

МОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФАЗ РОСТУ ГРИБІВ РОДУ *MUCOR* ТА *RHIZOPUS*

О. В. Кінаш¹, В. О. Євстаф'єва², В. В. Мельничук²,
¹ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Полтава, Україна
E-mail: vet.86@ukr.net

²Полтавська державна аграрна академія, Полтава, Україна

Було вивчено морфологічні характеристики грибів роду *Mucor* і *Rhizopus* за різних фаз росту. Встановлено, що означені мікроміцети в процесі розвитку проходять п'ять стадій росту, характерних для більшості мікроміцетів. Виявлено, що 4-5 доба культивування є найбільш інформативною з точки зору ідентифікації грибів, що відповідає завершенню фази прискореного нерівномірного росту та фазі експанціонального росту.

Ключові слова: мікроміцети, рід *Mucor*, рід *Rhizopus*, фази росту грибів.

Вступ

У навколишньому середовищі, організми тварин і людини гриби зустрічаються у вигляді біоценозів, різних за чисельністю та видовим складом. Деякі з них, у тому числі й гриби родини *Mucoragaceae*, відносять до умовно-патогенних і сапрофітних мікроорганізмів. Однак, проникаючи в сприйнятливий організм, вони здатні спричинювати захворювання, відоме як мукормікоз (синоніми – мукороз, фікомікоз, зигомікоз) [1–7]. Найчастіше мукормікоз у різних видів тварин та людей спричинюють мікроміцети родів *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, а також *Mortierella* [8–16]. Відтворення та виживання, зокрема, в несприятливих умовах, у грибів забезпечується процесом спороутворення. Для патогенних мікроміцетів спори мають особливе значення, адже завдяки їм відбувається інвазія збудника мікозу до сприйнятливого організму [17]. Для більшості пліснявих грибів характерним є розмноження як статевим (зустрічається лише в природі), так і безстатевим шляхами. За культивування культур грибів у лабораторних умовах спостерігається лише безстатеве стадія розмноження (анаморфа) з послідовним утворенням спорангіоспор (ендогенний тип спороношення – у мукорових) або конідій (екзогенний тип спороношення). Саме на морфологічних характеристиках культури в процесі її безстатевого розмноження базується ідентифікація збудників пліснявих мікозів [18–21].

Завдання дослідження. Вивчити морфологічні характеристики за різних фаз росту у грибів роду *Mucor* і *Rhizopus* в динаміці та встановити оптимальні терміни для проведення їх ідентифікації.

Матеріали і методи дослідження

В дослідженнях було використано польові ізоляти грибів *Mucor lamosissimus Samutsevitch*, *Rhizopus* spp., виділені з патологічного матеріалу від загублої сільськогосподарської птиці. Ідентифікацію культур мікроміцетів проводили на підставі культуральних та морфологічних ознак. Культивування грибів проводили на агарі Сабуро за температури 26 °С протягом 7 діб. Концентрацію спор грибів у 1 см³ суспензії визначали за стандартним методом за допомогою гемоцитометра (камери Горяєва) [22].

Результати та їх обговорення

У представників родини *Mucoragaceae* спостерігали характерні для мікроскопічних грибів фази розвитку, що виявлялися послідовними макро- та мікроскопічними змінами культур (рис. 1).

Перша фаза розвитку – фаза проростання спор, у грибів родів *Mucor* і *Rhizopus* мікроскопічно виявлялася збільшенням об'єму спор внаслідок вбирання ними вологи з субстрату. Протягом першої доби культивування відбувався розрив оболонки спор з наступним розвитком первинного міцелію. Друга фаза розвитку – логарифмічна, характеризувалася продовженням росту міцелію та його галуженням протягом другої доби культивування. Частина міцелію росла вглиб поживного середовища, утворюючи субстратний міцелій, тоді як на поверхні середовища розвивався так званий повітряний міцелій, на якому в подальших фазах росту сформується спорангії.

