1. **ДЕЙСТВИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

**НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИЙ**

* 1. **Влияние физических факторов**

Отношение к молекулярному кислороду**. В мире прокариот существуют значительные различия в отношении организмов к** молекулярному кислороду**, всвязи с чем различают несколько физиологических групп.**

**Прокариоты для роста которых кислород необходим, называют** облигатными (обязательными) аэробами**. К ним относится большинство прокариотных организмов. Среди облигатных аэробов обнаружены существенные различия в отношении к уровню молекулярного кислорода в среде. Некоторые представители этой группы не способны к росту при концентрации О2, равной атмосферной (21 %), но могут расти, если содержание О2 в окружающей среде будет порядка 2 %. Такие облигатно аэробные прокариоты получили название** микроаэрофилов. **Многие аэробные азотфиксирующие бактерии могут расти в среде с молекулярным азотом только при концентрации О2 ниже 2 %, т.е. как микроаэрофилы, а в присутствии связанного азота, например аммонийного, – на воздухе при концентрации О2 21 %. Это объясняется ингибирующим действием молекулярного кислорода на активность нитрогеназы – ферментного комплекса, ответственного за фиксацию N2.**

**100 %-ный молекулярный кислород подавляет рост всех облигатных аэробов. Многие аэробные бактерии могли формировать колонии на поверхности твердой питательной среды в атмосфере, содержащей 40 % О2, но рост их прекращался, когда содержание О2 в атмосфере доходило до 50 %.**

Для метаболизма облигатных (строгих) анаэробов О2 не нужен, т.е. энергетические и конструктивные процессы у них происходят без участия молекулярного кислорода. К ним относятся метанобразующие, сульфатвосстанавливающие, маслянокислые и некоторые другие бактерии. Облигатные анаэробы могут получать энергию как в процессах брожения, так и в результате анаэробного дыхания, когда в качестве конечного акцептора электронов в процессе дыхания выступает не кислород, а другие акцепторы (СО2, SО42-, фумарат и т.п.).

Многие из облигатных анаэробов не выносят присутствия даже не­значительных количеств молекулярного кислорода в среде и быстро погибают. Некоторые бактерии, обладающие метаболизмом только анаэробного типа, например молочнокислые, могут расти в присутствии воздуха и выделены в отдельную группу **аэротолерантных анаэробов.**

Некоторые прокариотные организмы могут расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях, приспособившись в зависимости от наличия или отсутствия **О2** в среде переключаться с одного метаболического пути на другой. Такие организмы получили название **факультативных анаэробов**, или **факультативных аэробов**. Представителями этой физиологической группы прокариот являются энтеробактерии, которые в аэробных условиях получают энергию в процессе дыхания, а в анаэробных условиях источ­ником энергии для них служат процессы брожения или анаэробного дыхания.

**Влияние температуры**. Приспособления, сформированные у прокариот для перенесения неблагоприятных условий, в том числе и температурных, - это споры

Большинство известных видов прокариот относится к **мезофилам**, у которых оптимальные температуры роста лежат между 30 °С и 40 °С, а температурный диапазон, в котором рост возможен, находится между 10 и 45°°С. Типичным мезофилом является *Escherichia соli*: нижняя граница роста 10°°С, верхняя 42°°С, оптимальная температура 37°°С.

Область температур роста **психрофилов** лежит в пределах от –10 до 20 °С и выше. В свою очередь психрофилы делятся на облигатные и факультативные. Облигатные психрофилы не способны к росту при температуре выше **20**°С, а верхняя температурная граница роста факультативных психрофилов намного выше, но представители обоих групп способны к росту при **0**°С и минусовых температурах. Облигатные психрофилы приспособились к устойчивым холодным условиям (глубины морей и океанов, ледяные пещеры). Напротив, психрофилы второго типа приспособились к обитанию в неустойчивых холодных условиях. Способность психрофилов расти в условиях низких температур обусловлена низкой температурной активностью ферментных белков и увеличение в последних содержания ненасыщенных жирных кислот в мембранных липидов, что позволяет мембранам сохранять функционально активное жидкокристаллическое состояние при низких температурах.

Группу **термофилов** делят на 4 подгруппы. Термотолерантные виды растут в пределах от 10 °С до 55-60 °С, оптимальная область лежит при 35-40 °С. Факультативные термофилы имеют максимальную температуру роста между 50 и 65 °С, но способны также к размножению при комнатной температуре (**20**°С); оптимум приходится на область температур, близких к верхней границе роста. К облигатным термофилам относят виды, обнаруживающие способность расти при температурах до 70 °С и не растущие ниже 40 °С. Представители облигатных термофилов: **Bacillus acidocalaarius, Methanobacterium thermoautotrophicum, Thermoplasma acidophila, Synechococcus lividus** и др.

Прокариоты, развивающиеся при температурах выше 70 °С, которых предложено выделить в отдельную подгруппу экстремальных термофилов. Для них характерны следующие температурные параметры: оптимум в области 70–75 °С, минимальная граница роста 40 °С и выше, максимальная – от 80 до 90 °С. К экстремальным термофилам относятся организмы, не имеющие аналогов среди мезофилов и поэтому выделенные в отдельные таксоны главным образом в ранге родов, например роды **Thermus, Thermomicrobium, Thermothrix** и др.

У термофильных прокариот в клетке преобладают термостабильные структурных белки и компоненты, возрастает содержание насыщенных жирных кислот в клеточных мембранах, липиды термофилов имеют более высокие температуры плавления, что способствует термостабильности мембран.

Снижение или повышение температуры за пределы минимума и максимума соответственно отражается на жизнедеятельности микроорганизмов. При снижении температуры прокариоты чаще всего не погибают, а впадают в состояние анабиоза. Критическое повышение температуры вызывает повреждение липидной фракции цитоплазматических мембран, нарушает структуры нуклеиновых кислот, инактивирование ферментов, коагуляция белков, отмирание клеток. Наиболее устойчивы к действию высоких температур споры бактерий.

На действии высоких температур основано применение метода **стерилизации**, т.е. полное уничтожение микроорганизмов и их спор в питательных средах, посуде и др. Известно несколько способов стерилизации:

1. Прокаливание, или фламбирование – употребляется непосредственно перед употреблением. Прокаливают иглы, шпатели, ножницы, пинцеты, покровные стекла, стеклянные палочки и др.

2. Стерилизация сухим жаром. Применяют при обработке посуды и сухих материалов (крахмал). Для этого их нагревают в печи Пастера или электросушильных шкафах. При этом колбы, пробирки закрывают ватными тампонами, посуду заворачивают в бумагу или помещают в особые пеналы, где она может храниться после стерилизации.

3. Стерилизация текучим паром. Выполняют в аппаратах Коха в течение трех дней по 30 мин ежедневно при температуре 100ºС.

4. Стерилизация насыщенным паром под давлением. Это наиболее быстрый и надежный способ стерилизации. Этот метод стерилизации пригоден для посуды и питательных сред. Стерилизацию проводят в герметично закрывающемся толстостенном котле – автоклаве. Надежной стерилизации достигают нагреванием при 120ºС и давлении 1 атм в течение 20 мин.

5. Пастеризация. Это нагревание при 65–80ºС 30 мин с последующим быстрым охлаждением до 10–11ºС.

6. Стерилизация фильтрованием через микропористые фильтры. Применяют при обработке сред, компоненты которых легко разлагаются при нагревании. Наиболее часто используют фильтры из каолина (свеча Шамберлана).

**Влияние гидростатического давления.** Высокие значения гидростатического давления приводят к разрушению клеточных структур, происходит денатурация белков, прекращается деление и клетки приобретают нитевидную форму. Однако существуют бактерии, которые живут на глубине 7000 м и более, где давление достигает более 1000 атмосфер. Из осадков на дне океанов выделяют бактерии двух групп: баротолерантные и барофильные. Баротолерантные бактерии размножаются как при обычном, так и при давлении в несколько сот атмосфер. Барофильные (менее многочисленная группа) при давлении в сотни атмосфер дают больший урожай биомассы, чем при атмосферном давлении. Барофильными являются бактерии вида *Bacillus submarines* – обитатели глубоководных впадин морей и океанов.

