. Ваксман (США) провів важливі дослідження з мікробної трансформації гумусу, а також пріоритетні роботи з вивчення антибіотиків, за останні був удостоєний Нобелівської премії.

У середині XX століття еколого-фізіологічний напрямок досліджень продовжував активно розвиватись у Росії під керівництвом Є.М. Мішустіна.

Євген Миколайович МІШУСТІН (1901–1991 рр.)

Євген Миколайович Мішустін народився у м. Москві 22 лютого 1901 року у сім'ї службовця. Закінчив Імператорську Московську Практичну Академію. У 1917 р. вступив до Тимірязєвської сільськогосподарської академії (ТСХА), служив в армії, а після неї продовжував навчання на кафедрі фізіології рослин і мікробіології. Крім того, прослухав декілька курсів у Московському університеті. Після закінчення ТСХА залишився там на викладацькій роботі, у 1961 р. очолив кафедру мікробіології цього навчального закладу. У 1932 працював на посаді завідувача ла-



бораторією мікробіології у Всесоюзному інституті добрив, агроґрунтознавства і агротехніки (м. Москва). Одночасно з 1933 до 1941 рр. працював професором кафедри біохімії і мікробіології Харчової академії. У 1936 р. захистив докторську дисертацію. За запрошенням Б.Л. Ісаченка у 1940 р. перейшов працювати в Інститут мікробіології АН СРСР, в якому очолював створений ним відділ ґрунтової мікробіології протягом більш як 50 років. Паралельно за сумісництвом Є.М. Мішустін працював деякий час у лабораторії мікробіології Всесоюзного науково-дослідного інституту зерна, в Інституті консервної промисловості, Центральному санітарному інституті ім. Ф.Ф. Ерісмана.

Є.М. Мішустін очолював міжнародну наукову програму "Інтербіоазот-2000", брав участь у керівництві програм "Біосферні і екологічні дослідження", "Фізико-хімічні основи біології і біотехнології", "Альтернативне землеробство".

Помер Є.М. Мішустін 3 травня 1991 р. у м. Москві.

Перші наукові роботи Є.М. Мішустіна були присвячені дослідженню мікробіологічних процесів силосування кормів, у яких всебічно розглядалася сукцесія мікроорганізмів, починаючи від епіфітних бактерій і до опису молочнокислих бактерій та мікроорганізмів, які беруть участь у маслянокислому й оцтовокислому бродінні.

Є.М. Мішустін вперше висловив і експериментально підтвердив гіпотезу щодо екологічної мінливості бактерій у ґрунтах різних кліматичних зон. Об'єктом перших досліджень із цього циклу робіт були спороутворюючі бактерії *Bacillus mycoides*. Екологічні раси цього виду, виділені з ґрунтів різних типів, відрізнялися між собою морфологічними, культуральними і фізіологічними властивостями. Потім коло досліджених мікроорганізмів значно розширилося, що дало можливість протиставити отримані результати уяві про ґрунтові мікроорганізми як космополіти. Було встановлено, що особливості фізіології ґрунтових мікроорганізмів пов'язані з кліматом, зокрема з гідротермічними характеристиками. Розповсюдження мікроорганізмів у ґрунтах різних типів корелює із зональними особливостями, встановленими для вищих рослин. Є.М. Мішустін підкреслював прямий зв'язок досліджень еколого-географічних закономірностей у мікробних ценозах ґрунту з вченням В.В. Докучаєва про зональні особливості ґрунтоутворення. Цим дослідженням присвячені монографії "Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий", "Микрофлора почв СССР".

Під керівництвом Є.М. Мішустіна були проведені детальні дослідження азотфіксуючих бактерій, біохімії процесу фіксації азоту, вирішувалися питання виробництва і застосування бактеріальних добрив на основі діазотрофів. Цій проблемі присвячені роботи "Биологическая фиксация атмосферного азота" (у співавт. з В.К. Шильніковою) та "Микроорганизмы и продуктивность земледелия".

До еколого-фізіологічного напрямку ґрунтової мікробіології можна віднести роботи таких російських мікробіологів: М.О. Красильников (взаємовідносини мікроорганізмів і вищих рослин), Б.В. Перфільєв і Д.Р. Габє (прямі мікроскопічні дослідження ґрунтових мікроорганізмів за допомогою педоскопів), Д.І. Нікітін (відкриття рідкісних форм оліготрофних мікроорганізмів), К.З. Теплер (роль мікроорганізмів у трансформації гумусу), Г.О. Заварзін (літотрофні бактерії, мікрофлора розсіяння (дисипотрофи), аналіз мікробних угруповань за допомогою графів), Д.Г. Звягінцев (специфіка існування мікроорганізмів у мікросередовищах, принципи дублювання і лімітування в угрупованнях), М.С. Паніков (кінетика мікробіологічних процесів у ґрунті), М.М. Умаров (асоціативна азотфіксація) та інші.

В Україні еколого-фізіологічні дослідження ґрунтової мікробіоти почали активно розвиватися під керівництвом Л.Й. Рубенчика.

**Лев Йосипович
РУБЕНЧИК
(1896–1988 рр.)**

Лев Йосипович Рубенчик народився у м. Одесі 3 квітня 1896 р. у сім'ї службовця. Закінчив у 1922 р. Одеський інститут народної освіти, потім працював в цьому інституті до 1927 р. Під час навчання почав працювати в галузі мікробіології – спочатку лаборантом Одеського губернського відділу охорони здоров'я, потім асистентом вузу, а з 1927 р. – професором Одеського інституту технології зерна. У 1931 р. захистив докторську дисертацію, був обраний членом-кореспондентом АН УРСР у 1939 р. За рекомендацією Д.К. Заболотного був призначений завідувачем кафедри мікробіології Одеського університету. На цій посаді працював із 1933 до 1941 рр., одночасно працював в Українському інституті курортології і бальнеології (1929–1941рр.). У воєнні роки працював у Саратовському університеті, в Уфі, куди евакуювали Інститут зообіології. Після війни повернувся з евакуації до Києва і був завідувачем відділом загальної і ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного АН УРСР (1941–1968 рр.); одночасно завідував кафедрою мікробіології Київського державного університету (1946–1950 рр.), а потім працював професором цього ж вузу (1951–1956 рр.). Помер Л.Й. Рубенчик 14 грудня 1988 року у м. Києві.



Перші наукові дослідження Л.Й. Рубенчика були присвячені вивченню природи і генезису лікувальних грязей, що знаходяться на дні одеських лиманів. Продовженням цих досліджень було вивчення мікробних процесів у солоних водоймах України. На прикладі соляних озер Донбасу вперше була показана можливість регулювання життєдіяльності мікроорганізмів у масштабах всієї водойми, крім того, була виявлена важлива роль бактерій циклу сірки у формуванні екологічних особливостей водойм. У подальших роботах Л.Й. Рубенчик досліджував екологію, фізіологію, систематику сульфатвідновлювальних бактерій. Зокрема, була з'ясована їх участь в утворенні сірководню в морях, мінеральних джерелах, пластових водах нафтових родовищ, ґрунтах. Одна з бактерій цієї групи одержала назву *Sporovibrio (Desulfovibrio) Rubentschikii* Baars. Показавши визначальну роль бактерій циклу сірки в біогеохімічних процесах, Л.Й. Рубенчик акцентував увагу на їх участі у корозії металів і бетонів та сформулював концепцію біоелектрохімічного характеру цього процесу. Ця концепція була підтверджена в циклі робіт зі з'ясування виникнення агресивно кислого середовища при проходженні тунелів на одній із ділянок Київського метрополітену. Л.Й. Рубенчик висловив гіпотезу, що причиною цього явища можуть бути ацидофільні тіонові бактерії. Наступні мікробіологічні аналізи і модельні експерименти підтвердили, що в умовах аерації ґрунту (при кесонному методі проходження тунелів) *Tiobacillus ferrooxidans* і *T.thiooxidans* активно окиснюють закисне сірчанокиисле залізо, елементну сірку, дисульфід заліза до сірчаної кислоти, що і викликає підкислення середовища до pH 0,5.

Під керівництвом Л.Й. Рубенчика та при його безпосередній участі були проведені дослідницькі роботи з вивчення еколого-фізіологічних основ взаємовідношень ґрунтових мікроорганізмів із вищими рослинами. Була з'ясована роль мікроорганізмів у основному і додатковому живленні рослин, виділені і вивчені азотфіксуючі, гуматрозкладаючі, фосфатмобілізуючі бактерії, які використовували у виробництві бактеріальних добрив для рослинництва. Л.Й. Рубенчик виконав цикл робіт з вивчення повітряного живлення мікроорганізмів. Дослідами з пророщуванням ґрунтового і повітряного пилу в камерах, які були вміщені в ексикатори з проростками гороху та пшениці, а також із вирощування мікроорганізмів у філосфері ряду дерев було переконливо доведено, що мікроорганізми здатні жити і розмножуватися за рахунок легких органічних речовин вищих рослин.

Л.Й. Рубенчиком була створена концепція використання мікроорганізмів як біологічних індикаторів у галузі ґрунтознавства, промисловості, геології, медицини, океанології, сільського господарства, космічних досліджень.

Суттєвим внеском українських мікробіологів у розвиток еколого-фізіологічного напрямку ґрунтової мікробіології є роботи О.І. Бершової і Х.Г. Зіновьевої (мікробна азотфіксація), В.Т. Смалія (ризосферні мікроорганізми, мікробна трансформація гумусу), Ю.П. Старченкова (біохімічні аспекти симбіотрофної азотфіксації), А.М. Гродзинського (алелопатичні взаємовідносини рослин і ґрунтових мікроорганізмів).

Сучасні школи і напрямки ґрунтової мікробіології в Україні були за-сновані українськими провідними науковцями. Теоретичні основи формування структури і функціонування мікробних ценозів ґрунту вперше викладені в роботах К.І. Андреюк, О.В. Валагурової. Закономірностям формування мікробних угруповань в агроценозах та науковим основам використання мікробних біопрепаратів присвячені роботи В.П. Патики. Особливості функціонування мікробних угруповань у різних ґрунтово-екологічних умовах висвітлені в роботах І.П. Козлової (біогеохімічна діяльність ґрунтових мікроорганізмів), Г.О. Іутинської (трансформація мікробних метаболітів, математичне моделювання мікробних процесів за різних екологічних умов), А.Ф. Антипчук, С.Я. Коця, В.В. Волгогона (симбіотичні і вільноіснуючі діазототрофи), О.В. Валагурової, В.Є. Козирицької (розповсюдження і біологічна активність ґрунтових стрептоміцетів).

Середина XX століття характеризувалася також появою *біохімічно-го напрямку* досліджень ґрунтової мікробіоти.

Біохімія процесу азотфіксації досліджувалася А. Віртаненом, за цикл цих робіт він був нагороджений Нобелівською премією. В.С. Буткевич присвятив цикл робіт вивченню біохімії трансформації вуглецевих сполук. Питання біохімічної структури та синтезу гумусових сполук вивчали І.В. Тюриним, С.А. Ваксманом, М.М. Кононою, Л.М. Александровою, А.Д. Фокіним, В. Флайгом, М. Александером.

Активність і екологічну роль ґрунтових ферментів досліджували Є.М. Мішустін, Д.Г. Звягінцев, А.Ш. Галстян, В.Ф. Купрєвич, Т.А. Щербаківа, Ф.Х. Хазієв, З. Амброж, С. Кіш. В Україні ферментативну активність ґрунту в агроценозах вивчали М.І. Лісовал, І.М. Ромейко, Є.К. Дубовенко, Г.О. Іутинська, О.М. Дульгерів.

Сучасний етап розвитку ґрунтової мікробіології характеризується розвитком *молекулярно-генетичних досліджень*, які використовуються для вивчення філогенетичного і функціонального різноманіття мікробних угруповань, для створення нових бактеріальних добрив поліфункціональної дії на основі генетичного конструювання мікроорганізмів, для вивчення мутагенного впливу поліутантів на ґрунтову мікробіоту.

2. ҐРУНТ ЯК СЕРЕДОВИЩЕ ІСНУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

2.1. Екологічні функції ґрунтів

Ґрунтовий покрив виступає як специфічна оболонка Землі, що носить назву *педосфера*, вона є продуктом довготривалої взаємодії біосфери і літосфери. Ґрунт є незамінним природним самовідновлюваним ресурсом. У глобальному значенні ґрунт виступає регулятором взаємодії між біотою, літосферою, гідросферою та атмосферою, внаслідок чого існує обмін речовиною й енергією між живими організмами і неживою природою. Цей обмін супроводжується біогенним перетворенням верхніх шарів літосфери на ґрунтовий покрив. Згідно з формулюванням фундатора генетичного ґрунтознавства В.В. Докучаєва *ґрунт є особливим природним тілом, що утворює верхню рихлу оболонку земної кори, сформовану при взаємодії клімату, рельєфу, води, мертвих і живих організмів та гірських порід, які складають літосферу*. Ґрунт – не тільки результат ґрунтоутворювального процесу, а й поліфункціональна енергетично відкрита самоврегульована природна система, яка забезпечує стійкий циклічний характер відтворення життя на Землі.

Ґрунт характеризується специфічними властивостями, що відрізняють його від гірських порід: неоднорідність у вертикальному розрізі, однотиповість у межах однакових форм рельєфу і клімату, специфічність фізичних властивостей (структура, проникність для води і повітря, поглинальна здатність), особливі хімічні властивості (гумусованість, вміст поживних елементів, буферна здатність), біологічні властивості (мікробні угруповання ґрунту та продукти їх життєдіяльності, мікро-, мезо- і макрофауна, живі корені рослин).

Сукупність зазначених вище властивостей формує *родючість ґрунту* – здатність створювати умови, необхідні для росту рослин і формування урожаю. Родючість ґрунтів, яких не торкнулося сільськогосподарське використання, називається *природною* або *потенціальною*. Землі, що перебувають у сільськогосподарському виробництві, характеризуються *ефективною родючістю*.

Ґрунтовий покрив виконує ряд найважливіших екологічних функцій:

1. *Забезпечення життя на Землі*, місцєіснування живих організмів. Саме у ґрунті концентруються і депонуються необхідні живим організмам біофільні елементи у доступних для споживання формах. Ґрунт також акумулює запас вологи, необхідний для життєдіяльності рослин

мікро- і макробіоти. Він є основою відтворення сільськогосподарського виробництва.

2. *Забезпечення взаємодії великого геологічного і малого біологічного кругообігу речовин.* Геологічним кругообігом називають сукупність процесів утворення земної кори, формування водного, твердого і хімічного стоків, седиментації і акумуляції речовин. Біологічним кругообігом називають циклічні процеси обміну речовин і енергії між середовищем і сукупністю живих організмів – мікроорганізмів, рослин, тварин. У цілому, в біологічному кругообігу беруть участь живий і неживий компоненти, які разом формують біогеохімічні цикли. Всі цикли елементів, потоки енергії, води, газів проходять через ґрунт.

3. *Регулювання складу атмосфери.* Між ґрунтом і атмосферою відбувається постійний газообмін завдяки різній концентрації газів. Ґрунтова біота у процесі життєдіяльності продукує гази, серед яких переважає CO_2 , є також у менших кількостях CH_4 , NO , N_2O , H_2S . Ці гази накопичуються у ґрунтових порах у концентраціях, що перевищують їх вміст в атмосфері, внаслідок чого вони виділяються в атмосферу. У той же час ґрунт поглинає кисень, необхідний для окисно-відновних процесів. Ґрунт поглинає і відбиває сонячну радіацію, тим самим впливає на температурний режим, пов'язаний із газовим складом атмосфери.

4. *Регулювання складу гідросфери.* Участь ґрунту у кругообігу води зумовлена поверхневим і підземним стоками. У ґрунтовій воді розчинені хімічні сполуки, що визначають ситуацію прибережних акваторій океану та біопродуктивність водойм. Ґрунт є сорбційним бар'єром, що захищає водойми від забруднень.

5. *Регулювання інтенсивності біосферних процесів* здійснюється завдяки тому, що такі властивості ґрунту, як кислотність, окисно-відновний потенціал, мінералізація, вологосмність та ін., стимулюють або обмежують розвиток мікроорганізмів і рослин. Це впливає на тваринний світ і продуктивність екосистем в цілому.

6. *Утворення гумусу* – специфічних органічних сполук, здатних депонувати біогенні елементи і енергію. Ці властивості є основою формування родючості ґрунту і стабільного функціонування екосистем.

7. *Захисна роль у відношенні до літосфери.* Ґрунт здатний вибірково відбивати або поглинати певні енергетичні потоки. Тим самим він захищає літосферу від екзогенних руйнівних факторів.

Ґрунт є полідисперсною системою, яка складається з різних за розміром механічних часточок мінеральної і органічної природи, що утворюють мікроагрегати, між якими знаходиться ґрунтовий розчин, повітря, живі організми. Тобто головними компонентами ґрунту є тверда, рідка і газова фази.

2.2. Тверда фаза ґрунту

Тверда фаза ґрунту представлена мінеральними компонентами, вміст яких становить 55–80% об'єму і 90–97% маси. За своїм походженням і складом мінерали ґрунту тісно пов'язані з мінералами магматичних і осадових гірських порід, на яких відбувається ґрунтотворення. Польові шпати, силікати, кварц, карбонати, слюди складають до 85% мінералів земної кори, вони ж переважають і в ґрунтах. Мінерали, що складають ґрунти і ґрунтотвірні породи, поділяють на три основні групи:

1) *первинні мінерали* – продукти механічного вивітрювання гірських порід, представлені скелетними і крупними пісчаними частками; вони характеризуються жорсткою кристалічною структурою, не мають вологоємності; первинні мінерали підлягають руйнації під дією організмів, клімату і води; до первинних мінералів відносяться польові шпати (ортотлаз $KAlSi_3O_8$, альбіт $NaAlSi_3O_8$, анортит $(CaAl_2Si_2O_8)$, слюди (мусковіт $KH_2Al_3(SiO_4)_3$, кварц $(SiO_2)_n$ та ін., а також апатит – мінерал вивержених порід $3Ca_3P_2O_8 \cdot Ca(F,Cl)_2$;

2) *вторинні глинні мінерали* та їх окисли, які утворилися при вивітрюванні та їх подальших хімічних перетвореннях; ця група представлена глинистими і колоїдними частками, що мають високий ступінь дисперсності, здатність сорбувати воду і набухати, у багатьох рухома кристалічна структура. Серед вторинних мінералів переважають аморфні водні окиси марганцю (піролюзит, манганит, вернадит), заліза (лімонит, гематит, магнетит), алюмінію (беміт, діаспор, корунд), аморфні окиси кремнію (опал, халцедон). Крім того, до вторинних віднесені глинні мінерали (алюмосилікати), група каолініту, сілікати (монтмориллоніти, вермікуліт, вторинні гідрослюди) та ін.;

3) *водорозчинні мінерали* (солі), серед них переважають вуглекислі солі кальцію, магнію, натрію, калію (кальцит, люблюніт, доломіт, сода), солі сірчаної кислоти (гіпс, ангідрит, мірабіліт та ін.), хлориди (галіт); ці мінерали у значних кількостях присутні у засолених ґрунтах і осадових породах.

Тверда фаза ґрунту характеризується показниками, які дають уявлення про вміст мінеральних часточок у ґрунті та їх співвідношення:

а. *питома маса твердої фази ґрунту*, яка розраховується за формулою: $d = m/M$, де d є середньою величиною питомої ваги мінеральних і органічних часточок, m – маса твердого тіла, M – маса такого самого об'єму води;

б. *об'ємна маса ґрунту* – маса одиниці об'єму ґрунту у непорушеній його будові з природною пористістю;

с. *пористість (скважність)* ґрунту характеризує об'єм порожнин між твердими часточками й агрегатами ґрунту та всередині них, виражається у відсотках порожнин до загального об'єму ґрунту у непорушеному стані; розраховується за формулою: $P = (1 - d / d_s) \cdot 100$, де d – питома маса ґрунту, d_s – об'ємна маса ґрунту; розрізняють *капілярну пористість*, що є сумарним об'ємом тонких пор, які здатні утримувати капілярну вологу, а також *некапілярну пористість*, як суму крупних пор та проміжків між структурними окремостями та часточками; *міжагрегатну пористість* як сумарний об'єм пор між агрегатами, виражений у відсотках від об'єму усього ґрунту.

Мінеральні часточки склеюються мінеральними та органічними колоїдами й утворюють структурні агрегати різного розміру і стійкості. Макроструктурними агрегатами є часточки діаметром більше 0,25 мм, мікроструктурними – діаметром 0,001–0,25 мм. Найбільш цінною є грудкувато-зерниста структура ґрунту, у якій агрегати утворюють структурні одиниці розміром 1–10 мм. Структура має важливе значення, оскільки вона впливає на водний, сольовий, повітряний, тепловий режими ґрунту. Водостійка грудкувато-зерниста структура сприяє затриманню води, зменшує швидкість капілярного руху води і знижує її випаровування, сприяє оптимальному співвідношенню води і повітря між ґрунтовими часточками, протистоїть водній і вітровій ерозії.

2.3. Рідка фаза ґрунту

Рідка фаза ґрунту представлена розчинами солей, органічно-мінеральних, органічних сполук, газів, а також найтонкіших колоїдних золів. Рідка фаза ґрунту з розчиненими у ній речовинами безперервно взаємодіє з твердою і газовою фазами, з кореннями рослин, мікро- і макроорганізмами, що населяють ґрунт. Рідка фаза залежить від сезону року і метеорологічних умов. Вміст води у ґрунті коливається від десятків (при повному насиченні скважин) до одиниць відсотків і менше (коли вода в адсорбованому стані займає незначний об'єм ґрунту).

Розрізняють такі *види води у ґрунті: пароподібна, сорбована, хімічно зв'язана, фізично зв'язана, капілярна, вільна.* Пароподібна (гігроскопічна) вода, яку ґрунт поглинає з повітря, насичує ґрунтового повітря до 100%, проте вміст її складає не більше 0,001% від маси ґрунту. При підвищенні температури пружність пару у ґрунтового повітря зростає, а при охолодженні відбувається конденсація пароподібної води.

Сорбована (зв'язана, плівкова, орієнтована) волога знаходиться у ґрунті під впливом сорбційних сил.

Хімічно зв'язана (конституційна, кристалізаційна) волога входить до складу кристалічних мінералів у вигляді самостійних молекул, наприклад, гіпсу ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), мірабіліту ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), хлориду магнію ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). При підвищенні температури вода може виділятися із цих сполук, наприклад, із мірабіліту при 20–25°C, а із гіпсу при 60–65°C.

Фізично зв'язана вода обумовлена дипольними властивостями її молекул, у відношенні до яких мінеральні і органічні часточки ґрунту несуть негативний заряд. Молекули води сорбуються поверхнею пор, дисперсних часточок і утворюють плівки води, які за щільністю зв'язку можуть бути міцно сорбованими (гігроскопічна волога) або утворювати плівку, де вода знаходиться у в'язко-рідинній формі. Фізично зв'язана *плівкова волога* "угортає" ґрунтові частки і обмежено доступна рослинам.

Капілярна вода заповнює ґрунтові капіляри та утримується під дією меніскових сил. Радіус капілярів може коливатися від $1 \cdot 10^{-5}$ до декількох міліметрів. Підраховано, що для капілярів радіусом $1 \cdot 10^{-5}$ мм висота підняття води може досягати 1,5 км. Проте в умовах ґрунту безперервність капілярів порушена великими порами, камерами, гіллястою будовою. У сполучених капілярах більш тонкий із них транспортує вологу на більшу висоту і відсмоктує її із капілярів більшого діаметру. Капілярна вода рухома, доступна рослинам, переміщує розчинені солі і колоїди.

Вільна волога не підлягає впливу сорбційних сил, заповнює увесь поровий простір і великі порожнечі, має рідинний стан, властивість до низхідного руху під дією сили тяжіння. Розрізняють такі види вільної води у ґрунті: *гравітаційна* (здатна просочуватись поміж ґрунтовими часточками у низхідному або боковому напрямках, формується тоді, коли перебільшена межа утримуючої здатності капілярних менісків, що свідчить про тимчасове або постійне перезволоження), *ґрунтова* (утворюється над водонепроникним шаром ґрунту, який затримує гравітаційну воду), *поверхнева* (та, що стікає по схилу місцевості у періоди, коли надходження води перевищує швидкість усмоктування і фільтрації), *лід* (сезонна або "вічна" мерзлота).

Залежно від здатності утримувати той чи інший вид вологи розрізняють такі характеристики водоутримуючої здатності ґрунту:

- *повна вологоємність* – здатність ґрунту вміщувати у своїй товщі воду в об'ємі, відповідному скважності; ця величина коливається у межах 30–80% об'єму ґрунту і становить у метровому шарі 8000–10000 м³/га;

- *капілярна вологоємність* – здатність ґрунту утримувати максимально можливу кількість капілярної вологи без переходу її у гравіта-

ційну форму. Цей показник виражається у масових чи об'ємних відсотках або у кубічних метрах на 1 га. Капілярна вологості, визначена у конкретних польових умовах називається польовою вологості;

- *максимальна молекулярна вологості* – верхня межа вмісту у ґрунті фізично зв'язаної плівкової води;

- *максимальна гігроскопічність* – характеризує максимальну кількість пароподібної води, яка може бути стійко поглинута і утримана ґрунтом.

За доступністю рослинам розрізняють вологу *доступну* (продуктивну), яка може бути використана рослинами для підтримання своєї життєдіяльності і синтезу органічних речовин. Нижня межа доступності – *вологість стійкого в'янення* – така мінімальна кількість води у ґрунті, при якій рослина не може забезпечити свої потреби у воді, що призводить до її в'янення.

Доступність води для рослин і мікроорганізмів виражається в одиницях водного потенціалу – P^F . Цей показник характеризує зчеплення води з твердими частками ґрунту і виражає силу, яку необхідно прикласти для видалення одиниці води з ґрунту, виражається висотою водяного стовпчика. Наприклад, для того щоб видалити воду з капіляру діаметром 1,5 мкм, необхідно застосувати тиск, що дорівнює 1000 мм водяного стовпчика.

Відповідно до класифікації, розробленої Г.М. Висоцьким та доповненої О.О. Роде, розрізняють такі *типи водного режиму ґрунтів*: *мерзлотний* – у регіонах вічної мерзлоти; *промивний* – за умов, коли річна сума опадів перевищує середньорічне випаровування; *періодично промивний* – якщо середня річна сума опадів дорівнює середньому річному випаровуванню; *непромивний* – якщо середня річна сума опадів менша за середнє річне випаровування; *випотний* – коли середня річна сума опадів значно менша річного випаровування, а ґрунтові води підходять близько до поверхні ґрунту; *десуктивно-випотний* – близький до попереднього, але ґрунтові води залягають глибоко, і рослини висмоктують корінням вологу з капілярної зони.

У ґрунтового розчину містяться мінеральні й органічні сполуки біогенного походження, а також ті, що потрапили з атмосферними опадами або принесені з висхідним капілярним током із ґрунтових вод. Крім того, ґрунтовий розчин містить гази, поглинуті з ґрунтового повітря.

Сприятливі для росту рослин і мікроорганізмів умови створюються, коли у складі ґрунтового розчину на одну частину мінеральних компонентів припадає 5–15 частин органічних, а загальний вміст розчинених сполук складає від 3–6 до 10–12 г/л. Зменшення концентрації ґрунтового

розчину до 1–2 г/л свідчить про нестачу елементів живлення, збільшення до 20–25 г/л пригнічує ріст рослин і може викликати їх загибель. Висококонтентовані ґрунтові розчини мають підвищений осмотичний тиск, що негативно впливає на кореневу систему рослин і ґрунтові мікроорганізми.

Від співвідношення солей, кислот і глинистих мінералів залежить кислотність ґрунтового розчину. Найбільш сприятливою у фізіологічному відношенні є реакція ґрунтового розчину, близька до нейтральної, яка характерна для чорноземів, сіроземів, лучних ґрунтів, деяких солончаків. Кислу реакцію ґрунтового розчину мають підзолисті, сірі лісові ґрунти, болотяні торфовища, а лужну мають чорноземи південні, каштанові ґрунти, содові солончаки, солонці. Для зменшення кислотності ґрунтів (із рН менше 5,5) проводять їх вапнування шляхом внесення вуглекислого кальцію; навпаки, у лужні ґрунти (з рН більше 8,0) вносять гіпс, сірчану кислоту, сульфат заліза, піритові огарки, які при біологічному окисненні підвищують кислотність ґрунту.

Здатність ґрунтів підтримувати постійну реакцію ґрунтового розчину називається *буферністю*. Вона обумовлена процесами переходу сполук ґрунтового розчину з іонної до молекулярної форми, нейтралізацією компонентів, поглинанням іонів, зміною колоїдного стану компонентів та ін.

2.4. Повітряна фаза ґрунту

Газова фаза ґрунту – це гази, які знаходяться у порах і міжагрегатному просторі. У складі ґрунтового повітря поряд із киснем, діоксидом вуглецю, азотом, воднем присутні інертні гази – гелій, аргон, а також аміак, сірководень, окис і закис азоту, метан, леткі метаболіти ґрунтових мікроорганізмів.

Завдяки обміну з приземним шаром атмосфери повітря верхніх шарів ґрунту є близьким до нього за компонентним складом, проте спостерігаються і суттєві відмінності, особливо у співвідношенні кисню і діоксиду вуглецю (таблиця 2.1).

Таблиця 2.1

**Склад атмосферного і ґрунтового повітря,
% від загального вмісту газів**

Повітря	O ₂	N ₂	CO ₂
Атмосферне	20,47	78,1	0,03
Ґрундове (шар 15–30 см)	11–21	78–86	0,3–8,0

У більш глибоких шарах ґрунту вміст CO_2 зростає до 10–19%, а O_2 – зменшується до 10–12%. Склад ґрунтового повітря значною мірою залежить від фізіологічної активності мікроорганізмів, розкладу рослинних і тваринних рештків, внесення мінеральних і органічних добрив.

Розрізняють ґрунтове повітря *адсорбоване* (поглинуте ґрунтовими частками, що утримується на їх поверхні сорбційними силами); *защемлене* (знаходиться в порах, ізольованих вологою), *розчинене* у ґрунтовому розчині, *вільне* (знаходиться у порах і вільно переміщується в них та контактує з атмосферним повітрям).

Повітряно-фізичні властивості ґрунтів характеризуються такими показниками, як повітроємність, аерація, повітропроникність. *Повітроємність* – це об'єм ґрунтових пор, які утримують повітря за вологості, яка відповідає найменшій вологоємності. Цей показник у структурованих ґрунтах коливається в межах від 200 до 350 cm^3 на 1 dm^3 ґрунту. *Аерація* ґрунтів характеризується різницею між пористістю ґрунту та його вологістю. Чим більше вологість ґрунту, тим більша частина об'єму зайнята водою, тим меншою є аерація. *Повітропроникність* – це здатність ґрунту пропускати певний об'єм повітря за одиницю часу через одиницю свого об'єму.

Повітряний режим ґрунту формується залежно від коливань температури, атмосферного тиску, вологості, процесів дифузії, коливань повітряних мас атмосферного повітря, життєдіяльності мікро- і макронаселення ґрунту.

2.5. Морфологія і класифікація ґрунтів

Класифікацію ґрунтів проводять з урахуванням їх походження, материнських гірських порід, особливостей будови шарів, які складають ґрунтовий профіль, вмістом гумусу, специфікою процесів ґрунтотворення.

Якщо зробити вертикальний розріз ґрунту, то можна побачити шари (горизонти), які розрізняються забарвленням, фізичними властивостями та іншими морфологічними характеристиками. Сукупність генетичних горизонтів ґрунту формує його профіль. За специфікою будови і сполучення горизонтів ґрунтового профілю можна визначити тип ґрунту.

Найбільш характерним і важливим є верхній темний шар, який своїм забарвленням обумовлений присутністю гумусових сполук; при морфологічному опису гумусовий горизонт позначається літерою А і може бути розділений на підгоризонти: А', А'', А'''. Шар напіврозкладеного органічного опаду, що міститься на поверхні ґрунту, позначають як A_0 . Під

гумусовим (А) міститься горизонт розкладу і вимивання – елювіальний A_2 , який має світло-сірий, жовтувато-сірий, попелястий колір. Нижче залягає ілювіальний горизонт В, що утворився внаслідок вимивання і накопичення матеріалів із горизонтів А та A_2 . Горизонт В більш щільний, має бурий або коричнюватий колір, збагачений колоїдно-дисперсними глининими матеріалами і полуторними окислами. Під горизонтом В міститься незначно змінена ґрунотвірна порода, що формує горизонт С. Материнська гірська порода, яка не має ознак ґрунотворення, позначається літерою D. Якщо ґрунт утворився не з гірської кристалічної, а з осадової породи, то останню позначають як підстелюючу і позначають літерою Р. Потужність ґрунтового профілю, що включає усі його генетичні горизонти, може бути різною – від 10–20 см у полярних і високогірських ґрунтах до декількох метрів у чорноземах та ґрунтах тропічного клімату.

За сполученням морфологічних ознак виділяють окремі типи і підтипи ґрунтів. Тип ґрунту – найвища таксономічна одиниця класифікації. Кожен тип ґрунту розвивається в однотипово сполучених біологічних, кліматичних і гідрологічних умовах і характеризується чітким проявом основного процесу ґрунотворення. Наприклад, чорноземи характеризуються такою будовою профілю: гумусовий горизонт виражений дуже добре, має чорне або темно-сіре забарвлення, зернистої або зернисто-грудкуватої структури, відсутні полуторні окисли, значні запаси поживних елементів, нейтральна реакція ґрунтового розчину.

Лучні ґрунти поширені у пониженнях рельєфу на недренованих рівнинах під лучною рослинністю. Вони є представниками гідроморфного ряду, формуються за умов поверхневого зволоження прісними водами, ґрунтові води залягають на глибині 1–3 м. Ґрунти мають чорне забарвлення і зернисту структуру, проте у них наявні плями оглеювання.

У каштанових ґрунтів сіро-коричнєве забарвлення, менший порівняно з чорноземами вміст гумусу, менша потужність гумусового шару, біло-попелястий підстелюючий шар.

Солончаки мають сіре і світло-сіре забарвлення, утримують у своєму профілі високі концентрації солей (0,5–2,0 %), які розміщуються близько до поверхні, безструктурні, часто мають щільну будову.

За походженням та історією процесу утворення ґрунти підрозділяють на класи:

автоморфні ґрунти, які формувалися на масивно-кристалічних або давніх осадових породах, не мали близьких до поверхні ґрунтових вод та утворилися без привнесення матеріалу ззовні, тому вони називаються автоморфними, тобто самостійними, автономними, елювіальними;

гідроморфні ґрунти, які у сучасний період або у недалекому геологічному минулому піддавались дії ґрунтових вод, зокрема у низькодолох, міжгірських долинах, річних і післяльодовикових терасах; в усіх гідроморфних ґрунтах присутні ґрунтові води, які залягають на глибині від декількох сантиметрів до метрів, але не глибше 7–9 м;

палеогідроморфні ґрунти мають гідроморфну історію походження, але в результаті дії сучасних тектонічних процесів були підняті на дреновані гідрографічні області, де ґрунтові води відійшли на глибину, більшу 7–9 м;

гірські ґрунти характеризуються нерозвиненим і часто порушеним ґрунтовим профілем, зміщенням шарів у результаті зсувів, транзитом розчинених продуктів вивітрювання.

Слід зазначити, що у природі немає чітко окреслених меж між класами, типами ґрунту, існують перехідні підтипи, які поєднують риси основних типів.

В Україні поширені такі основні типи і підтипи ґрунтів:

- дерново-підзолисті, палево-підзолисті, дернові кислі, торф'яні (Полісся);
- сірі лісові, темно-сірі лісові, чорноземи типові, перегнійно-карбонатні (Лісостеп);
- чорноземи звичайні, чорноземи південні, лучно-чорноземні, темно-каштанові і каштанові (Степ);
- каштанові і темно-каштанові солонцюваті, солонці, осолоділі глейово-елювіальні (зона посушливого причорноморського степу);
- буроземи кислі усіх поясів (від прохолодного поясу до субальпійського і альпійського), лучнувато-буроземні, буроземи помірного і теплого поясів (Карпати);
- буроземи слабокислі, коричневі, гірсько-лучні (Кримські гори).

2.6. Роль мікроорганізмів у ґрунтотворенні

Мікроорганізми є першими на Землі ґрунтотворцями, про це стверджували фундатори вчення про ґрунт В.В. Докучаєв, П.О. Костичев, В.О. Вільямс, С.М. Виноградський. В.І. Вернадський підкреслював, що у ґрунті немає хімічних процесів поза участі у них живої матерії та продуктів її перетворень. Мікроорганізми беруть участь у вилугуванні і руйнації мінералів, які входять до складу ґрунтовірних материнських порід. Вони здійснюють як продукційні, так і деструкційні процеси, які разом підтримують кругообіг речовин у природі. Автотрофні мікроорганізми використовують енергію сонячного світла або хімічних сполук для синтезу

органічної речовини із диоксиду вуглецю. Гетеротрофні мікроорганізми беруть участь у деструкції рослинних і тваринних залишків. Ці процеси супроводжуються синтезом мікробної біомаси, гумусу, формуванням пулу біологічно активних речовин – амінокислот, вітамінів, ферментів, гормоноподібних і антибіотичних сполук, завдяки чому ґрунт функціонує як біокосне тіло.

Підраховано, що в різних екосистемах мікробна біомаса набагато перевищує біомасу птахів та ссавців (таблиця 2.2).

У 1 грамі ґрунту міститься (клітин): 10^6 – 10^7 бактерій, 10^4 – 10^5 актиноміцетів, 10^3 – 10^4 водоростей, 10^2 – 10^3 простіших, а також до 10–50 метрів грибних гіф.

Таблиця 2.2

**Біомаса мікроорганізмів, птахів і ссавців
у різних екосистемах, т/га
(за М.С. Гіляровим, Д.А. Кривошуким, 2003 р.)**

Екосистема	Біомаса, т/га			
	бактерії	водорості	птахи	ссавці
Тайга	2,0–3,0	0,06–0,4	0,0008	0,0014
Лісостеп	3,0–4,0	0,1–0,5	0,0006	0,012
Степ (агроценози)	3,0–5,0	0,2–2,2	0,00013	0,0060

У відношенні до мікроорганізмів ґрунт – це місцеіснування з численними мікро- і мезосередовищами з різноманітними, а іноді і протилежними умовами життєдіяльності. Неоднорідність мікросередовищ зумовлена наявністю мінеральних утворень різного типу, присутністю коренів вищих рослин і гіфів грибів, ходами безхребетних, розкладеним і напіврозкладеним детритом. Розрахунки, підтверджені експериментальними даними свідчать, що у центрі ґрунтової грудочки (діаметром біля 1 см) можуть формуватися умови для існування облигатно анаеробних мікроорганізмів, а на його поверхні – аеробні популяції, які потребують достатнього забезпечення киснем.

Локалізація мікроорганізмів може бути різною: в адсорбованому стані на поверхні мінеральних часточок; у напіврідкому колоїдному гелі, який огортає часточки ґрунту; у вільно плаваючому стані всередині капілярів, заповнених ґрунтовим розчином. Д.Г. Звягінцев проводив вивчення локалізації мікроорганізмів у непорушених монолітах ґрунту за допомогою люмінесцентної мікроскопії. Виявилось, що мікроорганізми зібрані у мікроколонії, що відокремлені одна від одної вільним простором, який виключає можливість контакту і взаємодії бактерій із різних

колоній. У той же час у таких зонах, як ризосфера, куди надходять продукти екскреції коренів, мікробне населення більш численне і розміщується компактно. За таких умов формується певна організація мікробного угруповання і виявляються різні типи взаємовідносин між мікроорганізмами.

Слід також враховувати "рН-ефект", який полягає у тому, що на межі розділу негативно зарядженого адсорбенту і рідини рН відрізняється від значень у розчині на 0,5–2 одиниці. Тобто значення рН плаваючих клітин порівняно з адсорбованими зміщується у кислу сторону на 0,5–2 одиниці. На межі розподілу адсорбенту і ґрунтового розчину концентруються іони водню, а також органічні речовини. Вони створюють різні окисно-відновні системи, які формують специфічні умови існування, відмінні від тих, що є у розчинах.

Специфічні умови, які утворюються в окремих мікрозонах, неможливо відтворити на якомусь одному універсальному поживному середовищі. Тому ще раз нагадаємо про необхідність дотримання екологічних підходів С.М. Виноградського до вивчення ґрунтових мікроорганізмів і невідповідність лабораторних середовищ природним умовам їх існування у ґрунті.

3. ВПЛИВ ЕКОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ НА РОЗВИТОК МІКРООРГАНІЗМІВ У ҐРУНТІ

Життєдіяльність мікроорганізмів у ґрунті зумовлена комплексом фізичних, хімічних, біологічних факторів, які формують певні едафічні (ґрунтові) умови. Мікроорганізми чутливо реагують на зміни екологічних факторів, основними з яких є *температура, вологість, солоність і рН ґрунтового розчину, окисно-відновні умови, склад ґрунтового повітря*. Важливе значення для життєдіяльності мікроорганізмів мають поживний режим і вміст гумусу. Різні групи мікроорганізмів мають свої особливості пристосування до певних екологічних умов.

Можна визначити залежність швидкості росту мікроорганізмів від значень екологічних факторів. У загальному вигляді на кривій залежності є мінімальні і максимальні значення, нижче і вище яких росту мікроорганізмів не відбувається, а також оптимальне значення, при якому швидкість росту є максимальною. У діапазоні між мінімальним і максимальним значеннями фактору мікроорганізм знаходиться в межах *толерантності*. Межі толерантності мікроорганізмів до певного фактору можуть бути вузькими, що характерно для *стенобіонтних*, або широкими як у *еврібіонтних мікроорганізмів*. У літературі як синоніми зустрічаються також терміни відповідно *"фільні"* і *"толерантні"*. Наприклад, у відношенні до солоності розрізняють мікроорганізми *стеногалинні* (або *галофільні*) і *еврігалинні* (або *галотолерантні*).

Нижче буде розглянуто відношення ґрунтових мікроорганізмів до окремих екологічних факторів.

3.1. Температура

Ґрунт характеризується певними тепловими властивостями, які визначають процеси поглинання, передачі та віддачі тепла. Основними з цих властивостей є *теплоємність, теплопровідність, температуропровідність*. *Теплоємність* – це кількість тепла (у калоріях), яка необхідна для нагрівання 1 граму або 1 см³ ґрунту на 1°C. *Теплопровідність* – здатність ґрунту проводити тепло, вимірюється кількістю тепла (у Дж.), яке проходить за 1 секунду через поперечний розтин ґрунту у 1 см³ при градієнті температури у 1° на відстань 1 см. *Температуропровідність* – здатність підвищувати або знижувати свою температуру під дією тепла, що проходить через ґрунт.

Сукупність усіх видів надходження та витрат тепла за певний проміжок часу формує *тепловий баланс ґрунту*, який залежить від його вологості, забарвлення, а також від енергії сонячного опромінення.

Температурний режим значною мірою впливає на швидкість ферментативних реакцій і швидкість росту мікроорганізмів. Залежність швидкості мікробних і біохімічних процесів у ґрунті від температури близько відповідає *правилу Вант-Гоффа*: при збільшенні температури на 10°C швидкість реакції зростає удвічі (зазвичай Q_{10} дорівнює 2,0–2,5). Цьому правилу відповідає також активність продукування ґрунтом CO_2 , N_2O , NO , CH_4 .

Залежність швидкості росту мікроорганізмів від температури має вигляд нерівнобічного трикутника (рис. 3.1). При підвищенні температури від мінімального значення швидкість росту мікробної популяції повільно зростає до оптимальних значень. При подальшому зростанні температури швидкість росту різко зменшується, а після максимальних значень настає загибель клітин. Оптимальні значення знаходяться ближче до температурного максимуму.

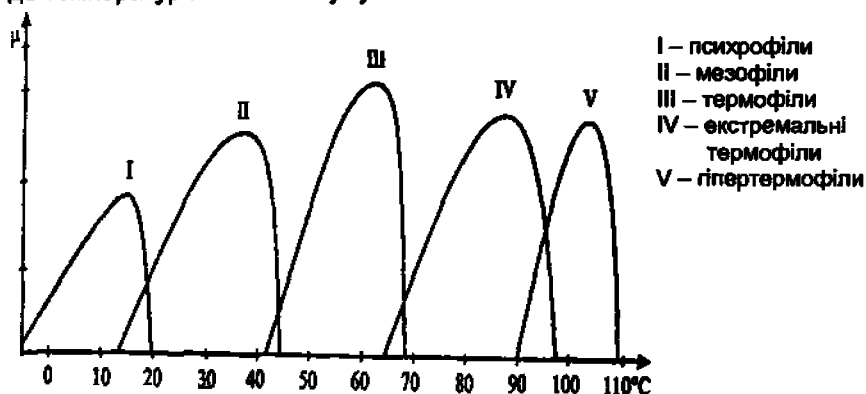


Рис. 3.1. Залежність швидкості росту мікроорганізмів від температури (за Г.О. Завазіним, Н.Н. Колотиловою, 2001 р.)

За інтервалом толерантності до температури мікроорганізми поділяють на *стенотермні* (з вузьким температурним діапазоном) і *еuryтермні* (з широким температурним діапазоном). Залежно від температурного діапазону, в якому можуть жити мікроорганізми, їх поділяють на декілька груп (табл. 3.1):

Таблиця 3.1

**Екофізіологічні групи мікроорганізмів
по відношенню до температури**

Екофізіологічна група	Мінімальна температура, °C	Максимальна температура, °C	Температурний оптимум, °C
Психрофіли	0	20	5-12
Мезофіли	12-15	45	20-25 або 35-37
Термофіли	Вище 40	Не більше 70	60-65
Екстремальні термофіли	Вище 65	90	Від 80 до 90
Гіпертермофіли	Більше 90	Не більше 110	Близько 100

Психрофіли і психроактивні мікроорганізми ростуть у діапазоні 0–20°C, причому психрофіли живуть у постійно холодних умовах (наприклад, в Арктиці й Антарктиці), а психроактивні мікроорганізми добре ростуть у теплі періоди року і можуть зберігати свою активність взимку, коли розвиток інших мікроорганізмів пригнічений.

Мезофіли ростуть у широкому діапазоні температур, оптимальними для багатьох ґрунтових мікроорганізмів є +20...+25°C, а для мікроорганізмів, життєдіяльність яких пов'язана з теплокровними тваринами і людиною оптимум температури складає +35...+37°C, максимальною для мезофілів є температура +45°C.

Термофіли ростуть у температурному діапазоні від +40 до +70°C, екстремальні термофіли – у діапазоні +70...+90°C, гіпертермофіли – при температурі більш як 100°C. Перші ростуть у саморозігріваних купах гною і компостів, відвалах вугілля, другі – поблизу термальних джерел, треті – у розігрітих підземних шарах.

Слід підкреслити, що температурні діапазони перекривають один одного і немає таких значень температури, при яких не ріс би який-небудь мікроорганізм.

Серед мікроорганізмів, які населяють ґрунти України, переважають представники мезофілів, проте достатньо висока біологічна активність ґрунтової мікробіоти у зимовий період дає підстави говорити про присутність серед них психроактивних популяцій.

3.2. Вологість

Вологість – екологічний фактор, що впливає на перебіг важливих процесів, які відбуваються у ґрунті. Зокрема, від вологості залежить концентрація речовин у ґрунтовому розчині, температура ґрунту, його

повітряний режим, швидкість хімічних і біохімічних реакцій, активність ґрунтової мікробіоти і кореневої системи рослин.

Доступність води для мікроорганізмів і рослин характеризують величиною її активності (a_w), яку розраховують як відношення тиску водяної пари над розчином або матеріалом до тиску пари над дистильованою водою. Значення a_w можуть змінюватися внаслідок адсорбції молекул води на поверхні ґрунтових часточок (матрична зміна доступності води) або як результат взаємодії молекул води з речовинами ґрунтового розчину (осмотична зміна доступності води). Межі толерантності мікроорганізмів за цим показником коливаються від 0,99 до 0,7.

Ступінь доступності води можна характеризувати *потенціалом ґрунтової вологи*, який означає ту кількість термодинамічної роботи, яка повинна бути витрачена на її видобуток. Нижня межа потенціалу ґрунтової вологи для мікроорганізмів становить -150 бар, що є нижчим порівняно з рослинами. При висушуванні ґрунту вирішальним стає здатність виживати за низьких значень a_w . Мікроорганізми, у яких активна життєдіяльність відбувається за низьких значень водного потенціалу, відносять до *ксерофілів*. Найбільш пристосованими до висушування є мікроскопічні гриби, наприклад, *Penicillium*, *Aspergillus*. Бактерії для виживання в умовах висушування синтезують полісахаридні слизові капсули навколо колоній або утворюють спори, цисти.

При підвищенні потенціалу ґрунтової вологи до -55 бар і більше мікробне біорізноманіття зростає, починають активно розвиватись актиноміцети. Для більшості бактерій сприятливі умови зволоження ґрунту знаходяться у межах від -40 до 0 бар. Міграція бактерій по капілярам можлива за умов зволоження $0,1-0,5$ бар. Проте за таких умов спостерігається також активний розвиток фітопатогенних грибів.

Сприятливими умовами водозабезпечення є вологість ґрунту у межах $50-70\%$ від повної вологемності. За таких умов формується мікробне угруповання, яке підтримує збалансований кругообіг речовин, характерний для певного типу ґрунту.

Перезволоження пригнічує життєдіяльність аеробних мікроорганізмів, внаслідок чого переважають анаеробні процеси. Негативні наслідки мають такі анаеробні процеси, як денітрифікація, яка веде до втрат азотних сполук, а також сульфатредукція, внаслідок якої у ґрунті накопичується токсичний сірководень. Крім того, за анаеробних умов у ґрунті накопичуються такі токсичні продукти, як леткі жирні кислоти, етилен, аміак, двовалентне залізо, метан.

Висушування ґрунту також негативно впливає на життєдіяльність мікроорганізмів, гальмуються процеси мінералізації органічних залишків, зменшується пул біологічно активних сполук (ферментів, амінокислот, вуглеводів, вітамінів), пригнічується активність фіксування азоту.

3.3. Солоність

Концентрація речовин, які містяться у ґрунтовому розчині, діє на клітини мікроорганізмів як осмотичний фактор. Залежно від стійкості до коливань осмотичного фактору виділяють *осмотолерантні* мікроорганізми, здатні витримувати високі концентрації речовин, і *осмофільні*, які розвиваються переважно у середовищах із високим осмотичним тиском.

Солоність ґрунтового розчину значною мірою залежить від вологості ґрунту: зменшується після дощу або поливів і зростає при його висушуванні. Відношення мікроорганізмів до солоності часто оцінюють за їхньою здатністю рости за різних концентрацій *натрію хлориду (NaCl)*. За цією характеристикою виділяють певні групи мікроорганізмів (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Екофізіологічні групи мікроорганізмів
по відношенню до солоності середовища
(за Г.О. Заварзіним, Н.Н. Колотиловою, 2001 р.)**

Екофізіологічна група	Межі толерантності (концентрація <i>NaCl</i> у середовищі)
Прісноводні	≤0,01%, не витримують 3% <i>NaCl</i>
Галотолерантні	Від 1 до 10%
Помірні галофіли	Від 5 до 15%
Екстремальні галофіли	≥12–15%, навіть насичені розчини

Переважає більшість ґрунтових мікроорганізмів є галотолерантними, які можуть витримувати концентрацію до 10% розчину *NaCl*. У солоних водоймах та солончаках розвиваються галофільні мікроорганізми, які здатні витримувати солоність до 15% *NaCl*. Для виживання в умовах підвищеного осмотичного тиску мікроорганізми синтезують низькомолекулярні органічні сполуки – осмопротектори, які синтезуються у цитозолі і пасивно утримуються мембраною. До осмопротекторів відносять амінокислоти пролін і глутамат, цукор трегалозу, а також глікозилгліцериди та інші.

3.4. Кислотність

Відомо, що ґрунти різних типів мають різні значення pH: дернові, дерново-підзолисті, підзолисті – це кислі ґрунти; чорноземи, темнокаштанові мають нейтральну реакцію ґрунтового розчину, а содові солончаки – лужну. Стабільність pH ґрунтового розчину підтримується завдяки буферним властивостям ґрунту.

Кислотність середовища впливає на електричний заряд мікробних клітин, стан їх мембран, окисно-відновні реакції. З іншого боку, рН ґрунтового розчину впливає на такі параметри навколишнього середовища, як стан металів, їхню доступність і токсичність, стан ґрунтових колоїдів, гумусових сполук.

У відношенні до кислотності середовища мікроорганізми розподіляють на такі групи:

- *нейтрофіли*, які ростуть у діапазоні рН від 5,0 до 9,0, оптимальними для них є рН 6,8–8,0, до нейтрофілів відноситься переважна більшість ґрунтових мікроорганізмів;
- *ацидофіли*, які ростуть при рН від 2,0 до 6,0, наприклад, тубацили, що утворюють сірчану кислоту, оцтовокислі бактерії;
- *алкалофіли*, які ростуть у діапазоні рН від 8,5 до 11,0, наприклад, уробактерії, що розкладають сечовину з утворенням аміаку, а також деякі сульфатвідновлювальні бактерії й алкалофільні ціанобактерії.

Незалежно від реакції оточуючого середовища внутрішньоклітинне значення рН у мікробних клітинах підтримується близьким до нейтрального, що досягається завдяки протонній і натрієвій помпам.

Слід зазначити, що межі толерантності ґрунтових мікроорганізмів достатньо широкі. Так, бульбочкові бактерії, азоспірили, актиноміцети зберігають життєдіяльність у межах рН від 4,0–5,0 до 9,0–10,0. Для грибів межі толерантності становлять від 1,5 до 9,0, а для тіонових бактерій – від 0,5 до 7,0.

Своєю життєдіяльністю мікроорганізми можуть регулювати рН середовища. Наприклад, до підкислення середовища ведуть окиснення сульфідів до сірчаної кислоти тіоновими бактеріями, нітрифікація амонійних сполук до азотистої і азотної кислот. Підлогування середовища спричиняє дезамінування білків і амінокислот амоніфікуючими бактеріями, розклад сечовини уробактеріями.

3.5. Окисно-відновні умови

Мікроорганізми отримують енергію для своєї життєдіяльності від окисно-відновних реакцій переносу електрону від донора до акцептора. Можливість використання енергії хімічної реакції для росту мікроорганізмів визначається зміною вільної енергії ΔG , тобто тією енергією, яка за умов постійного тиску і температури може бути перетворена на роботу. Якщо у біологічній системі відбувається хімічна реакція, то зміна вільної енергії може бути розрахована як різниця між вільною енергією вихідних сполук і вільною енергією продуктів реакції за стандартних умов.

Зв'язок стандартної вільної енергії реакції (ΔG°) з окисно-відновним потенціалом описується рівнянням:

$$\Delta G^\circ = -n F \Delta E_0'$$

де n – число перенесених протонів; F – число Фарадея; $\Delta E_0'$ – різниця стандартних окисно-відновних потенціалів акцептора і донора електронів.

Тому зрозуміло, яке важливе значення для розвитку мікроорганізмів має окисно-відновний потенціал ґрунту Eh , значення якого характеризують термодинамічну можливість здійснення окисно-відновних реакцій мікроорганізмами.

Для хемотрофних мікроорганізмів характерним є розвиток у межах термодинамічної стійкості продуктів реакції і нестійкості субстрату. Хімічні сполуки переходять у ті форми, що відповідають області їх стійкості у біологічно опосередкованих реакціях. Спрацьовує і зворотня закономірність: мікробні угруповання самі створюють собі певні Eh - pH умови. Для угруповання діє закон Гесса, згідно з яким для системи спряжених реакцій важлива тільки різниця між вихідним і кінцевим станом і не має значення, якими проміжними шляхами вона здійснюється. Для кожного виду мікроорганізму, який входить до складу угруповання, вихід енергії повинен бути достатнім для його існування.

3.6. Ґрунтове повітря

Склад ґрунтового повітря (газова фаза ґрунту) тісно пов'язаний із життєдіяльністю мікроорганізмів. Кисень утворюється у результаті фотосинтезу окисненними фотоасимілюючими бактеріями. При розкладі органічних сполук аеробними органогетеротрофними мікроорганізмами утворюється диоксид вуглецю. В анаеробних умовах утворюються водень, сірководень, метан, закис азоту. Одна частина цих газів засвоюється мікроорганізмами (наприклад, у перебігу процесів азотфіксації або автотрофного живлення), а інша дифундує в атмосферу. В свою чергу, компоненти атмосферного повітря можуть зворотньо бути поглинутими ґрунтом.

■ *Кисень.* Основна частина цього газу надходить у ґрунт унаслідок обміну з атмосферним повітрям. Окисненні фототрофні бактерії виділяють кисень у процесі фотосинтезу. Збагачення ґрунту киснем можливе також у процесі розкладу перекису водню. Аеробні мікроорганізми використовують кисень на окиснення органічних речовин.

По відношенню до кисню мікроорганізми можна поділити на:

- *облігатні аеробні*, які потребують кисень для дихання і тільки його використовують як акцептор електронів;

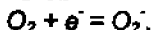
- *мікроаерофільні* потребують знижених концентрацій кисню для отримання енергії;
- *факультативні анаеробні* можуть переходити від дихання киснем до анаеробіозу;
- *аеротолерантні анаеробні* характеризуються анаеробним метаболізмом, але можуть розвиватися за присутності кисню;
- *облігатні анаеробні* потребують відновлених умов, для них кисень є токсичним.

Ґрунтові мікроорганізми використовують розчинений кисень, що зумовлює їхню залежність від стану вологості ґрунту.

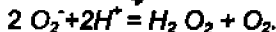
Фізіологічно важливою формою є синглетний кисень *O_2 із високою реакційною здатністю, завдяки чому він може руйнувати компоненти клітини. Для нейтралізації дії *O_2 клітини синтезують антиоксиданти, такі як каротиноїди, меланіни. Тому мікроорганізми, які існують на поверхні ґрунту, часто утворюють пігментовані колонії. Синглетний кисень бере участь у реакціях окиснення стійких сполук у ґрунті, наприклад, лігніну з утворенням прогумусових речовин.

При диханні утворюється ланцюжок послідовного відновлення молекули кисню під дією ферментів оксидаз, найбільш важливою з яких є цитохромоксидаза. Участь кисню у реакціях окиснення речовин зумовлена дією оксигеназ, серед яких діоксигенази реагують з обома атомами у молекулі кисню, а монооксигенази – з одним атомом. Під дією монооксигеназ один атом кисню витрачається на утворення однієї молекули води, а другий – гідроксильної групи. Сполуки кисню, які не повністю відновлені, є токсичними для клітини, їхня детоксикація відбувається за участю ферментів: супероксиддисмутази, пероксидази, каталази у реакціях, що описуються такими рівняннями:

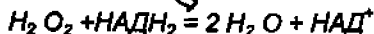
1. Утворення супероксиду при окисненні флавінами, хінонами, флавопротеїнами, тіолами, Fe-S-білками за реакцією:



2. Розклад супероксиду ферментом супероксиддисмутазою до перекису водню згідно з реакцією:



3. Розклад перекису водню каталазами або пероксидазами за реакціями:

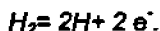




У ґрунті більша частина кисню витрачається на окиснення органічних і неорганічних сполук. При зниженні концентрації кисню у ґрунтовому повітрі зменшується активність аеробних процесів, наприклад, нітрифікації, і навпаки, анаеробних (фіксування азоту і денітрифікація) – зростають.

■ **Водень** утворюється у ґрунті внаслідок життєдіяльності анаеробних і факультативно анаеробних бактерій, які здійснюють бродіння органічних речовин. Біологічне значення продукування водню полягає в отриманні енергії і видаленні надлишку електронів, які утворюються при окисненні органічного субстрату.

Водень може бути засвоєний водневими бактеріями, які здійснюють енергетичний обмін на основі оберненої реакції гідрогенази:



Більшість водневих бактерій є автотрофами, які асимілюють диоксид вуглецю, але є і такі, що можуть засвоювати органічні сполуки, наприклад, форміат. До водневих відносять бактерії, які мають гідрогенази: представники родів *Acidovorax*, *Hydrogenophaga*, *Ancyclobacter*, *Hydrogenobacter*, *Alcaligenes*. Засвоювати водень також здатні анаеробні гомоацетатні, сульфатвідновлювальні бактерії, водневі метаногени та ін.

Ґрунтові мікроорганізми можуть засвоювати водень навіть за умов його надвисоких концентрацій – до 40–80% об'єму.

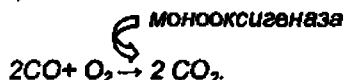
■ **Диоксид вуглецю** утворюється у ґрунті внаслідок мікробного окиснення вуглеводів, органічних кислот, клітковини, пектинів, крохмалю, геміцелюлоз, лігніну, вуглеводнів. Підраховано, що до 80–90% диоксиду вуглецю у ґрунтовому повітрі має мікробне походження і не більше 15–18% продукується коренями рослин. Значна частина CO_2 засвоюється мікроорганізмами шляхом хемосинтезу і гетеротрофної фіксації. До автотрофної фіксації CO_2 здатні нітрифікуючі, сірко-, залізо-, карбоксидобактерії.

Гетеротрофна фіксація CO_2 полягає у приєднанні його до вуглецевих ланцюгів органічних речовин, наприклад, приєднання до пировиноградної кислоти веде до утворення щавелево-оцтової кислоти.

Вміст диоксиду вуглецю у ґрунтовому повітрі впливає на життєдіяльність мікроорганізмів різних груп. Так, бактерії можуть розвиватись у широкому концентраційному діапазоні цього газу – від 0,030 до 50% об'єму. Низький вміст CO_2 (3–4%) стимулює розвиток багатьох грибів, проте при 10–30% їхній ріст пригнічується.

У дослідях О.М. Дульгерова через скляні колонки, заповнені ґрунтом, пропускали диоксид вуглецю у різних концентраціях. Виявилось, що присутність цього газу у кількості 1–3% від об'єму стимулює ріст бактерій і грибів у ґрунті, а збільшення його до 80% об'єму різко знижує чисельність мікроорганізмів зазначених груп. Азотфіксуюча активність ґрунту зростала за умов збільшення концентрації CO_2 до 40%, а при подальшому підвищенні концентрації – різко пригнічувалась. Нітрифікуюча здатність ґрунту зменшувалась уже за концентрації CO_2 більш як 10%.

■ Окис вуглецю може утворюватися у ґрунті внаслідок мікробної трансформації гемінових сполук, флавоноїдів, вітамінів (кобаламіну). Метаноокиснюючі бактерії окиснюють CO завдяки ферменту монооксигеназі. Автотрофні карбоксидобактерії (*Carboxydothermus*, *Zavarzinia*) в аеробних умовах здійснюють реакцію:



Анаеробні карбоксидобактерії (*Carboxydotherrnus hydrogenofornans*) для окиснення закису вуглецю використовують воду.

■ Аміак у ґрунті накопичується завдяки мікробній деструкції азотвмісних органічних сполук, серед яких переважають білки і протеїни. Під дією мікробних протеаз білки розкладаються до амінокислот, які потім дезамінуються з виділенням аміаку.

Аміак взаємодіє з ґрунтовим поглинальним комплексом, засвоюється мікроорганізмами і коренями рослин як джерело азоту або підлягає окисненню нітрифікуючими бактеріями до нітритів і нітратів.

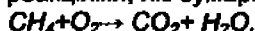
Аміак впливає на життєдіяльність мікроорганізмів у ґрунті. За низьких концентрацій (0,1–1,0% об'єму) він стимулює ріст бактерій (у першу чергу – нітрифікуючих) і актиноміцетів. Подальше зростання його концентрації до 5% пригнічує розвиток мікроорганізмів.

Вплив аміаку на ґрунтову мікробіоту вивчався у зв'язку із застосуванням аміачної води (концентрація аміаку становить 82,5%) як азотно-го добрива. В роботах О.М. Дульгерова було показано, що використання аміачної води у дозах 150, 300 і 500 кг/га викликає загибель мікробних клітин, порушує структуру мікробного ценозу.

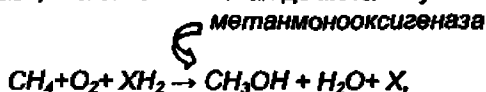
■ Метан утворюється у ґрунті як продукт анаеробного розкладу органічних речовин. Цей процес супроводжується утворенням водню і відновленням диоксиду вуглецю за загальною схемою:



Метан, що утворився анаеробами, окиснюється метанотрофними бактеріями за декількома реакціями, які сумарно мають такий вигляд:

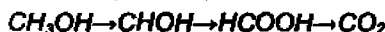


Цей процес є енерговитратним і може здійснюватися специфічною групою метанотрофних мікроорганізмів. Ключовим ферментом реакції є метанмонооксигеназа, яка окиснює метан до метанолу:



де X – клітинний донор електрону.

Подальша трансформація метанолу відбувається шляхами, подібними у метанотрофів і метилотрофів, а саме: метанол окиснюється до формальдегіду, який використовується для побудови вуглецевого скелету рибулозомонофосфатним або сериновим шляхами. Можливе також подальше окиснення до форміату і диоксиду вуглецю:



Метанотрофні мікроорганізми поділяють на дві групи:

1. Аеробні палички і коки з рибулозомонофосфатним шляхом анаболізму, утворюють цисти. До цієї групи віднесені представники родів *Methylomonas*, *Methylococcus*, *Methylobacter*.

2. Палички, які брунькуються, або вигнуті; характеризуються сериновим шляхом анаболізму, схильні до мікроаерофілії. До них відносять роди *Methylosinus*, *Methylocystis*.

3.7. Промениста енергія

Промениста енергія є важливим екологічним фактором для розвитку ґрунтових мікроорганізмів, вона поширюється у просторі у вигляді електромагнітних хвиль. Залежно від їхньої довжини виділяють:

- радіохвилі з довжиною більш як 1500 нм; не чинять помітної дії на мікроорганізми;
- інфрачервоні промені з довжиною до 760 нм; спричиняють нагрівання клітин;
- видимі світлові промені з довжиною 760–380 нм; активізують діяльність фототрофних бактерій, оскільки є для них джерелом енергії; бактерії, які не використовують енергії сонячних променів, краще розвиваються у темряві;
- ультрафіолетові промені з довжиною 380–200 нм негативно впливають на мікроорганізми, викликають мутації, а у великих дозах опромінення спричиняють загибель клітин; цей ефект використовують у селекційній роботі для спрямованого мутагенезу, а також для стерилізації приміщень, боксів;

- Іонізуюча радіація з довжиною менше 200 нм викликає мутаційні зміни ДНК внаслідок утворення вільних радикалів, що викликає перекисне окиснення ліпідів, може бути причиною загибелі клітин. LD₅₀ γ-опромінення для різних груп мікроорганізмів становить (кГр): для грамнегативних, у т.ч. і кишкової палички – 0,03–0,04, стафілококів – 0,17–0,19, грампозитивних – 0,4, дріжджів – 0,2–0,4, сарцин – 0,5. LD₅₀ (сублетальна доза) для спор *Bacillus subtilis* становить 8–10 кГр. Найбільш стійкими до іонізуючої радіації є рожево забарвлені представники роду *Deinococcus* (*D. radiodurans*, *D. radiophilus*). Інтерес до радіостійких мікроорганізмів зріс після аварії на Чорнобильській АЕС. У радіоактивно забруднених ґрунтах, зоні приміщень об'єкту "Укриття" були виявлені рожево забарвлені метилотрофи, представники бацил, меланіамісні гриби (*Deinobacter grandis*, *Alternaria*, *cladosporium*, *Aureobasidium*). Деякі з них витримували дозу 9–10 кГр.

4. ТИПИ ЖИВЛЕННЯ ҐРУНТОВИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Для угруповання як системи характерна певна взаємодія між видами, які входять до його складу. В мікробному угрупованні взаємодія між видами перш за все зумовлена *трофічними (харчовими) зв'язками*. *Автотрофи* – організми, які самі синтезують органічну речовину з діоксиду вуглецю і використовують при цьому енергію сонячного світла або енергію хімічних сполук. Автотрофи живляться самостійно, незалежно від інших організмів, їм не потрібні органічні сполуки інших організмів. Уся сума синтезованих автотрофами органічних сполук називається *первинною продукцією*, а організми, які її синтезують, – *первинними продуцентами*. До первинних продуцентів відносяться зелені рослини і автотрофічні мікроорганізми.

Організми, які живляться речовиною, що походить від особин іншого виду, відносяться до *консументів (споживачів)*. *Первинні консументи* – це організми, для яких джерелом харчування є первинна продукція, синтезована автотрофами. Такими споживачами є травоядні тварини. Первинні консументи можуть бути використані хижакими, які по відношенню до травоядних є *вторинними консументами*. Далі вони можуть бути жертвою консументів третього порядку і т.д., таким чином формується *трофічний ланцюг з декількох трофічних ланок*. Проте усі консументи нової органічної речовини не виробляють, вони лише задовольняються трансформацією готових органічних речовин.

Існують також організми (в основному археї, еубактерії і гриби), які задовольняють свої харчові потреби за рахунок залишків і продуктів життєдіяльності організмів різних трофічних ланок; їх відносять до *редуцентів*. Екологічна роль редуцентів полягає у тому, що вони повертають мінеральні речовини первинним продуцентам і таким чином замикають кругообіг речовин у біосфері.

Одночасно з потоком речовини по трофічному ланцюгу іде потік енергії. На кожному з трофічних рівнів частина енергії безслідно розсіюється, тому кожному вищому трофічному рівню дістається все менша доля тієї енергії, яка була акумульована продуцентами. Це відповідає законам термодинаміки, згідно з якими приток енергії повинен врівноважуватися його відтоком, а кожний перенос енергії супроводжується її розсіюванням у вигляді енергії тепла при диханні. Відношення продукції даного трофічного рівня до продукції попереднього називається *екологічною ефективністю*. Вона може коливатися від 5 до 25%. На першому трофічному рівні енергетичні витрати сонячної енергії продуцентів на

власні енергетичні потреби становлять 50–70%, а залишки 50–30% витрачаються на запасання енергії у вигляді накопиченої біомаси рослин або мікроорганізмів. Біомаса, яка є доступною для консументів, називається *чистою первинною продукцією*.

Для виживання і розмноження мікроорганізмам необхідні елементи, з яких побудована їхня біомаса. Основними біогенними елементами є вуглець, азот, водень та кисень. Крім цих елементів, необхідні також фосфор і сірка, в незначній кількості хлор, такі метали, як кальцій, залізо, калій, магній, натрій і метали, що відносять до групи мікроелементів: марганець, цинк, молібден, селен, кобальт, ванадій, мідь, нікель та ін.

Розподіл мікроорганізмів за типами живлення проводять, в основному, залежно від того, які джерела вуглецю і донорів електронів вони використовують для побудови своєї біомаси і які джерела енергії при цьому їм потрібні. А. Львов розробив номенклатуру типів анаболізму і катаболізму мікроорганізмів. Згідно з цією номенклатурою за анаболізмом (конструктивним метаболізмом) організми розподіляють на дві великі групи: автотрофні і гетеротрофні. *Автотрофними* називають організми, які здатні синтезувати органічні речовини своєї біомаси із неорганічного диоксиду вуглецю. *Гетеротрофні* мікроорганізми будують свою біомасу із готових органічних сполук.

По катаболізму мікроорганізми розподіляють за енергією, яку вони використовують для будови свого організму. За джерелами енергії мікроорганізми розподіляють на *фототрофні*, для яких джерелом енергії може бути сонячне випромінювання, і *хемотрофні*, що використовують енергію окиснення неорганічних (*хемолітотрофи*) або органічних (*хемоорганотрофи*) сполук.

Як донор електронів мікроорганізми можуть використовувати неорганічні сполуки (*літотрофні* мікроорганізми) або органічні речовини (*органотрофні* мікроорганізми). З урахуванням джерела вуглецю, енергії та донорів електронів можливі 8 різних типів живлення, які представлені у таблиці 4.1.

- Фотоорганавтотрофи – для фіксації використовують енергію світла, а як джерело електронів – органічні сполуки, наприклад, пурпурові сірکобактерії.
- Фотоорганогетеротрофи потребують органічну речовину для розвитку і енергію сонця для фотосинтезу, пурпурові несіркові бактерії.
- Фотолітавтотрофи – це первинні продуценти, до яких відносяться ціанобактерії, водорості, анаеробні пурпурові бактерії, зелені рослини.
- Фотолітогетеротрофи потребують органічну речовину для свого росту та використовують енергію сонячного світла, наприклад, аноксигенні пурпурові та зелені бактерії.

- Хемоорганогетеротрофи здатні до автотрофної фіксації CO_2 , для чого використовують енергію органічних сполук, – деякі факультативні метилотрофи.

- Хемоорганогетеротрофи – це мікроорганізми-деструктори, а також тварини та гриби.

- Хемолітоавтотрофи для засвоєння вуглекислоти використовують енергію хімічних сполук, наприклад нітрифікуючі, тіонові, водневі бактерії.

- Хемолітогетеротрофи потребують органічних сполук для розвитку, використовують енергію хімічних сполук, наприклад сульфатвідновлювальні, метаногенні бактерії.

Таблиця 4.1

Групи організмів за типами вуглецевого живлення та використання джерел енергії

Джерело енергії	Донори електронів	Джерело вуглецю	
		диоксид вуглецю (автотрофія)	органічні сполуки (гетеротрофія)
Світло	Органічні сполуки	Фотоорганогетеротрофи	Фотоорганогетеротрофи
	Неорганічні сполуки	Фотолітоавтотрофи	Фотолітогетеротрофи
Органічні сполуки	Органічні сполуки	Хемоорганогетеротрофи	Хемоорганогетеротрофи
Неорганічні сполуки	Неорганічні сполуки	Хемолітоавтотрофи	Хемолітогетеротрофи

Якщо врахувати не тільки донорів, а також і акцепторів електронів, то можна виділити дві великі групи – *аеробіє*, для яких акцептором електронів є кисень, і *анаеробіє*, для яких акцептором електронів є інші органічні і неорганічні сполуки. Тоді в зазначеній схемі кількість типів живлення зростає до 16.

Деякі мікроорганізми можуть використовувати різні типи живлення. Наприклад, деякі фототрофні бактерії при світлі використовують сонячну енергію, а в темряві – енергію органічних сполук. Існують мікроорганізми, яких відносять до *міксотрофіє*, здатних одночасно використовувати два різних джерела енергії та живлення незалежними шляхами їх трансформації. Наприклад, до міксотрофії можна віднести здатність фіксувати CO_2 і одночасно використовувати органічні сполуки.

Необхідним джерелом живлення для мікроорганізмів є також азот. За здатністю засвоювати різні форми азоту виділяють азотфіксуючі мікроорганізми, які здатні зв'язувати атмосферний азот – *діазотрофи*, і ті,

що використовують азот у формі неорганічних солей або простих органічних сполук, при цьому обидві групи використовують органічні речовини як джерела енергії та донорів електронів.

Крім основних елементів живлення, деяким мікроорганізмам потрібні фактори росту, які вони не можуть самі синтезувати: амінокислоти, вітаміни, пуринові чи піримідинові основи. Такі мікроорганізми називають *ауксотрофами* у відношенні до тих факторів, яких вони потребують. Часто такі мікроорганізми є мутантними варіантами диких штамів. Наприклад, для визначення мутагенної дії речовин на мікроорганізми використовують ауксотрофні за гістидином штами *Salmonella typhimurium*.

Мікроорганізми, які здатні самі синтезувати необхідні їм фактори росту, відносять до *прототрофних*.

Терміни "трофі" застосовують для мікроорганізмів, які живляться певними субстратами, наприклад, метанотрофами називають метанокиснючі бактерії, метилотрофами – бактерії, що використовують C_1 -сполуки, гідрогенотрофами – бактерії, які використовують водень.

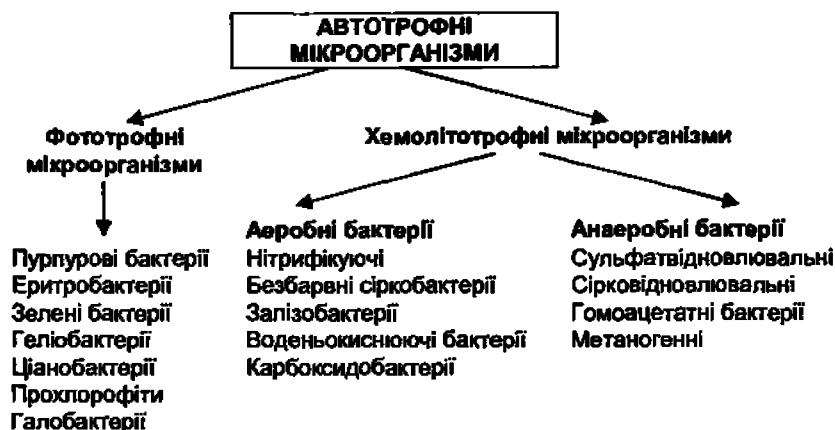
Слід зазначити, що назви мікроорганізмів за типами живлення є доволі складними і тому часто їх скорочують, наприклад, хемоорганогетеротрофів називають органотрофами (неправильне скорочення гетеротрофами), а фотолітоавтотрофів – фотоавтотрофами.

Крім класифікації за типами живлення, виділяють групи мікроорганізмів за продуктами їх обміну або за тою речовиною, яку вони генерують. Так, серед анаеробних бродильників виділяють маслянокислі, пропіонові, молочнокислі бактерії, а метаногенами і сульфідогенами називають бактерії, які генерують метан або сульфід відповідно.

4.1. Автотрофія

Автотрофні прокаріоти – це мікроорганізми, які можуть синтезувати різні органічні речовини при асиміляції диоксиду вуглецю, тобто серед мікроорганізмів вони є первинними продуцентами.

До автотрофних відносять мікроорганізми різних систематичних груп еубактерій та архебактерій, їх підрозділяють на дві великі групи: фототрофні, для яких джерелом енергії можуть бути сонячні промені, і хемолітотрофні мікроорганізми, що використовують енергію окиснення неорганічних сполук. У межах цих груп виділяють різні за видовим складом підгрупи, які об'єднують за фізіологічними і біохімічними особливостями (таблиця 4.2).

Основні групи автотрофних мікроорганізмів

Враховуючи важливу роль автотрофних прокаріотів у кругообігу речовин у природі, відомості про деякі з них будуть розглянуті у відповідних розділах: пурпурові, зелені бактерії, аеробні безбарвні сіркобактерії, сульфатвідновлювальні і сірководновлювальні прокаріоти – у розділі, присвяченому циклу сірки; нітрифікуючі бактерії – у циклі азоту; залізобактерії – у розділі, присвяченому мікробній трансформації заліза.

