

ЛЕКЦІЯ №2

Еволюція поглядів на походження мікроорганізмів. Класифікація та ідентифікація

План:

1. Загальні ознаки та різноманітність.
2. Прокаріотичні та еукаріотичні мікроорганізми.
3. Принципи класифікації та ідентифікації.

В даний час немає єдності в поглядах на загальну систему живого світу. Згідно однієї з точок зору, спроби укласти всю існуючу різноманітність організмів в жорстку схему не доцільні, оскільки це не описує, а порушує природні зв'язки між організмами.

Арістотель (384 – 322 рік до н.е.) був першим, хто спробував систематизувати накопичені на той час відомості про живі організми. Біологи з тих пір ділять живий світ на два царства: Тварини та Рослини.

Після відкриття Левенгука до ХІХ століття всі мікроорганізми (що відкривалися) відносили до «маленьких істот тваринної природи».

Е. Геккель (1834 – 1919) вважав, що мікроорганізми настільки відрізняються як від царства тварин, як і від царства рослин, що їх необхідно виділити в окреме царство – *Protista*. До цього царства увійшли бактерії, гриби, водорості, найпростіші, – у них не має диференціювання на органи і тканини. Термін *Protista* застосовується і зараз.

Подальше вивчення «першотварин» виявило неоднорідність цієї групи. Тоді ж стало ясно, що поняття «мікроорганізми» не має таксономічного сенсу. Воно об'єднує організми за ознакою їх малого розміру і пов'язаних з цим специфічних методів вивчення. Дані про відмінність в будові клітин мікроорганізмів накопичувалися з кінця ХІХ століття, і це спричинило поділ групи на вищих та нижчих протісти.

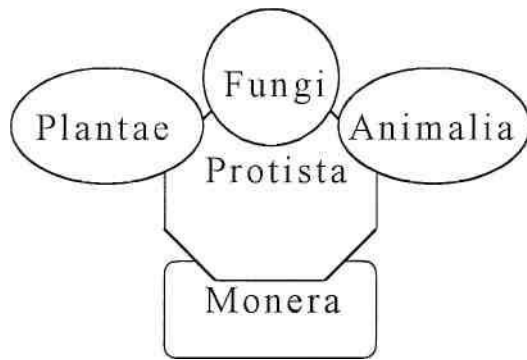
До вищих почали відносити мікроскопічних тварин (найпростіших), мікроводорості (окрім синьо-зелених), гриби (цвіль, дріжджі).

До нижчих – всі бактерії і синьо-зелені водорості (ціанобактерій).

Ділення на вищих та нижчі протісти відбувалося відповідно до двох виявлених типів клітинної організації – еукаріотичної та прокаріотичної. Вищі – еукаріоти, нижчі, – прокаріоти.

Тому **Меррей** (1968) запропонував тільки два царства: *Procaryota* і *Eucaryota*.

Віттекер (1969) запропонував схему, по якій всі живі організми, що мають клітинну будову, представлені розділеними на 5 царств. Така система класифікації живого світу враховує і відображає 3 рівні організації живих систем.



Monera – включає нижчі протисти – бактерії та синьо-зелені водорості.

Protista – одноклітинні, не диференційовані форми життя, що утворилися в результаті якісного стрибка в процесі еволюції (дріжджі, найпростіші).

Fungi – гриби – спосіб живлення осмотрофний – всмоктування розчинених

органічних речовин.

Plantae – рослини – фототрофні.

Animalia – тварини – голозоїдні – захоплення і перетравлення.

Зупинимося на деяких загальних структурних ознаках всіх клітинних організмів: прокаріотів та еукаріотів.

ЗАГАЛЬНЕ: клітина – це шматочок цитоплазми обмежений мембраною. Отже, наявність:

- 1) цитоплазми;
- 2) мембрани;
- 3) обов'язковими хімічними компонентами клітки є ДНК і РНК – нуклеїнові кислоти, білки, ліпіди, вуглеводи.

Вивчення тонкої структури клітин дозволило виявити відмінності клітин прокаріотів та еукаріотів.