Влияние осмотического давления. Концентрация веществ, растворенных в окружающей среде, оказывает большое влияние на жизнеспособность микроорганизмов: чем концентрированнее раствор, тем труднее клетке поглощать из него воду. В гипертонических растворах, в которых осмотическое давление больше, чем в клетке, происходит обезвоживание клеток (плазмолиз) и полное прекращение роста. Однако некоторые микроорганизмы способны нормально развиваться в достаточно концентрированных растворах. Такие микроорганизмы называют осмофильными.Осмофильные микроорганизмы, для которых требуется высокое содержание NaCl, получили название галофильных. К экстремальным галофилам относятся бактерии из родов *Halobacterium* и *Halococcus*, живущие в растворах NaCl при концентрациях, близких к насыщающим. У таких бактерий концентрация солей в цитоплазме равна концентрации внешнего раствора, однако в клетках преобладает не натрий, а калий. В составе белков галофильных бактерий содержание кислотных групп преобладает над основными. Эти кислотные группировки нейтрализуются катионами. Высокие концентрации солей необходимы галофилам для поддержания каталитической активности ферментов, стабилизации мембран и рибосом. Галофильные бактерии обнаружены в соленых озерах, в солончаковых почвах. Они обычно вызывают порчу соленой рыбы и мяса.

**Влияние звука.** Высокочастотные более 16 кГц механические колебания упругой среды – ультразвук **–** не воспринимаются нашими органами слуха. При воздействии на микроорганизмы ультразвук создает большую разницу в давлении на отдельные части клеток и повреждает их: разжижается и вспенивается цитоплазма, разрушаются поверхностные структуры, содержимое клетки смешивается с окружающей средой. Чувствительность микроорганизмов к ультразвуку, пропорциональная частоте колебаний и длительности воздействия, зависит также и от их индивидуальных особенностей и физиологического состояния. Чем крупнее клетки, тем более чувствительны они к воздействию ультразвука; палочки и извитые формы более чувствительны, чем кокки. При длительном воздействии наблюдается полная гибель микроорганизмов, что используется в целях стерилизации. Ультразвук применяют и для разрушения клеток с целью извлечения из них некоторых биологически активных веществ.

**Влияние излучения**. Эффекты, вызываемые облучением живых организмов, зависят от длины волны излучения и его дозы.

Излучение в области длин волн от 300 до 1100 нм, приходящееся в основном на видимый свет, обеспечивает возможность осуществления упорядоченных реакций при поглощении его подходящими для этого системами. В организмах излучение в этом диапазоне индуцирует процессы фотосинтеза, фототаксиса, фотореактивацию ДНК, синтез некоторых макромолекул.

Для излучений с длиной волны больше 1100 нм не зарегистрировано каких-либо биологических эффектов. Основное действие инфрокрасного излучения - нагревание.

Действие коротковолнового излучения на организмы приводит к возникновению мутаций или вызывает смертельный (летальный) исход из-за необычайно высокой фотохимической активности этого вида излучения, приводящего к модификации или разрушению поглотивших его органических молекул.

Фотосинтез, сопровождающийся выделением О2, свойственный всем эукариотным организмам и двум группам прокариот (цианобактерии и прохлорофиты), возможен в диапазоне от 300 до 750 нм. Для прокариот, способных к осуществлению бескислородного фотосинтеза, диапазон излучений, обеспечивающих фотосинтетическую активность, увеличивается в сторону более длинных волн, захватывая ближнюю – инфрокрасную область: для зеленых бактерий вплоть до 840 нм, пурпурных бактерий – до 920 нм, а для некоторых представителей этой группы до 1100 нм.

Свет в диапазоне от дальнего ультрофиолета до дальней красной области оказывает влияние на разнообразные жизненные функции (подвижность, циклы развития, синтез каротиноидов) не только фототрофных, но и хемотрофных прокариот. Фоторецепторами, запускающими или контролирующими определенные метаболические пути, служат разные типы молекул: флавины, каротиноиды, порфирины. Солнечная радиация в диапазоне 220-300 нм, достигающая Земли, активно поглощается также молекулами белков и нуклеиновых кислот.

При облучении более низкими дозами основной причиной инактивации клеток служит повреждение ДНК.

* 1. **Влияние химических факторов**

**Отношение к кислотности среды.** Кислотность среды, определяется концентрацией водородных ионов, выражаемой pH, действует на организм прямо (непосредственное воздействие Н+) или косвенно: через влияние на ионное состояние и доступность многих неорганических ионов и метаболитов, стабильность макромолекул, равновесие электрических зарядов на поверхности клетки.

При низких значениях pH растворимость углекислоты, являющейся основным или даже единственным источником углерода для авто- трофных прокариот, понижается, а растворимость некоторых ионов, например Cu2+, Мо2+, Mg2+, А13+, возрастает и достигает уровней, ток­сичных для многих прокариот. Наоборот, при высоких значениях pH растворимость многих катионов (Fe2+, Са2+, Mg2+, Мn2+), необходимых клетке, резко понижается, они выпадают в осадок и, таким образом, становятся недоступными для организма.

Такие прокариоты считаются кислото- или щелочеустойчивыми (толерантными). К кислотоустойчивым относятся многие бактерии, продуцирующие органические кислоты, например, уксуснокислые, молочнокислые и др. Щелочетолеранты многие из энтеробактерий, устойчивые к величинам pH, близким к 9–**10** pH влияет на состояние веществ в окружающей среде. Многие нетоксичные в норме органические кислоты в кислой среде находятся в недиссоциированной форме, в которой легко проникают в клетку, становясь токсичными для нее. Концентрация Н+ внешней среды влияет и на равновесие электрических зарядов на поверхности клетки: при низких значениях pH увеличивается суммарный положительный заряд, при высоких – суммарный отрицательный заряд.

Мировом океане и на большей части суши концентрация водородных ионов поддерживается в довольно узком диапазоне, оптимальном для роста большинства прокариот, предпочитающих нейтральные или слабощелочные условия. Довольно часто встречаются умеренно кислые природные среды, имеющие pH около 3–4. Это многие озера, кислые болота, некоторые истощенные почвы. Среды с более низким pH чрезвычайно редки; pH 3 и ниже имеют обычно терриконы угольных шахт, дренажные воды, рудничные стоки.

Встречающиеся в природе щелочные условия обычно связаны с почвами. Таковы почвы, обогащенные щелочными минералами, экскрементами животных, разлагающимися белками. Щелочная реакция почвможет быть результатом полного окисления органического вещества в условиях повышенной аэрации и высокой температуры. В таких почвах pH может достигать 10. Обнаружены также щелочные озера и источники, pH которых **8**–11. Из таких мест выделены представители в основном рода **Bacillus,** активно разлагающие белки с выделением аммиака, а также бактерии, восстанавливающие нитрат и сульфат. Цианобактерии обильно растут в природных средах с pH 7,5–10. Для некоторых из них оптимум pH лежит около 10.

У некоторых видов адаптация к кислотности среды привела к тому, что оптимум pH для роста переместился в кислую (pH 4 и ниже) или щелочную (pH от 9 и выше) зону. Такие прокариоты названы ацидофильными или алкалофильными (кислото- или щелочелюбивыми) соответственно. Среди обеих групп выделяют облигатные формы, потерявшие способность расти в нейтральной области, и факультативные, сохранившие эту способность. Типичным представителем облигатных ацидофилов служат бактерии рода **Thiobacillus**. Из алкалофилов к облигатным можно отнести некоторых представителей рода **Bacillus** наиболее кислым из природных сред, вероятно, относятся горячие кислые источники и окружающие их горячие кислые почвы, pH которых может достигать 1. Из этих мест были выделены бактерии, являющиеся одновременно термофилами и ацидофилами. Это **Sutfolobus acidocaldarius,** факультативно автотрофная серуокисляющая бактерия, растущая в области pH от 1 до 5,8.

Основными барьерами на пути высоких концетраций Н+ и ОН- внешней среды у облигатных ацидо- и алкалофилов служат клеточная стенка и ЦПМ.

Химические соединения, оказывающие губительное действие на микроорганизмы называют **антисептиками**. Действие антисептиков на бактерии может быть двояким. **Бактериостатическое действие** антисептиков прекращает рост и размножение микробных клеток, но не вызывает их гибели. **Бактерицидное действие** антисептиков вызывает гибель микроорганизмов, что нередко сопровождается лизисом клеток. Эффект действия антисептика зависит от его природы, концентрации, продолжительности действия и сопутствующих факторов среды.

Наиболее сильными антисептиками неорганического происхождения являются соли тяжелых металлов (ртути, свинца, цинка, мышьяка и др.) и окислители (хлор, хлорная известь, хлорамин, спиртовой раствор йода, пермангонат калия, пероксид водорода). Соли тяжелых металлов, проникая в клетку, вступают в соединение с белками, образуя нерастворимые в воде альбуминаты, что приводит к коагуляции белков и оказывают сильное ингибирующее действие на ферменты, что ведет к в большинстве случаев к гибели микроорганизма.