Біохімічні шляхи автотрофної асиміляції диоксиду вуглецю є схожими майже у всіх автотрофів (за винятком деяких анаеробів). Послідовність реакцій була встановлена роботами М. Кальвіна зі співр. і одержала назву рибулозодифосфатного циклу, або циклу Кальвіна-Бассама. Автотрофна асиміляція базується на регенерації акцептора вуглекислоти і не потребує надходження додаткових, крім CO_2 вуглецевих сполук. Вуглекислота, що надходить в клітину, відновлюється. Під дією специфічного ферменту карбоксилази рибулозо-1,5-дифосфату вона поєднується з відповідним субстратом (рибулозо-1,5-дифосфатом) і перетворюється на 3-фосфогліцеринову кислоту – перший стабільний продукт. Подальші реакції циклу схожі з реакціями гліколітичного і пентозофосфатного циклів, а саме 3-фосфогліцерат відновлюється до альдегіду. Реакції відбуваються за участю НАДН і фосфорильованих сполук. Регенерація акцептора CO_2 відбувається у відновному пентозофосфатному циклі через ізомеризацію фосфопентоз у рибулозо-5-фосфат із використанням АТФ.

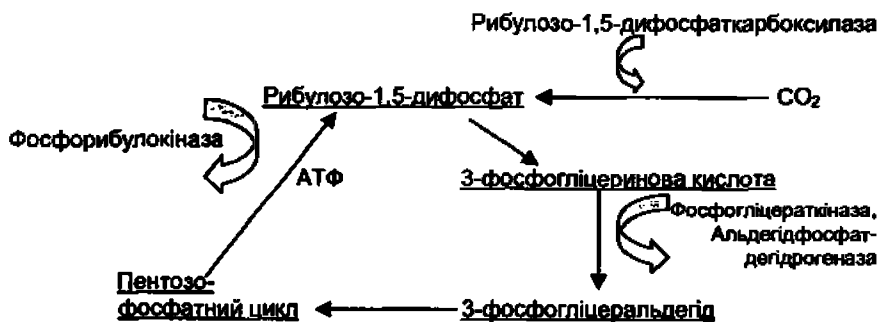


Рис. 4.1. Автотрофна асиміляція диоксиду вуглецю

Сама фіксація CO_2 не потребує енергії, проте регенерація субстрату відбувається при використанні відновника і енергії. Таким чином, асиміляція одного моля CO_2 потребує використання трьох молей АТФ. Сумарну реакцію циклу можна описати рівнянням:

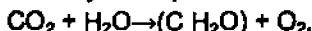


У фототрофів система енергетичного обміну доповнюється системою фотосинтетичних пігментів, локалізованих на мембранному апараті, за допомогою яких донор електрону утворюється внаслідок збудження пігментів світлом.

Фототрофне живлення залежить від кількості фотосинтетично активної радіації (ФАР) та її спектрального складу. Нерівномірне надходження світла протягом доби, періоди затемнення зумовлюють для фототрофів необхідність накопичення асимілянтів у запасних поживних речовинах, таких як поліглюконати, ліпіди, поліфосфати.

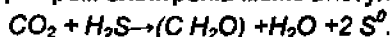
У ціанобактерій і прохлорофітів фотосинтез *окиснений* – супроводжується виділенням молекулярного кисню. У інших фототрофів фотосинтез *аноксигенний*, при якому молекулярний кисень не виділяється.

Асиміляція CO_2 у присутності світла відбувається окисним шляхом з виділенням кисню і описується рівнянням:



Донором електронів у цій реакції виступає вода.

В анаеробних умовах за присутності світла для асиміляції CO_2 аноксигенним шляхом донором електронів може виступати сульфід:



Хемолітоавтотрофи використовують неорганічні сполуки (амоній, нітрати і нітроти, сульфіді, тіосульфати, сульфіти, елементарну сірку, молекулярний водень, оксид вуглецю) як донори водню або електронів. Термінальним акцептором водню виступає кисень. У хемолітоавтотро-

фів системи енергетичного і конструктивного обміну не мають спільних метаболітів. Взаємозв'язок між цими двома потоками реакцій регулюється рівнем АТФ і НАДН у клітині.

Екологічна роль автотрофів – створення первинної органічної продукції. Літотрофні бактерії відіграють важливу роль у біогеохімічних перетвореннях азоту, сірки, заліза, а також у мобілізації важкодоступних сполук, необхідних для живлення рослин.

Поряд із цим діяльність автотрофів може приводити до небажаних наслідків. Так, окиснення аміаку може привести до забруднення ґрунтів і рослинницької продукції нітратами, утворення сірководню – до забруднення родовищ нафти і газу та до погіршення їхньої якості. Діяльність сульфатвідновлювальних бактерій у певних екологічних умовах зумовлює мікробно індуковану корозію металевих і бетонних споруд.

4.2. Гетеротрофія

Гетеротрофні прокаріоти не можуть синтезувати органічні речовини з диоксида вуглецю, вони використовують готові органічні сполуки, синтезовані іншими організмами. Джерелом енергії для гетеротрофів можуть бути світло, органічні і неорганічні сполуки, а донорами електронів виступають органічні і неорганічні сполуки.

Найбільш складними трофічними потребами характеризуються мікроорганізми, що розвиваються в таких біологічних субстратах, як молоко, гній, відмерлі рештки рослин і тварин. Менш залежні від інших організмів ті органотрофи, які засвоюють простий органічний субстрат, із якого вони самі синтезують необхідні моно- і полімери. Тому окиснення субстрату повинно проходити через ряд проміжних продуктів, які включають систему малих молекул, наприклад, простих вуглеводів і органічних кислот. Оскільки у органотрофних мікроорганізмів блоки для побудови біомаси утворюються при деструкції окислюваного субстрату, то енергетичний і конструктивний потоки у них об'єднані.

Основними шляхами катаболізму глюкози є гліколіз (шлях Ембдена-Мейєргофа-Парнаса), кетодезоксифосфоглюконатний (шлях Ентнера-Дудорова), глюконатний, пентозофосфатний. У катаболізмі органічних кислот переважає цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса).

Гетеротрофи здійснюють деструкцію органічних речовин. Відмерла біомаса, накопичена продуцентами, складається з білків, ліпідів, вуглеводів, які розкладаються бактеріями-гідролітиками відповідно пептолітичним, ліполітичним і сахаролітичним шляхами. Після заселення субстрату гетеротрофами, відбувається його гідроліз до мономерів, які надходять до мікробних клітин осмотичним шляхом і використовуються в анаболічних і катаболічних реакціях.

5. МІКРОБНІ УГРУПОВАННЯ ҐРУНТУ

5.1. Основні поняття екології ґрунтових мікроорганізмів

У сучасній ґрунтовій мікробіології сформувався екологічний напрямок досліджень, що складається з постулатів, з одного боку, загальної екології, а з іншого – ґрунтової мікробіології.

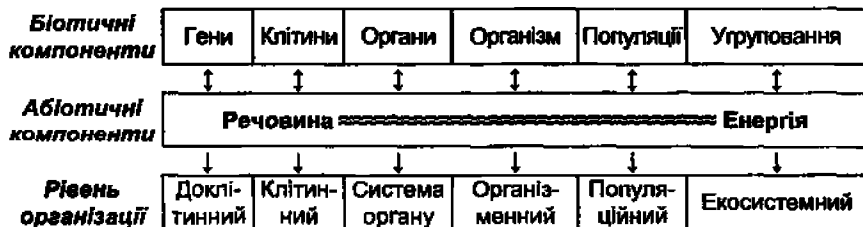
Термін “екологія” належить німецькому біологу Ернсту Геккелю. У 1866 р. у книзі “Загальна морфологія організмів” він запропонував для нової галузі біології назву, яка походить від грецьких слів *oikos* – місце існування, житло і *logos* – вчення, слово. За визначенням Геккеля, “Екологія – це наука, яка вивчає взаємовідносини організмів із навколишнім середовищем, до якого ми відносимо у широкому розумінні всі умови існування”. До умов існування він відносив як неорганічні (фізичні і хімічні фактори), так і органічні (сукупність відносин даного організму з іншими істотами).

З того часу суть формулювання Геккеля мало змінилася. Нині екологією називають науку, предметом вивчення якої є взаємовідносини і взаємодія між живими системами (біотичними компонентами) і навколишнім середовищем (абіотичними компонентами). У межах загальної екології сформувались окремі її напрямки: факторіальна, або аутоекологія, вивчає взаємовідносини організмів з навколишнім середовищем, вплив зовнішніх фізико-хімічних факторів на організми; предметом синекології є вивчення взаємовідносин організмів даного виду між собою та представниками інших видів.

Відповідно до цих визначень екологія ґрунтових мікроорганізмів вивчає взаємовідносини мікробіоти з ґрунтом, а також взаємодію її з мікро-, мезо- і макрофауною та вищими рослинами. У межах екології ґрунтових мікроорганізмів сформувались окремі її напрямки: аутоекологія вивчає взаємовідносини мікробних популяцій із навколишнім середовищем (для ґрунтових мікроорганізмів це тверда, рідка і повітряна фази ґрунту); предметом синекології є вивчення взаємовідносин мікроорганізмів даного виду з представниками інших видів, які входять до складу мікробного ценозу.

5.2. Ієрархічні рівні організації мікробної системи ґрунту

Екологія – наука системна, вона вивчає біологічні об'єкти на рівні систем певного рівня інтеграції. Основою системного підходу в екології є концепція ієрархічної організації біологічних систем. *Біологічна система* – це єдине ціле упорядковано діючих взаємопов'язаних і взаємозалежних компонентів. Кожна біологічна система побудована за принципом *ієрархії*. Слово ієрархія означає розміщення рядів сходинками. Ієрархічний підхід до вивчення біологічних систем передбачає, що на кожному рівні організації існує система, яка складається з певних структурних одиниць, і в той же час сама ця система є складовою більш складної системи вищого рівня організації. В загальній екології виділяють основні рівні організації біологічних систем, які можна представити такою схемою:



Теоретично кожен із цих рівнів може бути подовжений. На кожному рівні виникають специфічні функціональні системи. При об'єднанні декількох підсистем у більші функціональні одиниці виникають якісно нові *емерджентні (сукупні)* властивості, які не характерні були для окремих екологічних одиниць, що об'єдналися.

Екологія ґрунтових мікроорганізмів також базується на *системному підході*, тобто мікробіота ґрунту розглядається як складна біологічна самоврегульована система з ієрархічними рівнями організації. В сучасній екології ґрунтових мікроорганізмів виділяють такі рівні організації: *позаклітинний, клітинний, популяційний, ценотичний*.

На *позаклітинному рівні* вивчають наявні у ґрунті макромолекули, які продукуються мікроорганізмами, рослинами, мікро- і мезофауною. Вони існують поза клітинами у адсорбованому на ґрунтових часточках стані або у ґрунтовому розчині – це ферменти, полісахариди, вітаміни, нуклеїнові кислоти, гази, летючі органічні сполуки, тощо. Продукти мікробного синтезу, які виділяються у ґрунт, формують його біологічний

потенціал. Вони можуть виконувати як позитивну, так і негативну роль. Наприклад, позаклітинні мікробні ферменти виконують важливу позитивну роль у трансформації органічних сполук, рослинних рештків, у деградації токсичних пестицидів та їх залишків. Негативна роль мікробних метаболітів виявляється у накопиченні мікробних токсинів, сірководню, які пригнічують розвиток мікроорганізмів і рослин.

На клітинному рівні досліджують процеси, які відбуваються у клітинах ґрунтових мікроорганізмів, генетичні події у їх геномі, зміни пулу білків, вуглеводів, ліпідів та ін. Екологічні дослідження виявили генотоксичний вплив деяких пестицидів на генетичний апарат ґрунтових мікроорганізмів. Внаслідок цього змінюється біохімічна активність мікроорганізмів, напрямок трансформації органічних речовин у ґрунті.

На популяційному рівні досліджують мікробну популяцію – сукупність мікроорганізмів одного виду, що локалізуються у мікросередках ґрунту й обмінюються генетичною інформацією. Члени популяції мають однакові екологічні властивості, єдину специфічну реакцію на дію факторів середовища, а також однакові фізіологічні і біохімічні особливості. Дослідження на цьому рівні сформували окремий напрямок екології *синекологію* (популяційну екологію). Важливими поняттями популяційної екології є *місцєіснування* й *екологічна ніша* виду. Місцєіснування – це простір, де існує мікробна популяція (живе, розмножується, виявляється). Екологічна ніша – більш широке поняття, яке включає не тільки фізичний простір, але й умови існування, трофічні особливості і функціональну роль мікроорганізму в угрупованні. Ю. Одум наводить таке порівняння: якщо місцєіснування – адреса організму, то екологічна ніша – це його професія. У різних місцях ґрунту можуть утворюватися близькі за характеристиками умови, тому види, які займають одну екологічну нішу, можуть бути виявлені у різних місцєіснуваннях. З іншого боку, в одному місцєіснуванні екологічні умови можуть змінюватися настільки, що відбувається зміна мікроорганізмів, які займають різні екологічні ніші. Групи видів в угрупованні, які мають подібні ніші, називають *гільдіями*. Види, які займають однакові екологічні ніші у різних географічних областях, називають *екологічними еквівалентами*.

Згідно з *правилом Гаузе* два види мікроорганізмів з однаковими потребами у живленні не можуть займати одну екологічну нішу. Зв'язки між нішами можуть бути функціональними (переважно зумовлені трофічними потребами мікроорганізмів) або топічними (за характером місцєіснування).

Слід зазначити, що, незважаючи на спільні риси мікробних клітин, що входять до складу популяції, все ж мікробна популяція є гетероген-

ною. Популяційний аналіз використовують при селекції різних продуцентів. Для цього популяцію розсівають на агаризоване поживне середовище й аналізують окремо кожен колонію за її фізіологічними властивостями. Іноді при розсіві виявляється, що в межах однієї популяції наявні бактерії, які формують різні за морфологією колонії – гладенькі і шорсткі, або складчаті. Якщо з кожної колонії відсіяти ізоляти, то виявляється, що і фізіологічна активність кожного ізоляту є різною.

Мікробна асоціація – це угруповання мікроорганізмів двох або більше видів, які сумісно існують у природних умовах і можуть бути створені в експерименті після ретельного вивчення трофічних та інших потреб асоціантів. Беручи до уваги факт, що мікроорганізми у ґрунті розміщуються мікроосередками і в кожному їх діяльність залежить від наявності і доступності джерел живлення та енергії, слід вважати, що об'єднуючим фактором для мікробної асоціації може бути певна група біохімічних процесів, наприклад азотфіксуючі або целюлозоруйнівні асоціації. Мікробні асоціації формуються за принципом сумісності (протокооперації, коменсалізму, мутуалізму) з окремих популяцій. Асоціації можуть бути природними, сформованими за певних екологічних умов у природних середовищах. Крім того, асоціації можуть бути штучно створеними з двох або більше культур мікроорганізмів. Важливе значення мають штучно створені асоціації для використання у процесах біологічної очистки стічних вод і ґрунту. Останнім часом усе більш поширеними є багатокomпонентні асоціації у складі бактеріальних добрив на основі декількох культур, наприклад, азотфіксуючих бактерій роду *Azotobacter*, *Azospirillum* і фосфатмобілізуєчих споруутворюючих бактерій *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*.

Ценотичний рівень оперує поняттями "мікробний ценоз" або "мікробне угруповання". Зміст їх найбільш точно відображений у формулюванні К.І. Андреюк та О.В. Балагурової: *мікробний ценоз* ((мікробне угруповання) – це відкрита біологічна система, що є сукупністю численних асоціацій мікроорганізмів, які населяють певну ділянку середовища (педосферу) з більш-менш однорідними умовами (мікроклімату, водного режиму, геологічної будови) і здійснюють трансформацію органічних і мінеральних речовин даного біогеоценоза. У ґрунті мікроорганізми ніколи не діють поодинокі, завжди це певне угруповання. Їх життєдіяльність та взаємодія із навколишнім середовищем є результатом складних взаємин між різними популяціями і асоціаціями. Взаємовідносини між мікроорганізмами можуть бути як позитивними (кооперативними), так і негативними (конкурентними).

На відміну від рослинних і тваринних угруповань, у мікробних угрупованнях взаємодія з навколишнім середовищем носить характер хімічних і біохімічних реакцій. Відповідно до вимог термодинаміки ці реакції повинні бути енергетично вигідними для мікроорганізмів, які їх здійснюють. Тому у кожному мікробному угрупованні перевагу у розвитку будуть мати ті популяції, енергетичні і кінетичні характеристики яких найбільшою мірою відповідають умовам даного середовища. Зв'язки між окремими популяціями в угрупованні можуть бути прямими і зворотними, нерозгалуженими і розгалуженими, позитивними і негативними, трофічними і топічними.

5.3. Типи екосистем

Біологічні угруповання і неживе середовище функціонують разом, утворюючи *екосистему*. Термін екосистема вперше був запропонований англійським екологом Д. Тенслі (1935). *Екосистема – це будь-яка біологічна система, яка включає організми, що у певній ділянці середовища функціонують разом і утворюють біотичне угруповання, причому функціонування угруповання є таким, що забезпечує взаємодію з фізичним середовищем і кругообіг між біотичними (живими) і абіотичними (неживими) компонентами*. Прикладами екосистем можуть бути акваріум, річка, болото, море, екосистема космічного корабля і т.д. Стосовно наземних екосистем угрупованню відповідає термін *біоценоз*, а екосистемі – *біогеоценоз* (буквально життя і земля, що функціонують разом). *Біом* – крупна регіональна або субконтинентальна біосистема з певним типом рослинності чи відмінностями ландшафту (наприклад, біом листяних лісів помірного поясу).

Найбільшою самозабезпеченою самоврегульованою системою є *біосфера, або екосфера*. Вона включає усі живі організми, що взаємодіють із фізичним середовищем Землі як одне ціле, щоб підтримувати цю систему у стані *стійкої рівноваги*, отримуючи потік енергії від Сонця та випромінюючи її у космічний простір. *Під стійкою рівновагою розуміють здатність саморегульованої системи повертатися у вихідний стан після невеликих відхилень*.

Кожна система функціонує завдяки тому, що витрачає певну кількість енергії. За джерелами енергії, яку екосистема витрачає для підтримання свого функціонування, Ю. Одум виділяє 4 типи систем (таблиця 5.1).

Таблиця 5.1

**Класифікація екосистем за джерелами
і рівнем надходження енергії
(за Ю. Одумом, 1986 р.)**

№ з/п	Тип екосистеми	Щорічне надходження енергії, ккал·м ⁻²
1	Природні системи, які отримують енергію Сонця і не отримують додаткових субсидій енергії.	1000–10 000
2	Природні системи, які отримують енергію Сонця і додаткові субсидії енергії з природних джерел (енергія припливів, додаткові надходження субстратів до озера з джерельною водою та ін.).	10 000–40 000
3	Природні системи, які отримують енергію Сонця і додаткові субсидії енергії, яка виробляється людиною (агроекосистеми, аквакультури).	40 000–100 000
4	Штучні екосистеми, які функціонують за рахунок субсидій енергії, що виробляється людиною (теплічне господарство, штучні зелені зони міст, виробництво біотехнологічної продукції). Ці екосистеми є паразитичними і використовують продукцію, що накопичена екосистемами 1–3 типів.	100 000–3 000 000

В екологічних системах невідмінно відбуваються два протилежних процеси: *продукційний* процес утворення органічних сполук із неорганічних і *деструкційний* процес – розкладу органічної речовини до мінеральних складових. Мікробні угруповання ґрунту беруть активну участь у зазначених вище процесах. Енергія, яка вкладається людиною в екосистему, є субсидійною і здійснюється з метою створення умов, за яких продукційний процес перевищує деструкцію. Наприклад, в агроекосистемах ставиться за мету виробництво додаткової рослинницької та тваринницької продукції, яка відчужується для задоволення потреб людства у харчуванні та отриманні необхідної сировини. Часто в антропогенних екосистемах переважають деструкційні процеси (вирубки лісів, осушення боліт, падіння родючості ґрунтів та ін.), які не компенсуються людиною.

Система, в якій існує продукційно-деструкційна рівновага, називається *клімаксною*. Теоретично клімаксна екосистема може підтримувати себе нескінченно довго, оскільки усі її внутрішні компоненти врівноважені одне з одним і така ж рівновага існує з факторами навколишнього середовища. Клімаксні системи можуть існувати у природі за умов відсутності впливу на них несподіваних факторів або дії людини. У дійсності у

природі стабільність умов спостерігається дуже рідко. Часто якісні зміни ґрунту, водного режиму (посухи, повені, зливи) або катастрофічні події (пожежі, землетруси) є перепорою для того, щоб система знаходилась у клімаксоному стані невизначено довгий час. Із зміною умов змінюється і функціонування системи для пристосування у нових екологічних умовах.

Усі екосистеми є *відкритими*, тобто вони повинні отримувати і віддавати енергію. Тому важливими показниками для функціонування екосистеми є стан середовища на вході і на виході. Зміни вхідних і вихідних параметрів залежать від таких факторів:

- розмірів системи – чим вона більша, тим менше залежить від зовнішнього середовища;
- інтенсивності обміну – чим він більший, тим більш значні зміни вхідних і вихідних параметрів;
- збалансованості продукційних і деструкційних процесів – якщо рівновага порушена, то система потребує більшого притоку енергії для відновлення рівноваги;
- стадії розвитку системи – молоді системи характеризуються меншою рівновагою у порівнянні зі зрілими.

Усі природні самоврегульовані системи, незалежно від ступеню складності, характеризуються *гомеостазом*, тобто внутрішньою динамічною рівновагою, яка підтримується певними компенсаційними механізмами, що забезпечують здатність відновлювати чисельність і співвідношення компонентів їх структури, регенерувати матеріальні й енергетичні запаси. Гомеостаз забезпечує надійність функціонування систем за умов дії на них несприятливих факторів. Гомеостаз мікробних угруповань підтримується за рахунок збалансованого функціонування їхніх трофічних блоків і залежить від наявності в системі енергії, яка може бути використана на нівелювання негативного впливу середовища. Компенсаційні механізми, що підтримують гомеостаз біологічної системи у несприятливих умовах, можуть бути різними: пристосування або адаптація, резистентність або толерантність, виживання, відновлення тощо.

5.4. Просторова структура мікробних угруповань

Поняття структури в екологічній літературі має декілька трактовок і вживається як синонім:

- 1 – будови (просторова структура);
- 2 – складу (таксономічна структура);
- 3 – сукупності зв'язків (функціональна структура).

К.І. Андреюк та О.В. Валагурова, базуючись на цих поняттях при структурному аналізі мікробного ценозу, розрізняють *просторову структуру*, що характеризує розміщення мікроорганізмів у ґрунті; *таксономічну структуру*, що характеризує видовий чи родовий склад мікроорганізмів даного мікробного ценозу; *функціональну структуру*, що дає уявлення про сукупність зв'язків між мікроорганізмами, які здійснюють певні функції в даному ценозі.

Просторова структура мікробних угруповань – це *горизонтальний та вертикальний розподіл мікроорганізмів у ґрунті*. Різний розмір ґрунтових часточок, нерівномірний розподіл поживних речовин, неоднорідність фізико-хімічних параметрів створюють умови для розвитку мікроорганізмів мікроосередками.

Вивчення просторового розподілу мікроорганізмів у ґрунті стало можливим завдяки розробленим методам їх прямого спостереження.

М.Г. Холодний першим запропонував метод пластинок обростання, коли предметне скло вміщується у розріз ґрунту на певний проміжок часу, впродовж якого воно обростає аборигенними мікроорганізмами. Після забарвлення можна вивчати кількісне і якісне різноманіття мікроорганізмів на склі.

Б.В. Перфільєв і Д.Р. Габе розробили систему капілярів із тонкими стінками і прямокутними каналами, які вони назвали педоскопами. Після занурення у ґрунт і заповнення рідкою фазою в капілярах розвиваються мікроорганізми, які можна вивчати після того, як капіляри будуть виїняті з ґрунту. Т.В. Аристовська запропонувала заповнювати капіляри педоскопів агаризованим середовищем, яке містить органо-мінеральний комплекс гумінових кислот. К.О. Мятликова модифікувала педоскопи і запропонувала замість складної системи капілярів використовувати капілярний простір, який утворюється між предметним і покривним склом за допомогою прошарку тонкої пергаментної бумаги, розміщеної з двох боків покривного скла. Схеми пристроїв для вивчення просторової структури мікробних угруповань ґрунту з використанням світлового мікроскопу наведені на рис. 5.1.

Для вивчення розподілу мікроорганізмів у ґрунті з непорушеною структурою Д.Г. Звягінцев застосував метод флуоресцентної мікроскопії, Д.І. Нікітін – прямий електронно-мікроскопічний аналіз ґрунту, В.С. Гузев – метод електронно-мікроскопічного аналізу угруповань, розвиток яких ініційований внесенням у ґрунт певних енергетичних субстратів (метод ініційованого мікробного угруповання).

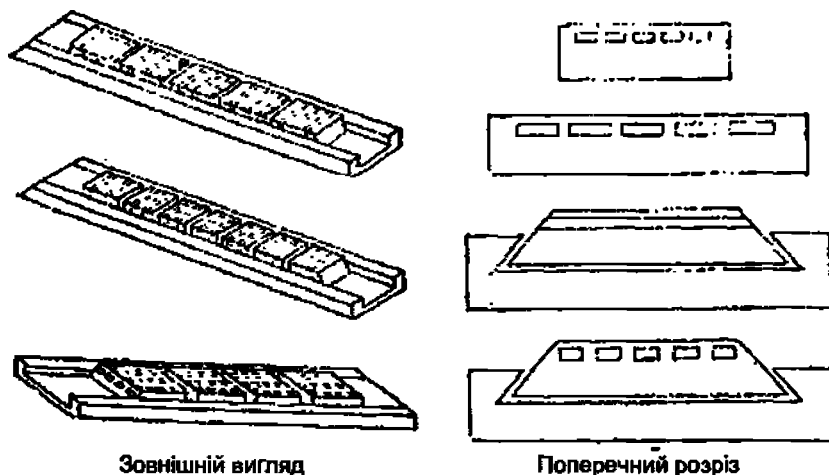


Рис. 5.1. *Схеми педоскопів різних модифікацій для вивчення просторової структури мікробних угруповань ґрунту*

К. Зобел і М. Андерсон у 50-х роках минулого століття показали, що мікроорганізми у природі ростуть із утворенням біоплівки. Експериментальне підтвердження це явище отримало з розвитком техніки мікроелектродів, а також використанням можливостей лазерного конфокального мікроскопу. Було встановлено, що ріст мікроорганізмів у біоплівках має переваги над вільно “плаваючими” (“планктонними”) мікроорганізмами. Тісні структурні взаємовідносини мікроорганізмів у біоплівках дають можливість інтенсивного обміну метаболітами (хімічна комунікація), а також обміну генетичним матеріалом, що дає можливість більш ефективної адаптивної мінливості в угрупованні. У біоплівці щільність популяції створює “ефект кворума”, який зумовлений тим, що клітини екскретують сигнальні молекули, концентрація яких залежить від щільності популяції. Відповідно на поверхні клітин є сенсорні ділянки, а в мембрані – “виконавчі”, які реагують на сигнали з поверхні клітини. Встановлено, що у грамнегативних бактерій сигнальними молекулами є N-ацил-L-гомосеринлактони, а виконавчими – гістидинкіназа, яка каталізує аутофосфорилування по гістидину і перехід фосфату на інший білок.

Використання описаних вище методів дозволило встановити, що одні мікроорганізми можуть розміщуватися на поверхні ґрунтових агрегатів або утворювати біоплівки, інші – займають простір всередині агрегатів або між ними. Мікроорганізми можуть знаходитись у вільно плава-

ючому стані у ґрунтовому розчині, можуть бути адгезовані на поверхні ґрунтових часточок і занурені в органомінеральний гель, який покриває ці часточки. Гіфи грибів і стрептоміцетів можуть пронизувати ґрунтові часточки наскрізь. Як показали дослідження Т.В. Аристовської, у підзолистих ґрунтах комплекси гумусових кислот з полуторними окислами металів накопичуються у ґрунті у вигляді гелів, плівки яких покривають поверхню ґрунтових часточок і використовуються мікроорганізмами як поживний субстрат.

Чисельність мікроорганізмів, що виявляється прямими методами, набагато більша, ніж у посівах на поживних середовищах. Крім того, прямі методи дозволили виявляти рідкісні у морфологічному відношенні оліготрофні мікроорганізми – стебельчасті, нитчасті, спіральні вигнуті, зіркоподібні (рис. 5.2).



Рис. 5.2. Морфологія деяких оліготрофних (дисипотрофних) мікроорганізмів (за Д.І. Нікітіним, 1978 р.)

Особливо велика кількість їх у ґрунті виявляється на кінцевих стадіях розкладу органічних решток. У лабораторних умовах ці мікроорганізми культивуються на "голодних" середовищах із низьким вмістом (слідові кількості) поживних речовин, швидкість їх росту мала. Ці мікроорганізми відносять до оліготрофних (дисипотрофних).

Вивчення просторового горизонтального розподілу мікроорганізмів підтвердило його неоднорідність. В одному шарі ґрунту поряд із густо заселеними педоскопами з численними і різноманітними за складом угрупованнями зустрічаються педоскопи з мізерним обростанням одоманітною мікробіотою. Вертикальний розподіл у цілинному ґрунті характеризується найбільш щільним заселенням мікроорганізмами верхніх шарів; в орних ґрунтах розподіл мікроорганізмів значною мірою залежить від способу обробітку. При щорічній оранці з обертанням скиби вертикальна диференціація орного шару зменшується і розподіл мікроорганізмів стає дещо однотиповим. При мінімальному обробітку ґрунту на глибину не більше 3–5 см просторова структура мікробних угруповань наближується до цілинних ґрунтів.

5.5. Таксономічна структура мікробних угруповань

Таксономічна структура мікробного угруповання характеризується кількістю і співвідношенням мікроорганізмів певних видів, родів або класів, що входять до його складу. Специфіка таксономічного складу мікробних угруповань ґрунтів різних кліматичних зон була виявлена в роботах С.О. Северіна, М.М. Лазарева, М.О. Красильникова.

Теоретичне узагальнення закономірностей розповсюдження мікроорганізмів у ґрунтах зробив Є.М. Мішустін, сформулювавши *теорію географічної зональності розповсюдження мікроорганізмів*, згідно з якою географічний фактор має вирішальне значення для ґрунтоутворення і специфічно впливає на формування мікробних ценозів ґрунтів. Теорія Є.М. Мішустіна співзвучна сформульованому В.В. Докучаєвим закону зональності природи, суть якого полягає у тому, що ґрунтоутворювачі (рослини) розповсюджені на земній кулі зонами (як за широтою, так і за довготою) у зв'язку з астрономічним положенням Землі та її обертанням навколо своєї осі.

Є.М. Мішустін розробив теорію географічної зональності розповсюдження мікроорганізмів на основі узагальнення великої кількості мікробіологічних аналізів ґрунтів різних типів, зразки яких відбирали у числен-

них експедиціях на крайню Північ, у Лісостеп і Степ. Виявилось, що при переміщенні з півночі на південь (від підзолистих до чорноземних, каштанових і сіроземних ґрунтів) зростає чисельність мікроорганізмів і відбувається зміна домінуючих видів. На півночі в підзолистих ґрунтах переважають мікрококи і неспороутворюючі бактерії (частіше представники родів *Achromobacter*, *Pseudomonas*). Спороутворюючі бактерії зустрічаються в незначній кількості, серед них переважають *Bacillus agglomeratus*, *B.cereus*, *B.mycoides*. Чисельність актиноміцетів невелика, вони виявляються, в основному, у кореневій зоні рослин або удобреному екскрементами тварин ґрунті і представлені, переважно видами *Streptomyces albus*, *S.griseus*, *S.candidus*. Чисельність мікроскопічних грибів у ґрунтах Півночі також невелика, переважають представники родів *Penicillium*, *Dematium*.

У ґрунтах, що знаходяться південніше (чорноземи, темно-каштанові ґрунти), чисельність мікроорганізмів зростає у порівнянні з північними, при цьому у складі мікробних угруповань відносна кількість неспороутворюючих бактерій зменшується, а спороутворюючих – збільшується. У видовому складі останніх домінують *Bacillus megaterium*, *B.idosus*, *B.subtilis*. Чисельність стрептоміцетів у південних ґрунтах більша у порівнянні з північними. У чорноземах європейських степів частіше всього зустрічаються представники груп *Albus*, *Rubro-aurantiacus*, *Olivaceus*, *Chromogenes*, *Flavus*, *Lavendulae*. Стосовно мікроміцетів для південних ґрунтів відмічається тенденція зменшення загальної чисельності при збільшенні їх видового різноманіття. В мікобіоті південних ґрунтів переважають представники родів *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Trichoderma*.

Еколого-географічний напрямок досліджень ґрунтової мікробіоти у нинішній час розвивається з використанням сучасної систематики архей, еубактерій, грибів. Зокрема, І.Ю. Черновим проведено вивчення географічного розповсюдження дріжджів у ґрунтах різних типів і різних кліматичних зон. Встановлено, що такі види, як *Cryptococcus laurentii*, *C. albidus*, є еврибіонтними, тобто їх можна виділити з ґрунтів будь-якого типу. В той же час є види, які мають тільки певний ареал розповсюдження, наприклад, *Cryptococcus gilvescens* можна виділити лише з ґрунтів тундрової зони. Широтно-зональні зміни таксономічного складу мікобіоти проявляються також у різній частоті виявлення певних видів.

Важливою характеристикою мікробного угруповання є чисельність видів, які входять до його складу. *Ємність екосистеми* – це її здатність створювати умови існування для популяцій різних видів. Чим більше видів існують у даній екосистемі – тим більша її ємність. Для ха-

рактеристики видового різноманіття (біорізноманіття) мікробних угруповань використовують такі екологічні характеристики:

Індекс видового багатства Сімпсона (d_s):

$$d_s = (S - 1) / \lg N,$$

де S – число видів; N – число особин.

Індекс видового багатства Менхініка (d_M):

$$d_M = S / \sqrt{N},$$

де S – кількість виявлених видів; N – загальна кількість особин.

Індекс домінування Бергера-Паркера (d_B):

$$d_B = N_{\max} / N,$$

де $N_{\max}$ – кількість особин найбільш чисельного виду; N – загальна чисельність виділених видів.

Індекс різноманіття Шеннона (H):

$$H = - \sum P(i) \log_2 P(i),$$

$$H_f = - \sum P(f) \log_2 P(f),$$

$$H_t = - \sum P(t) \log_2 P(t),$$

де $P(i)$ – імовірність значущості для кожного виду виявлення у просторі та у часі. Просторова частота виявлення (f) – це відношення числа зразків, у яких вид був виявлений до загального числа досліджених зразків. Частота виявлення у часі (t) – це відношення числа моментів часу, коли вид був виявлений до загального числа моментів відбору зразків. Сумісне використання показників частоти виявлення у просторі і у часі дає можливість диференціювати роди і види на такі категорії:

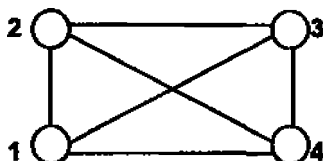
- домінуючі, для яких обидва індекси мають значення $> 50\%$;
- типові, для яких обидва індекси мають значення $> 30\%$;
- рідкі, для яких індекс H_f має значення $> 30\%$, а $H_t < 30\%$;
- випадкові, для яких обидва індекси мають значення $< 30\%$.

Коефіцієнт подібності Соренсена (S):

$$S = 2C / (A + B),$$

де A – сума частот виявлення певного виду у зразках ґрунту з першого об'єкта; B – сума частот виявлення цього ж виду у зразках ґрунту з другого об'єкта; C – сума частот виявлення видів, однакових для першого і другого об'єктів.

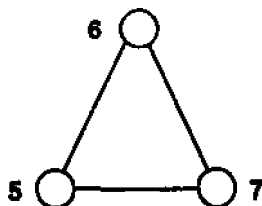
У сучасній ґрунтовій мікробіології для характеристики таксономічної структури мікробних угруповань використовують статистичні і математичні методи. В.М. Борисова для виявлення в певних біогеоценозах характерних груп гіфоміцетів використала статистичний метод кореляційних плеяд. Вперше цей метод був застосований П.В. Терентьевим у таксономічному аналізі для виявлення корелюючих і некорелюючих ознак біологічних об'єктів. Цей метод полягає в тому, що на основі розрахунків парних кореляцій між видами (або їх ознаками) виявляють групи, які пов'язані між собою тісними кореляційними зв'язками і формують певну структуру цих зв'язків. В.М. Борисова використала цей метод для аналізу таксономічного різноманіття гіфоміцетів у різних за віком насадженнях бука. Було виявлено, що у ґрунті під багаторічними насадженнями буку (40 років) формується 4-членна плеяда з таких родів:



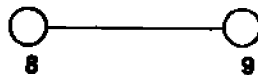
1 – *Endophragmia*; 2 – *Penicillium*; 3 – *Staphylotrichum*; 4 – *Helicosporium*

Ця плеяда є міцною, оскільки кожен з її членів пов'язаний з іншими трьома зв'язками.

У лісах меншого строку насаджень (20 років) форма плеяди змінюється на трикутник, який утворений такими родами: 5 – *Verticicladium*; 6 – *Stachybotrys*; 7 – *Trichothecium*. Ця плеяда має меншу міцність, тому що розрив хоча б одного зв'язку веде до руйнування усієї плеяди.



При проведенні вирубки лісів плеяди у ґрунті взагалі відсутні, а в підстилці відмічається простий лінійний зв'язок між родами: 8 – *Drechslera*; 9 – *Scytalidium*:



Таким чином, міцні плеяди зв'язків характерні для мікобіоти кліматичних систем або для біогеоценозів у непорушеному стані.

Завдяки тому, що ґрунт є місцем існування численних видів мікроорганізмів, він відіграє важливу роль у збереженні біорізноманіття мікобіоти. Наведені вище дані стосовно видового складу прокаріотів і грибів у ґрунтах різних типів були отримані традиційним методом посіву ґрунтової суспензії на поживні середовища з наступним виділенням чистих культур мікроорганізмів і визначенням їх таксономічного положення за морфологічними і фізіологічними ознаками.

У сучасній екологічній літературі одним із найактуальніших є питання збереження видового різноманіття природи, існує міжнародна програма зі збереження біорізноманіття. Важливою складовою цієї програми є збереження біорізноманіття мікобіоти ґрунту. Угрупування з високим видовим багатством є більш стійким до змін умов існування, тому що воно може реагувати на ці зміни більш різноманітними способами, порівняно з угрупованням з малим числом видів.

Основною перешкодою у вивченні видового різноманіття мікроорганізмів є те, що дослідник має справу з частиною угруповання. Дані стосовно видового складу прокаріотів і грибів у різних середовищах переважно були отримані традиційними методами виділення чистих культур і визначенням їх таксономічного положення. Проте далеко не всі мікроорганізми культивуються на штучних середовищах. У 1956 р. голландський дослідник А. Ключвер передбачив, що половина існуючої на Землі живої протоплазми належить клітинам мікроорганізмів. На сучасному етапі ця гіпотеза отримала експериментальне підтвердження. Використання молекулярних методів досліджень показало, що кількість виділених чистих культур мікроорганізмів у відношенні до їх чисельності у природі становить менше 0,1%. Були проведені підрахунки, згідно з якими за умов існуючої швидкості відкриття і опису нових видів усі рослини і тварини будуть описані протягом найближчих 50 років, тоді як на опис усіх видів мікроорганізмів знадобиться 10 000 років.

Останнім часом усе більш популярними є методи вивчення біорізноманіття мікробного населення ґрунту без виділення чистих культур мікроорганізмів. Зокрема, використовують метод мультисубстратного тестування для визначення метаболічного потенціалу угруповань. Суть цього методу полягає у тому, що на планшеті в окремі лунки нанесені різні поживні субстрати: вуглеводи, ліпіди, білкові субстрати, а також

тест на дихання з використанням люмінесцентних солей тетразолію. У кожну лунку вносять водну суспензію ґрунту. Якщо угруповання різняться за фізіологічними властивостями, то вони будуть метаболізувати різні поживні субстрати, що дасть певну картину засвоєння нанесених у лунки субстратів.

Інтенсивно розвивається молекулярна екологія, яка базується на принципі вивчення біорізноманіття мікроорганізмів із застосуванням аналізу окремих елементів їх генетичного матеріалу. Найбільш поширеним є експериментальний підхід *рибосомної філогенетики*, яка вивчає філогенетичні характеристики мікроорганізмів шляхом порівняння первинної структури послідовностей рибосомних генів або їхніх продуктів – рибосомальної РНК (рРНК). Найбільш поширеним маркером є ген РНК малої субодиниці рибосоми – 16S rRNA (рРНК). Застосування рибосомної філогенетики для вивчення мікробних угруповань базується на тому припущенні, що кожний член угруповання має свій унікальний тип послідовностей гена 16S rRNA (16S rDNA).

При вивченні угруповання не на рівні окремих цілих клітин, а на рівні елементів їх геномів був запропонований термін *філотип*, який означає специфічну послідовність генів для окремого члена мікробного угруповання. Визначення присутності філотипу не залежить від можливостей його культивування в умовах лабораторії.

Серед методів молекулярної екології переважають такі:

- сіквенс-аналіз: екстракція з ґрунту нуклеїнових кислот (ДНК, РНК) з наступною ампліфікацією фрагментів гену 16S рРНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції і вивчення ампліфікованих фрагментів молекулярно-генетичними методами;

- дослідження екстрактів ДНК із різних середовищ за допомогою методу реасоціації та диференційного центрифугування в градієнті CsCl;

- дослідження екстрагованих із середовищ нуклеїнових кислот методом гібридизації з олігонуклеотидними маркерами (ДНК і РНК-зондами, міченими флуоресцентними барвниками);

- метагеномний метод, при якому клонуються і аналізуються великі фрагменти ДНК і метод експресійного клонування. Ці методи дають можливість виявляти не тільки гени 16S рРНК, але й структурні гени, відповідальні за роботу окремих ферментів.

Схема використання молекулярно-біологічних методів для аналізу мікробних угруповань представлена на рис. 5.3.

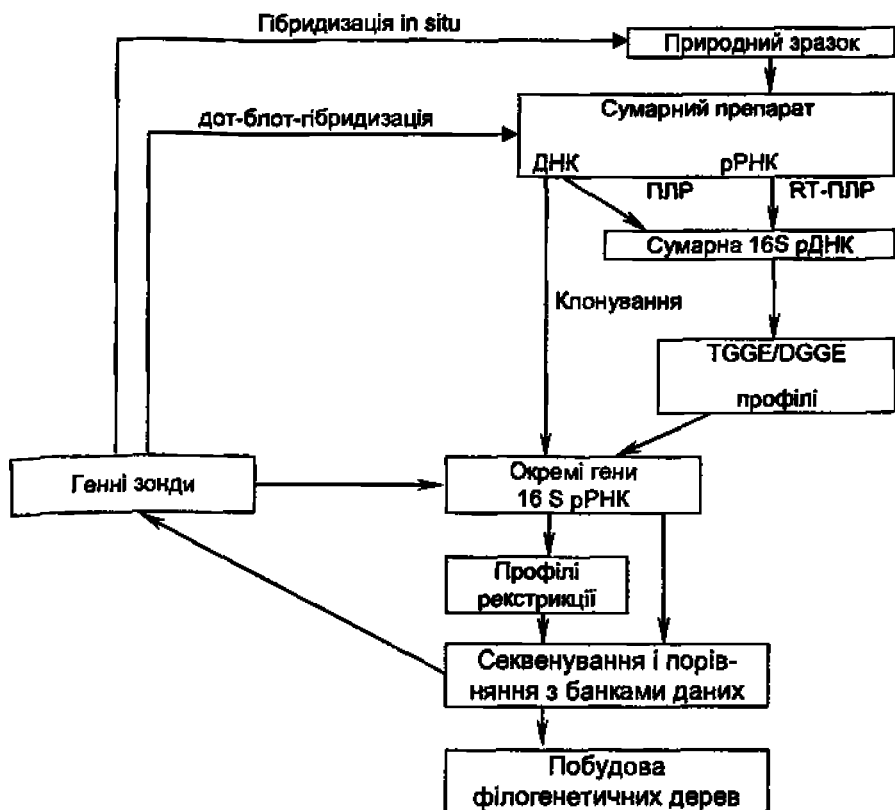


Рис. 5.3. Схема використання молекулярно-біологічних методів для аналізу мікробних угруповань без виділення чистих культур (за Т.П. Туровою, 2004 р.)

Найбільш важливими етапами *сіквенс-аналізу* є наступні:

1. **Виділення сумарного препарату нуклеїнових кислот (РНК+ДНК).** Необхідно ретельно відділити фракцію клітин від органічних і неорганічних компонентів середовища, що особливо важко зробити для такого середовища, як ґрунт. Крім того, слід визначити параметри отримання безклітинного екстракту, оскільки клітинні стінки різних мікроорганізмів потребують різних методів руйнування.

2. **Отримання сумарної фракції генів 16S rRNA або 16S rDNA, в якій будуть репрезентативно представлені гени 16S rRNA або 16S rDNA**

кожного з членів угруповання. Використовують рестрикцію ДНК ендонуклеазами. Можна отримувати ПЛР-ампліфікати генів 16S rRNA без рестрикції ДНК. Для цього використовують специфічні пари праймерів (прямого і зворотнього), що є комплементарними консервативним ділянкам на 5- і 3-кінцях гену.

3. *Розподіл фракції rDNA на окремі гени.* Для оцінки різноманіття філотипів необхідно розділити фракцію генів 16S rRNA на молекули, які ідентичні за довжиною, але різняться первинною структурою. Для цього використовують спосіб розділу ПЛР-ампліфікатів за допомогою молекулярного клонування у клітинах *E.coli*. Застосовують також градієнтні гель-електрофорези (температурний або денатуруючий), внаслідок чого отримують електрофоретичний профіль, у якому кожна смужка у поліакриламідному гелі відповідає якомусь члену угруповання.

4. *Аналіз генів 16S rRNA.* Точність виконання цього етапу залежить від точного групування ідентичних клонів, що зумовлене набором взятих у дослід рестриктаз окремих клонів. Використовують метод отримання рекомбінантних DNA. Для цього проводять рестрикцію DNA ендонуклеазами. Фрагменти DNA, що утворилися, встроюють у плазмідний або фаговий вектор і клонують у клітини *E.coli*. У наступному скринінгу отриманої бібліотеки вибирають ті клони, які містять вставки генів 16S rRNA. Після визначення послідовностей 16S rRNA їх порівнюють із послідовностями, що є у банку даних. Це дає можливість визначення філогенетичного положення членів угруповання. Для розпізнавання рідких і нових видів мікроорганізмів із ПЛР виключають найбільш поширені послідовності шляхом їх зв'язування зі специфічними пептидами.

Як приклад, на рис. 5.4 наведені результати філогенетичного аналізу мікробного угруповання ґрунту. Було проведено 99 сіквенсів, внаслідок чого отримано риботипи (філотипи), що відповідали таким класам: *Bacteroides*, *Sphingabacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacillus*, *Acidobacteria*, *Nitrospirae*. Але більшість типів залишились некласифікованими.

В молекулярній екології застосовують також *гібридизаційний аналіз* із використанням генних зондів. Створені генні зонди двох типів: філогенетичні і функціональні. *Філогенетичні молекулярні зонди* можуть бути використані 1) для препаратів ДНК і РНК, що виділені зі зразків певних екологічних середовищ або 2) для фіксованих цілих клітин. Використовують зонди, які здатні гібридуватися з різними ділянками послідовностей рибосомних генів малої 16S rRNA і великої 23S rRNA. Створені зонди, що є специфічними на різних таксономічних рівнях – від окремого виду (видові зонди) до усього мікросвіту (пан-зонди).

Для аналізу різних фізіологічних груп мікроорганізмів можуть бути використані *функціональні зонди*, в яких використовуються гени, що кодують ключові ферменти специфічної функції мікроорганізмів. Наприклад, як молекулярні маркери використовують гени, що детермінують азотфіксацію (нітрогеназа), автотрофію (ген рибулозо-1,5-бісфосфат карбоксилази/оксигенази), денітрифікацію (гени нітратредуктази), нітрифікації (гени монооксигенази амонію), метанотрофії (гени метанмонооксигеназ). Проте при використанні функціональних зондів існує ряд обмежень. Вони мають низьку чутливість аналізу внаслідок меншої кількості відповідних ДНК-мішенів. Можливе також зниження інтенсивності гібридаційного сигналу за рахунок того, що функціональні гени різняться у різних видів мікроорганізмів, які виконують однакову фізіологічну функцію.

Методи гібридаційного аналізу з використанням генних зондів є менш складними у порівнянні з скенс-аналізом. Можливе створення мікроматриці (мікродіпу), що дозволить автоматизувати аналіз сумарної ДНК, виділеної з різних екологічних середовищ.

Для аналізу мікробних угруповань безпосередньо у місцях існування застосовують *FISH-аналіз* (*Fluorescence in situ hybridization*), який виконується з використанням флуоресцентної мікроскопії і базується на застосуванні флуоресцентно мічених олігомерних філогенетичних зондів, мішенями яких є рибосомні РНК у фіксованих клітинах членів мікробного угруповання. Олігомерні флуоресцентні зонди здатні проникати через неушкоджену клітинну стінку життєздатних мікроорганізмів. Після спеціального фарбування флуоресцентними барвниками підраховують спочатку загальну кількість клітин у полі зору мікроскопу. Потім використовують набори флуоресцентних зондів для певних груп мікроорганізмів, у тому числі і для тих, що не культивуються в лабораторних умовах. Вимірюють інтенсивність гібридаційного сигналу і визначають кількість і співвідношення різних форм в мікробному угрупованні.

Результати робіт із молекулярної екології дозволяють зробити деякі *узагальнення*. Зокрема, відзначається, що цими методами можна виявити присутність у середовищах крупних таксонів на рівні класів або груп. Більшість зразків ДНК мають низький ступінь гомології з наявними у базах даних відомостями про послідовності відомих і вивчених мікроорганізмів. З'являються потенційні претенденти на нові види, в той час як поширені аборигени не виявляються цими методами. Припускають, що нові види – це життєздатні мікроорганізми, які не можна виявити сучасними методами культивування у лабораторних умовах.

Виявилося, що серед еубактерій 90% культивованих форм і 70% некультивованих відносяться переважно до чотирьох основних філогенетичних ліній: 1 – протеобактерії; 2 – флавобактерії – бактероїди-

цитофаги; 3 – клостридії; 4 – актиноміцети. Серед некультивованих форм також виявлені філотипи, які є космополітами.

Проте з'являється все більше прихильників думки про те, що генетична характеристика угруповань за маркерними генами повинна поєднуватись із фізіолого-біохімічною, оскільки різниця між окремими видами і навіть штамми одного виду може полягати не тільки у структурі певної ділянки геному, але і в його функціях, тобто у програмі реалізації.

5.6. Функціональна структура мікробних угруповань

Функціональна структура мікробного ценозу – це сукупність функціональних особливостей мікроорганізмів, які входять до складу мікробного угруповання, сукупність трофічних зв'язків між ними, а також функціональні взаємовідносини, які забезпечують зв'язок між мікроорганізмами і навколишнім середовищем.

Накопичення знань про фізіологічні особливості ґрунтової мікробіоти показало її багатофункціональність, що вимагає упорядкування і систематизацію знань про мікробне населення ґрунту. Першим це зробив С.М. Виноградський, який розподілив ґрунтові мікроорганізми на 2 групи: *зимогенну і автохтонну мікрофлору* від слів: *zimе* – закваска, *khthonos* – ґрунт. Представники зимогенної групи мають здатність швидко рости при попаданні у ґрунт органічних рештків, гною. Зимогенні мікроорганізми швидко розкладають органічні речовини, а коли їх запаси вичерпуються – переходять у стан спокою. Друга група – автохтонні мікроорганізми здатні розвиватись у ґрунті, який знаходиться у стані біологічної рівноваги. За формулюванням С.М. Виноградського, ці мікроорганізми переважають у ґрунті, який тривалий час знаходиться під паром, тобто тоді, коли легкодоступні поживні речовини вже вичерпані і мікроорганізми для свого живлення розкладають гумус.

Є.М. Мішустін доповнив трофічну схему мікробного угруповання, запропоновану С.М. Виноградським, ще двома групами: *оліготрофами і хемоавотрофами* (рис. 5.5). Таким чином, у трофічній структурі мікробного ценозу виділив 4 групи мікроорганізмів: зимогенна група, яка розкладає свіжі органічні рештки; автохтонна, яка розкладає гумусові речовини; оліготрофи, які задовольняються низькими концентраціями поживних речовин, що залишилися від мінералізації органічних рештків; хемолітоавотрофи, які використовують енергію мінеральних сполук для фіксації вуглекислого газу і синтезу мікробної маси.

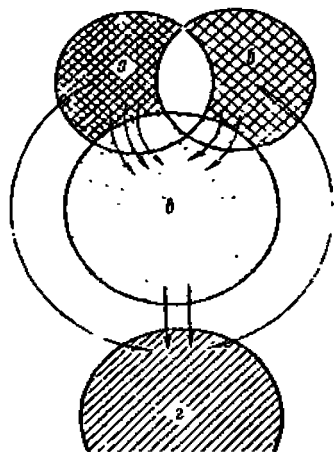


Рис. 5.5. Функціональна структура мікробного угруповання ґрунту за Є.М. Мішустіним (1975 р.):
 а – зимогенна мікрофлора;
 б – аутохтонна мікрофлора;
 в – мікрофлора розсіяння;
 г – автотрофні мікроорганізми

Деякі дослідники (Дж. Поіндекстер, С.І. Кузнєцов) спрощують схему Є.М. Мішустіна і виділяють тільки дві групи мікроорганізмів за ознакою того, яка кількість поживних речовин необхідна мікроорганізмам для існування. Якщо мікроорганізмам достатня незначна кількість поживних речовин, то їх відносять до оліготрофів. Усі інші мікроорганізми відносять до евтрофів (від грецького *eutrophia* – хороше живлення) або інакше копіотрофів (від латинського *copiosus* – багатий, розкішний), тобто до тих мікроорганізмів, які легко культивуються на звичайних лабораторних середовищах, багатих поживними речовинами. Дж. Поіндекстер запропонував такі кількісні ознаки цих груп: оліготрофи можуть бути виділені з ґрунту і культивуватися на середовищах, які містять вуглецю 1–15 мг С/л, а евтрофи – 50 і більше мг С/л. Проте цих ознак недостатньо

для характеристики оліготрофів. Д.І. Нікітін вважає, що до цієї екологічної групи мікроорганізмів можна віднести представників, які характеризуються наступним комплексом ознак: 1 – здатність розвиватись за умов нестачі поживних речовин, при якій верхня межа становить 1 г/л С, а нижня – практична їх відсутність; 2 – ріст при низьких температурах (навіть нижче 0°C); 3 – специфічність морфологічних ознак (маленькі тонкі клітини з придатками, гіфами, стебельцями, простеками, зіркоподібні) і складним циклом розвитку; 4 – специфічний склад ліпідного компоненту; 5 – здатність засвоювати з повітря як додаткове джерело живлення летючі органічні речовини. Морфологія деяких оліготрофів наведена на рис. 5.6. Типовими представниками оліготрофних мікроорганізмів є такі:

– *Prostecomicrobium polyspheroidum nov.comb.* – паличкоподібні, мають сферичні вздуття на поверхні клітини (рис. 5.6 знизу клітина зі вздуттями);

– *Renobacter vacuolatum* – паличкоподібні, містять всередині клітини велику кількість газових вакуолей;

-*Angulomicrobium*, *Stella*, *Labrys* – мають радіальну симетрію клітин, часто зіркоподібні (рис. 5.6 клітина зверху):

-*Spirosoma*, *Flectobacillus* – мають S-подібну форму, спіральні або у формі кільця.

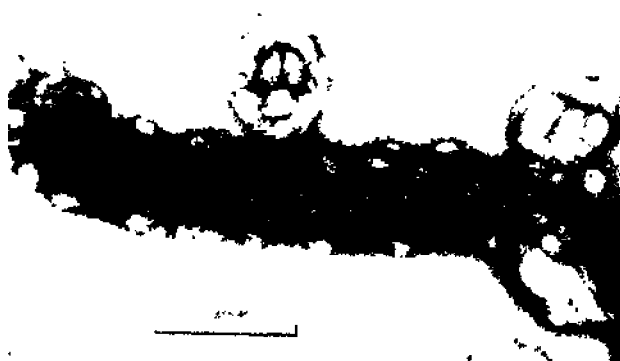


Рис. 5.6. Морфологія деяких оліготрофних мікроорганізмів
(за Д.І. Нікітіним, 1978 р.)

Функціональну структуру мікробного угруповання ґрунту Г.О. Заварзін представив за допомогою математичних графів (рис. 5.7). За цим розподілом виділяють десять груп мікроорганізмів.

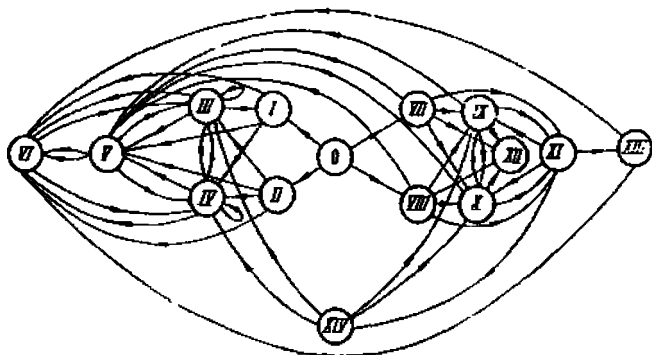


Рис. 5.7. Функціональна структура мікробного угруповання (за Г.О. Заварзіним, 1970 р.)

До I групи віднесені мікроорганізми, які здатні розкласти легкодоступні органічні субстрати. Нерозчинні органічні рештки, наприклад целюлозу, здатні розкласти мікроорганізми, що належать до II групи. Після відмирання цих мікроорганізмів легкодоступні компоненти їхніх клітин засвоюють мікроорганізми III групи. Мікрофлора, що засвоює гумусові речовини і нерозчинні структурні компоненти тіл організмів, у тому числі і мікробних клітин (наприклад, хітин), віднесена до IV групи. Незначна частина продуктів розкладу органічних рештків і відмерлої мікробної маси у вигляді речовин малої молекулярної маси (лактат, ацетат) дифундує (розсіюється) в середовищі і засвоюється мікрофлорою розсіяння, що відноситься до V групи. Розклад гумусових речовин здійснюють мікроорганізми VI групи. Азотвмісні сполуки органічних решток та мікробної некромаси в анаеробних умовах розкладають мікроорганізми VII групи. Бродіння безазотових сполук здійснюється мікроорганізмами, що віднесені до VIII групи. Сульфатвідновлювальні і метаногенні бактерії віднесені до вторинних анаеробів (IX група). Окиснення кінцевих продуктів життєдіяльності вторинних анаеробів при переносі цих продуктів в аеробну зону здійснюють мікроорганізми X групи – це водневі та метанокислюючі бактерії. Особливу увагу Г.О. Заварзін звертає на мікрофлору “розсіяння” (дисипотрофи), представники якої характеризуються невеликою швидкістю росту, економічністю використання субстрату і задовольняються незначною його кількістю.

Існує ще декілька класифікацій функціональної структури мікробних угруповань ґрунту (М.М. Лазарев, Д.І. Нікітін, К.О. Мятликова, В.С. Гусєв), проте невирішеним залишається питання, як співвідносяться між собою групи мікроорганізмів за різними класифікаціями. Наприклад, де-

які автори не ототожнюють оліготрофів із мікрофлорою розсіяння, а інші, навпаки, вважають, що оліготрофи – це мікрофлора розсіяння. Напевне, слід враховувати поліфункціональність мікроорганізмів: за одних умов вони використовують для живлення гумусові сполуки, тобто функціонують як автохтонна мікрофлора; за інших умов – ростуть із малою швидкістю і задовольняються незначною кількістю низькомолекулярних сполук, що притаманно оліготрофам.

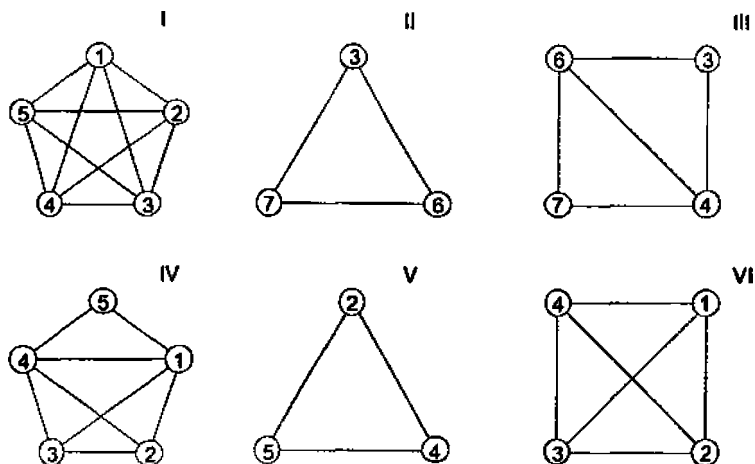


Рис. 5.8. Кореляційні плеяди трофічних взаємовідносин у мікробному угрупованні сірого олізденого ґрунту за різних агротехнологій:

I – цілина; II – ґрунт без добрив; III – внесення неутілізованої рослинницької продукції і гною; IV – внесення неутілізованої рослинницької продукції, гною і

$N_{120}P_{110}K_{180}$, V – $N_{120}P_{110}K_{180}$, VI – $N_{180}P_{800}K_{1300}$;

1 – мікроорганізми, що утилізують мінеральний азот; 2 – целюлозоруйнівні;

3 – нітрифікуючі бактерії; 4 – педотрофи; 5 – гуматрозкладаючі;

6 – олігокарботрофи; 8 – олігоазототрофи

Наведені вище функціональні структури мікробних угруповань є теоретичними і не включають кількісних ознак чисельності мікроорганізмів різних еколого-трофічних груп. Застосування математичних і статистичних методів дає можливість виявити зв'язки між мікроорганізмами на рівні трофічних стосунків. При визначенні таксономічної структури мікробних ценозів вище нами був описаний метод кореляційних плеяд. Цей метод можна застосовувати і для вивчення трофічної структури мікробних ценозів. К.І. Андреюк, Г.О. Іутинська зі співавт. використали

цей метод для визначення трофічної структури мікробних угруповань ґрунту різних агроценозів (за умов інтенсивних і біологічних агротехнологій вирощування озимої пшениці) у порівнянні з цілинним ґрунтом (рис. 5.8). Виявилось, що найбільш міцна структура кореляційних зв'язків – п'ятичленна плеяда типу "сітка-зірка" характерна для мікробних угруповань цілинного ґрунту. У ґрунті без внесення добрив, а також при застосуванні високих доз мінеральних добрив спостерігається розрив і випадіння кореляційних зв'язків, а формування плеяд відбувається за рахунок зв'язків між педотрофними, гуматрозракладаючими і целюлозоруйнівними мікроорганізмами. Це свідчить про активізацію мінералізаційних процесів у ґрунті. За умов біологічних агротехнологій трофічна структура мікробних угруповань наближається до цілинного ґрунту.

5.7. Екологічні стратегії ґрунтових мікроорганізмів

Існує розподіл мікроорганізмів за стратегіями їх виживання. Цей підхід був перенесений у ґрунтову мікробіологію із загальної екології, в якій під стратегіями життя розуміють спосіб виживання і підтримки стабільності популяцій за тих чи інших екологічних умов. Згідно з цією класифікацією виділяють організми, які відносяться до *K*-стратегів, *r*-стратегів, *L*-стратегів. Розподіл ґрунтових мікроорганізмів відповідно до цих стратегій здійснюється за такими ознаками:

- *K-стратегі* – мікроорганізми, які здатні підтримувати стабільний рівень чисельності в клімакських системах, коли ґрунтові умови відносно стабільні, а стресові ситуації відсутні. За таких умов у конкуренції перемагають мікроорганізми, які повно та економічно споживають життєві ресурси і при цьому забезпечують собі стабільно високу щільність популяцій;

- *r-стратегі* розвиваються при надходженні у ґрунт великої кількості легкодоступних субстратів. Мікроорганізми цієї стратегії характеризуються високою швидкістю росту, завдяки чому дають спалахи збільшення чисельності популяцій, які швидко засвоюють субстрат. Особливо активно вони розвиваються на початкових "піонерних" стадіях сукцесії при заселенні якогось субстрату. Після вичерпування субстрату вони припиняють розмноження, переходять до патентного стану і витісняються мікроорганізмами *K*-стратегії;

- *L-стратегі* – мікроорганізми, які здатні витримувати стресові ситуації в ґрунті. Стреси можуть бути викликані змінами едафічних умов – вологості, температури, рН, осмотичного тиску. Стресові ситуації можуть виникати внаслідок міжвидових взаємодій в угрупованнях – антагонізм,

голодування, конкуренція за субстрат. У кожному із зазначених випадків будуть виживати ті L-стратегі, які пристосовані до даного виду стресу.

Належність мікроорганізмів до певної стратегії не є абсолютною, тому що кожен вид має здатність засвоювати субстрати і витримувати якісь стресові ситуації, пристосовуватися до нестачі поживних субстратів. Розподіл мікроорганізмів за стратегіями необхідно проводити у відношенні до кожного окремого мікробного угруповання в певній екологічній ситуації.

5.8. Типи взаємовідносин між мікроорганізмами

Важливу роль у формуванні і функціонуванні мікробних ценозів ґрунту відіграють взаємовідносини між окремими популяціями мікроорганізмів. У ґрунті можна спостерігати майже всі типи взаємодій організмів, які виділяють у загальній екології (таблиця 5.2).

Таблиця 5.2

Типи взаємовідносин між організмами (за Ю. Одумом, 1986 р.)

Тип взаємодії		Характер взаємодії
Нейтралізм		Жодна з популяцій не впливає на іншу
Антагонізм	Конкуренція взаємна	Обидві популяції взаємно пригнічують одна одну
	Конкуренція через ресурси	Кожна популяція несприятливо діє на іншу у боротьбі за поживні ресурси в умовах їх нестачі
	Аменсалізм	Одна популяція пригнічує іншу, проте сама не зазнає негативного впливу
	Паразитизм і хижацтво	Одна популяція негативно впливає на іншу внаслідок прямого нападу, проте і залежить від неї
Симбіоз	Коменсалізм	Одна популяція має користь від об'єднання, а для іншої таке об'єднання є байдужим
	Протокооперація	Обидві популяції мають переваги від об'єднання, проте їх зв'язок необов'язковий
	Мутуалізм	Обидві популяції від об'єднання мають переваги для життя і росту, їх зв'язок облігатний, жодна не може існувати без іншої

У боротьбі за ресурси виживання серед мікроорганізмів переважають антагоністичні взаємовідносини – конкуренція і аменсалізм. Більш пристосована до певних екологічних умов і субстрату популяція витіснює менш конкурентоздатну. Механізм такої конкуренції може бути різним: більш висока швидкість росту, більш економічне споживання суб-

страту, певний набір ферментів, специфічних до даного субстрату, синтез антимікробних речовин, які пригнічують конкурента.

Одним із проявів антагоністичних відносин є паразитизм і хижацтво. Відомо, що клітини продукують літичні ферменти, які викликають лізис клітин інших мікроорганізмів. Так ще М.Г. Холодний методом ґрунтових камер спостерігав, як на відмерлих гіфах грибів поселяються бактерії, які руйнують гіфальну оболонку і живляться відмерлим міцелієм. Мікроорганізми роду *Bdellovibrio* можуть проникати у живі клітини, використовувати їх як поживне середовище і розмножуватись, а потім розривати оболонку і виходити назовні. Б.В. Перфільєвим, Д.Р. Габе, Т.В. Аристовською були описані хижачькі форми мікроорганізмів – це нитчаті або лабіринтні колонії бактерій, що розміщуються у формі ловчих петель і захоплюють свої жертви.

Симбіотичні взаємовідносини також мають місце в угрупованнях ґрунтових мікроорганізмів. Симбіотичні взаємовідносини базуються на підготовці одним мікроорганізмом субстрату для іншого (*метабіоз*) або на обміні субстратами і факторами росту, чи на видаленні токсичного продукту (*синтрофія*). Наприклад, відомо, що в добре аерованих ґрунтах завжди присутні анаеробні мікроорганізми. Їх виживання можливе тому, що у мікролокальних умовах аеробні мікроорганізми використовують кисень і тим самим створюють умови для розвитку анаеробних.

Прикладом протокооперації можуть бути асоціації целюлозоруйнівних мікроорганізмів з азотфіксаторами. У процесі деструкції целюлози вивільняються вуглеводи, які використовують діазотрофи як джерела енергії для фіксації азоту. В свою чергу відмерлі клітини азотфіксаторів збагачують середовище азотвмісними сполуками. Аналогічні взаємовідносини описані для асоціацій, що створюються при деструкції пектину: оцтова і янтарна кислоти, які утворюються при трансформації спороутворюючими бактеріями пектину, утилізуються азоспірилами, що здатні до фіксації атмосферного азоту.

Найвищий ступінь симбіозу мікроорганізмів – мутуалізм спостерігається у *консорціумі*, члени якого утворюють певну структурну асоціацію з двох або більше видів із високим ступенем інтеграції їх метаболізму. Такі угруповання можуть мати об'єднуючий матрикс із полісахаридів, поліглутамінової кислоти та інших біополімерів. Через слиз матриксу відбувається обмін субстратами і сигнальними молекулами – *аутоіндукторами*. Такий зв'язок регулюється шляхом *ефекту кворуму*. Тільки тоді, коли щільність популяції досягне необхідної межі, синтезуються аутоіндуктори, які включають гени, що кодують синтез ферментів, токсинів, антибіотиків тощо.

5.9. Мікробні сукцесії

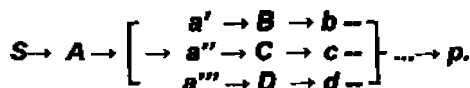
Мікробні угруповання за своїм складом і функціями постійно змінюються залежно від екологічних умов та наявності джерел живлення. Мікробні угруповання ґрунту проходять певний *сукцесійний цикл*, тобто послідовну зміну домінуючих популяцій, проте жоден із видів угруповання не зникає, а тільки змінює свою активність. Сукцесія зумовлена поліфункціональністю угруповання в цілому. Тобто на кожному етапі сукцесії домінують ті види, які найбільшою мірою пристосовані до умов існування і до трансформації наявного джерела живлення. Важливе значення для мікробної сукцесії має відповідність субстрату і трофічних потреб угруповання. Завдяки мікробним сукцесіям у ґрунті підтримується стійкість мікробного ценозу. Гнучкість його проявляється як у сукцесійних змінах якісного складу, так і в коливаннях чисельності мікроорганізмів (сезонних, добових і навіть внутрішньодобових).

Прикладом сукцесії може бути зміна мікробного угруповання при трансформації рослинних рештків (переважно целюлози), які потрапляють у ґрунт. Розклад цього субстрату починають целюлозоруйнівні мікроорганізми, а також ґрунтові целюлази, адсорбовані на ґрунтових часточках. У перебігу деструкції целюлози частина вуглеводів споживається деструкторами, а надлишок вільних цукрів використовують інші органоетеротрофні мікроорганізми. Таке співіснування необхідне для функціонування целюлозолітичних мікроорганізмів, адже накопичення мономерів веде до репресії синтезу целюлаз. Крім того, для життєдіяльності целюлозолітиків необхідний симбіоз із азотфіксуючими бактеріями, які забезпечують їх зв'язаним азотом, а самі отримують продукти розкладу целюлози як енергетичний матеріал, необхідний для фіксації азоту. У разі, коли такої кооперації не утворюється, незбалансоване співвідношення значної кількості доступного вуглецю і незначного вмісту азоту є причиною того, що целюлозоруйнівні мікроорганізми переходять у латентний стан. Органоетеротрофні мікроорганізми, які живляться відмерлою мікробною масою, після її вичерпування також припиняють активну життєдіяльність. Залишкові кількості поживних елементів дістаються оліготрофним мікроорганізмам – дисипотрофам.

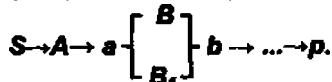
Г.О. Заварзін, Н.Н. Колотілова шляхи метаболізму субстрату S у продукт p для організмів A, B, C, D і утворюваних ними проміжних продуктів $a, b, c, d, \dots$ ілюструють такими графами:

1. Простий трофічний ланцюг $S \rightarrow A \rightarrow a \rightarrow B \rightarrow b \rightarrow \dots \rightarrow p$.

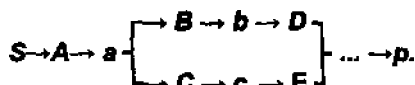
2. Утворення різних проміжних продуктів (a', a'', a'''), які споживаються фізіологічно різними мікроорганізмами B, C і D з утворенням різних проміжних продуктів b, c і d :



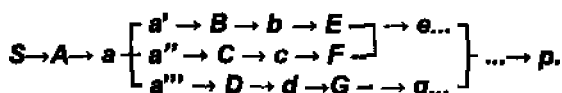
3. Конкуренція за спільний субстрат а фізіологічно схожих мікроорганізмів В і В₁, які утворюють один проміжний продукт b:



4. Конкуренція за спільний субстрат а між мікроорганізмами В і С, які утворюють різні проміжні продукти b і c, що споживаються мікроорганізмами D і E:



5. Комбінація з використанням різних проміжних продуктів (a', a'', a''') і схожих продуктів e, які утворюють мікроорганізми E і F:



Трансформація декількох різних за хімічною природою субстратів може відбуватись одночасно, в ній будуть задіяні різні групи мікроорганізмів, які мають спеціалізовані набори ферментів, що дає їм можливість утилізувати ті або інші речовини.

Взаємодія мікроорганізмів різних трофічних груп формує трофічну структуру мікробного угруповання. Наприклад, якщо у ґрунт надходять рослинні залишки, що містять білки, жири і вуглеводи, то відповідно цим компонентам формуються пептолітична, ліполітична, сахаролітична ланки.

Бактерії-гідролітики переводять нерозчинні субстрати твердої фази у розчинну форму шляхом гідролізу їх поза клітинами під дією екзоферментів: протеаз, ліпаз, целюлаз. У результаті замість індивідуальних полімерів у ґрунтовий розчин надходять уніфіковані мономери (моносахариди, ацетат), які можуть бути засвоєні бактеріями-осмотрофами. Таким чином, для кожної сполуки в угрупованні є свій "спеціаліст", який здатний її засвоювати.

6. КІНЕТИКА МІКРОБНИХ ПРОЦЕСІВ У ҐРУНТІ

Кінетика (від грецького *κίνησις* – той, що приводить до руху) – вчення про швидкості і механізми фізичних, хімічних або біологічних процесів. Мікробіологічна кінетика вивчає динаміку життєдіяльності мікроорганізмів. Вона виникла у відповідь на питання, що ставила мікробіологічна промисловість у зв'язку з культивуванням мікроорганізмів та отриманням продуктів мікробного синтезу. На сьогодні не менш актуальними є екологічні проблеми, для вирішення яких дуже важливо визначити кінетичні закономірності життєдіяльності ґрунтових мікроорганізмів.

Становлення кінетики росту мікроорганізмів як науки відбувалося майже одночасно з розвитком загальної мікробіології. Луї Пастер перший провів аналіз ростових характеристик мікроорганізмів (пекарських дріжджів) у зв'язку зі споживанням компонентів поживного середовища. Його учень М. Ропен у досліджах із грибом *Aspergillus niger* визначав біомасу гриба та баланс між поживними речовинами, які містилися в середовищі перед культивуванням та після нього. На підставі цих даних він розрахував трофічний коефіцієнт Y , який показує вихід біомаси на одиницю спожитого субстрату (пізніше стали користуватися величиною α , оберненою до Y):

$$1/Y = \alpha = (s - s_0)/(x - x_0),$$

де x_0 – маса інокуляту; s_0 – вихідна кількість субстрату в середовищі; s – залишкова концентрація субстрату в кінці досліді; x – накопичена маса гриба в кінці досліді.

С.М. Виноградський вперше розробив методичні підходи до вивчення кінетичних параметрів, він перший використав безперервну мікропроточну культуру – вирощував сіркобактерії в краплі води, насиченої сірководнем, причому цю воду часто міняв. Крім того, в досліді С.М. Виноградського були вперше поставлені питання стехіометрії росту нітрифікуючих бактерій і показано існування певного постійного співвідношення між окисленням NH_4^+ та асимільованим CO_2 .

Існування фаз росту мікроорганізмів у рідких поживних середовищах вперше виявив М. Мюллер. Фази росту описувалися рівнянням:

$$N = N_0 e^{\mu F(t)},$$

де N – чисельність мікроорганізмів у даний момент досліді; N_0 – чисельність мікроорганізмів на початку досліді; t – тривалість культивування; $F(t)$ – емпірична функція залежно від фази росту; μ – максимальна швидкість росту.

У ґрунтовій мікробіології кінетичні дослідження впроваджувалися дуже повільно, що пояснюється гетерогенністю середовища, нетиповістю ситуацій, які можуть складатися у ґрунті, багатофункціональністю і складністю мікробних угруповань. Тому принципово неможливо віднайти таку єдину формулу, яка буде адекватною експериментальним даним при широкому наборі ситуацій. Причина не тільки в незрівнянно більшому "стохастичному шумі" біологічного експерименту, а також у тому, що мікробна клітина, клітинна популяція або мікробне угруповання являють собою систему, що складається з достатньо автономно існуючих і функціонуючих підсистем.

Питання кінетики росту ґрунтових мікроорганізмів стали активно розвиватися наприкінці 1960-х років у зв'язку з Міжнародною біологічною програмою, завданням якої була оцінка усіх природних ресурсів планети та визначення можливості їхнього природного поповнення. В контексті цього завдання необхідно було визначити запаси мікробної біомаси у ґрунтах різних кліматичних зон, а також розрахувати швидкість поновлення цих запасів. Тоді стало очевидним відставання у цьому питанні ґрунтової мікробіології від інших біологічних наук. Із того часу стали інтенсивно розвиватися дослідження з визначення чисельності і біомаси мікроорганізмів у ґрунті, вимірювання швидкості їх росту *in situ*. Були проведені розрахунки матеріального балансу росту мікроорганізмів у ґрунті (потоки опаду і кореневих виділень, швидкість поїдання мікробів і т.ін.). Всі ці задачі відносяться до кінетики й енергетики росту ґрунтових мікроорганізмів.

Одним із основних кінетичних параметрів є швидкість росту та продуктування біомаси мікроорганізмів.

Продуктування біомаси мікроорганізмів (Δx) за певний проміжок часу залежить від швидкості росту популяцій у ґрунті:

$$\Delta x = \mu \cdot x \cdot \Delta t,$$

де μ і x відповідно питома швидкість росту і запаси мікробної біомаси, середні на відрізок часу Δt (наприклад, тривалість сезону).

Перші дослідження, виконані Т.В. Аристовською, полягали у тому, що проводили щоденні вимірювання чисельності бактерій прямими підрахунками за методом С.М. Виноградського, визначали розміри клітин та розраховували їх об'єм. Продуктивність визначали, виходячи з даних чисельності і об'єму мікроорганізмів, прийнявши допущення, що питома маса живих клітин дорівнює питомій масі води. Отримана крива ілюструвала пульсації накопичення мікробної маси у ґрунті: через кожні 3–8 діб спостерігали підйоми чисельності мікроорганізмів із наступними падіннями (рис. 6.1).