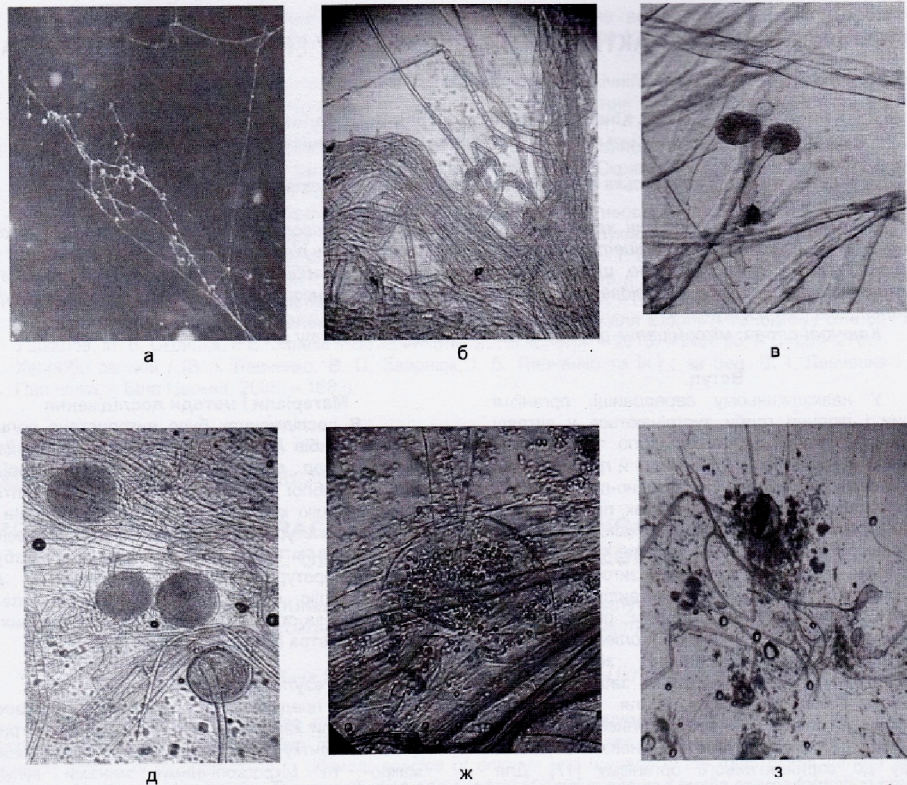



Рис. 1. Розвиток культур грибів родини *Mucogaseae* (мікрокартина): а — завершення логарифмічної фази, початок прискореного нерівномірного росту, галуження міцелію, утворення непігментованих спорангіїв у гриба роду *Mucor* (2–3-тя доба), $\times 100$; б — фаза прискореного нерівномірного росту, розростання несептованого міцелію у гриба роду *Rhizopus* (3–4-та доба), $\times 400$; в — фаза прискореного нерівномірного росту, утворення одиничних пігментованих спорангіїв у гриба *Mucor ramosissimus* (3–4-та доба), $\times 400$; д — фаза експоненціального росту, зрілі спорангії гриба роду *Mucor* (5-та доба); ж — фаза старіння, розрив плодового тіла з виходом спор у гриба роду *Rhizopus* (5-та доба), $\times 400$; з — фаза старіння, ознаки аутолізу міцелію у гриба роду *Rhizopus* (6-та доба), $\times 400$.

Таблиця 1
Особливості розвитку культур грибів роду *Mucor* і *Rhizopus* на агарі Сабуро, $t = 26^\circ\text{C}$

Фази росту грибів (за Дудкою І. А. зі співав., 1982)	Особливості росту і розвитку культури		Ріст, доба					
	Мікрокартина	Макрокартина	1	2	3	4	5	6
1. Проростання спор 	Проростання спор, збільшення їхнього об'єму, утворення первинного міцелію	Відсутня	+	-	-	-	-	-
2. Логарифмічна фаза (адаптивна). Початковий ріст міцелію	Розростання несептованого міцелію та його розгалуження (рис. 3.7, а)	Утворення дрібної колонії білого кольору, від якої у вигляді пучків відгалужується декілька тонких ниток міцелію	-	+	-	-	-	-
3. Прискорений нерівномірний ріст (нерівномірне збільшення маси міцелію)	Інтенсивне розростання міцелію, утворення пігментованих спороносних структур (спорангіїв) кулястої форми (рис. 3.7, а, б, в)	Формування колонії, її рівномірний та інтенсивний ріст, міцелій вкриває всю поверхню чашки. Наявність пігменту. Спорангійності помітні неозброєним оком (рис. 3.9, а)	-	+	+	+	-	-

4. Експоненціальний (невпинний і рівномірний ріст). Триває до виснаження субстрату або утворення метаболітів-інгібіторів росту. Активізація метаболічних процесів синтезу	Починається «старіння» міцелію; чисельний пігментований міцелій темно забарвлений, призупиняється утворення спорангіїв, у разі утворення вони дрібніші за розміром, ніж ті, що розвинулися протягом третьої фази (рис. 3.7, д)	Міцелій високо підіймається та вкриває всю поверхню чашки, має темне забарвлення. Спорангії добре помітні неозброєним оком	-	-	-	-	+	-
5. Старіння. Пригнічення метаболізму, виснаження поживного середовища, накопичення продуктів метаболізму. Аутоліз міцелію, зниження його маси, морфологічні зміни та лізис	Старіння міцелію, розрив плодових тіл з виходом великої кількості спор округлої та овальної форм (рис. 3.7, ж)	Міцелій високий, вкриває всю чашку, набуває більш темного забарвлення	-	-	-	-	+	-
	Процеси аутолізу (руйнування культури). У полі зору мікроскопа — чисельні спори, зруйновані спорангії та фрагменти міцелію (рис. 3.7, з)	Міцелій темніє, стоншується, осідає на дно чашки (рис. 3.9, б)	-	-	-	-	-	+