Антисептиками органического происхождения являются этиловый и изопропиловый спирты, фенол (карболовая кислота), крезол и его производные, формальдегид. Например, фенол растворяет липиды цитоплазматической мембраны клетки, нарушая ее полупроницаемость; фенол присоединяется к аминогруппам белков, вызывая их денатурацию. Чаще всего подобные изменения ведет к гибели клеток.

Антисептики нашли широкое применение для обеззараживания воды, дезинфекции помещений, инструментов и оборудования, при изготовлении перевязочнго материала, фильтров, спецодежды, обработки ран и т.п.

**5.3 Действие антибиотиков**

***Антибиотики*** – высокоактивные метаболиты микроорганизмов, избирательно подавляющие рост многих бактерий, единичных вирусов и некоторых опухолей.

Продуцентами антибиотиков являются актиномицеты (стрептомицин, леиомицетин. тетрациклины, канамнцин, эритромицин), плесневые грибы (пеннциллины и цефалоспорины) и бактерии (грамицидин С и полимиксины).

Механизм действия антибиотиков на микроорганизмы различен. Пенициллины и цефалоспорины подавляют синтез пептидогликана клеточной стенки бактерии. Грамицидин, нистатин, денорин, полнмикснны нарушают функции цитоплазматической мембраны Стрептомицин, тетрациклин, канамицин, гентамицин, левомицетин ингибируют синтез белков на рибосомах бактериальной клетки. Антибиотики типа новобиомицина, мигомицина *С*, порфиромицина способны подавлять репликацию ДНК и синтез РНК бактериальной клетки.

По характеру антимикробного эффекта выделяют антибиотики **узкого** и широкого спектра действия Антибиотики с узким спектром действия, например, пенициллины, подавляют рост грамположнтельных кокков и бактерий, грамотрицательных **кокков** и спирохет, но не действуют на кислотоустойчивые и грамотрицательные бактерии, микоплазмы, риккетеии и простейших. Антибиотики широкого спектра действии, например, тетрациклины, подавляют рост многих грамподожительных, грамотрицательных и кислотоустойчивых бактерий, а также рост риккетсий, хламидий и микоплазм.

За единицу действующего начала антибиотика (1 ЕД) принимают наименьшее количество препарата, подавляющего рост стандартного штамма тест-микроба. Для большинства антибиотиков 1 ЕД обычно соответствует I мкг химически чистого препарата. В качестве тест-микроба для пенициллинов служит *Staphylococcus aureus*, для стрептомицина и ряда других антибиотиков – *Escherichia coli.*

Антибиотики производят либо биологическим путем (выращивание активных штаммов продуцентов на питательной среде с дальнейшей очисткой и концентрированием препарата), либо путем химического синтеза. Выделяют также группу полусинтетических антибиотиков, стойких к действию ферментов бактериальной клетки, наприме полусинтетические пенициллины – метициллин, оксациллин, ампициллин, карбенициллин.

В 1942–1943 г.г. в США Г. Флори и в СССР З.В. Ермольева впервые было осуществлено промышленное производство пенициллина. Почти одновременно с внедрением антибиотиков в клиническую практику стали появляться первые данные о возникновении резестентных форм бактерий сначало к пенициллину, а затем и ко всем другим препаратам.

**Антибиотикорезестентность бактерий** обусловлена мутациями в генах, кодирующих синтез белков, веществ клеточной стенки, цитоплазматической мембраны и других структурных компонентой бактериальной клетки. Появлению антибиотикорезестентности способствует широкое и бескойтрольное применение лекарственных препаратов, а также использование их в качестве стабилизаторов в пищевых продуктах и добавок в корма животных для усиления их роста.

К веществам легкого антибиотического действия относятся фитонциды, выделяемые растецними (луком, чесноком, хреном), а также некоторые препараты животного происхождения (лизоцим, эритрин, экмолин).

К настоящему времени пыделено свыше 2000 различных антибиотических веществ. Однако в медицинской практике применение нашли пока всего несколько десятков. Учитывая лекарственную устойчивость патогенных микроорганизмов, человеку приходится постоянно получать новые терапевтические препараты. В этом отношении перспективным является направленнне создания химической модификации имеющихся антибиотиков, включающих активные группы, стойкие к действию ферментов бактериальной клетки.

**5.4 Питание микроорганизмов**

Прокариоты, как и любые другие организмы, нуждаются в питательных веществах. Пища, поступающая в клетку, служит источником энергии для поддержания жизни и строительным материалом для синтеза клеточных структур. Чем больше готовых соединений для поддержания жизни должен получить микроорганизм из внешней среды, тем соответственно ниже уровень его собственных биосинтетических способностей. Прокариотные организмы весьма различны по своим потребностям к веществам питательного субстрата.

Исходя из химического состава прокариотной клетки следует, что для биосинтеза основных макромолекул клетка в качестве источников питания должна получать углерод, кислород, водород, азот, фосфор, серу и другие элементы в виде более или менее сложных соединений.

Среди всех вышеуказанных элементов наибольшее значение имеет **углерод**, так как он входит в состав любого органического соединения прокариотной клетки. По источнику углерода для конструктивного обмена все прокариоты делятся на две группы: *автотрофы****,*** потребляющие в качестве главного источника углерода углекислый газ, и *гетеротрофы*, усваивающие углерод из органических соединений.

Автотрофные прокариоты различаются по характеру источника энергии: **фототрофы** используют солнечный свет и **хемотрофы** получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций.

Гетеротрофные организмы могут выступать в роли **сапрофитов**, если используют органические вещества опада, или **паразитов**, если живут за счет органиеских веществ живой клетки.

Для большинства гетеротрофов оптимальным и наиболее доступным источником углерода служат углеводы. Особенно широко бактерии используют моносахариды – гексозы, некоторые пентозы. В форме углеводов одновременно с углеродом в клетку поступают кислород и водород.

Помимо углеводов, хорошим источником углерода для многих бактерий являются многоатомные спирты и аминокислоты. Некоторые виды прокариот способны усваивать углерод из органических кислот.

Ограниченное число бактерий потребляет восстановленные соединения углерода. Так, использование углеводородов характерно для коринебактерий. микобактерий и псевдомонад. Общее число органических соединении, потребляемых в качестве источника углерода различными гетеротрофными микроорганизмами, чрезвычайно велико. Этим и объясняется главенствующая роль прокариот в круговороте углерода.

Для синтеза аминокислот, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов бактериям необходим **азот**. В природе азот встречается в форме окисленных и восстановленных соединений, а также в виде молекулярного азота атмосферы.

Восстановленные формы азота бактерии используют в виде солей аммония и аммиака, реже органические азотсодержащие вещества – белки, аминокислоты, мочевину, разрушая их с выделением аммиака. Окисленные формы азота – нитриты, нитраты также усваиваются различными группами бактерий. Среди прокариот известно большое число организмов – бактерий, актиномицетов, сине-зеленых водорослей, способных фиксировать молекулярный азот атмосферы для построения всех необходимых компонентов клетки.

**Фосфор** в клетках прокариот входит в состав нуклеиновых кисл, фосфолипидов, коферментов, АТФ. Источником фосфора для бактерий в основном служат фосты калия или натрия, а из органических соединений нуклеиновые кислоты.

**Сера** в клетке прокариот в основном встречается в восстановленной форме и входит в состав аминокислот, витаминов и кофакторов (биотин, кофермент А и др.). Наиболее важным компонентом, содержащим серу, является цистеин. Исоточником серы для большинства микроорганизмов служат сульфаты, которые в клетке восстанавливаются в сульфиды. Некоторые бактерии нуждаются в соединениях, содержащих серу в восстановленной форме, таких, как сероводород, тиосульфат, цистеин и метионин.

Для нормального роста и развития прокариот необходимы ионы металлов, представленные макроэлементами, такими, как калий, **кальций, магний,** железо и микроэлементами (марганец, молибден, цинк, медь, кобальт, никель и др.).

**Факторами роста** называются органические соединения, которые не синтезируются многими прокариотными организмами, но без которых жизнь клетки оказывается невозможна. К таким соединениям относятся **аминокислоты,** пурины, пиримидины, витамины и др. Эти соединения прокариоты, должны получать из среды

Бактерии, нуждающиеся в каком-либо факторе роста, называются *ауксотрофными* отношению к этому соединению, в отличие от *прототрофных,* способных синтезировать данное вещество в клетке.

