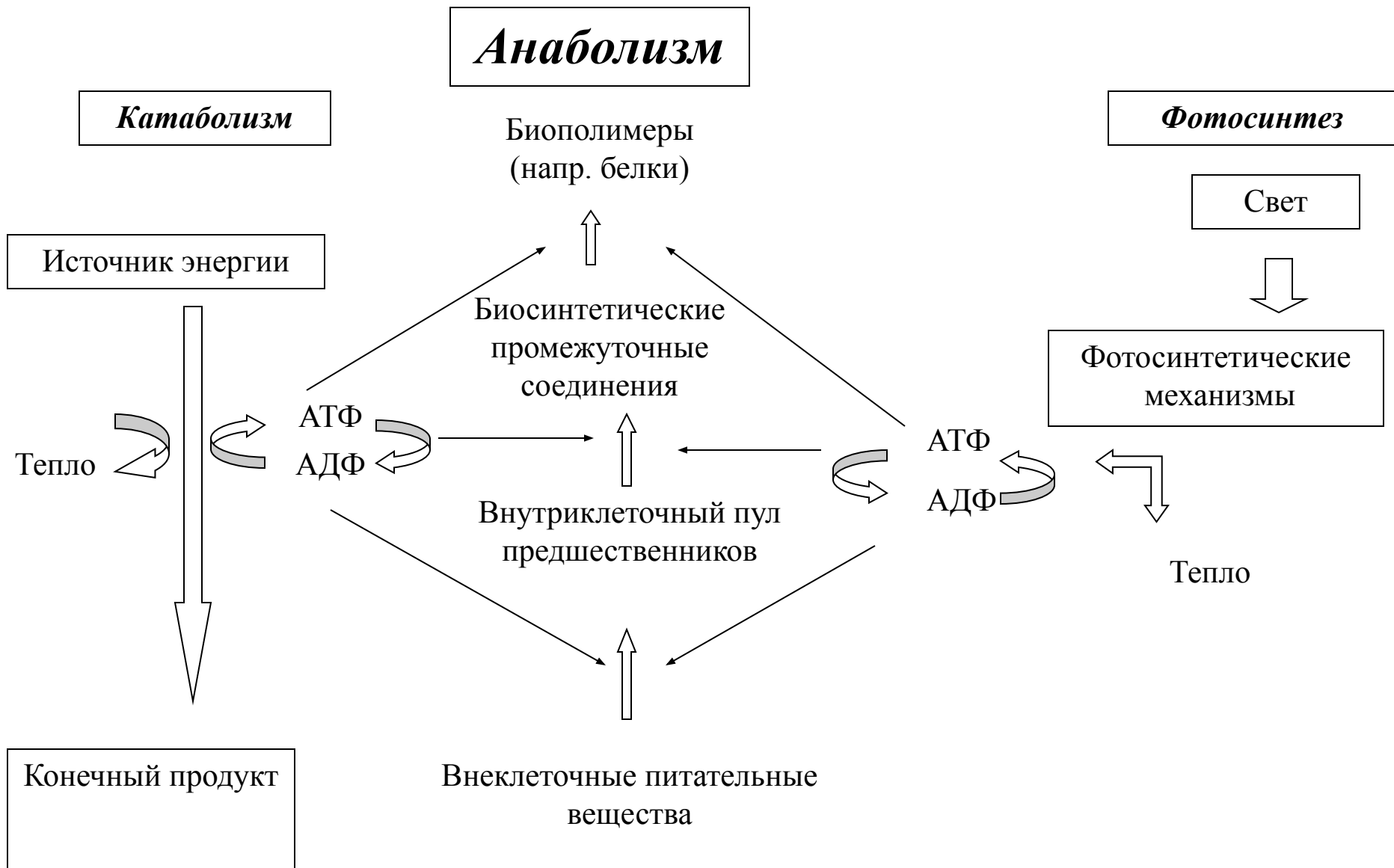


**ФИЗИОЛОГИЯ И
БИОХИМИЯ
МИКРООРГАНИЗМОВ**

Таблица 1. Макроэлементы, их источники и функции в бактериальной клетке.