Фаза прискореного нерівномірного росту у мукових грибів тривала з другої до четвертої доби, характеризувалася утворенням органів плодоношення (спорангіїв) та поступовою пігментацією колонії. Четверта фаза невпинного та рівномірного (експоненціального) росту у грибів родів *Mucor* і *Rhizopus* реєструвалася на 5 добу культивування. Вона характеризувалася збільшенням маси вегетативного міцелію, а зокрема - розростанням повітряного міцелію по всій поверхні поживного середовища. У даній фазі відбувалося призупинення утворення плодових тіл. П'ята фаза старіння у мукових грибів починалася з 5 по 6 добу, супроводжувалася вона

розривом плодових тіл з виходом спор і подальшим аутолізом міцелію.

Висновки

1. Представники роду *Mucor* і *Rhizopus* в процесі розвитку проходять п'ять стадій росту, характерних для більшості мікроміцетів.

2. Виходячи з морфологічних особливостей росту, найбільш інформативною з точки зору ідентифікації грибів роду *Mucor* і *Rhizopus* є 4-5 доба культивування, що відповідає завершенню фази прискореного нерівномірного росту та фазі експоненціального росту.

References

1. Kauffman C. A. Zygomycosis: reemergence of an old pathogen / C. A. Kauffman // *Clinical Infectious Diseases*. – 2004. – Vol. 39. – P. 588–590.
2. Ribes J. A. Zygomycetes in human disease / J. A. Ribes, C. L. Vanover-Sams, D. J. Baker // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2000. – Vol. 13. – P. 236–301.
3. Mantadakis E. Clinical presentation of zygomycosis / E. Mantadakis, G. Samonis // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2009. – Vol. 15. – P. 15–20.
4. Chayakulkeeree M. Zygomycosis: the re-emerging fungal infection / M. Chayakulkeeree, M. A. Ghannoum, J. R. Perfect // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 25. – P. 215–229.
5. Klont R. R. Uncommon opportunistic fungi: new nosocomial threats / R. R. Klont, J. F. Meis, P. E. Verweij // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2001. – Vol. 7. – P. 8–24.
6. Клишко Н. Н. Микозы : диагностика и лечение : руководство для врачей / Н. Н. Клишко. – Москва : Ви Джи Групп, 2008. – 336 с.
7. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems [Electronic resource]. 10-th Revision (ICD-10) - WHO Version for, 2016. - Mode of acces : <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en#/B46.3> (accessed : 24.02.2018). – Title from the screen.
8. Spectrum of Zygomycetes species identified in clinically significant specimens in the United States / F. Alvarez, D. A. Sutton, G. Guarro [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2009. – Vol. 47. – P. 1650–1656.
9. Forty-one recent cases of invasive zygomycosis from a global clinical registry / M. J. Rüping, W. J. Heinz, A. J. Kindo [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2010. – Vol. 65. – P. 296–302.
10. Quesada O. *Mucor ramosissimus* associated with feather loss in canaries (*Serinus canarius*) / O. Quesada, F. Rodríguez, P. Herráez // *Avian Diseases*. – 2007. – Vol. 51. – P. 643–645.
11. Gartrell B. D. Mycotic dermatitis with digital gangrene and osteomyelitis, and protozoal intestinal parasitism in Marlborough green geckos (*Naultinus manukanus*) / B. D. Gartrell, K. M. Hare // *New Zealand Veterinary Journal*. – 2005. – Vol. 53. – P. 363–367.