Прокариоты различаются по потребностям в факторах роста. Например, молочнокислые бактерии ауксотрофны по ряду аминокислот, ауксотрофность к витамину В5 наблюдается у золотистого стафилококка и возбудителя дизентерии, ростовым фактором для пневмококков и гонококков является парааминобензойная кислота.

Факторы роста необхолимы бактериям в ничтожно малых концентрациях: аминокислоты – 20–50 мкг/мл, пурины и пиримидины – 10–20 мкг/мл, витаминоы – 0,2–50 мкг/мл.

Клетки микроорганизмов также содержат ферменты – белковые катализаторы, синтезируемые живыми клетками. Некоторые ферменты состоят только из белка, другие состоят из апофермента – белка и кофермента – органической молекулы меньшей величины, обычно содержат фосфат. Ферменты, всегда присутствующие в клетке – конститутивные, а ферменты, вырабатывающиеся на присутствие в среде субстрата-индуктора или другие изменения условий среды – индуцибельные. Ферменты, выделяющиеся свободно выделяющиеся в окружающую среду и участвуют в катализации реакций расщепления сложных питательных вещевтв вне клетки – экзоферменты. Эндоферменты прочно связаны с клеточными структурами и действуют внутри клетки. Ферменты различаются специфичностью, числом субстратов, на которые они могут действовать. Некоторые ферменты абсолютно специфичны, например, фермент мальтоза расщепляет только мальтозу, а лактаза – только лактозу. Ферменты отличаются неустойчивостью к воздействию ряда факторов внешней среды

У прокариот выделяют 4 основных физиологические группы питания бактерий, для характеристики которых используются одновременно три критерия: источник углерода, источник энергии и донор электронов (у **литотрофов** донорами электронов выступают неорганические соединения, у **органотрофов** – органические соединения) (таблица 2). Нередко один и тотже организм при изменении условий среды может переключаться с одного типа метаболизма на другой.

Таблица 2 – Основные типы питания прокариот (по К.А. Лукомской)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Тип питания | Источник  углерода | Источник энергии | Донор  электронов | Представители прокариот |
| Фотолитоавтотрофы | СО2 | Свет | Н2О, неорганические соединения (H2S, S, Na2S203, Н2) | Цианобактерии, зеленые, серные пурпурные бактерии |
| Фотоорганоавтотрофы | СО2 и органиче-ские соединения | Свет | Органические соединения (спирты, органические кислоты и др.) | Некоторые пурпурные бактерии |
| Хемолитоавтотрофы | СО2 | Реакции окисления неоргани­ческих ве­ществ | Неорганические соединения (Н2, H2S, NH3, Fe2+ и др.) | Нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии; ацидофильные железобактерии |
| Хеморганогетеротрофы | Органиче-ские соединения | Реакции окисления неоргани­ческих ве­ществ | Органические соединения (спирты, органические кислоты и др.) | Большинство бактерий: аммонификаторы, азотфиксаторы, пектиноразрушающие, клетчаткоразрушающие, молочнокислые и др. |

*Вопросы для самоконтроля:*

1. *Чем отличаются облигатные анаэробы от аэротолерантных микроорганизмов?*
2. *Объясните устойчивость психрофильных бактерий к низким температурам и термофильных бактерий к высоким температурам.*
3. *Как влияет на микроорганизмы температура ниже минимума и выше максимума? Как эти свойства используется на практике?*
4. *Назовите группы микроорганизмов, выделяемые по отношению к рН среды.*
5. *Какова роль воды в клетке?*
6. *Где обитают барофильные микроорганизмы?*
7. *Назовите направления использования знаний о действии гидростатического давления и звука на микроорганизмы.*
8. *Какие лучи обладают губительным действием на микроорганизмы?*
9. *Какие вещества называют «Факторами роста»? Приведите примеры прототрофных и ауксотрофных микроорганизмов.*
10. *В чем заключается разница между антибиотиками и антисептиками?*
11. *Приведите примеры микроорганизмов, относящихся к основным группам по типу питпния.*

**6 МЕТАБОЛИЗМ БАКТЕРИЙ**

**6.1 Основные направления метаболизма**

Клеточный метаболизм складывается из двух потоков реакций, имеющих разную направленность: энергетического и конструктивного метаболизма.

**Энергетический метаболизм** – это поток реакций, сопровождающийся мобилизацией энергии и преобразованием ее в электрохимическую или химическую (АТФ) форму, которая затем может использоваться во всех энергозависимых процессах**.**

Процессы биосинтеза разнообразных веществ, роста, размножения, поглощения и выделения веществ, движения и т.д. происходят за счет энергии, аккумулированной в макроэргическ связях АТФ.

По отношению к энергетическим источникам все микроорганизмы подразделяются на две группы: хемотрофные и фототрофные. Хемотрофные микроорганизмы используют для синтеза молекул АТФ энергию, освобождаемую в результате химических реакций, фототрофные - световую энергию в процессе протекания фотосинтеза.

Образование АТФ может происходить двумя способами:

1. Фосфорилирование в электронтранспортной цепи дыхания и фотосинтеза и связан с мембранами, вследствие чего его называют мембранным фосфорилированием:

АДФ + Фн → АТФ

1. Фосфорилирование на уровне субстрата (характерно для процессов брожения.), заключающееся в переносе фосфатной группы на АДФ от вещества, более богатой энергией, чем АДФ:

R–Ф + АДФ →\* R +АТФ

Все окислительно-восстановительные реакции энергетического метаболизма у хемотрофных микроорганизмов можно разделить на три типа: брожение; аэробное дыхание, или аэробное окисление; анаэробное дыхание.

**Конструктивный метаболизм** (биосинтезы) – поток реакций, в результате которых за счет поступающих извне веществ, строится вещество клеток. Этот процесс связан с потреблением свободной энергии, запасенной в химической форме в молекулах АТФ или других богатых энергией соединений.

Более 95 % клеточного материала микроорганизмов состоит из макромолекул или полимеров: белков, полисахаридов, липидов, РНК, ДНК. На долю белков приходится 52 %, а на долю нуклеиновых кислот – 19 % массы сухого вещества. Около 3 % сухоговещества клеток составляют низкомолекулярные органические соединения и соли.

Образованию полимеров из глюкозы предшествует синтез составляющих их мономеров: в случае полисахаридов – различных моносахаридов, в случае нуклеиновых кислот – рибо- и дезоксирибонуклеотидов, в случае белков – аминокислот и т.д.

Мономеры синтезируются из промежуточных метаболитов (амфиболитов), которые образуются при катаболизме глюкозы. Такими промежуточными метаболитами являются пентозофосфаты, фосфоенолпируват, пируват, ацетил-КоА, щавелевоуксусная и α-кетоглутаровая кислоты. Они являются исходным материалом для синтеза всех необходимых клетке аминокислот, витаминов, сахарофосфатов, жирных кислот, рибо- и дезоксирибонуклеотидов, которые образуются в реакции полимеризации.

* 1. **Брожение**

Брожение является эволюционно более древним процессом, чем дыхание. При возникновении жизни на Земле в атмосфере не было свободного кислорода, он появился позже как продукт фотосинтеза. Первыми живыми существами на Земле были анаэробы.

**Брожение** – это способ получения энергии, при котором АТФ образуется в результате анаэробного окисления органических субстратов в реакциях субстратного фосфорилирования. При брожении продукты расщепления одного органического субстрата могут одновременно служить и донорами, и акцепторами электронов. Сбраживанию могут подвергаться различные субстраты, но лучше других используются углеводы. АТФ при брожении синтезируется в результате реакций субстратного фосфорилирования.

Процесс брожения состоит из двух этапов: окислительного, при котором органический субстрата окисляются до пировиноградной кислоты, и восстановительного при котором пировиноградная кислота восстанавливается до конечных продуктов, характер которых определяет тип брожения (маслянокислос, молочнокислое, спиртовое и др.).