| Элемент | % от сухого веса | Источник | Функция |
|----------------|-------------------------|--|--|
| Углерод | 50 | органические соединения или CO_2 | Основной компонент клеточного материала |
| Кислород | 20 | H_2O , органические соединения, CO_2 , и O_2 | Компонент клеточного материала и воды; O_2 акцептор электронов при аэробном дыхании |
| Азот | 14 | NH_3 , NO_3 , органические соединения, N_2 | Компонент аминокислот, нуклеиновых кислот, нуклеотидов и коферментов |
| Водород | 8 | H_2O , органические соединения, H_2 | Основной компонент органических соединений и клеточной воды |
| Фосфор | 3 | Неорганический фосфат (PO_4) | Компонент нуклеиновых кислот, нуклеотидов, фосфолипидов, LPS, тейхоевых кислот |
| Сера | 1 | SO_4 , H_2S , S^0 , сера органических соединений | Компонент цистеина и метионина, глутатиона, нескольких коферментов |
| Калий | 1 | Соли калия | Основной неорганический клеточный катион и кофактор некоторых ферментов |
| Магний | 0.5 | Соли магния | неорганический клеточный катион, кофактор некоторых ферментативных реакций |
| Кальций | 0.5 | Соли кальция | неорганический клеточный катион, кофактор некоторых ферментов и компонент эндоспор Компонент цитохромов и некоторых |
| Железо | 0.2 | Соли железа | негемовых железосодержащих белков и кофакторы некоторых ферментативных реакций |



Метаболизм прокариот.

- **Метаболизм** – совокупность ферментативных процессов, протекающих в клетке и обеспечивающих её энергетические и биосинтетические потребности.
- **Энергетический метаболизм (катаболизм)** — поток реакций, сопровождающийся мобилизацией энергии и преобразованием её в электрохимическую или химическую форму, которая затем используется во всех энергозависимых процессах.
- **Конструктивный метаболизм (биосинтез, анаболизм)** — поток реакций, в результате которых за счет поступающих извне веществ строится вещество клетки и при этом используется запасённая клеткой энергия.

Метаболизм прокариот

- В зависимости от **источника углерода** для конструктивного метаболизма микроорганизмы делятся на **автотрофы и гетеротрофы**.
- В зависимости от **источника энергии** – на **фототрофы и хемотрофы**.
- В зависимости от **источника электронов** в энергетическом процессе – на **литотрофы и органотрофы**.

Table 2. Основные пищевые типы прокариот

| Пищевой тип | Источник энергии | Источник углерода | Примеры |
|---|---|-----------------------|---|
| Фотоавтотрофы | Свет | CO ₂ | Цианобактерии, некоторые Пурпурные и Зеленые бактерии |
| Фотогетеротрофы | Свет | Органические вещества | Некоторые Пурпурные и Зеленые бактерии |
| Хемоавтотрофы или Литотрофы (Литоавтотрофы) | Неорганические соединения, например H ₂ , NH ₃ , NO ₂ , H ₂ S | CO ₂ | Немногие бактерии и многие Археа |
| Хемогетеротрофы или гетеротрофы | Органические вещества | Органические вещества | Большинство бактерий и некоторые Археа |

Метаболизм прокариот

- **Факторы роста** – вещества, которые прокариоты по каким-либо причинам не могут синтезировать самостоятельно из используемого источника углерода (**аминокислоты, пурины, пиримидины, витамины** и др.). Такие вещества добавляют в питательные среды в готовом виде в небольших количествах.
- Микроорганизмы, которым в дополнение к основному источнику углерода необходимы факторы роста, называются **ауксотрофы**.
- Микроорганизмы, которые синтезируют все необходимые органические соединения из основного источника углерода самостоятельно, называются **прототрофы**.

Table 3. Общие витамины, требующиеся в питании некоторым бактериям.

| Витамин | Коферментная форма | Функция |
|---------------------------------|---|--|
| р-Аминобензойная кислота (РАВА) | - | Предшественник биосинтеза фолиевой кислоты |
| Фолиевая кислота | Тетрагидрофолат | Перенос одноуглеродных соединений необходимых для синтеза тимина, пуриновых оснований, серина, метионина и пантотената |
| Биотин | Биотин | Биосинтетические реакции для CO ₂ фиксации |
| Липоевая кислота | Липоамид | Перенос ацильных групп при окислении кетокислот |
| Меркаптоэтансернистая кислота | Кофермент М | CH ₄ продукция при метаногенезе |
| Никотиновая кислота | NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) и NADP | Перенос электронов при дегидрогеназных реакциях |
| Пантотеновая кислота | Кофермент А и Ацил-транспортный протеин (АСР) | Окисление кетокислот и перенос ацильных групп в метаболических реакциях |
| Пиридоксин (В6) | Пиридоксальфосфат | Трансаминирование, дезаминирование, декарбоксилирование и рацемирование аминокислот |
| Рибофлавин (В2) | FMN (flavin mononucleotide) и FAD (flavin adenine dinucleotide) | Окислительно-восстановительные реакции |
| Тиамин (В1) | Тиаминпирофосфат (ТРР) | Декарбоксилирование кетокислот и реакции трансаминирования |
| В12 | Кобаламин, связанный с адениновым нуклеозидом | Перенос метильных групп |
| К | Хиноны и нафтохиноны | Электронтранспортные процессы |