Специфічність прокаріотичної клітини:

1. має одну внутрішню порожнину, що утворюється елементарною мембраною, яка називається цитоплазмою (ЦПМ). У переважної більшості прокаріот ЦПМ – єдина мембрана в клітині.
2. У клітини немає органел.

Специфічність еукаріотичної клітини:

1. є вторинні порожнини: ядерна мембрана, що обмежує ДНК від решти цитоплазми, формує вторинну порожнину. Теж – хлоропласти та мітохондрії.
2. клітинні структури, обмежені елементарними мембранами, які виконують певні функції в клітині, отримали назву органели.

Порівняльні характеристики прокаріотичної та еукаріотичної клітини приведені в таблиці 1.

ВІРУСИ. Вірусна частинка називається також віріоном. Складається з нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК), оточеною білковою оболонкою. Не може розмножуватися і функціонувати без клітки-господаря. Неклітинна форма життя (напівжиття). Білкова оболонка називається капсид. Капсид + нуклеїнова кислота = нуклеокапсид.

Вірусна частинка може бути голою – без оболонки (вірус тютюнової мозаїки, вірус, що викликає бородавки, аденовірус) і з оболонкою (віруси грипу та герпесу).

Отже, віруси – це абсолютно окрема група позаклітинних частинок, що функціонують тільки в клітині.

Якщо класифікація вищих організмів відображає їх еволюційні зв'язки, то створення на цій же основі класифікації усередині царства прокаріот значно складніше.

Для подальшого викладу питання доцільно дати визначення термінів, які використовуються при подальшому викладі матеріалу.

Систематика – теорія різноманіття організмів, що вивчає відносини між їх групами (таксонами).

Класифікація – розподіл безлічі організмів по групах (таксонам).

Таксономія – найменування груп організмів, встановлення їх меж і відносин підпорядкування.

Таксон – група організмів, що володіють заданим ступенем однорідності.

Основною таксономічною категорією є вид. По сучасних уявленнях, вид – це група близьких між собою організмів, що мають загальний корінь походження і на даному етапі еволюції тих, що характеризуються певними морфологічними, біохімічними і фізіологічними ознаками, відособлених відбором і пристосованих до певного місця існування.

Види об'єднуються в роди, роди в сімейства, сімейства в порядки, порядки в класи, класи у відділи, відділи в царства.

Слід розрізняти два види класифікацій:

- філогенез (природні) – об'єднують споріднені форми, зв'язані спільністю походження, мета – філогенетичне древо бактерій.
- штучні – ставить скромніші цілі – об'єднує мікроорганізми на основі їх схожості і використовується для ідентифікації, тобто для швидкого визначення виду в належності до певного таксона.

Найбільш повна праця, в якій описані бактерії, – це «Керівництво за визначенням бактерій Бергі» (1923), восьме видання якого вийшло в 1974 році.

Головна мета штучної класифікації – легкість визначення – ідентифікації.

Для ідентифікації бактерій використовують сукупність ознак:

- морфологічних (форма тіла, наявність або відсутність джгутиків, капсули, здібність до спороутворення, особливості внутріклітинної будови, фарбування по Граму);

- культуральних (ознаки, що виявляються при культивуванні чистої культури в лабораторних умовах);