Окислительный этап у прокариот может осуществляться несколько путями (схема 1), ведущими к расщеплению сахаров до ПВК:

1. **Гликолиз** или **фруктозодифосфатный путь,** или **путь Эмбдена - Мейергофа – Парнаса** (ЭМП). Это основной способ расщепления сахаров, встречающийся у разных групп бактерий. Процесс состоит из многих биохимических реакций, общее уравнение которых может быть записано следующим образом:

СбН12О6 + 2АДФ + 2Фн+ 2 НАД → **2**С3Н4О3 + 2АТФ + 2НАД**·**H2

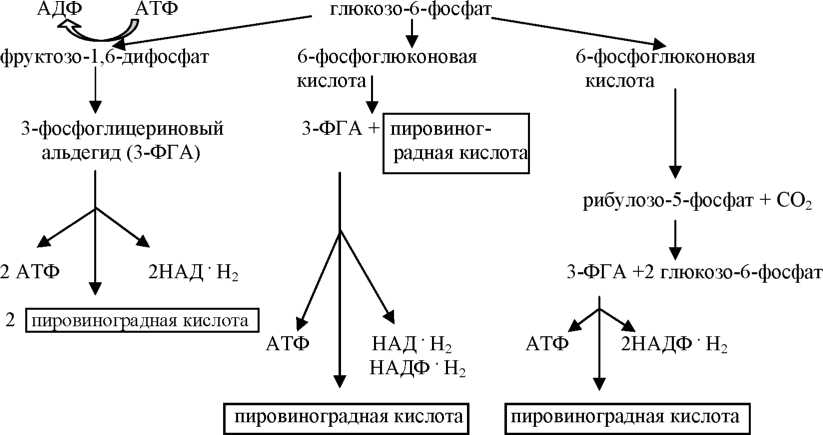
Таким образом, при распаде одной молекулы гексозы образуются четыре молекулы АТФ, в которых аккумулируется освободившая при гликолизе энергия. Поскольку в самом начале процесса на активирование гексозы были израсходованы две молекулы АТФ, то конечный выход АТФ на одну молекулу глюкозы составит две молекулы.

1. **Пентозофосфатный путь,** или **фосфоглюконановый цикл**, протеает с образованием гексозомонофосфатов и пентозофосфатов, а также с использованием peaкций гликолиза для превращения 3-фосфоглицеринового альдегида в пируват.

Глюкоза

↓ ← АТФ

→ АДФ



А Б В

*Схема 1 –* Пути катаболизма глюкозы в клетках прокариот

(по В.В. Лысаку):

*А* – гликолиз; *Б* – путь Энтнера-Дудорова; *В* – пентозофосфатный путь

Пентозофосфатный цикл представляет собой дополнительный путь, который служит источником НАДФ**·**Н2 и пентоз для конструктивного обмена, в основном для синтеза нуклеотидов.

1. 2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконатный путь**, или путь Энтнера – Дудорова** отличается от пентозофосфатного тем, что 6-фосфоглюконовая кислота под действием фосфоглюконатдегидратазы превращается в 2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконовую кислоту, которая специфической альдолазой расщепляется на пировиноградную кислоту и 3-ФГА. Последний может превращаться в пировиноградную кислоту гликолитическим путем с образованием двух молекул АТФ и одной молекулы НАД**·**Н2 или НАДФ**·**Н2. Как и при пентозофосфатном пути, фактический энергетический выход составляет одну молекулу АТФ.

Все перечисленные пути катаболизма глюкозы у микроорганизмов могут протекать при разных типах энергетического метаболизма (аэробное дыхание, анаэробное дыхание, брожение).

Два первых пути распада углеводов (гликолиз и пентозофосфатный цикл) функционируют у большинства аэробных и анаэробных микроорганизмов. Например, маслянокислое брожение, гомоферментативное молочнокислое брожение, сбраживание сахаров дрожжами до пирувата идет по гликолитическому пути, а у гетероферментативных бактерий превращение углеводов происходит по пентозофосфатному пути.

Путь Энтнера - Дудорова менее распространен; он обнаружен у бактерий из родов *Pseudomonas, Azotobacter, Rhizobium, Spirillum* и некоторых других. По-видимому, этот путь сформировался позднее гликолитического и пентозофосфатного путей и возник как ответвление последнего. Важнейшим продуктом, образующимся при любом из трех описанных путей расщепления углеводов, является пировиноградная кислота, которая подвергается дальнейшим превращению.

Далее при сбраживании углеводов и ряда других веществ (по отдельности или в смеси) пировиноградная кислота восстанавливается до таких продуктов, как этанол, молочная, муравьиная, янтарная кислоты, ацетон, СО2, Н2 и др. В зависимости от того, какие продукты преобладают или являются особенно характерными, различают спиртовое, молочнокислое, муравьинокислое, маслянокислое, пропионовокислое и другие типы брожения.

Органические вещества, являющимися конечными продуктами брожений, содержащие значительный запас химической энергии. В связи с этим энергетический выход при брожении гораздо ниже, чем при дыхании.

**Маслянокислое брожение** проходит в строго анаэробных условиях и осуществляют его облигатно анаэробные бактерии рода *Clostridium.* В основе брожения лежит сбраживание углеводов по гликолитическому пути до пировиноградной кислоты, которая далее подвергается декарбоксилированию с образованием ацетил-КоА. Основной продукт брожения - масляная кислота синтезируется в результате конденсации двух молекул ацетил-КоА. Превращение ацетил-КоА в масляную кислоту сопряжено с процессами восстановления, в которых в качестве доноров водорода используются молекулы НАД**·**Н2, образующиеся ранее в процессе гликолиза. Кроме того, одна из молекул ацетил-КоА, присоединяя неорганический фосфат, может подвергаться фосфорилированию, превращаясь в ацетилфосфат и далее в ацетат, что сопровождается синтезом АТФ при субстратном фосфорилировании. Это третья молекула АТФ, которая синтезируется при маслянокислом брожении (две другие молекулы АТФ образуются при расщеплении глюкозы по гликолитическому пути).

Схематично процесс может быть изображен в виде следующего уравнения:

С6Н12О6 → СН3–СН2–СН2–СООН + 2СО2 + 2Н2 + 495 кДж

Процессу маслянокислого брожения подвергаются не только сахара, но и другие, более сложные углеводы (сахаролитическое маслянокислое брожение), а также вещества белковой природы – белки, аминокислоты, пурины, пипимидины (протеолитическое маслянокислое брожение). Маслянокислые бактерии имеют различные активные ферменты, способные производить расщепление сложных углеводов. Образующаяся масляная кислота в невысоких концентрациях является веществом, стимулирующим рост высших растений.

Маслянокислое брожение имеет практическое применение для получения масляной кислоты, используемой в парфюмерной промышленности. Для ее производства используют картофель, зерно, мелассу (отходы сахарного производства). Маслянокислые бактерии нередко причиняют вред, вызывая порчу продуктов – прогоркание масла, сметаны, квашеных овощей, силоса, а также при недостаточной стерилизации – порчу консервированных грибных и мясных продуктов.

Различают два типа **молочнокислого брожения**: гомоферментативное и гетероферментативное. При гомоферментативном молочнокислом брожении синтезируется практически одна молочная кислота (примерно 90 % всех продуктов брожения). Катаболизм глюкозы в этом случае происходит по гликолитическому пути. Образующаяся при этом пировиноградная кислота не подвергается декарбоксилированию, а под действием лактатдегидрогеназы восстанавливается до молочной кислоты. Конечным акцептором водорода выступает пировиноградная кислота. Гомоферментативное молочнокислое брожение идет по следующему суммарному уравнению:

С6Н12О6 →2 СН3–СНОН–СООН *+* 75,6 *кДж*

Возбудителями гомоферментативного молочнокислого брожения являются, например, бактерии Streptococcus cremoris, Streptococcus lactis, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus lactis и др.

Гетероферментативное молочнокислое брожение приводит к образованию разнообразных продуктов: молочной и уксусной кислот, этилового спирта, углекислого газа и глицерина. При этом типе брожения расщепление углеводов происходит по пентозофосфатному пути. Конечными акцепторами водорода являются пировиноградная кислота и ацетальдегид. Гетероферментативное молочнокислое брожение идет по следующему суммарному уравнению:

С6Н12О6 → СН3–СНОН–СООН + С2Н5ОН + СО2 ↑

Возбудителями гетероферментативного молочнокислого брожения являются бактерии видов Leuconostoc mesenteroides, Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus brevis и др.

Все молочнокислые бактерии – анаэробы, но могут развиваться в присутствии О2. Молочнокислые бактерии обладают чрезвычайно ограниченными синтетическими возможностями: не способны синтезировать витамины группы *В*, большинство аминокислот, источником которых для них является молоко. Они обладают высокой кислотоустойчивостью (рН 5–6) и солеустойчивостью.

Молочнокислые бактерии очень широко распространены в природе. Они всегда имеются в почве, на поверхности растений, и это является источником их постоянного появления в молочных и других продуктах.

