

Лекция 10. Физиология бактерий, методы её изучения



План.

1. Виды пластического обмена у бактерий. Методы культивирования
2. Химический состав бактерий
3. Типы питания
4. Дыхание бактерий
5. Ферменты
6. Рост и размножение микроорганизмов
7. Образование пигментов, свечение и ароматообразование
8. Культивирование бактерий на питательных средах.

Д.з. по уч.Прозоркиной стр. 33-58,

Черкес стр. 52-66, 94-117.



1. Основные виды пластического обмена

- 1) белковый;
- 2) углеводный;
- 3) липидный;
- 4) нуклеиновый.

- *Белковый обмен* характеризуется катаболизмом и анаболизмом. В процессе катаболизма бактерии разлагают белки под действием протеаз с образованием пептидов. Под действием пептидаз из пептидов образуются аминокислоты.

Распад белков в аэробных условиях называется **тлением**, в анаэробных – **гниением**.



В зависимости от конечных продуктов выделяют следующие виды брожения:

- 1) спиртовое (характерно для грибов);
- 2) пропиониво-кислое (характерно для клостридий, пропиони-бактерий);
- 3) молочно-кислое (характерно для стрептококков);
- 4) масляно-кислое (характерно для сарцин);
- 5) бутиленгликолевое (характерно для бацилл).

Наряду с основным анаэробным распадом (гликолизом) могут быть вспомогательные пути расщепления углеводов (пентозофосфатный, кетодезоксифосфоглюконатный и др.). Они отличаются ключевыми продуктами и реакциями.

Липидный обмен

- осуществляется с помощью ферментов – липопротеиназ, летициназ, липаз, фосфолипаз. Липазы катализируют распад нейтральных жирных кислот, т. е. ответственны за отщепление этих кислот от глицерина. При распаде жирных кислот клетка запасает энергию. Конечным продуктом распада является ацетил-КоэнзимА.
- Биосинтез липидов осуществляется за счет ацетилпереносящих белков. При этом ацетильный остаток переходит на глицерофосфат с образованием фосфатидных кислот, а они уже вступают в химические реакции с образованием сложных эфиров со спиртами. Эти превращения лежат в основе синтеза фосфолипидов.
- Бактерии способны синтезировать как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты, но синтез последних более характерен для аэробов, так как требует кислорода.

Метаболизм - это обмен веществ: ассимиляция – анаболизм (синтез веществ с затратой энергии), диссимиляция – катаболизм.

Особенности метаболизма у бактерий:

- 1) многообразие используемых субстратов;
- 2) интенсивность процессов метаболизма;
- 3) направленность всех процессов метаболизма на обеспечение процессов размножения;
- 4) преобладание процессов распада над процессами синтеза;
- 5) наличие экзо- и эндоферментов метаболизма.

В процессе метаболизма выделяют два вида обмена:

- 1) пластический (конструктивный):
 - а) анаболизм (с затратами энергии);
 - б) катаболизм (с выделением энергии);
- 2) энергетический обмен (протекает в дыхательных мезосомах):
 - а) дыхание;
 - б) брожение.



Химический состав бактерий

Вещества: 1) неорганические:

- - вода 75-85 % (в споре 18-20%) - универсальный растворитель;
- - минеральные соли 2-14% (фосфор, натрий, железо, магний, калий, сера) и микроэлементы (кобальт, молибден, марганец, медь, цинк)



Источник углерода CO ₂	Автотрофия Неорганические доноры электронов (H ₂ , NH ₃ , H ₂ S, S, CO, Fe ⁺⁺), литотрофы	Снабжение энергией. Свет => фотоавтотрофы. Окисление/восстановление => хемотротрофы
Источник углерода, органическая субстанция	Миксотрофия	Снабжение энергией. Свет => фотоавтотрофы. Окисление/восстановление => хемотротрофы
Источник углерода. Органический субстрат	Гетеротрофия Донор электронов органического происхождения	Снабжение энергией. Свет => фотоавтотрофы. Окисление/восстановление => хемотротрофы

2) Органические ВЕЩЕСТВА :

- - белки 50-80% сухой массы бактерии, бывают больше 2000: простые и сложные,
- - нуклеиновые кислоты: ДНК и РНК 10-30% обеспечивают передачу наследственной информации,
- - жиры-липиды 0,2-40% - запасные вещества, участвуют в энергообмене,
- - углеводы 12-18% - источник энергии.

