

ЛЕКЦІЯ №4

Живильні середовища та культивування мікроорганізмів.

Найважливішими фізичними і хімічними параметрами культивування є: джерело живлення, енергії, рН, аерація, температура. Для зростання мікроорганізмів необхідна вода. Вимоги, що пред'являються різними мікроорганізмами відносно складу живильного середовища і інших умов, дуже різноманітні.

Мінімальна вимога до середовищ: у них повинні бути всі елементи, з яких будується клітина, в такій формі, в якій мікроорганізми здатні їх засвоїти.

Потреба в хімічних елементах

По кількісному внеску в будову клітини розрізняють макро- і мікроелементи.

Макроелементи – 10 елементів, що входять у всі організми (С, О, Н, N, S, P, K, Ca, Mg, Fe).

Мікроелементи – кількості слідів – Mn, Mo, Zn, Cu, Ni, V, B, Cl. Вони містяться як домішки в солях макроелементів, поступають з пилом з скла лабораторного посуду. Тому для виявлення потреби в мікроелементах потрібні особливі методи.

Більшість елементів вносять в середу у вигляді солей.

Приклад:

| | |
|---|--------|
| KH_2PO_4 | 0,3г |
| K_2HPO_4 | 0,5г |
| NH_4Cl | 1,0г |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,2г |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,01г |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,01г |
| глюкоза | 10,0г |
| вода | 1000мл |
| розчин з мікроелементами | 1мл |

Джерела вуглецю та енергії

Організми отримують енергію за допомогою фотосинтезу і шляхом окислення неорганічних з'єднань, здатні використовувати CO_2 як головного джерела вуглецю. Ці С-автотрофні організми відновлюють CO_2 .

Решта всіх організмів використовує вуглець з органічних речовин. Органічні речовини є джерелом енергії і вуглецю, частково вони асимілюються для побудови структур клітини і частково окислюються для отримання енергії.

З природних органічних сполук на Землі кількісно переважають полісахариди – целюлоза і крохмаль. Структурним компонентом є молекула глюкози.

Необхідні для зростання також і чинники росту (їх клітини нездібні синтезувати самостійно):

1. амінокислоти (складові частини білків);
2. пуріни та піримідини (входять до складу нуклеїнових кислот);
3. вітаміни (до складу коферментів): біотин, нікотинова кислота, тіамін, пантотенат, ціанкобаламін. Потрібні в малих кількостях.

Ауксотрофи – організми, що потребують чинників росту.

Прототрофи – чинники росту не потрібні.

Сірка та азот. У вигляді SO_4^{2-} і NO_3^- . Найбільш звичайне джерело N – солі амонію.

Зростання бактерійних культур в рідких живильних середовищах

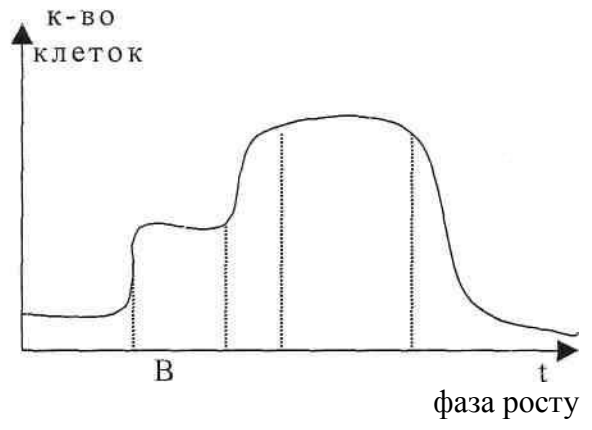
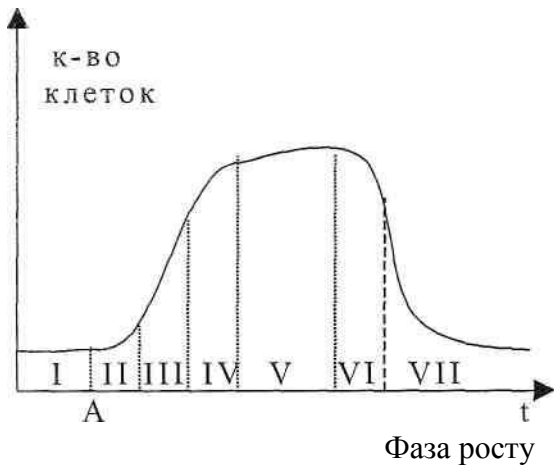
У рідкому живильному середовищі вирощують або стаціонарним методом, або періодичним: коли є приток і відтік живильних речовин.

Крива зростання

При вирощуванні в рідких живильних середовищах виділяють фази зростання бактерійної популяції, що відображають загальну закономірність зростання і розвитку.

A – крива зростання розвитку популяції клітин;

B – крива зростання при діауксії (глюкоза, сорбіт).



- Аерація: 1. шляхом струшування;
2. культивування в тонкому шарі;
3. пропускання повітря через посуд (колба Клейвера)
(ферментер).

Для зростання мікроорганізмів необхідні наступні умови (оптимальні):

1. рН, температура, умови аерації;
2. джерело енергії;
3. джерело вуглецю;
4. донор водню (електронів).

Залежно від механізму перетворення енергії в доступну для клітки біохімічну АТФ розрізняють два типи метаболізму:

а) фототрофний (світло) – ціанобактерії, анаеробні фототрофні сіркобактерії;

б) хемотрофний (окислювально-відновні реакції).

Всі організми, що використовують органічні речовини як донор водню, – органотрофи.

Літотрофи – використовують неорганічні донори (H_2 , NH_3 , H_2S , S , CO , Fe^{2+} і ін.).

Гетеротрофи – використовують С органічних речовин.

Автотрофи – С – з CO_2 .

Аеробні методи культивування

Виноградський і Беєрінк розробили техніку накопичувальних культур. Цей метод дуже простий. Для накопичення створюють умови, при яких даний організм долає конкуренцію останніх.

Культивування аеробів:

- 1) на поверхні щільних і рідких живильних середовищ;
- 2) глибинне культивування в рідких середовищах – на гойдалках (струшування або обертання);
- 3) продування, аерація стерильним повітрям.

Культивування анаеробів:

- 1) вирощування у високому шарі середовища;
- 2) у товщі щільного середовища (трубка Бурі) для чистих культур;
- 3) по Хангейту;
- 4) вирощування в анаеростатах.

Популяція – сукупність бактерій одного виду або декількох видів, зростаючих в певному просторі.

Ріст – узгоджене збільшення кількості всіх хімічних компонентів клітини (білка, РНК, ДНК), що веде до зростання розмірів і маси клітини. Зростання відбувається до певної величини, після починається розмноження.

Розмноження – це збільшення числа клітин мікроорганізмів в популяції.

При зростанні кількості бактерій в бактерійній популяції відбувається три взаємозв'язані процеси: індивідуальне ріст клітин, розмноження бактерій і відмирання клітин.

Розмноження:

1) бінарне ділення – коли з 1→2 і так далі (завжди передуює реплікація ДНК):

а) ділення перетяжкою – звуження клітини в місці ділення: в'ячування оболонки до розділу. Характерний для грамнегативних, міксобактерій.

б) ділення з утворенням поперечної перегородки властиво грампозитивним бактеріям.

Буває зміна способів ділення – у тіонових і міксобактерій.

Період від ділення до ділення називається клітинним циклом (онтогенез бактерій).

2) брунькування – дріжджі, *Nitrobacter*.