Table 4a. Минимальная питательная среда для роста *Bacillus megaterium*. Пример химически-определенной питательной среды для роста гетеротрофных бактерий.

| <i>Компонент</i> | <i>Количество</i> | <i>Функция компонента</i> |
|----------------------|-------------------|---------------------------|
| Сахароза | 10.0 г | Источник энергии и С |
| K_2HPO_4 | 2.5 г | pH буфер; источник Р и К |
| KH_2PO_4 | 2.5 г | pH буфер; источник Р и К |
| $(NH_4)2HPO_4$ | 1.0 г | pH буфер; источник N и Р |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.20 г | Источники S и Mg^{++} |
| $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.01 г | Источник Fe^{++} |
| $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.007 г | Источник Mn^{++} |
| вода | 985 мл | |
| pH 7.0 | | |

Table 4b. Синтетическая питательная среда (также среда обогащения) для роста литотрофных бактерий (*Thiobacillus thiooxidans*).

| <i>Компонент</i> | <i>Количество</i> | <i>Функция компонента</i> |
|---|-------------------|-------------------------------|
| NH_4Cl | 0.52 г | Источник N |
| KH_2PO_4 | 0.28 г | Источник P и K |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.25 г | Источник S и Mg^{++} |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.07 г | Источник Ca^{++} |
| S | 1.56 г | Источник энергии |
| CO_2 | 5%* | Источник C |
| Вода | 1000 мл | |
| pH 3.0 | | |

* Периодически среду продувают воздухом с 5% CO_2 .

Table 5a. Комплексная питательная среда для роста требовательных бактерий.

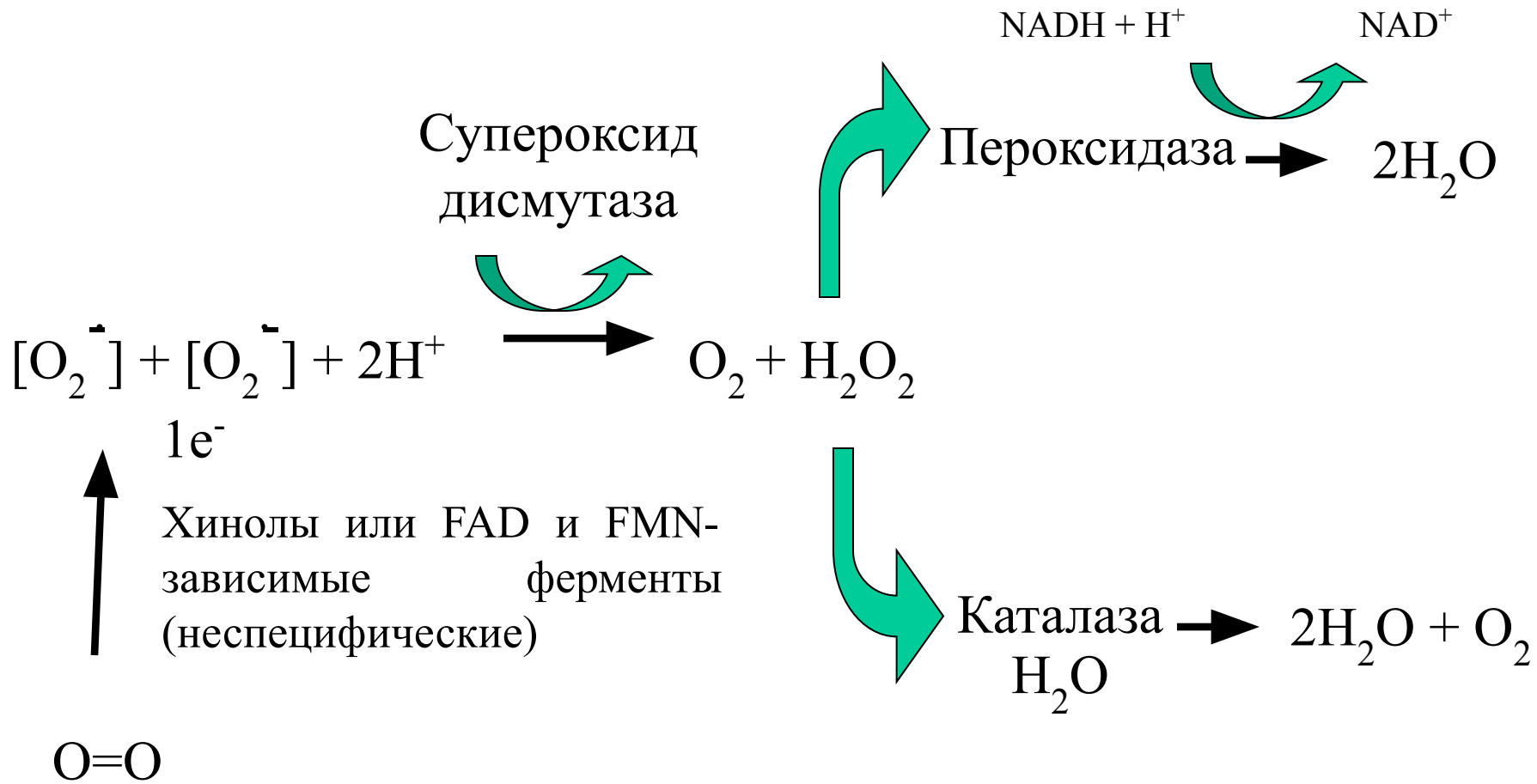
| <i>Компонент</i> | <i>Количество</i> | <i>Функция компонента</i> |
|--------------------|-------------------|--|
| Мясной экстракт | 1.5 г | Источник витаминов и других факторов роста |
| Дрожжевой экстракт | 3.0 г | Источник витаминов и других факторов роста |
| Пептон | 6.0 г | источник аминокислот, N, S, и P |
| Глюкоза | 1.0 г | Источник C и энергии |
| Агар | 15.0 г | Инертный уплотняющий агент |
| Вода | 1000 мл | |
| pH 6.6 | | |