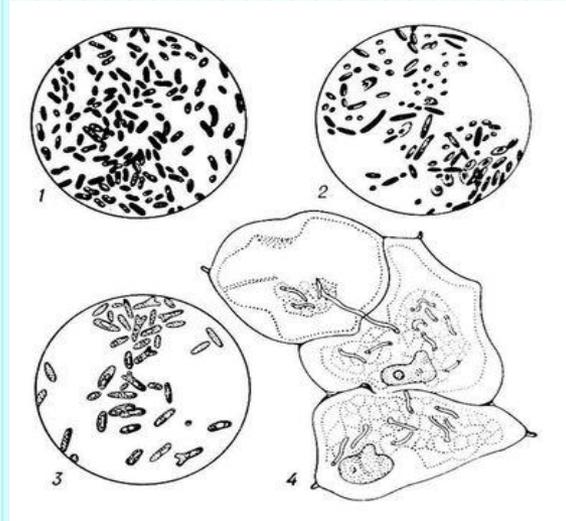
Под *питанием* понимают процессы поступления и выведения питательных веществ в клетку и из клетки.

- Питание в первую очередь обеспечивает размножение и метаболизм клетки.
- Среди необходимых питательных веществ выделяют *органогены* – это восемь химических элементов, концентрация которых в бактериальной клетке превосходит 10^{-4} моль. К ним относят углерод, кислород, водород, азот, фосфор, калий, магний, кальций.
- Кроме органогенов, необходимы микроэлементы. Они обеспечивают активность ферментов. Это цинк, марганец, молибден, кобальт, медь, никель, вольфрам, натрий, хлор.

По типу питания микроорганизмы:

- **Аутотрофы** – используют в качестве источника углерода простые неорганические вещества:

- Нитрофицирующие
- Азотфиксирующие -
- Серобактерии
- Железобактерии



- **Гетеротрофы** – питаются готовыми органическими веществами:

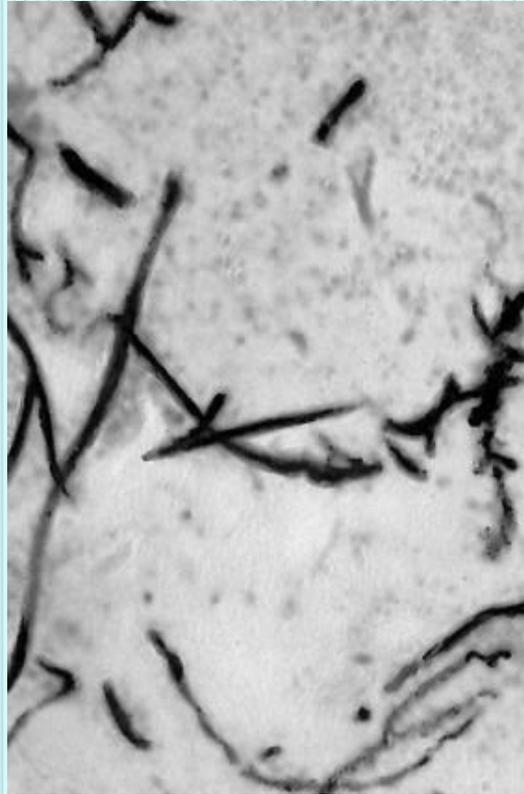
- Сапрофиты используют мёртвые органические остатки
- Паразиты питаются живыми органическими веществами, используя ресурсы хозяина. Все болезнетворные м/о: риккетсии, вирусы и др.

Аутотрофы:

**нитевидные
серобактерии**



железобактерии



азотфиксирующие



**Размножение
железобактерий**

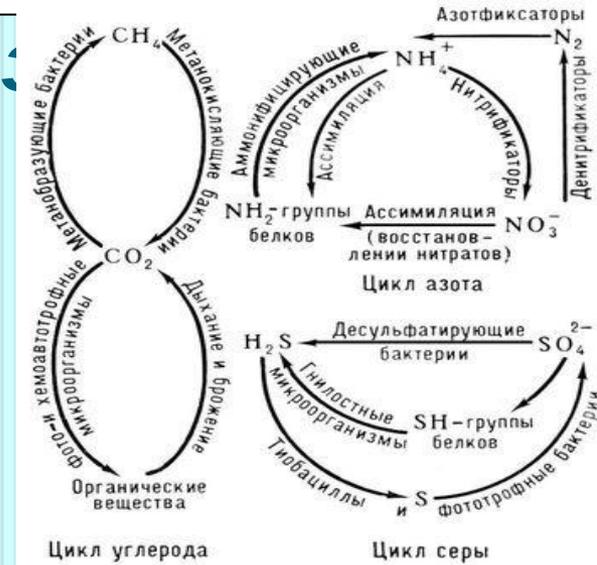
- 3. Метатрофы (используют органические вещества неживой природы).
- 4. Паратрофы (используют органические вещества живой природы).