В промышленности используют культурные расы бактерий, которые имеют ряд преимуществ перед дикими формами. Молочнокислые бактерии находят широкое применение в различных отраслях хозяйственной деятельности человека в процессе приготовления кисломолочных продуктов, сырокопченых колбас, квашения овощей и фруктов, в хлебопечении, для силосования кормов, биологической выделки кож и т. п. Они входят в состав нормальной микрофлоры человека и животных. Многие представители патогенны.

* 1. **Аэробное дыхание**

Процесс аэробного дыхания с использованием органических субстратов состоит из трех этапов: 1) анаэробное расщепление простых сахаров путем с образованием пировиноградной кислоты; 2) окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты; 3) **цикл лимонной кислоты** или **цикл трикарбоновых кислот** (ЦТК) или **цикл Кребса** (схема 2).

Крахмал, целлюлоза

Расщепление с участием

гидролитеческих ферментов

Глюкоза

Гликолиз либо иной   
катаболический путь

2 Пируват (CH3–CO–COOH)

Окислительное

декарбоксилирование

2 Ацетил – CoA (CH3–CO–CoA)

2CO2 ATФ

3НAД**·**H2 Промежуточные

ФAД**·**H2 вещества

Окисление  
в дыхательной цепи

3НАД+, ФАД, Биосинтез

11 ATФ клеточных

соединений

Схема 2 – Цикл Кребса

Все три этапа включают реакции отщепления водорода и электронов, катализируемые соответствующими дегидрогеназами, входящими в состав электронтранспортной цепи.

Пировиноградная кислота, образующаяся в одном из трех путей катаболизма глюкозы (см 6.2), подвергается декарбоксилированию и окисляется с участием коэнзи-ма А до ацетил-КоА:

СНзСОСООН+НАД+КоА-SH → СНзСО~SКоА+С02+НАД Н2

Ацетил-КоА включается в цикл Кребса. Суммарное уравнение цикл Креба можно записать следующим образом

CH3CO~SKоA+3H2O → 2СО2+ 4 [Н2]+KoA-SH

В цикл включается одна молекула ацетил-КоА, соединяясь с оксалоацетатом. При полном обороте цикла происходит присоединение трех молекул Н2О, отщепление двух молекул СО2 и четырех пар атомов водорода. При окислении изолимонной кислоты водород присоединяется к НАД или НАДФ, α-кетоглутаровой и яблочной – к НАД, а при окислении янтарной кислоты – к ФАД.

Кроме того, при превращении α-кетоглутарата в сукцинат с участием α-кетоглутаратдегидрогеназного комплекса и сукцинил-КоА-синтетазы в результате фосфорилирования на уровне субтрата образуется молекула макроэргического соединения - гуанозинтрифосфата (ГТФ), используемого в дальнейшем на синтез АТФ:

ГТФ + АДФ → ГДФ + АТФ

Цикл Креба может функционировать не только в энергетическом обмене аэробных организмов, но одновременно и в конструктивном обмене.

Главное отличие аэробного дыхания от брожения заключается том, что при брожении конечными акцепторами электронов служат органические вешества (пировиноградная кислота или продукты eё превращений), а при дыхании - молекулярный кислород.

Электроны поступают в дыхательную цепь, которая состоит из переносчиков водорода и электронов НАД, ФАД, ФМН, убихиона, цитохромной системы. В цепи выделяют четыре основных структурно обособленных комплекса, которые функционально связны между собой: НАД и ФМН (НАД**·**Н2-дегидрогеназа); сукцинатдегидрогеназа и ФАД; цитохром *b* и цитохром *с*; цитохромы *а* и *а*3.

По мере продвижения по цепи электроны теряют свободную энергию, изменения которой достаточно для синтеза трех молекул АТФ из АДФ и неорганического фосфата. На трех участках в дыхательной цепи, где происходит сопряжение окисления и фосфорилирования: от НАД до ФМН; от убихинона до цитохрома *с*; от цитохрома *с* до О2.

Согласно хемиосмотической гипотезе перенос электронов сопро­вождается выкачиванием ионов Н+ через мембрану в наружную водную среду. Вследствие этого между наружной и внутренней сторонами мембраны возникает градиент концентрации ионов Н+ – трансмембранный электрохимический градиент ионов водорода. Энергия трансмембранного электрохимического градиента используется для синтеза АТФ. Этот синтез катализирует АТФ-синтетазный комплекс, который обеспечивает сопряжение процессов окисления и фосфорилирования.

Укороченные дыхательные цепи очень характерны для бактерий. У которых встречается большое разнообразие систем переноса электронов. Обнаружены переносчики электронов, которые не встречаются у других организмов: менахинон (витамин *К*), цитохромы *d*, *с*4, *с*5 и др. Последовательность расположения переносчиков может изменяться.

Аэробный распад одной молекулы гексозы при функционировании полнойм дыхательной цепи приводит к образованию 38 молекул АТФ: 2 при гликолизе, 2 в двух циклах Кребса на уровне субстратов и 34 путем окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи. Суммарное уравнение аэробного дыхания следующее:

С6Н12О6 + 6О2 + 38АДФ + 38Н3РО4 → 6СО2 + 38АТФ + 44Н2

* 1. **Анаэробное дыхание**

**Анаэробным дыханием** называют процесс окисления органических соединений или молекулярного водорода, при котором конечным акцептором электронов в электронтранспортной цепи являются неорганические или органические соединения, но не молекулярный кислород. Если конечными акцепторами электронов служат NО3 или NО2, то процесс называется нитратным дыханием, или денитрификацией; если SО4 – сульфатным дыханием или сульфатредукцией; если СО2 – карбонатным дыханием; если фумаровая кислота – фумаратным дыханием. Все бактерии, способные к анаэробному дыханию, имеют элементы электронтранспортной цепи причем АТФ образуется в процессе мембранного фосфорилирования.

По отношению к молекулярному кислороду эти бактерии являются факультативными или облигатными анаэробами. В присутствии кислорода в среде у факультативных анаэробов происходит процесс аэробного дыхания, в отсутствие молекулярного кислора они используют другие конечные акцепторы электронов. Лучше других изучены процессы денитрификации и сульфатредукции.

**Нитратным дыханием**, или **денитрификацией,** называется микробиологический процесс восстановления нитратов до газообразных продуктов (N2, NО или N2O), при этом конечными акцепторами электронов служат NО3 или NО2. Процесс имеет энергетическое значение для осуществляюших его бактерий. К денитрификации способны только прокариоты, представители рода *Pseudomonas* – грамотрицательные подвижные палочки, родов *Neisseria* и *Paracoccus* – грамотрицательные кокки, рода *Bacillus*– грамположительные спорообразующие палочки и др. Эти бактерии являются факультативными анаэробами. В присутствии молекулярного кислорода они осуществляют аэробное дыхание, используют в качестве конечного акцептора электронов кислород воздуха. При хорошем доступе кислорода денитрификации не происходит. В анаэробных условиях большинство денитрифицирующих бактерий, в отличие от других факультативных анаэробов, не переходят к осуществлению брожения, а продолжают процесс дыхания.

Суммарное уравнение реакции нитратного дыхания, где окисляемым субстратом является глюкоза, а конечным акцептором электронов - цитраты, следующее:

С6Н12О6 + 4NО3 → 6СО2 + 6H2O + 2N2 + Q.

Подавляющее большинство денитрификаторов - хемоорганогетеротрофы, использующие в качестве окисляемого субстрата углеводы, спирты, органические кислоты и другие органические соединения. Восстановление нитратов протекает в несколько этапов: вначале образуется нитрит, затем окись азота, далее закись азота и, наконец, молекулярный азот:

NO3 → NO2 → NО → N2О → N2

У денитрифицирующих бактерий функционирует электронтранспортная дыхательная цепь (полная – при аэробном дыхании и укороченная – при анаэробном). Нитратредуктаза, получив электрон от цитохрома *b*, восстанавливает NО3 до NО2. Нитритредуктаза и редуктазы окиси и закиси азота сопряжены с электронтранспортной цепью на уровне цитохрома *b*.

Энергетически выход процесса денитрификации составляет 70 % по сравнению с аэробным дыханием, т.е. приблизительно 2 молекулы АТФ.