Табл 6. Термины, описывающие отношения микроорганизмов к O_2 .

| Группа | Условия среды | | |
|--------------------------|---|------------|--|
| | Аэробноз | Анаэробноз | O_2 эффект |
| Облигатные аэробы | Рост | Нет роста | Требуется (используется для аэробного дыхания) |
| Микроаэрофилы | Рост, если уровень O_2 не слишком высок | Нет роста | Требуется но при уровне ниже 0.2 атм |
| Облигатные анаэробы | Нет роста | Рост | Токсичен |
| Факультативные анаэробы | Рост | Рост | Не требуется для роста, но используется когда доступен |
| Аэротолерантные анаэробы | Рост | Рост | Не требуется и не используется |

Table 7. Распределение супероксид дисмутазы, каталазы и пероксидазы в прокариотах с различным уровнем толерантности к O₂.

| Группа | супероксид дисмутаза | Ката лаза | Перок сидаза |
|---|---------------------------------|--------------|-----------------|
| Облигатные аэробы и большинство факультативных анаэробов (напр. Энтеробактерии) | + | + | - |
| Большинство аэротолерантных анаэробов (напр. Streptococci) | + | - | + |
| Облигатные анаэробы (напр. Clostridia, Methanogens, Bacteroides) | - | - | - |



**Культивирование анаэробных
микроорганизмов.**



Фигура 2. Уровни pH окружающей среды для роста трех классов прокариот. Большинство свободноживущих бактерий выращивают в диапазоне pH приблизительно три единицы. Обратите внимание на симметрию кривых ниже и выше оптимума pH для роста.