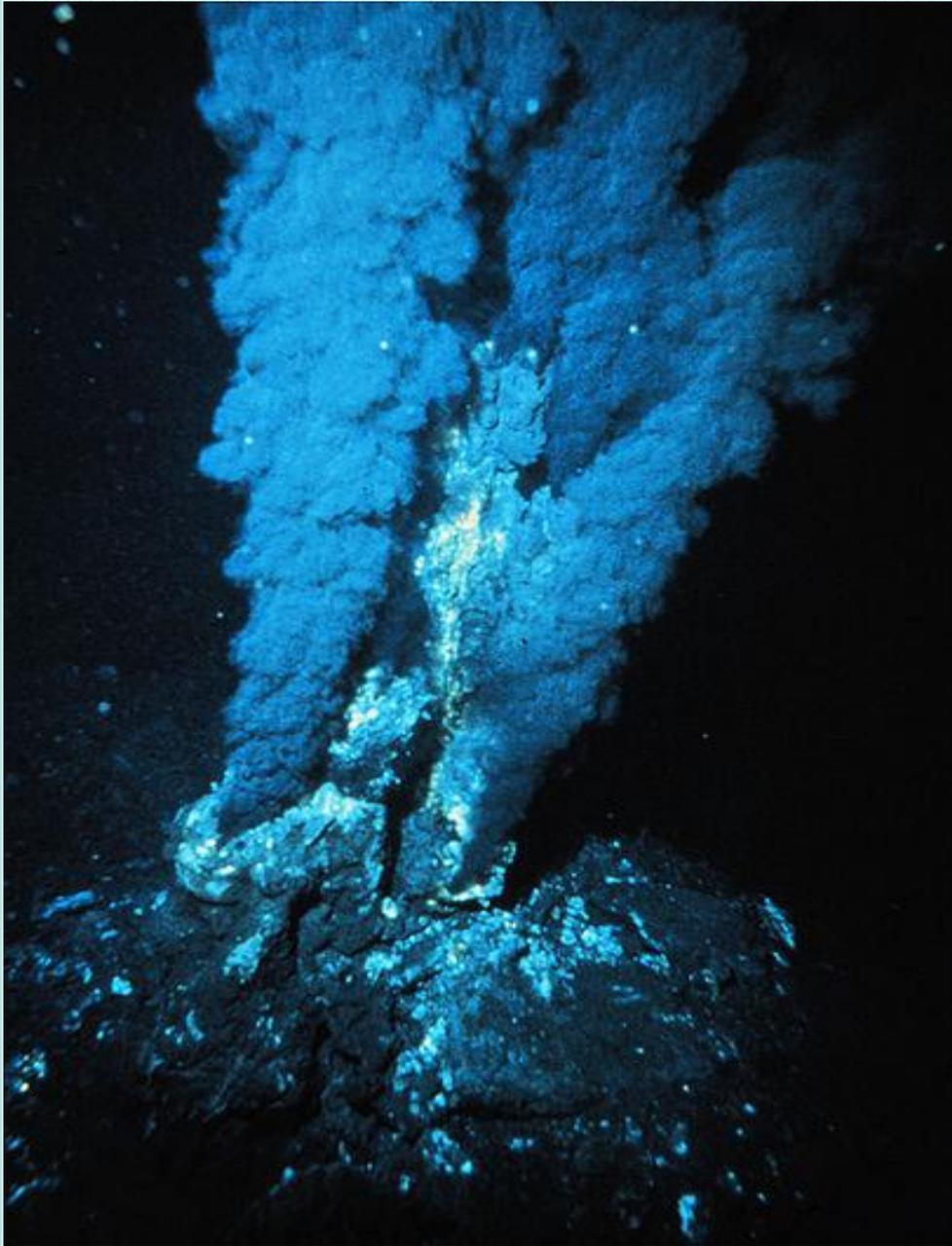
По способности усваивать азот микроорганизмы:

- Аминогетеротрофы получают азот из органич-х соединений
- Аминоавтотрофы для синтеза белка клетки используют молекулярный азот из воздуха (клубеньковые бактерии)

По источникам энергии:

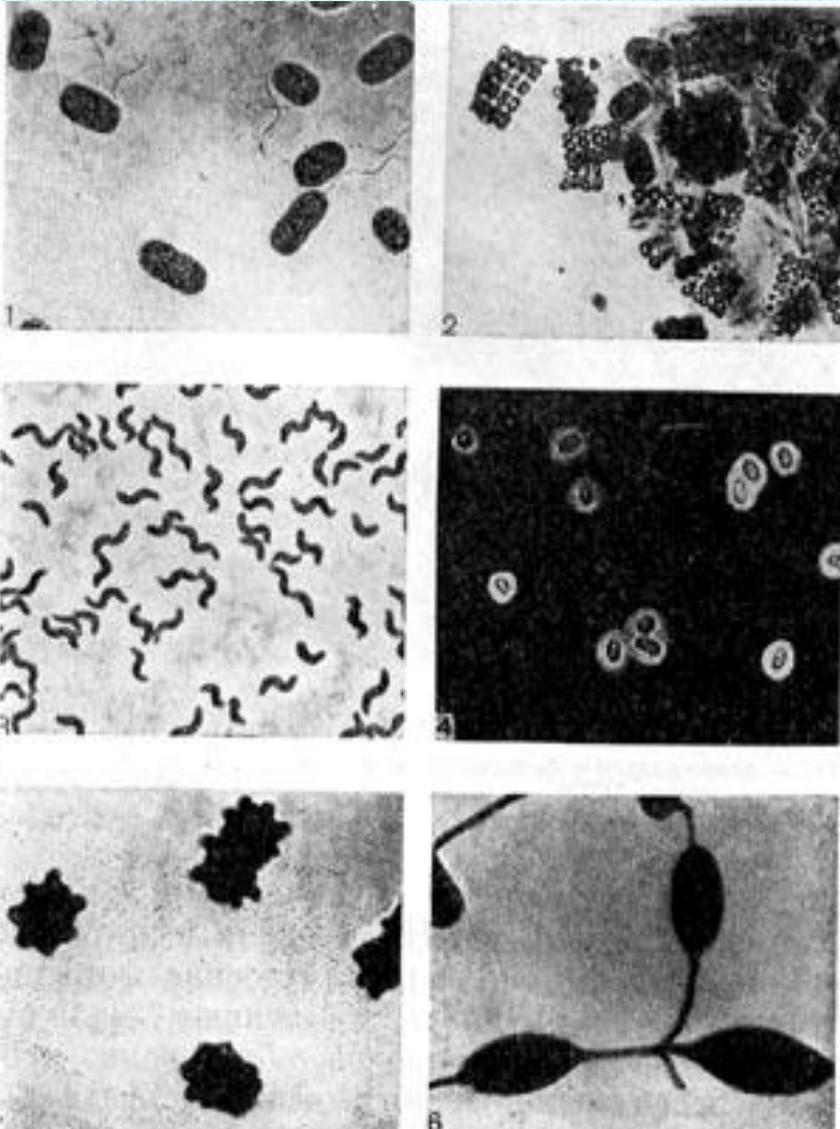
- 1) фототрофы способны использовать солнечную энергию (пурпурные серобактерии),
- 2) хемотрофы получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций.





Сообщества
микроорганизмов
чёрных
курильщиков
являются
хемотрофами и
являются
основными
продуцентами на
дне океанов