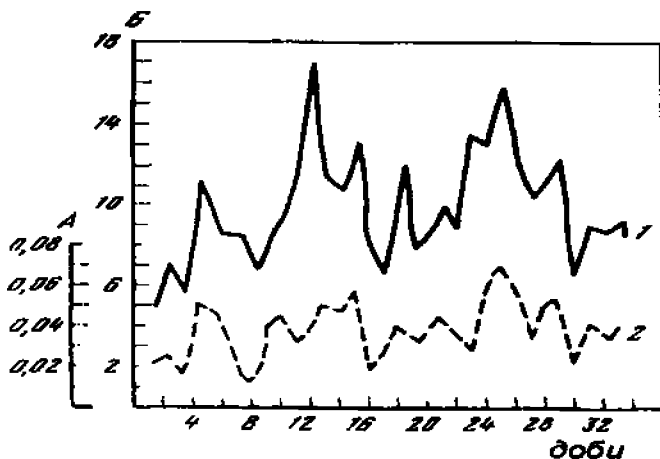


Рис. 6.1. Динаміка чисельності мікроорганізмів у ґрунті протягом 32 діб спостережень:
1 – коренева зона; 2 – поза коренями рослин

Пульсації спостерігали навіть за відносно постійних гідротермічних параметрів середовища. Ці коливання пояснювали виїданням мікроорганізмів амебами (взаємодія по типу хижак-жертва), а також накопиченням автоінгібіруючих продуктів обміну мікроорганізмів.

Пізніше для визначення біомаси мікроорганізмів у ґрунті були розроблені фумігаційний та регідратаційний методи, а також визначення біомаси за кількістю АТФ, ДНК та інших внутрішньоклітинних сполук.

Регідратаційний метод визначення азоту і вуглецю мікробної біомаси у ґрунті базується на тому, що м'яке висушування ґрунту (при 65–70°C протягом 24 годин) вибірково діє на інтактні клітини, порушує бар'єр проникності їхніх оболонок. При зволоженні ґрунту після такого висушування сполуки, що містяться у клітині, переходять у водну фазу ґрунту. За різницею в концентрації водорозчинних органічних сполук перед і після висушування ґрунту визначають вміст вуглецю, що зумовлений виходом розчинних вуглецевих сполук із клітин мікроорганізмів. Метод калібрують у короткотривалих лабораторних експериментах. Для цього вносять у ґрунт глюкозу і визначають іммобілізацію цього субстрату, яку вважають такою, що дорівнює приросту біомаси.

Фумігаційний метод базується на визначенні інтенсивності продукування диоксиду вуглецю ґрунтом, який був попередньо оброблений парами таких токсичних речовин, як хлороформ, окис етилену та ін.

Умови обробки ґрунту необхідно підібрати так, щоб викликати загибель 90–95% мікроорганізмів. Приймається допущення, що ті мікроорганізми, які вижили у ґрунті, будуть використовувати некротому як додатковий поживний субстрат, внаслідок чого кількість CO_2 , що продукує фумігований ґрунт, порівняно з контрольними зразками зростатиме пропорційно використаній біомасі.

Проведені визначення усіма описаними вище методами показали високу швидкість росту бактерій у ґрунтах майже усіх типів (тундрових, підзолистих, чорноземних): тривалість генерації бактерій коливалася від 7 до 100 годин, а сезонна продукція становила 1–6 т сухої речовини на 1 га (у шарі ґрунту 3 м). Така висока продуктивність наближувалася до розмірів первинної продукції екосистем суші. У зв'язку з цим виникало питання: чи достатньо в ґрунті енергетичних ресурсів, щоб забезпечити накопичення мікробної маси у таких розмірах.

Наступні роботи були виконані з урахуванням матеріального балансу ростового процесу. Один із цих підходів базується на існуванні залежності між інтенсивністю дихання аеробних хемоорганотрофних мікроорганізмів та швидкістю їх росту:

$$\mu / u_{\text{CO}_2} = Y_{\text{px}} / \mu X,$$

де μ – швидкість росту мікроорганізмів, u_{CO_2} інтенсивність виділення диоксида вуглецю; Y_{px} – стехіометричний коефіцієнт, який може бути визначений у калібровочних вимірюваннях для мікробного угруповання досліджуваного ґрунту; x – біомаса мікроорганізмів.

Другий підхід матеріально-балансових розрахунків продукції ґрунтових мікроорганізмів базується на урахуванні споживання хемоорганотрофними мікроорганізмами різних органічних субстратів.

Залежність швидкості росту мікроорганізмів від концентрації субстрату описується рівнянням Моно, аналогічним рівнянню Міхаеліса-Ментен:

$$\mu = \mu_m \cdot s / (K_s + s)$$

$$Ds/dt = -1/Y \cdot dx/dt,$$

де μ – питома швидкість росту; μ_m – максимальна швидкість росту; x – біомаса; t – тривалість культивування; s – концентрація субстрату; K_s – константа, що відповідає концентрації субстрату при швидкості росту, що дорівнює половині максимальної; Y – кількість біомаси, що утворюється із даної кількості субстрату. Значення μ_m залежить від властивостей мікроорганізму і дозволяє розподілити їх на швидко- і повільно-рості.

Математична модель функціонування клімаксного мікробного угруповання враховує не тільки залежність швидкості росту мікроорганізмів від концентрації субстрату, але й витрати на підтримання життєдіяльності:

$$dX/dt + aX = YdS/dt,$$

де X – біомаса; t – тривалість росту; S – ресурс; a – показник витрат на підтримання; Y – економічний коефіцієнт. За умов, коли $dX/dt = 0$, виконується умова, що $dS/dt = aX/Y$. За допомогою цього рівняння було визначено, що для підтримання життєдіяльності 1 кг мікробної маси протягом 1 року необхідно близько 25 кг доступного субстрату, що практично дорівнює чистій первинній продукції. Тобто основний енергетичний ресурс використовується на підтримання життєдіяльності мікроорганізмів.

Вагомий внесок у розвиток кінетичних досліджень у ґрунтовій мікробіології вніс М.С. Паніков, який розробив математичні моделі росту мікроорганізмів у ґрунті за узагальненими даними матеріального балансу. Виведені ним рівняння матеріального балансу, а також формули розрахунків продуктивності мікроорганізмів у ґрунті наведені у таблиці 6.1.

Таблиця 6.1

**Формули розрахунку продуктивності
мікроорганізмів у ґрунті
(за М.С. Паніковим, 1991 р.)**

Спосіб розрахунку	Рівняння матеріального балансу	Формула розрахунку продукції мікробної біомаси
Розрахунок за хемостатною моделлю	$s = F - \mu x / Y$ $x = \mu x - kx$	$\mu x = YF$ (1)
Урахування витрат на підтримання життєдіяльності	$s = F - \mu x / Y^m - ax / Y^m$ $x = \mu x - kx$	$\mu x = Y^m F - ax$ (2)
Урахування реутилізації мікробної біомаси	$s = F - \mu x / Y + k_2 x'$ $x = \mu x - k_1 x$ $x' = k_1 x - k_2 x'$	$\mu x = FY / (1 - Y)$ (3)
Урахування виїдання мікробів і реутилізації некромаси хижаків	$s = F - \mu x / Y + k_1 x' + k_2 y'$ $x = \mu x - \eta y / \Psi$ $y = \eta y - k_3 y$ $x' = \Psi \eta / \Psi - k_1 x'$	$\mu x = FY / [1 - Y(\Psi' - \Psi)]$ $\eta x = \Psi \mu x$ (4)

Умовні позначення: s – субстрат; x – мікробна біомаса; x' – мікробна некрома; F – потік органічних речовин – продуктів фотосинтезу; μ та η – питомі швидкості росту відповідно мікробів і хижаків; Y , Ψ та Ψ' – стехіометричні коефіцієнти; k_1 , k_2 та k_3 – питомі швидкості відмирання; a – показник витрат на підтримання; Y^m – економічний коефіцієнт мікроорганізмів; y – біомаса хижаків; y' – некрома хижаків.

Рівняння (1) та (3) дають відповідно верхню і нижню межу швидкості росту мікроорганізмів. Розрахована за цими рівняннями продукція мікробної біомаси за сезон коливається від 1 т/га у тундрі до 16 т/га у чорноземі, тривалість генерації становить 5–7 діб.

Оцінку швидкості обороту природних субстратів у ґрунті враховують з використанням методу ізотопного розбавлення. Він базується на визначенні концентрації внесених мічених і природних немічених субстратів, а також сумарної швидкості їх засвоєння та швидкості засвоєння мітки. За різницею показників можна розрахувати швидкість засвоєння природних субстратів. Розрахунки проводять за рівняннями:

$$v = V(s+s^*)/(K_m+s+s^*), \text{ або}$$

$$v = Vs^*/(K_m+s+s^*),$$

$$T_{00} = (K_m+s)/V,$$

$$V = s/(v-v^*),$$

де V – швидкість засвоєння природного субстрату; s і s^* – концентрації відповідно природного і міченого субстратів; v – сумарна швидкість споживання субстратів; v^* – швидкість споживання мітки; T_{00} – швидкість обороту природного субстрату; K_m – константа швидкості росту.

Розрахунки показують, що T_{00} змінюється від годин до декількох діб і збільшується при погіршенні ґрунтових умов.

Знання кінетики росту мікроорганізмів у ґрунті дає можливість розрахувати мікробну масу за даними швидкості споживання субстратів.

Кінетичний метод визначення мікробної біомаси, розроблений М.С. Паніковим, базується на таких допущеннях:

- виявляються кількісні зміни перетворень органічних субстратів на початкових етапах, коли склад угруповання ще не встигає істотно змінитися;

- внесений у ґрунт субстрат рівномірно розподіляється по мікронах;
- концентрація внесеного субстрату є високою, але не має інгібуючого ефекту. Тоді на початкових етапах інкубації у ґрунті відбуватиметься нелімітований ріст мікроорганізмів, які здатні використовувати цей субстрат.

Біомасу мікроорганізмів у ґрунті (x_0) розраховують за формулою:

$$x_0 = s(0)Y_s/\mu_m/r_0;$$

де $s(0)$ – початкова швидкість споживання субстрату; Y_s – вихід біомаси мікроорганізмів при споживанні внесеного субстрату; μ_m – максимальна швидкість росту мікроорганізмів у досліді; r_0 – коефіцієнт апроксимації до кривої споживання субстрату.

В лабораторних дослідях зі внесенням різних субстратів була виявлена гіперболічна залежність між миттєвою швидкістю росту та концентрацією субстрату. Швидкість перетворення субстрату у часі зростала експоненційно, що зумовлене розмноженням тієї групи ґрунтових мікроорганізмів, які перетворюють внесений субстрат. Експоненційний ріст припинявся після вичерпування субстрату, накопичення продуктів обміну і перебудови мікробного угруповання.

Зазначеним кінетичним методом можна визначати біомасу мікроорганізмів різних фізіологічних груп:

- хемоорганотрофні мікроорганізми, що аеробно засвоюють вуглеводи, визначають при внесенні глюкози, а її споживання за виділенням діоксиду вуглецю;

- нітрифікуючі бактерії визначають при внесенні амонійних солей за швидкістю окиснення NO_2^- до NO_3^- ; біомаса цих бактерій, визначена кінетичними методами, набагато більша за визначену посівами на тверді селективні середовища;

- денітрифікуючі бактерії визначають за умов збагачення ґрунту глюкозою і NO_3^- та інкубують в анаеробних умовах; денітрифікуючу активність враховують за швидкістю утворення NO_2^- за присутності ацетилену; біомаса денітрифікаторів за даними цих вимірювань становить 50–70% від біомаси мікроорганізмів, що використовують глюкозу в аеробних умовах;

- мікроорганізми, які засвоюють молекулярний водень, визначають за швидкістю його споживання в умовах автотрофної фіксації CO_2 .

Важливе значення мають розрахунки кінетичних характеристик сукцесійних змін у мікробних угрупованнях ґрунту при споживанні різних субстратів. У дослідях, проведених М.С. Паніковим, були визначені кінетичні характеристики мікробних угруповань за умов внесення у ґрунт розчинних і нерозчинних вуглецевих субстратів. Спочатку проводили дослід з легкозасвоюваним органічним субстратом глюкозою. Залежність швидкості засвоєння від її концентрації у перші 15–20 годин досліду описувалась експоненційною кривою, яка відповідала рівнянню Міхеліса-Ментен. Проте в наступні строки культивування крива зростала більш стрімко, ніж це прогнозується експоненційною функцією. Було зроблено припущення, що така невідповідність зумовлена гетерогенністю мікробного угруповання і присутністю в ньому видів, які різняться між собою швидкістю росту, наприклад, бактерії і гриби. Для того щоб розрізнити особливості росту цих груп мікроорганізмів, у ґрунт вносили специфічні інгібітори: актидін, який пригнічує ріст грибів, та хлорамфенікол, що інгібує розвиток бактерій. Виявилось, що у бактерій максима-

льна швидкість росту становить $\mu_m = 0,15 \text{ год}^{-1}$ і перебільшує цей показник у грибів $\mu_m = 0,005 \text{ год}^{-1}$. Тому бактерії дають більш помітний спалах росту після субстратного збагачення ґрунту. Максимум чисельності бактерій спостерігається на 2-гу добу досліду, а грибів – на 6-ту добу. Однак запаси мікробної біомаси бактерій набагато нижчі, ніж грибів, і становлять відповідно 85 і 305–790 мкг вуглецю в 1 г ґрунту. Рівняння, які описують ріст бактерій і грибів у ґрунті за умов описаного досліду, мають вигляд:

$$x_{\text{бакт}} = 6,5 \cdot 10^2 [1 + 0,16(e^{0,15t} - 1)],$$

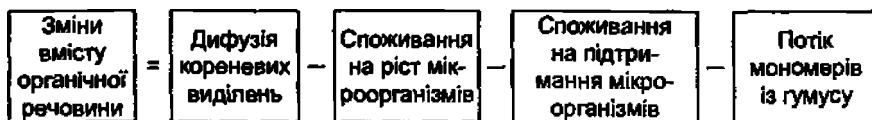
$$x_{\text{гриб}} = 216 [1 + 0,20((e^{0,15t} - 1))].$$

Біологічна суть цих рівнянь полягає в тому, що більша частина внесеної глюкози споживається тими бактеріями, які за кінетичними характеристиками росту відносяться до г-стратегів. Гриби ростуть повільніше і “підбирають” залишки глюкози, продукти обміну бактерій та екскреторні продукти тих простіших, які живляться бактеріями. Тому ріст грибного міцелію продовжується і після вичерпування глюкози. Впродовж тривалої інкубації (7 і більше діб після внесення глюкози) сукцесія мікробного угруповання переходить до повільної стадії, в якій переважають мікроорганізми з низькою інтенсивністю обміну (К-стратегі). Вуглець глюкози на цій стадії локалізований у біомасі мікроорганізмів та їхніх полімерних метаболітах.

Іншу специфіку мають сукцесійні зміни в мікробному угрупованні при споживанні нерозчинних вуглеводних субстратів, наприклад целюлози, яка становить основну частину рослинних решток. У ґрунті є імібілізовані целюлолітичні ферменти, які забезпечують базовий рівень гідролізу цього субстрату. Крім того, наявність клітковини індукуює синтез целюлолітичних ферментів мікроорганізмами. Внаслідок активної деструкції целюлози утворюється локальний (за місцем знаходження субстрату) осередок, що характеризується надлишком доступного вуглецю і нестачею інших біогенних елементів, перш за все, азоту, а також фосфору, сірки, кальцію, заліза та мікроелементів. Целюлозоруйнівні мікроорганізми стають першими жертвами такої ситуації: накопичення мономерів веде до репресії синтезу целюлаз, що у комплексі з нестачею азоту змушує їх перейти у патентний стан. Дефіцит біогенних елементів може бути покритий завдяки кооперативним зв'язкам між окремими членами угруповання. Азотний дефіцит за наявності доступного вуглецю сприяє розвитку азотфіксуючих мікроорганізмів, однак цей процес енерговитратний і тому з вичерпуванням вуглеводів азотфіксатори також переходять до патентного стану. Дисиміотрофи, що відносяться до мікрофлори розсіяння (К-стратегі), отримують мономери у вигляді не-

значного дифузного потоку до мікрозон, які розташовані поза осередком розкладу – там немає дефіциту біогенів і тому вони можуть функціонувати тривалий час. Саме мікрофлорі розсіяння і дістається основна частина продуктів деполімеризації целюлози.

Особливі умови життєдіяльності створюються в ризосфері рослин. Для опису кінетики росту мікроорганізмів у прикореневій зоні рослин у рівнянні матеріального балансу враховуються такі показники:



Відомо, що у прикореневій зоні зосереджена більша частина хемогетеротрофних мікроорганізмів. Ріст їх відбувається за рахунок продуктів екзосмосу коренів, а також тих частин, що відмерли. У свою чергу, мікроорганізми видаються хижаками і піддаються лізису паразитами. Кількісна оцінка цих процесів потребує досліджень цілісної системи "рослина – мікроорганізми – тварини". Було встановлено, що фотосинтетична й екскреторна активність рослин є причиною добових ритмів коливань чисельності мікроорганізмів. Внутрішньодобові коливання екскреції корневих виділень спонукають відповідно розмножуватися ризосферні мікроорганізми, в зв'язку з ними змінюється активність та чисельність мікробійних хижаків. Тривалість кругообігу вуглецю в системі складається з тривалостей стадії фотоасиміляції, руху фотоасимілянтів у рослині, їхньої екскреції і споживання мікроорганізмами з утворенням CO₂. Остання стадія є найбільш тривалою – до 35 годин. Швидкість росту мікроорганізмів у ризосфері наближається до росту у рідких поживних середовищах. Тривалість генерації становить 20–40 годин, а подвоєння клітин можливе кожну добу.

Таким чином, на всіх рівнях організації біологічної системи ґрунту (від окремого виду до мікробного угруповання) кінетичні дослідження повинні враховувати складові матеріального балансу швидкості споживання субстрату, синтезу продуктів обміну, розмноження та елімінації мікробних клітин. Суть кінетичного аналізу полягає у тому, щоб сформулювати гіпотетичні механізми процесів, виразити їх у математичних моделях та перевірити їх відповідність до експериментально отриманих даних.

7. УЧАСТЬ ҐРУНТОВИХ МІКРООРГАНІЗМІВ У КРУГООБІГУ РЕЧОВИН У ПРИРОДІ. БІОГЕОХІМІЧНА ДІЯЛЬНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ

Термін “*кругообіг*” використовується для визначення динаміки періодично повторюваних природних процесів трансформації органічних і неорганічних сполук. У сучасній літературі вважають назву “*кругообіг*” застарілою, оскільки у природі цикли не є замкнутими, а мають характер нескінченної висхідної спіралі. Від циклу до циклу в природі накопичуються незворотні зміни. І все ж таки, використовуючи часто вживаний у літературі термін “*кругообіг*”, слід зазначити, що розрізняють геологічний (великий) і біологічний (малий) *кругообіги*.

Геологічним кругообігом називають сукупність процесів утворення земної кори, формування водного, твердого і хімічного стоків, седиментації і акумуляції речовин. *Біологічним кругообігом* називають циклічні процеси обміну речовини та енергії між середовищем і сукупністю живих організмів – мікроорганізмів, рослин, тварин. У цілому, у біологічному *кругообігу* беруть участь живий і неживий компоненти, які разом формують *біогеохімічні цикли*.

Хімічні елементи циркулюють із зовнішнього середовища до організмів, а з них знову у зовнішнє середовище. Ці шляхи циркуляції елементів називають *біогеохімічними циклами*. Деякі елементи (вуглець, водень, кисень, азот) необхідні організмам у великих кількостях, інші – у малих або мікрокількостях. Проте, якою б не була потреба в них – усі елементи беруть участь у біогеохімічних циклах. У біосфері існують два основних біогеохімічних цикли:

1. *Кругообіг газоподібних речовин із резервним фондом в атмосфері або гідросфері*; завдяки наявності великих резервних фондів порушення, які можуть виникати в окремих місцях, швидко компенсуються. Так, наприклад, якщо в якомусь місці виникає надлишок вуглекислого газу, то він зазвичай розсіюється повітряними потоками. Крім того, надлишок CO_2 компенсується посиленням його споживання рослинами або перетворенням на карбонати моря. Проте буферні можливості резервних фондів є обмеженими, і це помітно виявляється підвищенням концентрації CO_2 і парниковим ефектом.

2. *Осадковий цикл із резервним фондом у земній корі*. Найбільш вираженими є осадкові цикли фосфору, заліза, сірки. Осадкові цикли менш стійкі і легко порушуються. Основна маса речовин знаходиться у малорухомому резервному фонді. Якщо вичерпування цього фонду за-

вдяки діяльності людини може бути швидким, то накопичення – значно тривалішим. Тому частина осадкових елементів вибуває з кругообігу.

Часто виникають ситуації, коли кругообіг втрачає циклічність, в одних місцях виникає нестача елементу, а в інших – його надлишок. Наприклад, при розробці фосфатних покладів відходи виробництва створюють біля шахт локальне забруднення, в той час як орні ґрунти страждають від нестачі фосфору. З іншого боку, збільшення дози внесених фосфорних добрив веде до збільшення виносу фосфатів у водні басейни і забруднює їх. Основною метою людської діяльності є необхідність підтримання біогеохімічних кругообігів, необхідність повернення речовини у кругообіг.

Біогеохімія вивчає обмін речовин між живими і неживими компонентами біосфери. Біогеохімію як науку започаткував В.І. Вернадський. Значну роль у біогеохімічних циклах він відводив мікроорганізмам.

Геологічний і біологічний кругообіги взаємно пов'язані і діють як у масштабах Землі, так і конкретних екосистем. Ідею взаємодії кругообігів, тобто взаємодії живих і неживих компонентів, у біосфері вперше висловив В.І. Вернадський.

У кожному біотопі формується багатофункціональне угруповання мікроорганізмів, яке необхідне для замикання біогеохімічних циклів і підтримання стійкості екосистеми в цілому. Найбільшою екосистемою на Землі є біосфера, яка об'єднує всі живі організми у сукупності з абіотичними компонентами, що існують у неживій природі. Мікроорганізми – найбільш численні мешканці біосфери, які займають усі доступні для життя місця на нашій планеті. Широке розповсюдження мікроорганізмів зумовлене їхніми:

- малими розмірами, що дозволяє їм переноситись із потоками повітря і води;
- різноманітними шляхами метаболізму і здатністю змінювати його залежно від змін умов існування;
- різноманітними механізмами пристосування до несприятливих умов існування.

Особливістю життєдіяльності мікроорганізмів є їхня взаємодія з середовищем переважно шляхом біохімічних реакцій. Біохімічна активність мікроорганізмів являє собою дуже потужну біогеохімічну силу, яка здатна виконувати такі глобальні процеси, як утворення мінералів, руйнування гірських порід, деструкція органічних речовин і ксенобіотиків, запасання енергії в біосфері шляхом утворення вугілля, нафти, гумусових сполук.

Більш як три чверті своєї історії живе населення Землі було представлене тільки прокаріотами. Саме вони сформували ту біосферну систему Землі, в якій могли виникнути та існувати еукаріотні організми. На нинішньому етапі розвитку біосфери прокаріоти продовжують виконувати найважливіші біосферні функції, вони забезпечують кругообіг речовин у природі, взаємодію живих і неживих компонентів біосфери.

У системі біогеохімічних циклів основними є кругообіги вуглецю, азоту, фосфору, сірки, заліза.

Кругообіг вуглецю пов'язаний із трансформацією органічних і неорганічних вуглецевих сполук.

Цикл вуглецю базується на первинній продукції органічної речовини фотоавтотрофними і хемоавтотрофними організмами. Важливим ланцюгом циклу вуглецю є деструкція органічної речовини органігетеротрофними мікроорганізмами. Кінцевими продуктами деструкційних процесів органічних сполук вуглецю є CO_2 і H_2O .

Основними ланцюгами кругообігу азоту є азотфіксація (зв'язування атмосферного азоту у органічні азотвмісні сполуки); амоніфікація (розклад білків, амінів, амінокислот із виділенням аміаку); нітрифікація (окиснення аміаку до нітритів і нітратів); денітрифікація (відновлення нітритів і нітратів до вільного азоту). Мікроорганізми ґрунту беруть участь в усіх етапах трансформації азоту.

Участь мікроорганізмів у *трансформації фосфору і кальцію* зумовлена їх здатністю до трансформації нерозчинних і важкодоступних сполук цих елементів до форм, легкозасвоюваних рослинами і мікроорганізмами, а також до зв'язування їх у неорганічних фосфатах кальцію або органофосфатах біологічного походження. У циклах фосфору і кальцію відсутня стадія повітряної міграції, яка могла б забезпечити рівномірний розподіл по земній кулі з повітряними потоками. Трансформація сполук фосфору і кальцію відбувається у ґрунті локально.

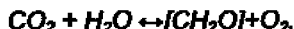
У біогеохімічному *циклі сірки* ґрунтові мікроорганізми здійснюють реакції сульфیدогенезу шляхом сульфат- і сірководновлення, а також зворотні реакції окиснення сполук сірки (сірководню і сульфідів). У біогеохімічному циклі сірки задіяні такі її сполуки: сульфати (сірчаноокислі солі магнію, кальцію, одновалентних катіонів, які містяться у ґрунті), сульфіди (у вигляді сульфідів заліза та сірководню), вільна сірка. Проміжні продукти неповного окиснення сірки (тіосульфати, сульфіти) у ґрунті не накопичуються.

Трансформація сполук заліза здійснюється завдяки діяльності залізобактерій, які окиснюють закисне залізо до гідрату закису заліза. Від-

новлені сполуки заліза (магнетити) утворюються завдяки діяльності залізовідновлювальних бактерій.

7.1. Кругообіг вуглецю

Кругообіг вуглецю пов'язаний із трансформацією органічних і неорганічних вуглецевих сполук, еквімолярне співвідношення між якими зумовлене реакцією:



Ця реакція зліва направо описує фотосинтез, а у зворотньому напрямку – дихання. Первинними *продуцентами* органічних сполук вуглецю є автотрофні організми: зелені рослини і водорості, фотоавтотрофні, хемоавтотрофні і факультативні автотрофні бактерії. Автотрофи синтезують органічні сполуки вуглецю з вуглекислого газу і використовують для цього сонячну енергію або енергію окиснення неорганічних речовин. Цю енергію вони трансформують в енергію органічних сполук вуглецю. Синтезовані органічні сполуки використовують *консументи* різних рівнів, *детритофаги* і *редуценти*. При цьому певна частина органічного вуглецю окиснюється до кінцевого продукту – CO_2 , інша частина формує, за визначенням В.І. Вернадського, “біогенну речовину”, тобто вуглець, депонований у торфї, сапропелі, гумусі, а в геологічному минулому – в кам'яному вугіллі, бітумах, нафті, природних газах. Крім того, частина органічного вуглецю витрачається для забезпечення енергії формування “біокосної речовини” Землі. За визначенням В.І. Вернадського, це мінеральні сполуки, які утворюються в результаті взаємодії живих організмів з неживою природою (наприклад, біогенні сульфїди, біогенні залізні конкреції та ін.). Загальну схему кругообігу вуглецю в природних екосистемах можна ілюструвати схемою, представленою на рисунку 7.1.

На земній кулі щорічно утворюється і руйнується близько $5 \cdot 10^{10}$ т рослинної органічної речовини. У формі опаду у ґрунт надходить $4 \cdot 10^{10}$ т. Більш як 90% цієї маси врешті-решт окиснюється до CO_2 і переходить у газову фазу, а залишок органічного вуглецю (близько $0,6\text{--}5 \cdot 10^8$ т) депонується у таких органічних сполуках, як гумус, сапропель, торф. Запаси вуглецю на Землі складають ($1 \cdot 10^8$ т): у ґрунтах – 1500, у біомасі суші – 600, в атмосфері – 720.

Тобто зміни запасів вуглецю у ґрунті можуть істотно впливати на склад атмосфери, що свідчить про значення мікробного угруповання

ґрунту для формування клімату на Землі. Вуглець біомаси ґрунтових мікроорганізмів складає $2,5-10 \cdot 10^8$ т.

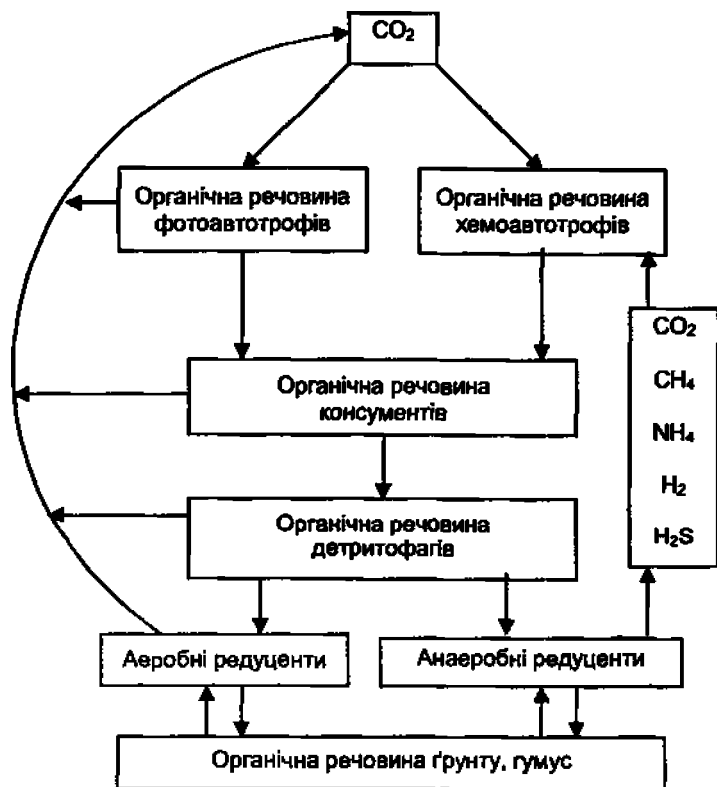


Рис. 7.1. Схема кругообігу вуглецю в природних екосистемах

Велику роботу з трансформації органічного вуглецю виконують травоядні тварини та хижаки, безхребетні та мікроорганізми. Принципова різниця між участю тварин і мікроорганізмів у трансформації органічного вуглецю полягає в тому, що тварини виконують первинний механічний і біохімічний розклад і підготовляють органічні сполуки для подальшого розкладу. Тільки мікроорганізми здатні доводити процеси розкладу органічного вуглецю рослинного і тваринного походження до повного окиснення з утворенням CO_2 . Крім того, вони запасують органічний

вуглець у гумусі, який важко піддається розкладу, хоча мікроорганізми здатні і його мінералізувати.

Тривалість циклу оберту вуглецю з урахуванням його участі в утворенні фітомаси, зоомаси і мікробної маси, а також повної мінералізації стійких сполук становить від 200–600 до 1000 років.

Сучасний етап розвитку біосфери характеризується зростанням значення антропогенного фактора, який впливає на швидкість і напрямки біогеохімічних циклів, у тому числі і на кругообіг вуглецю. Основні зміни кругообігу вуглецю під дією антропогенного фактора полягають у наступному:

1. Посилюється споживання запасів органічного вуглецю, який міститься в енергоносіях – нафті, вугіллі, природному газі. У виробничих циклах вони окиснюються до CO_2 , що підсилює вихід вуглецю в атмосферу.

2. Зменшується первинна продукція органічної речовини внаслідок урбанізації і зменшення площ зелених насаджень. Діоксид вуглецю, який утворюється при використанні органічних енергоносіїв, не реутилізується у фотосинтезі автотрофами, і концентрація CO_2 в атмосфері зростає, що утворює “парниковий ефект”.

3. Природні біоценози замінюються агроценозами, в яких збільшуються розміри тієї частини рослинницької продукції, яка відчужується і виноситься з ценозу з урожаєм. Внаслідок цього до ґрунту надходить менше рослинних залишків, які можуть перетворитися на гумус.

4. В умовах інтенсифікації сільськогосподарського виробництва при внесенні високих доз мінеральних добрив, засобів хімічного захисту рослин зростає мінералізаційна активність ґрунтової мікробіоти, що призводить до руйнування гумусових сполук, у яких депоновані запаси органічного вуглецю у ґрунті. Це призводить до дегуміфікації ґрунтів і зменшення депонованих запасів вуглецю.

Таким чином, в антропогенних біогеоценозах кругообіг вуглецю є від'ємно декомпенсованим. Відшкодування втрат вуглецю можливе такими шляхами: переходом на альтернативні джерела енергії, що дозволяє уникнути втрат запасів органічних енергоносіїв; збільшенням площ зелених насаджень для фіксації CO_2 і зростання розмірів автотрофного синтезу органічної речовини; заміною інтенсивних систем землеробства біологічними, які є екологічно збалансованими.

Мікробна трансформація вуглецевих сполук. Процес розкладу продуктів синтезу фотоавтотрофів описується кінетичним рівнянням першого порядку:

$$A_t = A_0 e^{-kt},$$

де A_t – концентрація субстрату у момент часу t ; A_0 – початкова концентрація субстрату; k – константа реакції, яка не залежить від кількості субстрату, а визначається активністю мікробного угруповання ґрунту.

Визначення k у лабораторних дослідках показало, що для процесу розкладу соломки і геміцелюлози $k = 0,02\text{--}0,03$ доба⁻¹, для лігніну $k = 0,003$ доба⁻¹.

Процес деструкції рослинного опаду залежить від його якості, зокрема, співвідношення вмісту вуглеводів (U) і лігніну (L), а також співвідношення $C:N$. Емпіричне рівняння продукування CO_2 у перебігу процесу розкладу рослинного опаду має вигляд:

$$CO_2 = U^{1/2} / [(C:N) \cdot L].$$

Відношення $C:N$ у бактерій коливається в межах від 3:1 до 8:1, у грибів може досягати 16:1. Загальне правило розкладу органічного субстрату полягає у наступному: якщо $C:N$ мікробної маси більше $C:N$ органічного субстрату, то мінералізація останнього сприяє збагаченню ґрунту азотом; навпаки, якщо $C:N$ мікроорганізмів менше від такого співвідношення в органічному субстраті, то у перебігу процесу деструкції відбудеться споживання азоту із запасів ґрунту.

Основним продуктом фотосинтетичних реакцій зелених рослин є полімерні вуглеводи, вони кількісно переважають над іншими продуктами, синтезованими продуцентами.

Трансформація целюлози. Серед рослинних глікополімерів переважає целюлоза, яка утворюється у великих кількостях як структурний компонент клітинної оболонки рослин і водоростей. Вищі рослини на 15–50% складаються з целюлози. З огляду на велику масу синтезованої щорічно целюлози мікроорганізми, які її розкладають, мають велике значення у кругообігу вуглецю. Целюлоза – нерозчинний гідрофільний полімер, що має лінійні нерозгалужені ланцюги із молекул D -глюкози, поєднаних 1,4- β -глікозидними зв'язками. Число глюкозних залишків може коливатися від 1400 до 10000. Молекули целюлози поєднані у пучки (міцели).

Історія вивчення процесу деструкції целюлози почалася з 1918 року, коли Х. Хутчинсон і Дж. Клейтон виділили з ґрунту целюлозоруйнівну бактерію, яка мала вигляд довгих веретеноподібних паличок із гострими кінцями. Спочатку мікроорганізм отримав назву *Spirochaeta cytophaga*, нині віднесений до роду *Cytophaga*. У 1902 році В.Л. Омелянський вперше виділив і описав анаеробну термофільну спороутворюючу паличку *Clostridium omelianskii*. За морфологічними ознаками – це паличка 4–

8 x 0,3–0,5 мкм, рухома, при старінні утворює на одному кінці клітини спори, діаметр яких більший за товщину клітини, тому останні набувають форми барабанних паличок.

Значний внесок у вивчення процесів аеробної і анаеробної мікробної деструкції целюлози внесли роботи Є.М. Мішустіна, М.С. Імшенецького, виконані у 1930–1950 рр.

Сучасні уявлення щодо розкладу целюлози базуються на таких положеннях. Деструкція целюлози потребує наявності комплексу позаклітинних ферментів – целюлаз, які підрозділяють на ендо- і екzogлюканази. Основними з них є ендоглюканази, які гідролізують 1,4-β-глікозидний зв'язок в різних місцях ланцюга з утворенням різних за довжиною целюлодекстринів. Екzogлюканаза відщеплює з редуруючого кінця ланцюга дисахарид целобіозу, яка під дією ферменту β-глюкозидази перетворюється на глюкозу.

Продукт гідролізу целюлози – целобіоза може переноситись у клітину шляхом фосфорилування за участю двох ферментів: фосфорилази целобіози або целодекстрин-фосфорилази. В аеробному розкладі целюлози кінцевими продуктами розкладу є диоксид вуглецю і вода.

В анаеробному розкладі целобіоза перетворюється на глюкозу, яка піддається бродінню з утворенням органічних кислот (оцтової, молочної, масляної, мурашиної), а також етанолу, диоксиду вуглецю і водню.

На прикладі екстремально термофільних целюлолітичних мікроорганізмів було показано, що гени, які визначають целюлолітичну активність, часто є поліфункціональними, незначно різняться за послідовностями.

Целюлозу розкладають аеробні й анаеробні мікроорганізми. Важливу роль у деструкції целюлози у ґрунті відіграють аеробні бактерії (ковзні бактерії порядку *Mycobacteriales*, цитофаги родів *Cytophaga*, *Sporocytophaga*), корінеподібні бактерії родів *Cellulomonas*, *Cellovibrio*, екстремально термофільний целюлолітик *Caldicellulosiruptor*, представники актиноміцетів роду *Streptomyces*), а також спороутворюючі анаеробні бактерії роду *Clostridium*. Здатність до розкладу целюлози мають багато видів грибів, докладно вивченими серед них є гриби родів *Trichoderma*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Botrytis*, *Myrothecium*.

Вивчення особливостей розповсюдження целюлозоруйнівних мікроорганізмів показало, що в орних ґрунтах переважають представники родів *Cytophaga*, *Cellovibrio*, а в природних біогеоценозах – *Polyangium*. За даними Н.Н. Наплекової, різноманіття мікроорганізмів, здатних розкладати целюлозу, зростає у такому ряді: підзолисті ґрунти > сірі лісові ґрунти > чорноземи.

Целюлозоруйнівні бактерії у ґрунті часто утворюють синтрофні асоціації з діазотрофами. В таких асоціаціях діазотрофи споживають продукти гідролізу целюлози як енергетичний матеріал, у той же час вони забезпечують целюлозоруйнівні бактерії зв'язаним азотом. У результаті інтенсивність деструкції целюлози значно зростає. Цей феномен останнім часом використовують у біотехнологічних процесах для інтенсифікації розкладу целюлози, наприклад створена ефективна асоціація *Azospirillum-Cellulomonas-Cytophaga-Bacillus*.

В колоніях целюлозодеструкторів часто виявляють оліготрофів. Такі взаємовідносини між целюлозоруйнівними бактеріями і дисипотрофами можна оцінити як синтрофні, коли гідролітики забезпечують продуктами розкладу оліготрофів. Останні у свою чергу утилізують прості вуглеводи, які можуть репресувати синтез целюлаз.

Трансформація геміцелюлоз, лігніну, пектинів. Міжклітинний простір у рослинних тканинах заповнений речовиною, до складу якої входять геміцелюлози, лігнін, пектини. Геміцелюлози – це гетерополісахариди, які складаються з пентоз або гексоз, до складу деяких із них входять також уронові кислоти. Геміцелюлози розділяють на ксилани (ланцюги *D*-ксилопіранозних залишків), глюкоманани (ланцюги *D*-манози і *D*-глюкози) і галактани (ланцюги *D*-галактози, що містять на кінцевих позиціях залишки *L*-арабінози). Найбільш поширеним є полімер ксилози – ксилан. Мікроорганізми, що здатні розкладати геміцелюлози, не мають специфічності до певних субстратів, видовий склад їх дуже різноманітний у зв'язку з різноманітним хімічним складом субстратів. Здатність до розкладу геміцелюлоз мають представники родів *Clostridium*, *Bacillus*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Streptomyces*. гриби родів *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fomes* та інші.

Ферменти, які каталізують деструкцію геміцелюлоз, називаються геміцелюлазами. Вони розщеплюють молекули геміцелюлоз на полімери меншої молекулярної маси, які можуть проходити через цитоплазматичну мембрану, а потім розкладають їх до мономерів – цукрів, із яких складаються ці полімери.

Лігнін є тривимірним полімером фенольних сполук, розщеплюється мікроорганізмами з утворенням альдегідів, простих ароматичних сполук, таких як ванілін та ін. Цей полімер стійкий до мікробної деструкції. Провідну роль у розкладі лігніну відіграють гриби класу *Basidiomycetes* (*Clavaria*, *Fomes*, *Polyporus*, *Ustilina*), а також *Trichoderma lignorum*, *Alternaria tenuis* та інші. Не виключена участь бактерій роду *Pseudomonas* у термофільному розкладі лігніну. Встановлено, що продукти деструкції лігніну використовуються у синтезі гумусових сполук.

Пектинові речовини – складні полігалактуроніди, що складаються із залишків α -D-галактуронових кислот, поєднаних 1,4-зв'язками. Існує три типи пектинових речовин:

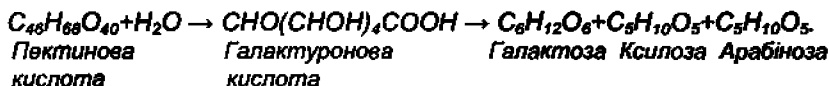
- 1) протопектин – нерозчинний у воді компонент клітинних стінок;
- 2) пектин – водорозчинний полімер галактуронової кислоти, містить метил ефірні зв'язки;
- 3) пектинова кислота – водорозчинний полімер галактуронової кислоти, не містить метилефірних зв'язків.

Мікробна деструкція пектинових речовин відбувається в аеробних і анаеробних умовах. До аеробних деструкторів цих речовин відносяться представники роду *Bacillus* (*B. macerans*), *Erwinia* (*E. carotovora*), багато грибів. Анаеробний розклад пектинів здійснюють представники роду *Clostridium* (*C. pectinovorum*, *C. pectinolyticum*).

Для розкладу пектинових речовин мікроорганізми синтезують ферменти таких груп:

- протопектинази, що каталізують деструкцію протопектинів з утворенням розчинного пектину;
- пектинестерази, які гідролізують метилефірні зв'язки з утворенням пектинової кислоти і метилового спирту;
- полігалактуронази, які гідролізують зв'язки мономерів з утворенням D-галактуронової кислоти.

Розклад пектинової кислоти відбувається у такій послідовності:



Прості вуглеводи галактоза, ксилоза, арабіноза засвоюються мікроорганізмами: в аеробних умовах – окиснюються, в анаеробних – зброджуються з утворенням масляної і оцтової кислот, водню і диоксиду вуглецю, у незначній кількості – ацетону і бутилового спирту.

Продуктування метану і проблеми парникового ефекту. За аеробних умов основна частина фотосинтетичної продукції мінералізується за участю мікроорганізмів до кінцевих продуктів: CO_2 і H_2O . За анаеробних умов диоксид вуглецю засвоюється автотрофними метаногенами, для яких він слугує джерелом вуглецю і термінальним акцептором електронів. Утворення метану описується таким рівнянням:

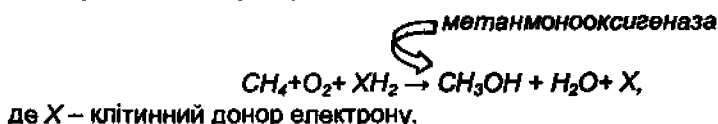


До метаногенів належать представники родів *Methanomicrobium*, *Methanosarcina*, *Methanococcus*, *Methanospirillum*.

Основними джерелами метану мікробного походження є болотяні і перезволожені ґрунти, у тому числі рисовники, донні відкладення. Метан мікробного походження утворюється також у кишковику жуйних тварин і термітів. У табл. 7.1 наведено потоки метану до атмосфери з урахуванням метану мікробного походження, які свідчать про вирішальну роль ґрунтових мікроорганізмів у продукції цього газу.

Проте значна частина метану, який утворюється метаногенами, не досягає атмосфери, оскільки на межі анаеробних і аеробних умов він окиснюється метанотрофними бактеріями.

Окиснення метану здійснюють obligatні метаноокиснювальні бактерії родів *Methylococcus*, *Methylomonas*, *Methylosinus*, *Methylocystis*, а також факультативні метилотрофні дріжджі і бактерії родів *Hyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Methylobacterium*. Першим етапом є окиснення метану до метанолу за участю метанмонооксигенази:



Таблиця 7.1

**Потоки метану в атмосферу
(за П.О. Кожевіним, 2004 р.)**

Потоки мікробного походження		Антропогенні і геологічні потоки	
джерело	мегатони за рік	джерело	мегатони за рік
Болота і болотяні ґрунти	120–205	Індустріальні втрати	20–55
Поля під культурою рису	70–170	Вихлопні гази	0,5
Жуйні тварини	80–100	Втрати на газопроводах	12–24
Терміти	25–125	Спалювання лісів	10–40
Звалища	5–70	Вугільні шахти	10–35
Світовий океан	1–20	Вулкани	0,5
Усього	301–690	Усього	53–155

Сумарний результат діяльності метаногенних і метанотрофних мікроорганізмів впливає на газовий склад атмосфери. Систематичні спостереження за змінами хімічного складу атмосфери у порівнянні зі складом газів, що містяться у газових бульбочках льоду Антарктиди і Гренландії, показали, що за останні 300–400 років в атмосфері Землі збільшується вміст CO_2 і CH_4 , які створюють “парниковий” ефект, що може привести до глобального потепління клімату Землі.

7.2. Кругообіг азоту

Кругообіг азоту складається з процесу мікробної його фіксації з атмосфери і включення зв'язаного азоту у малий біологічний кругообіг, у якому виділяють деструкцію азотвмісних органічних сполук до аміаку (амоніфікація), окиснення аміаку до азотної кислоти (нітрифікація), наступного відновлення до вільного азоту (денітрифікація), який надходить у атмосферу. У цьому циклі перелічені тільки кінцеві продукти основних шляхів мікробної трансформації азоту у ґрунті, проте у кожному з них утворюються проміжні продукти. Схема кругообігу азоту наведена на рис. 7.2. У трансформації сполук азоту головна роль належить мікроорганізмам. Недостатня увага до мікробіологічного фактору трансформації азоту у ґрунті є однією з причин незбалансованого забезпечення рослин азотом, надмірного накопичення нітратів у рослинній продукції, низької ефективності використання азотних мінеральних добрив, масового забруднення біосфери окислами азоту.

7.2.1. Біологічна азотфіксація

Запаси молекулярного азоту у повітрі є практично невичерпними. Над 1 км² земної поверхні у атмосфері міститься близько 8 млн. тонн азоту. Але у молекулярній формі цей елемент не може бути засвоєним жодним організмом на Землі, окрім деяких прокаріот. Азот може засвоюватись еукаріотними організмами тільки у формі неорганічних і органічних сполук. Саме нестача зв'язаних форм азоту у ґрунті є одним із факторів, які лімітують розвиток рослин.

Зв'язування азоту у природі може відбуватись абіотичним шляхом – при електричних розрядах у атмосфері, виверженнях вулканів, пожежах та ін. Проте кількість азоту, який зв'язується за таких умов, є невеликою, а сам процес – неврегульованим.

Здатність до біологічного зв'язування молекулярного азоту повітря мають тільки деякі прокаріотичні організми завдяки наявності у них специфічного ферменту – нітрогенази.

Азотфіксацією називається відновлення молекулярного азоту (N₂) до аміаку ферментом нітрогеназою в клітинах азотфіксуючих бактерій.

Біологічна азотфіксація є головним джерелом засвоюваного азоту у біосфері.

Відкриття мікроорганізмів-азотфіксаторів почалося з виявлення у 1882 р. М. Жоденом факту збагачення азотом поживного середовища, у якому розвивались мікроорганізми за присутності доступних вуглецевих субстратів. Г. Гельрігель (1883 р.) вперше висловив ідею щодо мо-

жливості біологічного зв'язування азоту повітря. У балансових дослідях М. Бертло (1885 р.) було виявлено приріст вмісту азоту не тільки у лабораторних поживних середовищах, а й безпосередньо у ґрунті.

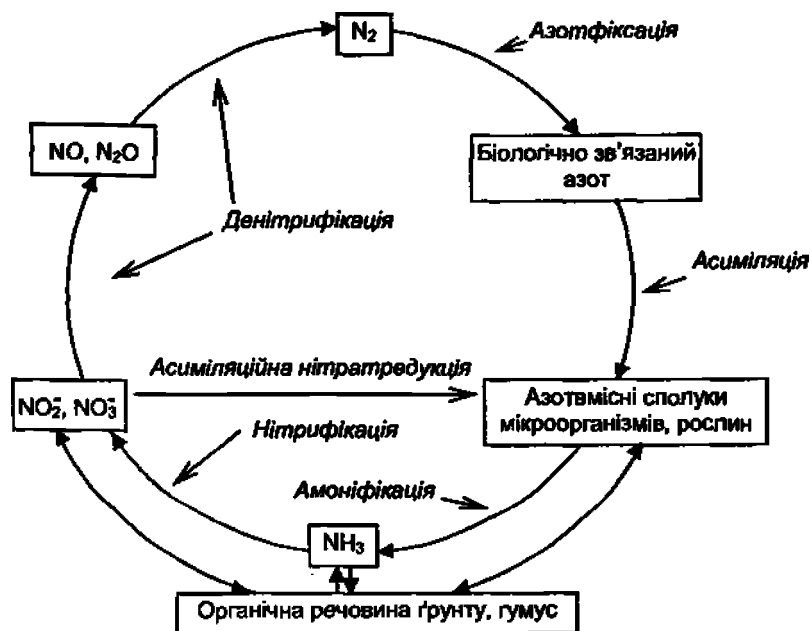


Рис. 7.2. Схема кругообігу азоту у природі

С.М. Виноградський у 1883 р. вперше виділив чисту культуру анаеробної бактерії, названу ним *Clostridium pasteurianum*, і довів її здатність фіксувати атмосферний азот. М. Бейєрінк у 1901 р. виділив чисту культуру азотфіксуючої аеробної бактерії – *Azotobacter chroococcum*.

Вивчення біологічної фіксації азоту атмосфери значною мірою залежало від аналітичних можливостей методів, які застосовувалися дослідниками. Протягом тривалого часу (до початку 50-х років XX ст.) проводились активні пошуки мікроорганізмів-азотфіксаторів шляхом висіву на безазотових середовищах. Здатність до азотфіксації виявляли у балансових підрахунках за приростом вмісту загального азоту, який визначали хімічним методом за К'ельдалем. Цей метод є малочутливим, тому імовірність виявлення азотфіксаторів була низькою.

З середини XX ст. почали використовувати стабільний ізотоп азоту ^{15}N . Було встановлено, що стабільний ізотоп ^{15}N засвоюється мікроорганізмами майже з такою швидкістю, як азот повітря ^{14}N . Тобто за кількістю засвоєного клітинами ^{15}N можна характеризувати активність азотфіксації бактеріальними клітинами. Застосування ізотопного методу дало можливість істотно підвищити чутливість визначення зв'язаного азоту – до 10^{-6} М. Підсумовуючи результати застосування цього методу, М.В. Федоров зробив висновок, що фіксувати азот можуть мікроорганізми таких родів: вільноіснуючі *Clostridium*, *Azotobacter* та бактерії, які здатні фіксувати азот у симбіозі з бобовими рослинами – це бульбочкові бактерії роду *Rhizobium*.

Наступний етап вивчення біологічної азотфіксації почався з відкриття ацетилен-етиленового методу визначення активності нітрогеназ. Метод базується на здатності нітрогенази відновлювати ацетилен (C_2H_2) до етилену (C_2H_4) у кількості, пропорційній вмісту азоту, який може бути фіксований за таких умов. Ацетилен-етиленовий метод з використанням газової хроматографії дозволив підвищити точність вимірювання азотфіксації до 10^{-9} М. Завдяки використанню цього методу здатність до фіксації азоту була виявлена у широкого кола бактерій, які відносяться до різних таксономічних груп. Було достовірно доказано, що атмосферний азот не здатні фіксувати гриби, рослини і тварини.

Крім азотфіксаторів вільноіснуючих (азотобактер, анаеробні бактерії) та симбіотичних (бульбочкові бактерії), були також виявлені асоціативні й ендofітні діазототрофи. Асоціативні діазототрофи існують на коренях і стеблах рослин, живляться фотосинтетичними продуктами, що екскретуються назовні. Ендofітні діазототрофи існують у міжклітинних просторах рослинних тканин і використовують продукти фотосинтезу, що містяться у рослині. Виявлені також види, які можуть існувати як у ризосфері, так і ендofітно.

Використання ацетилен-етиленового методу дозволило більш точно оцінити внесок асоціативної мікробної азотфіксації у азотний баланс наземних екосистем: він складає не менш як 20–40 кг/га і сягає до 100 кг/га у тропічній зоні. Нині здатність до фіксування азоту (за ознакою нітрогеназної активності) виявлена у багатьох мікроорганізмів (табл. 7.2).

Азотфіксуючі мікроорганізми за способом існування розподіляють на вільноіснуючі (*Azotobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*), асоціативні, що живуть на коренях рослин (*Azospirillum*, *Flavobacterium*), ендofітні (*Acetobacter* і *Azoarcus*, *Anabaena*, *Nostoc*), внутрішньоклітинні симбіонти (*Rhizobiaceae* з бобовими рослинами, *Nostoc* з *Gunnera*).

Таблиця 7.2

Основні представники азотфіксуючих мікроорганізмів

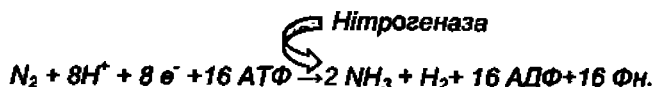
Царство *Procarlotae*Відділ *Gracillicutes* (грамнегативні еубактерії, які мають клітинну стінку)

Клас <i>Scotobacterie</i>		
Частина 2 Спірили	Частина 4 Аеробні грамнегативні палички і коки	Частина 5 Факультативно анаеробні грамнегативні палички
Родина <i>Spirillaceae</i> Рід <i>Azospirillum</i> Види <i>A. brasilense</i> , <i>A. lipoferum</i> , <i>A. amazonense</i> , <i>A. halopraeferanse</i> <i>A. largimobile</i> <i>A. irakense</i> <i>A. dobereineriae</i>	Родина <i>Pseudomonadaceae</i> Роди <i>Pseudomonas</i> , <i>Alcaligenes</i>	Родина <i>Enterobacteriaceae</i> Роди, види <i>Klebsiella</i> (<i>K. pneumoniae</i>), <i>Enterobacter</i> (<i>E. aerogenes</i>), <i>Citrobacter</i> (<i>C. intermedius</i>), <i>Xanthobacter</i> (<i>X. flavus</i>)
	Родина <i>Rhizobiaceae</i> Роди <i>Azorhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Mesorhizobium</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i>	
	Родина <i>Azotobacteriaceae</i> Роди <i>Azotobacter</i> , <i>Azotomonas</i> , <i>Beijerinckia</i> .	
Частина 10 Клас <i>Anoxyphotobacteria</i> Аноксигенні фототрофні бактерії		Частина 11 Клас <i>Oxyphotobacteria</i> Оксигенні фототрофні бактерії
Порядок <i>Rhodospirillales</i> (пурпурові бактерії) Родина <i>Rhodospirillaceae</i> (несіркові пурпурові бактерії) Роди <i>Rhodospirillum</i> , <i>Rhodobacter</i> Родина <i>Chromatiaceae</i> (сіркові пурпурові бактерії) Роди <i>Chromatium</i> , <i>Thiospirillum</i> , <i>Thiocapsa</i> Родина <i>Chlorobiaceae</i> (зелені сіркові бактерії) Родина <i>Chloroflexaceae</i>		Порядок <i>Cyanobacteriales</i> , Роди <i>Synechococcus</i> , <i>Microcystis</i> Порядок <i>Oscillatoriales</i> Роди <i>Oscillatoria</i> , <i>Plectonema</i> , <i>Spirulina</i> Порядок <i>Nostocales</i> Роди <i>Anabena</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Rivularia</i>

Відділ *Firmicutes* (грампозитивні еубактерії, які мають клітинну стінку)

Клас <i>Firmibacteria</i>		Клас <i>Thalobacteria</i> Актиноміцети і споріднені організми
Частина 17 Грампозитивні коки Родина <i>Streptococcaceae</i> Рід <i>Leuconostoc</i>	Частина 18 Грампозитивні бактерії, що утворюють ендоспори Рід <i>Clostridium</i> Види <i>C. acetobutylicum</i> <i>C. butyricum</i> , <i>C. pasteurianum</i> <i>C. pectinovorum</i> Рід <i>Bacillus</i> Види <i>B. subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i>	Частина 23 Родина <i>Frankiaceae</i> Рід <i>Frankia</i>

Біохімія азотфіксації. Зв'язування азоту у мікроорганізмів відбувається завдяки нітрогеназам; у загальному вигляді описується рівнянням:



Як видно з рівняння, процес фіксування азоту є енерговитратним. Підраховано, що на цю реакцію, а також синтез нітрогеназ та обслуговуючих їх ферментів на 1 г фіксованого азоту витрачається 100–200 г глюкози.

Вивчення нітрогеназ показало, що за багатьма ознаками вони є унікальними серед ферментів. Нітрогеназний комплекс складається із білків трьох типів – α , β і γ , а також двох кофакторів: залізо (Fe)-вміщуючого і молібден-залізо ($MoFe$)-вміщуючого. Виявлена також нітрогеназа, що не містить металів.

Нітрогеназа має дві субодиниці: компонент I – складається з малої редуктази нітрогенази, компонент II – динітрогеназа (табл. 7.3).

Таблиця 7.3

Характеристика нітрогеназного комплексу

Нітрогеназний комплекс	
Динітрогеназа, передає електрони на N_2 і H^+ ($MoFe$)-вміщуючий білок, до складу якого входять 2 атоми Mo і по 24–32 атоми Fe і S . Має 4 кластери $4F-4 S$. Молекулярна маса 220 кДа	Редуктаза нітрогенази, донор електронів для динітрогенази, Fe -вміщуючий білок. Має один кластер $4F-4 S$. Молекулярна маса 60 кДа

Виявлені також альтернативні нітрогенази, у яких молібден замінений ванадієм або вольфрамом. Альтернативні нітрогенази, як і $MoFe$ -нітрогеназа, складаються з двох компонентів та інактивуються при контакті з киснем.

Унікальною є здатність альтернативних нітрогеназ відновлювати ацетилен (C_2H_2) до етану (C_2H_6), завдяки чому їх можна відрізнити від $MoFe$ -нітрогенази, яка відновлює ацетилен до етилену (C_2H_4). Альтернативні нітрогенази виявлені у *Azotobacter chroococcum*, *A. vinelandii*, *A. paspali*, *Anabaena variabilis*, *Rhodobacter capsulatus*.

Існування декількох типів нітрогеназ надає діазотрофам додаткову можливість для азотфіксації за умов дефіцитного забезпечення Mo чи Fe .

Нітрогеназа має низьку субстратну специфічність і може відновлювати не тільки N_2 , а також інші сполуки, з потрійним зв'язком: ацетилен, закис азоту, ціанід, циклопропіл, метилацетилен, азид, а також іони водню H^+ до молекулярного водню H_2 .

Нітрогеназа чутлива до вільного кисню й інактивується навіть при незначних його концентраціях. Для функціонування нітрогенази необхідне джерело енергії і надходження електронів. Для отримання енергії найбільш ефективними шляхами є окиснювальне фосфорилування і фотосинтез, у анаеробних азотфіксаторів – бродіння. Сполучення цих енергетичних процесів з фіксацією азоту ускладнюється через пригнічення нітрогенази киснем. Тому аеробні мікроорганізми-азотфіксатори мають ряд механізмів для захисту нітрогенази від кисню, при цьому зберігають можливість отримання енергії окислювальними шляхами. У вільноіснуючих діазототрофів це може бути досягнуто тим, що гени, які кодуєть нітрогеназу, активуються тільки в анаеробних або мікроаерофільних умовах. Деякі азотфіксуючі бактерії мають щільну оболонку (гетероцисти ціанобактерій, полісахаридні капсули), яка повільно пропускає кисень. У бульбочкових бактерій і ендоситних азотфіксаторів функцію захисту нітрогенази виконує рослина-живитель.

Була відкрита альтернативна супероксид-залежна CO₂-нітрогеназа, яка стабільна при контакті з киснем і навіть потребує його. CO₂-нітрогеназа є трикомпонентною.

Будова нітрогеназ є універсальною для всіх азотфіксуючих бактерій. Доказом універсальності є дані про те, що штучна нітрогеназа, яка складається з компонентів, взятих у різних бактерій, відновлює свою активність.

Синтез нітрогеназ кодується складною системою *nif*-генів. Так, наприклад, у добре вивченого азотфіксатора *Klebsiella pneumoniae* ця система включає 25 генів, які зібрані в один кластер із семи транскрипційних одиниць. Гени *nifH*, *nifD*, *nifK* кодуєть структуру α-, β- і γ-білків нітрогенази; гени *nifM*, *nifS*, *nifU*, *nifY* – процесінг цих білків. Гени *nifB*, *nifE*, *nifN*, *nifV* контролюють синтез MoFe-фактора. Крім того, *nif*-оперон бактерії містить два регуляторних гени: *nifA* кодує білок, що активує транскрипцію генів *nifHDK*, а також інших *nif*-генів. Навпаки, продукт гену *nifL* репресує транскрипцію *nif*-генів за присутності кисню.

У подальшому з аміаку, синтезованого з атмосферного азоту, утворюються амінокислоти. Ці реакції каталізують ферменти глютамін- і глютаматсинтети.

Вільноіснуючі азотфіксуючі мікроорганізми. На теперішній час відомо більш як 30 видів мікроорганізмів, здатних фіксувати азот атмосфери, які існують у ґрунті як хемоорганогетеротрофні та фототрофні організми.

Великий вклад у фіксування атмосферного азоту вносять представники групи азотобактерів, до якої належать роди *Azotobacter*,

Azomonas, *Beijerinckia*. До роду *Azotobacter* відносять аеробні грамнегативні мікроорганізми. Молоді клітини за морфологією є рухомими паличками розміром 2–3х4–6 мкм; при старінні вони перетворюються на крупні коки діаметром до 4 мкм або клітини неправильної форми, розміщені поодинці, парами або групами. Палички втрачають джгутики і мають полісахаридну капсулу; аероби, мезофіли, хемоорганогетеротрофи, фіксують молекулярний азот, продукують біологічно активні речовини.

Найбільш часто у ґрунті зустрічаються такі види як *A. chroococcum* (продукує буро-коричневий пігмент), *A. vinelandii* (продукує зеленувато-жовтий пігмент з флюоресценцією), *A. agile* (продукує світло-жовтий пігмент з флюоресценцією), *A. beijerinckii* (колонії мають світло-коричневий колір), *A. nigricans* (колонії від чорного до фіолетового кольору).

Як джерела азоту азотобактери засвоюють солі амонію, нітрати, нітрити, амінокислоти, а за їх відсутності – фіксують молекулярний азот. Кількість фіксованого цими мікроорганізмами азоту може сягати 15–20 мг N на 1 г засвоєного органічного субстрату. Як енергетичний субстрат використовують моно- і дисахариди, деякі полісахариди, спирти, органічні кислоти, в тому числі ароматичні. Висока потреба цих мікроорганізмів у елементах живлення (особливо фосфорі, калії, кальції) зумовлює розповсюдження їх у високородючих ґрунтах із нейтральною реакцією. Азотобактери чутливі до пестицидів і токсичних йонів важких металів. Тому кількість азотобактеру у ґрунті часто використовують як індикатор сприятливих умов для вирощування сільськогосподарських рослин. Азотобактери синтезують біологічно активні сполуки, які стимулюють ріст рослин, проявляють антагоністичні властивості до фітопатогенних бактерій. Завдяки цим корисним властивостям їх використовують як основу бактеріального добрива – азотобактерину (див. розділ 10.1). Азотобактер виявляється не тільки у ґрунтах. Існують дані щодо активної колонізації азотобактерами зони коренів рослин, а також проникнення його у внутрішні тканини кореня; показана також можливість існування їх як епіфітів на рослинах. Це дає підставу відносити представників азотобактерів також і до асоціативних азотфіксаторів.

Мікроорганізми роду *Beijerinckia* поширені у кислих ґрунтах субтропічної зони, рідше зустрічаються у ґрунтах зони помірного клімату. Клітини бактерій роду *Beijerinckia* мають різноманітну морфологію – палички, коки, можуть бути рухомими, іноді утворюють капсули. Не засвоюють ароматичні сполуки, а при рості на вуглеводах накопичують у середовищі органічні кислоти. Можуть рости при широкому діапазоні pH: від 3,0 до 9,5. Здатні фіксувати до 16–20 мг N на 1 г вуглеводів.

Ентеробактерії – факультативно-анаеробні грамнегативні палички. Серед цієї групи здатність до азотфіксації мають *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter intermedium*, *Xanthobacter flavus*. За морфологічними ознаками – це палички поодинокі, рухомі із перитрихіальними джгутиками, факультативні анаероби, здатні до окиснення в аеробних і до бродіння – в анаеробних умовах, хемоорганогетеротрофи. Зустрічаються переважно у лісових підзолистих і лугових ґрунтах при низьких значеннях рН і низьких температурах. Деякі представники є ендofітами рослин.

Серед вільно існуючих діазототрофів є представники грампозитивних спороутворюючих бактерій: аеробні види (*Bacillus subtilis*, *B. polymyxa*) і анаеробні клостридії, переважно сахаролітичної групи (*Clostridium pasteurianum*, *C. butyricum*, *C. acetobutyricum*, *C. pectinovorum*). Першою з анаеробних спороутворюючих бактерій була відкрита у 1893 р. С.М. Виноградським *Clostridium pasteurianum*. Молоді клітини цієї бактерії мають форму перитрихіальних паличок 0,8–1,3x1,5–8,0 мкм. При споруляції клітини потовщуються і утворюється спора, діаметр якої перевищує товщину паличок. Спори можуть розміщуватися термінально або посередині клітини. Культура продукує полісахариди, які утворюють капсули. Як джерело азотного живлення можуть використовувати солі амонію, нітрати, амінокислоти, за їх відсутності починають фіксувати молекулярний азот. Джерелом енергії слугують вуглеводи, органічні кислоти. Енергію отримують в результаті бродіння.

Азотфіксуючі клостридії широко розповсюджені у ґрунтах різних типів, а також у рисових чеках, мулі каналів зрошення. Активний розвиток цих бактерій спостерігається за умов збагачення ґрунту свіжою органічною речовиною. Як облігатні анаероби вони утворюють асоціації з аеробними бактеріями, які споживають кисень і тим самим забезпечують сприятливі умови життєдіяльності для анаеробів.

Клостридії можуть фіксувати до 20 мг N на 1 г вуглеводів. Збагачення ґрунту свіжою органічною речовиною (гній, солома) сприяє розвитку азотфіксуючих клостридій, анаеробна фіксація може досягати 2–5 кг N на 1 га.

Здатність до фіксації азоту мають **фототрофні ціанобактерії**. Серед азотфіксуючих ціанобактерій є одноклітинні форми (*Glathoece*, *Synechococcus*, *Dermocarpa*); багатоклітинні (*Anabaena*, *Nostoc*, *Fischerella*) та представники родів, які утворюють гетероцисти або не утворюють їх (*Oscillatoria*, *Pseudoanabaena*, *Lyngbya*).

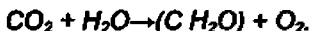
За морфологією можуть бути одноклітинними, багатоклітинними, нитчастими, останні у вигляді трихом. Утворюють гетероцисти й акінети з товстою оболонкою.

Ціанобактерії використовують енергію світла за допомогою пігментів. Для більшості ціанобактерій характерна наявність системи внутрішньоклітинних мембран, які містять хлорофіли, каротиноїди та компоненти фотосинтетичного апарату. Парні мембрани утворюють диски – тилакоїди; виявлені також карбоксисоми з рибулозобісфосфаткарбоксилазою, яка бере участь в асиміляції CO_2 через цикл Кальвіна. Особливістю ціанобактерій є наявність ціанофіцину – азотамісного запасного продукту, що є пептидом аргініну і аспарагінової кислоти. У ціанобактерій виявлені пігменти: хлорофіл *a*, багато видів синтезують β -каротин, ехіненон (4-кето- β -каротин) і зеаксантин (3,3'-дигідро- β -каротин), всього виявлено більш як 20 каротиноїдів. Усі ціанобактерії утворюють фікобіліпротеїни червоного або блакитного кольору, що містяться у фікобілісомах і слугують для поглинання світла в області 500–660 нм. Хлорофіли, каротиноїди і фікобіліпротеїни мають функцію збирання світла для фотосистеми.

Для переносу електронів у ціанобактерій поряд із НАД і флавінами є також пластоціанін (мідьвмісний білок), ферредоксини (2Fe-2S)-типу, пластохінони, цитохроми *c*, деякі філохінони.

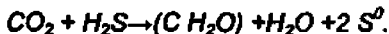
Більшість ціанобактерій – облігатні фототрофи й аероби, такі як представники родів *Glathoece*, *Anabaena*, *Pseudoanabaena*. У фотогетеротрофних умовах (при освітленні і використанні окрім CO_2 органічних сполук) ростуть *Synechococcus*, *Synechocystis*, *Dermocapsa*, *Pleurocapsa*, *Oscillatoria*, *Nostoc*. В органотрофних умовах (у темряві і при використанні вуглеводів і органічних кислот) можуть рости багатоклітинні форми *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Lyngbya* та одноклітинні *Synechococcus*.

Асиміляція CO_2 за присутності світла відбувається окисним шляхом з виділенням кисню і описується рівнянням:



Донором електронів у цій реакції виступає вода.

За присутності світла в анаеробних умовах для асиміляції CO_2 аноксигенним шляхом, як донор електронів використовують сульфід:



Деякі ціанобактерії можуть рости при освітленні і використовують при цьому не тільки диоксид вуглецю, а й органічні речовини, тобто ростуть у фотогетеротрофних умовах.

Фотоасиміляція CO_2 відбувається у циклі Кальвіна за участю рибулозобісфосфаткарбоксилази, яка знаходиться у карбоксисомах вегетативних клітин і акінетах.

У процесі асиміляції CO_2 в клітинах можуть синтезуватися запасні продукти, такі як глюкози, ціанофіцини, а також полі- β -гідроксибутират.

Поряд із фотосинтезом деякі ціанобактерії можуть споживати органічні речовини, такі як вуглеводи (D-глюкоза, D-фруктоза, D-рибоза, мальтоза, гліцерол), органічні кислоти, амінокислоти, пурини, піримідини.

Основною формою нітрогенази, що відповідає за азотфіксацію, є фермент, що містить *MoFe-кофактор*, у деяких видів визначені альтернативні нітрогенази, що містять тільки Fe або Fe і W. Відомо, що активність нітрогеназ репресується за присутності кисню. Проте виявлені види ціанобактерій, які здатні фіксувати азот в аеробних умовах. Для цього вони мають певні способи захисту від репресуючої дії кисню. Наприклад, багато видів утворюють слизові капсули, в які кисню важко проникнути. Крім того, за великої швидкості дихання і певної локалізації нітрогенази кисень витрачається на окисні процеси і не встигає надходити до нітрогенази. В гетероцистах, які мають більш товсту оболонку у порівнянні з вегетативними клітинами, відбувається активне дихання; при цьому процес фіксації азоту не пригнічується навіть при високому вмісті кисню в середовищі. Функціонування нітрогенази забезпечується синтезом у гетероцистах АТФ і утворенням відновленого ферредоксину, який слугує донором електронів при азотфіксації. Відновлення ферредоксину відбувається при окисненні органічних сполук (вуглеводів), які синтезуються з діоксиду вуглецю в процесі фотосинтезу. В той же час у вегетативні клітини надходить фіксований з повітря азот. Нітрогеназа каталізує не тільки фіксацію азоту, а й утворення молекулярного водню. Проте водень, що утворюється, швидко окиснюється за участю гідрогенази, тобто відбувається його рециклізація.

Ціанобактерії широко поширені у ґрунтах, прісних і солоних водах, зрошувальних каналах. Вони зумовлюють цвітіння води. Ціанобактерії заселяють верхній шар ґрунту – 0,2–1,0 см, за умов достатнього зволоження вони можуть утворювати суцільну плівку. У великій кількості ціанобактерії розмножуються під культурою рису, який вирощується за технологіями, що включають затоплення ґрунту.

Асоціативні азотфіксатори. До асоціативних фіксаторів азоту відносять мікроорганізми, які розвиваються у тісній взаємодії з коренями рослин і заселяють зону коренів (ризосферу), розміщуються безпосередньо на коренях (у ризоплані) і навіть проникають у тканини кореня (у гітосферу). Асоціативні азотфіксатори інтенсифікують процес

біологічного зв'язування азоту лише за умов активної взаємодії з коренями рослин.

До асоціативних азотфіксаторів відносять представників родів *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*. Продуктивність асоціативної азотфіксації за вегетаційний період у зоні помірного клімату становить 20–30 кг азоту на 1 га, що становить близько 50–60% кількості фіксованого біологічного азоту.

Дослідження асоціативних азотфіксаторів почали інтенсивно проводитись у 1965–1975 роках. Вперше у тропічних регіонах Бразилії була виявлена висока нітрогеназна активність у зоні коренів рослин *Paspalum notatum*. З поверхні коренів паспалуму Дж. Доберейнер вперше виділила і описала аеробні спірили з загостреними кінцями, що фіксують молекулярний азот. Вони були віднесені до роду *Azospirillum* (*A. brasilense*, *A. lipoferum*), пізніше були також виявлені види *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense*, *A. largimobile*, *A. dobereineare*.

Азоспірили – грамнегативні, вібродні, рухливі (з полярними джгутиками) палички, розмірами 1,0–1,5 x 4–5 мкм, мають включення – гранули полі- β -оксибутирату. При висушуванні можуть утворювати цистоподібні клітини. Атмосферний азот у чистій культурі можуть фіксувати за умов низького парціального тиску кисню, оскільки їх нітрогеназний комплекс дуже чутливий до кисню. Азоспірили потребують для свого розвитку біотин, можуть утилізувати амонійні форми азоту, засвоювати органічний азот, а також здатні до денітрифікації. На відміну від інших азотфіксуючих бактерій вони слабо використовують цукри і віддають перевагу таким джерелам вуглецевого живлення, як малат, лактат, піруват.

Азоспірили широко розповсюджені у чорноземних, дерново-підзолистих ґрунтах, їх можна виділити з поверхні коренів кукурудзи, проса, сорго, ячменю, пшениці. Встановлено, що азоспірили можуть не тільки заселяти поверхню коренів, а й проникати у міжклітинний простір кори, а також у судини кореневої ксилеми. Крім того, вони виявляються на поверхні насіння окремих культур.

Розвиток азоспірил значною мірою залежить від кількості фотоасимілятів рослин і їх якісного складу. Так у кореневій зоні рослин із C_4 -типом фотосинтезу, у яких первинними продуктами фотосинтезу є органічні кислоти (4-вуглецеві яблучна, щавелева кислоти) переважають азоспірили виду *A. lipoferum*. До рослин із C_4 -типом фотосинтезу належать кукурудза і більшість злаків. У рослин C_3 -типу фотосинтезу (пшениця, ячмінь, жито, рис) засвоєння вуглецю відбувається за циклом Кальвіна. У кореневій зоні цих рослин переважає *A. brasilense*. Проте і серед рослин C_3 -типу фотосинтезу колонізація бактерією *A. brasilense* відбувається по-різному, тому на даному етапі вивчення асоціативних азотфіксую-

чих асоціацій не варто специфічність пояснювати лише типом вуглецевого обміну, потрібно вивчати інші аспекти обміну біохімічними сигналами між рослинами і бактеріями.

Азоспірили також синтезують біологічно активні рістстимулюючі речовини. Рослина, в свою чергу, контролює формування асоціативного азотфіксуючого комплексу. Ця здатність отримала назву *nis*-ознаки. Виявлено, що сорти і гібридні лінії злакових культур істотно різняться за цією ознакою. Тобто при виведенні нових сортів слід проводити відбір і за здатністю рослин утворювати асоціації з бактеріями, які характеризуються високою нітрогеназною активністю. Найбільш активні культури азоспірил стали основою бактеріальних добрив під небобові рослини (див. розділ 10.1).

Із ризоплани сільськогосподарських культур часто виділяються представники родини *Pseudomonadaceae*, серед яких виявлені культури, що мають нітрогеназну активність, наприклад *P. diazotrophicus*. Це невеликі грамнегативні палички, поодинокі, рухомі завдяки полярним джгутикам, аероби або факультативні анаероби, хемоорганогетеротрофи. У асоціативних псевдомонад активність фіксації молекулярного азоту нижча порівняно з азоспірилами. Багато видів псевдомонад можуть продукувати β -індолілоцтову кислоту, яка має фітогормональні властивості. Азотфіксуючі псевдомонади виділені із кореневої зони озимого жита, ячменю, рису. Інтродукція чистих культур цих бактерій у кореневу зону рослин показала, що вони здатні утворювати на коренях активні азотфіксуючі асоціації.

У кореневій зоні тонконога лучного, рису, озимої пшениці виявлені азотфіксуючі види бактерій роду *Klebsiella* (*K. pneumoniae*). Встановлені тісні асоціативні взаємовідносини між цими бактеріями і рослинами. Інтродукція їх у кореневу зону збільшувала надходження азоту до рослин на 30% і більше. Деякі представники клебсієл можуть існувати ендосфитно, наприклад *K. oxytoca*.

У тісні взаємовідносини з рослинами можуть вступати також інші азотфіксуючі мікроорганізми, які населяють ризосферу рослин: *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. polymyxa*), *Clostridium*, *Beijerinckia*. Крім того, виявлені азотфіксатори-ендофіти: *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*.

Зону коренів рослин населяють представники різних таксономічних груп асоціативних азотфіксуючих бактерій. Так із ризосфери озимої пшениці виділяють представників родів *Bacillus*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Clostridium*, *Agrobacterium*, *Serratia*, *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Klebsiella*, *Herbaspirillum*. Це дає підставу говорити про бага-

токомпонентне азотфіксуюче угруповання, яке складається з декількох видів бактерій.

У дослідях В.В. Волкогона було показано, що гістосферу злакових культур колонізують найбільш активні діазотрофи, які формують продуктивні асоціації з рослиною. Так, у тканинах кореня райграса активно розмножується *Azospirillum lipoferum* і *Agrobacterium radiobacter*, овсяниці – *Bacillus polymyxa*, тимофіївки – *B. subtilis* і *Enterobacter aerogenes*. Це свідчить на користь того, що певні види бактерій можуть відігравати визначальну роль у формуванні асоціативних азотфіксуючих асоціацій у кореневій зоні окремих рослин.