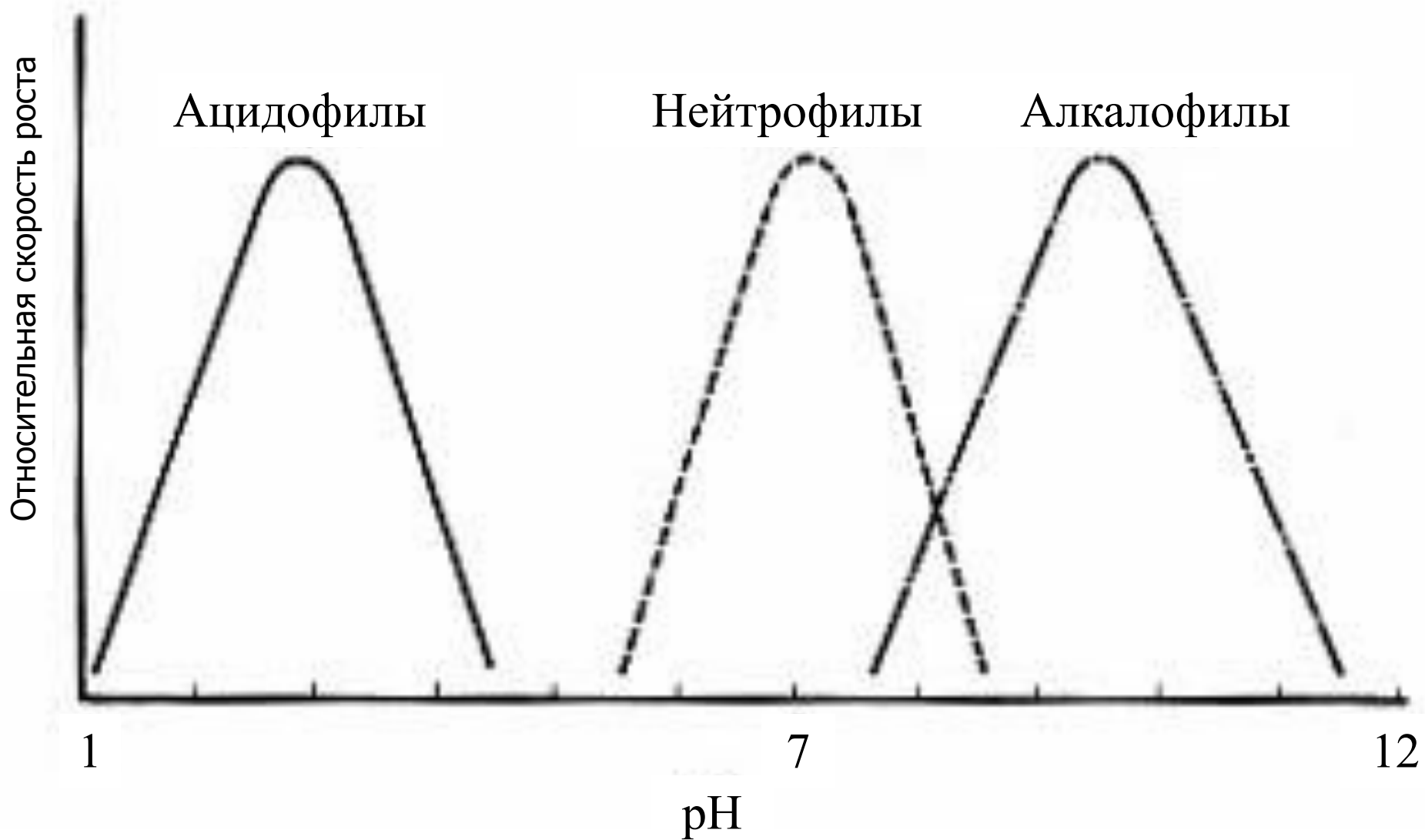


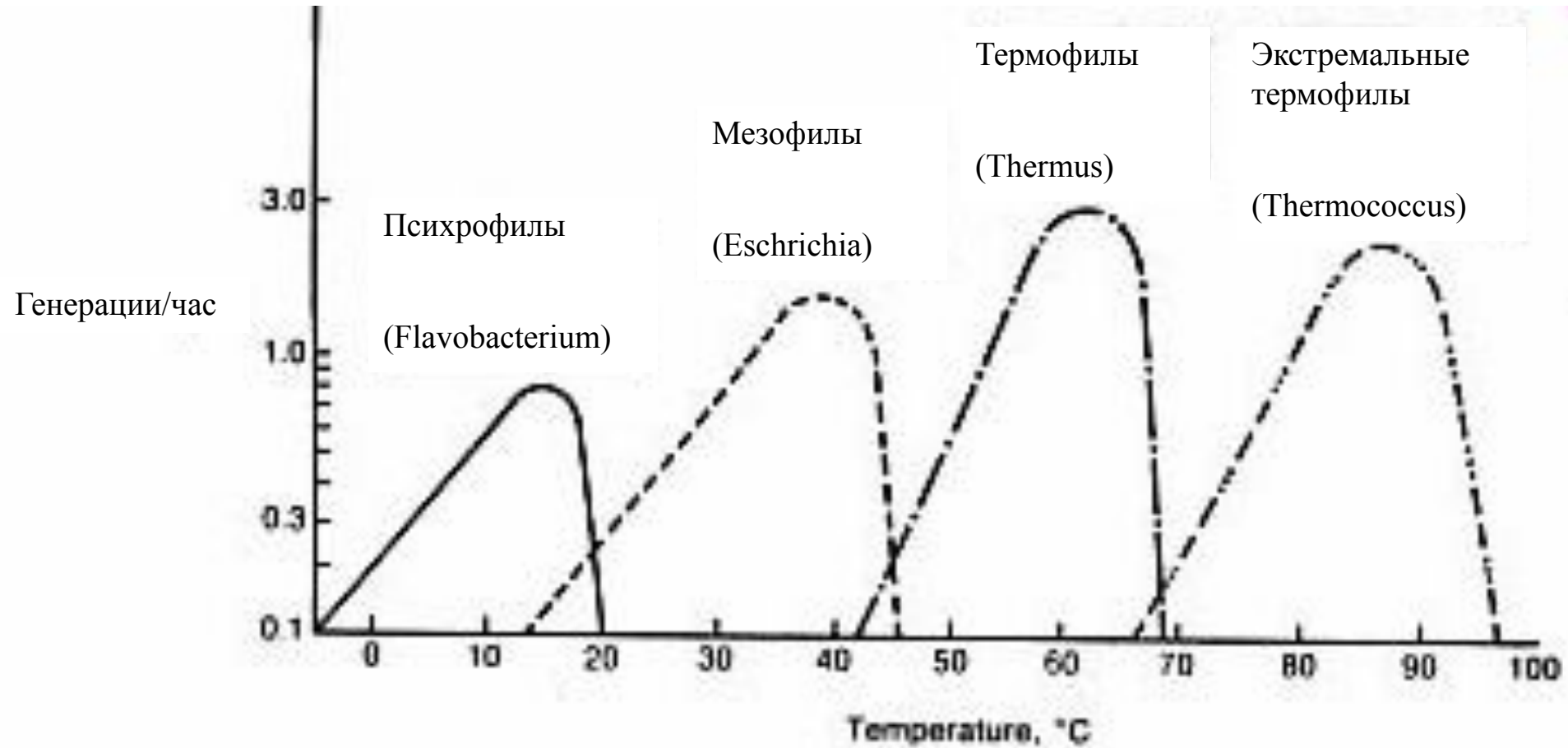
Table 8. Минимум, максимум и оптимум рН для роста некоторых бактерий.