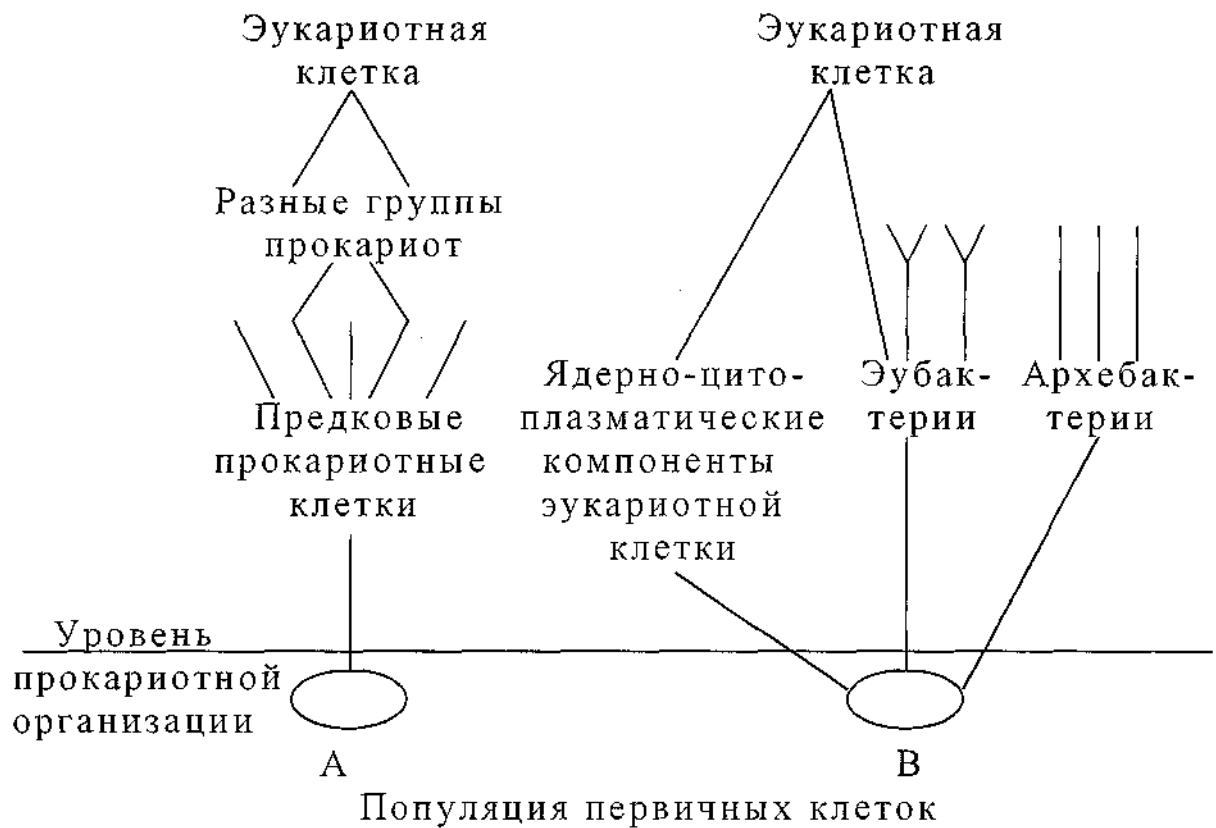
фізіолого-біохімічних (способи отримання енергії, потреби в живильних речовинах, відношення до чинників зовнішнього середовища, нуклеотидний склад і послідовність нуклеотидов в ДНК, нуклеотидний склад рибосомальної РНК, послідовність амінокислот в ферментативних білках з аналогічними функціями).

Для восьмого видання Визначника бактерій по Бергі характерна відмова від побудови класичної ієрархічної системи класифікації. Цінність Визначника в тому, що він є якнайповнішим зведенням відомих бактерійних форм і є найсучаснішим посібником з ідентифікації.

Ми строго дотримуватимемося 8-го видання Визначника Бергі, проте там не розглядаються докладним чином ціанобактерії і до виходу 8-го видання не були відомі подробиці фактів, що призвели до відкриття архебактерій.

На підставі нових багатьох відкриттів можна сказати, що вже незабаром посліднують нові перестановки і доповнення. Що безумовно – залишаться ознаки, видимі в мікроскоп, і легко встановлювані залежності зростання бактерій від присутності O_2 і забарвлення по Граму.

Перш ніж перейти до вивчення прокариот, через короткий розгляд 19 груп бактерій, викладених у Визначників (а ми їх просто перерахуємо), розглянемо як виглядають на сьогодні шляхи клітинної еволюції в простому графічному викладі:



Коротка характеристика груп мікроорганізмів за визначником Бергі

ЦАРСТВО *Procaryota*

ВІДДІЛ 1. Ціанобактерії;

2. Бактерії – 19 груп – з описом всіх відомих сімейств, пологів, видів.