Слід зазначити, що роль асоціативних азотфіксаторів не вичерпується покращанням азотного живлення рослин. У багатьох видів азотфіксуючих бактерій виявлена здатність продукувати біологічно активні сполуки, які активують ріст рослин, а також сприяють збільшенню розгалуження корінців і їх активної поверхні, завдяки чому зростає здатність до надходження поживних речовин з ґрунту.

Важливим аспектом взаємодії асоціативних азотфіксаторів і рослин є зменшення ступеня ураження інокульованих рослин фітопатогенами. Так, виявлена фунгістатична активність азоспірил, азотобактера та псевдомонад по відношенню до деяких фітопатогенних грибів. Факторами пригнічення росту фітопатогенних грибів можуть бути перевага азотфіксаторів у більш ранньому заселенні коренів рослин, конкуренція за окремі елементи, наприклад, залізо внаслідок синтезу залізов'язуючих сидерофорів та ін.

Обробка насіння і коренів рослин культурами асоціативних азотфіксаторів підвищує урожай сільськогосподарських культур, тому їх використовують як основу бактеріальних добрив (див. розділ 10.1).

Бобово-ризобіальний симбіоз. Симбіоз, який утворюється між бобовими рослинами і бульбочковими бактеріями (ризобіями), називається бобово-ризобіальним. Кількісні досліді, які підтверджували здатність бобових рослин збагачувати ґрунт азотом, були проведені Ж. Бу. де Ланго (1838 р.). Взаємозв'язок між здатністю бобових рослин зв'язувати азот та присутністю бульбочок на їх коренях вперше виявили Г. Гельригель та Г. Вільфарт (1886–1888 рр.). Мікроскопічні тільця, що містяться всередині бульбочок вільхи і люпину, вперше описав М. Воронін (1886). Чисту культуру бульбочкових бактерій вперше виділив М. Бейерінк (1888) і показав, що ці мікроорганізми здатні утворювати на коренях бобових бульбочки, в яких відбувається фіксація азоту. Виділений з бульбочок бактерії він назвав *Bacillus radicicola*, тобто коренева бацила.

За сучасною класифікацією бульбочкові бактерії відносяться до родини *Rhizobiaceae*, до складу якої входить п'ять родів (таблиця 7.4).

Представники родини *Rhizobiaceae*

Родина <i>Rhizobiaceae</i>					
Роди	<i>Azorhizobium</i> (Dreyfus et al., 1988)	<i>Bradyrhizobium</i> (Jordan, 1982)	<i>Mesorhizobium</i> (Jarvis et al., 1982)	<i>Rhizobium</i> (Frank, 1889)	<i>Sinorhizobium</i> (De Lajudie et al., 1994)
Види	<i>A. caulinodans</i>	<i>B. japonicum</i>	<i>M. loti</i>	<i>R. leguminosarum</i> biovar <i>viceae</i>	<i>S. meliloti</i>
		<i>B. elkanii</i>	<i>M. huakuii</i>	<i>R. leguminosarum</i> biovar <i>phaseoli</i>	<i>S. medicae</i>
		<i>B. liaoningense</i>	<i>M. ciceri</i>	<i>R. galegae</i>	<i>S. fredii</i>
			<i>M. mediterraneum</i>	<i>R. gallicum</i>	<i>S. saheli</i>
			<i>M. tianshanense</i>	<i>R. mongolense</i>	<i>S. terangaе</i>

Бульбочкові бактерії поділяють на дві групи: ті, що ростуть повільно (*Bradyrhizobium*) і ті, що ростуть швидко (*Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*).

За морфологічними ознаками – це грамнегативні невеликих розмірів (0,5–1,9x1,2–3 мкм), рухомі палички, з віком втрачають рухомість, накопичують жирові включення, внаслідок чого спостерігається їх нерівномірне фарбування. При старінні як на поживних середовищах, так і в бульбочках бактерії утворюють потовщені, гіллясті або грушоподібні утворення, які за розмірами значно перевищують молоді палички. Бульбочкові бактерії мають складний цикл розвитку: у молодому віці палички поодинокі, рухомі, в коренях бобових рослин утворюють бульбочки, при цьому змінюють морфологію і перетворюються у бактероїди. Оптимум температури для розвитку бульбочкових бактерій становить 24–26°C, оптимум pH 6,5–7,5. Бульбочкові бактерії є аеробами, хемоорганогетеротрофами, як джерела вуглецю використовують органічні кислоти, вуглеводи, полісахариди, багатоатомні спирти. За умов сапротрофного існування джерелами азоту для них слугують солі амонію, нітрати, амінокислоти, пуринові і піримідинові основи.

Бульбочкові бактерії родини *Rhizobiaceae* є факультативними симбіонтами і можуть існувати у ґрунті як сапрофітні хемоорганогетеротрофні мікроорганізми. Ризобії складають незначну частину мікробного угруповання ґрунту: близько 0,1–8% від його загальної чисельності. Ризобії потрапляють у ґрунт різними шляхами: у складі комерційних препаратів, якими обробляють насіння, у складі епіфітної мікрофлори насіння, повітряним шляхом, разом із ґрунтообробною технікою. Здатність

виживати у ґрунті у вільноіснуючому стані характеризує їх "сапрофітну компетентність".

Взаємовідносини між бобовою рослиною і бактеріями, які сформували бульбочки на її коренях, є взаємовигідними і можуть бути віднесені до симбіотичних по типу позитивного мутуалізму. Бактерії забезпечують рослину зв'язаними формами азоту, у рослинних тканинах бульбочкові бактерії уникають конкуренції інших представників угруповання, вони захищені деякою мірою від несприятливих факторів навколишнього середовища (нестача вологи, коливання рН тощо). Рослини забезпечують бактерії енергетичними сполуками у вигляді продуктів фотосинтезу, які необхідні ризобіям для фіксації азоту, а також захищають нітрогенази бульбочкових бактерій від кисню. Раніше для рослин, які вступали у симбіотичні відносини з бульбочковими бактеріями, використовували термін "рослина-хазяїн", останнім часом зважаючи на функції, які вони виконують, більш прийнятним є термін "рослина-живитель".

Взаємодія рослин і ризобій специфічна, тобто симбіоз утворюється тільки з бобовими рослинами родини *Fabaceae* за винятком небобової рослини родини *Ulmaceae* роду *Parasponia*, з якою ризобії також утворюють бульбочки. Специфічність проявляється у тому, що певні види бактерій вступають у симбіоз лише з вузьким колом рослин-живителів і не можуть взаємодіяти з іншими рослинами (таблиця 7.5).

Таблиця 7.5

Розподіл бульбочкових бактерій за їх здатністю утворювати симбіоз із бобовими рослинами

Вид ризобій	Рослини, з якими утворюється симбіоз
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	<i>Sesbania rostrata</i> (сесбанія)
<i>Rhizobium leguminosarum</i> biovar <i>trifolii</i>	<i>Trifolium</i> (конюшина)
<i>R. leguminosarum</i> biovar <i>viciae</i>	<i>Pisum</i> (горох), <i>Vicia</i> (вика), <i>Lathyrus</i> (горошок), <i>Lens</i> (сочевиця)
<i>R. leguminosarum</i> biovar <i>phaseoli</i> , <i>R. etli</i> , <i>R. tropici</i>	<i>Phaseolus</i> (квасоля)
<i>R. galegae</i>	<i>Galega</i> (козлятник)
<i>Sinorhizobium fredii</i>	<i>Glycine</i> (соя), <i>Vigna</i> (вігна)
<i>S. meliloti</i>	<i>Medicago</i> (люцерна), <i>Melilotus</i> (буркун), <i>Trigonella</i> (гуньба)
<i>Mesorhizobium loti</i>	<i>Lotus</i> (лядзенець), <i>Lupinus</i> (люпин)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Glycine</i> (соя), <i>Vigna</i> (вігна)
<i>B. lupini</i>	<i>Lupinus</i> (люпин)

Видова специфічність іноді може бути порушена перехресним зараженням, коли інфікуються неспецифічні види рослин, проте активність симбіозу у перехресно інфікованих рослин є незначною. Наприклад, бульбочкові бактерії люцерни можуть утворювати бульбочки на рослинах буркуну, але їхня активність на люцерні є вищою. Існує також сортова специфічність, найбільш яскравим прикладом якої є нездатність європейського штаму *R. leguminosarum biovar viciae* утворювати симбіоз із горохом сорту Афганістан, у той час як афганський штам ТОМ утворює з горохом цього сорту активний симбіоз.

Формування бобово-ризобіального симбіозу – багато-стадійний процес, що складається з передінфекційних взаємодій (1), проникнення бактерій у тканини кореня (2), формування (морфогенезу) бульбочок (3), функціонування симбіотичного апарату, фіксації азоту у бульбочках (4), відмирання і розкладу бульбочок (5).

1. Передінфекційні взаємодії полягають у взаємному обміні сигнальними молекулами, внаслідок чого бактерії переходять із вільноіснуючого до симбіотичного стану. Процес проникнення ризобій у клітину називається *нодуляцією*, а здатність бактерій входити у контакт із коренями рослин, проникати в них і викликати утворення бульбочок називається *вірулентністю*. Для того щоб проникнути у тканину кореня, бактерії повинні мати переваги перед іншими бульбочковими бактеріями, а також виживати у сапрофітному стані, конкуруючи з аборигенною мікробіотою, тобто вони повинні бути *конкурентоздатними*.

У передінфекційній стадії важливим є рух бульбочкових бактерій до кореневих волосків. Значною мірою він зумовлений речовинами, які містяться в оболонках насіння бобових рослин. З іншого боку, ці речовини повинні приваблювати ризобії та стимулювати їх розвиток у передінфекційний період. Встановлено, що бульбочкові бактерії мають позитивний хемотаксис до таких органічних речовин, як амінокислоти, вуглеводи, органічні кислоти, що знаходяться у насінні та кореневих виділеннях бобових рослин. Виявлений зв'язок між хемотаксисною активністю і конкурентоздатністю бульбочкових бактерій. З другого боку, рослина повинна контролювати розвиток бактерій і забезпечувати захист від надмірного розмноження ризобій, а також фітопатогенів. Тому екsudати рослин містять речовини, які пригнічують розвиток бульбочкових бактерій. За хімічною будовою це різноманітні сполуки: антибіотики, глікозиди на основі таніну, а також похідні фенолів. Наявність цих речовин значною мірою зумовлює видову і сортову чутливість рослин до бактеризації. Збалансованість екстрактивних речовин позитивної і негативної дії на ризобії значною мірою сприяє комплементарності мікро- і макросимбіонтів.

Прикріплення клітин ризобій до кореневого волоска відбувається у дві фази. Зовнішні шари клітинної оболонки бульбочкових бактерій сформовані екзополісахаридами (ЕПС). Саме ці біополімери контактують із компонентами клітин кореневих волосків. Первинне прикріплення ризобій до кореневих волосків відбувається завдяки взаємодії ЕПС ризобій із рецепторами лектинів рослини. Таким чином забезпечується перша фаза слабоспецифічного зв'язування клітини з поверхнею кореня. У подальшому розпізнавання партнерів відбувається завдяки взаємодії детермінантних груп ліпополісахаридів (ЛПС) клітинної стінки ризобій з активним центром лектину рослини. Ступінь спорідненості ліпополісахаридів різних штамів бульбочкових бактерій до лектину рослини-живителя зумовлює специфічність взаємодії партнерів і визначається вмістом функціональних вуглеводів в О-ланцюжках ЛПС. За присутності лектину значно зростає питома швидкість росту і накопичення біомаси ризобій. Лектини, одержані з насіння високочутливих до інокуляції сортів, здатні стимулювати ріст ризобій. Крім того, під впливом ЛПС ризобій у коренях рослин активізується синтез факторів росту та ділення клітин, внаслідок чого у базальній частині кореня утворюються бульбочкоподібні розростання, навіть за відсутності ризобій. Рослинні лектини можуть бути рецепторами Nod-фактора.

Конкурентоздатність бульбочкових бактерій зумовлена також їх антибіотичними властивостями по відношенню до інших штамів того самого виду. Виявлений *fix*-ген, який кодує синтез бактеріоцину "трифоліотоксину", що дозволяє штаму конкурувати з іншими штамми.

Після прикріплення у бактерій спостерігається реакція на рослинні флавоноїди, що містяться у насінні і коренях рослин. Флавоноїди взаємодіють з бактеріальним білком NodD, який зв'язаний із внутрішньою мембраною ризобіальної клітини. При взаємодії з флавоноїдами білок NodD змінює свою конформацію, в результаті чого він може активувати транскрипцію генів нодуляції – *nod*-генів, що контролюють синтез Nod-факторів, які за хімічною будовою є ліпо-хіто-олігосахаридами, що складаються із 3–6 залишків N-ацетилглюкозаміну і радикалу ненасиченої жирної кислоти (C_{16} – C_{20}). Ліпо-хіто-олігосахариди ініціюють ранні стадії розвитку бульбочок. У ризобій виявлено більш як 50 *nod*-генів, із яких частина є "загальними" для усіх ризобій, а інші – специфічні для певного виду і навіть штаму.

2. Проникнення ризобій відбувається через кореневі волоски. Nod-фактори у концентраціях 10^{-8} – 10^{-12} М викликають деполяризацію клітинної мембрани кореневого волоска і модуляцію іонних потоків у клітинах епідермісу, внаслідок чого кореневий волосок скручується.

У місці прикріплення бактерії спостерігається пом'якшення клітинної стінки. У цьому процесі можлива участь пектинолітичних ферментів – полігалактуронази і протопектинази. Ці ферменти можуть синтезуватися як самими рослинами, так і ризобіями. У бульбочкових бактерій виявлені полігалактуронази і протопектинази широкої субстратної специфічності. Не виключена також можливість утворення ензим-лектинових комплексів. Пектинолітична активність бульбочкових бактерій значно зростає при контакті з насінням та проростками бобових, що свідчить про індукуючу роль рослин у синтезі пектинолітичних ферментів бульбочковими бактеріями. Встановлено позитивний кореляційний зв'язок між пектиназною активністю і нодуючою здатністю ризобій.

3. Формування симбіотичного апарату – бульбочки. У закрученому кореновому волоску ризобії утворюють так звану інфекційну нитку – слизовий тяж, у якому містяться клітини бульбочкових бактерій, що активно розмножуються. “Загальні” *nod*-гени контролюють процес скручування волосків, а специфічні *nod*-гени – більш пізню стадію формування інфекційної нитки. Специфічність *Nod*-факторів зумовлена особливостями їх біохімічної будови. Так, сульфатування на редуруючому кінці глюкозаміну характерно для ризобій люцерни, а відсутність сульфатної групи – для ризобій вики. *Nod*-фактори виділяються бактеріями у середовище, і їхня дія може бути вивчена *in vitro*.

Важливим етапом симбіозу є формування азотфіксуючого органу-бульбочок. Інфікування ризобіями відбувається через кореневі волоски, які при цьому скручуються. Відомо, що бульбочкові бактерії синтезують рістстимулюючі речовини (наприклад, індол-3-оцтову кислоту), під дією яких кореневий волосок закручується.

У місці найбільшого згину волоска відбувається гідроліз клітинної стінки та інвагінація плазмалеми разом із мембранними структурами рослинної клітини – апаратом Гольджі, ендоплазматичним ретикулюмом. Як результат відбувається “захоплення” ризобій, і навколо клітин утворюється своєрідний тунель – інфекційна нитка, заповнена полісахаридним матриксом, у якому містяться бактеріальні клітини. Інфекційна нитка знаходиться у міжклітинному просторі і за 2–3 доби досягає основи кореневого волоска.

Одночасно з цими подіями відбувається закладення бульбочкової меристеми внаслідок мітотичної реактивації, диференціації і проліферації клітин кортекса. Ця стадія називається *Ced* (від англ. *Cortical cell division*). Далі починаються процеси гістогенезу, диференціації тканин бульбочки, стадія *Ntd* (від англ. *Nodule tissue differentiation*). У кінці цієї стадії вже сформовані покривна, провідна й азотфіксуюча тканини бульбочки. В цей час інфекційна нитка дістається до основи кореневого во-

лоска, проникає в кортекс, а потім у бульбочку. В наступній заключній стадії Bar (від англ. Bacterial release) відбувається перехід ризобій із інфекційної нитки в рослинну клітину. У місці випинання інфекційної нитки утворюються тимчасові структури – інфекційні краплини, від яких відділяються мембранні кульки, що містять бактерії. Таким чином ризобії всередині рослинної клітини оточені перибактероїдними мембранами за участю тілець апарату Гольджі та ендоплазматичного ретикулула. Цей комплекс носить назву *симбіосома* і є основною субклітинною одиницею симбіозу.

Після утворення симбіосом ризобії з паличковидної форми переходять у стадію бактероїдів, які у 3–5 разів більші від паличок і мають різноманітну форму – шароподібні, грушоподібні, у формі У та Х. Ця стадія називається Bad (від англ. Bacteroid differentiation). У цей період відмічається репресія генів, відповідальних за автономний ріст. У бактерої-

дах активується синтез нітрогенази, яка каталізує відновлення N_2 до NH_4 , а також ферментів, які обслуговують нітрогеназну реакцію. Після цього починається фіксація атмосферного азоту – стадія Nif від англ. Nitrogen fixation. Одночасно відбувається синтез левоглобіну.

У цей період відбувається активне ділення і диференціація рослинних клітин, у результаті чого тканина кореня розростається і утворюється здуття – *бульбочка*. Основними одиницями сформованої бульбочки є інфікована ризобіями тканина, провідні пучки для продуктів рослинного фотосинтезу і відтоку продуктів азотфіксації, апікальна меристема, за рахунок якої відбувається ріст бульбочки.

Увесь процес інфекції – від інокуляції до утворення бульбочок – триває 3–4 тижні. На рис. 7.3 представлена схема утворення бульбочки.

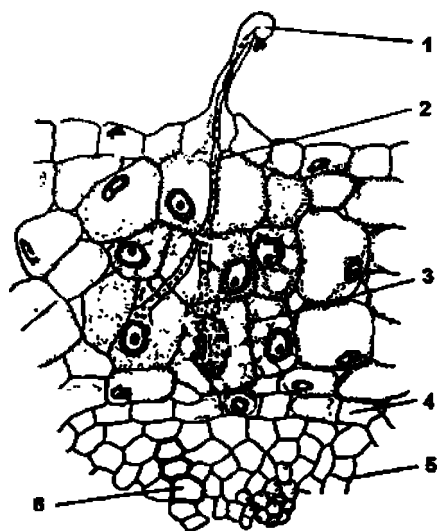


Рис. 7.3. Схема утворення бульбочки на корені бобової рослини (за В. Торнтоном, 1972 р.):

- 1 – інфікований кореневий волосок;
- 2 – інфекційна нитка; 3 – клітини кореня, що діляться; 4 – ендодерма;
- 5 – центральний циліндр кореня;
- 6 – ксилема

Розрізняють два типи бульбочок. До *недетермінованого* типу належать бульбочки, які містять постійну меристему, що визначає їхню циліндричну форму. Бульбочки *детермінованого* типу не мають постійної меристеми і зберігають сферичну форму. Бульбочки обох видів мають шар, не інфікований бактеріями, який оточує інфіковані рослинні клітини.

Генетичний аналіз бобових рослин показав, що існує більш як 100 генів, які контролюють симбіоз. Шляхом отримання і аналізу мутантів із дефектами розвитку симбіозу було встановлено, що мутантні алелі, які контролюють нездатність рослин до утворення бульбочок, у більшості випадків є рецесивними. Алелі, що контролюють нездатність до азотфіксації можуть бути як рецесивними (горох, конюшина, люцерна), так і домінантними (соя).

Гени бобових контролюють синтез білків та РНК, які беруть участь у симбіозі. Існують дві групи генів:

а) *Nst*-гени відповідальні за синтез тих білків, які присутні у коренях рослин, але їх синтез істотно активується у бульбочках;

б) нодуліни – гени (а часто і їх продукти), які з'являються *de novo* у бульбочках з розвитком симбіозу.

Розвиток ризобій у бульбочках контролюється рослиною, тому що нерегульоване розмноження бактерій може нанести шкоду для хазяїна. Після інфікування кореня й утворення бульбочок нодуляція вже не відбувається на молодих коренях, які продовжують рости. При утворенні симбіозу у бобових виявлені процеси, схожі з захисними реакціями рослин при їх пошкодженні фітопатогенними бактеріями: синтез етилену, фенолів, хітиназ, пероксидаз. На відміну від патогенезу, результатом якого є інактивація мікроорганізму, при симбіозі відбувається регуляція розмноження ризобій. У той же час бульбочкові бактерії також проявляють ряд захисних реакцій щодо рослин. Наприклад, захисною реакцією є синтез екзополісахаридів, який кодується *exo*-генами.

4. Фіксація азоту – це основна функція сформованої симбіотичної системи, за інтенсивністю цього показника визначають *ефективність* (активність) бульбочкових бактерій. Фіксація азоту починається тоді, коли у бульбочках ризобії переходять у стан бактероїдів, у яких у цей час інтенсивно синтезується нітрогеназа, її вміст може досягати до 30% від загального вмісту білків. Разом із рослиною також виконуються такі функції, як захист нітрогенази від кисню, забезпечення енергетичних потреб і асиміляція продуктів азотфіксації.

Функціонування нітрогеназного комплексу у бобових кодується *nif*-генами, які контролюють структуру білків, утворення кофакторів, регуляцію синтезу. На відміну від інших азотфіксуючих мікроорганізмів у ри-

зобій виявлена специфічна система *fix*-генів, які активуються тільки у мікроаерофільних умовах і виконують функцію сенсорів кисню; крім того, гени цієї системи кодують транспорт дикарбонових кислот, які є джерелом енергії для азотфіксації. На відміну від вільноіснуючих діазотрофів у симбіотичних азотфіксаторів гени нітрогеназного комплексу не мають репресії зв'язаними формами азоту. Це пояснюється тим, що функцію регуляції азотфіксації за умов надлишку азоту бере на себе рослина.

Рослина-живитель виконує також функцію захисту нітрогенази від кисню. Здійснюється це двома шляхами:

1) створенням дифузного бар'єру у покривних тканинах, зокрема у внутрішній корі бульбочки;

2) синтезом білка леоглобіну (подібному до гемоглобіну), який має високу спорідненість до кисню і забезпечує його транспорт до симбіосом. Поліпептидна і гемова частини цього білку синтезуються рослиною і кодуються *Lb*-генами.

У бактероїдах також синтезується гем, який пов'язаний із біогенезом цитохромів, що забезпечують транспорт електронів до нітрогенази. Присутність гемових сполук дає рожеве забарвлення бульбочкам і свідчить про активність азотфіксації.

Зі свого боку, ризобії також мають механізми "протикиснєвого захисту", які здійснюються завдяки розгалуженій системі електронтранспортних ланцюгів, у яких одні компоненти працюють в аеробних, а інші – мікроаерофільних та анаеробних умовах. Важливу роль у цьому відіграє цитохромоксидаза *cbb*.

Енергетичне забезпечення азотфіксації здійснюється за рахунок продуктів фотосинтезу рослин у формі сахарози; для азотфіксації рослина здійснює анаеробний етап – гліколіз, у результаті якого у бактероїди надходять C_4 -дикарбонові кислоти (сукцинат і малат). Таким чином, на долю мікросимбіонту припадає найбільш енергетично вигідна частина катаболізму – цикл трикарбонових кислот (ЦТК), у який можуть безпосередньо включатися сукцинат і малат. Бактероїди мають систему генів *dctA*, *dctB*, *dctD*, які забезпечують транспорт дикарбонових кислот. Продуктом *dctB*-гену є сенсорний білок *dctB*, який реагує на присутність дикарбонових кислот, а продуктом *dctA*-гену – фермент сукцинатпермеаза.

Фіксований азот асимілюється у формі амонію, який включається у метаболізм рослинної клітини (первинна асиміляція), потім утворюються транспортні форми фіксованого азоту (наприклад, глутамін, аспарагін, алантоїн), які надходять із бульбочок до провідної системи коре-

ня. Далі відбувається перерозподіл фіксованого азоту поміж різними органами рослин. Для сільськогосподарських культур важливого значення набуває накопичення зв'язаного азоту у зеленій масі кормових культур або у зерні. Це значно підвищує вміст білка і кормову або харчову цінність рослинницької продукції.

Отже, генетична регуляція основних етапів симбіозу у ризобій здійснюється такими групами генів (таблиця 7.6).

Таблиця 7.6

Основні групи генів формування та функціонування симбіозу

Групи генів	Функції, в яких задіяні гени
<i>nodA, nodB</i>	Прикріплення клітин ризобій до поверхні коренів
<i>nod, nol, noe</i>	Загальні гени нодуляції
<i>hsn</i>	Гени хазяйської специфічності нодуляції
<i>txf</i>	Синтез трифоліотоксину
<i>hfe</i>	Гени ефективності формування бульбочок
<i>nif, fix</i>	Синтез і функціонування нітрогенази
<i>bac</i>	Гени розвитку бактероїдів
<i>Lb</i>	Ген синтезу леґоглобіну
<i>dctA, dctB, dctD</i>	Транспорт дикарбонових кислот

5. Відмирання і розклад бульбочок. У фазу бутонізації азотфіксуюча активність кореневих бульбочок починає стрімко зростати. Найбільшу активність симбіозу виявляють у фазі цвітіння. У фазі утворення бобів активність бульбочок зменшується, а при дозріванні врожаю бульбочка вже майже не функціонує. У однорічних рослин у фазі повної стиглості бульбочки відмирають. У складі відмерлих кореневих решток вони розкладаються у ґрунті, а ризобії після деструкції бульбочок продовжують сапротрофне існування. У багаторічних культур симбіоз існує одночасно з вегетуючою рослиною.

У ґрунті часто присутні неефективні бульбочкові бактерії, інфікування якими веде до низького рівня азотфіксації. Для забезпечення ефективного симбіозу доцільно насіння рослин заражати високоактивними специфічними культурами ризобій, які є основою бактеріальних добрив (див. розділ 10.1).

Симбіоз бактерій із небобовими рослинами. Симбіоз із ціанобактеріями. Азотфіксуючі ціанобактерії можуть утворювати симбіози з широким колом рослин – покритонасінних, голонасінних, папороттю, мохами, одноклітинними морськими діатомовими водоростями.

Найбільш вивченими є ендосимбіози гетероцистних ціанобактерій *Anabaena* (*Nostoc*) з водною папороттю *Azolla*, а також *Nostoc* з *Gunnera* та *Anthoceros*. Серед них тільки симбіоз *Nostoc-Gunnera* є внутрішньоклітинним, а інші – позаклітинними.

Симбіоз не є облигатним, і ціанобактерії можуть фіксувати азот самотійно як при світлі, так і в темряві. Стосовно рослин слід зазначити, що тільки для *Azolla* симбіоз є облигатним, для інших – факультативним.

При рості *Anabaena* на безазотовому середовищі до 10% клітин, що розміщуються випадково по довжині нитки, перетворюються на гетероцисти. Ці клітини збільшуються у розмірах, набувають щільної оболонки, яка блокує надходження у цитоплазму вільного кисню. Виявлені *hcf*-гени, які кодують накопичення гліколіпідів у клітинній оболонці гетероцист, внаслідок чого оболонка перешкоджає дифузії кисню.

Перехід до азотфіксації супроводжується репресією генів, що контролюють фіксацію CO₂, завдяки чому в гетероцистах припиняється утворення O₂. Відбувається також перебудова *nif*-генів, що контролюють синтез нітрогенази. У вегетативних клітинах синтез нітрогенази неможливий через те, що цілісність гену *nifD* порушена присутністю фрагменту ДНК, що містить ген *sixA*, який кодує специфічну нуклеазу. При утворенні гетероцист ця ендонуклеаза вирізає той фрагмент ДНК, який перешкоджає синтезу нітрогенази, цілісність гену *nifD* відновлюється і синтез нітрогенази стає можливим. Крім того, активуються гени азотного метаболізму, необхідні для асиміляції фіксованого амонію і перекладу його у глутамін.

Розвиток симбіозу найбільш вивчений на прикладі партнерів *Nostoc-Gunnera*. Він є внутрішньоклітинним, факультативним і неспецифічним. У пазухах черешків листя *Gunnera* містяться спеціальні залози з папілами, між якими є канали, що ведуть у глибину рослинних тканин. При потрапленні у залозу ціанобактерії утворюють рухомі форми – гормогонії, що являють собою короткі нитки з дрібних паличок із повітряними вакуолями. Ці клітини проникають усередину симбіотичної залози, активно розмножуються та інфікують рослинні клітини. У місцях тісного контакту партнерів стінки рослинних клітин лізуються, що дає можливість ціанобактеріям проникнути всередину клітин, після чого цілісність стінки відновлюється. Всередині рослинних клітин ціанобактерії утворюють гетероцисти, в яких активується нітрогеназа і починається азотфіксація. Процес асиміляції амонію здійснює рослина.

Симбіоз із актиноміцетами. Серед актиноміцетів здатність фіксувати азот у симбіозі з рослинами виявлена у представника роду *Frankia*. Ця грампозитивна бактерія утворює симбіотичні багаторічні бу-

Nitrospina (N.gracilis) – палички 0,3–0,4x1,7–2,6 мкм, нерухомі, мають слабо розвинені везикулярні мембрани або інвагінації цитоплазматичної мембрани.

Nitrospira (N.marina) – вигнуті або спіральні клітини 0,3–0,4x1,5–1,8 мкм, джгутики і внутрішньоклітинні мембрани не визначені.

Nitrococcus (N.mobilis) – коки діаметром 1,5–1,8 мкм, мають полярні джгутики, внутрішньоклітинні мембрани трубчасті.

Гетеротрофна нітрифікація полягає в окисненні амонійного та амінного азоту різних неорганічних і органічних сполук з утворенням проміжних продуктів – гідроксиламіну, оксимів, гідроксамових кислот, нітрозосполук, нітритів; кінцевим продуктом є нітрати. Біологічний сенс гетеротрофної нітрифікації полягає у тому, щоб “скидати” електрони при окисненні органічних сполук, при цьому функції оксигенування можуть виконувати оксидо-редуктазні ферментні системи типу фенолоксидаз (наприклад, тирозинази). Популярною є теорія перекисного механізму, згідно з якою активний кисень, що виділяється при розкладі каталазою пероксиду водню, окиснює різні сполуки азоту. У зв'язку з тим, що у гетеротрофів нітрифікація не пов'язана з енергетичним метаболізмом, їхня нітрифікаційна здатність є набагато нижчою порівняно з автотрофними нітрифікаторами. Гетеротрофна нітрифікація здійснюється багатьма хемоорганогетеротрофними мікроорганізмами, представниками родів *Nocardia*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Pseudomonas*.

За даними О.В. Куракова, значну роль у гетеротрофній нітрифікації відіграють гриби, представники родів *Aspergillus*, *Alternaria*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Myrothecium*, *Penicillium*, *Trichoderma*. Незважаючи на те, що у грибів активність гетеротрофної нітрифікації нижча порівняно з автотрофною у бактерій, вона компенсується високими запасами активної біомаси грибів у ґрунті і таким чином може також впливати на динаміку нітратів.

Співвідношення автотрофної і гетеротрофної нітрифікації залежить від типу біогеоценозу. У ґрунтах природних екосистем (наприклад, лісових ценозах) переважає гетеротрофна нітрифікація, яку здійснюють гриби. В окультурених ґрунтах агроценозів, навпаки на долю автотрофних нітрифікаторів припадає майже 84–99% окиснення амонійного азоту.

Слід звернути увагу на те, що при гетеротрофній нітрифікації мікроорганізми можуть окиснювати також нітросполуки, що входять до складу пестицидів, при цьому утворюються гідроксиламін, гідроксамові кислоти, які можна розглядати як фізіологічно активні речовини. Так, гідроксамові кислоти мають фітотоксичні властивості, тому при застосуванні азотних добрив, пестицидів та інгібіторів нітрифікації токсич-

ність ґрунту може бути обумовлена стимуляцією мікробної гетеротрофної нітрифікації.

Екологічне значення нітрифікації. Амонійний азот, який надходить у ґрунт, засвоюється не тільки нітрифікуючими бактеріями. Хемогетеротрофні мікроорганізми використовують амоній як джерело азоту, при цьому джерелом вуглецю й енергії є органічні сполуки. Таким чином, нітрифікуючі і хемоорганотрофні мікроорганізми є конкурентами за амоній, процес трансформації якого залежить від наявності органічного вуглецю. Доки у ґрунті є достатня кількість органічного вуглецю, амонійний азот використовується переважно гетеротрофами, які у більшості є г-стратегами з високою швидкістю росту. Нітрифікуючим бактеріям амоній стає доступним тоді, коли існує його надлишок у порівнянні з органічним вуглецем. Така ситуація складається у ґрунті за умов внесення високих доз аміачних добрив, які підлягають нітрифікації, а її продукти – нітрати забруднюють ґрунти, водойми і підземні води.

Погляди на роль нітрифікації у ґрунті змінювалися. На початку ХХ століття вважалося, що нітрати засвоюються рослинами краще, ніж амоній, тому активний розвиток нітрифікаційних процесів вважався позитивним явищем. Подальші дослідження показали, що для рослин нітратна форма азоту не має переваг перед аміачною, проте нітрати здатні накопичуватись у зеленій масі і плодах рослин у небезпечних для людини концентраціях. До того ж амонійні сполуки краще взаємодіють із ґрунтовим вбирним комплексом і таким чином закріплюються у ґрунті. Нітрати у ґрунті підлягають трансформації, яка веде до втрат азоту. У порівнянні з аміачним азотом вони є більш рухомими, швидче вимиваються в глибокі шари ґрунту і підґрунтові води, зумовлюють нітратне забруднення останніх. В анаеробних умовах вони підлягають денітрифікації з утворенням окислів і вільного азоту (N_2O , N_2), які у газоподібному стані виділяються з ґрунту.

Зважаючи на негативні наслідки нітрифікаційних процесів, було запропоновано використовувати інгібітори нітрифікації, тобто такі сполуки, які у низьких дозах вибірково пригнічують розвиток нітрифікуючих бактерій. На часі як інгібітори використовують такі сполуки, як тіазоли, азиди, похідні фенолів, хінолінів, хлорпіридинів (наприклад, 2-хлор-6-(трихлорметил)-піридин, який має торгову назву нітрапирин). Проте майже всі ці сполуки є токсичними.

Сучасна точка зору на попередження забруднення ґрунтів нітратами полягає у переході на біологічне землеробство. На перехідному етапі рекомендується застосування невеликих доз мінеральних добрив разом з органічними. В умовах біологічного землеробства потреби ґрунту і рослин в азоті задовольняються внесенням органічних добрив, біогумусу та широким використанням біодобрив на основі азотфіксуючих бактерій.

Вивчення нітрифікації показує, що цей процес відбувається найбільш активно за умов достатньої кількості мінерального амонійного азоту, при реакції ґрунту, близькій до нейтральної і достатній аерації. Такі умови є сприятливими і для росту рослин. Саме тому показник нітрифікаційної здатності ґрунту використовують у діагностичних цілях для визначення умов вирощування рослин.

Слід також звернути увагу на геохімічну діяльність нітрифікуючих бактерій у корі вивітрювання, де відбувається розчинення мінералів завдяки утворенню нітрифікуючими бактеріями кислот.

7.2.4. Денітрифікація

Денітрифікація полягає у відновленні нітратів і нітритів до окису і закису азоту або до молекулярного азоту чи аміаку. Денітрифікація може здійснюватись мікроорганізмами; біологічний шлях відновлення нітратів називають прямою денітрифікацією. Хімічне відновлення нітратів називають непрямою (опосередкованою) денітрифікацією.

Пряму денітрифікацію підрозділяють на асиміляторну і дисиміляторну. Асиміляторна денітрифікація призводить до утворення аміаку, який слугує джерелом азоту для побудови мікробних і рослинних клітин.

У дисиміляторній денітрифікації нітрати слугують як термінальні акцептори водню (за умов відсутності кисню) для окиснення органічних сполук. Такий процес називають "нітратним диханням", він відбувається з використанням електронтранспортного ланцюга і супроводжується виділенням енергії, необхідної для життєдіяльності мікроорганізмів:



Відновлення нітратів відбувається у такій послідовності:

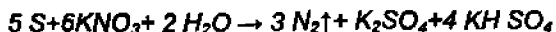


Реакції відновлення нітратів до нітритів каталізуються нітратредуктазою, а подальше відновлення нітритів – нітритредуктазою.

Дисиміляторна денітрифікація здійснюється анаеробними і факультативно анаеробними хемоорганотрофними і хемолітотрофними бактеріями, а також деякими грибами. На ранніх етапах суцесії переважають факультативно анаеробні хемоорганотрофні бактерії родів *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, які здійснюють відновлення NO_3 до N_2O . На пізніх стадіях переважають споруутворюючі бацили *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Clostridium*. Кінцевим продуктом анаеробного відновлення нітратів є молекулярний азот N_2 , при цьому органічні сполуки окиснюються також до кінцевих продуктів – CO_2 і H_2O .

Відновлювати нітрати можуть і деякі хемолітотрофні бактерії. Так, факультативно анаеробна бактерія *Thiobacillus denitrificans* здійснює окиснення елементарної сірки або тіосульфату до сульфату, при цьому ніт-

рат відновлюється до молекулярного азоту. Цей процес описується рівняннями:



Останнім часом почали накопичуватися дані про те, що дисимільаторне відновлення нітратів, утворення N_2O можуть здійснювати не тільки прокаріоти, але також гриби. Так, японські вчені виявили у грибів *Fusarium oxysporum*, *Cylindrocarpon tonkiense* цитохром P450 nor, який виконує функції NO-редуктаз і безпосередньо пов'язаний із відновленням піридиннуклеотидом без залучення до електронтранспортного ланцюга. Був виявлений Cu-вмісний білок, що відповідає за відновлення NO_3 до NO.

О.В. Кураковим було показано, що гриби також здійснюють подальше відновлення NO до N_2O . На користь цього свідчить взаємозв'язок між виділенням N_2O і підвищенням активності нітратредуктаз у мікроміцетів в анаеробних умовах. Підвищення нітратредуктазної активності у грибів, які утворюють N_2O , на середовищі з нітратами при низькому парціальному тиску кисню пов'язане з функціонуванням дисимільаторної нітратредуктази.

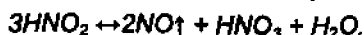
Здатність до утворення N_2O виявляють факультативно анаеробні мікроміцети *Chetomium globosum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*. Проте ріст гриба *Fusarium oxysporum* в анаеробних умовах супроводжувався утворенням етанолу, діоксиду вуглецю, ацетату. Імовірно, що в анаеробних умовах можливим шляхом отримання енергії є не нітратне дихання з використанням електронтранспортного ланцюга, а субстратне фосфорилування, спряжене з нітратредукцією. В умовах лімітування киснем багато видів грибів, що відносяться до класів *Deuteromycetes* і *Ascomycetes*, утворюють N_2O на середовищах із нітритами, а представники *Fusarium* і *Drechslera* – з нітратами. Найбільш активними денітрифікаторами виявились представники родів: *Fusarium*, *Cylindrocarpon*, *Trichoderma*, *Talaromyces*, *Gliocladium*, *Neosartorya*.

Кінцевим продуктом анаеробного метаболізму нітратів і нітритів у грибів є N_2O , далі до N_2 відновлення не відбувається.

Непряма (опосередкована) денітрифікація може відбуватися внаслідок взаємодії між азотистою кислотою і амінокислотами або солями амонію за такою реакцією:



У кислих ґрунтах при pH нижче 5,5 може проходити така реакція:



Екологічне значення денітрифікації. Негативне значення денітрифікації полягає у тому, що вона веде до втрат азоту з ґрунту і до забруднення повітря окислами азоту. Найбільш активно цей процес відбувається за умов перезволоження ґрунту, під затоплюваною культурою рису, на зрошуваних землях. Позитивне значення денітрифікації полягає в очищенні ґрунтів від надмірної кількості нітратів, у поверненні в атмосферу азоту, який зв'язується азотфіксуючими бактеріями. Таким чином у ґрунті зберігається і відтворюється кругообіг азоту, а також підтримується стабільність газового складу атмосфери.

7.3. Кругообіг сірки

Близько 99,9% світових запасів сірки знаходяться у літосфері у вигляді сульфідів металів, головним чином, у формі піриту (FeS_2), а також у вигляді розчинних сульфатів світового океану.

Резервний фонд сірки знаходиться у ґрунті, донних відкладеннях. У біогеохімічному циклі сірки беруть участь такі сполуки сірки, які утворюють її значні резервуари: сульфати (переважно сульфати моря); сульфіді (у вигляді розчиненого сірководню і нерозчинні сульфіді металів); вільна сірка. Як елемент зі змінною валентністю сірка переходить із одного хімічного стану до іншого. Різні проміжні продукти неповного окиснення сірки, такі як тіосульфат або сульфїт, існують у "транзитних" формах у незначній кількості і не утворюють резервуарів.

Основними процесами трансформації сполук сірки є такі: 1 – окиснення відновлених сполук; 2 – відновлення сульфатів і органічних сполук сірки до сірководню (рис. 7.5).

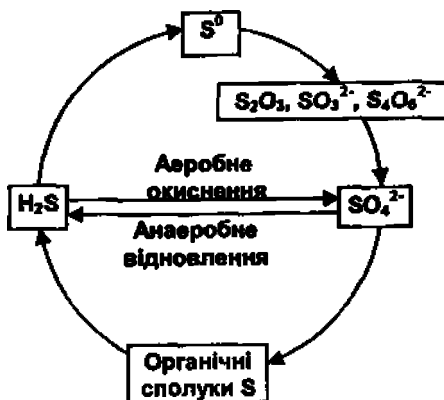


Рис. 7.5. Кругообіг сірки у природі

Основні групи бактерій, які беруть участь у кругообігу сірки, представлені у таблиці 7.7.

Таблиця 7.7
Бактерії, які беруть участь у кругообігу сірки

Мікроорганізми, що окиснюють сполуки сірки		Мікроорганізми, що відновлюють сполуки сірки
Фотолітоавтотрофні бактерії (пурпурові, зелені бактерії), які використовують енергію світла та енергію окиснення неорганічних сполук сірки для автотрофної асиміляції CO_2 .	Хемолітоавтотрофні бактерії, які окиснюють сірководень та інші неорганічні сполуки сірки в автотрофних умовах.	Хемолітогетеротрофні анаеробні сульфатвідновлювальні і сірковідновлювальні бактерії.

Мікробне окиснення сірки та її відновлених сполук. Сполуки сірки є нестійкими й окиснюються як хімічним шляхом, так і мікроорганізмами. Здатність до окиснення сполук сірки виявляють фото- і хемолітоавтотрофні і хемоорганогетеротрофні бактерії, нитчасті й одноклітинні сіркобактерії, тіонові бактерії, сульфобацили, археї.

Фотолітоавтотрофні бактерії (пурпурові і зелені бактерії)

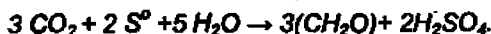
Пурпурові бактерії. У нинішній час відомо більш як 50 видів пурпурових бактерій. За фізіологічними ознаками їх поділяють на дві групи: бактерії, які окиснюють водень, але при цьому сірку в клітинах не накопичують (пурпурові несіркові бактерії), і бактерії, які накопичують сірку як проміжний чи кінцевий продукт (пурпурові сіркові бактерії). До пурпурових несіркових бактерій належать представники родин *Rhodospirillaceae* і *Ectothiorhodospiraceae*, до пурпурових сіркових бактерій – представники родини *Chromatiaceae* (табл. 7.8).

Таблиця 7.8
Представники пурпурових бактерій

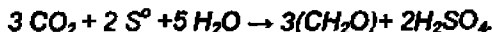
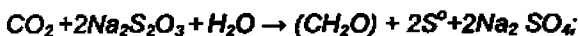
Пурпурові несіркові бактерії		Пурпурові сіркові бактерії
Родина <i>Rhodospirillaceae</i>	Родина <i>Ectothiorhodospiraceae</i>	Родина <i>Chromatiaceae</i>
Роди: <i>Rhodobacter</i> , <i>Rhodomicrobium</i> , <i>Rubrivivax</i> , <i>Rhodospirillum</i>	Рід <i>Ectothiorhodospira</i>	Роди: <i>Amoebobacter</i> , <i>Lamprobacter</i> , <i>Thiocapsa</i> , <i>Thiocystis</i> , <i>Thiodictyon</i> , <i>Thiopadia</i> , <i>Thiospirillum</i>

Сполуки сірки можуть виконувати у метаболізмі пурпурових бактерій дві функції: 1 – виступати як донори електронів (в окиснювальних реакціях) при асиміляції CO_2 (хемолітоавтотрофія); 2 – бути використаними у біосинтетичних процесах шляхом відновлення;

1. *Хемолітоавтотрофія* – використання сполук сірки при асиміляції CO_2 . Пурпурові сіркобактерії родини *Chromatiaceae* окиснюють H_2S до сірки S^0 , яка накопичується в мікробних клітинах, а потім окиснюють S^0 до сульфату SO_4^{2-} . У представників родин *Rhodospirillaceae* і *Ectothiorhodospiraceae* S^0 не відкладається в клітині, а виділяється назовні і потім окиснюється ними до SO_4^{2-} . Енергія окиснення використовується для асиміляції CO_2 . Акцепторами електронів виступають цитохроми c. Процес окиснення H_2S описується рівняннями:

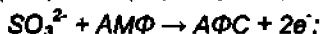


Подібним шляхом відбувається окиснення тіосульфатів $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ згідно з рівнянням:

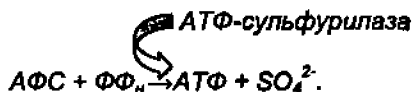


Рівняння враховують кінцеві продукти окиснення, проте можливе утворення проміжних сполук – полісульфатів, тетратіонатів. Шляхи окиснення сполук сірки пурпуровими бактеріями можуть бути різними не тільки у окремих видів, а й залежно від умов культивування.

Окиснення сульфїту SO_3^{2-} супроводжується субстратним фосфорилуванням, при якому утворюється аденозин-5-фосфосульфат (АФС), який далі взаємодіє з фосфатом (Ф_n), за реакціями:

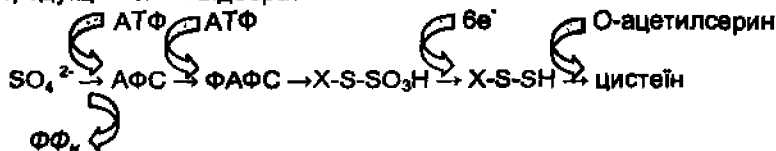


Можлива також взаємодія АФС із пірофосфатом (ФФ_n) за участю АТФ-сульфурилази з утворенням АТФ і сульфату. Реакція описується рівнянням:



2. *Використання сульфатредукції у біосинтетичних процесах* починається з активації SO_4^{2-} при взаємодії з АТФ, внаслідок чого утворюється аденозин-5-фосфосульфат (АФС) і пірофосфат (ФФ_n), який швидко розкладається. Наступними стадіями процесу є фосфорилування АФС,

внаслідок чого утворюється фосфоаденілсульфат (ФАФС). Через ряд реакцій з ФАФС утворюється зв'язаний сульфід ($X-S-SH$), взаємодія якого з О-ацетилсерином веде до утворення амінокислоти цистеїну. Шлях сульфатредукції можна відобразити такою схемою:



Фотолітоавототрофія – асиміляція CO_2 шляхом використання джерела енергії – сонячного світла, донора електронів – водню H_2 , джерела вуглецевого живлення – CO_2 .

Асиміляція диоксиду вуглецю описується рівнянням:



Основним шляхом асиміляції CO_2 в автотрофних умовах є рибулозодифосфатний цикл, який називають циклом Кальвіна. В клітинах пурпурових бактерій присутні карбоксисоми, що містять фермент рибулозодифосфаткарбоксилазу (РДФК), за участі якої відбувається фіксація CO_2 . Спочатку утворюється нестійка C_6 -сполука, яка розпадається на 2 молекули трифосфогліцеринової кислоти. Поряд із РДФК пурпурові бактерії синтезують інші карбоксилази, які можуть брати участь у циклі Кальвіна.

Хемоорганотрофне живлення здійснюється тими пурпуровими бактеріями, які не є облигатними фототрофами і можуть рости в темряві в анаеробних умовах, при цьому вони використовують ендogenousні запасні речовини або органічні сполуки середовища. Ріст у темряві відбувається за рахунок бродіння вуглеводів чи пірувату, а також використання ацетату або сукцинату, проте швидкість росту за таких умов нижча, ніж при світлі.

Деякі пурпурові бактерії ростуть у темряві в аеробних умовах, при цьому вони використовують органічні сполуки і як джерело енергії, і як джерело вуглецевого живлення. Метаболізм органічних сполук в аеробних умовах пов'язаний з циклом трикарбонових кислот. За таких умов вони ростуть як хемоорганотрофні бактерії з аеробним диханням. Деякі сіркобактерії в аеробних умовах у темряві окиснюють H_2S і $Na_2S_2O_3$ для забезпечення себе енергією і зберігають здатність фіксувати CO_2 через цикл Кальвіна.

Дихальні електронтранспортні системи при рості у темряві в аеробних умовах локалізовані в цитоплазматичній мембрані, до їх складу входять НАД, флавін, хінони, цитохроми, негемові Fe-S-білки.

Широкі можливості зміни типів метаболізму відмічені у *Rhodobacter capsulatus*, який може рости і в темряві, і при світлі, в анаеробних і аеробних умовах, здійснює фотосинтез, анаеробне і аеробне дихання, веде себе як автотроф і гетеротроф. Ця бактерія викликала зацікавленість генетиків. Створена колекція клонів *E.coli*, які несуть у своїх клітинах різні фрагменти ДНК *Rhodobacter capsulatus*. Це дозволило скласти рестрикційну карту ділянки хромосоми цієї бактерії, яка містить гени, що відповідають за фотосинтез. Виявилося, що практично всі гени, які кодують початкові стадії фотосинтезу, утворюють єдиний кластер.

Представники пурпурових бактерій мають різну морфологію – сферичну, паличкоподібну, спірили, вібріони. Молярна доля ГЦ в ДНК коливається від 48–50% у *Chromatium okenii* до 70,5–72,4% у *Rubrivivax gelatinosus*. Характерною особливістю цих бактерій є утворення мембранних структур, у яких локалізовані пігменти та інші компоненти, необхідні для початкових стадій фотосинтезу. У деяких пурпурових бактерій ці структури на ультратонких зрізах мають вигляд ламелл, трубочок, бульбочок (везикул), відомих під назвою хроматофорів. У деяких видів мембранні структури відсутні і пігменти локалізовані у цитоплазматичній мембрані.

Пурпурові бактерії мають зелені пігменти бактеріохлорофіл *a* і бактеріохлорофіл *b*, які відрізняються від хлорофілу *a* окремими замісними групами і можуть бути етерифіковані геранілгераніолом, фарнезолом чи стеариловим спиртом. Усі пурпурові бактерії утворюють каротиноїди, яких ідентифіковано близько 50 видів. Найбільш поширеним у пурпурових бактерій є спірилоксантин, родопін, родопінал, сфероїден. Від складу каротиноїдів залежить колір колоній, який може бути рожевим, червоним, пурпуровим, помаранчевим, жовтим, жовто-зеленим, коричневим. Каротиноїди безпосередньо не беруть участі у фотохімічних реакціях, але вони поглинають енергію світла, яка у вигляді електронного збудження може дійти до реакційних центрів, в яких відбуваються фотохімічні процеси. Переносником електронів у пурпурових бактерій є НАД і флавінові ферменти, а також фередоксини, що відносяться до негемових Fe-S-білків.

Серед представників пурпурових бактерій є види – облигатні фототрофи, які ростуть тільки за наявності світла. Так, для *Ectothiorhodospira mobilis*, *E. shaposhnikovii*, *Thiocapsa roseopersicina*, *Rhodobacter capsulatus* оптимальне освітлення складає 500–2000 лк, а для *Chromatium weissae*, *Thiospirillum jenense* потрібно слабе освітлення до 50–300 лк. Деякі види пурпурових бактерій можуть рости і в темряві. Відношення до кисню у пурпурових бактерій різне – є облигатні і факультативні анаероби.

Пурпурові бактерії зустрічаються у невеликій кількості у ґрунті і починають активно розмножуватися при затопленні водою, наприклад у рисових полях, а також у каналах зрошення. Основним місцем їх перебування є прісні і солоні водойми.

Зелені фототрофні бактерії. До зелених бактерій відносять представників двох родин: *Chlorobiaceae* і *Chloroflexaceae* (таблиця 7.9).

Таблиця 7.9

Представники фототрофних зелених бактерій

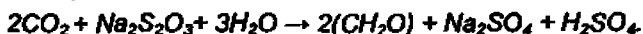
Родина <i>Chlorobiaceae</i>	Родина <i>Chloroflexaceae</i>
Роди: <i>Anaerobaculum</i> , <i>Chlorobium</i> , <i>Chlorohelium</i> , <i>Pelodictyon</i> , <i>Prosthecochloris</i>	Роди: <i>Chloroflexus</i> , <i>Chloronema</i> , <i>Heliobacterium</i> , <i>Oscillochloris</i>

Молярне відношення ГЦ у ДНК різних видів коливається від 49 до 55%.

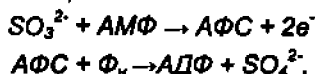
При фотосинтезі зелені бактерії використовують сульфід (H_2S), тиосульфат ($Na_2S_2O_3$), сульфат (SO_4) як донори електронів. Акцепторами електронів виступають цитохроми с. Автотрофна асиміляція CO_2 супроводжується окисненням H_2S до S^0 :



Сірка виділяється у середовище і може окиснюватись до сульфатів. Окиснення тиосульфатів зеленими бактеріями відбувається за реакцією:

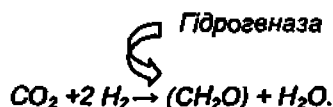


Окиснення сульфата SO_4^{2-} пов'язане з фосфорилуванням і відбувається, як у пурпурових бактерій:



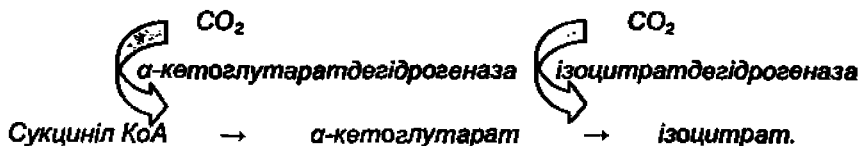
Окрім сполук сірки, як донори електронів зелені бактерії можуть використовувати водень.

Реакція фотоасиміляції CO_2 відбувається за участю гідрогеназ і описується рівнянням:



Зелені бактерії – облигатні автотрофи і не використовують органічні сполуки як донори електронів. Цикл трикарбонових кислот у них відсут-

ній, проте є відкритий зворотній цикл, названий відновним циклом трикарбонових кислот (ВЦТК). У цьому циклі фіксується 2 молекули CO_2 : перша на сукцинілі КоА за участю α -кетоглутаратдегідрогенази, друга молекула CO_2 – на ізоцитраті за участю ізоцитратдегідрогенази:



За морфологією зелені бактерії родини *Chlorobiaceae* – палички, вібріони, сферичні з простеками мікроорганізми, грамнегативні. Пігменти містяться у хлоросомах або цитоплазматичній мембрані. Зелені бактерії цієї родини утворюють у невеликій кількості бактеріохлорофіл *a*. Основну частину порфіринових пігментів у них складають бактеріохлорофіли *c*, *d*, *e*, часто пігменти етерифіковані фітолом, цитиловим або стеариловим спиртом. Бактеріохлорофіли *c*, *d*, *e* локалізовані у хлоросомах і поглинають енергію світла, яку передають у реакційні центри для здійснення фотохімічної реакції, в якій частково бере участь бактеріохлорофіл *a*. Зелені бактерії також синтезують каротиноїди хлоробактин, β -ізоренієратин, β -каротин, γ -каротин. Культури, що синтезують хлоробактин β -ізоренієратин, γ -каротин, мають зелений колір колоній, а ізоренієратин – коричневий. Усі зелені бактерії мають цитохром *c*, деякі синтезують фередоксини і рубредоксини.

Всі зелені бактерії є облигатними анаеробами і фототрофами. Одні види добре ростуть за умов освітлення 500–2000 лк, деякі – 20–100 лк.

Представники родини *Chloroflexaceae* окиснюють як донори електронів H_2S і H_2 для асиміляції CO_2 . Окиснення H_2S відбувається до S^0 , яка накопичується в середовищі і далі ними не окиснюється.

Автотрофна фіксація CO_2 у *Chloroflexus aurantiacus* відбувається циклічним шляхом із фіксацією двох молекул CO_2 :



У *Chloroflexus aurantiacus* виявлений фермент рибупозобісфосфат-карбоксилаза (РДФК), що свідчить про існування циклу Кальвіна для асиміляції CO_2 .

Представники родини *Chloroflexaceae* – багатоклітинні мікроорганізми, що утворюють трихоми (нитки). Пігменти містяться у спеціальній пластині. Колонії забарвлені у яскраво помаранчевий колір. Синтезують бактеріохлорофіл *c*, β -каротин, γ -каротин або γ -каротин у глюкозидній формі, який називається міксобактином; переносниками електронів є цитохроми *c* і *b*.

Окремі представники родини *Chloroflexaceae* – фототрофи, інші можуть рости при світлі і в темряві, наприклад, *Chloroflexus aurantiacus*. При світлі і в темряві в аеробних і анаеробних умовах вони добре засвоюють ацетат, піруват, бутират, малат, лактат, амінокислоти, вуглеводи, етанол, гліцерин, маніт та інші органічні сполуки. Це дає можливість використовувати органічні сполуки як донори електронів і джерела енергії.

Зелені фототрофні бактерії поширені в озерах, лиманах, бухтах. У ґрунт можуть потрапляти з поливною водою, розмножуватись у рисових чеках.

Безбарвні сіркобактерії. Бактерії цієї групи здатні окиснювати сірководень та інші відновлені сполуки сірки. Широке коло хемоорганогетеротрофних бактерій (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Escherichia*), актиноміцетів (*Streptomyces*), грибів (*Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*) здатні окиснювати сірководень, тиосульфат, молукулярну сірку з утворенням політіонатів і сульфатів.

Існує група бактерій, які окиснюють сірководень та інші відновлені сполуки сірки і накопичують у клітинах сірку у вигляді окремих гранул. Саме ці мікроорганізми С.М. Виноградський (1888 р.) назвав безбарвними сіркобактеріями, що здатні рости як хемолітотрофи і використовувати сірководень як джерело енергії.



У нинішній час відомо, що більшість таких мікроорганізмів потребує для росту органічні субстрати.

До безбарвних сіркобактерій, що відкладають у клітинах сірку, віднесені одноклітинні і багатоклітинні мікроорганізми. Одноклітинними є представники родів *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Macromonas*, *Thiovulum*, *Thiospira*, *Blorhosphococcus*. Багатоклітинні (нитчасті) сіркобактерії утворюють трихоми, здатні до ковзного руху, представники об'єднані у родину *Beggiatoaceae*, яка включає роди *Beggiatoa*, *Thioploca*, *Thiothrix*, *Thiospirillumopsis*.

До бактерій, які окиснюють відновлені сполуки сірки до сульфату в автотрофних умовах і не відкладають сірку в клітинах, віднесені представники родів *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiosphaera*, термофільні

Thermothrix, *Sulfobacillus* та археобактерії *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera*, *Desulfurolobus*.

Окиснення неорганічних сполук сірки хемолітоавтотрофними прокаріотами складає специфіку їх енергетичних процесів, зазвичай воно веде до утворення сульфатів, але виявляються і продукти неповного окиснення.

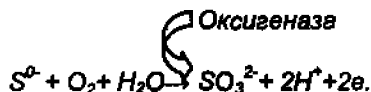
Реакції, які ілюструють можливі шляхи окиснення сполук сірки, наведено у таблиці 7.10.

Таблиця 7.10

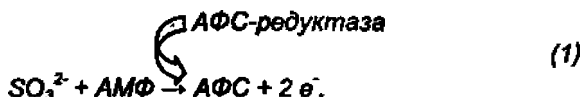
Основні реакції окиснення сірки та її сполук хемолітотрофними бактеріями

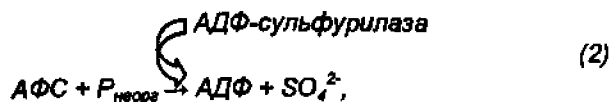
$S^{2-} + 2H^+ + 0,5 O_2 \rightarrow H_2O + S^0$
$S^{2-} + 2O_2 \rightarrow SO_4^{2-}$
$S_2O_3 + H_2O + 2 O_2 \rightarrow 2 SO_4^{2-} + 2H^+$
$SO_3^{2-} + 0,5 O_2 \rightarrow SO_4^{2-}$
$CNS^- + 2H_2O + 3O_2 \rightarrow SO_4^{2-} + CO_2 + NH_4$
$5 S_2O_3 + H_2O + 8NO_3^- \rightarrow 10 SO_4^{2-} + 2H^+ + 4N_2$
$5S^0 + 2H_2O + 6NO_3^- \rightarrow 5 SO_4^{2-} + 4H^+ + 3N_2$
$S_4O_6^{2-} + 3,5O_2 + 3H_2O \rightarrow 4SO_4^{2-} + 6H^+$
$5 S_4O_6^{2-} + 14NO_3^- + 8H_2O \rightarrow 20SO_4^{2-} + 16H^+ + 7N_2$

Окиснення хемолітотрофними бактеріями сірководню веде до утворення сірки. Це окиснення починається з утворення сульфід-сульфгідрильного комплексу, можливе окиснення і без проміжного продукту, яке відбувається до SO_3^{2-} . У *T.ferrooxidans*, *T.thiooxidans* виявлена зв'язана із мембраною оксигеназа, яка каталізує окиснення сірки з утворенням сульфату.



При окисненні сульфату утворюється проміжний продукт – аденозинфосфосульфат (АФС). Механізм цього окиснення описаний Г. Пеком:





Таким чином, у результаті цих послідовних реакцій сульфід окиснюється до кінцевого продукту – сульфату, при цьому утворюється АТФ на рівні субстратного фосфорилування.

Шлях окиснення іншої сполуки сірки – тіосульфату ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) описаний Сузукі і Уеркманом. Тіосульфат ($\text{S}-\text{SO}_3^{2-}$) під дією тіосульфатоокислюючого ферменту може перетворюватися на тетратіонат ($\text{O}_3\text{S}-\text{S}-\text{S}-\text{SO}_3$) або розпадатися на сірку (S^0) і сульфід (SO_3^{2-}). Тетратіонат гідролізується з відновленням у тіосульфат та окислюється до сірки і сульфіді.

Як видно зі схеми, наведеної на рис. 7.6, у реакції окиснення сірки (4) до сульфіді можлива участь оксигенази, оскільки вона відбувається тільки за присутності кисню. Окиснення сульфіді до сульфату (5) каталізується сульфатоксидазою. АМФ залежне окиснення сульфіді шляхом субстратного фосфорилування (6) іде за участю АФС-редуктази і АДФ-сульфурилази, акцепторами електронів можуть бути цитохроми с.

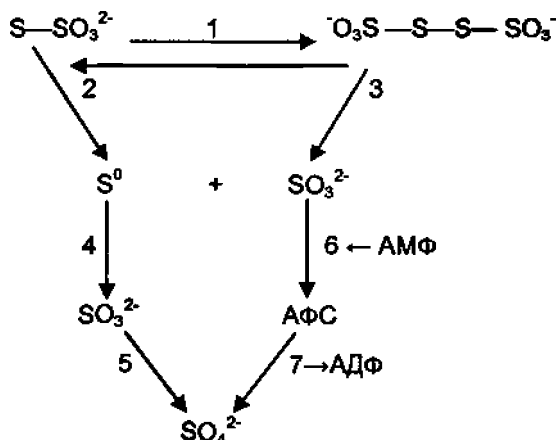


Рис. 7.6. Можливі шляхи перетворення сполук сірки

Перенесення електрону у тіобацил здійснюється через цитохроми *a*, *b*, *c*, а також флавопротеїди і убіхінон-8. Зворотнє АТФ-залежне перенесення електрону іде через цитохром *b*. Цей процес забезпечує бактерії НАДН, який необхідний для асиміляції CO_2 . Основним механізмом фіксації CO_2 є рибулозодифосфатний цикл Кальвіна.

Наведемо коротку характеристику деяких представників сіркобактерій.

Thiobacillus у чистій культурі була виділена М. Бейерінком (1904) на мінеральному середовищі з тіосульфатом або сірководнем. Тим самим було підтверджено висновки С.М. Виноградського про енергетичне значення для цих мікроорганізмів процесу окиснення неорганічних сполук сірки. М. Бейерінк встановив, що існують штами, здатні окиснювати тіосульфат в анаеробних умовах, при цьому вони відновлюють нітрати до вільного азоту, ці мікроорганізми він назвав *Thiobacillus thioparus* і *T. denitrificans*. Пізніше В.Л. Омелянський запропонував для мікроорганізмів цієї групи назву "тіонові бактерії" на відміну від безбарвних сіркобактерій, які накопичують сірку в клітинах. Уже в роботах М. Бейерінка і Т. Натансона було встановлено, що тіонові бактерії здатні окиснювати різні сполуки сірки: сірководень, сульфіди, тіосульфат, тетратіонат, молекулярну сірку, роданісті сполуки до сірчаної кислоти з утворенням проміжних або побічних продуктів, таких як політіонати.

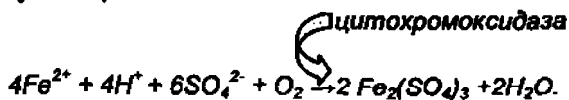
С. Ваксман і Дж. Іоффе виділили мікроорганізм, що мав надзвичайну кислотостійкість, оптимум рН для його розвитку становив 3,0. Цей мікроорганізм отримав назву *Thiobacillus thiooxidans*. Р. Старкі виділив мікроорганізм *T. novellus*, який здатний був рости міксотрофно: на середовищах із тіосульфатом як автотроф, а на органічних середовищах – як гетеротроф.

Були виявлені мікроорганізми, які, окрім сірки, можуть окиснювати двовалентне залізо (*T. ferrooxidans*) та розкладати роданісті сполуки (*T. thiooxyanoxidans*).

Рід *Thiobacillus* представлений 13 видами. Молярне відношення ГЦ у різних видів становить 52,0–68,0%. Усі тіобацили одноклітинні грам-негативні бактерії, що мають форму паличок. Більшість рухомі, мають полярні джгутики. Розмножуються бінарним діленням. У клітинах виявлені карбоксисоми. Клітини накопичують запасні речовини – поліфосфати, полі- β -оксибутират, полісахариди. В інвагінаціях цитоплазматичної мембрани відкладають сірку. У відношенні до рН середовища тіобацили підрозділяють на нейтрофілів (*T. intermedius*, *T. delicatus*, *T. novellus*) і ацидофілів (*T. ferrooxidans*, *T. thiooxidans*, *T. albertis*, *T. acidophilus*). Перші ростуть при рН 5,5–7,9, а другі при 1,0–5,5.

При окисненні тіобацилами сірководню утворюється сірка, яка далі окиснюється до сульфатів, при цьому в клітинах відмічається поява політіонатів, які утворюють глобули. Тобто в клітинах присутня не сірка, а її гідрофільні політіонати.

Серед тіонових бактерій особливе положення займає *Thiobacillus ferrooxidans*, яка здатна рости автотрофно за рахунок окиснення сполук сірки, а також за рахунок окиснення закисного заліза в окисне. Окиснення заліза відбувається через цитохром с, за участю цитохромоксидази і описується рівнянням:



Далі відбувається гідроліз сульфату заліза з утворенням гідрату окису заліза і сірчаної кислоти:



T. ferrooxidans характеризується стійкістю до важких металів і здатна окиснювати широкий набір сульфідних мінералів, таких як пірит, марказит, арсенопірит, молібденіт, марматид, халькозин, кобальтин, антимоніт, галеніт та ін.

Тіонові бактерії ініціюють такий геохімічний процес, як сірчаноокислотне вивітрювання. При окисненні сірки та її сполук утворюється сірчана кислота, яка збільшує рухомість металів і вихід їх із мінералів у розчин.

Важливе практичне значення має біологічне вилуговування зі збіднених руд таких елементів, як мідь, уран, цинк, нікель, марганець, ванадій. Суть методу полягає в тому, що *T. ferrooxidans* окиснює сульфідні заліза до сульфату, який реагує з окислами металів з утворенням їх сульфатів.

Pig Beggiatoa – автотрофні багатоклітинні бактерії, які утворюють трихоми – нитки з 50 і більше клітин. Відноситься до підкласу у класу *Proteobacteria*. Окремі клітини мають паличкоподібну або дископодібну форму, грамнегативні. ГЦ коливається в межах 37,0–51,0%.

Представники роду *Beggiatoa* здатні фіксувати азот, а за його відсутності засвоюють як джерело азоту амоній, нітрати, нітроти, сечовину, аспартат, глутамат, гідролізат казеїну. Окиснюють сірководень, тіосульфат з утворенням сірки. В анаеробних умовах здатні відновлювати сірку і тіосульфат з утворенням сірководню за утилізації органічних речовин (ацетату, фумарату) або власного ендогенного продукту – полі-β-оксибутирату.

Безбарвні сіркобактерії поширені у водоймах, де виділяється сірководень (при розкладі органічних залишків або у сірководневих джерелах) і є приток кисню. Вони також розвиваються на поверхні мулу, при цьому утворюють білі плівки.

Архебактерії, які окиснюють сірку, відносяться до порядку *Sulfolobales* родини *Sulfolobaceae*, включають представників родів *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera*, *Desulfurolobus*. Молярне співвідношення ГЦ коливається від 31 до 45%. Здатні рости автотрофно, використовують енергію окиснення молекулярної сірки та її відновлених сполук. Існують також види, які не є obligatними автотрофами, а одночасно використовують органічні речовини і неорганічні донори електронів, тобто ростуть міксотрофно.

За морфологією – коки або неправильної форми, нерухомі. Як у інших архебактерій, клітинна стінка складається з білкових субодиниць. Не утворює ліпідів із жирних кислот, до складу мембран входять прості ефіри гліцерину та ізопренового спирту фітолу. Синтезують особливий сірковмісний хінон, що називається кальдерієлахіноном, або інший хінон – сульфолобус-хінон.

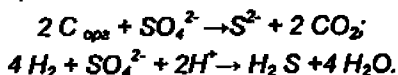
Оптимальною для росту є температура 70–90°C, але представники цієї родини можуть рости у температурних межах від 45 до 95°C.

Представники зазначених вище родів окиснюють сірку в аеробних умовах, можуть використовувати як донор електронів сірководень, тіосульфат, тетратіонат, двовалентне залізо, деякі сульфідні мінерали.

Представники роду *Acidianus* в анаеробних умовах можуть відновлювати сірку з утворенням сірководню за наявності водню як донора електронів і використовувати цю енергію на автотрофне засвоєння CO₂.

Екологічне значення мікробного окиснення сірки і сірководню полягає у важливій ролі у кругообігу сірки у природі, а саме – в окисненні сірководню, який є токсичним для багатьох мікроорганізмів, рослин і тварин. Сульфат- і сіркоокиснюючі бактерії можуть бути причиною окиснення і руйнування сірковмісних покладів. Унаслідок розвитку сіркобактерій у ґрунтах може відбуватися підкислення останніх. У той же час для зменшення лужності ґрунтів і переведу фосфатів у розчинну форму вносять сірку, яка при окисненні до сірчаної кислоти зменшує рН ґрунтового розчину. Тіобацили сприяють вивітрюванню гірських порід, у той же час вони викликають біокорозію підземних споруд із бетону і металу.

Мікробне відновлення окиснених сполук сірки. Відомо більш як 30 родів бактерій, які використовують сульфати замість кисню як акцептор електронів в анаеробних умовах при окисненні водню або органічних сполук (сульфатне дихання). Відновлення окиснених сполук сірки можна описати реакціями:



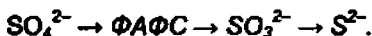
Сульфатвідновлювальні і сірковідновлювальні бактерії. Сульфат-редуктори здійснюють відновлення сульфатів дисиміляторним і асиміляторним шляхами. При дисиміляторному відновленні сульфат виступає акцептором електронів в анаеробних умовах при окисненні органічних сполук. Сульфатредуктори відносяться до хемолітогетеротрофних організмів, які нездатні до автотрофної асиміляції CO_2 і потребують готових органічних сполук.

При дисиміляторному відновленні сульфату першим етапом відновлення є активація його з витратами енергії на реакцію АТФ-сульфурилази з утворенням аденілілфосфосульфата (АФС) і пірофосфату (ФФ_n):



Наступним етапом є утворення АМФ і бісульфіту (HSO_4^-) із АФС під дією АФС-редуктази, які є негемовими флавопротеїнами, що містять ФАД. Щодо утворення сульфїду з бісульфіту остаточні шляхи ще не вирішені. Проміжні продукти у вільному стані не виявлені.

В асиміляторному відновленні сульфатів на відміну від дисиміляторного сульфат використовується як джерело сірки для синтезу сульфгідрильних груп білкових сполук. Сульфат відновлюється до сульфїту через фосфоаденозинфосфосульфат (ФАФС):



Енергетичний і конструктивний обміни у сульфатредукторів роз'єднані. В енергетичних реакціях вони використовують окиснення неорганічних сполук – сульфатів і молекулярного водню, внаслідок чого утворюються відповідно сірководень і вода. Перенесення електронів здійснюється рядом переносників – фередоксинами, у деяких представників виявлені флаводоксини, рубредоксини. На відміну від багатьох анаеробів у сульфатредукторів функціонує також цитохромний ланцюг, який необхідний їм для відновлення флаводоксинів, рубредоксинів при окисненні молекулярного водню.

Як донор електронів сульфатвідновлювальні мікроорганізми використовують обмежене число органічних сполук: молочну, піровиноградну, фумарову, яблучну, щавлево-оцтову кислоти, гліцерин, етанол. Важливе значення у метаболізмі сульфатредукторів має утворення при бродінні органічних сполук ацетил-КоА з наступним утворенням ацетилфосфату і подальшим фосфорилуванням за участю ацетаткінази:



Сульфатвідновлювальні бактерії можуть окиснювати водень при одночасному відновленні сульфатів до сірководню:



Цикл Кальвіна у них відсутній, тому сульфатвідновлювальні бактерії потребують органічного джерела вуглецю, яким може бути ацетат. Таким чином, за типом живлення сульфатвідновлювальні бактерії є літоорганогетеротрофами.

Сульфатвідновлювальні мікроорганізми за визначником Бергі (9 видання) об'єднані у групу 7 – сульфідогени, до якої відносяться неспоруотворюючі бактерії (*Desulfovibrio*, *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfosarcina*, *Desulfococcus*), споруотворюючі *Desulfotomaculum*, а також протеобактерії (*Desulfonatronum*, *Desulfonatronovibrio*, *Desulfohalobium*, *Desulfomicrobium*).

Представники роду *Desulfovibrio* розповсюджені у солоних і прісних водоймах, мулі, ґрунті. Неспоруотворюючі грамнегативні вібріони, можуть бути спіральними, рідко – прямими. Облігатні анаероби, рухомі, мезофіли. Містять цитохром *c* і десульфовіридин – флуоресцюючий пігмент. Типові представники *D. desulfuricans*, *D. vulgaris*, *D. gigas*.

Представники роду *Desulfotomaculum* виявлені у прісних водоймах, ґрунті, продуктах, що розкладаються. Грамнегативні прямі чи вигнуті палички, утворюють спори термінально або субтермінально. Рухомі, облігатні анаероби. Типові представники *D. nigrificans*, *D. ruminis*.

Сірководновлювальні бактерії використовують молекулярну сірку як акцептор електронів, потребують органічного вуглецю, окиснюють ацетат, піруват, сукцинат, глутамат, етанол. Здатність відновлювати молекулярну сірку притаманна представникам еубактерій і архебактерій. Так, бактерії роду *Desulfuromonas* належать до δ -підкласу класу *Proteobacteria*, а бактерії родів *Acidianus*, *Stigmatolobus*, *Thermococcus* – до архебактерій.

Відновлення сірки за наявності органічного субстрату відбувається за схемою, що описується рівнянням:



Останнім часом описано багато нових бактерій, здатних до відновлення сульфатів, такі як *Desulfomicrobium baculatum*, *Desulfotomaculum salinum*, *Thermodesulfotomaculum mobilis*, *Desulfotomaculum kuznetsovii*. Описаний перший представник алкалофільних анаеробних сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfonatronovibrio hydrogenovorans* gen. nov. sp. nov., який використовує виключно водень і форміат як донори електронів і

росте при pH 8–10. Термофільні сірководновловувальні бактерії представлені такими видами: *Desulfurella acetovorans*, *D. propionica*, *Hippea maritima*. Вони розвиваються за температури 40–110°C. Здатність до відновлення сірки при окисненні водню виявлена у ацидофільних гіпертермофілів, які живуть при pH 1–3 і температурі 8–110°C (*Pyrodicticum*), 57–89°C (*Stigiolobus*), 65–96°C (*Acidianus*).

Екологічне значення сульфат- і сірководновловувальних бактерій полягає у тому, що вони є джерелом утворення сірководню, який ініціює цикл сірки на Землі. Сірководень може отруювати повітря, водойми; у ґрунті він взаємодіє з іонами металів, утворюючи важкорозчинні сульфідиди. Таким чином, здійснюється мікробна детоксикація важких металів при антропогенному забрудненні ґрунтів. Сірководень може окиснюватись тіоновими бактеріями і викликати кислотну корозію металів та інших підземних споруд. Важливе значення має діяльність сульфатвідновлювальних бактерій у нафтових пластах, де вони окиснюють органічну речовину нафти, утворюють сірководень і змінюють йонний склад пластових вод.

Більшість покладів сірки утворилась завдяки тому, що продукт життєдіяльності сульфатвідновлювальних бактерій – сірководень окиснюється до сірки і таким чином формуються її відкладення.

Сульфат- і сірководновловувальні бактерії відіграють важливу роль завдяки їх геохімічній діяльності, пов'язаної з утворенням сульфідних мінералів, таких як пірит (FeS_2), піротин (FeS), куприт (CuS), халькозин (Cu_2S), сфалерит (ZnS).

7.4. Участь мікроорганізмів у трансформації сполук фосфору

Фосфор є важливим біогенним макроелементом, який необхідний для синтезу і функціонування життєво важливих сполук клітини, зокрема є складовою нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, фосфорних ефірів вуглеводів, вітамінів, ферментів. Потрібна клітині енергія запасється у макроергічних сполуках аденозинди- і аденозинтрифосфорних кислот (АДФ і АТФ). До складу нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФ) і флавінаденіндинуклеотиду (ФАД), які є активними переносниками електронів, також входить фосфор.

