

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКА ДЕРЖАВНА ЗООВЕТЕРИНАРНА АКАДЕМІЯ**

**ВЕТЕРИНАРІЯ,
ТЕХНОЛОГІЇ ТВАРИННИЦТВА
ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ**

**Науково-практичний журнал
№1**

Харків – 2018

11. Моргулис И. И. Ранняя реакция организма млекопитающего на воздействие хлоридом кобальта : автореф. дис. ... канд. биол. наук : спец. 03.00.16 «Экология» ; 03.00.02. «Биофизика» / И. И. Моргулис. – Красноярск, 2006. – 24 с.
12. Скрипка М. В. Морфофункціональні зміни в печінці при хронічній інтоксикації мікроелементами у молодняку свиней / М. В. Скрипка, І. Є. Запека // Наук. вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького. – 2014. – Т. 16 (№2), ч. 1. – С. 312–317.
13. Скрипка М. В. Гістологічні зміни в паренхіматозних органах свиней за колієнтеротоксемії на фоні надлишку мікроелементів (міді, заліза, кобальту) в кормах / М. В. Скрипка, І. Є. Запека // Аграрний вісник Причорномор'я. – 2017. – С. 228–234.
14. Тарасенко Л. О. Санітарно-гігієнічна оцінка кумулятивних властивостей важких металів та їх дія на морфологічні структури організму поросят / Л. О. Тарасенко // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького. – Львів, 2007. – Т. 9, № 4 (35). – С. 134–139.
15. Терехов В. І. Ешеріхіоз поросят : сучасні аспекти / В. І. Терехов // Ветеринарна практика : науково-практичний журнал для спеціалістів ветеринарної медицини. – 2007. – № 2. – С. 34–38.
16. Ушкалов В. О. Надлишок мікроелементів у кормах – фактор ризику для здоров'я молодняку свиней / В. О. Ушкалов, М. В. Скрипка, І. Є. Запека // Ветеринарна біотехнологія. – 2013. – Вип. 23. – С. 268–270.
17. Хвороби свиней / [В. І. Левченко, В. П. Заярнюк, І. В. Папченко та ін.] ; за ред. В. І. Левченка і І. В. Папченка. – Біла Церква, 2005. – 168 с.

UDC 561.28:579.242:616-094:582.281.21

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE FUNGAL GROWTH PHASES OF THE GENUS MUCOR AND RHIZOPUS

O. V. Kinash¹, V. A. Yevstafyeva², V. V. Melnychuk²

¹HSEE of Ukraine «Ukrainian Medical Stomatological Academy», Poltava, Ukraine
E-mail: vet.86@ukr.net

²Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine

Fungi of the family Mucoraceae are contaminated pathogens and saprophytic microorganisms. In the case of penetration into a susceptible organism, they are capable of causing a disease called mucormycosis. More often, the causative agents of mucormycosis in different species of animals and humans is the fungi of the genera Mucor, Rhizopus, Absidia and Mortierella. The reproduction and survival of fungi is ensured by the spores formation process. For pathogenic micromycetes spores have a special meaning. The invasion of a mycosis causative agent is occurs to a receptive organism due to spores. The mold fungi identification in laboratory conditions is based on morphological characteristics of culture in asexual reproduction.

The primary aim of this study is to determine the fungal growth phases of morphological characteristics for the genus Mucor and Rhizopus and to establish the optimal term for it identification. The present study is the first on detail description of the fungal growth phases of the genus Mucor and Rhizopus.

As a object of study used isolates Mucor ramosissimus Samutsevitsch, Rhizopus spp. from pathological material of died poultry. Cultivation of fungi conducted on sabouraud dextrose agar at 26 °C during 7 days. The concentration of colonized forming units per y 1 sm³ of suspension determined in cytometric hemocytometer.

The morphological characteristics of the fungal growth phases of the genus Mucor and Rhizopus has been studied. It was also established, that fungi of genus Mucoraceae pass through the five phases of growth are common in majority of micromycetes. However, they are accompanied specific and consistent macroscopic and microscopic changes of cultures. The first phase of growth (phase of spore germination) in the genus Mucor and Rhizopus in microscopic level is accompanied by increasing of spore volume. Further the shell of the spore is broken and the primary mycelium develops (first day of cultivation). The second phase of growth (log phase) is characterized by mycelium development and it ramification (second day of cultivation). Herewith mycelium is differentiated on substrate and air. The third phase (phase of accelerated uneven growth) is accompanied by formation of sporangies and pigmentation of colonies (continues from second to the fourth day). The fourth phase (phase of exponential growth) in the genus Mucor and Rhizopus manifests itself by increasing of vegetative mycelium total weight, deceleration of sporangies forming (recorded on the fifth day of cultivation). The fifth phase of growth (aging) is accompanied by destroying of conidial heads and spore releasing with further autolysis of mycelium (from fifth to sixth day). As it follows from the findings presented in this study that the most informative term of cultivation for identification of genus Mucor and Rhizopus is the fourth or fifth day. This term corresponds to completion of phase of accelerated uneven growth and phase of exponential growth.