ГРУПА 1 – фототрофні бактерії, анаероби, фотосинтез без виділення кисню. Мешкають в ґрунті та прісній воді, стічних водах;

ГРУПА 2 – ковзаючі бактерії;

ГРУПА 3 – бактерії, які створюють слизисту оболонку;

ГРУПА 4 – стеблові бактерії або такі, що розмножуються брунькуванням;

ГРУПА 5 – сімейство *Spirochaetaceae* (хвороби у людини *Treponema pallidum*, *Borrelia*, *Leptospira recurrentis* (тиф)) грам-негативні, непатогенні, вільноживучі;

ГРУПА 6 – спіралевидні та зігнуті форми. Аероби та анаероби. Два роди патогенні для людини (*Spirillum campylobacter*). р. *Bdellovibrio* – паразит бактерій;

ГРУПА 7 – аероби, палички, коки. Рід *Pseudomonas* – водні, патогенні для людини;

ГРУПА 8 – грам-негативні, факультативно-анаеробні палички. Сімейства *Enterobacter*, *Vibrionaceae*, 12 родів, багато патогенних: *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Vibrio cholerae*, *E. coli*;

ГРУПА 9 – викликають запальні процеси, палички;

ГРУПА 10 – *Neisseriaceae* – коки та кокобацили, патогенні бактерії, грам-негативні;

ГРУПА 11 – грам-негативні анаеробні коки, широко поширені бактерії, мешкають в ротовій порожнині, кишечнику, легенях людей, р. *Veillonellaceae*;

ГРУПА 12 – грам-негативні, хемолітотрофні бактерії, патогенних немає. Широко поширені в природі, р. *Sulfolobus*, *Thiobacillus*;

ГРУПА 13 – метаноутворюючі бактерії, живуть в болотах та очисних спорудах;

ГРУПА 14 – грам-позитивні коки. 3 сімейства: *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Peptococcaceae*. Багато стафілококів та стрептококів патогенні;

ГРУПА 15 – палички і коки, які утворюють спори: *Bacillus*, *Clostridium*. Патогенні: *Cl.tetani*, *Cl.botulinum*;

ГРУПА 16 – грам-позитивні неспоріві палички. Сімейство *Lactobacillaceae* мешкають в ґрунті, кишечнику, молоці, на рослинах. Викликають карієс зубів, запалення;

ГРУПА 17 – актиноміцети, багато патогенних: коринобактерії, збудники дифтерії, туберкульозу, хламідії;

ГРУПА 18 – рикетсії. 2 порядки. Патогенні;

ГРУПА 19 – мікоплазми. Немає клітинної стінки. Дуже дрібні. Ревматизм серця.

Методи мікробіології

Перший етап мікробіологічних досліджень – виділення мікроорганізмів в чисту культуру і подальше культивування (вирощування мікроорганізмів на штучному середовищі в лабораторії). Виділення і культивування мікроорганізмів вимагає дотримання правил стерильності та ретельного підбору складу культуральних середовищ.

Для вивчення морфології мікроорганізмів використовують:

- світлову та електронну мікроскопію;
- різні методи приготування прижиттєвих та фіксованих препаратів;
- прості та складні (диференційовані) забарвлення структур бактерійної клітини;
- фізіологічні, біохімічні, генетичні та інші особливості бактерій вивчаються методами, характерними для цих гілок біологічної науки;
- ДНК-гібридизація.

Дані про походження життя на Землі

Гіпотеза Опаріна А. І. – передбіологічний природний добір – коацерватні краплі. Швидкість ферментативної реакції в краплях вища, ніж в гомогенних розчинах.