Процесс денитрификации происходит обычно в плотных и заболоченных почвах и может привести к обеднению почвы азотом. При хорошей аэрации денитрификация прекращается, т.к. молекулярный кислород вступает в конкуренцию с нитратами за электроны дыхательной цепи и подавляет деятельность нитратрсдуцирующей системы фермент. Денитрифицирующие бактерии являются важным звеном в круговороте азота в природе, обогащая атмосферу молекулярным азотом. Кроме того, эти бактерии играют положительную роль в освобождении подземных вод и почв от накопившихся в результате деятельности человека (внесение высоких доз удобрений, промышленные стоки) нитратов и нитритов.

**Сульфатное дыхание**, или **диссимиляционная сульфатредукция**, характерно для бактерий, способных окислять органические соединения или молекулярный водород в анаэробных условиях, используя в качестве акцепторов электронов в дыхательной цепи сульфаты. Кроме сульфатов конечными акцепторами электронов могут служить и другие соединения серы: тиосульфат, сульфит, молекулярная сера. Сульфатвосстанавливающие бактерии относятся к родам *Dеsulfovibrio, Dеsulfotomacutum, Desulfobacter, Desulfococcus, Desulfosarcina, Desulfonema* и т.д.

Все сульфатредуцирующие бактерии – строгие анаэробы. Подавляющее большинство бактерий этой группы хемоорганогетеротрофы. Источником углерода и энергии для них являются простые органические вещества – пируват, лактат, сукцинат, малат, а также некоторые спирты. У бактерий родов *Desulfovibrio* и *Dеsulfomonas* окисление органических веществ идет обычно не до конца. Так, при окислении молочной, фумаровой и янтарной кислот образуется уксусная кислота, окисляемым субстратом является молекулярный водород.

Бактерии этой группы способны также получать энергию за счет окисления молекулярного водорода, сопряженного с восстановлением сульфатов:

4H2 + H2S04 → H2S + 4H2O

Сульфатвосстанавливающие бактерии распространены в анаэробных зонах соленых озер и морских лиманов, в илах, почве. Являясь основными продуцентами сероводорода, сульфатредуциующие бактерии могут приносить вред, вызывая коррозию металлических труб и других подводных подземных сооружений, а также замор рыбы в водоемах.

**Фумаратное дыхание** отличается от всех описанных ранее способов анаэробного дыхания: во-первых, это единственный пример, когда роль конечного акцептора электронов в дыхательной цепи играет органическое вещество (фумаровая кислота); во-вторых, этот способ запасания энергии не является самостоятельным (единственным) для какой-либо таксономической группы бактерий. Во всех известных случаях бактерии, способные осуществлять фумаратное дыхание, являются хемоорганотрофами и обладают способностью к брожению. Таким образом, использование фумарата в качестве акцептора электронов при дыхании является лишь дополнительным механизмом, позволяющим бактериям добывать повышенное количество энергии в анаэробных условиях.

Процесс восстановления фумарата в бактериальных клетках часто сопровождается образованием сукцината, который может выделяться в среду в довольно больших количествах. Поэтому осуществляющие его бактерии называют сукциногенными. К ним относят, в первую очередь, некоторые виды родов *Bacteroides, Fibrobacter, Wolinella.*Все они являются микроаэрофилами, способными к аэробному дыханию при низких концентрациях кислорода, но в отсутствие 02 могут использовать альтернативный акцептор электронов – фумарат.

Кроме сукциногенных бактерий к фумаратному дыханию способны многие другие хемоорганотрофы, но их метаболизм не сопровождается выделением заметных количеств янтарной кислоты. К числу таких микроорганизмов можно отнести энтеробактерии (роды *Escherichia, Proteus, Salmonella, Klebsiella* и др.), представителей рода *Propionibacterium.* Все перечисленные виды добывают энергию в анаэробных условиях в процессах брожения. При этом пропионовокислые бактерии в ходе брожения осуществляют этап фумаратного дыхания. Для перечисленных бактерий добавление фумарата к питательной среде значительно улучшает рост, что связано с увеличением эффективности синтеза АТФ за счет окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи при восстановлении фумарата.

* 1. **Фотосинтез** **у бактерий**

**Фототрофными** называют организмы, способные в процессе фотофосфорилирования трансформировать световую энергию в химическую. Основную массу фототрофов составляют водоросли, высшие растения и цианобактерии. Значительно меньшая доля приходится на пурпурные и зеленые бактерии, прохлорофиты и галобакактерии.

Различают аноксигенный и оксигенный фотосинтез.

**Аноксигенный фотосинтез** осуществляется пурпурными и зелеными бактериями. Процесс происходит при участии бактериохлорофиллов и не сопровождается выделением молекулярного кислорода. Источником углерода при аноксигенном фотосинтезе может служить двуокись углерода (фотоавтотрофия) или органические соединения (фотогетеротрофия). В качестве доноров электронов используются минеральные вещества (фотолитотрофия) или органические вещества (фотоорганотрофия). Аноксигенный фотосинтез характерен для пурпурных и зеленых бактерий, а также для галобактерий. Процесс ассимиляции углекислоты, осуществляемый разными фотоавтотрофными организмами, можно записать следующим общим уравнением:

СО2 + **2**Н2А → (СН2**О**)+Н2**О** + 2А,

где Н2А – экзогенный донор водорода; (СН2О) – образующееся органическое вещество. Первичным продуктом преобразования световой энергии в химическую является АТФ.

Фототрофныс пурпурные и зеленые бактерии обитают в анаэроб-

Пурпурные и зеленые бактерии содержат пигменты, очень близкие по структуре к хлорофиллу растений; они получили название бактериохлорофиллов *а, b, с, d, е*. В клетках большинства пурпурных бактерий основным пигментом является бактериохлорофилл *а*, отличающийся от хлорофилла а тем, что в его первом пиррольном кольце присутствует ацетильная группа –СО–СН**3** вместо винильной –СН=СН2, а второе кольцо восстановлено. В клетках некоторых пурпурных бактерий в качестве основного пигмента обнаружен бактериохлорофилл b. В зеленых бактериях преобладают бактериохлорофиллы *с, d* или *е*, которые этерифицированы не фитолом (С20Н39ОН), а фарнезолом (СН5Н25ОН) или другим многоатомным спиртом. Кроме того, в клетках всех зеленых бактерий в небольших количествах содержится бактериохлорофилл *а*. Набор пигментов является специфичным для каждой группы бактерий.

Пигменты фотосинтезирующих бактерий поглощают свет в широком диапазоне длин волн. Интересной особенностью бактериохлорофиллов является способность поглощать инфракрасные лучи: максимум поглощения в длинноволновой части спектра у бактериохлорофилла а находится при длине волны 850-890 нм, бактерохлорофилла *b* – 720–740 нм, бактерохлорофилла *с* – 750–760 нм, бактерохлорофилла *d* – 720–740 нм, бактерохлорофилла *е* – 715–725 нм.

В клетках фотосинтезирующих прокариот содержатся также различные каротиноиды, придающие клеткам пурпурную, коричневую, розовую или оранжевую окраску. Пурпурные бактерии содержат большие количества каротиноидов, в зеленых бактериях этих пигментов значительно меньше, однако известны «зеленые» бактерии, принадлежащие к семейству *Chlorobiaceae,* коричневого цвета. У разных видов фототрофных бактерий обнаружено около 20 различных каротиноидов. Каротиноиды поглощют световую энергию в области 400–550 нм, 30–90 % которой передают на бактериохлорофилл, а также защищают клетки от фотоокисления.

В клетках фототрофных бактерий нет пластид, их функции выполняет цитоплазматическая мембрана. У пурпурных бактерий в участки ЦПМ в виде пузырьков, стопок, ламелл встроены пигменты в комплексе с белками. У зеленых бактерий бактериохлорофилл *а*, каротиноиды, связанные с белками, локализованы в ЦПМ. К этим участкам мембраны примыкают хлоросомы, в которых содержатся бактериохлорофиллы *с, d* или *е*. В ЦПМ встроены электронтранспортные системы содержащие белки-переносчики.

Аппарат пурпурных и зеленых бактерий, осуществляющий световую фазу фотосинтеза сострит из: пигментов, поглощающих свет; фотохимических реакционных центров, осуществляющих трансформацию световой энергии в химическую; электронтранспортных систем, обеспечивающих перенос электронов, сопряженный с аккумуляцией энергии в виде АТФ.

Основная масса молекул пигментов играет роль антенн, поглощающих свет. В фотохимической реакции принимают участие молекулы пигмента бактериохлорофилла *а*, входящие в состав реакционных центров. Эти пигменты Р840 у зеленых бактерий, Р870 и **Р960** у пурпурных бактерий), при которой происходит индуцированное светом изменение свойств пигмента.