Мікроорганізми ґрунту відіграють активну роль у трансформації сполук фосфору. Важливим етапом у ланцюгу цих перетворень є розчинення його неорганічних сполук і включення у біологічний кругообіг шляхом засвоєння мікроорганізмами і рослинами. Таким чином, фосфор

переходить із неорганічної форми у органічні сполуки. Наступні перетворення стосуються розкладу органофосфатів і трансформації їх у засвоєні сполуки, доступні мікроорганізмам і рослинам. Оскільки частина фосфору виноситься з урожаєм для поповнення ґрунтових запасів, необхідно його вносити у ґрунт у вигляді мінеральних фосфорних добрив або органічних добрив, трансформація яких відбувається також за участю мікроорганізмів.

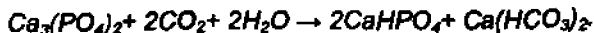
Форми фосфору у ґрунті. У ґрунті фосфор входить до складу неорганічних і органічних сполук. Неорганічні фосфати представлені, в основному, солями фосфорної кислоти і можуть бути засвоєні мікроорганізмами і рослинами, коли знаходяться у ґрунтовому розчині. Малодоступними є важкорозчинні фосфати кальцію (первинні мінерали фосфорити, апатити, фторапатити) і фосфати заліза (вівіаніт). Первинні і вторинні мінерали (кварц, каолініт, монтморилоніт) здатні поглинати розчинені фосфати і переводити їх у адсорбовану форму і таким чином закріплювати у ґрунті.

Більша частина загальних запасів фосфору у ґрунті представлена його органічними формами, які є складовою специфічних гумусових сполук (гуміновими кислотами, фульвокислотами, гуміном), а також органофосфатів (нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, інозитфосфатів, фосфопротеїнів, гліцерофосфатів, АТФ тощо). Найбільш поширеною сполукою, що відноситься до фосфоліпідів, є лецитин; серед інозитфосфатів – фітін. Вміст органічного фосфору у ґрунтах досить високий і має тенденцію до накопичення за умов регулярного внесення фосфорних мінеральних і органічних добрив. Все ж більша частина фосфору у ґрунті недоступна рослинам і може бути мобілізована із його запасів завдяки діяльності мікроорганізмів.

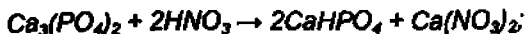
Мобілізація фосфору мікроорганізмами з його неорганічних сполук. Серед неорганічних сполук фосфору найбільш доступними для рослин є водорозчинні солі одновалентних катіонів ортофосфорної кислоти (NaH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ та інші); менш доступні гідрофосфати двовалентних металів (CaHPO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), які розчиняються в органічних кислотах, тому кисла реакція ґрунту (рН 5,5-6,0) сприяє підвищенню їхньої рухомості.

Органічні кислоти, які продукують мікроорганізми, сприяють розчиненню мінеральних сполук фосфору. Здатність до перетворення важкорозчинних солей фосфорної кислоти на розчинний стан виявлена у багатьох бактерій, стрептоміцетів, грибів, зокрема у представників родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*.

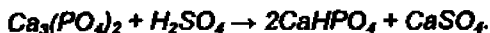
Одним зі шляхів розчинення мінеральних сполук фосфору є виділення мікроорганізмами вуглекислого газу. Розчинення нерозчинного фосфату кальцію описується рівнянням:



Подібну роль відіграє азотна кислота, яка утворюється нітрифікуючими бактеріями:



Більш активно відбувається розчинення сірчаною кислотою, яку утворюють тіонові бактерії при окисненні сірки:



Сульфатвідновлювальні бактерії у процесі життєдіяльності продукують сірководень, який утворює нерозчинні сульфідні металів, при цьому фосфор відповідно може вивільнятися зі сполук заліза або алюмінію.

Окрім неорганічних кислот, мікроорганізми при неповному окисненні вуглеводів можуть утворювати органічні кислоти, які здійснюють розчинення неорганічних фосфорних сполук.

Гумусові кислоти також можуть утворювати хелати з кальцієм, залізом та алюмінієм, при цьому вивільняється ортофосфат з важкорозчинних сполук.

Мобілізація мікроорганізмами фосфору з його органічних сполук має важливе екологічне значення оскільки фосфорорганічні сполуки складають від 20 до 80% його валових запасів у ґрунті. Складні молекули органічних сполук фосфору, для того щоб бути переведені у розчинний стан, повинні розкладатися гідролітичними ферментами – фосфатазами, які синтезуються мікроорганізмами, рослинами і тваринами.

Мікроорганізми, що синтезують фосфатази і мають здатність перетворювати орґанофосфати на засвоювану рослинами форму, називають **фосфатмобілізуючими**. Серед них є представники різних таксономічних груп: бактерії родів *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*), *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. subtilis*), *Enterobacter* (*E. nimipressuralis*), гриби родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichotecium*, *Alternaria*; дріжджі родів *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*, деякі стрептоміцети та інші мікроорганізми. Активно мобілізують фосфати мікоризні гриби родів *Glomus* (*G. intraradices*, *G. fasciculatus*), *Gigaspora*, *Sclerocystis*.

Фосфатази каталізують гідроліз фосфорних ефірів із відщепленням ортофосфату, гідролітичне розщеплення неорганічних поліфосфатів до ортофосфату, розщеплення високополімерних поліфосфатів, а також

гідроліз АТФ, АДФ, НАДФ і ФАД. При розщепленні органічних сполук фосфору фосфатаза може переносити ортофосфат до спиртів, глюкози, фруктози, тим самим виконуючи і функцію трансферази.

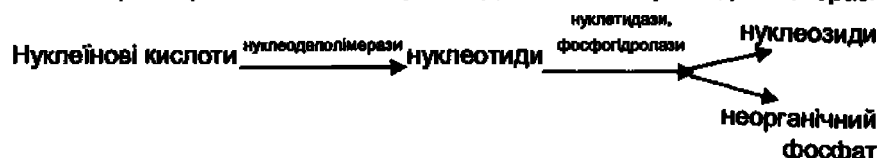
За спорідненістю до субстрату фосфатази поділяють на дві групи: до *специфічних* фосфатаз відносять ферменти з високою спорідненістю до якогось одного субстрату, до *неспецифічних* фосфатаз – ферменти, що мають спорідненість до багатьох субстратів. До специфічних фосфатаз можна віднести рибонуклеази та дезоксирибонуклеази, які каталізують гідроліз цих субстратів із розривом діефірних зв'язків між залишками фосфорної кислоти і спиртовими групами рибози або дезоксирибози. Фосфатази з неспецифічною дією гідролізують широке коло органічних фосфатів, серед них фосфомоноестерази, які діють на моноєфіри фосфорної кислоти, фосфодіестерази – на діефіри фосфорної кислоти, ангідридфосфатази – на органічні і неорганічні поліфосфати.

Мікроорганізми синтезують позаклітинні фосфатази для розщеплення органічних сполук фосфору за умов низького вмісту розчинного фосфору у середовищі. Якщо мікроорганізми забезпечені фосфором у необхідних їм кількостях, синтез фосфатаз репресується.

Фосфатази продукуються також коренями рослин, деякими тваринами. Позаклітинні фосфатази, а також ті, що вивільняються після лізису клітин, адсорбуються у ґрунті вбирним комплексом і гумусовими сполуками. Адсорбовані фосфатази здатні довгий час зберігати свою активність і таким чином вони формують певний рівень фосфатазної активності ґрунту.

Внаслідок *дефосфорилування органічних сполук ґрунтовими фосфогідролазами* відбувається їх мінералізація і вивільнення фосфору, який засвоюється коренями рослин і мікроорганізмами. Прості фосфорорганічні сполуки (фосфати цукрів, інозитфосфати) гідролізуються швидко під дією неспецифічних фосфогідролаз і тому у ґрунті не накопичуються.

Більш складним є шлях гідролізу полінуклеотидів (рибонуклеїнових і дезоксирибонуклеїнових кислот), які піддаються дії нуклеодеполімераз:



В результаті відбувається гідроліз полінуклеотидів з розривом діефірних зв'язків, які поєднують залишки фосфорної кислоти з спиртовими групами рибози або дезоксирибози.

Інозитфосфати у ґрунті представлені, в основному, фітином та його похідними. При повному насиченні фосфором вони містять шість молекул ортофосфату, які вивільняють при гідролізі. Продуктом гідролізу є також інозит.

Серед фосфоліпідів у ґрунті переважають гліцерофосфати, в основному лецитин, при гідролізі якого спочатку холін відщеплюється від гліцерофосфату; останній потім дефосфорилюється фосфомоноестеразами. Гідроліз диефірів фосфорної кислоти, наприклад дигліцеринфосфорного ефіру каталізують дифосфоестерази.

Фосфогідролази моноєфірів ортофосфорної кислоти (фосфомоноестерази) є найбільш поширеними у ґрунті. Вони поділяються на дві групи: з лужним і кислим оптимумами активності. Існує обернена залежність між загальною фосфатазною активністю ґрунту і вмістом у ньому розчинного ортофосфату. Імовірно, це пов'язано з тим, що у мікроорганізмів синтез позаклітинних фосфогідролаз індукується нестачею вільного ортофосфату в середовищі.

Органічні сполуки фосфору піддаються біодеструкції з різною швидкістю. Нуклеїнові кислоти та лецитин дефосфорилуються швидко, а фітин – повільно.

Для активізації процесу мобілізації неорганічних і органічних фосфатів застосовують бактеріальні добрива на основі активних культур фосфатмобілізуючих мікроорганізмів (див. розділ 10.1).

7.5. Мікробна трансформація сполук заліза

Залізо бере активну участь у обміні речовин живих організмів. Воно слугує переносником електронів у ферментних системах, є необхідною складовою пігментів, які беруть участь у фотосинтезі. Для хемолітотрофних мікроорганізмів сполуки заліза Fe^{2+} можуть бути джерелом енергії для засвоєння диоксиду вуглецю, а також окисником при анаеробному диханні і використанні Fe^{3+} , замість кисню. Основне джерело заліза у ґрунті – мінерали. Залізо вступає у біологічний кругообіг після його мобілізації із мінералів.

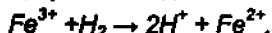
Із залізовмісних мінералів (лімоніту і гетиту), в яких залізо знаходиться у формі Fe^{3+} мікроорганізми за участю оксидоредуктаз переводять його у Fe^{2+} , який є більш рухомим. Утворення сильних мінеральних кислот нітрифікуючими (азотиста й азотна) і тіоновими (сірчана) бактеріями руйнує мінерали ґрунту.

Існує також думка про те, що при вибіркового поглинанні катіонів поживних речовин вищими рослинами і мікроорганізмами відбувається

підкислення ґрунту аніонами сильних кислот, які руйнують мінерали. Крім того, у руйнуванні мінералів беруть участь продукти розкладу мікроорганізмами органічних решток – органічні кислоти (мурашина, щавлева, лимонна, янтарна, фумарова, уронова, 2-кетоглюконова і 3-фосфогліциринова), фенольні сполуки (о-дифеноли). Ці речовини часто утворюють комплексні хелатовані сполуки, які підсилюють розклад мінералів. Значну роль у таких процесах відіграють мікробні полісахариди, які утворюють із залізом також комплексні сполуки, що сприяє виходу заліза із кристалічних решіток. Міграція й акумуляція заліза зумовлюються його зв'язками з гумусовими речовинами. У трансформації сполук заліза певна роль належить утворенню покладів заліза за рахунок руйнування органічних комплексів і сполук заліза з гумусовими кислотами (гуміновими і фульвокислотами). В цьому разі відкладення заліза залежить від швидкості руйнування органічних сполук, до складу яких входить залізо. Роботами Т.В. Аристоєвської була показана здатність ґрунтових мікроорганізмів руйнувати сполуки заліза з гуміновими кислотами. Залізо, що вивільняється з цих сполук, відіграє важливу роль в утворенні підзолистих ґрунтів. Комплексні органічні сполуки заліза, представлені у гумусі, підлягають більш складним перетворенням, ніж розчинені неорганічні сполуки заліза.

Здатність до **відновлення** розчинених сполук Fe^{3+} виявлена у багатьох облигатно і факультативно анаеробних бактерій, представників родів *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, а також деяких видів грибів родів *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*. Останніми роками виділено і вивчено багато Fe^{3+} -відновлювальних бактерій, таких як *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter*.

Штам *Desulfitobacterium frappieri* (G2) здатний використовувати кристалічний оксид Fe^{3+} та його розчинні форми як акцептор електронів, донором електронів можуть бути H_2 або органічні субстрати – форміат, малат, лактат, піруват, етанол, бутанол. Відновлення описується реакцією:



Термофільні архебактерії *Sulfolobus acidocaldarius* також можуть відновлювати у мікроаерофільних умовах Fe^{3+} при окисненні сірки. Реакція відбувається при температурі 70°C і рН 1,6.

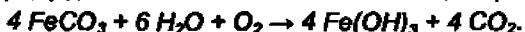
Широко поширені мікроорганізми, які відновлюють Fe^{3+} , при цьому використовують H_2 як донор електронів. Такі бактерії виділені також із континентальних терм (*Thermoterrabacterium ferrireducens*) та нафтових пластів (*Deferribacter thermophilus*). Такі анаеробні бактерії, як *Thermotoga*, *Thermoanaerobacter*, а також архебактерія *Thermococcus*, здатні відновлювати Fe^{3+} з використанням молекулярного водню або пептону як донорів електронів.

Встановлено, що Fe^{3+} може відігравати роль альтернативного акцептора водню в анаеробному диханні і цей процес відбувається за участю нітратредуктази. За присутності нітратів відновлення заліза припиняється, оскільки мікроорганізм переходить на нітратне дихання, яке в енергетичному відношенні є більш вигідним, порівняно з відновленням заліза. Можливий також шлях відновлення заліза за участю ферменту, названого феріредуктазою.

Окиснення заліза широко поширене явище і може бути здійсненим багатьма мікроорганізмами. Найбільш поширеними бактеріями, що окиснюють Fe^{2+} до Fe^{3+} , є *Gallionella*, *Leptothrix*, *Siderocapsa*, *Ochrobium*, *Siderococcus*, *Pedomicrobium*, *Hyphomicrobium seliberia*, *Metallogenium*. Описана нова родина облигатних аетотрофних ацидофільних археобактерій *Ferroplasmaceae* fam. nov. вид *Ferroplasma acidiphillum*, який здатний окиснювати Fe^{2+} і FeS_2 .

Власне до залізобактерій відносять мікроорганізми, які утворюють оформлені поклади заліза. Залізобактеріям присвячена велика кількість робіт, проте одною з фундаментальних до нинішнього часу зостається монографія М.Г. Холодного "Залізобактерії", видана у 1922 р. Залізобактерії інтенсивно вивчались у зв'язку з гіпотезою їх участі в утворенні залізних осадкових руд, а також охристих осадів у водоймах та системах водопостачання. М.Г. Холодний вивчав бактерії роду *Gallionella* в акваріумах з залізистою водою, в них він на поплавцях вміщував покривні скельця. Через короткий час інкубації скельця обростали мікроорганізмами, серед яких переважали спіральні скручені нитки, на одному їх кінці були бобоподібні клітини. М.Г. Холодний довів, що ці бобоподібні клітини безперервно виділяють увігнутою стороною гідрат окису заліза; при обертанні клітин "шлейф" гідрату окису заліза закручується у спіральну нитку. Пізніше дослідженнями з використанням електронної мікроскопії була виявлена волокниста будова ниток. Розвиток *Gallionella ferruginea* у мінеральному середовищі, яке містить двовалентне залізо як єдине джерело енергії, а також здатність за таких умов фіксувати CO_2 дає підставу віднести цей мікроорганізм до хемосинтезуючих.

До залізобактерій відносять також представників роду *Leptothrix*. Бактерії цього роду двовалентне залізо окиснюють до тривалентного:



Вид *Leptothrix ochracea* утворює охристі скупчення окислів заліза на болотах, залізистих джерелах при низьких концентраціях заліза (0,1 мг/л); за морфологічними ознаками утворює залізисті трубки з внутрішнім діаметром близько 1 мкм і зовнішнім – 2–3 мкм. В середині цих трубок містяться живі клітини *L. ochracea*, проте часто клітини вислизують із трубок, оскільки вони рухомі і мають джгутики.

Представники роду *Metallogenium* – це подібні мікоплазмам бактерії без клітинної стінки. Розмножуються шляхом брунькування. У життєвому циклі мають стадії коків і коків з тонкими нитками (які носять назву араї). За типом живлення – хемоорганогетеротрофи, аероби живуть сапротрофно або паразитують на грибному міцелії.

У різних мікроорганізмів окиснення заліза має різне біологічне значення. Так, у *Thiobacillus ferrooxidans* воно може бути єдиним джерелом енергії для росту. Цей мікроорганізм традиційно відносять до тіонових бактерій, оскільки він бере участь у кругообігу сірки. У той же час, *T. ferrooxidans* окиснює Fe^{2+} до Fe^{3+} через цитохром с і цитохромоксидазу. АТФ, яка утворюється при цьому окисненні використовується для автотрофної фіксації CO_2 .



Далі відбувається гідроліз сульфату заліза з утворенням гідрату окису заліза і сірчаної кислоти:



T. ferrooxidans окиснює пірит у тривалентне залізо і сірчану кислоту, яка діє на породи ґрунту. Мікроорганізм розвивається у кислому середовищі (рН 2,5–5,0), в якому стійкими є Fe^{2+} і Fe^{3+} , тому покладів заліза не утворює.

Архебактерії *Ferrolobus placidus* окиснюють Fe^{2+} і використовують як акцептор електронів NO_3 .

Відкладення гідроокису заліза може відбуватись у зв'язку з реакцією з кислими мукополісахаридами. Окиснення заліза може бути також як побічна реакція за умов дії гідроксипероксидаз.

Екологічне значення процесів мікробної трансформації заліза залежить від багатьох факторів. Якщо ґрунт знаходиться у стані водонасичення, в ньому розвиваються процеси відновлення заліза, що створює передумови для розвитку оглеювання. Після затоплення ґрунту водою Eh ґрунтового розчину швидко зменшується, що веде до відновлення нітратів (денітрифікація), а також накопичення органічних кислот, сірководню, водню і метану. За таких умов відновлення заліза визначається вмістом органічної речовини ґрунту, а також рівновагою між Fe^{3+} , з одного боку, та Fe^{2+} , OH^- , CO_2 , H_2S – з іншого. Відновлення заліза можуть викликати мікроорганізми (факультативні анаероби), які при бродінні утворюють відновлені продукти, що потім реагують з окисним залізом.

В затопленому ґрунті спочатку відбувається відновлення нерозчинного Fe^{3+} до розчинного Fe^{2+} . Потім під впливом CO_2 або хелатутворюючих комплексів залізо переходить в обмінний стан і з'являється у ґрунтовому розчині.

Особливу зацікавленість викликає питання про роль мікроорганізмів в утворенні залізистих мінералів. В.І. Вернадський, який сформулював теорію концентраційної функції живої речовини, підтримував ідею біогенного походження осадових руд заліза. Геолог А.Г. Вологдін за допомогою методу шліфів провів мікроскопічні дослідження залізних руд і виявив структури, подібні за морфологією бактеріям. Біогенну теорію рудоутворення критикував геолог М.М. Страхов, який стверджував, що основну роль у рудоутворенні відіграють такі геологічні фактори, як рух земної кори, тектонічні і кліматичні особливості субстратів, у той час як роль залізобактерій є дуже незначною. Пізніше ці протиріччя були з'ясовані завдяки роботам Ф.В. Чухрова, Т.В. Аристовської, які показали, що залізобактерії виконували важливу роль у первинному осадженні і концентруванні залізистих осадів, які потім піддавалися геологічним перетворенням.

8. МІКРОБНА ТРАНСФОРМАЦІЯ ГУМУСУ

8.1. Загальні уявлення про органічну частину ґрунту

У ґрунті містяться різні органічні сполуки, вся сукупність яких є його органічною частиною (у ґрунтознавстві вживають також термін "органічна речовина ґрунту"). Вона не є хімічно індивідуальною речовиною і за нинішніми класифікаціями складається як мінімум з 4 частин: 1 – свіжі нерозкладені органічні рештки, які ще не втратили своєї анатомічної будови; 2 – напіврозкладені без форми й анатомічної будови органічні рештки, що називають детритом; 3 – метаболічний і активний вуглець, представлений низькомолекулярними та високомолекулярними індивідуальними органічними сполуками – продуктами розкладу рослинних, тваринних і мікробних решток; лігнін, білки, вуглеводи, амінокислоти, ліпіди, низькомолекулярні органічні кислоти, пігменти тощо; 4 – специфічні сполуки, синтезовані у ґрунті, сукупність яких утворює гумус. Такий самий розподіл характерний для азотемісних органічних речовин ґрунту. Гумус ґрунту – це складний конгломерат сполук, які підрозділяють на гумусові кислоти (гумінові, фульвокислоти) та нерозчинний залишок.

Гумінові кислоти – гетерогенна група високомолекулярних азотвмісних органічних кислот, що складаються з ядерної частини, представлені ароматичними 5- та 6-членими циклічними сполуками, та аліфатичної частини, представлені боковими ланцюгами вуглеводної, білкової, пептидної природи. Аліфатичні компоненти гумінових кислот містять функціональні групи: карбоксильні, гідроксильні, фенольні, метоксильні, карбонільні, хітонні (рис. 8.1).

Елементний склад (С, Н, N, O) гумінових кислот коливається в таких межах (атомні %): 30–43% С, 32–42% Н, 2,4–3% N, 17,5–22% O. Гумінові кислоти містять також фосфор, сірку, мікроелементи. Середня молекулярна маса гумінових кислот коливається від 9000 до 74000. Комплекс гумінових кислот є неоднорідним і містить фракції з різними молекулярними масами: окремі структурні одиниці мають найнижчу масу від 1300 до 20000, асоціати молекул – від 20000 до 75000, молекули, що об'єднані в агрегати – 300000–600000.

У лабораторних умовах гумінові кислоти можна вилучити з ґрунту лужними розчинами (гідроксидом натрію, гідроксидом калію, пірофосфатом натрію). Витяжки мають колір від червоно-бурого або темно-коричневого до чорного. Забарвлення гумінових кислот зумовлене присутністю ароматичної ядерної частини, ступенем її конденсації, а також співвідношенням з аліфатичною частиною, яка не дає забарвлення.

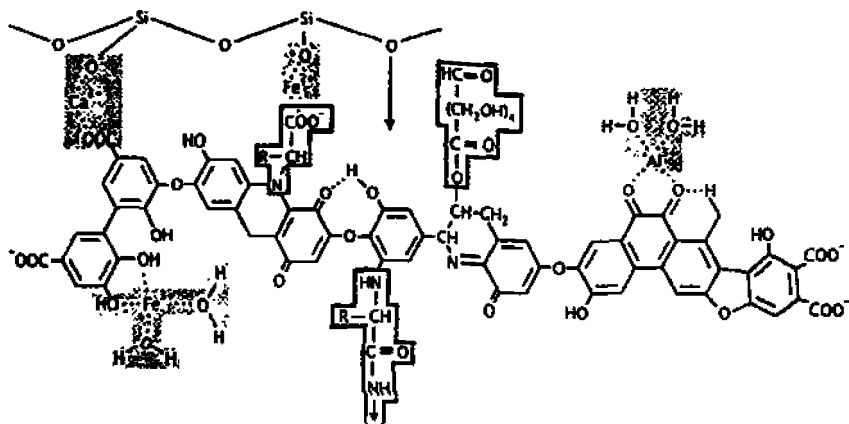


Рис. 8.1. Загальна будова молекули гумінової кислоти, яка містить ядерні ароматичні компоненти, аліфатичну частину із залишками амінокислот і вуглеводів, а також функціональні групи, які здатні зв'язуватись з іонами Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , Al^{3+}

У природному стані у ґрунті гумінові кислоти знаходяться у формі солей кальцію і магнію, є колоїдами, міцели яких мають активні аміно- та карбоксильні групи. Завдяки цьому гумати взаємодіють із мінеральними часточками породи і таким чином закріплюються у ґрунті. Завдяки закріпленню відбувається депоновання поживних речовин і енергії.

Фульвокислоти – це гумусові сполуки, що є гетерогенною групою азотвмісних органічних кислот. Як і гумінові кислоти, вони містять ароматичне ядро й аліфатичні бічні ланцюги. Відмінності від гумінових кислот полягають у тому, що ароматична частина фульвокислот менш концентрована, а в молекулі переважають бічні вуглеводні й амінокислотні компоненти. Внаслідок такої будови молекулярна маса фульвокислот є меншою, ніж гумінових, в елементному складі вуглецю і азоту менше, а кисню – більше порівняно з гуміновими кислотами. Елементний склад фульвокислот такий, (атомні %): 30–37% – С, 34–42% – Н, 1,4–2,5% – N, 25–30% – О. Лужний розчин фульвокислот забарвлений у світло- або темно-жовтий колір. Із двовалентними катіонами металів фульвокислоти взаємодіють слабо, вони є більш рухливими у порівнянні з гуміновими кислотами. Середні молекулярні маси різних фракцій фульвокислот коливаються від 500–800 до 5000–5000.

Гумін (осад, що не гідролізується) являє собою специфічні гумусові сполуки, які дуже міцно зв'язані з мінеральними частинками і їх не мож-

на вилучити з ґрунту ні лугами, ні кислотами. У нерозчинні сполуки зв'язується 30–60% від загального вмісту гумусу.

Деякі автори, крім зазначених вище груп гумусових сполук, виділяють перехідні підгрупи: ульмінові, гіматомеланові, фульвенові, фульвінові, фульванові кислоти. Сполуки цих груп відрізняються ступенем конденсації ароматичного ядра та кількісним складом аліфатичних компонентів і функціональних груп.

Для характеристики стану гумусу Л.О. Гришиною і Д.С. Орловим був запропонований перелік показників, наведений у таблиці 8.1.

Таблиця 8.1

**Основні показники гумусного стану ґрунтів
(за Л.О. Гришиною і Д.С. Орловим, 1986 р.)**

Ознака	Рівень ознаки	Межі коливань ознаки
Загальний вміст гумусу, %	Дуже високий	>10
	Високий	6–10
	Середній	4–6
	Низький	2–4
	Дуже низький	<2
Збагачення азотом, відношення C:N	Дуже високе	<8
	Високе	8–12
	Середнє	12–16
	Низьке	16–20
	Дуже низьке	>20
Ступінь гуміфікації органічної речовини ґрунту ($C_{\text{гг}}/C_{\text{згг}}$)-100	Дуже висока	>40
	Висока	40–30
	Середня	30–20
	Слаба	20–10
	Дуже слаба	<10
Тип гумусу, $C_{\text{гг}}/C_{\text{фг}}$	Гуматний	>1,5
	Фульватно-гуматний	1–1,5
	Гуматно-фульватний	1–0,5
	Фульватний	<0,5
Біологічна активність ґрунту, виділення CO_2 , мг/м^2 за 1 годину	Висока	>1,0
	Середня	0,5–1,0
	Низька	<0,5

Як видно з цієї таблиці, стан гумусу характеризує, перш за все, загальний вміст органічного вуглецю ($C_{\text{заг}}$). Важливою якісною характеристикою є збагаченість гумусу азотом, яка визначається як відношення вмісту вуглецю до вмісту азоту ($C:N$).

Ступінь гуміфікації характеризує, якою мірою органічна речовина гуміфікована, тобто який відносний вміст гумінових кислот ($C_{\text{гп}}$) до $C_{\text{заг}}$. Тип гумусу залежить від співвідношення гумінових і фульвокислот $C_{\text{гп}}/C_{\text{фк}}$. Межею відліку є рівне співвідношення цих кислот, тобто $C_{\text{гп}}/C_{\text{фк}}=1$. Якщо цей показник $>1,5$ – тип гумусу гуматний, а $<0,5$ – фульватний. Коливання цього показника у зазначених межах характеризує перехідні типи.

Ґрунти різних типів мають певні межі коливань наведених вище характеристик, середні значення яких наведені у таблиці 8.2.

Таблиця 8.2

**Гумусний стан ґрунтів різних типів
(за Л.О. Гришиною, 1986 р.)**

Ознака	Тип ґрунту			
	слабо- підзолистий	дерново- підзолистий	чорнозем типовий	чорноземно- луговий
Загальний вміст гумусу	Дуже низький 0,5%	Низький 3,2%	Високий 8,6%	Дуже високий 10,6%
Збагачення азотом, відношення $C:N$	Високе 9	Високе 8	Високе 11	Високе 11
Ступінь гуміфікації органічної речовини ґрунту ($C_{\text{гп}}/C_{\text{заг}}$)*100	Середній 20%	Середній 23%	Дуже високий 50%	Дуже високий 46%
Тип гумусу, $C_{\text{гп}}/C_{\text{фк}}$	Фульватний 0,5	Гуматно- фульватний 0,8	Гуматний 1,7	Гуматний 2,3
Біологічна активність ґрунту, виділення CO_2 , мг/м^2 за 1 годину	Низька 0,5	Середня 0,7	Висока 10,0	Висока 12,0

Біологічна активність ґрунту значною мірою визначає процеси утворення і трансформації гумусу. В запропонованій схемі як інтегральний показник біологічної активності використовується інтенсивність "дихання" ґрунту, тобто кількість CO_2 , що виділяється за 1 годину з одиниці площі.

8.2. Джерела утворення гумусу

Органічні рештки рослин, мікроорганізмів і тварин є джерелами, з яких утворюється гумус. Залишки рослин потрапляють у ґрунт у вигляді наземного опаду і мертвих коренів. Щорічна кількість опаду дорівнює у лісах помірних широт 2–7 т/га, у субтропічних – до 250 т/га. Значна кількість органічних залишків надходить із кореневою масою, яка у степовій зоні складає 8–30 т/га. Рослинні залишки переробляються ґрунтовими мікроорганізмами та тваринами, які перетворюють їх на вторинні форми органічної речовини ґрунту.

Органічний матеріал, який надходить у ґрунт, за хімічним складом є різноманітним, у ньому містяться білки, вуглеводи, лігнін, ліпіди, воски, смоли, фенольні сполуки, пігменти, вітаміни, ферменти, низькомолекулярні органічні кислоти, а також зольні елементи. Всі вони підлягають гуміфікації, тобто утворенню з органічних решток специфічних гумусових сполук. Найбільш важливі для гуміфікації сполуки будуть розглянуті далі.

Білки – високомолекулярні сполуки, що містять вуглецю 48–55%, водню 6,5–7,3%, кисню 19–26%, азоту 16–20%, сірки – близько 2%, фосфору – до 0,8%, а також зольні елементи – *K, Mg, Fe, Si*. Структурними елементами білкових молекул є амінокислоти. Аміногрупа і карбоксильна група зв'язані з одним і тим самим атомом вуглецю, що утруднює їх мінералізацію. Деструкції більшою мірою підлягають аліфатичні амінокислоти, меншою мірою – ароматичні.

Складні білки (протеїди) містять у простетичній групі речовини небілкової природи – ліпіди (ліпопротеїди), вуглеводи (глікопротеїди), нуклеїнові кислоти (нуклеопротеїди). Ці речовини визначають їх доступність, швидкість розкладу і участь у біохімічних процесах гумусотворення.

В рослинних тканинах білки утворюють стійкі комплекси з фенолами, які можуть бути структурними компонентами гумусу. Під дією ферментів мікроорганізмів, а також ферментів, адсорбованих на ґрунтових часточках, відбувається трансформація білкових сполук та продуктів їхнього розкладу.

Ферментативні перетворення азотвмісних органічних сполук (білків, поліпептидів, амінокислот, аміноцукрів, нуклеїнових кислот, азотних компонентів гумусу) здійснюються як до кінцевого продукту – аміаку, так і до проміжних продуктів, які підлягають гуміфікації.

Початковий етап перетворень азотовмісних органічних сполук починається з того, що від складних білків відокремлюється простетична група, а далі білкова частина розщеплюється до амінокислот за дії протеолітичних ферментів (пептидаз, протеїназ). Нуклеїнові кислоти за

участю нуклеаз розкладаються до пуринів і піримідинів, аміноцукри під дією глікозидгідролаз – до гексозамінів (похідних уронових кислот). Певна частина продуктів гідролізу засвоюється мікроорганізмами і рослинами, а інша підлягає подальшим перетворенням з утворенням гумусу.

Наступною стадією гуміфікації є амоніфікація низькомолекулярних азотвмісних сполук з утворенням аміаку за участю дезаміназ – уреаз, аспарагіназ, глутаміназ та ін. Аміак, що утворюється, асимілюється мікроорганізмами і рослинами, а також частково фіксується ґрунтовим поглинаючим комплексом. За наявності у ґрунті окисикислот можливий позаклітинний синтез амінокислот за участю аміносинтеаз. Можливість таких реакцій показана на прикладі аланін- і глутаматсинтеаз. Шляхи трансформації азотвмісних сполук у ґрунті можна представити такими схемами:

Білки $\xrightarrow{\text{пептидгідролази}}$ протеїни $\xrightarrow{\text{протеїнгідролази}}$ дипептиди $\xrightarrow{\text{дипептидгідролази}}$ амінокислоти

Нуклеїнові кислоти $\xrightarrow{\text{нуклеодеполімерази}}$ нуклеотиди $\xrightarrow{\text{нуклеотидази}}$ нуклеозиди $\xrightarrow{\text{нуклеозідази}}$ пурини і піримідини

Аміноцукри $\xrightarrow{\text{глікозидгідролази}}$ гексозаміни.

Найбільш активну участь у формуванні гумусових сполук беруть ароматичні амінокислоти – триптофан, фенілаланін, тирозин. Вони включаються переважно до складу ядерної частини гумусових кислот. Аліфатичні амінокислоти частіше виявляються у бічних ланцюжках молекул гумусових кислот.

Вуглеводи – клас органічних поліоксикарбонільних сполук та їх похідних. Вміст вуглеводів складає 0,01–2% від маси ґрунту і 7–30% від органічної речовини ґрунту. Якісний склад вуглеводів ґрунту подібний до складу рослинних організмів і містить целюлозу, геміцелюлозу, крохмаль, олігосахариди, моносахариди, аміноцукри.

Залежно від числа моносахаридних залишків у молекулі вуглеводи поділяють на моносахариди, олігосахариди і полісахариди. Моносахариди містять 3, 4, 5, 6 і більше атомів вуглецю. Можуть існувати в ациклічній (відкритій) і циклічній формах. Карбонільна група в циклічній формі взаємодіє з OH-групою і утворює напівацеталі. До складу молекули вуглеводу може входити карбоксильна група (уранові кислоти) або аміногрупа (аміноцукри).

У природі у вільному стані зустрічаються глюкоза і фруктоза (суміш ізомерів манози і глюкози). Інші моносахариди входять до складу оліго- і полісахаридів. Олігосахариди містять від 2 до 10 моносахаридних за-

лишків, що поєднуються О-глікозидними зв'язками. Вони містяться в рослинах (сахароза), молоці (лактоза та її похідні).

Питання про участь простих вуглеводів у синтезі гумусу тривалий час залишалося дискусійним. Вважалося, що їх трансформація у ґрунті відбувається до кінцевих продуктів – CO_2 і H_2O . Проте досліді з використанням мічених за ^{14}C олігосахаридів показали їх включення до складу як аліфатичних, так і ядерних структур гумусових молекул. Можливо, що це включення відбувається у формі метаболітів мікроорганізмів.

Серед полісахаридів важливу роль у процесах гуміфікації відіграють целюлоза, хітин, геміцелюлоза, пектини, лігнін, дубильні речовини.

Целюлоза – полімер, який має лінійні нерозгалужені ланцюги, що складаються із молекул *D*-глюкози, поєднаних 1,4- β -глікозидними зв'язками. Вона є головним компонентом клітинних стінок рослин. Експериментально доведено існування гуміфікаційного шляху трансформації целюлози і включення мічених за ^{14}C целюлозних компонентів до складу як високомолекулярних гумусових сполук (із молекулярними масами 21000–27000), так і низькомолекулярних фракцій (із масами від 5000 до 9000). Продуктом розкладу целюлози є глюкоза, шляхи її метаболізму і включення в компоненти гумусу ще до кінця не досліджені. Можливими етапами цього процесу є утворення амінокислот або фенольних сполук, які включаються до складу гумусових молекул.

Хітин – полісахарид, що складається із залишків 2-ацетамідо-2-дезоксид-*D*-глюкози, входить до складу клітинних стінок грибів, безхребетних, деяких водоростей.

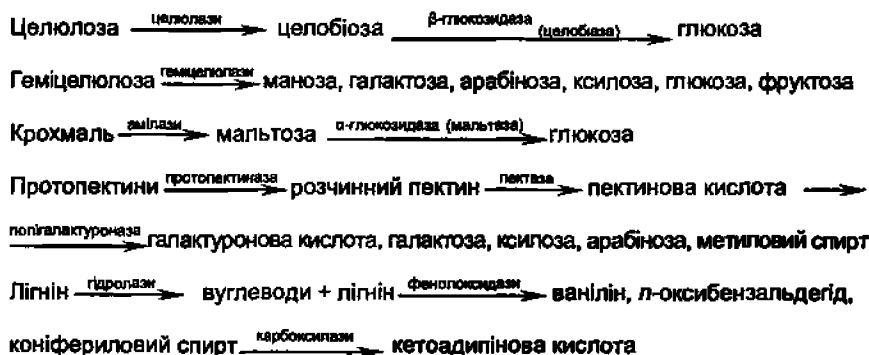
Геміцелюлози залежно від складу мономерів розділяються на ксилани (ланцюги *D*-ксилопіранозних залишків), глюкоманани (ланцюги *D*-манози і *D*-глюкози) і галактани (ланцюги *D*-галактози, що містять на кінцевих позиціях залишки *L*-арабінози). Геміцелюлози входять до складу стінок рослинних клітин, заповнюють міжклітинний простір.

Пектин – ланцюговий полімер, мономерами якого є залишки *D*-галактуронової кислоти, поєднані 1,4-зв'язками. Пектини входять до складу міжклітинних речовин і клітинних стінок рослин.

Лігнін – один із головних компонентів рослинних клітин, локалізується між мікрофібрилами клітин. Це складна сполука, яка містить мономерні блоки, представлені похідними фенілпропану, головним чином, коніферіловим спиртом. Складність будови зумовлена нерегулярністю і різноманітністю поєднань мономерних блоків. Дуже повільно піддається деструкції і біологічному окисненню, тому є головним джерелом ароматичних сполук для гумусу.

Мікробна деструкція лігніну здійснюється комплексом окиснювальних ферментів типу фенолоксидаз, що продукуються грибами, бактеріями, стрептоміцетами. Під впливом цих ферментів відбувається поступове деметилювання й окиснення молекули лігніну. Серед продуктів неповного розкладу лігніну виявлені фенольні сполуки ароматичної будови: ванілін, *п*-оксибензальдегід, димери коніферилового спирту, які є "будівельними" блоками гумусових сполук.

Узагальнені шляхи трансформації вуглеводів та лігніну у ґрунті можна представити такими реакціями:



Дубильні речовини – це поліоксифенольні сполуки, а також полімери катехинів, вони мало піддаються деструкції, є основою для полімеризації і утворення ароматичного ядра гумусових кислот. Гуміфікація дубильних речовин відбувається шляхом, описаним для лігніну.

8.3. Синтез гумусових сполук

Гумусотворення – це одночасні фізичні, хімічні і біологічні процеси трансформації рослинних, тваринних та мікробних решток, що ведуть до утворення специфічних гумусових сполук у товщі породи або у ґрунті. Важливою ланкою гумусотворення є *гуміфікація*, внаслідок якої утворюються гумусові кислоти.

Історично погляди вчених на гумусотворення формувалися від хімічних до мікробіологічних і біохімічних позицій. У XIX ст. панувала думка про те, що перетворення органічних решток відбувається внаслідок хімічних реакцій під дією вологи, температури та кисню.

П.А. Костичев першим висловив думку про біологічну природу гуміфікаційних процесів. Особливий пріоритет цього вченого полягає у тому, що мікробіологія і біохімія ґрунтів у той час тільки починали розвиватись, а вчення про високомолекулярні сполуки взагалі не існувало. Положення П.О. Костичева про природу перетворення рослинних решток такі:

- подрібнення рослинних решток відбувається завдяки діяльності тварин;

- розклад подрібнених органічних залишків здійснюється під впливом бактерій, грибів, а також внаслідок хімічної взаємодії компонентів речовин, що розкладаються;

- мікроскопічні гриби утворюють продукти, забарвлені у темний колір, що входять до складу гумусу;

- азот білків рослинних решток ресинтезується в мікробну плазму, а при відмиранні мікроорганізмів стає складовою гумусу.

Для підтвердження своєї теорії С.П. Костичев провів вимірювання безпосередньо у ґрунті активності фіксування атмосферного азоту мікроорганізмами, виділення CO_2 та споживання внесеного органічного субстрату. Були також виявлені зв'язки в системі мікроорганізм-рослина, показана роль корневих виділень і транспорт у рослину азоту, фіксованого мікроорганізмами.

А.Г. Трусов висловив припущення, що у синтезі гумусу важливу роль відіграє окиснення лігніну та дубильних речовин з утворенням хінонів, які потім конденсуються і утворюють гумусові сполуки. Спираючись на цю гіпотезу, С. Ваксман сформулював теорію про лігно-протеїновий комплекс як ядро гумусу. Згідно з цією теорією, гумус формується із лігніну рослинних решток, який поєднується з білком відмерлих мікробних клітин. Ця теорія піддалася критиці з огляду на те, що у процесі гуміфікації відбувається часткова деструкція лігніну, а в утворенні гумусу беруть участь його окремі структурні одиниці. Крім того, ароматичні сполуки входять до складу не тільки лігніну, а й інших компонентів рослинних рештків.

Важливу роль у розвитку теорії мікробної гуміфікації рослинних решток відіграли ранні роботи В.Р. Вільямса, в яких гумусові речовини розглядалися як продукти, утворені завдяки діяльності мікроорганізмів. Пізніше вчений висловлював гіпотезу про те, що гумусові кислоти є екзоензимами, які виділяють живі клітини мікроорганізмів. Проте ця гіпотеза не підтвердилась експериментальними даними.

Найбільш значущі дослідження трансформації рослинних решток і формування гумусу були проведені І.В. Тюрнім, С. Ваксманом, М.М. Коновою, Л.М. Александровою, А.Д. Фокіним, В. Флайгом, М. Александером.

У сучасній науковій літературі найбільш поширеними є дві теорії гумусотворення: *конденсаційна і полімеризаційна*.

Грунтовна розробка *конденсаційної* теорії належить М.М. Кононовій. Згідно з цією теорією на першій стадії гуміфікації відбувається розклад компонентів рослинних і тваринних решток, перетворення їх мікроорганізмами до простіших сполук і частково до їх повної мінералізації. На другій стадії гуміфікації здійснюються синтетичні реакції утворення специфічних гумусових речовин. Гумінові кислоти є продуктами окиснювальної конденсації амінокислот і протеїнів з ароматичними фенольними сполуками, які утворилися при розкладі дубильних речовин і лігніну. Важлива роль у цьому процесі належить поліфенолоксидазам мікроорганізмів. Фульвокислоти М.М. Коконова розглядає як молоді і менш зрілі гумінові кислоти.

До конденсаційних гіпотез відноситься також меланоїдинова теорія утворення гумусових сполук. Меланоїдини – аморфні азотвісні сполуки темно-коричневого або чорного забарвлення, які утворюються при ферментативній конденсації амінокислот із вуглеводами та їх похідними. Така реакція вперше була проведена при взаємодії глюкози і глікоколу, потім була проведена реакція між глюкозаміном і хітином. Азотвісними компонентами в таких реакціях можуть бути амонійні солі, аміни, амінокислоти.

Д.Г. Звягінцев зі співробітниками висловили припущення, що меланінові пігменти, синтезовані мікроскопічними грибами, можуть бути напівпродуктами або хімічно повністю сформованими гумусовими кислотами. Ця гіпотеза базується на подібності елементного складу, фізичних, біохімічних і спектроскопічних характеристик меланінів і гумусових кислот. Загальна схема синтезу гумусових сполук за участю мікробних меланінів представлена на рис. 8.2.

Полімеризаційна теорія гумусотворення найбільш повно виражена в працях В. Флайга. Гумінові кислоти є продуктом полімеризації фенольних сполук з амінокислотами, які утворюються при розкладі білків. Джерелом фенольних сполук є лігнін та інші фенолвісні органічні речовини. Гуміфікація розглядається як синтетичний біохімічний процес, основною реакцією якого є окиснювальна полімеризація за участю оксидаз. Продукти розкладу лігніну – фенолкарбонові кислоти у подальшому деметилуються, бічні ланцюги їх розриваються і приєднують амінокислоти, що врешті-решт призводить до полімеризації з утворенням молекули гумінової кислоти. Продукти неповної деструкції лігніну – гідрополістирени також можуть взаємодіяти з ароматичними амінокислотами з утворенням гумінових кислот (рис. 8.3).

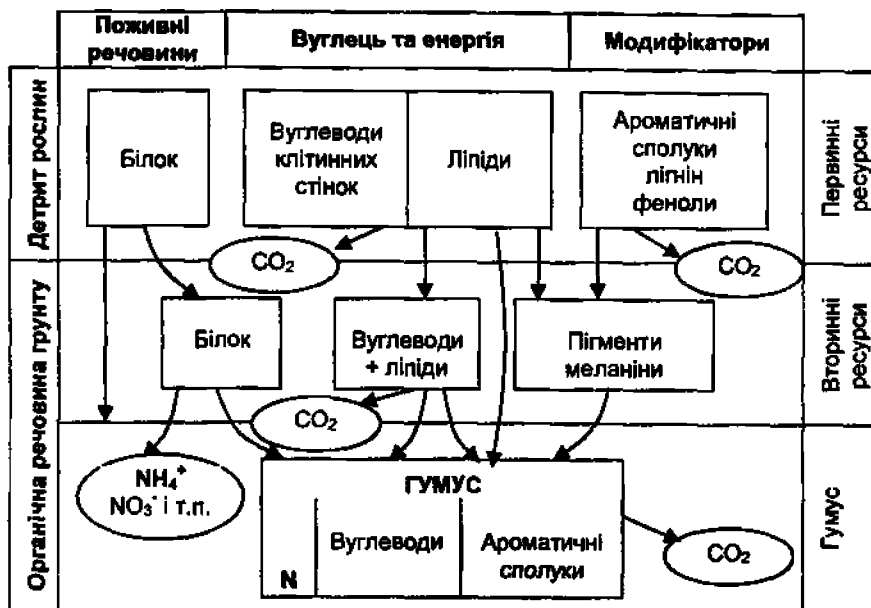
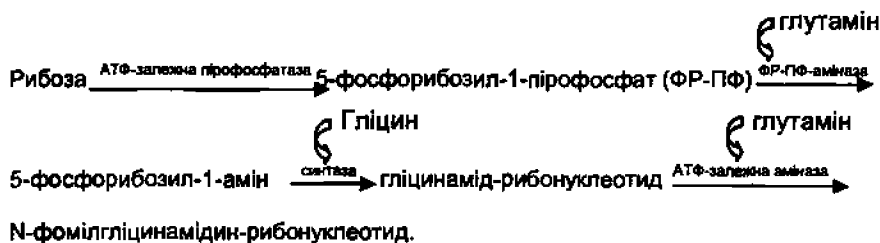


Рис. 8.2. Схема розкладу рослинних залишків з утворенням гумусових сполук (за Свіфтом)

Утворення гумусових сполук із продуктів розкладу органічних решток є процесом багатостадійним, у якому значну роль відіграють як мікроорганізми, так і ґрунтові ферменти. Вуглеводи, що утворюються при розкладі целюлози, крохмалю, пектину, частково окиснюються мікроорганізмами до кінцевих продуктів, а частково беруть участь у синтезі різних мікробних метаболітів, наприклад амінокислот. У ґрунті амінокислоти і пептиди взаємодіють із фенолами з утворенням темнозabarвлених прогумусних сполук. Для того щоб амінокислоти могли взаємодіяти з продуктами розкладу лігніну (фенолами), останні повинні пройти ряд біохімічних перетворень, зокрема, метилювання фенолових ефірів. У подальшому фенолові ефіри окиснюються за участю оксидаз до хінонів, які поєднуються з аміногрупами за участю піридоксальфосфата.

Інший шлях участі ґрунтових ферментів у формуванні гумусових сполук із вуглеводів полягає у синтезі пуринів. Компоненти Імідазольного кільця пуринів утворюються в АТФ-залежній реакції його дегідратації. Послідовність цих реакцій описується схемою:



За участю поліфенолоксидаз амінокислота тирозин окиснюється до дигідрооксифенілаланіну, який трансформується в ортохінон, далі до 5-6-дигідрооксіндоп-2-карбоної кислоти, що має темне забарвлення.

Якщо розпад органічних рештків неповний, то утворюються високомолекулярні проміжні продукти, які за допомогою ферментів підлягають окиснювальному декарбоксилюванню і подальшій полімеризації.

Слід зазначити, що жодна з цих теорій не може вважатися досконало розробленою, незважаючи на те, що експериментально була підтверджена можливість синтезу в лабораторних умовах штучних гумусових сполук.

За сучасними уявленнями весь процес формування гумусу складається не тільки з новоутворення гумусових кислот. У ґрунті постійно відбуваються процеси оновлення і фрагментарної добудови вже існуючих гумусових речовин. М.І. Дергачова вважає, що у ґрунті існує певний пул органічних речовин – вільних і обмінно зв'язаних із периферичною частиною гумусових кислот. З одного боку, ці речовини утилізуються мікроорганізмами, а з іншого – ідуть на підтримку системи гумусових сполук. Тобто новоутворені прогумусові речовини є трансаккумулятивними.

А.Д. Фокін вважає, що у процесі дозрівання гумусу до бокових ланцюгів гумінових кислот можуть приєднуватися нові фрагменти або, навпаки, відщеплюватися деякі компоненти; з часом відбувається ущільнення і подальша конденсації ароматичної ядерної частини. "Молоді" гумінові кислоти характеризуються високою молекулярною масою, розвиненою аліфатичною частиною, а в "зрілих" гумусових кислотах ядерна частина більш ущільнена, аліфатичні ланцюги короткі, молекулярна маса менша, ніж у "молодих".

У дослідженнях Г.О. Іутинської було показано, що позаклітинні мікробні полісахариди взаємодіють із бічними ланцюжками гумінових кислот, при цьому молекулярна маса останніх зростає, а ступінь конденсації – зменшується. Мікробні екзополісахариди за умов такої взаємодії чинять протекторну дію – захищають гумінові кислоти від мікробних атак.

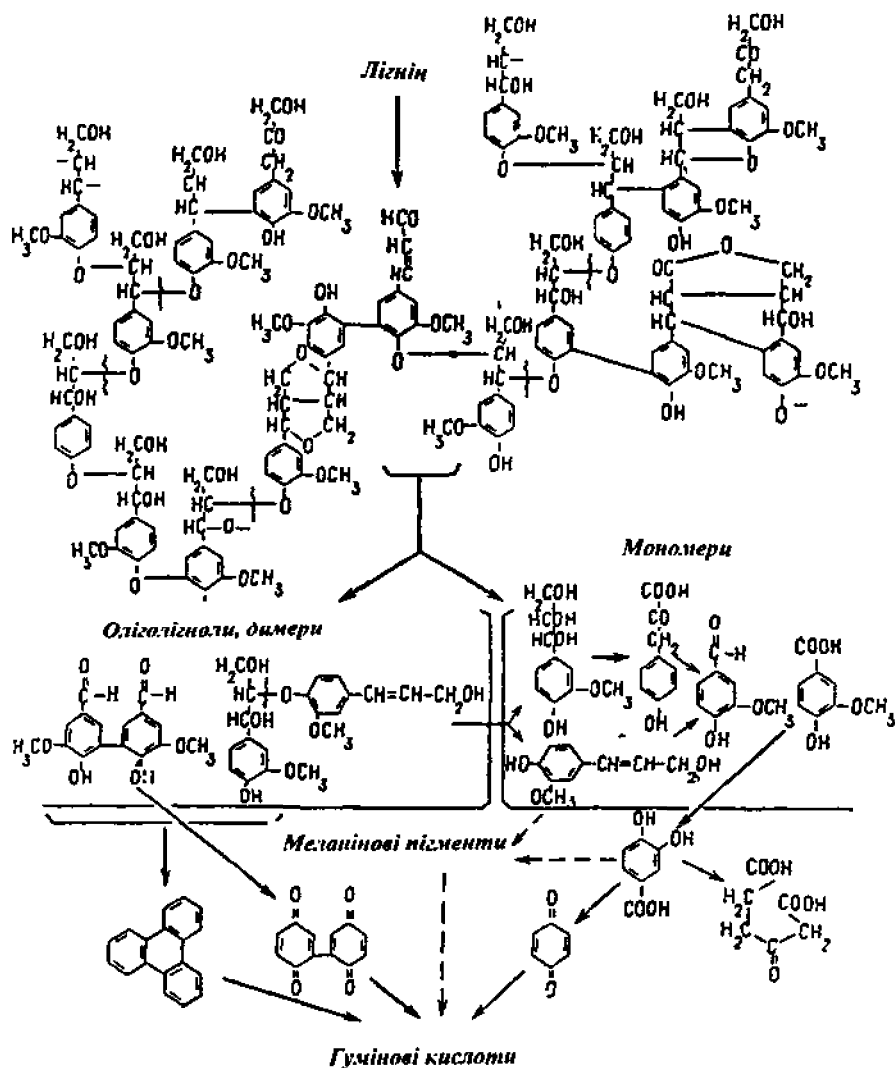


Рис. 8.3. Схема утворення гумінових кислот із лігніну

Фактори, що впливають на гумусотворення. Інтенсивність і напрямок мікробної трансформації органічних залишків у ґрунті залежить від низки природних і антропогенних факторів. Д.С. Орлов запропонував кінетичну теорію гуміфікації, суть якої виражається формулою:

$$H = f(Q, I, t),$$

де H – інтенсивність гуміфікації; Q – загальна маса щорічних органічних решток, які надходять у ґрунт; I – інтенсивність трансформації органічних решток, яка пропорційна біологічній і біохімічній активності ґрунту, t – тривалість періоду активного розкладу решток, що дорівнює періоду позитивних температур.

Таким чином, роль мікроорганізмів в утворенні гумусу є багатогранною. Вони розкладають органічні рештки, синтезують сполуки, які слугують структурними компонентами молекул гумусових речовин, а також продукують фенолоксидази, які окиснюють поліфеноли до хінонів з наступною конденсацією в гумус.

8.4. Деструкція гумусових сполук

Одночасно з синтезом у ґрунті відбувається протилежний процес – деструкції гумусових сполук. Визначальну роль у ньому відіграють мікроорганізми.

Деструкція гумусу має як позитивне, так і негативне значення залежно від швидкості цього процесу, а також компенсації його новоутворенням гумусових сполук. Якщо швидкість розкладу переважає над новоутворенням, то загальна кількість гумусу зменшується, відбувається дегуміфікація ґрунтів. За умов рівноваги процесів синтезу і деструкції внаслідок розкладу гумусу вивільняються поживні речовини для рослин, в той же час деструкція компенсується синтезом нових гумусових речовин. За таких умов розклад гумусу є процесом позитивним.

Розрізняють такі типи балансу гумусу у ґрунтах:

- *бездефіцитний*, коли надходження у ґрунт органічних речовин повністю врівноважує витрати гумусу;
- *позитивний* баланс, коли надходження органічних речовин перебільшує витрати гумусу;
- *від’ємний* баланс, коли надходження органічних речовин не компенсує витрати гумусу.

Запаси основних елементів мінерального живлення в гумусі достатньо великі. За даними Є.М. Мішустіна, в шарі ґрунту 0–20 см у гумусі

акумульовано азоту від 3,2 до 11 т/га, фосфору – від 0,1 до 2,7 т/га (таблиця 8.3).

Таблиця 8.3

**Запаси азоту і фосфору в гумусі ґрунтів
основних типів, т/га
(за Є.М. Мішустіним, В.Т. Ємцевим, 1978 р.)**

Тип ґрунту	Гумус	Азот	Фосфор
Підзолистий	50	3,2	0,8
Чорнозем звичайний	140	7,0	2,4
Чорнозем південний	160	11,0	2,7
Сірозем	40	3,7	0,1

Особливо важливими для формування родючості ґрунтів є запаси азоту, що депоновані в гумусі; в орному шарі ґрунтів різних типів вони коливаються від 3,5 до 10,0 т/га (таблиця 8.4).

Здатність до деструкції органічних речовин ґрунту, у тому числі і гумусових сполук, виявлена у хемоорганотрофних мікроорганізмів. Є.М. Виноградський вважав, що розклад гумусу здійснює специфічна мікрофлора, яку він назвав автохтонною. Такої ж думки були Є.М. Мішустін, Д.І. Нікітін, які до автохтонної мікрофлори відносили мікроорганізми, здатні розкладати гетероциклічні ядерні компоненти гумусових сполук.

Таблиця 8.4

**Вміст азоту в окремих групах гумусу ґрунтів
різних типів, кг/га у шарі 0–20 см
(за Д.С. Орловим, 1974 р.)**

Тип ґрунту	Загальний вміст органіч- ного азоту	Азот негу- мусових сполук	Азот гумусових сполук		
			фульво- кислот	гумінових кислот	гуміну
Дерново- підзолистий	3560	971	620	341	1628
Чорнозем типо- вий	9900	2158	864	1720	5158
Сіроземний	3420	922	326	348	1824

Як показали досліді К.З. Тейпер, активними деструкторами гумінових і фульвокислот є представники родів *Nocardia*, *Bactoderma*,

Micromonospora, Arthrobacter. Ці мікроорганізми характеризуються низькою активністю або повною відсутністю таких гідролітичних ферментів, як протеїнази, амілази, інвертази. Тобто ферментів, які беруть участь у розкладі свіжих органічних решток. У той же час нocardії здатні засвоювати ароматичні і гетероциклічні сполуки (бензойну, саліцилову, протокатехову кислоти, ванілін, лігнін, гумусові речовини) як джерела вуглецю й азоту. При цьому інтенсивність дихання мікроорганізмів є дуже низькою і наближається до інтенсивності ендогенного дихання. Проте, повну деструкцію гумінової кислоти з розривом ароматичного ядра мікроорганізмів роду *Nocardia* здійснюють рідко. Просвітлення зон гуматів натрію на кремнієвому гелі навколо колоній *Nocardia* спостерігається після тривалого культивування їх із мікроорганізмами інших родів, наприклад *Bacteroides*. До автохтонної мікрофлори Д.І. Нікітін, К.З. Теппер також відносять представників родів *Seliberia, Micromonospora, Pedomicrobium*.

Здатність розкладати гумус була виявлена також у мікроорганізмів, яких відносять до групи зимогенних: грибів, стрептоміцетів, деяких аеробних мікрококів, бацил, псевдомонад, мікобактерій, сульфатвідновлювальних бактерій, азотобактера, анаеробних бацил роду *Clostridium* (*C.paraputrificum, C.aminovalericum*). Це дало підставу стверджувати, що не існує строго спеціалізованої групи гуматруйнівних мікроорганізмів.

Слід звертати увагу на ступінь деструкції гумусових сполук мікроорганізмами різних груп. Найбільш легко мінералізуються бокові аліфатичні ланцюги гумусових кислот, представлені амінокислотними і вуглеводними залишками; засвоювати їх може широке коло мікроорганізмів. Тобто початковий етап деструкції гумусових кислот здатні здійснювати зимогенні мікроорганізми, у тому числі і такі, що використовують вуглеводи й амінокислоти. Ядерна частина молекул гумусових сполук більш стійка і стає доступною на пізніх стадіях деструкції. Саме на цьому етапі переважають представники специфічної автохтонної мікрофлори, які синтезують високоактивні окиснювальні ферменти.

Деструкція ароматичних фрагментів ядра починається тоді, коли молекули гумусових кислот майже повністю втрачають бічні ланцюги і замісники. Після цього починається ферментативне окиснення ароматичних структур, яке супроводжується гідроксилюванням молекули. Це призводить до розбалансування електронної структури кільця, і воно стає доступним для атак мікроорганізмів.

Розрив ароматичного кільця фенолів здійснюється в аеробних умовах під дією оксигеназ, а в анаеробних умовах – під дією відновленого

НАДФ. За таких умов один атом кисню включається в кільце, а другий – відновлюється до води. Розрив кільця здійснюється між двома сусідніми гідроксильними групами. Продуктом реакції є муконова кислота або її альдегіди.

8.5. Екологічне й агрономічне значення гумусу

У гумусі акумулюються запаси поживних речовин, котрі при поступовій мінералізації переходять у ґрунтовий розчин і використовуються рослинами. Підраховано, що в гумусових сполуках депоновано 80–95% усіх ґрунтових запасів азоту. Також у гумусі акумулюються фосфор, кальцій, калій, мікроелементи. Встановлена позитивна кореляція між вмістом гумусу і ванадію, молібдену, марганцю та інших мікроелементів. Завдяки хімічній активності функціональних груп гумусові сполуки впливають на такі фізико-хімічні властивості ґрунтів, як ємність поглинання, склад і рухомість поглинутих катіонів, окисно-відновний потенціал. У зв'язку із зазначеними властивостями гумус сприяє підвищенню ефективності мінеральних добрив.

Функція депонування має важливе значення у зв'язуванні рухомих форм важких металів і переведенні їх у малорухомі і малотоксичні сполуки. Це особливо важливо при забрудненні ґрунтів важкими металами і радіонуклідами. Слід зазначити, що цей процес оборотний, при зміні рН ґрунту і мікробній деструкції органо-мінеральних сполук важкі метали можуть знову переходити у ґрунтовий розчин.

Оскільки гумус активно поглинає не тільки речовини, а й вологу, то він відіграє важливу роль у формуванні таких властивостей ґрунту, як поглинальна здатність, вологоємність, буферність. Підраховано, що 1 г гумусу поглинає від 4 до 20 г води, при цьому він набуває колоїдних властивостей, які відіграють важливу роль у склеюванні ґрунтових часточок і формуванні структури ґрунту.

Важливу роль відіграє гумус в енергетиці ґрунтових процесів. Першим звернув увагу на енергетичні характеристики гумусу С. Ваксман. Пізніше запаси енергії в гумусових сполуках були розраховані різними методами: за ступенем його окиснення (за І.В. Тюрніним), за даними елементного аналізу (за Е.М. Мовсисяном), шляхом безпосередніх калориметричних вимірювань (за В.Р. Волобуєвим і С.А. Алєєвим). Виявилось, що енергія, акумульована в гумусі (у товщі ґрунту до 3 м), коливається в межах 5000–9000 кал; найбільші її запаси в чорноземах – до 20000 кал, ґрунти інших типів містять від 6000 до 9200 кал.

Відмічена залежність забарвлення ґрунту від вмісту в ньому гумусу. Найбільше гумусу містять чорноземні ґрунти, які мають темно-коричневий, частіше чорний колір. Від кольору ґрунту залежать його спектральні властивості. Їх вимірюють у спектрозональних аерофотозйомках при дистанційних методах вивчення якості ґрунтів. Забарвлення ґрунту значною мірою впливає на його тепловий баланс.

Гумусові сполуки можуть зв'язуватись із залишками пестицидів і акумулювати їх, а при мінералізації гумусу вони переходять у вільний стан і підвищують токсичність ґрунтів.

Багато дослідників відмічають, що гумінові і фульвокислоти є фізіологічно активними речовинами, здатними стимулювати життєдіяльність рослин і мікроорганізмів. В основному властивість біостимуляторів при-тамання низькомолекулярним фракціям, які можуть проникати в рослини і мікробні клітини, змінювати їх плазматичну структуру і впливати на інтенсивність метаболічних процесів.

Враховуючи зазначені вище властивості гумусу, можна дійти висновку, що він відіграє визначальну роль у формуванні родючості ґрунту. За даними багатьох польових дослідів спостерігається тісний зв'язок між рівнем гумусованості ґрунтів та урожайністю сільськогосподарських культур (коефіцієнт кореляції між цими показниками становить 0,6–0,8).

8.6. Особливості трансформації гумусу в сучасних агроценозах

На інтенсивність і напрямок процесів гумусотворення значною мірою впливають такі антропогенні фактори, як форми і дози застосування мінеральних добрив, внесення органічних добрив і зеленої рослинної маси, ступінь насичення ґрунту катіонами кальцію, режими зволоження, обробіток ґрунту та інші.

Застосування мінеральних добрив є важливим антропогенним фактором, який впливає на інтенсивність мікробіологічних процесів і, зокрема, на трансформацію органічної речовини ґрунту. Мінеральні добрива містять азот, фосфор і калій у легкозасвоюваних формах. За умов їх внесення у ґрунт мікроорганізми забезпечуються у достатній кількості основними біогенними елементами, а джерела енергії для метаболізму беруть із органічної речовини ґрунту. Бурхливий розвиток мікроорганізмів підвищує швидкість мінералізації органічних решток, а їх окиснення іде до кінцевих продуктів – CO_2 та H_2O . Вуглець біологічно нестійких сполук не гуміфікується, а практично повністю асимілюється мікроорганізмами або виділяється у вигляді CO_2 .

Органічні речовини ароматичної природи при високому рівні мінерального живлення також швидко розщеплюються до аліфатичних проміжних сполук, які повністю мінералізуються. Такий тип трансформації органічних решток практично виключає можливість їх участі у формуванні гумусових сполук. Отже, внесення високих доз мінеральних добрив повинно бути компенсованим одночасним внесенням органічних решток. Якщо ця вимога не виконується, то за недостатнього надходження у ґрунт органічного матеріалу мікроорганізми вимушені брати енергію для життєдіяльності з гумусу. Тобто внесення мінеральних добрив провокує підвищення швидкості мінералізації гумусових сполук. Після багаторічного внесення високих доз мінеральних добрив практично на всіх землях спостерігається від'ємний баланс гумусу. Це стосується навіть чорноземних ґрунтів, у яких щорічно втрачається до 0,5–0,7 кг/га гумусу. Таким чином, для збереження вмісту гумусу і формування його бездефіцитного балансу необхідне внесення мінеральних добрив разом з органічними (гній або фітомаса сидеральних культур – “зелені добрива”).

Органічні добрива містять легкодоступний енергетичний матеріал, при деструкції якого мікроорганізми задовольняють свої потреби у вуглеці за рахунок вуглеводів, у той час як ароматичні сполуки, що вивільняються з органічних решток, ідуть на формування компонентів гумусу. Підсилити процеси гуміфікації можна шляхом внесення органічних решток, збагачених ароматичними компонентами, які містяться, наприклад, у соломі злакових культур. У сучасному землеробстві використовують багато видів органічних добрив.

Добрива на основі відходів тваринництва і птахівництва – це гній та компости на його основі. Гній займає перше місце серед органічних добрив за значенням і ефективністю дії. Розрізняють підстилковий і безпідстилковий гній великої рогатої худоби, коней, овець, свиней, птишиний послід та компости на основі гною і соломи або гною і торфу. За строками дозрівання гній буває свіжий, напівперепрілий, перепрілий, перегній. Найбільшу кількість поживних речовин містить напівперепрілий гній, який дозріває протягом 2–3 місяців. За цей час насіння бур'янів, що міститься в гної, втрачає свою життєздатність. Змішаний гній у середньому містить (%): органічної речовини 20–24, азоту 0,5–0,8, P_2O_5 0,2, K_2O 0,6, CaO 0,35, води 75. Кількісні співвідношення поживних речовин можуть варіювати залежно від виду та строків дозрівання. За підрахунками Д.С. Орлова для бездефіцитного балансу гумусу необхідно щорічно вносити на поля у середньому 8 т/га гною. Для зменшення витрат на його транспортування рекомендується вносити гній один раз на 5–6 років, при цьому норми внесення становлять: під овочі 60–

80 т/га, під картоплю 40–60 т/га, під озиму пшеницю 20–30 т/га. Позитивна дія гною зумовлена не тільки вмістом поживних елементів. Його застосування покращує структуру ґрунту, сприяє утриманню вологи, формує сприятливий тепловий режим. Відмічена позитивна дія гною на розвиток ґрунтових мікроорганізмів, підвищення ферментативної активності, що приводить до зростання гуміфікації органічної речовини ґрунту.

Добрива на основі відходів рослинництва (солома). Підраховано, що 50 ц соломи містять азоту 20–35 кг, P_2O_5 5–7 кг, K_2O 80–90 кг, CaO 10–15 кг, MgO 4–6, S 5–6 кг, а також мікроелементи Cu, Mn, Mo, Co. Через 3 місяці після заорювання соломи у ґрунт половина її водорозчинних органічних сполук утилізується мікроорганізмами. У наступний період вони починають розкладати целюлозу і лігнін. Для збалансування відношення вуглецю й азоту разом із соломою у ґрунт необхідно вносити мінеральний азот. На 1 т соломи достатньо вносити 7–10 кг азоту. Без компенсації азотом заорювання соломи може спричинити зменшення врожаю через конкуренцію рослин і мікроорганізмів за азот. Найбільш поширеними способами внесення є мульчування і покриття соломою. При першому способі після збирання врожаю зернових стерню подрібнюють і змішують із ґрунтом дисковою бороною. Мульчування захищає ґрунт від ерозії і змиву у період танення снігу. При укрітті ґрунту соломою її подрібнюють і залишають на поверхні взимку, а заорюють навесні. Під покриттям створюються умови для більш активного розкладу соломи мікроорганізмами і ґрунтовими тваринами.

“Зелене добриво”, або сидерати, – зелена фітомаса рослин, які вирощують для наступного заорювання у ґрунт. Як сидерати зазвичай використовують культури, які продукують велику зелену масу, що швидко розкладається мікроорганізмами. Частіше як зелені добрива заорюють бобові (люпин, буркун, сераделла, чина), хрестоцвітні (рапс, суріпиця, редька олійна) та злакові (озиме жито та ячмінь). Розрізняють два способи вирощування сидеральних культур: 1 – проміжний, коли рослини вирощують у період між збиранням однієї і посівом іншої основних культур; 2 – спеціальний висів сидеральних культур навесні і заорювання їх улітку перед посівом основної культури. Встановлено, що при заорюванні, наприклад, зеленої маси люпину і його кореневих рештків у кількості 15–20 т/га вміст гумусу підвищується на 0,7 т/га. У процесі деградації рослинних рештків сидеральних культур важливе значення має співвідношення азоту і вуглецю (оптимальне значення якого становить 1:15–20), а також біохімічний склад фітомаси.

На перших етапах розкладу рослинних решток мікроорганізми розмножуються за рахунок біологічно нестійких сполук (прості вуглеводи, білки), якими багата зелена маса рослин. Органічні циклічні і гетероциклічні сполуки за таких умов піддаються, в основному, гуміфікації. Разом із зеленою масою у ґрунт вносяться біологічно активні речовини рослинного походження, які також впливають на розвиток мікроорганізмів і рослин. Заорювання сидератів сприяє збільшенню біомаси і загальної чисельності мікроорганізмів, у тому числі амоніфікуючих, нітрифікуючих, целюлозоруйнівних, азотфіксуючих. Позитивна дія сидерації проявляється також у покращанні фітосанітарних умов (зменшення кількості фітопатогенних видів), підвищенні стійкості рослин до захворювань, підвищенні вмісту фізіологічно активних речовин, серед яких є і новоутворені гумусові кислоти.

"Біогумус" – органічне добриво, що є продуктом переробки рослинних і побутових відходів та гною за допомогою каліфорнійського гібриду червоного дощового хробака. Біогумус формується із капролітів (екскрементів) компостних хробаків, а також за участю мікроорганізмів. У процесі перетравлювання органічних речовин у кишковику хробаків утворюються високомолекулярні органічні кислоти, циклічні сполуки, які далі полімеризуються і є основою гумусових речовин. В Україні розробка технології виготовлення та детальне вивчення впливу біогумусу на родючість ґрунтів започатковані М.М. Городнім. У нинішній час виробництвом біогумусу займаються в багатьох господарствах. Показано, що при переробці 1 т гною утворюється 600 т біогумусу, який містить органічної речовини 25–40%; азоту, фосфору, калію близько 1% (кожного), фізіологічно активні речовини. Біогумус діє у рік внесення і має також пролонговану дію у наступні роки.

Каустобіоліти – торф, буре вугілля, лігніти. Значення цих органічних субстратів як сировини для отримання органічних добрив, пов'язане з їх хімічною природою та структурою. Важливе значення мають біохімічні і геохімічні процеси карбонізації, що відбулися у цих субстратах. Позитивний вплив на ґрунт мають такі властивості бурого вугілля, як висока порізність, пластичність, велика активна поверхня, здатність до набухання, сорбції та до взаємодії з органічними і неорганічними речовинами.

Буре вугілля містить у своєму складі гумінові сполуки, лігнін, мікроелементи, амінокислоти. Більшість цих сполук знаходяться у зв'язаному стані і недоступні для живлення рослин. У процесі дозрівання компостів під дією мікроорганізмів відбувається ферментація і перетворення хімічної будови бурого вугілля, внаслідок чого вивільняються легкозасвою-

вані поживні речовини. З іншого боку, продукти життєдіяльності мікроорганізмів позитивно впливають на ріст і розвиток рослин.

Активні штами мікроорганізмів, які здатні розкладати гумати бурого вугілля, були виділені в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного групою науковців під керівництвом В.Т. Смалія. Такі представники, як *Pseudomonas sinuosa*, *Bacillus megaterium*, *Mycobacterium citreum*, на 13–14% розкладали гумат натрію, гумінові, ульмінові, лігнофульвонові та фульвокислоти бурого вугілля, а за присутності вуглеводів (глюкози) інтенсивність розкладу гуматів сягала 50%. При трансформації гумусових сполук спостерігали накопичення біологічно активних речовин, таких як амінокислоти, вітаміни групи В.

На підставі вивчення фізіологічних властивостей виділених мікроорганізмів як основа бактеріальної закваски для ферментації бурого вугілля були відібрані дві культури: *Bacillus megaterium* і *Pseudomonas sinuosa*, а також розроблена технологія їх заводського вирощування. Вивчення активності "мікробної закваски" у виробничих умовах показало її ефективність: за присутності мікробних культур у перебігу процесу дозрівання у біомінеральному добриві підвищувався вміст вітамінів, амінокислот, відбувався розклад α -гумату і окремих гумінових кислот. Склад біомінерального добрива (БМД) наведений у табл. 8.5.

Таблиця 8.5

Компонентний склад біомінерального добрива

Компоненти	% від загальної маси
Буре вугілля або торф	80,5
Цементний пил, каїніт	5
Фосфатшлак	3
Аміачна вода	3
Вапно або дефекаційний шлам цукрових заводів	3
Патоко-спиртова барда	3,5
Мікробна закваска	2

Біомінеральні добрива вироблялися на дослідно-виробничих підприємствах у Коростишєві, Кодрі, Замглаї. Органічні добрива на основі бурого вугілля, торфу та лігнітів вироблялися не тільки в Україні, а також і в європейських країнах, наприклад у Чехії, Німеччині.

Осад стічних вод. Відомо, що органічна частина осаду стічних вод складає 65–57% маси сухої речовини, до складу якої входить лігніно-гумусовий комплекс (25–20%). Протеїн осаду містить амінокислоти, вітаміни групи В, мікроелементи – В, V, Fe, Mn, Cu, мінеральні елементи

живлення – азот, фосфор, калій, а також певну кількість важких металів. Вміст азоту в осадах складає 1,7–6,5% від сухої маси.

Осад стічних вод може містити йони важких металів (мг/кг сухої речовини): B^- (до 15), Co^{2+} (2–144), Mn^{2+} (6–175), Cu^{2+} (55–3200), Mo^{2+} (0,5–11), Zn^{2+} (40–5000). Припустимо внесення шкідливих домішок разом з осадом розраховують за формулою:

$$P_{\text{вв}} = (ГДК - \Phi) / 3000,$$

де $P_{\text{вв}}$ – припустимо внесення в ґрунт шкідливих домішок, г/га; ГДК – гранично допустима концентрація забруднення, г/кг; Φ – фоновий вміст визначеної речовини, г/кг; 3000 – маса орного шару ґрунту, т/га.

Осад первинних відстійників значною мірою насичений мікроорганізмами, у тому числі і патогенними, містить яйця гельмінтів. Тому необхідно проводити їх знезараження для отримання продукту, який відповідає санітарним вимогам. Для цього використовують різні способи, такі як бродіння в метантенку або обезвожування і термічне висушування.

Застосування осаду стічних вод як органічного добрива підвищує врожай сільськогосподарських культур і позитивно впливає на агрохімічні властивості ґрунту: підвищується вміст гумусу, азоту і фосфору, зростає ступінь насичення основами та ємність поглинання, зменшується кислотність. Використання осадів стічних вод як органічних добрив позитивно впливає на мікробні процеси.

Збагачення ґрунту катіонами кальцію має важливе значення для закріплення новоутворених гумусових сполук у формі гуматів кальцію, що перешкоджає їх швидкій мінералізації. Деякі органічні сполуки при взаємодії з катіонами кальцію переходять у нерозчинний стан і таким чином закріплюються у ґрунті. Крім того, кальцій є біогенним елементом, який необхідний для нормального функціонування мікроорганізмів.

Залежно від кислотності ґрунту кальцій вносять у вигляді вапна ($CaCO_3$) або гіпсу ($CaSO_4$). Вапнування застосовується для нейтралізації кислих ґрунтів, а гіпсування практично не змінює рН ґрунтового розчину і проводиться за умов нейтрального та слаболужного рН ґрунту. Слід зазначити, що трансформація свіжого органічного матеріалу супроводжується утворенням кислих продуктів, тому збагачення ґрунту катіонами кальцію, які нейтралізують надмірну кислотність, позитивно впливає на гуміфікацію.

Обробка ґрунту суттєво впливає на режим його аерації і на хід процесів трансформації рослинних решток. В Україні М.К. Шикуюло були проведені багаторічні стаціонарні досліді, в яких проводили порівняльне вивчення впливу глибокої оранки на 30–50 см з обертанням скиби,

а також безполицевого обробітку (щілинування без обертання скиби) на процеси гумусотворення. Було показано, що на сірих опідзолених і чорноземних ґрунтах при багаторічному безполицевому обробітку не порушується природна сезонна динаміка трансформації органічних залишків. На фоні органо-мінеральної системи удобрення це сприяє утворенню резерву лабільної частини гумусу і є перевагою над глибокою оранкою. Проте, мінімальний обробіток без внесення органо-мінеральних добрив не дає істотного підвищення родючості у порівнянні з оранкою.

Відмічається, що за умов мінімального обробітку в ущільнених шарах ґрунту на глибині 25–30 см інтенсивність мікробної деструкції свіжих рослинних рештків зменшується, що сприяє їх кращій гуміфікації.

Водний режим ґрунту впливає на напрямок мікробної трансформації рослинних рештків. Оптимальні умови для гуміфікації створюються при вологості ґрунту 60–80% від повної вологоємності. Надмірне зволоження веде до розвитку анаеробних процесів, які зумовлюють утворення менш цінного фульватного гумусу. Навпаки, у посушливих умовах життєдіяльність мікроорганізмів пригнічується, як наслідок, гальмуються процеси деструкції рослинних рештків та їх гуміфікація. Збіднення ґрунту легкозасвоюваними органічними речовинами стимулює розвиток автотонної мікрофлори, здатної руйнувати гумусові сполуки.