Строение фототрофов



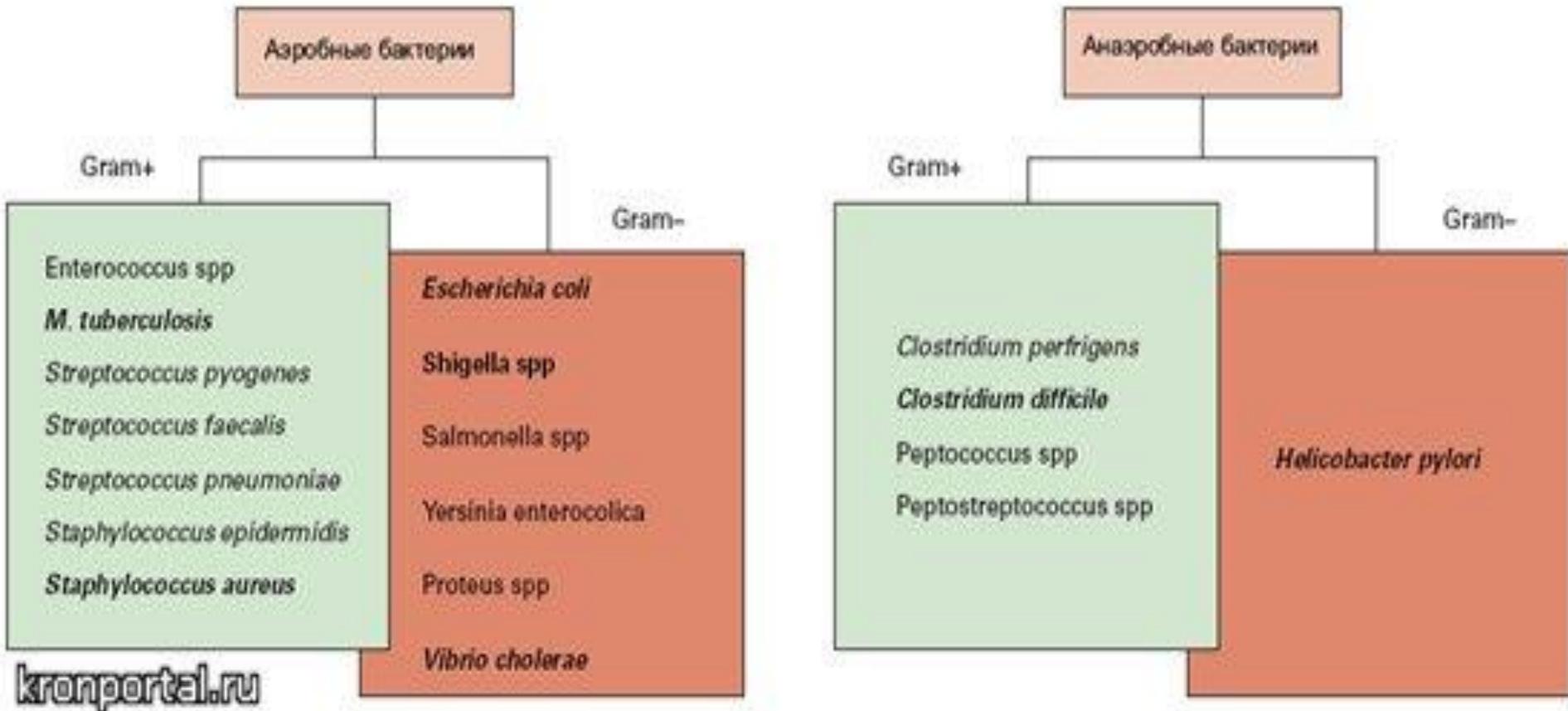
Снимки 1 — 4 сделаны в световом микроскопе

снимки 5 — 6 — в электронном микроскопе

Пути поступления метаболитов и ионов в микробную клетку.

- 1. Пассивный транспорт (без энергетических затрат):
 - 1) простая диффузия;
 - 2) облегченная диффузия (по градиенту концентрации, с помощью белков-переносчиков).
- 2. Активный транспорт с затратами АТФ (против градиента концентрации; при этом происходит взаимодействие субстрата с белком-переносчиком на поверхности цитоплазматической мембраны).
- 3. Перенос или транслокация групп радикалов.

Дыхание бактерий (биоокисление) – это совокупность биохимических процессов, в результате которых выделяется энергия, необходимая для жизнедеятельности микроорганизмов



По типу дыхания группы бактерий:

- 1. Облигатные аэробы развиваются при наличии 20% кислорода с освобождением энергии. Это микобактерии ТБС, чудесная пал-ка.
- 2. Облигатные анаэробы, для которых наличие молекулярного кислорода является губительным, например, клостридии столбняка.

Брожение - это процесс разложения органических веществ в бескислородных условиях с выделением энергии. Бывает спиртовое и молочно-кислое.

- 3. Факультативные анаэробы могут размножаться как в присутствии кислорода, так и без него. Это сапрофиты и патогенные: возбудители тифа и дизентерии.