Поглощенный квант света переводит молекулу пигмента антенны в возбужденное состояние, связанное с переходомэлектрона на более высокий энергетический уровень. Энергия поглощенного кванта может передаваться другой, рядом расположенной молекуле пигмента резонансным путем, возбуждая последнюю. Миграция энергии происходит от пигментов, поглощающих свет более коротких волн, к пигментам, поглощающим более длинные волны, до молекулы реакционного центра (например, у пурпурных бактерий, содержащих бактериохлорофилл *а* – Р870). Далее высокоэнергетический электрон передается от возбужденной молекулы бактериохлорофилла реакционного центра первичному акцептору электронов, функцию которого могут выполнять хинон в комплексе с железом у пурпурных бактерий, и FeS-содержащис белки у зеленых бактерий. Электронтранспортная цепь состоит из хинонов и цитохромов, последним из которых в цепи является цитохром *с*. Электрон от последнего переносчика возвращается на пигмент. Возникающий при фотосинтетическом электронном транспорте трансмембранный электрохимический градиент протонов пользуется для синтеза АТФ (процесс фотофосфориллирования). Перенос электронов от молекулы пигмента через электронтранспортную цепь и вновь к пигменту называется циклическим.

У пурпурных бактерий функционирует только процесс циклического транспорта электронов, который не приводит к образованию восстановителя (НАД**·**Н2), необходимого для процесса ассимиляции СО2. У этих бактерий восстановление НАД не связано непосредственно с обратным транспортом электронов от убихинона через флавопротеиды на НАД или ферредоксин. Экзогенным донором электронов служат H2S или Н2. Процесс обратного переноса электронов идет с затратой энергии трансмембранного потенциала. У зеленых бактерий кроме циклического транспорта электронов может функционировать нециклическая цепь. При нециклическом потоке часть электронов передается от первичного акцептора на ферредоксин и далее на НАД, который приобретает способность присоединять протоны:

НАД + 2**ē** + 2Н → НАД**·**Н2

«Электронная» дырка, возникшая при фотоокислении бактериохлорофиллов, заполняется электроном от цитохрома, который, в свою очередь, восстанавливается за счет какого-либо экзогенного донора электронов, например H2S.

Ассимиляция СО2 происходит в темновой фазе фототосинтеза – в цикле Кальвина, где используются восстановленный НАД**·**Н2 и синтезированные путем фотофосфориллирования молекулы АТФ. У зеленых бактерий (например, у рода *Chlorobium*) вместо цикла Кальвина функционирует восстановительный цикл трикарбоновых кислот.

**Оксигенный фотосинтез** осуществляют цианобактерии и прохлорофиты. Этот процесс происходит при участии хлорофилла а и сопровождается выделением О2 в результате фотоокисления воды. Основным источником углерода при оксигенном фотосинтезе является СО2, донором электронов – Н2О. Этот тип фотосинтеза характерен для зеленых растений, цианобактерий и прохлорофитов. Цианобактерии в качестве источника углерода могут использовать и органическис вещества. Общее уравнение оксигенного фотосинтеза следующее:

6СО2 + 1**2**Н2О → С6Н12**О**6 + 6О2+6Н2**О**

В пигментной системе цианобактерий присутствуют хлорофилл *а*, каротиноиды и фикобилипротеиды, хромофорная группа которых состоит из четырех пиррольных колец, соединенных в виде открытой цепи, фикоцианин, аллофикоцианин и фикоэритрин. Фикоцианин и аллофикоцианин имеют голубой цвет, а фикоэритрин – красный. Если в клетках преобладает фикоцианин, то цианобактерии имеют сине-зеленую окраску, особенно яркую у видов, не содержащих фикоэритрина. Клетки, богатые фикоэритрином, бывают окрашены в красный, фиолетовый или коричневый цвет.

Хлорофилл, каротиноиды, а также реакционные центры и электронтранспортные системы фотосинтеза локализованы в мембранах тилакоидов, фикобилипротеиды сосредоточены в фикобилисомах – небольших тельцах, прикрепленных к внешней поверхности тилакоидов.

Для прохлорофитов характерно наличие хлорофиллов *а* и *b* и отсутствие фикобилинов. Представитель этой небольшой группы *Prochloron didemni*, имеющий крупные (диаметром 6–25 мкм) шаровидные клетки, является симбионтом колониальных морских низших хордовых животных асцидий. В настоящее время существует гипотеза, согласно которой прохлорофиты являются предшественниками хлоропластов зеленых растений.

Хлорофиллы клеток цианобактерий и прохлорофитов поглощают свет с длиной волны до 750 нм.

У цианобактерий имеется развитая система внутриклеточных мембран – тилакоидов, к которым примыкают гранулы – фикобилисомы. Форма, размер и число гранул у разных видов цианобактерий различны. Фикобилисомы могут иметь форму полусферы или цилиндра. Фотохимические реакционные центры и электронтранспортные системы сосредоточены в основном в тилакоидах.

При оксигенном фотосинтезе фотосинтетический аппарат содержит две фотосистемы (I и II). Функционирование их характерно для растений, цианобактерий и прохлорофитов. Возбуждение ФС–I обусловливает циклический поток электронов, сопряженный с синтезом АТФ. Функционирование ФС–II позволяет в качестве донора электронов использовать воду. Вода подвергается фотоокислению по формуле:

**4**Н2О → 4Н+ + 4**ē** + 4ОН–;

4ОН– → Н2О + О2

Освобождающиеся электроны через переносчика ФС-II передаются на ФС-I, где происходит восстановление НАДФ. Нециклический поток электронов также сопряжен с синтезом АТФ. «Электронная» дырка, возникшая при фотоокислении хлорофиллов, заполняется электроном.

В дальнейшем образующийся НАД**·**Н2 и синтезированные путем фотофосфориллирования молекулы АТФ используется в цикле Кальвина (темновая фаза фототосинтеза), где происходит ассимиляция СО2.

Своеобразный механизм использования световой энергии обнаружен у экстремальных **галофильных архебактерий** родов *Halobacterium* и *Halococcus*. Галобактерии обитают в водах соленых озер или местах добывания соли путем выпаривания, в высоконцентрированных или насыщенных растворах солей.

В мембранах этих бактерий присутствует много каротиноидных пигментов (например, бактериоруберин), что придает колониям розовую или красную окраску. При недостатке в среде О2 в мембранах галобактерий синтезируется хромопротеид бактериородопсин пурпурного цвета.

Поглощая свет с максимумом длины волны 570 нм, бактериородопсин действует как особая разновидность протонного насоса, создающего градиент концентрации водородных ионов между наружной и внутренней сторонами мембраны, что приводит к синтезу АТФ. Энергия света используется в условиях низкой концентрации О2. В темноте при достаточном снабжении кислородом галофильные бактерии получают энергию в процессе дыхания. Источником углерода для галобактерий служат органические вещества, т.е. по типу питания галобактерии относятся к гетеротрофам. На свету они могут осуществлять фотогетеротрофный метаболизм, в темноте – хемогетеротрофный.

*Вопросы для самоконтроля:*

1. *Перечислите основные энергетические процессы, встречающиеся у микроорганизмов?*
2. *Чем отличается фосфорилирование на уровне субстрата от мембранного фосфорилирования?*
3. *Что такое брожение? Чем отличается этот процесс от аэробного дыхания?*
4. *Почему энергетический выход брожения значительно ниже, чем дыхания?*
5. *Охарактеризуйте пути расщепления гексозы, возможные для микроорганизмов.*
6. *Какие виды брожений вызывают бактерии из рода Ctostridium?*
7. *В основе каких технологических процессов лежит молочнокислое брожение?*
8. *В чем состоит отличие гетероферментативного молочнокислого брожения от гомоферментативного?*
9. *Из каких этапов состоит процесс аэробного дыхания?*
10. *В чем отличие анаэробного дыхания от аэробного?*
11. *Каковы характерные особенности денитрифицирующих бактерий? Как влияет процесс денитрификация на плодородие почвы?*
12. *Каков биологический смысл процесса восстанавления бактериями сульфатов до сероводорода?*
13. *Какие группы микроорганизмов являются фототрофами?*
14. *Из каких компонентов состоит фотосинтетический аппарат фототрофов? Перечислите пигменты, участвующие в фотосинтезе.*
15. *Чем отличается процесс фотосинтеза пурпурных и зеленых бактерий от фотосинтеза цианобактерий?*
16. *Каковы особенности энергетического обмена галобактерий?*