Важливого значення набуває режим зволоження ґрунту на зрошуваних землях. При довготривалих поливах великими нормами гумус вимивається з верхніх шарів ґрунту, а його загальний вміст зменшується. Так, у чорноземах південних після 13-річного зрошення вміст гумусу зменшився з 4,2 до 3,5%. Причинами зменшення запасів гумусу у зрошуваних землях є зміни фізико-хімічних і біологічних властивостей. Витискування з ґрунтового поглинального комплексу іонів кальцію і заміщення їх на іони натрію (що переважають у поливній воді) призводить до збільшення рухомості органічної речовини і вимивання її вниз по ґрунтовому профілю. Внаслідок зміни окисно-відновного потенціалу руйнуються органо-сілікатні комплекси, накопичуються кремнієві кислоти, що призводить до диспергування органічної речовини і підвищення її рухомості. У той же час у зрошуваних ґрунтах підвищується мінералізаційна активність мікробіоти. Дисперговані гумусові компоненти стають більш доступними для мікроорганізмів. Органічні залишки піддаються майже повній мінералізації і не гуміфікуються. Внаслідок зазначених причин у зрошуваних ґрунтах формується від'ємний баланс гумусу, поповнювати який необхідно внесенням органічних добрив.

9. ВЗАЄМОДІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ І РОСЛИН

Взаємодія ґрунтових мікроорганізмів і рослин має як позитивні, так і негативні аспекти. Позитивна дія мікроорганізмів на рослини проявляється в трансформації органічних решток, синтезі гумусу, постачанні рослинам біологічно активних сполук, що стимулюють їх ріст і розвиток. Крім того, мікроорганізми виконують роль "санітарів" у детоксикації органічних і неорганічних забруднень, вони також синтезують протимікробні речовини, які пригнічують розвиток фітопатогенних мікроорганізмів.

При порушенні функціонування біоценозів природними або антропогенними факторами змінюється рівноважний стан взаємовідносин між рослиною і мікроорганізмами. В агроценозах дестабілізуючими факторами виступають високі дози мінеральних добрив, засоби хімічного захисту рослин, порушення сівозмін або монокультура. За таких умов стають очевидними негативні сторони діяльності ґрунтових мікроорганізмів, які проявляються у прискоренні деструкції гумусу, накопиченні проміжних продуктів розкладу пестицидів, проявах фітотоксичності (ґрунговтоми), активному розвитку фітопатогенних мікроорганізмів, які викликають масові захворювання рослин.

У вивчення взаємодії вищих рослин і мікроорганізмів вагомий внесок зробили праці М.О. Красильнікова, Ю.М. Возняковської, А.М. Гродзинського, К.І. Андреюк, О.І. Бершової, О.О. Берестецького, Е.А. Головка.

9.1. Коренева зона рослин як специфічне місцєіснування ґрунтових мікроорганізмів

З особливою активністю як позитивні, так і негативні сторони взаємодії мікроорганізмів і рослин проявляються в зоні їх *кореневої системи*. Розрізняють *гістоферу* – поверхневі тканини коренів, які заселені мікроорганізмами, *ризоплану* – ґрунт, який безпосередньо прилягає до коренів і вимірюється кількома міліметрами, *ризосферу* – ґрунт, віддалений від коренів на відстань не більше як на 0,5–1 сантиметри.

Коренева зона є специфічним місцєіснуванням мікробіоти. Ресурси рослин через корені виділяють у ґрунт, що їх оточує, різноманітні мінеральні і органічні сполуки. Це явище називається *екзосмосом*. Продукти екзосмосу слугують субстратами для живлення мікроорганізмів. Із коренових ексудатів мікроорганізми найбільш активно споживають органічні кислоти, амінокислоти, вуглеводи і проявляють позитив-

ний хемотаксис до цих речовин. Так активними атрактантами є малат, фумарат, сукцинат, тартрат, аспарагін, гістидин, серин. Крім того, живі корені утворюють і скидають кореневі волоски та клітини епідерміса, які утилізуються мікроорганізмами. Рослини також регулюють рН ґрунтового розчину, окисно-відновні умови, аерацію.

У зоні, що прилягає до коренів, створюються більш сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів. Саме тому кількість мікроорганізмів у ризосферному ґрунті в десятки і більше разів вища, ніж у позакореневій зоні. Ця закономірність отримала назву *ризосферного ефекту*. Мікроорганізми, які живляться продуктами екзосмосу коренів рослин, називають *екрисотрофами*. Д. Клейном була сформульована концепція, згідно з якою у кореневій зоні рослини певного виду формується специфічне угруповання мікроорганізмів, асоційованих з коренями і пристосованих до певного хімічного складу кореневих виділень.

Відповідно до розвитку кореневої системи рослини спостерігається сукцесія ризосферного мікробного угруповання. На початкових стадіях розвитку рослин домінують грамнегативні бактерії – псевдомонади, флавобактерії; при старінні рослини в її ризосфері переважають грампозитивні спороутворюючі бактерії, мікобактерії, актинобактерії, які живляться відмерлими корінцями, мікробною мортмасою. Таку ж зміну угруповань спостерігають при віддаленні від поверхні коренів, а також при переміщенні від зони росту кінчика кореня до старіших його частин.

Деякі бактерії вступають у такі тісні взаємовідносини з рослинами, що їх віднесли до специфічної групи *асоціативних*. У першу чергу до них відносять азотфіксуючі бактерії роду *Azospirillum*, а також представників родів *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*. Асоціативні бактерії заселяють зону коренів (ризосферу), розміщуються безпосередньо на коренях (у ризоплані) і навіть проникають у тканини кореня (у ристосферу). У асоціативних азотфіксаторів процес біологічного зв'язування азоту інтенсифікується лише за умов активної взаємодії з коренями рослин. Асоціативні бактерії синтезують також фізіологічно активні речовини, підвищують стійкість рослин до фітопатогенів.

Мікробні угруповання ризоплану і ризосфери формуються із ґрунтових мікроорганізмів, а також тих, що знаходяться на насінні. Таксономічний склад бактерій ризосфери характеризується значним різноманіттям. Виявлені представники родів *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acetobacter*, *Vibrio*, *Erwinia*, *Bacillus* та ін. У ризоплані і ристосфері присутні бактерії, що можуть проникати у поверхневі тканини кореня, але не шкодять рослині. Це факультативні ендоефіти, серед яких ідентифіковані представники родів *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter*, *Azoarcus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Shewanella*, *Comamonas*, а також бак-

терії актиноміцетної лінії, наприклад представники роду *Curtobacterium*. Причому *Curtobacterium plantarum* синтезує індолілоцтову кислоту, яка активує розвиток рослин, а *Curtobacterium flaccumfaciens*, навпаки, викликає захворювання рослин.

Мікроорганізми ризосфери і ризоплани продукують не тільки біологічно активні речовини, а також амінокислоти, полісахариди, вітаміни групи В, які утилізуються рослинами і сприяють активізації їх росту, підвищенню врожаю та поліпшенню його якості.

Специфічним середовищем існування ґрунтових бактерій є зона поблизу гіфів грибів. Цю зону аналогічно ризосфері називають *мікосферою*. На скельцях обростання і в педоскопах можна бачити гіфи грибів, щільно заселені бактеріями. Відомо, що гриби продукують широкий спектр гідролітичних ферментів, під дією яких відбувається розкладання важкодоступних субстратів. Продукти гідролізу утилізуються бактеріями. Взаємовідносини за типом протокооперації формуються у грибів із бактеріями роду *Metallogenium*. Можливо, що співіснування цієї марганець-окислюючої бактерії з грибами склалося завдяки тому, що бактерія використовує перекис водню, який виділяється грибами, для окиснення марганцю. Багато грибів асоційовані з азотфіксуючими бактеріями. Ця протокооперація базується на тому, що гриби забезпечують бактерій моноцукрами, органічними кислотами, вітамінами, в свою чергу бактерії – азотом, фіксованим з атмосфери. Серед таких асоціантів можна назвати гриби *Penicillium*, *Trichoderma* і бактерії *Bacillus circulans*, *Paenibacillus polymyxa*, *Arthrobacter globiformis*.

Після відмирання гіфів спостерігається їх обростання міколітичними бактеріями й актиноміцетами, які синтезують хітинази, необхідні для гідролізу оболонки клітинної стінки грибів. Здатність до лізису клітинних оболонок мають такі бактерії, як *Achromobacter denitrificans*, *Proteus vulgaris*, а також представники родів *Streptomyces*, *Agromyces*, *Promicromonospora*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*.

9.2. Мікориза

Деякі мікроскопічні гриби вступають у тісні симбіотичні взаємовідносини з вищими рослинами і формують специфічні морфологічні утворення – мікоризу. Ф.М. Каменський при вивченні анатомічної будови коренів *Monotropia hypopitys* відмічав їх обростання товстим шаром грибоного міцелію. Пізніше у роботах Б. Франка і В.К. Варліха було виявлено, що коріння листяних і хвойних дерев пронизане грибами, а деякі рослини без грибів не можуть існувати. Комплекс коренів рослин із грибами отримав назву *мікориза* (грибний корінь).

Встановлено, що майже усі голонасінні рослини та близько 80% покритонасінних мають мікоризу, серед них такі як пшениця, ячмінь, кукурудза, овес, сорго, картопля, томати, тютюн, бавовник, соя, вика, конюшина, люцерна, салат, цибуля, перець, суниця, яблуна та ін.

У сучасному розумінні *мікориза* – це структурно формлена за типом мутуалістичного симбіозу асоціація між коренями рослин і грибами, в якій ці організми співіснують у взаємозалежних і взаємовигідних відносинах.

За структурою розрізняють ендотрофну, ектотрофну і перехідну ектоендотрофну види мікоризи. При формуванні *ендотрофної* мікоризи міцелій гриба розміщується між паренхімними клітинами кореня і проникає в них. Клітини паренхіми залишаються життєздатними. Всередині клітин грибний міцелій може утворювати різні морфологічні утворення (рис. 9.1), такі як клубки (пелотони), розгалуження (арбускули), здуття кінцівок (спорангіопи і везикули). У коренів з ендотрофною мікоризою частина гіфів виходить у ґрунт, їх називають емісійними або екстрарикальними, тому зону навколо мікоризованих коренів іноді називають *мікоризосфера*. Такий тип мікоризи притаманний трав'яній рослинності, багатьом деревам і кущам.

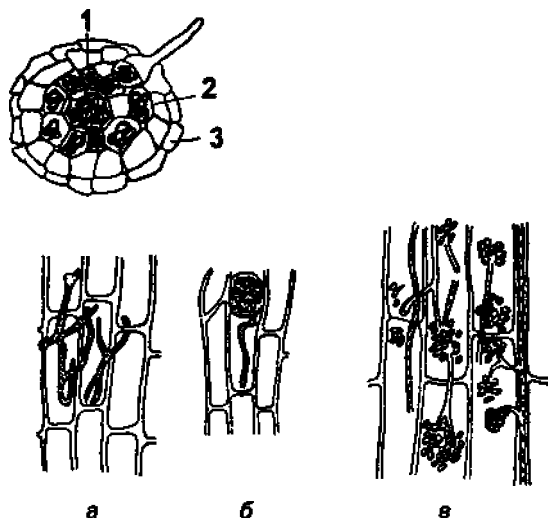


Рис. 9.1. Ендотрофна мікориза у пшениці: 1 – паренхімні клітини зі зкупченням гіфів гриба; 2 – ендодерма; 3 – епідерміс;
а – клітини паренхіми з гіфами гриба;
б – утворення везикул; в – утворення арбускул
(за Є.М. Мішустіним, В.Т. Ємцевим, 1987 р.)

Ектотрофний тип мікоризи формується тоді, коли корінь щільно обгортається грибним чохлаком, від якого у різні боки відходить густа сітка гіф. Колір міцеліального чохлака може бути білуватим, сіруватим, рожевим, бурим. В ектотрофній мікоризі грибні гіфи проникають у корінь на невелику глибину у міжклітинний простір ектодерми. Чохлик може бути настільки щільним, що кореневі волоски зникають, а вода і поживні речовини із ґрунту поглинає міцелій гриба. Ектотрофна мікориза формується у хвойних деревах та деяких покритонасінних.

Мікориза перехідного типу має риси, властиві як ендо-, так і ектомікоризному типам. Іноді спостерігають *перитрофну* мікоризу, коли гіфи гриба огортають корінь, але не проникають у його внутрішні тканини.

Мікоризні взаємовідносини не є видоспецифічними, тобто мікоризу однієї і тієї самої рослини можуть утворювати різні гриби, з іншого боку, один і той самий гриб може утворювати мікоризу з різними рослинами. За відношенням до грибів-мікоризоутворювачів вищі рослини поділяють на такі групи:

1. Облігатно мікотрофні рослини, які не розвиваються без грибів (орхідеї).

2. Рослини, які покращують свій ріст і розвиток за умов мікоризи, але можуть рости і без неї (голонасінні, деревні, трав'янисті рослини).

3. Рослини, які не утворюють мікоризи (водні рослини).

Від справжньої слід розрізняти *псевдомікоризу*, яку утворюють гриби-паразити, вони лише зовнішнім виглядом нагадують мікоризу, але мають іншу фізіологічну основу і шкодять рослині.

Значення для рослини справжньої мікоризи позитивне. Грибний міцелій збільшує поглинальну здатність кореня завдяки тому, що гіфи поширюються на більшу відстань, ніж кореневі волоски, і поглинають поживні речовини у низьких концентраціях. Особливо важливе значення має мікориза у покращанні фосфорного живлення. З ґрунту фосфор надходить до рослин у вигляді поліфосфатів і транспортується по гіфам до рослини. З тих самих причин мікоризовані корені поглинають більше води і менше страждають від посухи. Мікоризні гриби синтезують біологічно активні сполуки і тим самим впливають на гормональну регуляцію рослин, активізують їх ріст.

Гриби мікоризи впливають на кількість і якість корневих ексудатів, а це формує певне мікробне угруповання ризосфери. В зоні мікоризосфери кількість бактерій зростає вдвічі, актиноміцетів – майже у 10 разів, проте, чисельність грибів зменшується. Гриби-мікоризоутворювачі взаємодіють з азотфіксуючими бактеріями. Виявлений взаємний позитивний вплив мікоризного гриба і азоспірил, а також азотобактера. Так, виявлені пари зі взаємним позитивним впливом: гриба *Glomus* з азотфіксуючою бактерією *Azotobacter*, а також потріпні симбіотичні угрупо-

вання, наприклад, *Glomus fasciculatus*–*Aspergillus niger*–*Beijerinckia*. Ендомікоризні гриби бобових стимулюють азотфіксацію ризобій. Цей феномен використовують для підсилення азотфіксації при одночасній обробці насіння ризобіями і мікоризними грибами.

Бактерії, які сприяють утворенню мікоризного симбіозу називають хелперами. Хелперні функції виконує, наприклад, *Pseudomonas fluorescens*. Висловлюється припущення, що хелпери стимулюють ріст грибів на стадії перед симбіозом, тим самим вони збільшують вірогідність контакту коренів із грибами.

Слід зазначити, що виявлені деякі мікоризні гриби (*Paxillus involutus*, *Muscena pura*), що негативно впливають на ріст ризосферних бактерій.

9.3. Алелопатичні взаємовідносини мікроорганізмів і рослин

Хімічний склад кореневих виділень формує взаємовідносини рослин між собою та ризосферною мікробіотою, специфічною для даного виду рослин. Ці взаємовідносини називають *алелопатичними*. Під *алелопатією* розуміють хімічну взаємодію рослин шляхом прижиттєвих виділень і продуктів розкладу рослинних залишків. У сучасному розумінні цей термін поширюється і на хімічну взаємодію рослин із мікробіотою у зоні дії коренів.

На існування взаємного впливу рослин звертали увагу здавна. О. Декандоль (1832) відмічав, що буряк пригнічує овес, а молочай – льон, навпаки, позитивно взаємодіють пшениця і жито, квасоля і бавовник.

Алелопатичні дослідження в Україні почали активно розвиватися під керівництвом А.М. Гродзинського. Була виявлена значна роль виділень рослин. Згідно з класифікацією А.М. Гродзинського виділення рослин поділяють на активні і пасивні. До перших відносять речовини, які рослини синтезують і виділяють назовні у вигляді гутації, випаровування, корневих екзометаболітів. До пасивних віднесені речовини, що змиваються з наземних органів дощем або виділяються з органів рослин при механічних пошкодженнях. Крім того, у ґрунт надходять біологічно активні речовини з відмерлих рослинних решток. Усі зазначені вище речовини складають алелопатичний потенціал середовища.

До алелопатично активних речовин відносять фітогормони, ферменти, вітаміни, нуклеїнові кислоти, амінокислоти, вуглеводи, органічні кислоти, ліпіди. Особливу увагу дослідників привертають до себе рослинні виділення інгібуючої дії, які називають *колінами*. Хімічна природа колінів різноманітна: терпеноїди, стероїди, органічні кислоти, фенольні сполуки, кумарини, алкалоїди, таніни, дубильні речовини, фітонциди, амі-

нокіслоти, поліпептиди, пурини, нуклеозиди, нафтохінони, антрахінони, корична кислота та ін.

Вирощування одних і тих самих рослин на одному місці (наприклад, монокультура пшениці, соняшнику) призводить до появи ознак токсичності ґрунту – “ґрунтового”, яка проявляється у пригніченні проростання насіння і росту рослин, зниженні врожаїв, негативних змінах структури мікробних угруповань.

Здавна були відомі вересові пустища в Англії та Іспанії, на яких не могли рости інші рослини. Після довготривалого вирощування конюшин також спостерігали явище ґрунтового.

Спочатку ґрунтовому пояснювали однобічним виносом із ґрунту поживних речовин та мікроелементів. Проте цьому поясненню суперечили факти, коли при внесенні повного мінерального добрива та мікроелементів ґрунтова все ж таки проявлялась. Тоді з'явилися гіпотези, які пояснювали ґрунтовому з точки зору алелопатії і ґрунтової мікробіології.

Як показали дослідження А.М. Гродзинського, О.О. Берестецького, фізіологічно активні метаболіти, що виділяють у ґрунт рослини і мікроорганізми, частково підлягають розкладу, проте, найбільш стійкі (наприклад, фенольні кислоти) зберігаються надовго. Вони підлягають гуміфікації шляхом полімеризації, але в олігомерній формі ці сполуки токсичні, а при накопиченні у ґрунті зумовлюють його токсикоз. Так, соняшник виділяє ізохлорогенову кислоту, скополін, похідні α -нафтолу; конюшина червона виділяє флавоноїди та ізофлавоноїди. Тому зрозуміло, що у монокультурі такі речовини будуть накопичуватись і зумовлювати токсичність ґрунту.

Поряд із рослинами причиною ґрунговими можуть бути ґрунтові мікроорганізми. Так при перезволоженні ґрунту процеси трансформації рослинних рештків відбуваються шляхом анаеробного бродіння з накопиченням спиртів, окисиклот, які є токсичними для рослин. Комплекс речовин корневих виділень бере участь у регуляції генетичних процесів у ґрунтових мікроорганізмів. Крім того, серед мікроорганізмів є такі, що продукують фітотоксичні сполуки. Найбільша кількість токсинотворюючих видів визначена серед грибів. Це стосується таких видів, як *Aspergillus terreus*, *A.clavatus*, *Penicillium patulum*, *P. urticae*, *P. nigricans*, *Trichoderma viride*. За даними Є.Г. Мірчинк, такі види, як *Penicillium cyclopium*, *P.lapidosum*, *P.citrium*, продукують пеніцилову кислоту, патулін, цитринін. Ці сполуки характеризуються фітотоксичною активністю і широким антимікробним спектром. Як показано в роботах М.М. Підоплічка, В.О. Білай, О.М. Зайченка, серед токсичних метаболітів грибів ідентифіковані також клаватин, клавіформін, кумарин, дендродохіні, афлатоксини, спорофузаріотоксини, стахіоботріотоксини, органічні кислоти (яблучна, лимонна, щавлева).

Коліни вищих рослин і токсини грибів негативно впливають на ґрунтові мікроорганізми, особливо на азотфіксуючі і нітрифікуючі. Як показали досліді Е.А. Головка, фенольні та інші інгібітори різко пригнічують розвиток вільноіснуючих і симбіотрофних азотфіксаторів, а також нітрифікуючих бактерій, у той же час денітрифікатори продовжують активну життєдіяльність, що супроводжується відновленням азотних сполук до вільного азоту. Такі зміни мікробних угруповань призводять до різкого збіднення ґрунту зв'язаними формами азоту.

Отже, проведені дослідження дозволили дійти висновку, що ґрунтовтома під польовими культурами в природних біоценозах і в умовах монокультури в агроценозах є природним явищем, зумовленим як властивостями ґрунту, так і токсичними речовинами, які виділяються живими рослинами, надходять із рослинними рештками і продукуються мікроорганізмами. Зазначений комплекс хімічних речовин виконує функції екологічних хеморегуляторів. Причинами ґрунтовтоми можуть бути односторонній винос поживних речовин, нестача певних мікроелементів, порушення сольового і кислотного балансу, структури ґрунту, а також розвиток мікроорганізмів-продуцентів фітотоксинів.

Для боротьби з ґрунтовтомою необхідно дотримуватись сівозмін, насичувати їх бобовими культурами. Рекомендовано також відводити ці землі під пар; впродовж парування токсини руйнуються ґрунтовими мікроорганізмами.

10. МІКРОБНІ ПРЕПАРАТИ НА ОСНОВІ ҐРУНТОВИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Однією з головних проблем сучасного землеробства є розробка високоефективних екологічно безпечних агротехнологій, які можуть забезпечити не тільки одержання високих сталих врожаїв сільськогосподарських культур, а й відтворення родючості ґрунтів. Створення таких технологій повинно передбачати вирішення проблем мікробної трансформації гумусу, азоту, фосфору та інших поживних елементів у ґрунті, біологічний захист рослин від хвороб та шкідників, а також мікробіологічні методи підвищення якості рослинницької продукції.

Мікробні препарати, які застосовуються у рослинництві, можна умовно поділити на такі групи: препарати для оптимізації живлення й активізації росту рослин (на основі азотфіксуючих, фосфатмобілізуючих мікроорганізмів), препарати для захисту рослин від хвороб, шкідників і бур'янів (біофунгіциди, біоінсектициди, біогербіциди).

10.1. Бактеріальні добрива

Мікробні препарати для оптимізації живлення рослин називають *бактеріальними добривами*. Основою бактеріальних добрив є культури мікроорганізмів з такими фізіологічними ознаками, як здатність фіксувати атмосферний азот або переводити нерозчинні сполуки фосфору у засвійні рослинами форми, продукувати речовини фітогормональної дії.

Перші спроби використання мікроорганізмів для підвищення врожаю сільськогосподарських культур стосувались бульбочкових бактерій. Застосовували такий метод: при переході на нову ділянку для вирощування бобових рослин ґрунт попередньої ділянки перемішували з насінням або збирали бульбочки, подрібнювали їх і обробляли насіння. Перший мікробний препарат, що містив культури декількох видів бульбочкових бактерій, був виготовлений наприкінці XIX ст. у Німеччині і отримав назву *нітрагін*, а обробка насіння цим препаратом – *нітрагінізацією*. Обробку насіння бактеріальними культурами називають *інокуляцією* або *бактеризацією*. На сьогодні добрива на основі бульбочкових бактерій використовують у практиці сільськогосподарського виробництва багатьох країн. Так у США виробляють і використовують на сотнях тисяч гектарів посівів нітрагін і дабл-ноктин, у Мексиці – нітрагін і парадор, в Уругваї – нітросоїл і нітрум, у Новій Зеландії – ризокоут, в Австралії – нодулейт і нітро-джерм; у Венгрії – ризоніт-торфе; у колишньому СРСР –

ризоторфін. У США потреби сільського господарства в азоті покриваються на 31% за рахунок мінеральних добрив, на 24,2% – за рахунок гною, на 44,8% – за рахунок біологічного азоту.

На сьогодні в Україні виробляються бактеріальні добрива під бобові культури на основі високоефективних симбіотрофних азотфіксуючих мікроорганізмів під торговою маркою “ризобіфит”. Узагальнені дані щодо ефективності інокуляції бобових культур бульбочковими бактеріями наведені у табл. 10.1.

Таблиця 10.1

***Вплив бактеризації на урожай
бобових культур і накопичення азоту***

Культура	Середній приріст урожаю, % до контролю	Додаткове накопичення протеїну, кг/га	Збільшення азотфіксації, кг/га	Приріст азотфіксації, % до контролю
Горох	10,5	102	15–20	30–35
Вика	12,4	120	20–25	30–35
Соя	18,0	225	35–60	40–60
Люпин	16,6	170	35–55	35–50
Конюшина	12,0	240	50–70	30–40
Еспарцет	15,5	260	60–80	40–60
Люцерна	16,8	460	90–120	50–70
Козлятник	27,8	620	110–150	50–80

За рахунок симбіотичної азотфіксації покращується азотне живлення рослин, а з кореневими залишками біологічно зв'язаний азот потрапляє у ґрунт і збагачує запаси цього елемента для наступних культур (таблиця 10.2).

Таблиця 10.2

Середній розмір симбіотичної фіксації азоту та його надходження у ґрунти України (за В.П. Патиною, 2003 р.)

Зернобобові культури	Розміри азотфіксації, кг азоту/га за 1 рік	Залишається азоту у ґрунті, кг/га	Еквівалентно дозі мінеральних добрив, кг/га
Горох, вика	50–90	10–16	25–35
Соя, люцерна	200–300	40–60	80–100

На ефективність дії добрив на основі ризобій впливає багато факторів: вологість ґрунту, температура, рН ґрунтового розчину, вміст макроелементів (N, P, K), мікроелементів (особливо таких як Ca, Mg, Mo, S, B). Встановлено, що для ефективної дії бактеріальних добрив оптимальними умовами є вологість ґрунту 60–70% повної вологоємності, 20–25°C, рН 6,5–7,5. Значно зменшує ефективність добрив на основі бульбчастих бактерій застосування протруйників насіння і внесення гербіцидів. Тому протруйники при нітрагінізації рекомендується не застосовувати або проводити бактеризацію не раніше двох тижнів після обробки хімікатами.

Активному симбіозу ризобій і бобових рослин сприяє достатнє забезпечення фосфором і калієм, а також внесення мікроелементів. Щодо азотних добрив слід зазначити, що внесення їх у високих дозах зменшує кількість утворених бульбочок і вміст в них леоглобіну, знижує активність фіксації молекулярного азоту, погіршує якість білка в рослинах. Невеликі "стартові" дози азоту (не більше N_{20-40}) сприяють розвитку кореневої системи рослин, на якій утворюються бульбочки.

Багаторічні дослідження показують, що застосування бактеріальних добрив на основі ризобій підвищує продуктивність бобових у середньому на 10–25%, вміст протеїну в рослинах збільшується на 20–45%.

Серія препаратів на основі різних видів азотобактеру має загальну назву *азотобактерин*. Препарат застосовують під зернові, технічні і овочеві культури для обробки насіння, розсади та обприскування рослин. Зважаючи на вимогливість азотобактерів до умов навколишнього середовища (наявність поживних речовин, нейтральна реакція і оптимальне зволоження ґрунту), слід передбачати, що максимальний позитивний ефект застосування азотобактерину можна очікувати тільки за оптимальних умов його життєдіяльності у ґрунті.

Позитивна дія азотобактерину на рослини зумовлена здатністю цього мікроорганізму фіксувати атмосферний азот, продукувати біологічно активні сполуки (фітогормони, вітаміни, амінокислоти), антимікробною властивістю до фітопатогенів. За даними А.Ф. Антипчук, бактеризація культурами азотобактеру зернових і овочевих культур сприяє підвищенню їх урожаю на 15–20% при поліпшенні якості продукції: вміст вітаміну С зростає в огірках на 20–100%, в капусті – на 50–80%. Цукристість підвищується в томатах на 5–35%, в капусті – 8–10%, у цукрових буряках – на 0,5–0,9%. Застосування азотобактерину під овочеві культури зменшує ступінь їх ураження і поширення хвороб вірусної, бактеріальної і грибно-етіології.

Створені на основі асоціативних азотфіксуєючих культур препарати носять комерційні назви ризоагрин, азоризин, діазобактерин, діазофїт, агробактерин, флавобактерин. Виявлено достовірне збільшення азотфіксуєючої активності у зоні коренів рослин, що були інокульовані цими препаратами. Поліпшення азотного живлення рослин під впливом асоціативних азотфіксаторів позитивно впливає на їх продуктивність. Препарати показали свою ефективність при застосуванні під пшеницю, ячмінь, просо, гречку, озиме жито, рис. Використання ризоагріну, флавобактерину для злакових і овочевих культур замінює дію 10–20 кг/га азоту мінеральних добрив, підвищує продуктивність зернових на 2–6 ц/га з одночасним зменшенням норм внесення мінеральних азотних добрив на 25–55%.

Для оптимізації фосфорного живлення рослин застосовують препарати на основі мікроорганізмів, здатних переводити фосфор у легкозасвоювані форми з його важкодоступних неорганічних і органічних сполук. Препарат *фосфобактерин* на основі *Bacillus megaterium* був створений ще у 50-х роках минулого століття, проте, сучасна форма цього добрива випускається і нині. Позитивна дія препарату на рослини зумовлена не тільки здатністю покращувати фосфорне живлення, а також проявляти антагоністичну дію щодо фітопатогенних мікроорганізмів та продукувати деякі фітогормональні сполуки.

В Україні останнім часом, крім фосфобактерину розроблені біодобрива на основі фосфатмобілізуєючих бактерій: альбобактерин на основі *Achromobacter album*, ФМБ на основі *Enterobacter nimipressuralis*. У комплексі *Bacillus megaterium* з діазотрофною бактерією *Azotobacter chroococcum* розроблене біо-торф'яне добриво (БТД); гранульоване комплексне добриво азогран містить *Azotobacter chroococcum* і *Bacillus subtilis*. Бактеріальні добрива на основі фосфатмобілізуєючих бактерій виявились ефективними при застосуванні під зернові, овочеві, квіткові культури.

Відомо, що фосфорне живлення рослин здатні покращувати мікоризні гриби – облігатні ендоефітні мікроорганізми, які неможливо культивувати на лабораторних поживних середовищах. Для застосування мікоризних грибів була розроблена технологія виготовлення препарату у формі подрібнених і висушених корінців цибулі, яка була попередньо заражена мікоризними грибами. Мікоризні гриби такого препарату здатні розвиватись у коренях культур, насіння яких було оброблене при посіві. Такі результати були отримані у дослідях із пшеницею, кукурудзою.

Отже, широке застосування біопрепаратів є суттєвим ресурсом підвищення продуктивності рослинництва. Перелік деяких біотехнологічних продуктів – бактеріальних добрив наведений у таблиці 10.3.

Таблиця 10.3

Мікробні препарати для оптимізації живлення рослин

Назва препарату	Розробники	Препаративна форма	Призначення та властивості
1	2	3	4
Ризоторфін, Нітрагін, Ризобіфит (на основі бульбочкових бактерій родів <i>Azorhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Mesorhizobium</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i>)	Ін-т мікробіології і вірусології НАНУ; Ін-т с.-г. мікробіології УААН; Ін-т фізіології рослин та генетики НАНУ, Ін-т агроєкології та біотехнології УААН	Торф'яна, геляна, вермикулітна, рідка	Добриво під бобові культури. Забезпечує рослини на 30 і більше відсотків дешевим екологічно чистим азотом. Підвищує врожай на 10–30% і вміст білка – на 1–5%. Норма витрат 100–300 г(мл)/гектарну норму насіння.
Азотобактерин (на основі <i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>A. vinelandii</i>)	Ін-т мікробіології і вірусології НАНУ, Ін-т с.-г. мікробіології УААН	Рідка, ґрунтова, ліпіннова	Бактеріальне добриво під овочеві культури відкритого та закритого ґрунту, цукрові та кормові буряки. Обробка насіння або розсади гарантує захист рослин від фітопатогенів, покращання азотного живлення, підвищення урожаю на 10–25% Норма витрат 100–300 г(мл)/га.
Діазофит (на основі <i>Agrobacterium radiobacter</i>)	Ін-т с.-г. мікробіології УААН, Ін-т агроєкології та біотехнології УААН	Гельна, торф'яна, вермикулітна, рідка	Препарат для поліпшення азотного живлення, сприяє росту і підвищенню врожайності пшениці, ячменю, злакових трав.
Азоризин, діазобактерин (на основі <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>A. lipoferum</i>)	Ін-т с.-г. мікробіології УААН	Гельна, торф'яна, вермикулітна, рідка	Забезпечують рослини біологічним азотом, сприяють росту і якості врожаю зернових: озимої та ярої пшениці, озимого та ярого ячменю, гречки, рису, проса. Пригнічують розвиток фітопатогенних грибів.
Флавобактерин (на основі <i>Flavobacterium</i> sp.)	Ін-т с.-г. мікробіології УААН	Торф'яна, геляна	Бактеріальне добриво під озиму пшеницю, жито, ячмінь, картоплю, цукрові буряки, злакові трави. Покращує азотне живлення, забезпечує підвищення врожайності.

1	2	3	4
Ризосентерин (на основі <i>Enterobacter aerogenes</i>)	Ін-т с.-г. мікробіології УААН, Ін-т агроєкології та біотехнології УААН.	Гельна, торф'яна, вермікулітна, рідка	Покращує азотне живлення, забезпечує підвищення врожайності ячменю, проса.
Клепис (на основі ендоефітної бактерії <i>Klebsiella oxitoca</i>)	Ін-т молекулярної біології і генетики НАНУ	Рідка	Покращує азотне живлення, підвищує стійкість рослин до захворювань, продукує фітогормони
Фосфобактерин (на основі <i>Bacillus megaterium</i>)	Ін-т мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАНУ	Рідка	Покращує фосфорне живлення рослин, продукує стимулятори росту.
Альобактерин (на основі <i>Achromobacter alburn</i>)	Ін-т с.-г. мікробіології УААН	Рідка	Бактеріальні добрива під цукрові буряки. Покращують фосфорне живлення рослин, продукують стимулятори росту і антибіотики. Застосовуються одночасно з протруєннями.
Біоторф'яне добриво (БТД) (на основі <i>Azotobacter chroococcum</i> і <i>Bacillus megaterium</i>)	Ін-т мікробіології і вірусології НАНУ	Торф'яна	Препарат комплексної (бінарної дії) на основі азотобактера і фосфатомобілізувальних бактерій. Застосовується під овочеві культури відкритого та закритого ґрунту, ягідні та квіткові культури. Покращує азотне і фосфорне живлення, забезпечує їх захист від фітопатогенів.
Азогран (на основі <i>Azotobacter chroococcum</i>)	Ін-т мікробіології і вірусології НАНУ	Гранульована	

Застосування біодобрив потребує виконання певних умов для того, щоб бактеризація була ефективною. По-перше, потрібно дотримуватися відповідності певної мікробної культури до певного виду рослин. По-друге, бактеріальний препарат повинен відповідати вимогам якості за таким показником, як концентрація бактеріальних клітин, по-третє, за несприятливих екологічних умов (недостатній прогрів ґрунту, низька вологість, низькі або високі значення рН) інтродуковані мікроорганізми не зможуть проявити своїх позитивних властивостей. За дотримання усіх зазначених вище вимог інокуляція є ефективною для однорічних культур.

Що стосується дворічних і багаторічних рослин, то найбільш ефективною є бактеризація у перший рік їх росту. У наступні роки вирощування, наприклад, багаторічних трав, дія інтродукованих бактеріальних культур знижується, а на третій рік вона є несуттєвою. Таке зниження чисельності інтродукованого штаму є закономірним, адже у природних угрупованнях чисельність азотфіксаторів у ризосфері рослин не перебільшує 1–5%. До того ж селекціоновані у лабораторних умовах штами не витримують конкуренції з аборигенним мікробним угрупованням.

Ефективність дії мікробних препаратів бактеріальних добрив значною мірою залежить від взаємодії рослин і мікроорганізмів та здатності останніх приживатись, розмножуватись і активно функціонувати на коренях і в ризосфері рослин. Були проведені досліді, в яких насіння рослин обробляли бактеріями, що мали генетичний маркер – стійкість до стрептоміцину (Str^r). Виявилось, що кількість Str^r популяцій зростає впродовж вегетації рослин і набуває максимальних значень через 3–4 місяці після висіву інокульованого насіння у ґрунт. Таку закономірність спостерігали щодо культур *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*.

10.2. Мікробні препарати для боротьби зі збудниками хвороб і шкідниками рослин

Поряд із мікробними культурами, які покращують азотне і фосфорне живлення рослин, усе ширше застосовують препарати для захисту рослин від хвороб на основі бактерій-антагоністів фітопатогенів (таблиця 10.4). При розробці таких препаратів слід враховувати, що вони повинні мати вибіркову дію: пригнічувати патогенів і не шкодити розвитку ризосферної мікробіоти. Антагоністичний вплив на патогенів може здійснюватись декількома шляхами: продукуванням речовин антибіотичної природи або літичних ферментів, які руйнують клітинну стінку, конкуренцією за джерела живлення, різницею у швидкостях росту і конкуренцією за певні екологічні ніші. Так, *Klebsiella planticola*, що є основою препарату біоплант, продукує антибіотики антраміцинового ряду, які діють проти фітопатогенних грибів, а *Chaetomium cochlioides* (основа препарату хетомік) завдяки високій швидкості росту перемагає у конкуренції за субстрат і таким чином пригнічує ріст фітопатогенних грибів.

Як було зазначено вище, серед азотофіксуючих та фосфатмобілізуючих мікроорганізмів, на основі яких створені бактеріальні добрива, багато штамів є антагоністами фітопатогенних мікроорганізмів. Розроблені також препарати спеціального призначення, такі як фітоспорин, біоплант, ризоплан, поліміксобактерин.

**Мікробні препарати для боротьби зі збудниками
хвороб і шкідниками рослин**

Назва препарату	Розробники	Препаративна форма	Призначення та властивості
Фітоспорин, субтілін (на основі <i>Bacillus subtilis</i>)	Ін-т мікробіології і вірусології НАНУ	Суха, порошкоподібна	Препарат для захисту бавовника, зернових і овочевих культур від фітопатогенних мікроорганізмів. Характеризується високою антагоністичною активністю по відношенню до фітопатогенних бактерій та грибів.
Хетомік (на основі гриба <i>Chaetomium cochlioides</i>)	Ін-т с.-г. мікробіології УААН	Суха, порошкоподібна	Захищає рослини від збудників грибних хвороб: корневих гнилей, фузаріозів, альтернаріозів. При обробці насіння сільськогосподарських культур витрати препарату становлять 1 кг/100 кг насіння і 2–3 кг на 1000 кг бульб картоплі.
Біоплант (на основі <i>Klebsiella planticola</i>)	Ін-т молекулярної біології і генетики НАНУ	Рідка або гелева	Препарат антифунгальної дії під овочеві культури, картоплю, гарбузи.
Бітоксисабацилін (на основі <i>Bacillus thuringiensis</i>)	Ін-т с.-г. мікробіології УААН	Рідка або пасто-подібна	Пропонується для боротьби з личинками колорадського жука, лучного метелика, гусенями пронової листоївки, золотолузки, американського білого метелика та інших шкідників. Біологічна ефективність 82–95%. Норм витрати препарату – 2–4 кг/га.
Аверком (на основі авермектинового комплексу <i>Streptomyces avermitilis</i>)	Ін-т мікробіології і вірусології НАНУ	Рідка	Препарат має інсектицидну, акарицидну та нематодцидну активність по відношенню до крапчастого та павутинного кліщів, молі та тлі рослин, цитрусової іржі, трипсів, листоблошки, тлі, колорадського жука, а також проти нематод.
Бактероденцид	Ін-т с.-г. мікробіології УААН	Зернова	Створений для боротьби з мишовидними гризунами. Ефективність – 75–90%. Здатний замінити високотоксичні пестициди.

На основі ендоефітної бактерії *Bacillus subtilis* створені вискоєфективні препарати фітоспорин, субтілін. Вони застосовуються для оброб-

ки насіння сільськогосподарських культур замість їх протравлювання хімічними пестицидами. Клітини і спори бактерій, які є основою препарату, швидко проникають в тканини проростків і захищають рослинні від патогенів, контамінуючих внутрішні органи. Препарат має фунгіцидні і бактерицидні властивості. Застосування фітоспориноу сприяє підвищенню врожайності сільськогосподарських культур на 20%.

Новим препаратом, запропонованим українськими фахівцями для боротьби з мікоінфекціями, зокрема кореневими патогенами, є хетомік, створений на основі гриба-антагоніста *Chaetomium cochlioides*. Встановлено, що антагоністична дія цього гриба реалізується завдяки тому, що у природних умовах він має більшу швидкість росту і перемагає фітопатогенні гриби у конкуренції за поживні субстрати і життєвий простір. Препарат застосовують під зернові культури, картоплю. В господарствах закритого ґрунту вноситься разом з органічною речовиною (гній, солом).

Виділені ентомопатогенні мікроорганізми високоефективні проти тих чи інших груп комах, включаючи особливо небезпечні види шкідників. На основі *Bacillus thuringiensis* були створені численні біопрепарати. Це бітоксубацилін, ентобактерин, дендробіцилін, гомелін, лепідоцид, турингін та БІП (Росія); дипел, параспорин, боград, біотрол та турицид (США); біоспор 2802 (Німеччина); бактоспелін (Франція); бактукал (Югославія); бактуцид та екзобак (Італія); туринжин (Румунія); бацилан (Польща). Ці препарати ефективні проти колорадського жука, капустяної совки, білянок, американського білого метелика, вони є надійною заміною хімічних інсектицидів.

Сільське господарство відчуває гостру потребу у високоефективних антипаразитарних препаратах. В Україні був виділений штам *Streptomyces avermitilis* – вітчизняний продуцент авермектинового комплексу, що має інсектицидну, акарицидну та нематоцидну дію. Авермектини виявляють здатність блокувати нервовий синапс у комах і нематод, внаслідок чого вони втрачають можливість рухатись і згодом гинуть. Поряд із нейротоксичною дією авермектини пригнічують також синтез хітину. Препарат нетоксичний для теплокровних тварин, корисних комах. Швидко розкладається у ґрунті і не накопичує токсичних проміжних продуктів. На основі авермектинів фірма Merk (США) випускає ряд препаратів – абамектин, івермектин. В Росії НПО “Фармбіомед” випускає фітоверм та аверсект-2.

Для боротьби з гризунами ефективним є препарат бактероденцид, створений на основі бактерій Ісаченко, який не поступається хімічним

зооцидам і дозволяє регулювати кількість шкідливих гризунів. Багаторічна практика використання бактеріального методу проти мишо-подібних гризунів показала його високу ефективність при екологічній і санітарній безпеці.

10.3. Основи технології виробництва мікробних препаратів для рослинництва

Мікробні культури, які є основою препаратів для рослинництва, повинні відповідати таким вимогам:

- відсутність патогенних і токсичних властивостей щодо людини, теплокровних тварин, корисних комах, риб, ґрунтових мікроорганізмів;
- максимальний прояв корисних властивостей: азотфіксація, фосфатомобілізація, антагонізм до патогенів та ін.;
- технологічні властивості у виробництві.

Технологічність культури – це висока швидкість росту в умовах виробничого культивування, невимогливість до складу поживного середовища (тобто здатність рости на дешевих середовищах), стійкість до лізогенних фагів. Якість препарату характеризується *титром* живих клітин, тобто їх кількістю в одиниці об'єму. Виготовлені на основі мікробних культур препарати повинні мати високий титр життєздатних клітин і зберігати його тривалий час. Титр клітин для препаратів на основі швидко-рослих бульбачкових бактерій повинен бути у межах 18–25, для повільно-рослих бульбачкових бактерій – 8–10, для азотобактеру – 2–4, для агробактерій – 20–30 млрд клітин у 1 мл рідкого середовища.

Крім того, важливе значення має зручність транспортування і використання препарату. Існують різні *форми мікробних препаратів*: рідка, гельна, суха, гранульована, імобілізована на носіях.

Рідка форма – це культура мікроорганізмів, які вирости на рідкому поживному середовищі. Це найбільш проста у виробництві форма, яка містить живу культуру мікроорганізмів. Проте, вона має короткий термін зберігання, потребує спеціальної тари для перевезення.

Суха форма передбачає висушування культури після культивування. Найкраще мікроорганізми зберігаються за умов ліофільного висушування із замороженого стану. Така форма гарантує довготривале зберігання, але вона потребує енергоємного устаткування, що підвищує ціну кінцевого продукту.

Гранульована форма є гетерофазною, препарат, крім культури мікроорганізмів, має наповнювачі – глинисті мінерали. Електростатична

взаємодія мікроорганізмів із глинистими мінералами підвищує фізіологічну активність бактерій і їх стійкість до несприятливих факторів навколишнього середовища.

Гельна форма є гетерофазною, містить мікроорганізми, гелі – мінеральний (сілікагель) і полісахаридний (меляса і мікробний полісахарид), а також незначну кількість (близько 1%) пілоподібного лігніну.

У виробництві мікробних препаратів часто використовують іммобілізацію клітин на носіях – торфі, лігніні, перліті, вермикуліті. В іммобілізованому стані мікроорганізми і біологічно активні продукти їх життєдіяльності довгий час зберігають активність, не потребують спеціальної тари, легко транспортуються. Перед інокуляцією мікробними культурами носії проходять попередню підготовку, яка полягає у подрібненні субстрату, доведенні його рН до нейтральних значень, стерилізації шляхом термічної обробки або дією γ -випромінювання.

Технологічний регламент виробництва мікробних препаратів має специфічні операції залежно від того, який мікроорганізм є його основою. У загальному вигляді він складається з таких стадій: 1 – активація культури після тривалого зберігання шляхом пересівів на поживні середовища; 2 – вирощування культури на рідкому поживному середовищі для інокуляції ферментерів; 3 – стерилізація ферментерів і поживного середовища; 4 – інокуляція стерильного поживного середовища і вирощування культури; 5 – приготування з культури, вирощеної на рідкому поживному середовищі певної препаративної форми (рідкої, сухої, гранульованої та ін.).

10.4. Мікробні препарати на основі генетично модифікованих мікроорганізмів

У виробництві мікробних препаратів застосування біотехнологічних методів та генетично модифікованих мікроорганізмів (ГММ) розвиваються у таких напрямках: вивчення генетичних основ підвищення ефективності бульбачкових і вільноіснуючих азотфіксуючих мікроорганізмів; спільна селекція рослин-живителів і ризобій для створення ефективних симбіотичних систем, розробка нових вискоєфективних і екологічно безпечних мікробних препаратів для захисту рослин і тварин від шкідників і хвороб.

Роботи з біоінженерії базуються на тому, що для отримання генетично модифікованих організмів (ГМО) у ДНК *реципієнтної* клітини вбудовується *донорний* генетичний матеріал, що несе певні корисні для людини властивості. Таким шляхом конструюють штам із новими влас-

тивостями – *трансформант*. Наприклад, у нехромосомну ДНК *Pseudomonas fluorescens*, яка синтезує фітостимулюючі речовини, був введений ген *Serratia marcescens*, що кодує синтез хітинази. Отриманий трансформант стимулював ріст рослин і пригнічував розвиток фітопатогенних грибів завдяки здатності продукувати хітиназу.

Велика увага дослідників приділяється генетичним роботам із діазотрофними мікроорганізмами для підвищення їхньої азотфіксуючої активності та покращання симбіотичних властивостей. При застосуванні фізичного, хімічного і транспозонного мутагенезу була отримана значна кількість мутантів із зміненими фізіологічними властивостями, серед яких були і такі, що характеризувалися підвищеною здатністю до азотфіксації. Подальші роботи проводили з метою передачі цих цінних властивостей іншим штамам, при цьому були застосовані методи *генетичної трансформації, трансдукції, кон'югації*.

Генетична трансформація – процес, у якому очищеними препаратами ДНК передається інформація від донора реципієнту. Кількість ДНК, яка передається за один акт трансформації, не перевищує 5% геному донора. Цим методом вдається здійснити перенесення генетичної інформації симбіотичних ознак.

Трансдукція – перенесення генетичної інформації бактеріофагами. Фаг може переносити довільну ділянку геному (загальна трансдукція) або чітко визначену ділянку (спеціалізована трансдукція). Розмір перенесеного фрагменту ДНК не може перевищувати ємність головки бактеріофагу, за допомогою якого здійснюється трансдукція.

Кон'югація – перенесення генетичної інформації у прямому контакті між клітинами за допомогою плазмід, факторів фертильності. F-фактор може стимулювати перенесення некон'югативних плазмід або хромосом. Під керівництвом Р. Діксона була створена рекомбінантна плазміда *pRD1*, яка несе гени азотфіксації – *nif*-гени. Цю плазмиду вдалося перенести до грамнегативних бактерій, які належать до 14 видів, у тому числі до бульбочкових бактерій. Серед останніх у восьми штамів спостерігали прояви привнесеної генетичної інформації, тобто експресію *nif*-генів. Ознаки здатності до фіксування атмосферного азоту були виявлені у транскон'югатів, які не належать до діазотрофів і не виявляли раніше здатності зв'язувати атмосферний азот.

В Україні М. Нічик зі співавт. провели роботи, в яких плазміда *pRD1* була перенесена до бульбочкових бактерій конюшини (*Rhizobium trifolii*) і люцерни (*R. meliloti*). Були отримані різні за ефективністю симбіозу транскон'югати: такі, що не впливали на рослини, такі, що негативно впливали на ріст рослин і симбіоз, і такі, що перевищували вихідний

штам за позитивним впливом на рослини і за ефективністю зв'язування атмосферного азоту. Штами з позитивним впливом на рослини були відібрані для подальших дослідів. Набуті *nif*-ознаки штамми зберігали протягом декількох пасажів як на поживних середовищах, так і на рослинах. Крім того, деякі транскон'югати виявились менш чутливими до несприятливих екологічних факторів – температури, вологоти.

Хоча селекція високоефективних штамів азотфіксуючих бактерій залишається головною ланкою в роботі з підвищення продуктивності біологічної азотфіксації, але вона не може бути відірвана від селекції бобових і злакових рослин, спрямованої на виведення сортів з високою здатністю до забезпечення біологічним азотом. Ця якість, на жаль, була втрачена рядом сортів, оскільки їх селекцію проводили за умов забезпечення рослин азотом і без урахування здатності сорту забезпечувати інтенсивний розвиток азотофіксуючих мікроорганізмів у зоні коренів.

Для подальшого поліпшення ефективності бобово-ризобіальних і асоціативних взаємовідношень сучасні біотехнології повинні базуватися на селекції як азотфіксуючих мікроорганізмів, так і бобових та злакових рослин із підвищеною чутливістю до застосування біопрепаратів. Останніми роками в багатьох країнах створюються програми селекції бобових і злакових рослин, у яких враховуються ознаки симбіозу і асоціативності. Роботи В.П. Патики, проведені в цьому напрямку в Україні, показали, що ефективність симбіотичної азотфіксуючої системи залежить від багатьох факторів, одним із визначальних є генотип бобової рослини. Селекціоновані сорти сої (Одеська-124, Аркадія Одеська, Кріпиш) та сортомери люцерни з підвищеною азотфіксуючою активністю і продуктивністю.

10.5. Проблема біобезпеки

Біотехнологічні, особливо біоінженерні методи торкаються основних властивостей живих організмів – спадковості, мінливості, адаптації, стійкості, продуктивності, якості. Штучне втручання у генетичні структури, їх модифікація з метою удосконалення біологічних об'єктів можуть викликати такі зміни, наслідки яких не завжди можуть бути передбачені. Це викликає занепокоєння не тільки вчених, а й широкого загалу. Тому актуальним стає питання про біобезпеку.

Біобезпека – це захищеність людини і загалом цивілізації, а також оточуючого середовища від шкідливого впливу, небезпечного для життя і здоров'я людей токсичних і алергенних речовин і сполук, які містяться

у природних та модифікованих методами генної інженерії біологічних об'єктах та отриманих із них продуктах.

Генетична модифікація мікроорганізмів пов'язана з певними труднощами адресної доставки гена або групи генів, а також їх нормальної експресії та функціонування реципієнтного організму в цілому. Важливою є також проблема генетичного ризику – можливого отримання мутантів, що синтезують токсичні або алергенні сполуки. Дестабілізація механізмів спадковості у ГМО може відбуватися внаслідок розширення геному за рахунок нових генів або мутагенного ефекту цієї вставки. Крім того, зростає ймовірність індукції ендогенних систем рекомбінації або активації генів, які до цього “мовчали”.

Ризик виникнення таких мутантів зростає за умов використання штучних синтетичних генів для отримання трансгенних мікроорганізмів із покращеними або принципово новими властивостями; можливе також спонтанне перенесення генів-модифікаторів (наприклад, із пилком) до інших рослин, їх взаємодія з генами третіх генотипів, що може призвести до появи нових генотипів із небезпечними властивостями. Такі організми можуть потрапити у ґрунт і викликати небажані генетичні й екологічні події.

Питання про біобезпеку порушили у 1974 р. самі засновники біоінженерії. Це були провідні молекулярні біологи на чолі з П. Бергом, який вперше у світі створив рекомбінантну молекулу ДНК. Науковці звернулися до світової спільноти з попередженням про необхідність дотримання заходів контролю і біобезпеки при роботі з рекомбінантними організмами. В результаті дискусії, що розгорнулась із цього питання, вчені дійшли висновку, що в генноінженерних експериментах повинен здійснюватися суворий контроль за виконанням заходів біобезпеки. У всіх країнах світу розроблені різні методи контролю за технологічними процесами та якістю запропонованих для використання людиною нових біологічних об'єктів і речовин – визначається їхня токсичність, алергенність і загальна безпека для людини і навколишнього середовища.

Існує ймовірність передачі “чужих” генів із ГМО і ГММ до аборигенних мікробних популяцій. Були проведені дослідження, в яких у стерильний ґрунт вносили ГММ і реципієнтну культуру. Частота переносу становила $3 \cdot 10^{-8}$ – $3 \cdot 10^{-5}$ кон'югантів на одного донора. При додаванні у ґрунт глюкози вона зростала до $2 \cdot 10^{-4}$ кон'югантів. Тобто у таких місцях існування, як ризосфера, можливий ефективний перенос генів, що було підтверджено з культурами *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*. Відмічено, що у ґрунтах, забруднених важкими металами, відбувається селекція, яка сприяє кон'югативному переносу плазмід стійкості до важких металів.

Перенос хромосомних генів між природними, а також природними популяціями і ГММ може відбуватися за рахунок трансформації екзогенними ДНК або трансдукції фагами. Відомо, що після загибелі мікробної клітини та її руйнування у ґрунт потрапляє мікробна ДНК. У ґрунті ДНК, що вивільняється із ГММ, знаходиться в адсорбованому на ґрунтових часточках стані і набуває стійкості до нуклеаз. ДНК із ГММ може набувати здатності до трансформації геному мікроорганізмів природних популяцій тільки у разі її гомології з ДНК реціпієнтної клітини. Трансформації ДНК із ГММ у природних популяціях перешкоджає також наявність власних систем рестрикції.

Трансдукція у природних мікробних угрупованнях здійснюється бактеріофагами, що містять 2-нитчаткову ДНК і здаті при лізисі клітин включати до свого складу фрагменти клітинної ДНК. Після зараження нових клітин включені фрагменти ДНК можуть бути інтегровані у геном клітини, але тільки за умов їх гомології. Тобто можливість трансдукції чужих генів ГММ може бути реалізована, в основному, для близькосторіднених видів.

При інтродукції у ґрунт ГММ, в першу чергу, повинна бути визначена їх екологічна безпечність. Для цього необхідно враховувати і визначати подальшу долю інтродукованих ГММ у постійних довготривалих спостереженнях, тобто проводити їх моніторинг.

Якщо модифікований мікроорганізм культивується в лабораторних умовах, його висівають на поживне середовище, а потім ідентифікують наявність введених генів або їх маркерів. За генетичні маркери слугують гени стійкості до рифампіцину, налідиксової кислоти, наявність хромогенної або хемолюмінесцентної реакції. Ідентифікація клонованого гену здійснюється методом гібридизації генетичного матеріалу досліджуваних клітин із ДНК-зондами, специфічними до клонованого гену.

Для клітин, які не культивуються на лабораторних середовищах, виділяють ДНК із ґрунту й аналізують її методами ПЛР або імунологічної детекції з використанням моноклональних антитіл, флюоресцентно мічених антитіл. Якщо у пробі виявлена ДНК із ГММ, то це свідчить про присутність популяцій, які несуть у собі модифіковані гени, а присутність специфічних мРНК вказує на фізіологічно активний стан ГММ.

Можливість забезпечення біобезпеки в генній інженерії базується на таких принципах:

- у біоінженерії використовуються, в основному, природні гени та їх регуляторні генетичні структури, які протягом усієї еволюції підлягають відбору, внаслідок чого вони забезпечують стійкий характер репарації біосинтезу білків та їх якості;
- у всіх біоінженерних лабораторіях розроблений і постійно проводиться моніторинг за якістю отриманих ГМО, якістю білкових та інших

їх компонентів, що дозволяє виявляти небезпечні генотипи і не допускати їх виходу з лабораторії.

У країнах, де інтенсивно ведуться генноінженерні роботи, прийняті закони, які створюють нормативно-правову базу для сучасної біоінженерії, в якій чітко регламентовані основні положення системи біобезпеки. Проте, у країнах ЄЕС на нинішній час ставлення до ГМО є неоднозначним. Європарламент прийняв низку спеціальних документів, які обмежують, а в деяких випадках забороняють вихід у навколишнє середовище генетично модифікованих рослин та інших організмів. У той же час у США, Великобританії, Франції прийняті урядові рішення на підтримку біоінженерії, що дозволяють використання ГМ-рослин. У вирішенні проблеми біобезпеки повинні брати участь не тільки генетики, а також екологи, лікарі, алергологи, фармацевти.

11. РОЛЬ МІКРООРГАНІЗМІВ У ФОРМУВАННІ РОДЮЧОСТІ ҐРУНТІВ ЗА РІЗНИХ СИСТЕМ ЗЕМЛЕРОБСТВА

Родючість ґрунту – це його здатність задовольняти потреби рослин у елементах живлення, воді, фізико-хімічних факторах та біотичних компонентах. Розрізняють *потенційну* (природну), *ефективну* (актуальну) й *економічну* родючості ґрунту.

Потенційна родючість ґрунту зумовлена природними процесами ґрунтотворення, що склалися в певних природно-кліматичних умовах. Потенційна родючість залежить від потужності гумусового горизонту, природних запасів поживних речовин, мінералогічного і гранулометричного складу, фізико-хімічних властивостей, розвитку мікробіоти.

Ефективна родючість ґрунту формується на базі потенційної родючості завдяки агротехнічним заходам при використанні ґрунту у сільськогосподарському виробництві і залежить від системи землекористування, застосування сівозмін, добрив, пестицидів, способу обробітку ґрунту, тощо. За умов науково обґрунтованого і екологічно збалансованого землекористування ефективна родючість може бути вищою за потенційну. При споживацькому використанні земель і незбалансованій системі господарювання ефективна родючість буде нижчою за потенційну і веде до неминучого її зменшення.

Економічна родючість ґрунту – це вартісна оцінка врожаю, вирощеного на одиниці площі ґрунту.

Родючість ґрунту залежить від фізичних, агрохімічних і біологічних факторів:

- фізичні – гранулометричний склад, структура, ґрунтовий профіль, гідротермічний режим;
- агрохімічні – вміст поживних речовин, поглинальні і буферні властивості, рН і окисно-відновний потенціал;
- біологічні – ґрунтова біота, запаси органічної речовини, напрямки процесів трансформації гумусу, вміст біологічно активних сполук.

Серед біологічних факторів на родючість ґрунтів значною мірою впливають інтенсивність і напрямки мікробних процесів, таких як фіксація азоту, деструкція і гуміфікація органічних решток, антимікробні властивості по відношенню до фітопатогенів, деструкція пестицидів і органічних забруднень, детоксикація важких металів. Ґрунтова біота виступає як фактор стабілізації і самоврегульованості ґрунтотвірних процесів.

Життєдіяльність ґрунтової мікробіоти в агроценозах значною мірою залежить від систем землеробства й агротехнічних заходів, які застосовуються при вирощуванні тієї чи іншої сільськогосподарської культури.

У 1840 році була видана праця Ю. Лібіха "Органическая химия в приложении к сельскому хозяйству и физиологии", в якій було показано значення поживних речовин для формування урожаю і родючості ґрунтів. Зокрема, було визначено, що до складу усіх рослин входять 10 основних елементів: вуглець, кисень, водень, азот, фосфор, сірка, залізо, кальцій, магній, калій. Атмосфера і вода постачають рослинам вуглець, кисень і водень. Усі інші елементи рослини беруть із ґрунту. Тому для підтримання його родючості необхідно постійно вносити ці елементи у такій кількості, яка виноситься з урожаєм. Наприклад, підраховано, що з кожною тонною урожаю пшениці з полів виноситься у середньому (кг): азоту 37,0, фосфору – 13,0, калію – 23,0. Така ж кількість цих елементів повинна бути внесена для компенсації ґрунтових запасів. Отже, заслуга Ю. Лібіха полягає в ідеї необхідності балансових підрахунків для підтримання родючості ґрунту.

На жаль, ці ідеї були сприйняті занадто спрощено: у ґрунт вносили необхідні поживні сполуки у формі мінеральних добрив на основі хімічних солей: сірчанокислих, азотнокислих, фосфорнокислих солей натрію, калію, амонію та ін. Крім того, дози внесених добрив значно перевищували необхідні фізіологічні потреби рослин для формування урожаю. Як показав багаторічний досвід використання мінеральних добрив, поживні елементи необхідно вносити у формах, найбільш близьких до природних, тобто у формі їх органічних сполук. Залежно від систем удобрення, обробітку ґрунту, систем захисту рослин від хвороб і шкідників сформувалися різні системи землеробства. У кожній із них мікроорганізми відіграють певну роль у формуванні родючості ґрунтів.

У сучасному сільському господарстві розрізняють декілька систем землеробства: екстенсивна, інтенсивна, біологічна і змішана.

Екстенсивна система базується на використанні тих запасів родючості, які історично сформувалися у ґрунтах певних типів. Класичним прикладом екстенсивної системи є освоєння цілинних земель і введення їх у землекористування. У перші роки на таких землях отримують високі врожаї, але якщо органічна речовина ґрунту не буде поповнюватись за рахунок органічних решток або органічних добрив, то запаси гумусу будуть швидко вичерпуватись, а родючість ґрунтів – знижуватись. Мікробні угруповання цілинних земель мають розгалужену стабільну систему функціональних зв'язків, яка забезпечує рівновагу процесів синтезу і деструкції гумусу, а також збалансоване співвідношення між

групами мікроорганізмів, які входять до складу мікробного угруповання, тобто між автотрофними і гетеротрофними, зимогенними і автохтонними мікроорганізмами. За умов землекористування цілих земель спостерігається спалах життєдіяльності мікроорганізмів і зсув рівноваги у бік переважного розвитку мікроорганізмів, які беруть у часту у мінералізаційних процесах.

Інтенсивне землеробство базується на вирощуванні інтенсивних, високоврожайних сортів рослин, які виносять із фітомасою значну кількість поживних речовин. Відчуження разом із урожаєм цієї фітомаси призводить до декомпенсації кругообігу поживних елементів – тобто винос превалює над надходженням. Для компенсації дефіциту поживних речовин в інтенсивному землеробстві у ґрунт вносять високі дози мінеральних добрив. Але при цьому не враховується баланс поживних і енергетичних речовин. Під впливом високих доз мінеральних добрив, що містять азот, фосфор і калій (NPK), підвищується, в першу чергу, чисельність зимогенних мікроорганізмів, здатних утилізувати розчинні форми біогенних елементів. Енергетичний матеріал для своєї життєдіяльності мікроорганізми беруть із гумусу, що призводить до втрат депонованої у ґрунті енергії і поживних речовин. Встановлено також, що високі дози мінеральних добрив підкислюють ґрунтовий розчин, що сприяє зростанню кількості грибів. За умов інтенсивних агротехнологій потрібно враховувати проблему мікробної трансформації азоту у ґрунті. Вона повинна вирішуватися комплексно – з урахуванням особливостей рослин, умов їх вирощування, а також фізіологічної активності мікроорганізмів, які здійснюють такі процеси, як амоніфікація, нітрифікація, азотфіксація, денітрифікація. Недостатня увага до мікробіологічного фактору трансформації азоту значною мірою призвела до низької ефективності використання мінеральних азотних добрив, що, в свою чергу, стало причиною надмірного накопичення нітратів в рослинній продукції та забруднення біосфери окисами азоту.

Поряд із високими дозами мінеральних добрив в інтенсивному землеробстві широко використовують засоби хімічного захисту рослин від хвороб, шкідників і бур'янів, що негативно впливає на розвиток ґрунтової мікробіоти, в першу чергу пригнічує азотфіксуючі мікроорганізми.

Біологічне землеробство враховує недоліки інтенсивних агротехнологій вирощування сільськогосподарських культур і базується на принципі бути нешкідливим для навколишнього середовища та забезпечувати високі і сталі врожаї сільськогосподарської продукції, яка за своїми якісними показниками відповідає вимогам екологічної безпеки. Вимогою біологічного землеробства є повна відмова від застосування

мінеральних добрив і засобів хімічного захисту рослин від захворювань, шкідників і бур'янів, а також від хімічно синтезованих регуляторів росту рослин. Біологічне землеробство нині перетворилося на організований напрямок, який координується IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movement).

У біологічному землеробстві вирощування високих врожаїв досягається за рахунок таких заходів, як застосування органічних добрив і сидератів, насичення сівозмін бобовими культурами, селекція нових сортів рослин з урахуванням їх симбіотичних властивостей з азотфіксуючими бактеріями, використання екологічно безпечних бактеріальних добрив, біологічних засобів захисту рослин від хвороб та шкідників, природних регуляторів росту рослин. Важливого значення у біологічному землеробстві набуває оптимізація мікробіологічних процесів у ґрунті.

К.І. Андреюк, Г.О. Іутинською зі співавт. було проведено порівняльне вивчення закономірностей формування і функціонування мікробних угруповань за інтенсивних і біологічних систем землеробства. Встановлено, що агротехнології біологічного землеробства сприяють утворенню міцної структури трофічних зв'язків у мікробних угрупованнях, підвищують їх інтегрованість і стійкість до несприятливих факторів. На основі вивчення елементного складу, молекулярно-масових характеристик, ІЧ-спектрів, функціональних груп та неспецифічних компонентів гумусу було показано, що за умов біологічного землеробства у ґрунті активізуються процеси новоутворення гумінових кислот, їх молекулярні маси зростають за рахунок збагачення аліфатичних ланцюжків амінокислотами і вуглеводами. Це підвищує реакційну здатність і біологічну активність гумусових сполук, сприяє депонуванню енергії та поживних речовин.

Важливу роль у біологізації землеробства відіграють екологічно безпечні нетоксичні мікробні препарати, які не забруднюють довкілля, проявляють високу селективну дію та післядію, зручні для виробництва.

12. АНТРОПОГЕННИЙ ВПЛИВ НА ҐРУНТОВІ МІКРООРГАНІЗМИ

Ґрунт є необхідною умовою отримання продукції для харчування населення і забезпечення його життєвих потреб. Кількість населення на Землі постійно зростає, відповідно зростають і потреби у продуктах харчування. Щоб задовольнити ці потреби постійно нарощується виробництво сільськогосподарської продукції. Враховуючи те, що вільних земель, які можна було б використати для цих цілей, майже не залишилось, необхідно підвищувати врожайність сільськогосподарських культур на існуючих орних землях. Для вирішення цієї важливої задачі виробники вдаються до різних агротехнічних заходів: внесення органічних і мінеральних добрив, різних систем обробітку ґрунту, застосування регуляторів росту рослин, хімічних і біологічних засобів захисту рослин від хвороб, шкідників і бур'янів, меліорація і зрошення земель та ін. Усі ці заходи відіграють важливу роль у формуванні і функціонуванні мікробних угруповань ґрунту в сучасних агроценозах.

Значний антропогенний вплив на мікробні угруповання має техногенне забруднення ґрунтів іонами важких металів, радіонуклідами, нафтою і продуктами нафтопереробки, синтетичними органічними сполуками.

Для оптимізації життєдіяльності ґрунтових мікроорганізмів у сучасних агроценозах необхідно проводити вивчення впливу антропогенних чинників на ґрунтову мікробіоту.

12.1. Вплив агротехнічних заходів на ґрунтову мікробіоту

12.1.1. Системи удобрення

Існує декілька систем удобрення сільськогосподарських культур: *мінеральна, органічна і змішана органо-мінеральна*. Мінеральна система передбачає внесення азотних, фосфорних і калійних добрив у вигляді солей сильних кислот – фосфорної, сірчаної, азотної або амонійних солей. Дози внесених добрив виражають у перерахунку на діючу речовину, тобто на вміст у них азоту (N), фосфору (P) і калію (K). Наприклад, $N_{60}P_{60}K_{60}$ означає, що у ґрунт внесено по 60 кг/га діючої речовини кожного із зазначених елементів – азоту, фосфору, калію. Згідно з державними стандартами України мінеральні добрива повинні містити певну кількість діючої речовини: в аміачній селітрі азоту не менше 34,7%, у суперфосфаті фосфору – 19,5%, у калімагнезії калію 27%.

Мінеральні добрива поділяють на фізіологічно кислі, фізіологічно лужні і фізіологічно нейтральні. До фізіологічно кислих відносять ті добрива, з яких рослини використовують поживні речовини у катіонній формі, в той час як аніон, що залишився, підкислює ґрунт, наприклад сірчанокислий амоній. До фізіологічно лужних відносять добрива, що містять поживний елемент у аніонній формі, наприклад азотнокислий натрій. До фізіологічно нейтральних відносять добрива, в яких поживні елементи знаходяться одночасно у катіонній і аніонній формах, наприклад, азотнокислий амоній.

Вплив мінеральних добрив на ґрунтову мікробіоту залежить від дози і виду добрив, вирощуваної культури, типу ґрунту, метеорологічних умов та ін.

У дерново-підзолистих ґрунтах істотні зміни в мікробних угрупованнях викликає внесення навіть невисоких доз добрив ($N_{60}P_{60}K_{60}$), в той час як на більш родючих чорноземних ґрунтах вплив таких доз несуттєвий. У сірому опідзоленому, чорноземному, темно-каштановому ґрунтах тільки високі дози добрив ($N_{100-120}P_{100-120}K_{60-120}$) справляють істотний вплив на мікробні угруповання.

Встановлено, що у більшості випадків застосування мінеральних добрив у помірних дозах ($N_{30-60}P_{60-80}K_{60-80}$) позитивно впливає на розвиток мікроорганізмів і активність мікробних процесів, а підвищені дози ($N_{120}P_{180}K_{270}$ і більше) часто пригнічують активність фіксації азоту, нітрифікації, розкладу важкорозчинних фосфатів і целюлози; у той же час зростають швидкості денітрифікації і деструкції гумусу. Пояснюється це тим, що мікробне угруповання прагне врівноважити свій стан до такого співвідношення поживних речовин, який характерний для даного типу ґрунту. Так, при внесенні амонійного або нітратного азоту у ґрунт виникає надлишок засвоюваних форм азоту, що пригнічує процес фіксації мікроорганізмами атмосферного азоту; в той же час активність денітрифікації значно зростає і надлишок азоту у вигляді N_2 надходить до атмосферного повітря. Виходячи з цього, стає зрозумілим той факт, що внесення у ґрунт мінеральних азотних добрив посилює розвиток мікроорганізмів, що утилізують мінеральні форми азоту; чисельність денітрифікуючих бактерій також збільшується.

Фосфорні добрива меншою мірою впливають на співвідношення бактерій циклу азоту, проте вони пригнічують фосфатазну активність мікроорганізмів, а також гальмують процес вивільнення фосфору з його нерозчинних мінеральних сполук.

За умов застосування високих доз мінеральних добрив часто виявляють збільшення вмісту мікроміцетів, серед яких зростає кількість фі-

топатогенних і токсиноутворюючих видів. Зростання кількості мікроскопічних грибів можна пояснити підкисленням ґрунтового розчину при внесенні фізіологічно кислих добрив. Після вапнування ґрунтів, удобре-них високими дозами фізіологічно кислих мінеральних добрив, частка мікроскопічних грибів у мікробному ценозі зменшується.

Тривалий досвід використання мінеральної системи удобрення показав, що для стабільного функціонування агроценозів і збільшення їхньої продуктивності необхідне постійне доповнююче введення органічного матеріалу, особливо за умов застосування високих доз азотних добрив.

Пояснюється це порушенням співвідношення вмісту вуглецю й азоту у ґрунті. Відношення C:N у бактерій коливається в межах від 3:1 до 8:1, у грибів може досягати 16:1. Загальне правило розкладу органічного субстрату полягає у наступному: якщо C:N мікробної маси більше C:N органічного субстрату, то мінералізація останнього сприяє збагаченню ґрунту азотом; навпаки, якщо C:N мікроорганізмів менше від такого співвідношення в органічному субстраті, то у перебігу процесу деструкції відбудеться споживання азоту із запасів ґрунту.

Наприклад, за умов внесення азотних мінеральних добрив і нестачі доступних вуглецевих субстратів у ґрунті мікроорганізми споживають вуглець, депонований у гумусі. Тобто забезпечення у достатній кількості основними біогенними елементами спонукає мікроорганізми використовувати як джерела енергії органічну речовину ґрунту. Крім того, внаслідок бурхливого розвитку мікроорганізмів підвищується швидкість мінералізації органічних рештків, а їх окислення йде до кінцевих продуктів – CO_2 та H_2O . Вуглець рослинних залишків не гуміфікується, а практично повністю асимілюється мікроорганізмами або виділяється у вигляді CO_2 .

Отже, для збереження родючості ґрунту необхідне збалансоване застосування мінеральних добрив разом з органічними. Багаторічний досвід підтвердив доцільність застосування *органо-мінеральної* системи удобрення, яка позитивно впливає на мікробні угруповання ґрунту, сприяє збереженню його родючості, дає можливість отримувати високі урожаї сільськогосподарських культур.

У зв'язку з переходом на екологічно безпечне біологічне землеробство все більше господарств застосовують *органічну систему* удобрення, яка передбачає внесення тільки органічних добрив: торфу, гною, компостів, "зелених добрив" (сидератів), а також залишкової неутілізованої сільськогосподарської продукції (стерні, пички буяків, подрібнених стебел соняшнику і кукурудзи, тощо). Більшість дослідників визна-

ють позитивний вплив органічних добрив як на мікробіоту, так і на процеси гумусотворення.

Збільшення загальної біомаси та чисельності мікроорганізмів спостерігається як при внесенні гною, так і при заорюванні зеленої маси рослин (сидерації) або сухих рослинних решток (соломи). Встановлено, що заорювання у ґрунт фітомаси рапсу ярого і кореневих рештків буркуна білого сприяє формуванню міцної трофічної структури мікробних угруповань.

Позитивна дія органічних добрив на мікробні угруповання і родючість ґрунту можуть бути забезпечені за умов дотримання оптимального співвідношення $C:N$. Такими показниками характеризуються пній, рослинні рештки бобових культур. Так, у зеленій масі конюшини $C:N$ дорівнює 16:1. Проте при заорюванні у ґрунт соломи, яка має широке співвідношення $C:N$ (близько 80:1) мікроорганізми забезпечені достатньою мірою вуглецем, але відчувають дефіцит азоту, який вони можуть поповнити за рахунок підсилення процесу біологічної фіксації азоту. Якщо умови для азотфіксації у ґрунті несприятливі або біологічна фіксація азоту неможлива відновити баланс $C:N$, то мікроорганізми починають використовувати цей елемент із запасів гумусу. Тому заорювання соломи рекомендують супроводжувати "азотокомпенсацією", тобто внесенням збалансованої дози азотних мінеральних добрив із розрахунку 6–7 кг азоту на 1 т соломи, яка заорюється.

12.1.2. Системи обробітку ґрунту

Поряд з добривами важливим антропогенним чинником у сучасних агроценозах є система обробітку ґрунту. Існує декілька видів обробітку ґрунту:

- оранка (з обертом скиби);
- мінімальний безполіцевий обробіток (плоскорізний) рихленням знаряддями, які не обертають скиби;
- нульовий – прямий посів по стерні без попереднього обробітку ґрунту;
- контурний обробіток (протиерозійний вздовж горизонталей на схилах).

Донедавна основним обробітком ґрунту була оранка. В.Р. Вільямс дав мікробіологічне обґрунтування оранки з обертом скиби. Він виходив з того, що такий обробіток покращує повітряний режим шару ґрунту на глибину до 30–50 см. Відомо, що накопичення гумусу краще відбувається у мікроаерофільних умовах у глибоких шарах ґрунту. При перемішуванні ґрунтових шарів верхній, найбільш збіднений органічною речови-

ною шар опиняється на дні борозни, де в мікроаерофільних умовах відбувається відновлення запасів гумусу. Навпаки, нижні шари, збагачені гумусом, опиняються на поверхні, де поживні речовини гумусу швидко розкладаються аеробними мікроорганізмами і стають доступними для рослин. Щорічна оранка змінює пласти і таким чином покращує живлення рослин і мікроорганізмів.

Проте існували також інші точки зору щодо способу обробітку ґрунту. П.О. Костичев показав, що у посушливих умовах півдня мілкий плоскорізний обробіток (на глибину не більше 5 см) без оберту скиби сприяє збереженню запасів вологи, попереджує розвиток ерозійних процесів. Така система обробітку отримала назву ґрунтозахисної. Прибічники цієї системи стверджують, що товща ґрунту аерується завдяки кореневій системі рослин, ходам дощових хробаків. Тому щорічне рихлення ґрунту не є обов'язковим. У 40-х роках минулого сторіччя ґрунтозахисну систему стали активно застосовувати у США і Канаді. У Росії ідея безплужного обробітку ґрунту була підтримана й активно розроблялась Т.С. Мальцевим, А.І. Бараєвим, А.Н. Каштановим, а в Україні – М.К. Шиколою.

Вплив обробітку на ґрунтову мікробіоту залежить від ґрунтово-кліматичних і метеорологічних умов, агротехніки вирощуваної культури та інш. Слід зазначити, що шари ґрунту на різній глибині різняться як за кількісним, так і за якісним складом мікроорганізмів. Як правило, верхній шар ґрунту (0–2 см) підлягає висушуванню, інсоляції і є менш населеним мікроорганізмами. Під ним знаходиться шар, у якому краще зберігається волога, він більш насичений коренями рослин, які виділяють екsudати, тому кількість мікроорганізмів значно зростає. Товщина цього шару залежить від типу ґрунту та його вологозабезпечення. Чорноземні ґрунти характеризуються найбільш потужним родючим шаром – від 50 до 100 і більше сантиметрів. У більш глибоких шарах ґрунту зменшується кількість коренів і гумусу, знижується насичення киснем, накопичуються продукти неповного розкладу органічних рештків, деякі з них можуть бути токсичними. Внаслідок цього кількість мікроорганізмів з глибиною зменшується, уповільнюється розклад органічного матеріалу, що сприяє його накопиченню і гуміфікації.