12. Effects of inhaled fine dust on lung tissue changes and antibody response induced by spores of opportunistic fungi in goats / C. W. Purdy, R. C. Layton, D. C. Straus [et al.] // *American Journal of Veterinary Research*. – 2008. – Vol. 69. – P. 501–511.
13. Петрович С. В. Микозы животных / С. В. Петрович. – Москва : Росагропромиздат, 1989. – 174 с.
14. Кашкин П. Н. Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов / П. Н. Кашкин, М. К. Хохряков, А. П. Кашкин. – Ленинград : Медицина, 1979. – 272 с.
15. Desmidt M. Rhizomucor pusillus mucormycosis combined with chlamydiosis in an African grey parrot (*Psittacus erithacus erithacus*) / M. Desmidt, P. De Laender, D. De Grootte // *Veterinary Record*. – 1998. – Vol. 143. – P. 447–448.
16. Adaptation to thermotolerance in *Rhizopus* coincides with virulence as revealed by avian and invertebrate infection models, phylogeny, physiological and metabolic flexibility / K. Kaerger, V. U. Schwartze, S. Dolatabadi [et al.] // *Virulence*. – 2015. – Vol. 6. – P. 395–403.
17. Fischer R. Conidiation in *Aspergillus nidulans* / R. Fischer // *Molecular Biology of Fungal Development: Mycology series* [ed. by Bennett J.W.]. – New-York Basel : Taylor & Francis Group LLC, 2002.
18. Билай В. И. Основы общей микологии : учебное пособие для вузов / В. И. Билай. – Киев : Вища школа, 1980. – 360 с.
19. Саттон Д. Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди. – Москва, 2001. – 486 с.
20. Переведенцева Л. Г. Микология : грибы и грибоподобные организмы / Л. Г. Переведенцева. — [2-е изд., испр. и доп.]. - Санкт-Петербург : Лань, 2012. — 272 с.
21. Черепанова Н. П. Морфология и размножение грибов / Н. П. Черепанова. – Ленинград : Изд-во Ленинградского ун-та, 1981. – 120 с.
22. Билай В. И. Методы экспериментальной микологии / В. И. Билай. – Киев : Наук. думка; 1982. – 550 с.

UDC 619: 616.98-036.22:579.887

INVESTIGATION OF BACTERIAL MICROFLORA IN CATTLE-BASED EARTHQUAKES OF DIFFERENT TECHNOLOGICAL DIRECTIONS

A. L. Nechiporenko¹, T. I. Fotina¹, A. A. Fotina¹, R. V. Petrov¹
¹Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

The results of researches on revealing of a microflora of a bird in industrial farms of different directions are resulted.

The research was conducted on the basis of the Department of veterinary expertise, microbiology, zoo and safety of livestock products at the Faculty of Veterinary Medicine of Sumy National Agrarian University, Sumy Branch of the State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, poultry farms of various technological trends.

Study of Epizootic Peculiarities of the Course Infectious diseases of the bird were performed according to generally accepted methods of epizootic obstoy and experiment. The material for bacteriological research was fresh bird carcasses and colonies of microflora grown in Petri dishes during the sampling of external air, air incubators, washing from the shell of incubation eggs. Bacterial air pollution of poultry houses was determined by the method of sedimentation: an exposure of 5 minutes - in Petri dishes from MPA and Endo agar with counting of colonies that grow up in 24 hours in a thermostat at 37 ° C. To facilitate work, they used a semi-automatic counter to calculate the colonies. Determination of conditionally pathogenic microflora was carried out using RIDA@COUNT rapid test cards (Germany).

In determining the microbiological composition of the microflora it was established that it is represented by a wide range of gram-positive and gram-negative bacteria. The highest percentage of isolated microflora in farms of different technological areas on escherichia (40.2%). By antigenic structure, E. coli strains belonged to serovars O2: K2; O6: K15; O159: K; O32: K; O164: K; O115: K; O152: K.

The share of other microorganisms isolated from poultry farms was: Salmonella - 10.3%, Staphylococci - 8.7%, Clostridia - 7.3%, Campylobacteria - 5.7%, Streptococci - 5.6%, Proteases - 4.5%, Mycoplasmas - 4.2%, Clamsillella - 3.4%, Yersinia - 2.9%, Pseudomonas aeruginosa - 2%, Enterobacteria - 1.8%, Pasterioles - 1.4%, Citrobacilli - 1.3%, Hemophilic sticks - 0.7%.

Key words: poultry, conditionally pathogenic microflora, Escherichia, Salmonella, coca, poultry farming.

ДОСЛІДЖЕННЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ В ПТАХІВНИЧИХ ГОСПОДАСТВАХ РІЗНОГО ТЕХНОЛОГІЧНОГО НАПРЯМКУ

О. Л. Нечипоренко¹, Т. І. Фотіна¹, Г. А. Фотіна¹, Р. В. Петров¹
¹Сумський національний аграрний університет, Суми, Україна

Наведені результати досліджень щодо виявлення мікрофлори птиці в промислових господарствах різного напрямлення. При визначенні мікробіологічного складу мікрофлори було встановлено, що вона була представлена широким спектром грампозитивних та грамнегативних бактерій. Найбільший відсоток