Возбудители брюшного тифа



Микроаэрофилы нуждаются в значительно меньшем количестве кислорода, и его высокая концентрация хотя и не убивает бактерии, но задерживает их рост (актиномицеты, бруцеллы, лептоспиры). Некоторые микробы нуждаются в повышенном содержании углекислого газа (**капнофилы**)

Основные методы создания анаэробных условий для культивирования микроорганизмов

- 1. Физический - откачивание воздуха, введение специальной газовой бескислородной смеси (чаще- N_2 - 85%, CO_2 - 10%, H_2 - 5%).
- 2. Химический - применяют химические поглотители кислорода.
- 3. Биологический - совместное культивирование строгих аэробов и анаэробов (аэробы поглощают кислород и создают условия для размножения анаэробов).
- 4. Смешанный - используют несколько разных подходов.

5. Ферменты – это биологические катализаторы, высокомолекулярные вещества (ВМВ) белковой природы, вырабатываемые живой клеткой с характерной специфичностью действия

Практическое использование: дрожжи в пивоварении и хлебопечении, биодобавки к стиральному порошку (сенная палочка).

Классификация ферментов.

● *По строению выделяют:*

- 1) простые ферменты (белки);
- 2) сложные; состоят из белковой (активного центра) и небелковой частей; необходимы для активизации ферментов.

Различают также ферменты:

- 1) конститутивные ферменты находятся в микробной клетке постоянно (синтезируются постоянно независимо от наличия субстрата);
- 2) индуцибельные адаптивные индуктивные ферменты появляются в клетке только под влиянием соответствующего субстрата в питательной среде (синтезируются только в присутствии субстрата).
- Набор ферментов в клетке строго индивидуален для вида. Способность микроорганизма утилизировать субстраты за счет своего набора ферментов определяет его биохимические свойства.

По месту действия выделяют:

- 1) экзоферменты выделяются во внешнюю среду и расщепляют макромолекулы питательных веществ до более простых соединений, усваиваемых микробной клеткой (например, гидролазы действуют вне клетки; принимают участие в процессе распада крупных молекул, которые не могут проникнуть внутрь бактериальной клетки). Характерны для грамположительных бактерий;
- 2) эндоферменты катализируют метаболические реакции, происходящие внутри клетки (действуют в самой клетке, обеспечивают синтез и распад различных веществ).

В зависимости от катализируемых химических реакций все ферменты делят на шесть *классов*:

- 1) оксидоредуктазы (катализируют окислительно-восстановительные реакции между двумя субстратами);
- 2) трансферазы (осуществляют межмолекулярный перенос химических групп);
- 3) гидролазы (осуществляют гидролитическое расщепление внутримолекулярных связей);
- 4) лиазы (присоединяют химические группы по двум связям, а также осуществляют обратные реакции);
- 5) изомеразы (осуществляют процессы изомеризации, обеспечивают внутреннюю конверсию с образованием различных изомеров);
- 6) лигазы, или синтетазы (соединяют две молекулы, вследствие чего происходит расщепление пирофосфатных связей в молекуле АТФ).

Рост – увеличение размеров отдельной особи и упорядоченное воспроизведение всех клеточных компонентов и структур

Факторы роста – особые вещества, играющие роль катализаторов в биохимических процессах, являются структурными единицами при образовании некоторых ферментов

Бактерии	Грибки плесневые	Грибки дрожжевые
Одноклеточные 0,5-2,5µm	Многоклеточные около 10µm в диаметре	Одноклеточные 4-10 µm
Требуется для роста: вода; еда (С,НН); рН 7–9,5; кислород	Требуется для роста: Вода; еда (С,НН); рН 7–9,5; кислород	Требуется для роста: вода, влажность, пар, 25–30°С; еда (С, НН); рН 7–9,5; кислород
Быстрый рост	Средний рост	Быстро прорастают, но растут медленнее, чем бактерии

Размножение -
способность к
самовоспроизведению с
увеличением числа клеток в
популяции.



- Основной способ размножения у бактерий - поперечное деление (бинарное – пополам), реже почкование (tbs). При благоприятных условиях деления через каждые 15-30 минут.
- Размножение бактерий определяется *временем генерации*. Это период, в течение которого осуществляется деление клетки. Продолжительность генерации зависит от вида бактерий, возраста, состава питательной среды, температуры и др.

Скорость деления (время появления нового поколения) в благоприятной среде и при оптимальных температурных условиях у многих бактерий составляет примерно 20-30 минут.