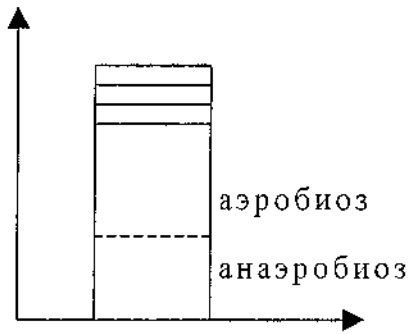
Прилад Міллера (1972) – в розряді 6 000 В отримували протягом тижня при початкових продуктах $\text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3 + \text{CO}_2 = \text{I}$ етап – альдегіди, потім альдегіди + HCN і отримували на II етапі амінокислоти та органічні кислоти.

Згідно сучасним уявленням остаточне формування земної кори відбулося близько 4,6 млрд. років назад. Наші відомості про історію виникнення і розвитку життя обмежені переважно останнім періодом, тривалість якого 600 млн. років. Решта часового періоду, що становить приблизно 90% всій історії існування Землі, фактично є чистою сторінкою у вивченні виникнення життя. Тому великий інтерес представляють дані молекулярної палеонтології, що вивчає органічні речовини якнайдавніших осадових відкладень. Трудність в інтерпретації отриманих результатів: Біогенного або абіогенного походження органічні залишки?

У зв'язку з цим цікаві знахідки, зроблені в Південній Африці в осадових породах, вік яких 3 млрд. років. У них знайдені скам'янілі залишки найдрібніших структур, що нагадують сучасні бактерії. Ці паличкоподібні структури ($0,5 \pm 0,25 \mu\text{m}$) отримали назву *Eobacterium isolatum*. При електронно-мікроскопічному вивченні виявлена двошарова клітинна стінка, подібна до клітинної стінки у багатьох сучасних бактерій.

У породах, вік яких також 3 млрд. років, виявлені строматоліти, своєрідні вапняні утворення, що є продуктами життєдіяльності стародавніх фотосинтезуючих організмів, – ціанобактерій. Звідси вивід, що вперше

земне життя повинне було виникнути в проміжку 3–4,6 млрд. років тому, схематичне зображення в часі окремих етапів еволюції представлене на малюнку:



Ціанобактеріям ми зобов'язані появі молекулярного кисню в атмосфері Землі. Проте спочатку весь кисень, що виділяється ними, поглинався земною корою, в якій відбувалися інтенсивні окислювальні процеси. За наявними геологічними даними, вміст O_2 в атмосфері досяг 1% від його

вмісту в сучасному повітрі тільки в середньому протерозої, і до цього часу можна віднести виникнення перших аеробних прокариот.

На користь цього свідчить виявлення у відкладеннях, вік яких близько 2 млрд. років, зірчастих утворень, властивих облигатній аеробній вільноживучій мікоплазмі, – *Metallogenium*. Цей організм відкладає на поверхні клітин оксиди заліза. Він зустрічається в природі при рівних концентраціях кисню, але завжди в аеробних умовах.

Принципи систематизації бактерій у визначнику Берджі

Визначник Берджі систематизує всі відомі бактерії за принципами ідентифікації, що знайшли найбільше розповсюдження в практичній бактеріології, заснованим на відмінностях у будові клітинної стінки (забарвлення за методом Грама). **Визначника виділяє чотири основні категорії бактерій** – *Gracillicutes* [від латів. *gracilis*, витончений, тонкий + *cutis*, шкіра] – види з тонкою клітинною стінкою, що рамнегативно забарвлюються; *Firmicutes* [від латів. *firmus*, міцний + *cutis*, шкіра] – бактерії з товстою клітинною стінкою, що грампозитивно забарвлюються; *Tenericutes* [від латів. *tener*, ніжний + *cutis*, шкіра] – бактерії, позбавлені клітинної стінки (мікоплазми та інші представники класу *Mollicutes*) та *Mendosicutes* [від латів. *mendosus*, неправильний + *cutis*, шкіра], – архебактерії (метан- та сульфатредуючі, галофільні, термофільні та архебактерії, які позбавлені клітинної стінки). Опис бактерій дається по групах (секціям), до складу яких включені родини, роди і види; в деяких випадках до складу груп входять класи і порядки. Патогенні для людини бактерії входять до невеликого числа груп.