За умов мінімального обробітку залишки рослин на поверхні ґрунту і їхня коренева маса зосереджуються у верхньому шарі (0–10 см). Мінімальний обробіток ґрунту сприяє підвищенню чисельності евтрофної мікробіоти у шарі ґрунту 0–10 см порівняно з варіантами, де була застосована оранка на 25–30 см. Проте у більш глибоких шарах ґрунту (20–30 см) спостерігається протилежна закономірність – чисельність мікроорганізмів при плоскорізному обробітку удвічі менше, ніж на варіантах з

оранкою (таблиця 12.1). Накопичення свіжих рослинних залишків у верхньому шарі ґрунту за таких умов сприяє розвитку копіотрофних мікроорганізмів (амоніфікуючих, амілолітичних, целюлозоруйнівних). Мікробна суцесія при трансформації рослинних залишків за умов безполицевого обробітку стає подібною до тієї, яка формується у цілинному ґрунті.

Таблиця 12.1

Мікробіологічні показники чорнозему типового за різного обробітку ґрунту, КУО в 1 з сухого ґрунту (за А.Д. Міхновською, 1986 р.)

Варіант досліджу	Шар ґрунту, см	Орґаногетеротрофні мікроорґанізми, млн	Нітрифікуючі бактерії, тис.	Автохтонні мікроорґанізми, тис.
Оранка	0–10	41	1,1	24,7
	10–20	25	1,1	29,2
	20–30	37	0,8	33,7
Плоскорізнй обробіток	0–10	57	1,3	13,6
	10–20	23	0,9	25,0
	20–30	19	0,4	30,5
Мінімальний обробіток	0–10	58	1,2	16,9
	10–20	42	0,8	22,2
	20–30	26	0,4	27,4

Розвиток автохтонних мікроорґанізмів, які беруть участь у розкладі гумусових сполук, у верхньому шарі ґрунту при оранці відбувається більш активно, ніж при мінімальному і плоскорізнному обробітку.

Як відомо, способи обробітку ґрунту мають істотний вплив на його газову фазу. Тому дослідники звертали увагу на співвідношення аеробних і анаеробних мікроорґанізмів за різних систем обробітку. Було встановлено, що чисельність облігатних аеробів (нітрифікуючих бактерій) при оранці є істотно вищою, ніж при мінімальному обробітку. Кількість анаеробних (денітрифікуючих) мікроорґанізмів у шарі 20–30 см підвищується при безплужному обробітку ґрунту.

Розробка ефективних і екологічно збалансованих агротехнологій тісно пов'язана з вивченням питання про раціональне об'єднання систем обробітку ґрунту і його удобрення. Поєднання безполицевого обробітку з внесенням органічних добрив сприяє підвищенню активності мікробних угруповань ґрунту, збільшує їх стійкість і інтегрованість, сприяє формуванню міцної структури трофічних зв'язків.

12.1.3. Регулятори росту рослин

У сучасному розумінні термін *фіторегулятори*, або *регулятори росту рослин* (PPR), об'єднує синтетичні і природні органічні сполуки, які впливають на життєві процеси рослин, але при цьому не є джерелами їх живлення.

Фіторегулятори – ефективний засіб керування онтогенезом і продукційним процесом у рослин. Їх використання дозволяє оптимізувати метаболізм рослинної клітини з метою підвищення урожаю сільськогосподарських культур та покращання його якості.

Рістрегулюючі речовини застосовують для стимуляції проростання насіння, активізації вегетативного росту рослин, прискорення їх цвітіння і досягання, підвищення урожайності, захисту від деяких захворювань, оскільки PPR сприяють підвищенню імунітету рослин.

Регулятори росту за походженням поділяють на такі групи: 1 – ендогенні сполуки, синтезовані самими рослинами (фітогормони); 2 – продукти життєдіяльності мікроорганізмів із властивостями PPR; 3 – синтетичні сполуки – аналоги або антагоністи фітогормонів.

Молекулярні механізми дії фітогормонів базуються на таких складових: а) біосинтез попередників; б) зв'язування зі специфічним білковим рецептором; в) вплив гормон-рецепторного комплексу на геном рослини або на активність певних ферментних систем.

Фітогормони синтезуються з органічних кислот або амінокислот. Ауксини утворюються з амінокислот: індольні – з триптофану, фенольні – з фенілаланіну, цитокініни є похідними аденіну. Попередником різних гормонів може бути одна сполука. Наприклад, мевалонова кислота є попередником гіберелінів, цитокінінів, брасиностероїдів, абсцизової кислоти. Ключові ферменти, що діють на перехресті шляхів біосинтезу гормонів проявляють високу чутливість до факторів навколишнього середовища, що веде до переважного синтезу того чи іншого ферменту. Таким чином рослина регулює свої ростові реакції у відповідь на зміну умов вирощування.

Синтезовані молекули гормонів транспортуються по рослині до клітин-мішеней, чутливих до цих сполук. Встановлено, що гормональні ефекти реалізуються шляхом конформаційних змін білкових молекул – рецепторів фітогормонів. При зв'язуванні гормону і рецептора останній активується. Гормон-рецепторний комплекс може діяти різними шляхами.

- По-перше, він може впливати на генетичні події в клітині, наприклад, змінювати програму експресії генів, ініціювати синтез нових ферментів, які раніше в клітині не були присутні. Середня тривалість фітогормональної регуляції роботи геному триває декілька годин.

- По-друге, фітогормони можуть змінювати активність ферментів, які вже були присутні в клітині. Ця реакція швидка і може відбуватися за декілька десятків хвилин, при цьому загальна концентрація молекул ферменту майже не змінюється, але його активність зростає завдяки взаємодії з алостеричним ефектором. У ролі ефektorу виступає гормон або його метаболіт, що призводить до зміни спорідненості ферменту і субстрату.

- По-третє, дія гормонів проявляється через вторинних посередників – месенджерів. Роль посередників полягає у тому, що невелика кількість гормону викликає продукцію великої кількості посередників, які впливають на активність ферменту. Таким чином підсилюється дія фітогормону.

Природні фітогормони за хімічною будовою розподіляють на 5 типів: гібереліни, ауксини, цитокініни, абсцизини, етилен. Визначені також гормоноподібні сполуки подвійної ауксино-цитокінінової дії, такі як брасиностероїди і фузикокцин. Їх структурні формули наведені на рис. 12.1.

Гібереліни – відкриті японським фітопатологом Куросавою у 1926 р. При дослідженні захворювання рису під назвою “скажені сходи” він виділив із рослин збудника захворювання – гриб *Fusarium heterosporum* – і висловив припущення, що цей гриб продукує речовини, які викликають витягування стебла рослин. Це припущення було підтверджено наступними роботами як самого Куросави, так і інших японських дослідників. У кристалічному вигляді діюча речовина виділена в 1935 році доктором Ябутою з гриба *Gibberella* і отримала назву гібереліну.

Пізніше біологічно активні речовини з властивостями гіберелінів були одержані з недозрілого насіння бобових рослин. Тобто було встановлено, що гібереліни є нормальними продуктами життєдіяльності не тільки фітопатогенних грибів, але й вищих рослин. Ці сполуки можна віднести до регуляторів росту рослин гормонального характеру.

Гібереліни являють собою групу близьких за будовою тетрациклічних карбонових кислот дитерпеноїдної природи. Тетрациклічне ядро гіберелінів може нести замісники в положеннях 1–4, 6–8 і 10, також обов'язковими є метиленові групи в положенні C₈ і карбоніл при C₁₀. Розбіжності в інших замісниках обумовлюють різноманітну структуру гіберелінів та їх фізіологічну дію.

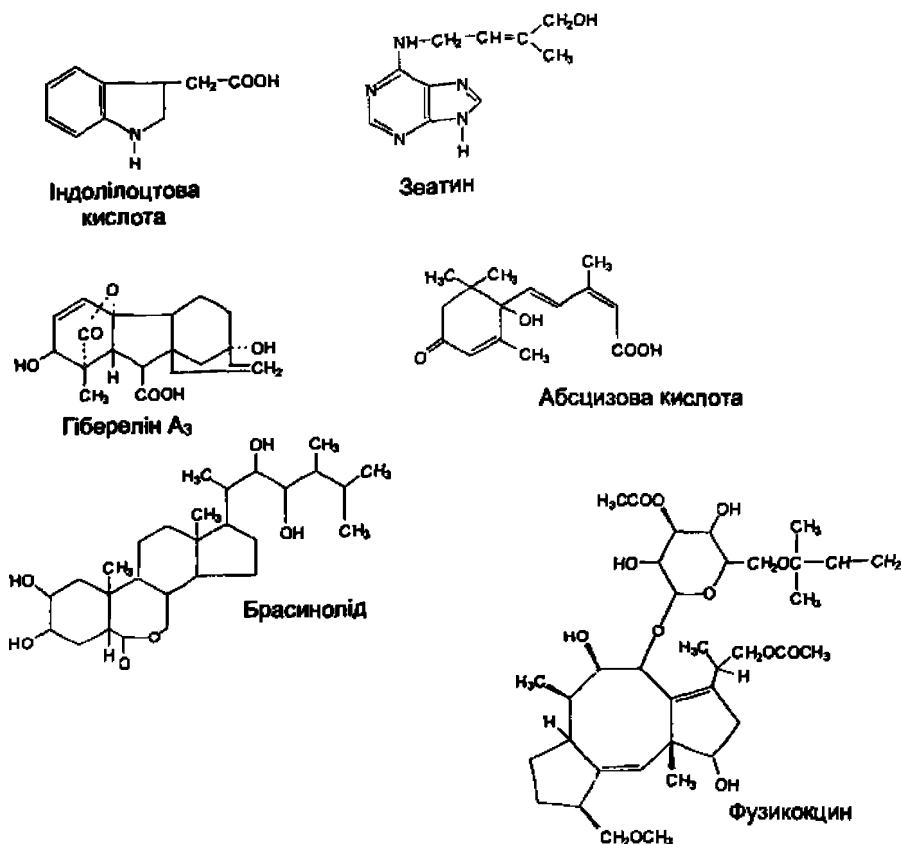


Рис. 12.1. Структурні формули деяких фітогормонів

Синтез гіберелінів проходить у три етапи. На першому етапі синтезується дитерпеноїдний тетрациклічний попередник із молекули оцтової кислоти. На другому етапі утворюється 5-членне кільце з синтезом C_{20} гібанових гіберелінів. На останньому етапі відбувається утворення гіберелінів з гібанових кислот шляхом приєднання гідроксильної групи в положення C_7 . На сучасному етапі вивчення виділено більше ніж 90 конфігурацій гіберелінів, які відомі під шифром ГА, а сама гіберелова кислота відома як ГА₃.

Фізіологічна дія гіберелінів проявляється у стимуляції ростових процесів за рахунок розтягування клітин і підвищення мітотичної активності меристематичних тканин. Розтягування клітин під дією гібереліну зумовлено підсиленням синтезу будівельного матеріалу клітинної стінки. Гібереліни діють переважно на ріст стебла, практично не впливають на ріст листя, гальмують ріст коренів. Дефіцит гіберелінів може викликати карликовість рослин.

Ауксини – фітогормони, до яких належать β -індолілоцтова, індоліл-3-масляна, індолілпировиноградна, хлорфеноксицтова, фенілоцтова кислоти. В рослинах ауксини утворюються з амінокислот: індольні – з триптофану, фенольні – з фенілаланіну. Різні похідні індолу є попередниками ауксину, вони можуть у рослині перетворюватися на індолілоцтову кислоту (ІОК) і діяти як ауксин.

Ауксини виявляють різноманітний вплив на рослину залежно від етапу онтогенезу, виду рослин, типу тканин. У малих дозах мають стимулюючу дію на розвиток рослин, а за високих концентрацій – пригнічують або навіть викликають їх загибель. Найбільш виражений ефект ауксину виявляється в стимуляції росту розтягуванням при формуванні камбію та провідних пучків коренів. Ауксини впливають на в'язкість протоплазми, посилюють поглинання води, зумовлюють рух цитоплазми. У клітині вони зв'язуються зі специфічними рецепторами і впливають на функціональну активність мембран, рибосом, роботу ядерного апарату.

Ауксини при взаємодії зі своїм рецептором, локалізованим у плазмолемі, активують роботу протонної "помпи" – ферментативної транспортної системи, яка здійснює перенесення протонів із цитоплазми у клітинну стінку. При цьому відбувається підкислення геміцелюлоз і пектинових сполук клітинної стінки, що призводить до послаблення зв'язків між компонентами стінки клітин і за рахунок тургорного тиску вона розтягується. Одночасно активуються целюлази і пектинази, які беруть участь у розтягуванні стінок рослинних клітин. Індукція ауксином ділення клітин зумовлена тим, що він сприяє створенню умов, необхідних для реплікації ДНК, зокрема, стимулює дихання, синтез РНК і білків.

Цитокиніни – група сполук, яка була відкрита в зв'язку з пошуками фактору клітинного ділення в культурі тканини стебла тютюну. За хімічною природою ці сполуки відносяться до похідних аденіну. Природні цитокиніни зустрічаються у формі рибонуклеозидів, які, можливо, є попередниками вільних цитокинінів. Встановлено, що фізіологічно активною речовиною є похідне пурину – 6-фурфуріламінопурин. Ідентифіковано більш як 27 видів цитокинінів.

Залежно від будови радикалу розрізняють такі цитокиніни:

Цитокиніни:	Радикал:
Зеатин	$\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$
Кінетин	фуріл-2
N-(2-ізопентеніл) аденін	$\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$
Бензиладенін	C_6H_5

Структурні формули цитокинінів представлені на рис. 12.2.

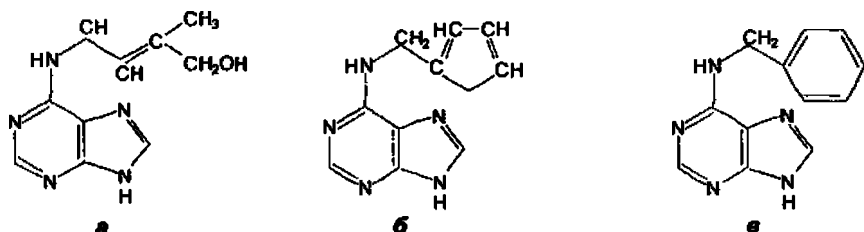


Рис. 12.2. Структурні формули цитокинінів:
а – зеатин; б – кінетин; в – бензиладенін

Цитокиніни сприяють діленню клітин і мають регуляторні функції такого ж характеру, як кінетин. Речовини цитокинінового типу виявлені в різних об'єктах: вищих рослинах, дріжджах, мікроорганізмах, водоростях і в ґрунті.

Діапазон фізіологічної дії цитокинінів широкий. Разом з ауксинами вони впливають на процеси ділення клітин, сприяють посиленню синтезу ДНК. На молекулярному рівні цитокиніни в комплексі зі специфічним білковим рецептором посилюють активність РНК-полімерази та матричну активність хроматину. Це зумовлює збільшення кількості полірибосом та активацію синтезу білків, у тому числі деяких ферментів, наприклад, нітратредуктази. Кінцева дія цитокинінів спричиняє зміну експресії гена, можливо на транскрипційному рівні. Є також дані про їх вплив на транспортування іонів K^+ , H^+ , Ca^{2+} .

Дія цитокинінів на рослини полягає в регуляції органогенезу, гальмує старіння листя, стимулює формування хлоропластів. Ауксини стимулюють синтез стресових білків, які захищають клітину і підвищують стійкість рослин до несприятливих факторів навколишнього середовища – нестачі вологи, засолення ґрунту, високих температур.

Абсцизини – це гормони інгібіторного впливу. Вони репресують певні ділянки геному рослин і послаблюють синтез білків. Абсцизини, що синтезуються в кореновому чохлаку, відіграють важливу роль у механізмі явища геотропізму. Основна діюча речовина цих гормонів – абсцизова кислота (АБК), яка за хімічною будовою відноситься до терпеноїдів.

АБК виділяється з багатьох рослин, утворюється в них із мевалонату або може бути синтезована при фотохімічному окисненні вітаміну А.

Фітогормональні ефекти АБК пов'язані зі здатністю прискорювати розклад нуклеїнових кислот, а також гальмувати функціональну активність H^+ -наосу, що може призводити до пригнічення основних процесів метаболізму. АБК індукуює синтез білків, які сприяють збезводнюванню насіння і переходу його у стан спокою.

Брасиностероїди – гормони, які мають стероїдну хімічну будову. Фізіологічна дія проявляється у розтягуванні клітин. У стресових умовах підвищують стійкість рослин до несприятливих факторів, стимулюють синтез стресових білків, фітоалексинів та інших компонентів фітоімунітету.

Фузикоцини – стероїдні речовини, які синтезуються рослинами, а також мікроскопічними грибами. Фізіологічна дія фузикоцину проявляється у стимулюванні розтягування клітин, підсиленні транспірації; він виводить насіння зі стану спокою, прискорює його проростання.

Етилен має просту хімічну будову: $H_2C=CH_2$. В незначних кількостях він утворюється в тканинах рослин із метіоніну як проміжний продукт обміну речовин, відноситься до гормонів інгібіторного типу, який пригнічує біосинтез і функціонування ауксинів. Етилен здатен викликати опадання листя, квіток і плодів. Це зумовлено тим, що він індукуює синтез ферментів – ендополігалактуронази і целюлази, які руйнують клітинні оболонки. У більшості рослин він гальмує вегетативний ріст. Етилен виконує захисні функції у стресових для рослин умовах – індукуює синтез захисних речовин – фітоалексинів. Оскільки це летючий гормон, то він може впливати на ріст сусідніх рослин.

Фіторегулятори мікробного походження. Відомо, що мікроорганізми різних таксономічних груп здатні синтезувати фітогормони ауксинової, гіберелінової, цитокинінової природи та інші. Структурні формули деяких регуляторів росту рослин мікробного походження наведені на рис. 12.3. Продуктування фітогормонів було виявлено в першу чергу у тих мікроорганізмів, які в процесі життєдіяльності були пов'язані з рослиною – це фітопатогенні мікроорганізми, симбіотичні бактерії, а також представники ризосферної мікрофлори. Такі мікроорганізми знаходяться у тісному контакті з рослинами протягом тривалого часу. Висловлюється припущення, що здатність активно впливати на обмін речовин рослин сформувалась у них у процесі еволюції.

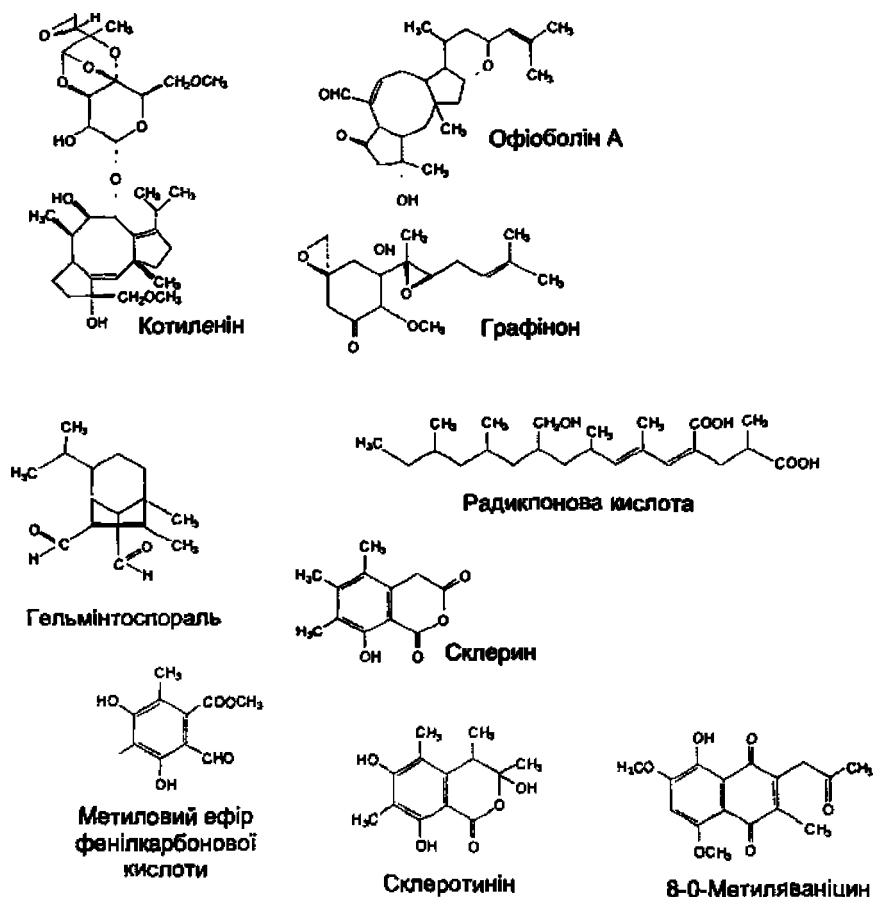


Рис. 12.3. Структурні формули деяких регуляторів росту рослин мікробного походження

Найпоширенішу групу складають терпеноїди, до яких належать гібереліни, абсцизова кислота, брасини, фузикоцини, котиленіни, офіоболіни, гельмінтоспорини.

Мікроскопічні гриби відомі своєю високою біосинтетичною активністю, в тому числі і здатністю синтезувати РРР (табл. 12.2). З відомих у нинішній час 70 гіберелінових кислот більш як 25 продукуються мікроскопічними грибами. Перелік таких грибів налічує представників більше

300 видів. До активних продуцентів ауксинів (ІОК) можна віднести *Penicillium obscurum*, *Aspergillus niger*, *Fusarium vasinfectum*, *Ceratocystis fagacearum*, *Monilia* sp., *Cladosporium* sp., а також багато мікоризних і облигатних фітопатогенних грибів.

Таблиця 12.2

**Регулятори росту рослин, що синтезуються грибами
(за Г.О. Муромцевим)**

Назва РРР	Організми-продуценти	Спектр фізіологічної активності
<i>Регулятори росту терпеноїдної природи</i>		
Котиленин А	<i>Cladosporium</i> sp.	Стимулює проростання насіння, розтягування клітин стебла, довжини міжвузля
Офіоболін А	<i>Helminthosporium oryzae</i> , <i>H.turcicum</i> , <i>Ophiobolus heterostrophus</i> , <i>Aspergillus ustus</i>	Фізіологічна активність інгібіторного характеру, антагоніст фузикоцину, пригнічує ріст корінця зародку у проростків рису, зменшує витягування сегментів колеоптилів ячменю, рису, пшениці, кукурудзи
Гельмінтоспорини	<i>Helminthosporium sativum</i>	Стимулюють ріст міжвузля проростків рису, гіпокотилів проростків огірка, амілолітичну активність ендосперму ячменю. Пригнічує проростання насіння ячменю і пшениці
Графінон	<i>Graphium</i> sp.	Стимулює проростання насіння салату в темряві, ріст листових дисків редису
Радиклонова кислота	<i>Неідентифікований гриб</i>	Стимулює ріст коренів китайської капусти і проростків рису
<i>Регулятори росту фенольної природи</i>		
Склерини і склеротиніни	<i>Sclerotinia libertiana</i>	Стимулюють ріст стебла і кореня у проростків рису
Метилловий ефір фенолкарбонової кислоти	<i>Penicillium</i> sp.	Стимулює ріст коренів у проростків китайської капусти
Метилляваніцин	<i>Fusarium solani</i>	Стимулює ріст коренів салату, другого міжвузля рису, пригнічує ріст гіпокотилів салату
<i>Регулятори росту – пірони</i>		
Песталоцин	<i>Pestalotia criptomeriacola</i>	Синергіст гіберліну в подовженні міжвузля, індукції амілази
Неовазінон	<i>Neocosmospora vasinfecta</i>	Прискорює ріст коренів проростків

Промисловими продуцентами цих сполук є *Gibberella fujikuroi*, *Fusarium moniliforme*, які відібрані за інтенсивними скринінговими програмами з використанням генетичних методів.

Майже 30 видів грибів здатні продукувати вільні цитокініни та цитокінінові компоненти, серед них такі продуценти, як *Amanita rubescens*, *Botrytis arthropyla*, *Helminthosporium avena*. До синтезу абсцизової кислоти здатні гриби *Cercospora rosicola*, *Botrytis cinerea*, *Cercospora cruenta*. Брасинопіди синтезує гриб *Cercospora arachidicola*, а фузикоцин – гриб *Fusicoccum amygdali*.

Представники стрептоміцетів продукують сполуки, які мають фітозахисний і рістстимулюючий вплив на рослини. Як показали дослідження К.І. Андрюк та О.В. Балагурової, біля 65% зі 195 досліджених штамів стрептоміцетів виявилися продуцентами ауксину. Цитокініни може синтезувати *Streptomyces flaveolus*.

Дослідження великої колекції культур бактерій роду *Pseudomonas* виявили, що майже всі вони здатні синтезувати сполуки, які стимулюють ріст рослин. Деякі штами ризосферних псевдомонад продукують індоліл-3-оцтову кислоту та цитокініни. В метаболітах збудників бактеріальних пухлин у рослин (наприклад, *Xanthomonas beticola*) знайдена значна кількість ростових речовин, більшість із яких може бути віднесена до ауксинів.

Під час вивчення синтезу індоліл-3-оцтової кислоти ризосферними псевдомонадами на генетичному рівні була показана можливість підвищення продукування цього фітогормону шляхом введення певних плазмід у клітини продуцента. Отримані транскон'югантні бактерії *Pseudomonas putida* BS1380 та *P.aureofaciens* BS 1393, які порівняно з батьківськими синтезували більше ІОК. Давно відомо, що бактерії роду *Azotobacter* позитивно впливають на проростання насіння та на ріст рослин таких культур, як озима пшениця, кукурудза, овочеві. Фундаментальними роботами Л.Й. Рубенчика показано, що стимулюючий вплив азотобактеру на вищі рослини зумовлений не тільки його здатністю фіксувати азот атмосфери, але і продукуванням біологічно активних речовин гіберелінової, ауксинової і цитокінінової дії. А.Ф. Антипчук зі співавт. виявили, що деякі культури азотобактера синтезують сполуки, які стимулюють ріст рослин, а також пригнічують розвиток фітопатогенних бактерій на насінні і проростках рослин.

Здатність продукувати речовини фітогормональної природи, і в тому числі гетероауксин, притаманна і бульбочковим бактеріям різних видів. У культурах цих мікроорганізмів виявлені також цитокініни та гібереліноподібні сполуки.

Останнім часом пошуки науковців зосереджені на отриманні мікробних асоціацій, які мають комплекс корисних властивостей. Підбір таких асоціативних культур дозволяє регулювати фітогормональний баланс рослин. Створено бактеріальну асоціацію, до складу якої входять *Bacillus firmus* E3 і *Klebsiella terrigena* E6. Ця асоціація має здатність до фіксації атмосферного азоту, синтезу цитокинінів, гіберелінів, ауксинів.

Здатність мікроорганізмів до синтезу фіторегуляторів використовується у біотехнологіях отримання цих сполук. Мікробний синтез біостимуляторів може забезпечити потреби сільськогосподарського виробництва, а отримані біотехнологічні продукти є сполуками природного походження, що важливо з точки зору екологічної безпеки. Крім того, вони значно дешевші, ніж ті, що отримують з рослинної сировини.

Серед сучасних препаратів мікробного походження найбільш поширені симбіонт-1, біон, екос, епін, емістим С. В Україні налагоджено виробництво вітчизняного препарату емістиму С, який одержують шляхом глибинного культивування у рідкому поживному середовищі мікроміцету *Cylindrocarpum magnusianum*, виділеного з ризоплани женьшеню. Емістим С є комплексом природних ростових речовин – аналогів фітогормонів ауксинової, цитокинінової природи, амінокислот, жирних кислот, полісахаридів, мікроелементів. Синергізм дії компонентів препарату зумовлює його високу фізіологічну активність. Він стимулює ріст та розвиток понад 20 сільськогосподарських культур.

Серед природних РРР відомі також препарати, що є продуктом біоконверсії органічних відходів за участі вермикультури. В Україні з вермикомпостів отримують біогумус, гумісол, вермистим, які містять мікро- і макроелементи, гумусові сполуки, речовини фітогормональної дії.

Синтетичні фіторегулятори останніми роками набувають все більшого поширення. Штучно синтезовані РРР виступають як аналоги або, навпаки, антагоністи відомих фітогормонів. Аналогом ауксинів є індоліл-3-оцтова кислота (ІОК), індоліл-3-масляна кислота (ІМК), 1-нафтилоцтова кислота (НОК). Ці речовини використовують при вегетативному розмноженні рослин, як стимулятори коренеутворення. Аналогами ауксинів є також фенілпохідні: 2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота (2,4-Д), 4-хлорфеноксиоцтова кислота (4Х), 2,4,5-трихлорфеноксиоцтова кислота (2,4,5-Т), 2(2,4,5-трихлорфенокси)пропіонова кислота (2,4,5-ТТ). Вони впливають на активність протонної помпи, зумовлюють розтягування клітин, процеси тропізмів. У малих концентраціях ці сполуки використовують для стимуляції росту калусних тканин, а у великих концентраціях вони діють як гербіциди, тому що викликають розбалансування гормональної системи рослин.

Антагоністами ауксинів є такі сполуки, як нафтилфталамінова кислота, її солі, 2,3,5-трийодбензойна кислота. Ці речовини блокують транспорт ауксина по рослині.

Антистресову дію, близьку до цитокінінів, виявляють синтетичні аналоги ряду зеатина (кінетин, 6-бензиламінопурин), а також тидиазурон (дропп), який відноситься до ряду дифенілсечовини. Аналоги цитокінінів використовують при вирощуванні калусних рослин, для формування крони садженців. Дропп застосовують як дефоліант бавовника.

До синтетичних речовин, які мають загальностимулюючу дію на рослини відноситься N-оксид 2,6-диметилпіридину, який отримав товарну назву івін. На сучасному етапі в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України під керівництвом С.П. Пономаренка модифіковані варіанти цього препарату, які отримані шляхом приєднання до івіну протонодонорів. Практичне застосування має комплекс івіну з янтарною кислотою, який отримав назву потейтин. Він активізує ріст картоплі, підвищує її стійкість до захворювань та до фунгіцидів. Перспективними виявились також комплекси івіну з яблучною кислотою, нітрат івіну, комплекс івіну з адіпіновою кислотою та ін. Вплив синтетичного препарату івіну подібний до дії фітогормонів: він підвищує інтенсивність транскрипції клітинного геному та активізує синтез РНК і білків. Останнє було встановлено з використанням мічених попередників синтезу РНК і білків – ^{14}C -урацилу та ^{14}C -амінокислот, які включались у синтез білків уже в перші 2–4 години після обробки рослин.

Синтетичні регулятори росту рослин більш дешеві, ніж природні. Їхнє виробництво не потребує використання рослинної сировини. Вони мають невисоку норму витрат (декілька грамів на гектар), не акумулюються в рослинах. Проте для синтетичних РРР важливим є питання про їх токсико-гігієнічну безпечність.

Згідно зі списком агрохімікатів і пестицидів, дозволених Держхімкомісією до використання в Україні, зареєстровано декілька вітчизняних стимуляторів росту рослин, таких як івін, емістім С, потейтин, зеастимулін, агростимулін, бетастимулін, триман-1, фумар, гумісол, вермистим.

Вплив регуляторів росту рослин на мікроорганізми вивчали у двох аспектах. Першим і найбільш вивченим є дослідження їх впливу на окремі промислово цінні штами з метою підвищення виходу їх біомаси або стимуляції фізіологічної активності. Другий, менш досліджений, але дуже важливий аспект – вивчення впливу рістрегулюючих речовин на формування і функціонування мікробних ценозів ґрунту та взаємодієносини мікроорганізмів і рослин.

При вивченні дії РРР на окремі культури мікроорганізмів було показано, що специфіка їх впливу значною мірою залежить від концентрації цих сполук та умов культивування (температура, рН, наявність поживних речовин та ін.). Відомо, що високі концентрації РРР впливають на мікроорганізми негативно, а оптимальні – позитивно. Проте у кожному випадку постає питання, які саме концентрації РРР для даного штаму мікроорганізму є оптимальними. Так, для *Azotobacter chroococcum* найкращим стимулятором виявився гетероауксин у концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ г/л, а для *Azotobacter vinelandii* – гіберелін у концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ г/л. За присутності індоліл-3-оцтової кислоти у продуцента протеаз *Bacillus subtilis* підсилювалось накопичення біомаси та активізувався біосинтез ферменту. Сучасні українські РРР емістим С і еней у концентраціях $1 \cdot 10^{-8}$ і $1 \cdot 10^{-10}$ г/л сприяли підвищенню питомої швидкості росту і накопиченню біомаси *Bacillus megaterium*, а також на 20–30% підвищували її фосфатазну активність, що є важливим з огляду на те, що ця культура є основою фосфобактерину і застосовується для поліпшення фосфорного живлення рослин.

Стосовно впливу гіберелінів на мікроорганізми у дослідників немає єдиної думки. Різні автори наводять дані як про відсутність їх впливу на мікроорганізми, так і про стимулюючу або пригнічуючу дію залежно від концентрації препарату та виду мікроорганізму. Показана відсутність впливу гіберелінів на ріст і фізіологічну активність дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, гриба *Penicillium exrausum*. Під час вивчення впливу різних концентрацій гібереліну на *Pseudomonas aeruginosa* було визначено, що у розведенні $1 \cdot 10^{-10}$ г/л він справляв стимулюючий ефект, у концентраціях від $1 \cdot 10^{-3}$ до $1 \cdot 10^{-4}$ г/л – пригнічуючий.

І. Мішке досліджувала вплив цитокінінів на мікроорганізми різної таксономічної належності – представників родів *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Brevibacterium*, *Saccharomyces*, *Candida*. Вона встановила, що реакція мікроорганізмів на внесення у поживне середовище цитокінінів неоднакова: у деяких мікроорганізмів вона відсутня, у інших спостерігається чітко виражена стимуляція, ступінь якої залежить від концентрації, складу середовища і фізіологічного стану культури. Позитивний ефект виявлявся у прискоренні росту клітин та уповільненні їх старіння.

Стосовно впливу РРР на мікробні угруповання ґрунту даних у літературі небагато. Г.О. Іутинською зі співавт. вивчався вплив на природні асоціації ґрунтових мікроорганізмів рістстимулюючих препаратів – івіну, емістиму С, агростимуліну. Встановлено, що зазначені РРР активізують ріст природних асоціацій ґрунтових мікроорганізмів та їх біохімічну активність, ініціюють синтез мікроорганізмами біологічно активних сполук,

стимулюють продукування антимікробних речовин до фітопатогенних бактерій і підвищують резистентність мікробних угруповань до несприятливих змін факторів навколишнього середовища.

Проводилося вивчення дії природних і синтетичних РРР на активність асоціативної азотфіксації. Фітогормони у концентраціях, які стимулюють розвиток рослин, також підвищують активність фіксування азоту асоціативними мікроорганізмами. Показано, що сполуки ауксинової та цитокінінової дії підвищують активність асоціативної фіксації азоту.

Вивчаючи дію синтетичного аналогу фітогормонів ауксиново-цитокінінової дії – триману, В.Волкогон зі співавт. показали, що цей препарат не впливав безпосередньо на культуру *Azospirillum brasilense* та її азотфіксуючу здатність, у той же час активізував процеси фіксування азоту шляхом дії на рослину. Механізм дії триману на процес асоціативної азотфіксації зводиться до таких основних моментів:

- збільшення кореневої системи, а відтак – місця існування для заселення азотфіксаторами;
- індукція синтезу азотасиміляторних ферментів рослини, що може привести до більш швидкого зниження концентрації зв'язаних форм азоту у кореневій зоні до оптимальних показників, які не гальмують синтез нітрогенази в клітинах діазототрофів;
- активізація хлоропластогенезу підвищує фотосинтез у рослин та вміст фотоасимілянтів, завдяки чому покращується забезпечення діазототрофів енергетичними ресурсами.

Відмічений позитивний вплив РРР на симбіотичну азотфіксацію за умов застосування оптимальних концентрацій препаратів. При замочуванні насіння гороху в 0,0005%-ному розчині гетероауксину кількість корневих бульбочок збільшувалась на 30–40%. Дослідженнями А.Ф. Антипчук зі співавт. було показано, що обробка насіння сої емістимом С та івіном також активізує ті бульбочкові бактерії, які існують у ґрунті сапротрофно, внаслідок чого значно підвищується продуктивність симбіозу, утвореного бобовими рослинами з популяціями бульбочкових бактерій, внесених у ґрунт з попередніми інокуляціями насіння сої. Особливо це набуває значення за умов, коли немає можливості провести бактеризацію живими культурами мікроорганізмів або погодні умови (низька вологість ґрунту, несприятливий температурний режим) перешкоджають ефективному розмноженню бактерій на коренях рослин.

12.1.4. Засоби хімічного захисту рослин від хвороб, шкідників і бур'янів

До нинішнього часу основним засобом боротьби проти захворювань рослин, їх шкідників та бур'янів залишаються хімічні препарати –

пестициди. На сьогодні кількість пестицидів є настільки великою, що існує потреба у їх класифікації. Пестициди поділяють на групи за об'єктами застосування, за способами проникнення до організму шкідників, за хімічною будовою.

За об'єктами застосування серед пестицидів виділяють: інсектициди – для боротьби зі шкідливими комахами, акарициди – з кліщами, нематодоциди – з нематодами, родентициди – з гризунами, фунгіциди – з фітопатогенними грибами, бактерициди – з бактеріями, вірусциди – з вірусами, гербіциди – для боротьби з бур'янами. До комплексних препаратів відносять речовини, які використовують для боротьби з різними шкідливими організмами, – інсектоакарициди, інсектофунгіциди.

За способами проникнення до організму шкідників розрізняють такі групи: кишкові, що діють при проникненні через рот та кишечник контактні – через шкіру, фуміганти – через органи дихання.

У класифікації за хімічним складом виділяють групи пестицидів залежно від певних елементів, функціональних груп або радикалів, що входять у ці сполуки, наприклад, мідь- і сірковмісні, хлорорганічні, фосфорорганічні, галогенопохідні циклічних вуглеводнів, похідні карбамінової кислоти, фенолу, фталіміду, хлоровані терпени, триазини, фенокси-кислоти, дитіокарбамати, гетероциклічні сполуки та ін.

Потрапляючи у ґрунт, пестициди включаються у фізико-хімічні і біологічні процеси, швидкість перебігу яких зумовлена комплексом абіотичних і біотичних факторів. До перших належать температура, вологість, випаровування, міграція, сорбційно-десорбційні процеси та інші.

Встановлено три головні шляхи міграції пестицидів у ґрунті: проникнення всередину агрегатів, дифузія всередині мікрочасточок та транспортування і сорбція в мікропорах. У ґрунті пестициди підлягають дії фізичних і хімічних факторів, внаслідок чого їх вміст може зменшуватись, наприклад, при гідролізі, фотолізі, випаровуванні.

Найважливішу роль у процесах сорбції хімікатів у ґрунті відіграє органічна речовина: показники сорбційної ємності різних ґрунтів по відношенню до пестицидів пропорційні вмістові в них органічних речовин.

Літературні дані щодо впливу засобів хімічного захисту рослин на ґрунтову мікробіоту свідчать про те, що специфіка їх дії залежить від багатьох факторів як об'єктивного, так і суб'єктивного характеру. Зокрема, слід враховувати ґрунтово-кліматичні умови, погодні умови року, особливості агротехніки вирощування культур, дозування препаратів, тривалість їх застосування по роках та багато інших.

Вивчення дії пестицидів має такі два важливі аспекти: 1 – вплив цих сполук на мікробну клітину й угруповання мікроорганізмів; 2 – трансформація мікроорганізмами внесених сполук.

Дані вивчення впливу пестицидів на мікробну клітину свідчать, що ці сполуки викликають різні ушкодження клітинних мембран і порушують їх проникність, а також знижують активність таких ферментів як АТФ-аза, цитохромоксидаза, нітрогеназа.

Дуже важливим є здатність деяких пестицидів та продуктів їх трансформації викликати мутаційні зміни в геномі мікроорганізмів. Ряд пестицидів – атразин, симазин, політриазин, семерон є генетично небезпечними для ґрунтових мікроорганізмів. Ґрунт, який систематично обробляється гербіцидами (лінуроном, атразином, аліроksom, ацетазинном), характеризується мутагенним фоном, що у 10–20 разів перевищує частоту спонтанних мутацій тест-мікроорганізмів.

Значна кількість дослідників вважає, що в цілому мікробні угруповання ґрунту здатні витримувати засоби хімічного захисту рослин у рекомендованих виробництву дозах. У більшості випадків при застосуванні засобів хімічного захисту рослин можливе тимчасове пригнічення чисельності певних видів або груп мікроорганізмів із наступним її відновленням. Багаторічне внесення гербіцидів спричиняє зменшення накопичення мікробної біомаси та збіднення видового різноманіття бактерій і грибів.

Відносно стійкими до дії пестицидів вважаються органогетеротрофні, педотрофні, оліготрофні, целюлозоруйнівні мікроорганізми. Більш чутливими є нітрифікуючі, вільножитні азотфіксуючі та бульбочкові бактерії.

На прикладі бульбочкових бактерій гороху було показано, що далапон і хлорацетат натрію у дозі 0,1 ммоль стимулюють, 1 ммоль – не діють, а 10 ммоль – пригнічують розвиток цих мікроорганізмів. Виявлена видова та штамova чутливість ризобій до дії засобів хімічного захисту рослин. У дозах, які негативно впливають на ріст ризобій, гербіциди та протравники призводять до послаблення вірулентності, зменшення кількості утворених бульбочок і розмірів зон бактероїдів; спостерігається також зниження нітрогеназної активності і вмісту леоголобіну. Ці висновки одержані в дослідях з горохом, квасолею, люпином, люцерною, коношиною та соєю.

За даними Ю.В. Круглова, пестициди одного класу діють по-різному залежно від хімічної структури аналогів. Так, негативний вплив гербіцидів на процеси нітрифікації та дихання ґрунту посилюється при переході від карбаматів до тіо- та дитіокарбаматів.

Відмічено, що тривале (більш як 5 років) внесення гербіцидів сприяє збільшенню кількості гуматрозкладаючих нокардій, крім того, за ра-

хунок випадіння бур'янів зменшується кількість коренових залишків. Все це призводить до збіднення запасів органічної речовини ґрунту. Вміст гумусу за умов застосування пестицидів зменшується на 9–18% порівняно з контролем (без їх застосування).

Не менш важливим аспектом взаємодії мікроорганізмів і пестицидів є трансформація цих сполук мікроорганізмами-деструкторами. Пестициди є ксенобіотиками, тобто такими сполуками, хімічна структура і характер зв'язків у молекулах яких не мають аналогів серед природних речовин. Незважаючи на те, що пестициди є екзотичними субстратами для мікроорганізмів, існують численні приклади їх біодеструкції. За даними М.С. Соколова та Р.Р. Олейникова гербіцид 2,4-Д розкладають бактерії – представники родів *Flavobacterium*, *Nocardia*, симазин – гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, а також бактерії родів *Arthrobacter*, *Flavobacterium*. Виділені культури грибів *Aspergillus alliaceus*, *Penicillium funiculosum*, які є активними деструкторами арилоксифеноксипропіонових гербіцидів. Описана також здатність представників роду *Pseudomonas* розкладати пестицид іпрадин, представників родів *Flavobacterium* та *Arthrobacter* – інсектициди.

Н.Д. Ананьевою зі співр. було показано, що чим більший вміст мікробної біомаси у ґрунті, тим швидше відбувається деструкція внесених пестицидів. Тобто мікроорганізми відіграють визначальну роль у очищенні ґрунту від цих забруднень.

Повна деструкція пестициду однією, навіть активною культурою практично не відбувається. Всі ензими, необхідні для деструкції ксенобіотиків, навряд чи синтезуються одним видом мікроорганізмів, а для ефективного розкладу цих сполук необхідні мікробні угруповання, що характеризуються різноманітним видовим складом. Г.К. Скрябин, Л.О. Головльова пояснюють це тим, що на різних стадіях деструкції беруть участь різні групи мікроорганізмів, у результаті чого мікроорганізми одного виду починають процес, а після цього трансформовану молекулу пестициду атакують мікроорганізми іншого виду. Таким чином, при руйнуванні пестицидів у ґрунті спостерігаються зміни в кількісному та якісному складі мікробних угруповань, тобто сукцесія. Встановлено, зокрема, що представники родів *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Nitrosococcus* здатні використовувати пестицид деляпон як джерело вуглецю.

Можлива деструкція пестицидів як неростових субстратів шляхом кометаболізму. За Л.О. Головльовою, кометаболізм – це феномен деградації або біотрансформації ксенобіотиків мікроорганізмами за умов присутності ростових субстратів, які можуть легко засвоюватись. Тобто ви-

користання додаткових субстратів забезпечує мікроорганізми енергією, кофакторами, ефекторами, окиснювачами, які необхідні для деградації пестицидів.

За наявності у середовищі двох субстратів – ростового і косубстрату мікроорганізми здатні здійснювати перетворення широкого кола речовин: ароматичних вуглеводнів та їх похідних, алкілпіридинів, феноксиалканових кислот та інш. Як ростові субстрати при кометаболізмі пестицидів можуть бути використані вуглеводи, спирти, органічні кислоти та ін.

У процесі деструкції ксенобіотиків мікроорганізми здійснюють ряд ензиматичних перетворень: гідроліз ефірних зв'язків, відокремлення алкільних груп, гідроскилювання ароматичного ядра, відновлення нітрогруп та ін. Руйнування і мінералізація ксенобіотиків має ряд відповідних метаболічних послідовностей. На рис. 12.4 представлені основні етапи мікробної деструкції гербіцидів нового покоління зеллеку та ілоксану, які є похідними арилоксифеноксипропіонової кислоти. Деструкція їх починається з гідролізу ефірного зв'язку двоядерних молекул з утворенням кислої форми гербіцидів. Подальша трансформація відбувається шляхом декарбоксилування, ароматичного гідроксилування, часткової дегалогенізації, можливе також відщеплення ацильної частини з розривом двоядерної структури молекул. Важливу роль у деструкції пестицидів відіграють оксидази широкої субстратної специфічності.

При розкладанні зазначених гербіцидів утворюється від двох до чотирьох стабільних продуктів деградації – галогенізовані гетероциклічні фенольні структури, які перевищують рівень персистентності і токсичності вихідних гербіцидів. Встановлено, що при деструкції хлорфенолів також можуть утворюватись проміжні продукти – хлоранізоли і поліхлордифенздіоксини, які більш токсичні, ніж пестициди, з яких вони утворились.

Проміжні продукти можуть накопичуватись у середовищі за умов, коли відсутні необхідні кофактори, ферменти або додаткові джерела енергії. Вони отруюють мікроорганізми і можуть зовсім перервати процеси очищення середовища від ксенобіотиків. Так, симтриазинові гербіциди (атразин, симазин, прометрин) у перші 3 місяці після їх внесення у ґрунт руйнуються на 70–75%, проте повної деструкції препаратів не відбувається. Залишкова їх кількість (3–6%) виявляється і через рік після застосування. При багаторазовому їх внесенні у ґрунті накопичуються продукти деструкції, в основному, це деалкіловані молекули, які зберігають гетероциклічне триазинове кільце. Вони характеризуються незначною гербіцидною дією, але негативно впливають на розвиток ґрунтової мікробіоти.

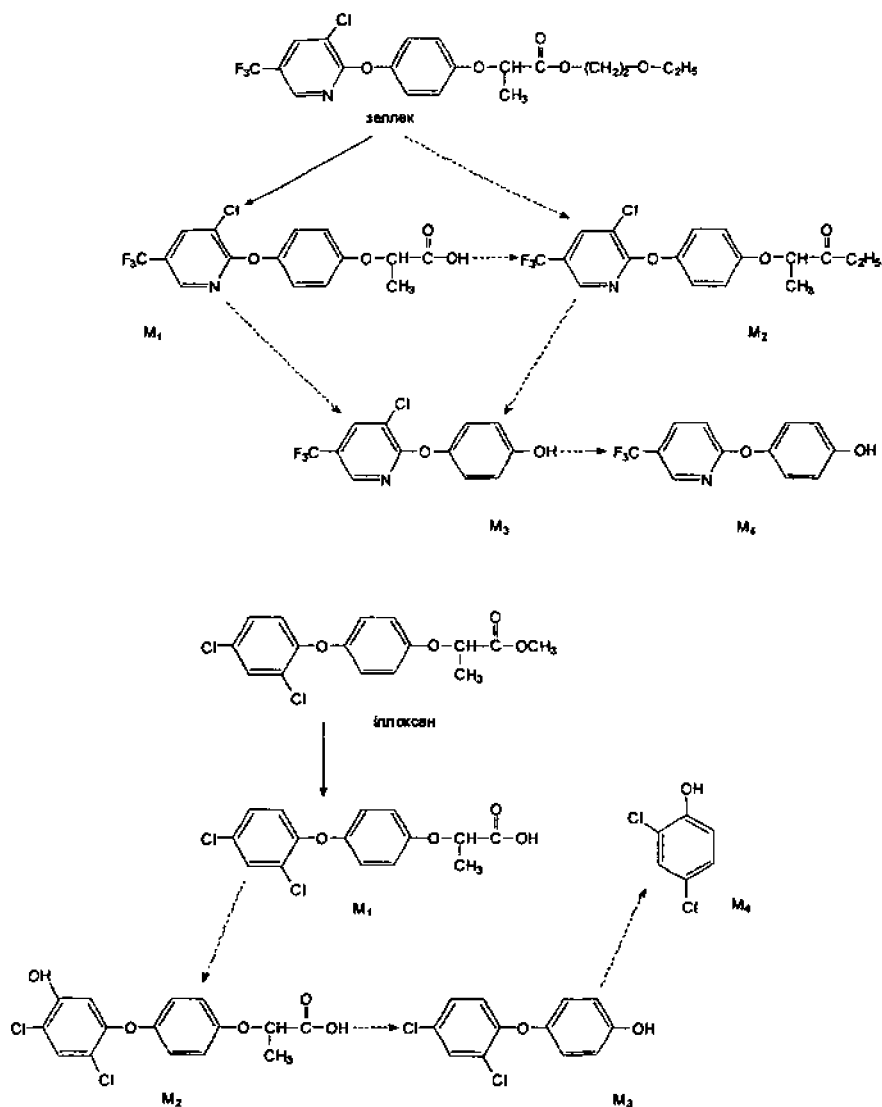


Рис. 12.4. Схема мікробної трансформації гербіцидів зепплек та ілоксану (за А. Міку, 1998 р.)

У ґрунті пестициди та продукти їх деградації можуть взаємодіяти з гумусовими сполуками і входити до їх складу, що підвищує стабільність цих небезпечних забруднень.

При тривалому застосуванні пестицидів відбувається перебудова мікробних угруповань із переважним розвитком мікроорганізмів, стійких до внесених сполук і здатних до утилізації цих речовин і їх аналогів. Це підштовхує виробників пестицидів на пошуки нових, ще більш токсичних препаратів. Тому ідея захисту рослин шляхом застосування штучно синтезованих токсичних сполук є тактично, екологічно й економічно недоцільною. Більшу перспективу мають екологічно нешкідливі біологічні методи (див. розділ 10.1).

12.2. Техногенне забруднення ґрунтів

Прогресуюче насичення біосфери політантами викликає велике занепокоєння і вимагає особливої уваги. Мігруючи в оточуючому середовищі, шкідливі речовини негативно впливають на важливі структурно-функціональні блоки екосистем, акумулюються у ґрунтах, рослинах, в організмах тварин і людини.

Для того щоб оцінити стан забруднення ґрунту, необхідно провести нормування вмісту політантів. В основу нормування вмісту шкідливих речовин у ґрунті покладено принцип, що припускає додаткове надходження їх до ґрунту у кількостях, безпечних для живих організмів. *Гранично допустимою концентрацією* (ГДК) шкідливої речовини у ґрунті вважають таку максимальну її кількість (виражену у мг на 1 кг ґрунту), що гарантує відсутність негативного прямого чи опосередкованого впливу на здоров'я людини та санітарні умови проживання населення. При оцінці безпеки надходження шкідливих речовин необхідно виходити з неприпустимості перевищення межі адаптаційних можливостей організму і самоочищувальної здатності ґрунту, тобто порогу безпечної дії. Під *порогом безпечної дії* хімічних речовин розуміють таку їх кількість, яка ще не викликає деструктивних змін в організмі, але перевищення якої призводить до появи негативних функціональних наслідків. У різних країнах світу значення ГДК неоднакові. Для визначення інтенсивності впливу техногенних забруднень на біологічні об'єкти використовують загальну схему типу *доза-відповідь*. У токсикологічних дослідженнях виділяють такі критерії дії токсикантів: *порогові концентрації*, при яких дія політанту ще не проявляється; *критичні (токсичні)*, при яких токсичний вплив забруднення найбільш негативний, проте не призводить до загибелі організмів; *летальний*, який викликає загибель організмів.

Для характеристики останнього найчастіше використовують такий показник, як LD_{50} – доза токсиканта, що викликає загибель половини популяції.

12.2.1. Забруднення іонами важких металів

Важкі метали – це група хімічних елементів із густиною більше ніж 5 г/см^3 або відносною атомною масою більшою за 40. Ряд важких металів (Mn, Co, Cu, Zn, Mo та ін.) давно відомі як мікроелементи, вони присутні в мікрокількостях у ґрунтах і необхідні для нормальної життєдіяльності рослин, тварин і людини. Відома позитивна роль цих металів в утворенні ряду біологічно активних речовин – ферментів, вітамінів, антибіотиків тощо. Доведено, що метали, входячи до складу багатьох ферментів, є активаторами їх дії. Метали утворюють з ферментами різноманітні металорганічні з'єднання різної міцності, завдяки чому беруть участь у процесах переносу електронів, зв'язують фермент із субстратом, на який він діє, і таке інше. Метали відіграють важливу роль у вуглеводному обміні, процесах дихання, утворенні пігментів.

Виділяють групу металів, за якими закріпилось негативне поняття – “важкі”, тобто токсичні. Це – ртуть (Hg), кадмій (Cd), свинець (Pb), хром (Cr), цинк (Zn), кобальт (Co) та інші. Їх іони відносять до найбільш небезпечних забруднень навколишнього середовища. Механізм токсичної дії важких металів може бути обумовлений антиметаболітною роллю, здатністю утворювати стабільні осади (хелати) з конструктивними метаболітами, можливістю каталізувати розпад життєво важливих метаболітів, у результаті чого вони стають недоступними для клітини, здатністю замінювати структурно важливі елементи, що призводить до порушення ферментної чи клітинної функції.

Надмірне накопичення важких металів у ґрунтах порушує перебіг природних процесів і загрожує здоров'ю живих організмів.

Основними джерелами забруднення ґрунту важкими металами є аерозольні викиди в атмосферу промислових підприємств і автотранспорту у вигляді окислів та сульфідів, тверді відходи промисловості, стічні води підприємств і тваринницьких комплексів, рідкі і тверді відходи міст, мінеральні добрива, пестициди та інші хімічні препарати, а також самі родовища металів.

Глибина проникнення у ґрунт важких металів, які надходять із газопиловими викидами промислових підприємств, на відстані від джерела забруднення 1–2 км досягає 25–45 см.

* Примітка: тут і далі термін “важкі метали” еживаний у розумінні іонної форми цього металу.

Застосування в сільському господарстві мінеральних і органічних добрив та різних хімічних засобів захисту рослин призводить до накопичення у ґрунті таких металів, як кадмій, мідь, свинець, нікель, цинк, кобальт і хром. Джерелом забруднення, з яким в орний шар ґрунту потрапляє до 50% загальної кількості важких металів, є фосфорні добрива.

Сільськогосподарські землі забруднюються також стічними водами. В їх осаді може міститись велика кількість важких металів, мг/кг: кадмію 13–90, міді 200–1600, нікелю 58–365, свинцю 73–610, хрому 320–2800, цинку 1400–4000, марганцю 200–500. Тривале застосування стічних вод для зрошення сільськогосподарських угідь призводить до значного збільшення валового вмісту важких металів, зокрема, їх доступних форм.

Потрапляючи у ґрунт, важкі метали розподіляються по шарах відповідно їх міграційної здатності. В основному вони акумулюються у верхньому гумусвісному шарі. У ґрунті важкі метали вступають у різні реакції: окислювально-відновлювальні, комплексоутворювальні, розчинення та ін. Завдяки їм метали у ґрунті зв'язуються або переходять в обмінну (рухому, водорозчинну) форму. Все це впливає на рівень їх токсичності по відношенню до ґрунтових організмів і рослин. Іони важких металів можуть вступати у взаємодію з фосфатами, карбонатами й іншими солями, адсорбуватись на поверхні глини, гідроксидів заліза, марганцю.

Важливу роль у міграції і трансформації важких металів відіграють ґрунтові мікроорганізми завдяки їхній здатності до деструкції рослинних і тваринних залишків. При цьому утворюються органічні сполуки, які активно реагують із металами. Продукти гуміфікації – фульвокислоти, гумінові кислоти – мають у своєму складі багато функціональних груп: карбоксильні, карбонільні, фенольні, гідроксильні, при взаємодії з якими формуються нерозчинні у воді металорганічні комплекси, нетоксичні для ґрунтових організмів і рослин.

Як бачимо, у ґрунтах діють механізми трансформації металів, зв'язування їх у малорухомі і незасвінні живими організмами форми. Існують і протилежні механізми переходу зв'язаних форм у рухомі. Наприклад, при зміні рН ґрунтового розчину від лужного до кислого підвищується рухомість важких металів. Загальний (валовий) вміст важких металів у ґрунті відображає сумарну кількість металу в усіх його формах. Існує позитивна кореляція між валовим вмістом важких металів і вмістом їх рухомих форм.

Прийняті в Україні нормативи гранично допустимих концентрацій важких металів у ґрунтах і рослинах представлені в таблиці 12.3.

Таблиця 12.3

**Валовий фоновий вміст і ГДК важких металів у ґрунтах,
мг у 1 кг ґрунту**

Елемент	Кларк (природний валовий вміст)	ГДК металів	
		валового вмісту	рухомих форм
Zn	50	100	23
Cd	0,5	3	0,7
Ni	40	85	4
Co	8	50	5
Mn	850	1500	50
Pb	10	32	2
Cu	20	55	3
Cr	75	100	6

Залежно від ступеня забруднення ґрунтів важкими металами виділяють п'ять типів екологічних ситуацій, які можуть складатися на землях будь-якого призначення: сприятливу, задовільну, передкризову, кризову і катастрофічну (таблиця 12.4). Відповідно до зазначених вище екологічних ситуацій змінюється і реакція ґрунтів на забруднення. У передкризовій ситуації відбуваються негативні зміни фізичних, хімічних і біологічних властивостей ґрунтів: різко зменшується агрегованість ґрунтової маси і її пористість; зростає рухомість глинистої фракції; зменшується вміст обмінних форм кальцію і магнію; руйнуються карбонати, гідроксиди заліза і піпсу; змінюється кількісний склад гумусу – підвищується рухомість гумінових кислот, знижується їх оптична густина, істотного пригнічення зазнає ґрунтова біота.

Таблиця 12.4

**Нормативи оцінок забруднення ґрунтів
важкими металами**

Екологічна ситуація	Вміст важких металів		
	валового вмісту		рухомих форм
	у ґрунті	у рослинах	
Сприятлива	на рівні кларків	< ГДК	< ГДК
Задовільна	< ГДК	< ГДК	< ГДК
Передкризова	< ГДК	< ГДК	1,1–2,0 ГДК
Кризова	1,1–10 ГДК	1,1–1,5 ГДК	2–100 ГДК
Катастрофічна	>10 ГДК	>1,5 ГДК	>100 ГДК

Забруднення ґрунтів важкими металами може охоплювати велику площу або бути локальним. Перше характерне для орних ґрунтів і спричинене використанням агрохімікатів, що містять домішки важких металів. При локальному забрудненні найбільш високий рівень накопичення важких металів у ґрунті відмічають поблизу джерела забруднення, а з віддаленням від нього рівень забруднення зменшується.

При попаданні у ґрунт важкі метали включаються у фізико-хімічні процеси, швидкість протікання яких зумовлюється комплексом абіотичних і біотичних факторів. До перших відносяться температура, вологість, випаровування, міграція, гідроліз, сорбційно-десорбційні відносини з ґрунтом та інші.

Відомо, що мікробні угруповання мають потенційну здатність до саморегуляції і пристосування до змін навколишнього середовища. *Резистентність (толерантність)* визначається як здатність мікроорганізмів рости за несприятливих умов, а *чутливість* — як пригнічення або загибель мікроорганізмів навіть при низьких дозах несприятливого фактору.

Резистентність мікроорганізмів до важких металів проявляється у здатності рости при високих граничних концентраціях поліутантів. При поступовому збільшенні концентрації важких металів може відбуватися адаптація мікроорганізмів. На теперішній час можна виділити декілька типів взаємодії мікроорганізмів із важкими металами, які зумовлюють резистентність: обмеження поглинання елементів із середовища клітинами мікроорганізмів, відновлення елементів, відкладення елементів всередині клітини у нешкідливій формі, метилювання металів, виключення з метаболізму клітини ланки, яка чутлива до даного металу.

У бактеріальному угрупованні, яке піддається впливу будь-якого одного металу, наприклад міді, збільшується резистентність саме до міді, але не до кадмію, нікелю чи іншого металу. За присутності суміші металів виникає резистентність мікробних угруповань до всіх цих металів. Зі збільшенням толерантності мікроорганізмів до важких металів негативний вплив останніх на мікробні угруповання зменшується, що підтверджується збільшенням біомаси бактерій. Розвиток резистентності до металів дозволяє мікробним угрупованням зберегти їх функції.

Важливим механізмом пристосування мікробних ценозів до несприятливих факторів є принцип взаємозаміни: якщо одна популяція бактерій гине, то інша, менш чутлива до цього фактору, може виконувати її функції. Високі концентрації важких металів відіграють роль селективного фактору, внаслідок дії якого в угрупованнях переважають мікроорганізми, стійкі (резистентні) до цього забруднення (рис. 12.5).

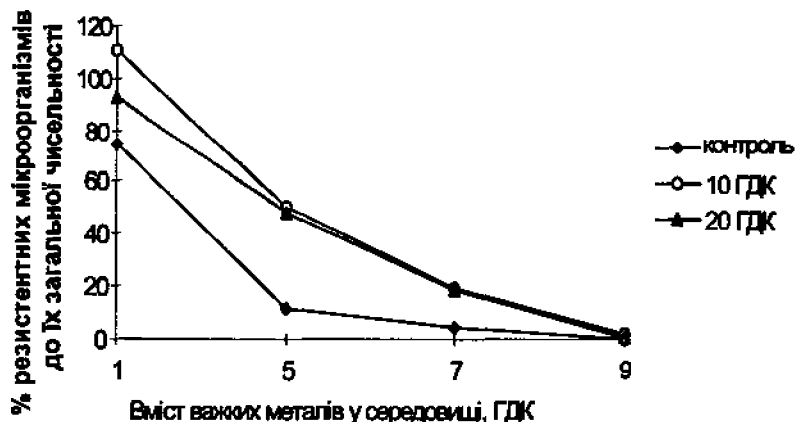


Рис. 12.5. Вплив важких металів на вміст резистентних мікроорганізмів в угрупованні хемоорганогетеротрофів

В.Н. Гузев і співроб. в лабораторних експериментах, що моделювали забруднення ґрунтів важкими металами (*Cd*, *Pb*), показали, що мікробне угруповання має 4-етапну реакцію на зростаючий градієнт концентрації забруднень: зони гомеостазу, стресу, резистентності та репресії:

1) зона гомеостазу мікробного угруповання існує за таких концентрацій полютанту, коли склад і кількісне співвідношення видів в угрупованні залишаються без змін; можливе незначне зростання загальної мікробної біомаси, що свідчить про стимулюючий вплив низьких концентрацій забруднюючої речовини;

2) зона стресу спостерігається за таких концентрацій діючого агента, що викликають значні зміни в кількісному співвідношенні мікробних популяцій в угрупованні, проте якісний склад угруповання змінюється несуттєво;

3) зона резистентності формується за концентрацій забруднень, які викликають різке зменшення видового різноманіття, коли виживають тільки резистентні популяції;

4) зона репресії викликається такими концентраціями важких металів, що спричиняють повне пригнічення росту і розвитку мікроорганізмів у ґрунті, тобто унеможливають функціонування угруповання.

Отже, мікробним угрупованням ґрунту властива здатність протистояти впливу факторів середовища або повертатися у вихідний стан

після відхилень. Завдяки стійкості мікробні угруповання підтримують свій гомеостаз – внутрішню динамічну рівновагу, здатність відновлювати чисельність і співвідношення компонентів їх структури, регенерувати матеріальні і енергетичні запаси. Гомеостаз забезпечує надійність функціонування мікробної системи за дії несприятливих факторів.

Проведені Г.О. Іутинською зі співавт. дослідження показали, що вплив забруднення на динаміку чисельності хемоорганогетеротрофних мікроорганізмів проявляється у пригніченні їх розвитку у першу-другу добу після попадання металу у ґрунт та у поступовому відновленні кількості мікроорганізмів у наступні строки експозиції (рис. 12.6).

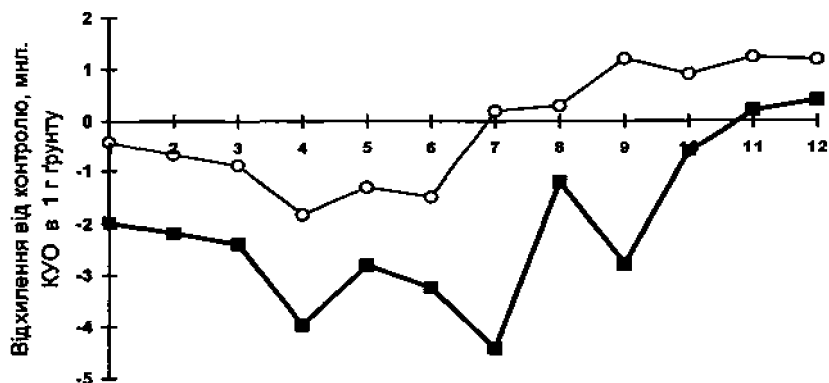
Ступінь пригнічення і швидкість відновлення чисельності мікроорганізмів значною мірою залежать від виду і дози забруднення. У дослідях з модельним забрудненням ґрунту солями міді і ртуті у дозах 2 і 4 ГДК було показано, що при збільшенні вмісту токсиканту в ґрунті зменшується виживання мікроорганізмів та подовжується період відновлення їх чисельності. За умов забруднення ртуттю чисельність мікроорганізмів не відновлюється протягом всього періоду спостережень (більш як 150 діб), що вказує на порушення механізмів резистентності і гомеостазу мікробних угруповань. Забруднення ґрунту сумішшю солей важких металів має більший негативний вплив на ґрунтові мікроорганізми у порівнянні з окремими металами, взятими у таких же концентраціях.

Вивчення гомеостазу мікробних угруповань ґрунтів, забруднених важкими металами, дає можливість визначити допустимі дози забруднення, при яких ще не порушуються можливості мікробного угруповання відновлювати свою чисельність і функції.

Поступове збільшення чисельності мікроорганізмів у забрудненому ґрунті можна пояснити, по-перше, зменшенням токсичності важких металів внаслідок їх зв'язування ґрунтовим поглинаючим комплексом і часткового вимивання рухомих форм політантів. По-друге, в структурі мікробних угруповань відбулися якісні зміни видового складу з переважним розвитком мікроорганізмів, резистентних до високих концентрацій токсикантів.

При вивченні резистентності до іонів важких металів мікроорганізмів різних груп встановлено, що прокаріоти (бактерії, актиноміцети) є більш чутливими до забруднення, порівняно з еукаріотами (мікроскопічними грибами). Серед еубактерій азотфіксуючі виявляють більшу чутливість до важких металів у порівнянні з хемоорганогетеротрофними, целюлозоруйнівними або нітрифікуючими.

Забруднення міддю



Забруднення ртуттю



Рис. 12.6. Відхилення від чисельності органогетеротрофних мікроорганізмів у ґрунті контрольної ділянки

Дослідження, проведені А.Ф. Антипчук щодо видової та штамової чутливості діазотрофів до катіонів двовалентних важких металів показали, що при забрудненні ґрунту на рівні 5 ГДК і більше спостерігається значне пригнічення розвитку вільноіснуючих азотфіксуючих мікроорганізмів (табл. 12.5). Найбільш стійкими до негативної дії важких металів виявились олігоазотрофні мікроорганізми, а найбільш вразливими – представники роду *Azotobacter*. Чутливість останніх до антропогенних забруднень можна використати як індикатор забруднення ґрунту. За зменшенням негативного впливу на вільноіснуючі діазотрофи досліджені метали можна розташувати у такій послідовності: $Hg^{2+} > Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Sr^{2+}$.

Іони важких металів негативно впливають на параметри росту ризобій. На прикладі бульбочкових бактерій гороху та люцерни показано, що під дією полютантів у симбіотрофних азотфіксаторів лаг-фаза подовжується на 4–8 годин, питома швидкість росту зменшується в 1,6–3,3 рази, вихід біомаси знижується в 1,1–3,0 рази. Виявлено посилення питомої продуктивності екзополісахаридів ризобіями під дією зростаючих доз полютантів. Це може бути одним із механізмів захисту симбіотрофних азотфіксуючих бактерій від шкідливої дії важких металів і формування їх екологічної пластичності.

Таблиця 12.5

Кількість вільноіснуючих азотфіксуючих мікроорганізмів у ґрунті, забрудненому важкими металами у дозі 5 ГДК

Варіанти досліджу	Аеробні бактерії			Анаеробні бактерії, млн. КУО/г ґрунту
	олігоазотрофи, млн. КУО/г ґрунту	азоспірили, тис. КУО/г ґрунту	азотобактер, % оброслих грудочок	
Контроль	19,9 ± 2,4	25,4 ± 1,8	96	7,4 ± 0,9
Забруднення:				
Hg^{2+}	15,7 ± 1,2	7,8 ± 0,8	34	2,8 ± 0,5
Pb^{2+}	14,4 ± 1,3	10,8 ± 1,1	32	2,8 ± 0,5
Cu^{2+}	14,4 ± 1,3	15,7 ± 1,2	48	4,6 ± 0,7
Sr^{2+}	23,7 ± 1,9	27,2 ± 1,9	56	7,3 ± 0,8
Cd^{2+}	31,8 ± 2,1	6,2 ± 0,8	78	15,7 ± 1,3

Дослідження системи "мікроорганізм – рослина" на прикладі симбіозу *V. jarrowii* з рослинами сої показало, що в забрудненому ґрунті порушуються процеси формування та функціонування бобово-ризобі-

ального симбіозу: знижуються активність нодуляції та інтенсивність фіксації атмосферного азоту, зменшуються листова поверхня і фотосинтетична активність рослин. Виявлені порушення призводять до зменшення врожаю і погіршення його якості за рахунок зниження вмісту білка (табл. 12.6).

Таблиця 12.6

**Формування та ефектиєність симбіозу
сої з *Bradyrhizobium japonicum* у ґрунті, забрудненому
важкими металами**

Варіант досліджу	Кількість бульбочок на 1 рослину, шт.	Маса бульбочок на 1 рослину, г	Фактична азотфіксуюча активність, мкмоль C_2H_4 на 1 рослину за 1 годину	Суха маса однієї рослини, г	Вміст білка в урожаї, %
Контроль	63	1,40	2,52	8,1	31,5
У ґрунті, забрудненому важкими металами:					
Cd^{2+} , 10 ГДК	35	0,59	1,12	3,5	19,8
Cd^{2+} , 20 ГДК	10	0,25	0,23	2,3	13,2
Cu^{2+} , 10 ГДК	53	0,83	1,25	5,9	28,9
Cu^{2+} , 20 ГДК	52	0,81	0,32	4,8	25,4
Pb^{2+} , 20 ГДК	14	0,27	0,41	3,7	22,8
Pb^{2+} , 40 ГДК	6	0,13	0,30	2,7	19,7

Повільнорослі бульбочкові бактерії роду *Bradyrhizobium* виявилися більш стійкими до дії важких металів, ніж швидкорослі представники роду *Rhizobium*. За чутливістю до важких металів бульбочкові бактерії розподіляються у такій послідовності:

R.leguminosarum > *R.melioti* > *B.galega* > *B.japonicum* > *B.lupini*.

Невід'ємним компонентом мікробних ценозів ґрунтів є стрептоміцети. Вони не тільки широко розповсюджені в природі, але й мають великі потенційні можливості як активні продуценти антибіотиків, ферментів, вітамінів групи В, лектинів та ін. Стрептоміцети виявляють чутливість до високих концентрацій важких металів у ґрунті, проте окремі їх штами є стійкими до цих забруднень. Тип ґрунту визначає стійкість стрептоміцетів до важких металів, наприклад, *S.coelicolor* та *S.melanocyclius* у дерново-підзолистому ґрунті витримують забруднення солями свинцю до 100 мг/кг, в той час як у чорноземі вони виживають при збільшенні дози удвічі.

О.В. Валагуровою і В.Є. Козирицькою були досліджені культуральні і фізіологічні особливості окремих видів стрептоміцетів в умовах змодельованого забруднення важкими металами природних та штучних середовищ.

Лабораторні досліді з колекційними культурами показали, що під впливом іонів важких металів колонії стрептоміцетів дрібнішали; культури втрачали повітряний міцелій, а якщо він і утворювався, то був значно слабшим і знебарвлювався; субстратний міцелій також втрачав природне забарвлення; культури поступово втрачали здатність до спорутворення. Розчинний пігмент, якщо він і був на початку, зникав одночасно з погіршенням росту культури.

Серед стрептоміцетів були виявлені культури як чутливі, так і стійкі до важких металів. Найбільш чутливими були *Streptomyces versipellis* (секція *Cinereus* / серія *Achromogenes*), *S.griseoalbus* (*Albus* / *Albocoloratus*) та *S.viridogenes* (*Cinereus* / *Chrysomallus*). Ці культури можна використовувати як тест-об'єкти на забруднення ґрунту важкими металами.

Сстійкі культури стрептоміцетів (*S.albaduncus*, *S.alboviridis*) добре росли за присутності окремих металів і здатні були накопичувати в 1 г сухого міцелію до 230 мкг міді, до 209 мкг кадмію та до 653 мкг свинцю. Сстійкі культури можна використовувати як біологічний меліорант забруднених ґрунтів.

За природних умов у ґрунті забруднених ділянок чисельність стрептоміцетів зменшувалась у 2,5–7 разів у порівнянні з контрольним. При цьому відбувалась суттєва якісна перебудова таксономічної структури угруповання стрептоміцетів.

У забрудненому ґрунті спостерігали значне збільшення відносного вмісту представників серій *Albocoloratus* та *Achromogenes*, а також зменшення, і навіть зникнення, представників серій *Violaceus* та *Fuscus*. Такі зміни можуть бути індикаційними показниками на забруднення ґрунтів важкими металами.

Шляхи оздоровлення ґрунтів, забруднених важкими металами

Захист ґрунтів від техногенних забруднень базується перш за все на вдосконаленні технології і принципів організації виробництва. Створення замкнених технологічних циклів, організація безвідходного виробництва різко скорочують, іноді навіть зовсім виключають джерела надходження до ґрунту забруднень.

Що ж стосується ґрунтів, забруднених яких техногенними відходами перевищує ГДК, то для відновлення їх до стану, придатного для використання, необхідно проводити спеціальні заходи. Такі заходи називаються санацією ґрунтів, реабілітацією, оздоровленням. Виділяють такі методи санації ґрунтів, забруднених важкими металами: переміщення і видалення забруднень, регулювання рухомості важких металів у ґрунті, фітосанація, використання мікроорганізмів для реабілітації ґрунтів.

– *Переміщення і видалення забруднень.* Достатньо ефективним і економічно доцільним заходом є звичайна оранка ґрунту з обертом скиби на глибину 25–30 см. За високих рівнів забруднення знімають і видаляють з поля верхній шар ґрунту. Для цього використовують спеціальну техніку: скрепери, грейдери, бульдозери. Проте слід мати на увазі, що видалення поверхневого шару ґрунту призводить до зниження його родючості. В інших випадках, коли забруднення концентрується в спеціальних місцях заховання (траншеях), це може викликати забруднення ґрунтових вод.

– *Регулювання рухомості важких металів у ґрунті* можна проводити як шляхом їх закріплення, так і, навпаки, підвищення їх розчинності. *Фіксація (закріплення)* речовин у ґрунті сприяє зменшенню їх надходження як у рослини, так і в ґрунтові води. Перехід важких металів у форми, які недоступні рослинам, є найчастіше наслідком їх взаємодії з гумусовими сполуками ґрунту з утворенням орґано-металічних комплексів. Фіксація важких металів у ґрунті може бути результатом їх взаємодії з неорґанічними сполуками, наприклад, сірководнем, карбонат- і фосфат-іонами.

На рухомість важких металів у ґрунті значно впливають окисно-відновні умови (рН). Нейтральні і лужні умови обмежують рухомість важких металів, оскільки більшість їх зв'язується і осаджується карбонатами. Для зниження до мінімуму доступності важких металів необхідно підтримувати рН у ґрунті близько 6,5.

Для зв'язування важких металів застосовують спеціальні сорбенти орґанічної і неорґанічної природи. Позитивні результати дає використання цеолітів як неорґанічних сорбентів. Природні цеоліти – це гідроалюмосилікати каркасної будови, які мають порожнини і канали молекулярного розміру. Вони є активними сорбентами забруднень, а одночасно і джерелами елементів живлення, завдяки чому покращують фізичні властивості ґрунтів. Внесення цеолітів у ґрунт супроводжується істотним зменшенням (на 20–60%) акумуляції рослинами стронцію, нікелю, хрому, марганцю.

Для зменшення рухомості важких металів і детоксикації ґрунту можна використовувати також субстрати, які мають високу ємність поглинання по відношенню до забруднень: глину, глинисті мінерали (вермикуліт та монтморилоніт), декарбонізований кальцит, сапропель. Для санції великих територій як сорбенти використовують торф і буре вугілля.

Підвищення рухомості дає можливість переміщення іонів важких металів у більш глибокі шари ґрунту, що також зменшує небезпеку надходження їх до рослин і організму людини, проте може спричинити забруднення ґрунтових вод. У кислому середовищі елементи активно мігрують униз по ґрунтовому профілю і можуть виноситись за його межі з ґрунтовими водами.

Підвищення рухомості важких металів використовують одночасно з промивкою ґрунту. Такі заходи проводять у місцях промислового виробництва при рівнях забруднення, небезпечних для здоров'я людини. При використанні протитокового методу екстракції важких металів, який включає видалення карбонатів, кислотну солюбілізацію, промивку і випарування, можна вилучити більш як 85% кадмію, 15% міді і свинцю, 25% цинку. Розроблені також технології очистки забрудненого ґрунту, які включають електроосмос, кислотну промивку та ін., проте вони є дуже витратними (50–500\$ США/т ґрунту) і вимагають спеціального обладнання. До того ж ці промивки негативно впливають на структуру ґрунту, вміст гумусу та інші його властивості.