| Организмы | Минимум рН | Оптимум рН | Максимум рН |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| <i>Thiobacillus thiooxidans</i> | 0.5 | 2.0-2.8 | 4.0-6.0 |
| <i>Sulfolobus acidocaldarius</i> | 1.0 | 2.0-3.0 | 5.0 |
| <i>Bacillus acidocaldarius</i> | 2.0 | 4.0 | 6.0 |
| <i>Zymomonas lindneri</i> | 3.5 | 5.5-6.0 | 7.5 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 4.0-4.6 | 5.8-6.6 | 6.8 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 4.2 | 7.0-7.5 | 9.3 |
| <i>Escherichia coli</i> | 4.4 | 6.0-7.0 | 9.0 |
| <i>Clostridium sporogenes</i> | 5.0-5.8 | 6.0-7.6 | 8.5-9.0 |
| <i>Erwinia caratovora</i> | 5.6 | 7.1 | 9.3 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 5.6 | 6.6-7.0 | 8.0 |
| <i>Thiobacillus novellus</i> | 5.7 | 7.0 | 9.0 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 6.5 | 7.8 | 8.3 |
| <i>Nitrobacter</i> sp | 6.6 | 7.6-8.6 | 10.0 |

Table 9. Термины используемые для описания температурных характеристик микроорганизмов.

| Группа | Минимум | Оптимум | Максимум | Комментарии |
|---------------|----------------|----------------|--------------------|--|
| Psychrophile | Ниже 0 | 10-15 | Ниже 20 | Рост лучше при относительно низкой T |
| Psychrotroph | 0 | 15-30 | Выше 25 | Способны расти при низких T, но предпочитает умеренные T |
| Mesophile | 10-15 | 30-40 | Ниже 45 | Большинство бактерий обитающих в симбиозе с теплокровными |
| Thermophile | 45 | 50-85 | Выше 100 (кипение) | Среди всех thermophiles существуют широкие вариации в оптимуме, максимуме и минимуме T |

Уровень роста в зависимости от температуры для четырех классов бактерий окружающей среды. Большинство бактерий растут в температурном диапазоне равном, приблизительно, 30 градусам. Кривые показывают три кардинальные точки: минимум, оптимум и максимум температуры для роста. Имеется устойчивое увеличение уровня роста между минимальными и оптимальными значениями температуры, но резкое снижение уровня роста с приближением T к максимуму.



ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ НА ГРУППЫ ПО ОТНОШЕНИЮ К ТЕМПЕРАТУРЕ.