- *График показывает теоретическую скорость размножения одной-единственной бактерии при длительности цикла деления 20 минут за 10 часов*

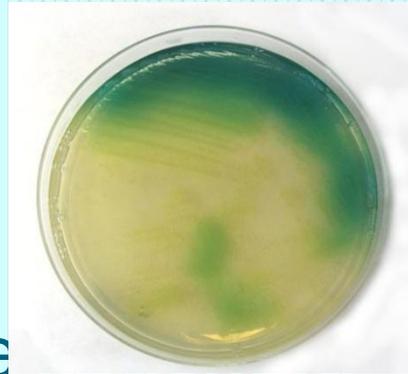
После посева на жидкую питательную среду бактерии проходят стадии:

- Начальная стационарная фаза; то количество бактерий, которое попало в питательную среду и в ней находится.
- Исходная латентная скрытая лаг – фаза покоя. Длится 3–4 ч., происходит адаптация бактерий к питательной среде, начинается активный рост клеток.
- Лог – фаза, логарифмический рост.
- Стационарная (максимальная концентрация бактерий).
- Отмирание.

Пигментообразование – образование красящих веществ в процессе метаболизма у некоторых бактерий и грибов

По химическому составу пигменты бывают:

- растворимые в воде **синий** – пиоцианин у синегнойной палочки;



- растворимые в спирте
продигиозан у чудесной палочки;



- нерастворимые ни в воде, ни в спирте. **чёрные**

и бурые меланины у дрожжей, **жёлтые** липохромы у стафилококка.

Пигменты обеспечивают:

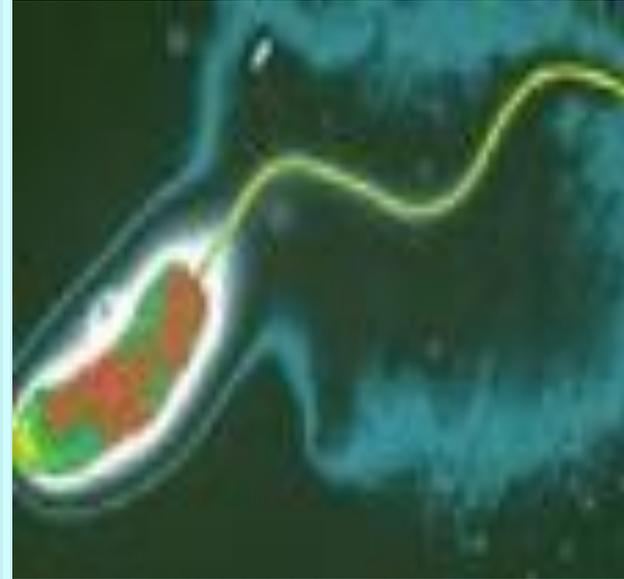
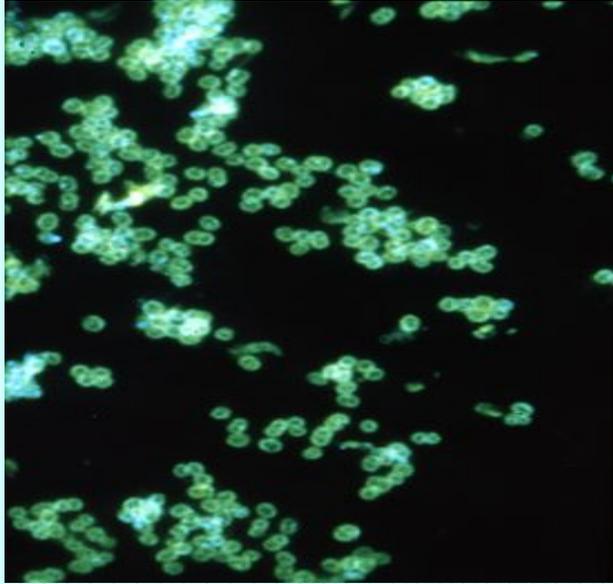
- защиту от УФ радиации,
- участвуют в реакциях синтеза,
- обладают антибиотическим действием.

Свечение фотогенных бактерий

(люминесцентность) возникает в результате окислений с выделением энергии у фотогенных аэробов, чаще в морской воде (галофиты).

Ароматообразование – это способность выделять летучие вещества, вырабатываются сложные жиры с ароматными (фруктов, вина, молока) или неприятными запахами (сероводород).

Свечение возникает в результате окисления с выделением энергии



- **Ароматообразование** – способность выделять летучие вещества

Колонии сине-гниющей палочки пахнут карамелью