Key words: *Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus, fungal growth phases.*

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 експоненціального 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 *Mucoraceae*, 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 безстатєва 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 безстатєвого 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 дослідженні було використано польові ізоляти грибів *Mucor ramosissimus* Samutsevitch, *Rhizopus spp.*, виділені з патологічного матеріалу від загиблої 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 *Mucoraceae* 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 вибрання 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 сформуються спорангії.

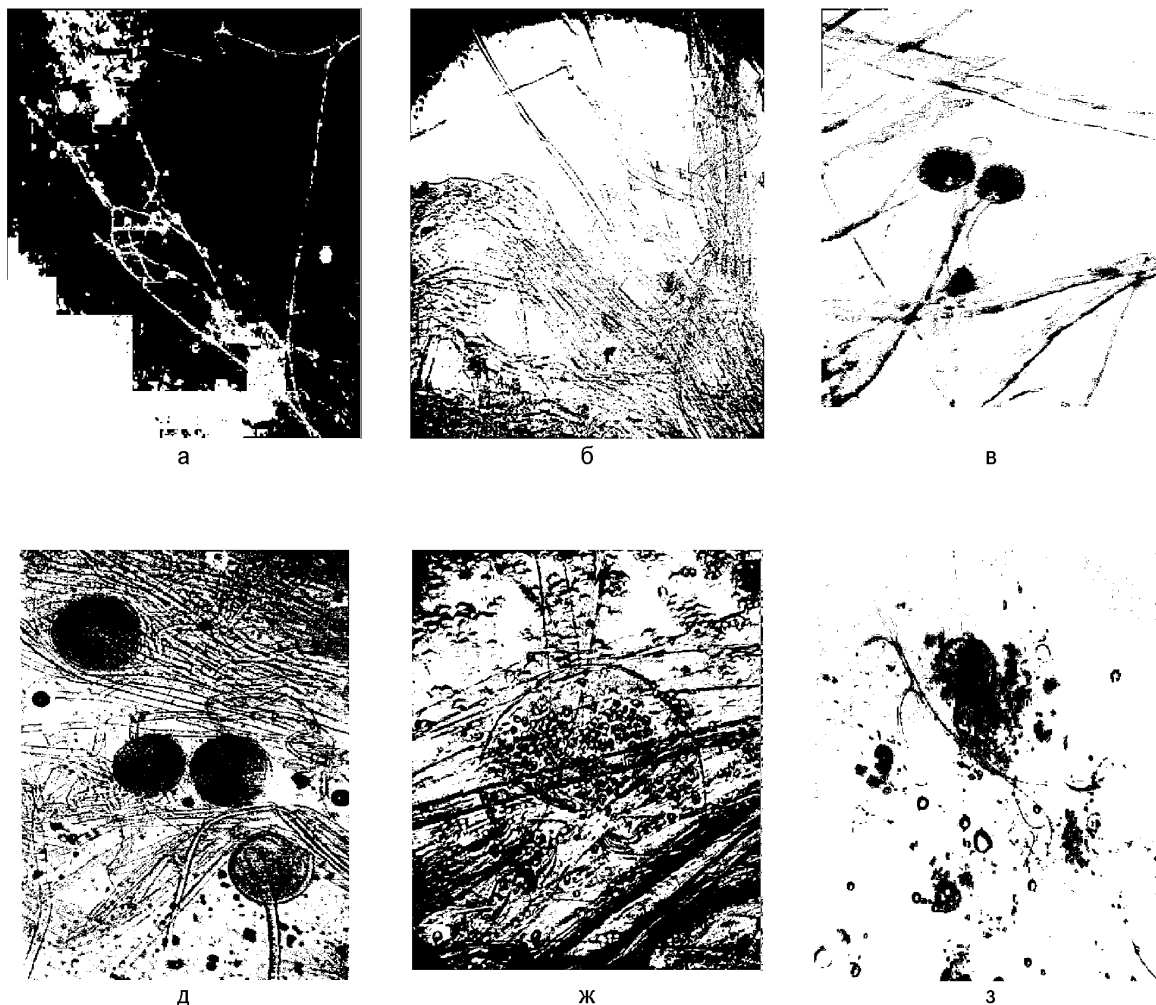


Рис. 1. Розвиток культур грибів родини *Mucoraceae* (мікрокартина): а — завершення логарифмічної фази, початок прискороного нерівномірного росту, галуження міцелію, утворення непігментованих спорангіїв у гриба роду *Mucor* (2–3-тя доба), $\times 100$; б — фаза прискороного нерівномірного росту, розростання несептованого міцелію у гриба роду *Rhizopus* (3–4-та доба), $\times 400$; в — фаза прискороного 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, $t = 26\text{ }^\circ\text{C}$

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. Спорангієносці 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 прискороного нерівномірного росту у мукових грибів тривала з другої до четвертої доби, характеризувалася утворенням органів плодоношення (спорангіїв) та поступовою пігментацією колонії. Четверта фаза невідповідного 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 прискороного 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. Климко Н. Н. Микозы : диагностика и лечение : руководство для врачей / Н. Н. Климко. – Москва : Ви Джи Групп, 2008. – 336 с.
7. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems [Electronic resource]. 10th Revision (ICD-10) - WHO Version for, 2016. - Mode of access : <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 Groote // 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 MICROFLOOR 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 грам-позитивних та грам-негативних бактерій. Найбільший відсоток