- ПСИХРОФИЛЫ – оптимум менее 20 °С
 - *Vibrio marinus*
 - *Pseudomonas fluorescens*
 - *Yersinia enterocolitica*
- МЕЗОФИЛЫ - оптимум 30 - 40 °С
- ТЕРМОФИЛЫ - оптимум 45 - 65 °С
 - *Bacillus stearothermophilus*

Table 10a. Минимум, максимум и оптимум температуры для роста некоторых бактерий и archaea.

| Бактерии | Температура для роста (C°) | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|----------------|-----------------|
| | Минимум | Оптимум | Максимум |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 1 | 30-37 | 45 |
| <i>Vibrio marinus</i> | 4 | 15 | 30 |
| <i>Pseudomonas maltophilia</i> | 4 | 35 | 41 |
| <i>Thiobacillus novellus</i> | 5 | 25-30 | 42 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 | 30-37 | 45 |
| <i>Escherichia coli</i> | 10 | 37 | 45 |
| <i>Clostridium kluyveri</i> | 19 | 35 | 37 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 20 | 37 | 40 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 25 | 37 | 42 |
| <i>Bacillus flavothermus</i> | 30 | 60 | 72 |
| <i>Thermus aquaticus</i> | 40 | 70-72 | 79 |
| <i>Methanococcus jannaschii</i> | 60 | 85 | 90 |
| <i>Sulfolobus acidocaldarius</i> | 70 | 75-85 | 90 |
| <i>Pyrobacterium brockii</i> | 80 | 102-105 | 115 |

- **РОСТ** – координированное увеличение размеров и веса клетки.
- **РАЗМНОЖЕНИЕ** – увеличение во времени числа клеток микроорганизмов в питательной среде.
- Изменение численности популяции микроорганизмов выражается **кривой роста**.

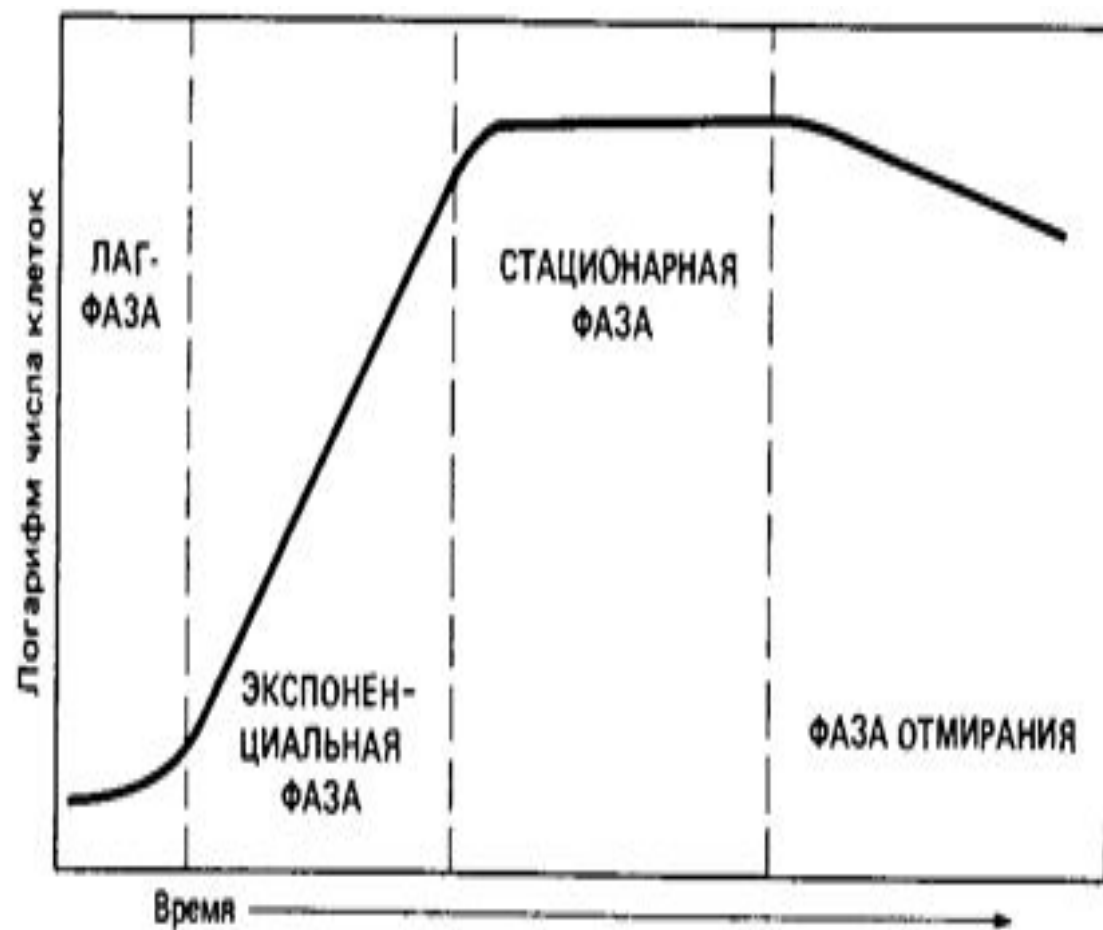


Рис. 6.6. Кривая роста бактериальной культуры.