Група 1. Спірохети. Включає вільноживучі і паразитичні види; для людини патогенні представники родів *Treponema*, *Borrelia* і *Leptospira*.

Група 2. Аеробні та мікроаерофільні рухомі звиті і зігнуті грамнегативні бактерії. Патогенні для людини види входять в роди *Campylobacter*, *Helicobacter* і *Spirillum*.

Група 3. Нерухомі (рідко рухомі) грамнегативні бактерії. Не містять патогенних видів.

Група 4. Грамнегативні аеробні і мікроаерофільні палички і коки. Патогенні для людини види включені до складу родин *Legionellaceae*, *Neisseriaceae* і *Pseudomonadaceae*; у групу входять також патогенні і умовно-патогенні бактерії родів *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Brucella*, *Flavobacterium*, *Francisella*, *Kingella*, і *Moraxella*.

Група 5. Факультативно анаеробні грамнегативні палички. Група утворена трьома родинами – *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* і *Pasteurellaceae*, кожне з яких включає патогенні види, а також патогенні і умовно-патогенні бактерії родів *Calymmobacterium*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Gardnerella* і *Streptobacillus*.

Група 6. Грамнегативні анаеробні прямі, зігнуті і спіральні бактерії. Патогенні і умовно-патогенні види входять до складу родів *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* і *Prevotella*.

Група 7. Бактерії, що здійснюють дисиміляційне відновлення сульфату або сірки. Не включає патогенні види.

Група 8. Анаеробні грамнегативні коки. Включає умовно-патогенні бактерії роду *Veilonella*.

Група 9. Рикетсії та хламідії. Три родини *Rickettsiaceae*, *Bartonellaceae* і *Chlamydiaceae*, кожна з яких містить патогенні для людини види.

Групи 10 і 11 включають анокси- і оксигенні фототрофні бактерії, не патогенні для людини.

Група 12. Аеробні хемолітотрофні бактерії і споріднені організми. Об'єднує сірко-, залізо- і марганецьокислюючі і нітрифікуючі бактерії, що не викликають ураження у людини.

Групи 13 і 14 включають бактерій, що розмножуються брунькуванням і/або володіють виростами, і бактерії, які утворюють футляри. Представлені вільноживучими видами, не патогенними для людини.

Групи 15 і 16 об'єднують ковзаючі бактерії, які не утворюють плодові тіла і, які утворюють їх. Групи не включають види патогенні для людини.

Група 17. Грампозитивні коки. Включає умовно-патогенні види родів *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Sarcina*, *Staphylococcus*, *Stomatococcus* і *Streptococcus*.

Група 18. Спороутворюючі грампозитивні палички і коки. Включає патогенні і умовно-патогенні палички родів *Clostridium* і *Bacillus*.

Група 19. Споронеутворюючі грампозитивні палички правильної форми. Включає умовно-патогенні види родів *Erysipelothrix* і *Listeria*.

Група 20. Споронеутворюючі грампозитивні палички неправильної форми. До складу групи входять патогенні і умовно-патогенні види родів *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Gardnerella*, *Mobiluncus* та ін.

Група 21. Мікобактерії. Включає єдиний рід *Mycobacterium*, об'єднуючий патогенні і умовно-патогенні види.

Групи 22-29. Актиноміцети. Серед численних видів лише нокардіоформні актиноміцети (**група 22**) родів *Gordona*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Tsukamurella*, *Jonesia*, *Oerskovia* і *Terrabacter* здатні викликати ураження у людини.

Група 30. Мікоплазми. Патогенні для людини види, включені до складу родів *Acholeplasma*, *Mycoplasma* і *Ureaplasma*.

Решта груп – метаногенні бактерії (**31**), сульфатредуючі бактерії (**32**), екстремально галофільні аеробні архебактерії (**33**), архебактерії, позбавлені клітинної стінки (**34**), екстремальні термофіли і гіпертермофіли, що метаболізують сірку (**35**) – не містять патогенні для людини види.