– **Фітосанація.** В природі існують рослини, яким притаманна здатність витримувати присутність у ґрунті важких металів у великих кількостях і, більш того, накопичувати їх у зеленій масі. Одним із таких є металостійкий і гіперакумулюючий вид *Thlaspi caerulescens*, який у кислих ґрунтах може накопичувати на 1 кг сухої біомаси до 18455 мг цинку та до 1020 мг кадмію. У разі використання рослин для очищення ґрунту їх біомасу, як правило, захоронюють або спалюють (за умов використання фільтрів, які затримують аерозольні продукти спалювання).

Властивість накопичувати іони важких металів у фітомасі виявляють і сільськогосподарські культури – зернові, зернобобові, овочеві. Зважаючи на це, на ґрунтах, забруднених важкими металами, вирощують переважно технічні культури, що йдуть на переробку, або такі, що слабо накопичують метали.

– **Використання мікроорганізмів для оздоровлення ґрунту.** Цей засіб санації базується на здатності мікроорганізмів вилучати з ґрунту важкі метали, акумулюючи їх усередині клітин. Пом'якшення токсичної дії важких металів у ґрунті може відбуватись і внаслідок їх взаємодії з продуктами метаболізму мікроорганізмів. Так, наприклад, біогенний сірководень, який продукується сульфатвідновлювальними бактеріями, осаджує важкі метали у вигляді нерозчинних сульфідів. Певну роль відіграють і мікробні екзополісахариди, які можуть зв'язувати метали, видаляючи їх із середовища. Мікроорганізми можуть впливати на рН ґрунту і таким чином змінювати рухомість катіонів важких металів. Такі продукти життєдіяльності мікроорганізмів як органічні кислоти підвищують розчинність, а відповідно, і рухомість важких металів.

Мікробну реабілітацію ґрунтів, забруднених важкими металами, можна здійснювати шляхом використання як спеціально селекціонованих і адаптованих культур мікроорганізмів, так і активізацією розвитку аборигенної мікробіоти, яка неспецифічно акумулює важкі метали. Для

цього у ґрунт необхідно внести відповідні джерела живлення, наприклад, органічні і мінеральні добрива.

Як бачимо, для оздоровлення ґрунтів, забруднених важкими металами, можливе застосування різних заходів. Їх вибір залежить від цілей використання земель, крім того, необхідно враховувати тип ґрунту, вид забруднення та можливий вплив того чи іншого заходу на ґрунтову мікробіоту.

12.2.2. Забруднення нафтою та продуктами її переробки

У зв'язку з інтенсифікацією споживання енергоносіїв нафта і продукти її переробки все частіше стають джерелами забруднення ґрунту, особливо при порушенні правил їх збереження і транспортування, які призводять до аварійних розливів. Підраховано, що при видобутку, транспортуванні і переробці щорічно втрачається біля 50 млн. т нафти. Нафта змінює фізичні властивості ґрунту, особливо зростає гідрофобність ґрунтових часточок. Це викликає зменшення інтенсивності транспірації, порушення газового режиму при обмеженні проникності кисню, зміну окисно-відновного потенціалу і кислотності шарів ґрунту, що знаходяться нижче верхнього забрудненого шару. Зміни можуть бути незворотними і призводити до утворення бітумних солончаків, гудронізації, цементації.

Токсичність нафти для мікробіоти і рослин визначається наявністю в ній летких ароматичних вуглеводнів (толуолу, ксилолу, бензолу), нафталінів та деяких водорозчинних фракцій: вуглеводні, нафтенові кислоти, феноли. При випаровуванні їх із ґрунту токсичність нафтозабруднення зменшується. Нелеткі ароматичні сполуки типу крезолів, толуїдину менш токсичні, але вони довше залишаються у воді і ґрунті.

Дія нафти на мікроорганізми визначається її концентрацією. Низькі концентрації нафти мають стимулюючий вплив на мікроорганізми, оскільки вони слугують енергетичним субстратом, а також містять речовини, які стимулюють ріст мікробіоти і рослин. При масованому попаданні у ґрунт значної кількості нафти вона має гостру токсичну дію на мікробні угруповання. Так за даними Д.Г. Звягінцева, В.С. Гузева, за концентрації, яка не перевищує 0,7 мл/кг ґрунту, мікробне угруповання стійке до забруднення; при збільшенні вмісту забруднення до 50 мл/кг в угрупованнях відбувається зміна домінуючих видів (переважають стійкі до забруднення види); в інтервалі концентрацій від 50 до 300 мл/кг видовий склад мікробіоти збіднюється до 2–3 видів, стійких до забруднень; подальше збільшення вмісту нафти у ґрунті понад 300 мг/кг викликає

повну загибель мікроорганізмів. Слід зазначити, що насіння тест-рослин (крес-салату) втрачає схожість і гине вже при концентрації нафти 50 мл/кг ґрунту.

У ґрунтах, забруднених нафтою та продуктами нафтопереробки, відбуваються зміни чисельності мікроорганізмів основних екологічних груп. Як показали дослідження О.М. Дуп'єрова, у чорноземному ґрунті (Полтавська область), забрудненому нестабільним бензином (газовий конденсат) у дозі 600 мг/кг, найбільш чутливими до забруднення нафтою є амоніфікуючі, нітрифікуючі бактерії, целюлозоруйнівні мікроорганізми; більш стійкими виявились оліготрофні і спороутворюючі бактерії. Із ґрунтів, забруднених нафтою, виділені також резистентні штами грибів – *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium lanosum*, які виявляли здатність рости у рідких поживних середовищах за присутності *n*-алканів у концентраціях від 0,2 до 20%.

Трансформація нафти і нафтопродуктів мікроорганізмами. Важливою екологічною властивістю мікроорганізмів є здатність засвоювати вуглеводні як єдине джерело вуглецевого живлення або здійснювати їх деструкцію шляхом кометаболізму при засвоєнні інших джерел живлення. Існують мікроорганізми, здатні окиснювати різні вуглеводні – *n*-алкани, ароматичні вуглеводні, тверді парафіни. Такі властивості виявлені у представників бактерій *Arthrobacter* (*A.paraffineus*, *A.simplex*), *Nocardia* (*N.petroliophila*), *Pseudomonas* (*P.aeruginosa*, *P.fluorescens*, *P.oleovorans*), *Mycobacterium* (*M.smegmatis*), *Corynebacterium* (*C.glutamicum*), *Bacillus* (*B.megaterium*), *Rhodococcus*, дріжджів родів *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Torulopsis*, грибів родів *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mortierella*, *Pullularia*. Саме ці мікроорганізми переважають в угрупованнях водойм і ґрунту при нафтозабрудненні. Завдяки діяльності вуглеводеньокиснюючих мікроорганізмів нафта трансформується до простих сполук, відбувається накопичення нової органічної речовини і подальше її включення до кругообігу вуглецю.

Засвоєння мікроорганізмами алифатичних (ланцюгових) і циклічних вуглеводнів відбувається аеробним і анаеробним шляхами.

Для *n*-алканів визначені такі шляхи аеробного окиснення:

- монотермінальне окиснення кінцевої метильної групи до первинної спиртової групи за участю монооксигенази з подальшим її окисненням послідовно до альдегіду монокарбонової кислоти, яка підлягає β-окисненню;

- монотермінальне окиснення з утворенням через вторинний спирт відповідного метилкетону;

• дитермінальне окиснення, коли термінальні групи *n*-алкану окиснюються одночасно або послідовно з утворенням дикарбонових кислот.

Циклоалкани (циклопентанол, циклогексан) є більш стійкими сполуками. Частіше усього їх деструкція відбувається за умов кометаболізму при одночасному окисненні з легкозасвоюваними субстратами або з *n*-алканами. Циклоалкани не індукують синтез ферментів, які викликають їх окиснення.

Ароматичні вуглеводні (бензол, толуол, ксилол, нафталін) трансформуються мікроорганізмами шляхом гідроксилювання, руйнування ароматичного кільця і перетворення дифенолів.

Стосовно анаеробної деструкції вуглеводнів відомостей мало. Є дані про те, що багатоланцюгові алкани й алкени можуть використовуватись сульфатвіднолювальними бактеріями, що віднесені до δ -підкласу протеобактерій, а також деякими метаногенними бактеріями. Передбачається, що початковими етапами анаеробної деструкції вуглеводнів є активація молекули з наступним відривом C_1 -фрагменту.

У природних середовищах розрізняють 3 основні стадії деградації нафти.

На першому етапі домінують фізико-хімічні процеси випаровування, інтенсивність яких залежить від якості нафти, її щільності, в'язкості, наявності колоїдів, здатних її зв'язувати, а також від температури середовища. Завдяки вивітрюванню і випаровуванню видаляються низькомолекулярні газові і легколеткі компоненти нафти, які зумовлюють гостру токсичність забруднення.

На другому етапі відбувається мікробна деградація нафти аборигенними мікробними популяціями, які використовують нафту як джерело вуглецевого живлення. Цей етап може тривати декілька років. У цей період відбувається мікробне окиснення нафти, яке веде до спрощення її структури. Завдяки діяльності вуглеводеньокиснюючих мікроорганізмів зменшується вміст низькомолекулярних фракцій – *n*-алканів (із довжиною ланцюга C_{15} – C_{18}) і простих ароматичних вуглеводнів. Більш повільно розкладаються важкі фракції *n*-алканів (із довжиною ланцюга C_{27} – C_{30}) і поліциклічні ароматичні вуглеводні, залишаються нерозкладеними смоли і асфальтени (тритерпени). У той же час накопичуються проміжні продукти деструкції – ароматичні й аліфатичні ефіри, кетони, альдегіди.

На третьому етапі у середовищі залишаються тільки високомолекулярні і важкодоступні для мікроорганізмів фракції, які руйнуються, переважно, шляхом кометаболізму, а не як ростові субстрати.

Природне самоочищення ґрунту від нафтового забруднення є довготривалим. Наприклад, у дерново-підзолистому ґрунті при забрудненні дозою 8–24 л нафти на 1 м² поверхні через рік її залишається до 40–

45%. Швидкість деструкції нафти залежить від багатьох факторів: типу ґрунту, механічного складу, вологості, аерації, pH, вмісту органічної речовини та ін. Важливу роль в очищенні ґрунту від нафтозабруднень відіграють мікроорганізми.

Інтенсифікації цього процесу можна досягнути двома шляхами: 1 – створенням оптимальних умов для деструкції нафтозабруднень аборигенними угрупованнями; 2 – інтродукцією у середовище селекціонованих культур – активних деструкторів нафти.

Для очищення середовища першим шляхом необхідно у забруднені водойми і ґрунт вносити елементи мінерального живлення (у першу чергу, азот і фосфор). Тоді за умов споживання азоту мікроорганізми вимушені компенсувати потреби у вуглеці з нафтопродуктів. Наприклад, застосування азотних і фосфорних добрив прискорює деградацію нафти: за 16 місяців вона розкладається на 60–70%.

За умов застосування спеціально селекціонованих бактеріальних культур для підвищення активності деструкції також необхідно забезпечувати мікроорганізми мінеральними компонентами живлення. Очищення середовищ за допомогою мікробних культур-деструкторів нафти відбувається з більшою швидкістю.

Технології рекультивациі ґрунтів, забруднених нафтою, базуються на використанні чистих або змішаних культур, здатних розкладати нафту, а також на методах стимуляції мікробної деструкції нафти шляхом вапнування кислих ґрунтів, внесення мінеральних і органічних добрив, оранки. Стратегія рекультивацийних заходів передбачає такі етапи:

Підготовчий етап безпосередньо після забруднення полягає у механічному збиранні забруднень, після чого проводиться розпушування ґрунту для інтенсифікації випаровування летких фракцій та окиснення окремих її компонентів.

Етап інтенсифікації мікробної деструкції полягає у створенні умов для стимуляції розвитку аборигенних популяцій вуглеводеньокиснюючих мікроорганізмів. Оскільки ароматичні сполуки використовуються мікроорганізмами як джерело вуглецю, доцільно вносити у ґрунт джерела азотного і фосфорного живлення у формі мінеральних добрив. Необхідно також забезпечувати нормальні умови вологозабезпечення й аерації. В природних умовах самоочищення ґрунтів триває два-три десятиріччя. Процес очищення ґрунтів від вуглеводнів нафти можна прискорити за рахунок внесення бактерій-деструкторів. Селекціоновані високоактивні деструктори нафти – *Mycobacterium flavescens* EX-91, *Rhodococcus erythropolis*, *R. longus*, *Arthrobacter ceriformans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megaterium*, *Candida lipolitica*. Існує ряд комерційних препаратів, внесення яких у ґрунт значно прискорює процес його очищення (табл. 12.7).

Таблиця 12.7

**Найбільш поширені мікробні препарати
для деструкції вуглеводнів**

Назва препарату	Фірма-розробник	Країна	Забудовання	Тривалість очищення, діб	Ступінь очищ., % від вихідної кількості
"ЕКОНАДІН"	"Ekonad" LTD	Україна	Нафта, дизпаливо	40–60	80–85
"ДІНАЛ"	ПБО "Ензим"	Україна	Нафта, дизпаливо	30–60	80–90
"ДЕСНА"	УДЦ екології нафти і газу	Україна	Нафта, газ, бензин, дизпаливо	20–80	75–90
"MICROBE INGRADIENT"	Noggies Biodetox	США	Біфенол	75–100	70–80
"PRIMESORB"	Noggies Biodetox	США	Нафта	10–15	80–90
"PETROBAK"	"Polybac Corporation"	США	Нафта, газ, дизпаливо	60–80	85
"GIDROBAK"	"Polybac Corporation"	США	Нафта	70–80	80
"UNI-REM"	"Sun-Oil"	США	Нафта, дизпаливо	30–120	80–90
"FYREZYME"	"Sun-Oil"	США	Нафта, дизпаливо	30–120	70–80
"KONSAN"	Konsan	Німеччина	Газ, бензин	60	73
"OLEOFIL"	Elf-Acvitene	Франція	Нафта	20–30	70–80
"BIO-REM"	"Meramerket"	Росія-Чехія	Нафта,	30–120	80–90
"ПУТІДОЙЛ"	Газпром	Російська федерація	Нафта, дизпаливо	20–40	80–90
"ДЕВОРОЙЛ"	"Биотехинвест"	Російська федерація	Нафта, дизпаливо	50–80	80–90
"ОЛЕВОРИН"	ВНИИ синтез-белок	Російська федерація	Газ, дизпаливо, мазут	80–140	80–90
"НАФТОКС"	ВНИИ геолого-разведочный институт	Російська федерація	Газ, дизпаливо, мазут	80–140	80–90

Відновний етап включає заходи відновлення фізико-хімічних і біологічних характеристик ґрунту. Кислі ґрунти підлягають вапнуванню; засолені – гіпсуванню з наступною промивкою. Зменшення гідрофобності досягається обробкою слабкими розчинами поверхнево-активних речовин. Активізувати біологічну активність ґрунту допомагає внесення органічних добрив (гною, біодобрив), вирощування бобових культур із застосуванням нітрагінізації.

Фітомеліоративний етап включає вирощування рослин, стійких до залишкових кількостей ароматичних сполук нафти; активізацію кометаболічного розкладу високомолекулярних і важкодоступних для мікроорганізмів фракцій шляхом внесення гною, біодобрив. Використання вирощеної на таких землях фітомаси необхідно проводити під контролем вмісту в ній канцерогенних сполук (3,4-бензпірену).

12.2.3. Забруднення органічними полімерними ксенобіотиками

Шляхом хімічного синтезу були створені сполуки, які не існували у природі: синтетичні полімери, барвники, миючі засоби, фармацевтичні препарати, пластмаси. Ці чужорідні для живої природи ксенобіотики є стійкими до деструкції, здатними накопичуватись у природних середовищах, рухатись по трофічних ланцюгах, концентруватись у них, у тому числі і в організмі людини. Велика кількість ксенобіотиків є токсичними, виявляють мутагенну, канцерогенну, алергенну, тератогенну активність. Тому надзвичайно важливою проблемою сучасності є деградація цих сполук. У цьому процесі провідну роль відіграють мікроорганізми. Більшість ксенобіотиків потрапляють у ґрунт, де вони підлягають трансформації мікробними угрупованнями.

Трансформація ксенобіотиків може відбуватися такими шляхами:

- незначною зміною хімічної будови молекул;
- фрагментацією і розкладом молекули на простіші сполуки;
- повною мінералізацією до CO_2 , H_2O , H_2 , NH_3 , CH_4 .

Мікроорганізми можуть трансформувати ксенобіотики: 1) для отримання енергії або як джерело вуглецевого живлення; 2) для їхньої детоксикації. У першому випадку задіяні ферменти основних метаболічних шляхів мікроорганізмів, завдяки чому досягається глибока деструкція сполуки аж до її повної мінералізації. У другому випадку задіяні ферменти периферичного метаболізму, які зазвичай каталізують реакції трансформації і фрагментації молекул. Деградація ксенобіотиків може відбуватися шляхом кометаболізму за наявності легкозасвоюваного

джерела енергії для життєдіяльності, оскільки сам ксенобіотик не може бути використаним мікроорганізмом для таких цілей.

Здатність трансформувати ксенобіотики може бути здійснена завдяки надпродукції раніш існуючих ферментів внаслідок дуплікації генів, що кодують їх синтез, а також внаслідок мутацій, які призводять до появи нових ферментів із відповідною специфічністю.

За хімічною будовою ксенобіотики відносяться до різних класів хімічних сполук: лінійні і розгалужені алкани, ароматичні сполуки з різними замісниками, гетероциклічні сполуки, конденсовані циклічні структури і полімери та ін. Біоциди містять ароматичні і гетероциклічні сполуки, миючі засоби – алкілбензолсульфонати, пластмаси – складні полімерні сполуки та пластифікатори – ефіри фталевих і адипінових кислот. Залежно від хімічної будови деградація і трансформація ксенобіотиків відбуваються різними шляхами.

За аеробних умов першою стадією їх деградації, ймовірно, є гідроскилювання, яке призводить до поляризації і підвищення розчинності сполуки, що робить її молекули більш вразливими до мікробних атак. Такі реакції каталізуються гідролазами або оксидазами змішаних функцій. У деградації ксенобіотиків також важливі реакції окиснювального метаболізму, такі як декарбоксилування, β-окиснення, окиснювальне розщеплення ароматичних і гетероциклічних сполук.

За анаеробних умов початкові стадії біодеградації здійснюються шляхом відновної трансформації, внаслідок якої відбувається конверсія нітрогрупи до аміногрупи, відновне дегалогенування, насичення подвійних і потрійних зв'язків, відновлення альдегідів і кетонів до відповідних спиртів, перетворення сульфоксиду до сульфіду.

Як в аеробній, так і в анаеробній біодеградації ксенобіотиків важливу роль відіграють реакції гідролізу, завдяки яким молекула розщеплюється при поєднанні з молекулами води. Під дією гідролітичних ферментів (гідролаз, естераз, фосфатаз) гідролізуються ефірні, фосфоефірні, амідні зв'язки, відбувається гідролітичне дегалогенування.

Відомі також синтетичні шляхи трансформації ксенобіотиків, які полягають у модифікації їх молекул шляхом приєднання певних хімічних груп або конденсації декількох молекул з утворенням нових полімерних сполук, що змінює токсичність вихідних речовин.

Здатність до біодеструкції ксенобіотиків виявлена у багатьох представників бактерій, архей, грибів. Проте у природних умовах процес розкладу цих сполук здійснює мікробне угруповання в цілому, якому притаманні міцні функціональні (в основному, трофічні) зв'язки. Для нормального функціонування такого угруповання й активного розкладу

ксенобіотиків необхідне перенесення між його членами інтермедіатів, таких як молекулярний водень, ацетат, форміат та ін. За таких умов формуються синтрофні зв'язки. Часто спостерігається морфологічне оформлення синтрофних асоціацій у вигляді плівок, гранул, завдяки чому мікроорганізми просторово наближуються один до одного, і це полегшує обмін інтермедіатами. Шляхи мікробного розкладу ксенобіотиків залежать від специфіки їх хімічної будови.

Деструкція синтетичних ароматичних сполук в аеробних умовах починається з гідроксилювання за участі моно- і діоксигеназ. Далі відбувається орто- і метарозщеплення ароматичного кільця з утворенням похідних муконової кислоти, які використовуються у реакціях метаболічного окиснення до діоксиду вуглецю і води. До розкладу ароматичних сполук здатні представники родів *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, а також гриби роду *Aspergillus*. В анаеробних умовах після активування бензольного кільця відбувається його розрив з утворенням C_1 і C_2 -сполук. Активування кільця здійснюється внаслідок реакцій карбоксилювання, анаеробного гідроксилювання з утворенням КоА-тіоефірів ароматичних кислот. Центральним інтермедіатом деструкції є бензоіл-КоА, який у результаті послідовних реакцій відновлення і гідролітичного розщеплення перетворюється на ацетил-КоА. До анаеробної біодеструкції ароматичних сполук здатні: *Thauera aromatica*, *T. chorobenzolica*, *Desulfobacterium anilini*, *Azoarcus evansii*, *Magnetospirillum* sp., *Delftia acidivorans*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Syntrophus gentianae*.

Деструкція миючих засобів на основі поверхнево-активних сполук типу алкілбензопсульфатів починається з сульфонатної групи, яка відщеплюється гідролітичним шляхом. Далі розрив бензольного кільця відбувається шляхом, описаним вище.

Розклад диефірів фталевих кислот в аеробних умовах відбувається шляхом їх гідролізу до моноефірів з наступним перетворенням до п-оксибензойної, протокатахової кислот, а далі відбувається розрив ароматичного кільця з утворенням 3-кетoadипінової кислоти. Активними деструкторами ефірів фталевих кислот є представники родів *Rhodococcus* (*R. erithropolis*, *R. opacus*, *R. fascians*), деякі представники родів *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Arthrobacter*, а також гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mortierella*.

Полімерні сполуки (пластики, синтетичні тканини, поліетилен, полістирол, поліпропілен та ін.) повільно розкладаються у ґрунті і погано піддаються біодеструкції. В основному їх розкладають гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*. Визначальну роль у розкладі цих спо-

лук відіграють грибні гідролази і протеїнази. Спочатку гриби оселяються на поверхні полімерних матеріалів, потім їх гіфи проникають у мікротріщини, і починається ферментативний розклад цих матеріалів. Є дані про те, що у деструкції беруть участь гриби *Phanaerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, які викликають "білу гниль" завдяки продукуванню лігнолітичного комплексу ферментів.

У ґрунтах швидкість деструкції ксенобіотиків залежить від багатьох екологічних факторів, які зумовлюють гетерогенність як у макро-, так і мікроосередках. Ксенобіотики можуть зв'язуватись з гумусовими сполуками, а також сорбуватися на мінеральних часточках, що утруднює їх доступність для мікроорганізмів. Часточки ґрунту можуть утворювати фізичну перепону між клітинами мікроорганізмів і сполуками ксенобіотиків шляхом вибіркової фільтрації через мікропори. Активність розкладу ксенобіотиків мікробними угрупованнями ґрунту можна підвищити шляхом внесення азотних і фосфорних добрив.

12.3. Мутагенний вплив поліутантів на ґрунтові мікроорганізми

Ґрунтові мікроорганізми здатні пристосовуватися до несприятливих умов існування, серед яких у сучасних агроєкосистемах найбільш агресивними факторами є антропогенне забруднення ґрунтів. Механізми пристосування мікроорганізмів реалізуються шляхами адаптації і мутації.

За сучасними уявленнями, при адаптації можуть відбуватися зміни у генотипі або у фенотипі в межах генотипу (фізіологічна адаптація). Існує думка, що адаптація, яка пов'язана зі зміною генотипу, може сформуватись у результаті випадкових незалежних від навколишнього середовища мутацій, а фактор адаптації слугує лише фактором відбору.

Зовнішнє середовище може індукувати спрямовані мутації та викликати адаптацію і формування резистентності, що будуть адекватними до дії факторів навколишнього середовища. За присутності несприятливого фактора створюється певний стан розбалансованості системи "організм – середовище", що ініціює зміни генотипу.

Стрибокподібні зміни в молекулах ДНК, які передаються з покоління в покоління, називають мутаціями.

Мутаційні події тісно пов'язані з такими генетичними процесами, як реплікація – відтворення спадкового матеріалу, рекомбінація – обмін і переміщення генів і їх частин, репарація – забезпечення стабільності нативної структури генетичного матеріалу, пошкодженого під впливом

внутрішніх і зовнішніх факторів. Відомо, що в основі реалізації генетичної інформації лежать процеси транскрипції (синтез РНК на матриці ДНК) і трансляції (синтез білків на матриці інформаційних РНК), порушення яких викликає модифікаційні зміни в клітині.

У природних умовах поява мутацій має випадковий характер, тобто вони є *спонтанними* і відбуваються мимовільно без сторонньої дії певних факторів. Частота появи спонтанних мутацій залежить від генотипу, віку і фізіологічного стану популяції мікроорганізмів. Спонтанні мутації відбуваються з відносно невисокою частотою, в середньому 10^{-6} на один ген за покоління. Спонтанні мутації можуть бути наслідком внутрішньоклітинних порушень: 1) помилок реплікації і репарації ДНК, пошкодження вільними радикалами, донорами CH_3 -груп, які утворюються при нормальному метаболізмі клітини; 2) зміни організації й експресії генів у результаті переміщення мобільних генетичних елементів усередині геному.

Внаслідок цілеспрямованої дії на мікробну популяцію фізичних або хімічних чинників виникають пошкодження ДНК, які приводять до *індукованих мутацій*.

Залежно від виду пошкоджень генетичного апарату виділяють такі типи мутацій: *геномні*, *хромосомні* і *генні*. *Геномні мутації* – це серйозні порушення генетичного апарату, пов'язані із зміною числа хромосом – появою додаткових копій бактеріальної хромосоми чи появою плідності у еукаріот. *Хромосомні мутації* – це зміни структури хромосом (структурні хромосомні аберації, інверсії і транслокації), їх відносять до основної категорії індукованих мутацій. *Інверсії* – це внутрішньохромосомні аберації, при яких фрагменти ДНК розвертаються на 180° відносно свого нормального положення. При транслокаціях відбувається переміщення великих фрагментів ДНК з однієї ділянки бактеріальної хромосоми в іншу, обмін фрагментами транслокації. При інверсіях і транслокаціях загальна кількість генетичного матеріалу в геномі залишається сталою, змінюється тільки його взаємне розміщення вздовж бактеріальної хромосоми.

Третій, найпоширеніший тип – *генні* або *точкові мутації*. Вони виникають при пошкодженні ниток ДНК. Генні мутації відбуваються за різних причин: у результаті хімічної реакції мутагену і ДНК; як наслідок помилок на рівні рекомбінації; в результаті помилок ферментів репарації; збоїв у системі реплікації ДНК.

За характером впливу на процеси транскрипції і трансляції виділяють чотири основні категорії генних мутацій.

- Місенс-мутації (транзиції, трансверсії) – виникають при заміні нуклеотиду всередині кодону. Це приводить до вставки у визначеному місці поліпептидного ланцюга іншої амінокислоти. В результаті такої заміни може змінитися фізіологічна роль закодованого білкового продукту.

- Нонсен-мутації (транзиції, трансверсії) – виникають при появі всередині гену за рахунок заміни окремих основ, кінцевих кодонів. У результаті процес трансляції припиняється в місці утворення термінального кодону.

- Сейменс-мутації – відбуваються при перетворенні одного кодону на інший в межах родини вироджених кодонів, які кодуєть синтез однієї і тієї ж амінокислоти. Такі мутації не змінюють характеру синтезу поліпептиду.

- Мутації зсуву рамки зчитування. Вони виникають при появі всередині гену інсерцій і делецій. У результаті змінюється смислове зчитування інформації гену в процесі синтезу білка внаслідок нових комбінацій азотистих основ в триплетах. Триплети нуклеотидів після випадіння чи вставки набувають нового складу в результаті зсуву на одну азотисту основу. В підсумку весь поліпептидний ланцюг після такої мутації одержує амінокислоти абсолютно відмінні від закодованих у вихідному гені. Мутації цього типу складають значну частину спонтанних первинних пошкоджень.

Порушення в регуляторних частинах гена супроводжуються кількісною зміною продукту і зовсім не торкаються функціональної активності білку. Регуляторні мутації, як правило, менш серйозні і мають більш виражений плейотропний ефект порівняно з мутаціями в структурних генах.

В умовах зростаючого антропогенного забруднення ґрунтів існує імовірність того, що мутації в популяціях мікроорганізмів будуть накопичуватися, їх чисельність зростатиме від покоління до покоління. Але в природі виробилися механізми, які перешкоджають накопиченню мутацій. Це не тільки вищеплювання і знищення мутантних клітин, а й механізми, що запобігають появі нових мутацій – процеси антимутагенезу. Антимутагенез – це генетичний гомеостаз, який забезпечує здатність клітини підтримувати функціональний стан її геному. Антимутагенез властивий усім живим клітинам.

Виділяють два рівні захисту від генотоксичної дії ендо- і екзогенних факторів. До механізмів першого рівня антимутагенезу відносять 1 – подвійну структуру спіралі ДНК, 2 – процеси зв'язування й інактивації активних продуктів метаболізму ксенобіотиків комплексом антиоксидантів (ферментами супероксиддисмутазою і каталазою, токоферолами,

вітамінами А, К, С, глутаміною і янтарною кислотами та інші), поліамінами (спермін), пуриновими рибозидами (аденозин, гуанозин), 3 – механізми регулювання проникнення мутагенів через клітинні мембрани. Відбувається також метаболічна інактивація токсикантів шляхом зв'язування мутагену з антимутагенними сполуками з наступним виведенням такого комплексу з клітини. До захисних механізмів другого рівня відносять репаративну систему клітини, яка усуває передмутаційні пошкодження ДНК, появу яких не попередили механізми першого рівня захисту.

Антимутагенез на фізіологічному рівні відбувається шляхом ампліфікації генів ферментів, які здатні руйнувати певні ксенобіотики. Ампліфікація може поширюватися на весь геном або тільки на окремі гени. Індукція ферментів репарації ДНК – це також один з адаптаційних механізмів клітини у відповідь на присутність мутагенного агенту.

До біоантимутагенів відносять хімічні сполуки і речовини біологічного походження, які знижують частоту мутацій, впливаючи на процеси перетворення мутагенів у клітині і зв'язуючи біологічно активні радикали, які виникають у ході перетворень мутагену. Виходячи з механізмів їх дії, виділяють кілька груп антимутагенів: *мембранні, метаболічні, репараційні і антимутагени, які здатні зв'язувати вільні радикали.*

Щоб подіяти на генетичні структури, генотоксичні речовини повинні подолати клітинну мембрану. Речовини, які знижують її проникність для мутагенів, називають *мембранними* антимутагенами, вони мають модифікуючий вплив на процес мутагенезу. До мембранних антимутагенів належать речовини стероїдної природи, насамперед – холестерол, який є основним компонентом ліпопротеїнів зовнішньої клітинної мембрани. Підвищення синтезу холестеролу утруднює трансмембранний транспорт мутагену.

У незначних кількостях вільні радикали утворюються і при нормальному метаболізмі клітини. До них належать: супероксид-аніон O_2^- , гідроксил-аніон OH^- і пероксид водню (як основне джерело вільних радикалів). Захист клітин від їх руйнівної дії здійснюється *антиоксидантною системою*. Вона включає як низькомолекулярні антиоксиданти (аскорбат-іон, ретиноли, токоферолі, урати, каротини), так і антиоксидантні ферменти. Виділяють три лінії захисту клітини на рівні ферментних систем: 1) супероксиддисмутаза; 2) глутатіонпероксидаза і каталаза; 3) система глутатіонтрансферази, система фосфоліпідгідропероксид-глутатіонпероксидази.

Речовини, які активують систему репарації ДНК, називаються *репараційними* антимутагенами. Вони підвищують точність ДНК-реплікації, інтенсифікують процеси репарації ДНК. Необхідною умовою

репарації ДНК є рекомбінація між інтактною ниткою ДНК і пошкодженою.

Наявність механізмів адаптації на сьогодні не захищає мікробні угруповання від тиску на їх генофонд мутагенів антропогенного походження. Кількість генетично активних речовин, накопичених сьогодні в середовищі існування на кілька порядків перевищує ту, з якою мікроорганізмам доводилось зіткнутись раніше в природних незабруднених умовах, по відношенню до яких і сформувались механізми адаптації.

Високий рівень забруднення довкілля вимагає всебічного вивчення не тільки їх токсичних властивостей, а й можливого мутагенного ефекту. Постає проблема розробки методів дослідження мутагенної активності хімічних засобів захисту рослин і попередження генетичних наслідків від їх застосування. Для того щоб ефективно виявляти присутність генетично активних речовин у ґрунті, потрібні ефективні тест-системи, які би відображали реальну безпечність або небезпечність політантів для мікробної клітини.

На сьогодні запропоновано біля 100 тест-систем різного рівня, багато з яких добре розроблені в методичному плані і досить широко застосовуються як для виявлення мутагенів, так і для оцінки їх генетичної активності. Кожна тест-система специфічна, тому досліджувана хімічна речовина може виявитися мутагенною в одній системі і не мутагенною в інших.

У багатьох бактеріальних тест-системах використовують, в основному, два типи клітин: клітини з нормальною здатністю до репарації пошкоджень ДНК і клітини, в яких відсутня певна ланка в метаболічному шляху, відповідальному за репарацію ДНК. Переважна загибель дефектних по репарації штамів в результаті дії хімічного агента означає, що останній реагує з ДНК і тому може бути мутагенним. Це основний принцип більшості мікробіологічних тестів.

Бактеріальні тест-системи набули широкого використання завдяки високій швидкості росту, короткій тривалості генерації бактерій і невеликим матеріальним витратам на проведення аналізу. Крім того, виявлено кореляцію між результатами генотоксичної дії мутагенів на бактеріальну клітину і на соматичні клітини культур тварин і людини.

За даними міжнародних організацій (IRAC і ін.), найпоширенішим у світі бактеріальним тестом для виявлення генотоксичності досліджуваних агентів є тест Еймса. У зв'язку з високою репрезентативністю результатів тестування, він використовується більш як у 2000 лабораторіях світу. Для індикації генетичних подій під дією мутагенів у тесті Еймса використовуються зворотні мутації від ауксотрофності до прототрофності в гістидиновому опероні в клітинах бактерій *Salmonella typhimurium*

штамів TA97, TA98, TA100, TA102, TA104, TA1535, TA1537 TA1538. Вони дозволяють визначити, які саме зміни в ДНК індукуються тим чи іншим мутагенним агентом. Штами TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1537 дефектні по репарації завдяки делеції в гені *uvrB*, їх використовують для виявлення мутагенів, здатних пошкоджувати системи репарації. Ген *uvrB*, кодуючи репаративні ферменти для видалення тимінових димерів, контролює систему ексцизійної репарації. Штами TA97, TA98, TA1537 несуть мутацію типу зсуву рамки читування в *his*-опероні, а TA100 – мутацію типу заміни пар азотистих основ. Штами *S.typhimurium* TA102 і TA104 мають реверсії з записами стоп-кодонів. Вони особливо чутливі до дії альдегідів і кетонів і дозволяють виявити перебудови альдегідних і кетогруп в ДНК. Усі штам *Salmonella* несуть мутацію *rfa*, яка відповідає за порушення проникності клітинної стінки і пов'язану з цим відсутність капсули. Це знижує вірулентність штамів і забезпечує краще проникнення мутагенів у клітину. Штами *Salmonella typhimurium* TA100 і TA98 мають плазмиду *pKM101* (R-фактор), яка відповідає за стійкість клітин до ампіциліну.

Найпоширенішими у лабораторній практиці стали штам TA97, TA98, TA100, TA102 завдяки їх чутливості до широкого спектру мутагенів. А штам TA98 і TA100 показали найкращі результати при перевірці антропогенних забруднень водойм і ґрунтів.

Вже впроваджено в генетичні дослідження нові штам *Salmonella typhimurium* IG1012, IG1021, IG1024, NM2009 з підвищеною активністю о-ацетилтрансферази. Ці штам чутливі до дії гетероциклічних і ароматичних амінів і їх похідних. Інша група нових штамів – TA98NR, TA98/1-DNP6 – мають підвищену активність нітратредуктази. Ці мікроорганізми чутливі до мутагенної дії нітро- і амінопохідних ароматичних вуглеводнів.

Для індикації мутагенної дії використовують також штам *Escherichia coli*, які несуть генетичні маркери. Так, наприклад, штам *E. coli* WP2, WP2 *uvrA*, WP2(*pKM101*), WP2 *uvrA* (*pKM101*) несуть мутацію в триптофановому опероні. Кишкова паличка використовується і в тесті на індукцію профага. При дії на клітини бактерій генетично активними речовинами індукуються SOS-відповідь на пошкодження в полінуклеотидних ланцюгах. Виявом SOS-відповіді є індукція профага всередині клітин *E. coli* в результаті пошкодження репресора профага.

Штам *E. coli* використовуються і в SOS-хромотесті. SOS-відповідь клітин проявляється в експресії генів, які входять до системи репарації. Найважливішими у цьому процесі є два гени: *lexA* – кодує білок-репресор майже 20 генів, відповідальних за репарацію; *recA* – кодує ко-протеазу, яка нейтралізує репресора і включає репарацію. Мірою мутагенності в даному тесті теж виступає активність β -галактозидази, яка

запечить від експресії гену *sf1 A*. Функції останнього залежать від ефективності системи репарації (експресії генів *lex A* і *rec A*). Відповідність результатів SOS-хромотесту і тесту Еймса є дуже високою. При перевірці групи хімічних речовин за тестом Еймса мутагенними виявилися 78%, у SOS-хромотесті – 75%, досліджених сполук.

Подібні до SOS-хромотесту принципи закладені в тесті *Umu*. Штам *S.typhimurium* 1535 містить плазмиду pSK10001, зчеплену з генами *Umu C*, *Umu D*, *Lac Z*, а також додаткові мутації *uvr B* і *rfa*. Тест базується на індукції гену *Umu C*, який разом із генами *lex A*, *rec A* і *Umu D* контролює процес SOS-репарації. З іншого боку, індукція гену *Umu C* стимулює активність внутрішньоклітинної β -галактозидази, оскільки вона утворює функціональну цілісність з геном *Lac Z*.

Менш чутливими до дії мутагенів є репаративні тести. Сутність їх полягає у втраті мікроорганізмами чутливості до дії одних мутагенів під впливом інших. Так, штами *S.typhimurium* (*uvrB⁺uvr⁻*) під дією мутагенів втрачають чутливість до УФ-променів, *Escherichia coli* (*polA⁺/polA⁻*), *Bacillus subtilis* (*recA⁺/recA⁻*) – набувають здатності до репарації під дією мутагенів.

Мутагенну дію хімічних сполук реєструють також за люмінесценцією ревертантів у темнових штамів люмінесцентних бактерій після їх експозиції з досліджуванним мутагеном. Індикаторними культурами для виявлення генотоксичної дії хімічних речовин є темнові мутанти *Photobacterium*.

Для індикації мутагенної активності хімічних агентів використовують гаплоїдний штам *Saccharomyces cerevisiae* p2089, аукоотрофний по аденіну. Реєстрація мутагенного ефекту відбувається за зміною забарвлення колоній у тест-об'єкта: аукоотрофні колонії червоного кольору, прототрофні – білого. Для обліку індукції внутрішньогенної мітотичної рекомбінації використовують диплоїдний штам *Saccharomyces cerevisiae* П3288.

У тесті на індукцію мітотичного кросінговеру використовують штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* T1. Частота міжгенної мітотичної рекомбінації зростає за присутності генотоксичних речовин. Генетична активність останніх оцінюється за результатами обліку суцільнозабарвлених (рожевих, червоних) або секторних (біло-рожевих, біло-червоних, біло-рожево-червоних) колоній тестерного мікроорганізму на фоні білих прототрофних колоній.

Використання зазначених тестів дало можливість встановити, що багато пестицидів мають здатність індукувати мутації в геномі мікроорганізмів. Для оцінки ступеню генетичної небезпечності пестицидів К.Є. Ємногою зі співавт. була розроблена система тестів і тест-об'єктів, яка представлена на рис. 12.7.

Тести	Бактерії (штами <i>E.coli</i>)		Дріжджі р. <i>Saccharomyces</i>		
	Здатність до пошкодження ДНК	Індукція реверсій		Індукція внутрішньогенної митотичної рекомбінації	Індукція митотичного кросінговеру
Номери штамів	WP2/CM 871	WP2	P2089	П3288	T1

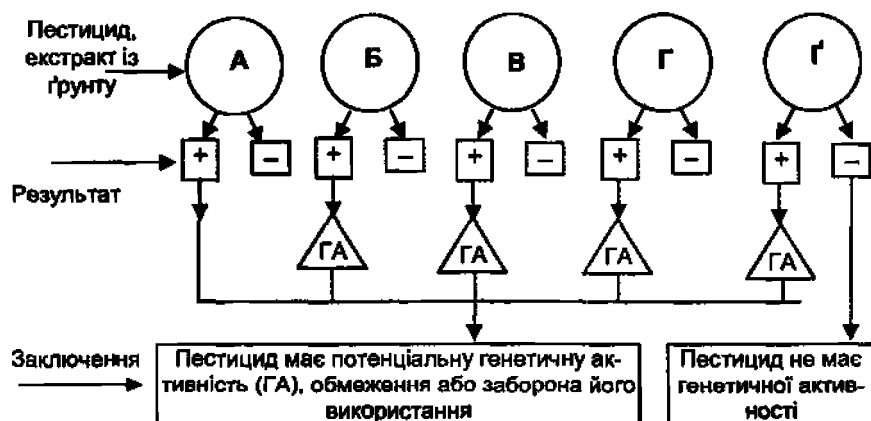


Рис. 12.7. Набір тестів та тест-об'єктів для визначення генетичної активності пестицидів та ґрунту

А – репараційний тест; Б – тест на індукцію реверсій у прокаріотів; В – тест на індукцію реверсій в клітинах еукаріотів; Г – тест на внутрішньогенну митотичну рекомбінацію; Г – тест на індукцію митотичного кросінговеру

За цією схемою було досліджено 20 пестицидних препаратів, серед яких 7 були віднесені до групи шкідливих (ептам, ерадikan, ерадikan-екстра, тилам, триалат, сурпас, примекстра); 8 препаратів характеризувались як помірно шкідливі (аліпрокс, ацетал, гвардіан, прометрин, цинеб, хардін, ефаль, ацетазин); 5 гербіцидів виявилися малошкідливими (атразин, симазин, семерон, ефзид із міддю, арцерид). Таким чином, тіолкарбаміди виявилися шкідливими, сим-триази́ни – помірно- і малошкідливими для мікроорганізмів.

Розробники цього методу дослідили не тільки препарати пестицидів, а також мутагенний фон ґрунтів, де протягом тривалого часу (більш як 5 років) застосовували різні гербіциди. Було показано, що ґрунт, який систематично обробляється гербіцидами (лінуроном, атразином, аліро-

ксом, ацетазином), характеризується мутагенним фоном, який у 10–20 разів перевищує частоту спонтанних мутацій тест-мікроорганізму (ауксотрофного мутанту *E.coli* WP2).

Таким чином, перед дослідниками постає проблема аналізу і перегляду переліку найбільш вживаних у сільському господарстві пестицидів і традиційних норм їх застосування з метою попередження незворотних порушень у мікробних угрупованнях ґрунтів, що може привести до втрати родючості.

13. ОХОРОНА ҐРУНТІВ

13.1. Мікробіологічний моніторинг ґрунтів

У зв'язку з великим впливом людини на навколишнє природне середовище виникла необхідність в організації та проведенні моніторингу довкілля (*екологічний моніторинг*).

Вперше основоположний термін "*моніторинг*" було введено в наукову мову у 1972 році перед проведенням конференції ООН з охорони навколишнього середовища у Стокгольмі. Він означав систему регулярних спостережень за елементами природного середовища в просторі й часі з певною метою відповідно до попередньо розробленої програми. Пізніше Ю.А. Ізраель уточнив це поняття і запропонував називати моніторингом систему спостережень, оцінки і прогнозування стану природного середовища, яка дозволяє виявляти зміни у біосфері під впливом антропогенних чинників. Доцільно додати, що моніторинг є також системою *безперервних і довгострокових* спостережень.

Однією зі складових екологічного моніторингу є біологічний моніторинг, який теж являє собою систему спостережень, оцінки та прогнозування будь-яких змін у біоті, викликаних як природними чинниками, так і чинниками антропогенного походження. Останні набули особливо важливого значення в наш час, коли відбувається інтенсивний розвиток техніки у всіх галузях господарства. Структура біологічного моніторингу може бути різною залежно від підходів, методів, об'єктів та мети спостережень.

Якщо підходити з точки зору систематичного положення організмів, то біологічний моніторинг можна розділити на ботанічний, зоологічний, мікробіологічний, вірусологічний. Необхідно також враховувати і різноманітні сфери існування організмів – наземні та водні екосистеми. Найбільшою мірою був розроблений та введений до дії моніторинг ґрунтових безхребетних тварин, у той же час мало уваги приділялося моніторингу ґрунтових мікроорганізмів. Із точки зору методів спостережень біологічний моніторинг може бути біохімічним, генетичним, фізіологічним.

Термін "*мікробіологічний моніторинг*" запропонований З.І. Нідтіною, яка вважає мікробний компонент біогеоценозів за пріоритетний об'єкт моніторингу наземних екосистем. Мікроорганізми є досить зручним об'єктом спостережень. Завдяки відносно значній сумарній поверхні вони тісніше контактують із середовищем існування, ніж інші ґрунтові організми, внаслідок чого досить чутливі до змін навколишнього середовища. Крім того, їх відносно високі швидкості росту і розмноження дозволяють дослідникам визначати дію на них будь-якого екологічного

чинника за порівняно короткі строки. Відома функціональна стабільність мікробного компоненту екосистем. У той же час реакції мікроорганізмів у відповідь на дію антропогенних чинників швидкі і стосуються різних сторін їхньої життєдіяльності – росту, морфологічних змін, накопичення хімічних елементів, активності метаболізму, стану регуляторних механізмів в клітині.

Виходячи із загальних уявлень про моніторинг, *мікробіологічним моніторингом* є систематичні довгострокові спостереження за мікроорганізмами з метою оцінки, прогнозування та попередження негативних змін у мікробному ценозі ґрунту під дією природних і антропогенних чинників.

На основі аналізу сучасних підходів можна виділити такі напрямки мікробіологічного моніторингу ґрунтів (за К.І. Андреюк, О.В. Балагуровою, К.О. Мятликовою):

- а) спостереження за мікроорганізмами як безпосередніми виконавцями або співвиконавцями тих чи інших процесів у ґрунтах;
- б) спостереження за мікроорганізмами-індикаторами – за їх наявністю, станом або поведінкою, що дозволить визначити характер змін у середовищі їх існування.

В першому випадку спостереження необхідно проводити у порівняльному аспекті – мікрофлора ґрунтів забруднених локалітетів (ділянок, районів, регіонів) повинна, по можливості, порівнюватись із мікрофлорою ґрунтів незабруднених місць існування.

Мікробіологічний моніторинг ґрунтів, що входить у загальну мережу державного екологічного моніторингу, повинен складатися з таких етапів:

- 1) визначення стану мікробної системи ґрунту за комплексом біоіндикаційних показників;
- 2) розробка математичних моделей динаміки біоіндикаційних показників;
- 3) включення мікробіологічних показників та моделей їх кількісних змін у державну комп'ютерну мережу екологічного моніторингу ґрунтів.

Спеціального комплексу мікробіологічних досліджень потребує проблемно орієнтований моніторинг, зокрема земель, що забруднені важкими металами, нафтою і продуктами нафтопереробки, радіонуклідами.

1 етап. Визначення стану мікробної системи ґрунту за комплексом біоіндикаційних показників

У створенні концепції мікробіологічного моніторингу ґрунтів українські вчені (Інститут мікробіології і вірусології НАН України) базувалися на системному підході до мікробіоти як складної самоврегульованої відкритої біологічної системи, яка має ієрархічну структуру організації з та-

кими рівнями: позаклітинний, клітинний, популяційний, ценотичний. Ця концепція розроблялася на прикладі мікробіологічного моніторингу ґрунтів, забруднених іонами важких металів.

На позаклітинному рівні біологічної системи ґрунту досить цінну інформацію отримують, досліджуючи активність ряду ферментів. Так, активність гідролаз і оксидоредуктаз може бути показником біологічного стану ґрунту, коли необхідно оцінити вплив різних чинників: обробітку ґрунту, доз і видів добрив, отрутохімікатів, ступеню ерозії ґрунту, ґрунтоутворення та інше. На позаклітинному рівні біологічної системи за умов дії важких металів особливо чутливими до дії важких металів є оксидоредуктази. Показана можливість використання аскорбатоксидазної активності як показника, що характеризує вплив важких металів на біологічну систему ґрунту на позаклітинному рівні її організації.

На клітинному рівні негативний вплив забруднень проявляється в мутагенній дії на генетичний апарат мікробної клітини. Поява мутантних штамів може призвести до непередбачуваних екологічних наслідків, тому доцільно у екологічному моніторингу ґрунтів проводити вивчення мутагенного впливу забруднень на генетичний апарат клітин тест-мікроорганізмів або мікробне угруповання в цілому.

Дослідження на популяційному рівні полягають у вивченні поведінки окремих популяцій мікроорганізмів. Це дає можливість виявити чутливі до антропогенного чинника форми, які можна використати як біоіндикатори на його присутність.

Вивчення особливостей росту окремих культур азотфіксуючих мікроорганізмів за присутності іонів важких металів показало, що у моніторингу ґрунтів можна використовувати чутливі штами *Azotobacter chroococcum* як тест-культури на забруднення Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} і Zn^{2+} . Окремі штами цього виду втрачають здатність до росту вже при низьких дозах забруднення – 1 ГДК. Виділено ряд штамів стрептоміцетів, чутливих до важких металів: *S. versipellis* (секція *Cinereus* /сепія *Achromogenes*), *S. griseocalbus* (*Albocoloratus*) та *S. viridogenes* (*Cinereus/Chrysomallus*). Ці штами можна використовувати як тест-культури на забруднення іонами окремих металів, а також їх сумішшю.

На ценотичному рівні моніторингових досліджень ґрунту важливо отримати дані про чисельність мікроорганізмів окремих екологічних або таксономічних груп та їх співвідношення у складі мікробного ценозу. Визначають флуктуації їх чисельності, розраховують показники стійкості і гомеостазу. Характер того чи іншого процесу у ґрунті з'ясовують за коефіцієнтами оліготрофності мікробного ценозу, мінералізації-іммобілізації азоту, індексу аеробності та ін.

На ценотичному рівні одним із важливих показників у моніторингу забруднених ґрунтів є рослинно-мікробні взаємодії, які можна охаракте-

ризувати ефективністю бобово-ризобіального симбіозу. На прикладі *Rhizobium leguminosarum* і *R.japonicum* показано, що важкі метали негативно впливають на нодуляційну активність бульбочкових бактерій. За високих рівнів забруднення припиняється формування бульбочок і гальмується азотфіксуюча активність.

Таким чином, на підставі проведених досліджень для мікробного моніторингу ґрунтів, забруднених важкими металами, запропонована система біодіагностичних показників, яка представлена у таблиці 13.1.

Таблиця 13.1

Система показників для мікробіологічного моніторингу ґрунтів, забруднених важкими металами (за К.І. Андрюк, Г.О. Іутинською, А.Ф. Антипчук та ін., 2001 р.)

Ієрархічний рівень	Індикаційний показник	Біотест
Позаклітинний	Активність ґрунтових ферментів	Аскорбатоксидаза Нітрогеназа
Клітинний	Токсичність і мутагенна активність забрудненого ґрунту	<i>Salmonella typhimurium</i> TA 100 і TA 90, <i>E.coli</i> WP2, Стрептоміцинстійкі мутанти мікробного угруповання ґрунту
Популяційний	Ростові реакції чутливих мікробних популяцій	<i>Azotobacter chroococcum</i> 5,10, <i>Streptomyces viridogenes</i> 570
Ценотичний	Гомеостаз мікробного угруповання ґрунту Активність бобово-ризобіального симбіозу	Викивання мікроорганізмів, швидкість відновлення чисельності та функцій мікробного ценозу Нодуляційна активність ризобій

2 етап. Розробка математичних моделей динаміки біоіндикаційних показників

Для використання результатів мікробіологічних спостережень у діючій системі екологічного моніторингу ґрунтів із комп'ютерною мережею обробки даних необхідно проводити їх формалізацію шляхом побудови математичних моделей.

Як приклад можна навести досвід побудови лінійних моделей динаміки чисельності органотрофних мікроорганізмів у ґрунті, забрудненому міддю і ртуттю. Побудова моделей проведена в інтерактивній системі АСТРІД методом групового урахування аргументів. Система АСТРІД розроблена А.Г. Івахненко у Міжнародному науково-навчальному центрі ЮНЕСКО/ МГП інформаційних технологій і систем НАН і МОІН України.

Вхідними даними для побудови моделей є незалежні змінні: концентрація рухомих форм важких металів, середньодакдані значення температури, вологості ґрунту і повітря, чисельність мікроорганізмів у ґрунті контрольної незабрудненої ділянки. Вихідними (залежними) змінними є дані про чисельність мікроорганізмів еколого-трофічних груп у забрудненому важкими металами ґрунті.

Для побудови моделі динаміки чисельності органотрофних мікроорганізмів формується такий список вхідних змінних:

X1 – чисельність мікроорганізмів на контрольній ділянці (млн. в 1 г сухого ґрунту);

X2 – концентрація міді (мг/кг ґрунту);

X3 – концентрація стронцію (мг/кг ґрунту);

X4 – концентрація кадмію (мг/кг ґрунту);

X5 – концентрація ртуті (мг/кг ґрунту);

X6 – концентрація свинцю (мг/кг ґрунту);

X7 – число діб від дати забруднення;

X8 – середня температура повітря поточної декади (°C);

X9 – середня температура повітря попередньої декади (°C);

X10 – середня вологість повітря поточної декади (%);

X11 – середня вологість повітря попередньої декади (%);

X12 – коефіцієнт вологості ґрунту.

Як видно з наведеного переліку, до змінних внесені дані вологості та температури повітря попередніх декад з огляду на певну інерційність біологічних процесів.

На базі динаміки цих змінних будуються лінійні моделі динаміки чисельності мікроорганізмів у ґрунті залежно від екологічних факторів і дози забруднення.

Модель динаміки чисельності органотрофів у ґрунті, забрудненому міддю, має вигляд:

$$Y = 105 + 1,138X_1 - 0,0539X_2 - 2,002X_3 - 1,019X_4 - 0,0545X_5 - \\ - 0,046X_7 + 0,287X_9 - 62,003X_{12}$$

з такими показниками її якості: СКП = 1,431 (середньоквадратична похибка моделі), $R = 3,505$ (максимальна абсолютна похибка моделі), $R_{\text{вдн}} = 24,68\%$ (відношення максимальної похибки до варіювання величини, яка моделюється).

Як бачимо, істотно впливали на чисельність органотрофів у забрудненому ґрунті всі змінні вмісту важких металів, окрім X5 (концентрація ртуті), неінформативними були також змінні X8, X10 та X11, що характеризують температуру і вологість повітря.

На рис.13.1 представлені експериментальна крива і графічний вигляд моделі, які узагальнюють результати 4-річних спостережень за мік-

робітою ґрунту. У кожній році виборку складали дані по 3-х строках відборів зразків. Тобто за 4 роки було проведено 12 етапів спостережень, які в моделі вишикувані в зростаючому порядку – від 1-го до 12-го. Наведені на рисунку дані ілюструють відповідність експериментальних спостережень теоретично розрахованим показникам.

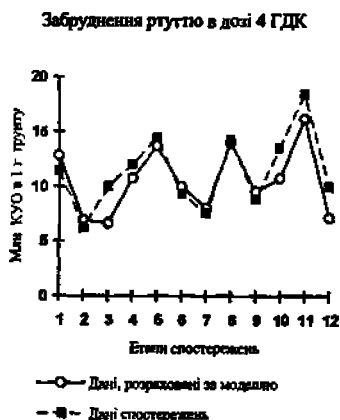
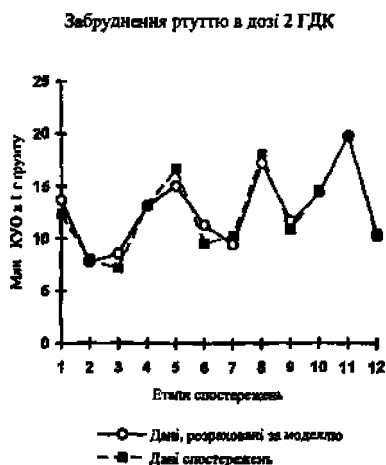
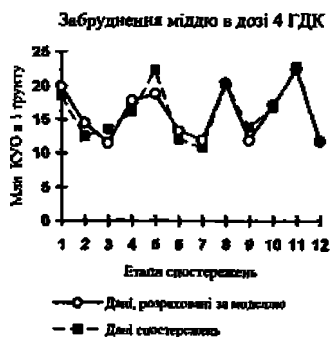


Рис. 13.1. Динаміка чисельності органогетеротрофних мікроорганізмів у ґрунті, забрудненому важкими металами (за Г.О. Іутинською, 2005 р.)

Аналіз цих графіків показує, що в більшості випадків експериментальні і розраховані за моделлю дані співпадають. Проте є випадки їх розходження, наприклад, у ґрунті, забрудненому міддю дозою 2 ГДК на 4-му етапі спостережень, а також у ґрунті, забрудненому дозою 4 ГДК на 5-му етапі спостережень. Такі розходження можна пояснити просторовою неоднорідністю ґрунту, наявністю коренових залишок, іншими мікропокальними умовами, які могли викликати коливання чисельності мікроорганізмів, не передбачені моделлю. Незважаючи на ці розходження, модель адекватно відображає динаміку чисельності мікроорганізмів, про що свідчать результати "екзаменаційної" перевірки. Для цього на графік наносили три останні точки, які згідно з моделлю прогнозували очікувану кількість мікроорганізмів при визначеному вмісті важких металів у ґрунті.

Отримані впродовж наступних досліджень експериментальні дані майже повністю збіглися з прогнозованими. Статистичні показники якості моделі також свідчать про те, що експериментальні й розраховані дані збігаються на 75,3%.

Чисельність органотрофів у ґрунті, забрудненому ртуттю, описується рівнянням з такими характеристиками якості: СКП = 1,469, R = 3,369, R_{відн} = 24,96%, тобто співпадала з даними експериментальних спостережень на 75,04%. Модель має вигляд:

$$Y = 17,852 + 0,872X_1 + 22,989X_2 + 0,154X_3 + 1,162X_4 - 34,492X_5 + 0,153X_6 - 0,096X_{11}.$$

Якість моделі ілюструє рис. 13.1, з якого видно, що за дози забруднення ртуттю 2 ГДК модель адекватно описує динаміку чисельності мікроорганізмів, про що свідчить збіг трьох останніх "екзаменаційних" точок, розрахованих згідно з моделлю і даними спостережень.

За більшої дози забруднення (4 ГДК) спостерігається відхилення експериментальних даних від тих, що розраховані за отриманою моделлю. Таке відхилення можна пояснити тим, що за високої дози забруднення ртуттю, яка є більш токсичною для мікроорганізмів, ніж мідь, втрачається стабільність угруповання органогетеротрофів. Вони чутливо реагують не тільки на ті фактори, що передбачені моделлю, але й на ті, що не були враховані при математичному моделюванні. Отже, за високих доз забруднення потрібно розширювати кількість змінних або будувати нелінійну модель.

Спільне використання моделей динаміки чисельності мікроорганізмів у контрольному і забрудненому ґрунтах дозволяє вирішити задачу відновлення відсутніх або втрачених даних. Наприклад, можна відновити декадну динаміку чисельності мікроорганізмів протягом усього періоду проведення моніторингу. Можливість цього забезпечена тим, що, по-перше, моделі достатньо точно відповідають експерименту, особли-

во в точках спостережень, по-друге, в проміжних точках наявні "опорні" базові дані про метеорологічні умови, які істотно впливають на динаміку чисельності мікроорганізмів.

Забруднення міддю



Забруднення ртуттю

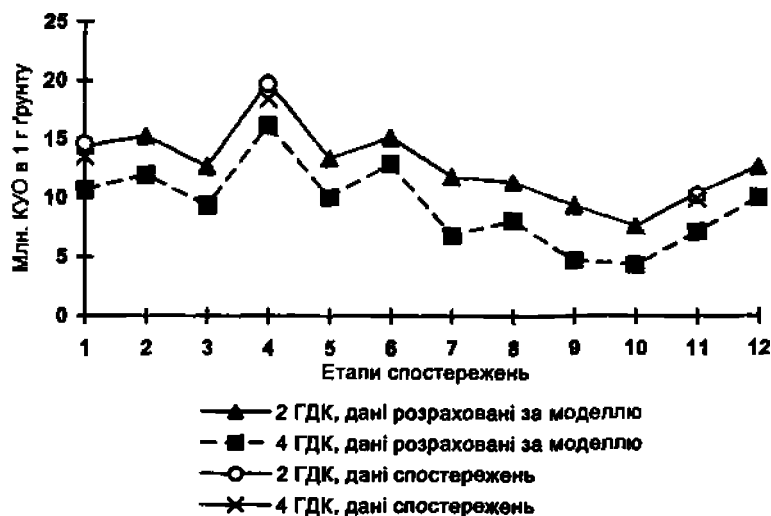


Рис. 13.2. Відновлені дані подекадних змін чисельності органотрофних мікроорганізмів у ґрунті, забрудненому міддю і ртуттю

Для прикладу на рис. 13.2 наведені графіки відновлених значень чисельності організмів на ділянках, забруднених міддю і ртуттю в дозі 2 і 4 ГДК. Як видно з цих графіків, на відновлену криву добре укладаються дані, отримані під час проведення моніторингу.

Таким чином, показана можливість моделювання чисельності мікроорганізмів у ґрунті, що дає підставу використовувати їх у системі екологічного моніторингу ґрунту для оцінки ситуацій, відновлення даних в проміжних точках та прогнозування розвитку мікроорганізмів за певних екологічних умов.

3 етап. Включення мікробіологічних показників та моделей їх кількісних змін у державну комп'ютерну мережу екологічного моніторингу ґрунтів

Розроблена система мікробіологічних показників може бути задіяна у функціональній структурі регіонального мікробіологічного моніторингу ґрунтів (рис.13.3).

Згідно з цією схемою складовими регіонального моніторингу ґрунтів є:

а) підсистема збору і введення даних, яка здійснює визначення цього ряду індикаційних показників, в тому числі мікробіологічних, що характеризують стан ґрунту, і передає їх каналами зв'язку, а також вводить у загальну систему моніторингу;

б) підсистема контролю і первинної обробки інформації, яка проводить контроль за надходженням даних про стан ґрунту та здійснює первинну обробку і розподіл даних по базах даних системи;

в) діалогова система спілкування, яка дає можливість аналізувати і порівнювати поточні дані з регіональною базою даних і з роботою всієї системи моніторингу;

г) регіональна база даних, яка акумулює інтегровані показники (в тому числі мікробіологічні), екологічного стану ґрунтів;

ґ) підсистема математичних моделей, до якої входить і модель динаміки чисельності мікроорганізмів в контрольному і забрудненому ґрунті і яка дає можливість прогнозувати розвиток екологічної ситуації в даному регіоні;

д) підсистема взаємодії з користувачем, яка забезпечує екологічною інформацією місцеві органи управління, громадськість, засоби інформації тощо.

Таким чином, моніторинг складається з операцій виміру, аналізу, опису, моделювання, оптимізації та прогнозування. Інформацію, що отримують у процесі моніторингових досліджень, використовують з метою охорони довкілля. Проведення моніторингу дає можливість отримувати детальну інформацію про фактичний стан ґрунту, оцінювати та прогнозувати його зміни під впливом антропогенного навантаження.

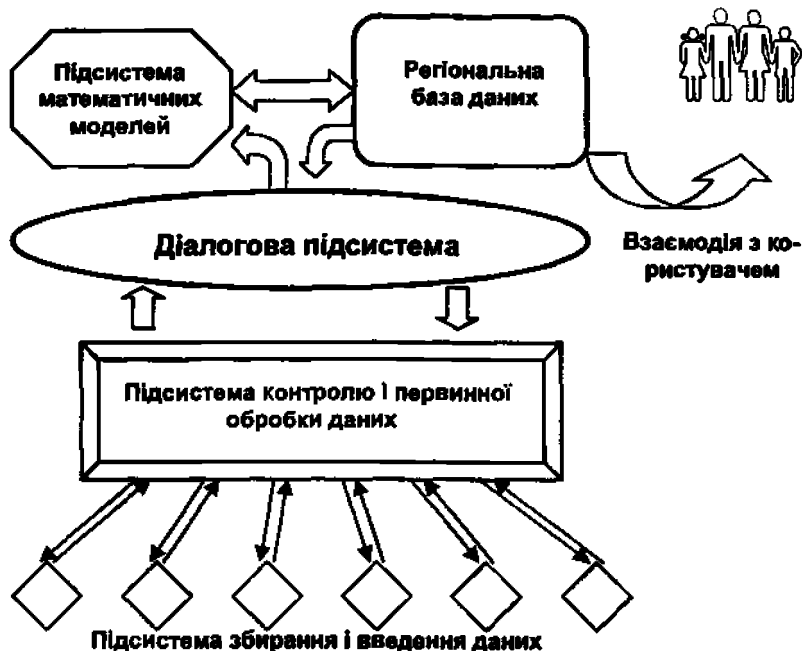


Рис. 13.3. Функціональна структура регіонального моніторингу ґрунтів

13.2. Антропогенні зміни ґрунтів як основного компоненту біосфери

Ґрунт є центральним ланцюгом біосфери, перехрестям екологічних зв'язків, що об'єднують в одне ціле гідросферу, атмосферу, земну кору. Ґрунт відіграє важливу роль у збереженні біорізноманіття наземних організмів, адже більшість рослин і тварин своїм існуванням пов'язані з ґрунтом, який є для них не тільки життєвим простором, але також джерелом поживних речовин. Крім того, ґрунт захищає літосферу від ерозії, регулює газовий режим і вологозабезпечення, накопичує органічну речовину і енергію. Збереження ґрунтів є однією з найбільш актуальних і в той же час важких до вирішення задач. Без збереження і відновлення ґрунтової оболонки Землі майбутнє людства є безперспективним, оскільки воно позбавлене можливості прогресивного розвитку.

Серед фахівців природничих наук у галузі ґрунтознавства та екології можна виділити песимістичні і оптимістичні погляди на перспективу вирішення проблеми збереження ґрунтів. Потенційну загрозу деградації ґрунтів становить, з одного боку, забруднення природних наземних і водних екосистем, а з іншого – їх антропогенні зміни: вирубування лісів, осушення болот, перевипас тварин, незбалансоване внесення добрив, розвиток ерозійних процесів, опустелювання. На сьогодні на Землі знищено більш як 2/3 лісів, 40% ґрунтового покриву є порушеним тією чи іншою мірою. За твердженням Л. Брауна, на часі ми не можемо повністю оцінити масштаби деградації планети і наслідки цього явища для майбутніх поколінь.

Сучасний стан біосфери характеризується деградацією окремих її компонентів, а також руйнацією історично сформованих кругообігів речовини й енергії, що призводить до змін напрямків розвитку біосфери уцілому. Так, згідно з В.І. Вернадським еволюція біосфери характеризується поступальним розвитком життя. На часі ми спостерігаємо великі урбанізовані території, де активне функціонування живих організмів майже припинено. Вивчення стану ґрунтових ресурсів показує скорочення орних земель на душу населення (табл. 13.2).

Таблиця 13.2

Площа орних земель у світі
(за Г.В. Добровольським, Є.Д. Нікітінім, 2000 р.)

Показник	1960 р.	1975 р.	1985 р.	2000 р.
Площа орних земель світу, млрд. га	1,5	1,5	1,5	1,5
Населення світу, млрд. людей	3,0	4,0	5,0	6,5
Площа орних земель на душу населення Землі, га	0,50	0,38	0,30	0,23

Підраховано, що для забезпечення нормального рівня життя кількість орних земель на душу населення повинна становити не менше 0,5 гектара. Станом на 1990 рік в Україні загальна площа орних земель становила 32 млн. га, з яких 4 млн. га забруднені радіонуклідами внаслідок Чорнобильської катастрофи, 3 млн. га потребують рекультивзації, на душу населення припадає близько 0,56 га. В Росії площа орних земель на душу населення складає 0,89 га (станом на 1990 рік).

Слід зазначити, що загальна площа орних ґрунтів залишається незмінною протягом багатьох десятиліть, проте щорічно близько 6 млн. га виводяться із сільськогосподарського використання під будівництво житла, виробничих приміщень, доріг, видобутку корисних копалин, а також

піддаються ерозії та опустелюванню. Для компенсації втрат під землекористування відводяться цілинні землі, пасовиська. Внаслідок цього земельні ресурси планети постійно скорочуються, крім того, відбувається їх прискорена дегуміфікація.

Інтенсифікація землеробства шляхом внесення високих доз мінеральних добрив, застосування пестицидів, насичення сівозмін зерновими і технічними культурами – все це призвело до невтішних наслідків. Зокрема, було підраховано, що зростання врожаю не відповідає витратам на його виробництво. Крім того, погіршилась якість отриманої продукції, яка містить підвищену кількість нітратів, залишки пестицидів.

Відмічені негативні зміни у функціонуванні ґрунтової мікробіоти викликані антропогенними змінами біосферних функцій ґрунтів. Так, функцією ґрунтів є забезпечення взаємодії великого геологічного і малого біологічного кругообігів речовин; за сучасних умов усе більш помітним стає зменшення підтримки біологічного кругообігу. Це зумовлене ерозією ґрунтового покриву, його забрудненням, що знижує біологічну активність ґрунтів. Крім того, спостерігається деградація структури природних ценозів живих організмів, збіднюється їх генофонд.

Змінюється така функція ґрунтів, як регуляція складу атмосфери і гідросфери. Порушення нормального газообміну у системі ґрунт-атмосфера відбувається в результаті проведення масштабних меліоративних заходів, зміни структури ґрунту внаслідок його постійного обробітку. Відомо, що важливим показником стану газової фази ґрунтів є коефіцієнт аерації (КА), як відношення концентрацій O_2 та CO_2 . Для атмосферного повітря КА дорівнює 700, для черноземів 20–50, а за умов зрошення КА зменшується до 10. В результаті незбалансованого внесення добрив та активізації процесу дегуміфікації зростає надходження CO_2 в атмосферу. Як наслідок анаеробних процесів у ґрунтовому повітрі зростають концентрації сірководню, метану, окису і закису азоту, що призводить до "парникового ефекту". Одночасно зменшується фіксація атмосферного азоту ґрунтовими мікроорганізмами.

Вплив антропогенно змінених ґрунтів на гідросферу проявляється у зменшенні біопродуктивності водойм унаслідок зміни складу поживних елементів у поверхневому і підземному стоках води. Перш за все це евтрофікація водойм за рахунок збільшення вмісту азотних (нітрати), фосфорних і гумусових сполук при удобренні сільськогосподарських угідь. Крім того, зростає забруднення водойм залишками пестицидів, детергентів, важких металів, радіонуклідів, які потрапляють у водойми внаслідок зменшення сорбційного бар'єру ґрунтів.

Серед заходів для збереження ґрунтів як найбільш дієві можна виділити такі:

- *захист від прямого нищення і загибелі здійснюється шляхом обмеження будівництва різних об'єктів, заборони відкритих розробок корисних копалин, ефективного використання існуючих промислових об'єктів, встановлення обґрунтованих цін на землі, правової відповідальності за невиконання рекультиваційних робіт;*

- *захист орних ґрунтів від якісної деградації – водної ерозії, дефляції, нераціонального проведення меліоративних робіт, попередження хімічного і радіоактивного забруднення;*

- *попередження виникнення негативних структурно-функціональних змін ґрунтів шляхом регулювання фізичних характеристик, поживного, водного, теплового, газового режимів, збереження біохімічної активності і структури угруповань ґрунтової біоти;*

- *відновлення деградованих ґрунтів, виявлення причин деградації, виключення дії негативних факторів, очищення від забруднень, проведення хімічної і біологічної реабілітації, відновлення родючості біологічними методами;*

- *збереження заповідних природних ґрунтів шляхом резервування у заказниках, заповідниках, пам'ятках природи. Організація нових охоронних територій рідких і еталонних ґрунтів. Створення червоної книги ґрунтів.*

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Андреюк Е.И., Валагурова Е.В. Основы экологии почвенных микроорганизмов. – К.: Наукова думка, 1992. – 223 с.
2. Андреюк К.І., Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф., Валагурова О.В., Козирецька В.Є., Пономаренко С.П. Функціонування мікробних угруповань ґрунту в умовах антропогенного навантаження. – К.: Обереги, 2001. – 239 с.
3. Агроекологічний моніторинг та паспортизація сільськогосподарських земель. (Методично-нормативне забезпечення) / Під ред. В.П. Патики. – К.: Укр. фітосоціол. центр, 2002. – 295 с.
4. Аристовская Т.В. Микробиология процессов почвообразования. – Ленинград: Наука, Ленингр. отделение, 1980. – 187 с.
5. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв: Учебник. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. – 336 с.
6. Відтворення родючості ґрунтів у ґрунтозахисному землеробстві / Під ред. М.К. Шикולי – К.: Оранта, 1998. – 678 с.
7. Виноградский С.Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы. Пятьдесят лет исследований. – М.: Изд-во АН СССР, 1952. – 792 с.
8. Гиляров М.С., Криволуцкий Д.А. Жизнь в почве. – Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовск. ун-та, 2003. – 240 с.
9. Глазко В.И., Глазко Г.В. Введение в генетику, биоинформатика, ДНК-технология, геновая терапия, ДНК-экология, протеомика, метаболитика. – К.: КВІЦ, 2003. – 640 с.
10. Гришина Л.А. Гумусообразование и гумусное состояние почв: пространственные и временные аспекты. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1986. – 244 с.
11. Гродзинський А.М. Основи хімічної взаємодії рослин. – К.: Наукова думка, 1973. – 205 с.
12. Громов Б.В., Павленко Г.В. Экология бактерий. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1989. – 248 с.
13. Дергачева М.И. Система гумусовых веществ почвы. – Новосибирск: Наука, Сиб. отдел., 1989. – 110 с.
14. Добровольская Т.Г. Структура бактериальных сообществ почв. – М.: ИКЦ Академкнига, 2002. – 282 с.
15. Добровольский Г.Д., Никитин Е.Д. Сохранение почв как незаменимого компонента биосферы. Функционально-экологический подход. – М.: Наука, МАИК "НАУКАИНТЕРПЕРИОДИКА", 2000. – 185 с.
16. Заварзин Г.А. Литотрофные микроорганизмы. – М.: Наука, 1972. – 323 с.

17. Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н. Введение в природоведческую микробиологию: Учебное пособие. – М.: Книжный дом "Университет", 2001. – 256 с.
18. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. – 256 с.
19. Квасников Е.И., Ключникова Т.М. Микроорганизмы – деструкторы нефти в водных бассейнах. – К.: Наукова думка, 1981. – 131 с.
20. Ковда В.А. Основы учения о почвах. Общая теория почвообразовательного процесса (в 2-х томах). – М.: Наука, 1973. – Т. 1. – С. 432. Т. 2. – 468 с.
21. Кожевин П.А. Микробные популяции в природе. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. – 128 с.
22. Кондратьева Е.М. Автотрофные прокариоты. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1996. – 304 с.
23. Микроорганизмы и охрана почв / Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. – 206 с.
24. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. – М.: Колос, 1978. – 351 с.
25. Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М. и др. Экология микроорганизмов: Учебн. для студ. вузов. – М.: Издательский центр "Академия", 2004. – 272 с.
26. Никитин Д.И., Никитина Э.С. Процессы самоочищения окружающей среды и паразиты бактерий (род *Vibrio*). – М.: Наука, 1978. – 205 с.
27. Одум Ю. Экология: в 2-х томах – М.: Мир, 1986. – Т. 1. – 328 с. – Т. 2. – 376 с.
28. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1974. – 333 с.
29. Паников Н.С. Кинетика роста микроорганизмов. Общие закономерности и экологические приложения. – М.: Наука, 1991. – 341 с.
30. Патица В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В., Шерстобоева О.В., Мельничук Т.М., Калініченко А.В., Гриник І.В. Біологічний азот. – К.: Світ, 2003. – 422 с.
31. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія. – К.: НУХТ, 2004. – 470 с.
32. Пономаренко С.П. Регуляторы роста растений на основе N-оксидов производных пиридина: Физико-химические свойства и биологическая активность. – К.: Техніка, 1999. – 269 с.
33. Сельскохозяйственная биотехнология: Учебник / В.С. Шевелуха, Е.А. Капашникова, Е.С. Воронин и др; Под ред. В.С. Шевелухи. – М.: Высш. школа, 2003. – 469 с.

34. Сергійчук М.Г., Позур В.К., Вінніков А.І., Фурзікова Т.М., Ждано-
ва Н.М., Домбровська І.В., Швець Ю.В. Мікробіологія: Підручник. –
К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2005. –
375 с.
35. Современная микробиология: Прокариоты / Под ред. Й. Лёнгелера,
Г. Дрекса, Г. Шлегеля в 2-х томах. – М.: Мир, 2005. – Т. 1. – 654 с. –
Т. 2. – 493 с.
36. Теппер Е.З. Микроорганизмы рода *Nocardia* и разложение гумуса. –
М.: Наука, 1976. – 198 с.
37. Туев Н.А. Микробиологические процессы гумусообразования. – М.:
ВО Агропромиздат, 1989. – 239 с.
38. Хазиев Ф.Х. Системно-экологический анализ ферментативной ак-
тивности почв. – М.: Наука, 1982. – 203 с.
39. Rhizobiaceae. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / Под ред. Г. Спайнка, А. Кондороши, П. Хукса.
Русс. перевод под ред. И.А. Тихоновича, Н.А. Проворова – М.:
СПБ., 2002. – 567 с.

Навчальне видання

ІУТИНСЬКА Галина Олександрівна

ҐРУНТОВА МІКРОБІОЛОГІЯ

Навчальний посібник

В авторській редакції

Коректура – О.А. Овчаренко, Н.В. Мачужак

Комп'ютерна верстка – Ю.О. Пашенко, С.М. Бахметов

Підписано до друку 14.03.2006

Формат 60х84/16. Папір офсетний. Друк офсетний. Гарнітура Arial.

Ум. друк. арк. 16,51. Обл.-вид. арк. 19,21.

Зам. №331.

Видавництво “Арістей”

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до
Державного реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів
видавничої продукції ДК № 1066 від 27.09.2002 р.

02105, м. Київ, вул. Тампере, 136

т./ф. (+38 044) 451-44-66 (багатоканалний)

aristey@optima.com.ua (комерційний відділ)

aristey1@optima.com.ua (видавничий відділ)

www.aristey.kiev.ua