Время генерации (время удвоения)

для разных видов прокариот в благоприятных условиях

Escherichia coli

&

20 МИН

Staphylococcus aureus

Borrelia hermsii

8ч

Mycobacterium tuberculosis

14-16 ч

Treponema pallidum

33 ч

Mycobacterium leprae

21 день

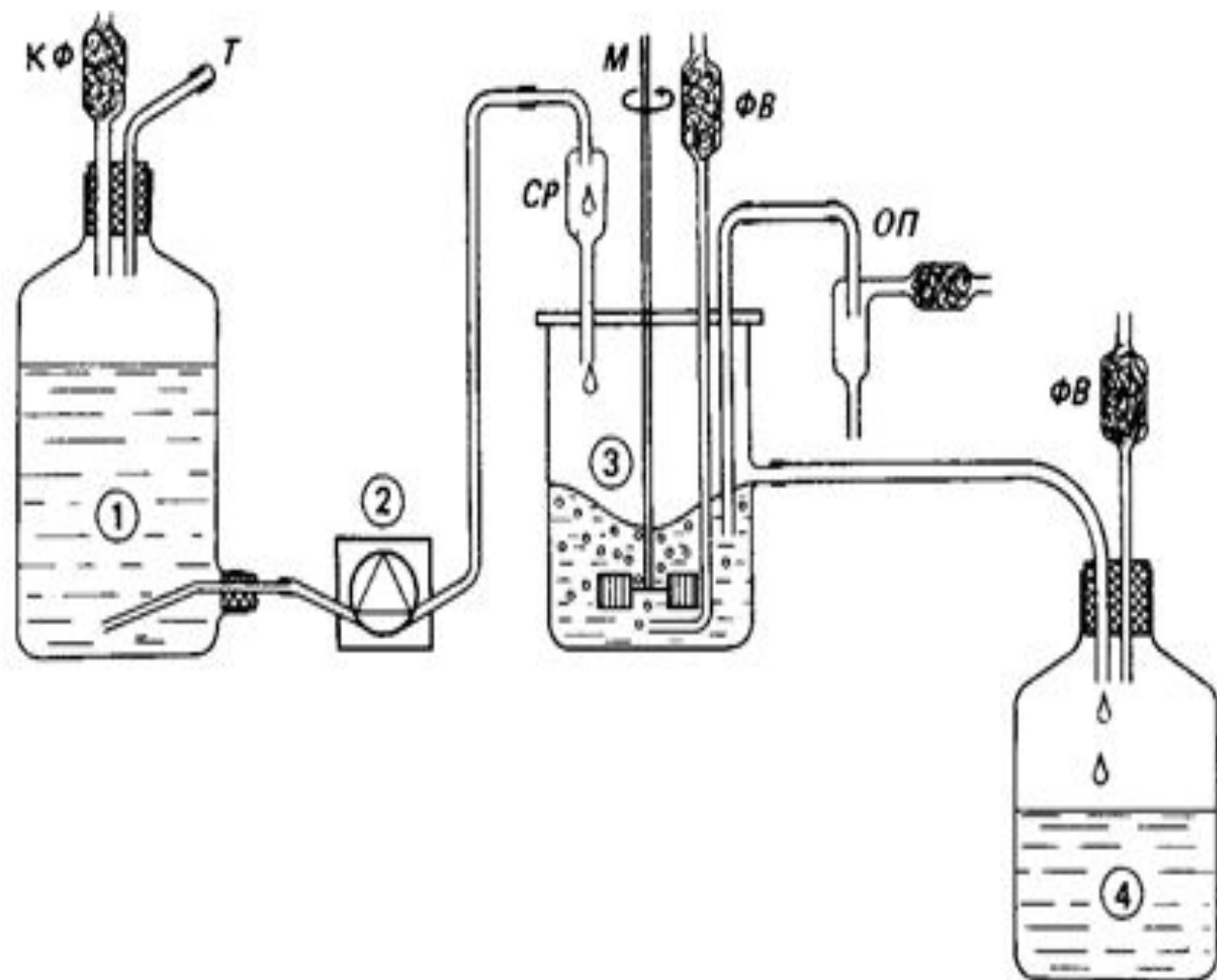


Рис. 6.9. Принцип непрерывной культуры в хемостате. 1 – сосуд с питательной средой, снабженный компенсационным фильтром (КФ) и трубкой для дозирования (Т); 2 – перистальтический насос; 3 – хемостат с притоком питательной среды (СР), мешалкой (М), фильтром для воздуха (ФВ) и приспособлением для отбора проб (ОП); 4 – приемный сосуд с фильтром для выходящего воздуха (ФВ).