

ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет»
Биологический факультет
Кафедра микробиологии

Дисциплина
«Основы физиологии роста и культивирования микроорганизмов»

Занятие №1

«ВВЕДЕНИЕ, ОБЩИЕ ПОНЯТИЯ, РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ»

Выполнила: магистрант Мокрецова И.М., БМм-11

Проверил: д.т.н., профессор Лещенко А.А.

- **Обмен веществ** = поглощение питательных веществ + их переработка внутри организма + выделение наружу продуктов обмена.
- Положительный итог питания – синтез составных частей организма и увеличение его биомассы – **рост**.
- Синтез отдельных компонентов живого тела протекает неравномерно. Количество одних из них увеличивается быстро, других – медленно, третьи не накапливаются, четвертые разрушаются, вследствие чего химический состав, строение и ферментативный аппарат организма с течением времени меняются и происходят морфологические и физиологические изменения – **развитие**.
- Один из результатов развития – **размножение** – воспроизведение организмом новых особей при помощи половых клеток или вегетативным способом (деление, почкование, образование бесполовых спор и др.)
- Размножение может происходить в отсутствие роста – при сегментации или фрагментации мицелия актиномицетов, и наоборот, неблагоприятные условия среды могут остановить размножение клеток, но не их рост, в результате чего клетки разрастаются в гигантские формы. У некоторых низших организмов (актиномицетов, мукоровых грибов) рост без размножения представляет собой нормальное явление.
- В вегетативных клетках бактерий, размножающихся при постоянных условиях среды, протекает ряд структурно-биохимических изменений, связанных с циклом их деления. Отделив от себя дочернюю клетку, материнская клетка каждый раз возвращается в прежнее физиологическое состояние, вследствие чего бактерии не продвигаются по пути своего онтогенетического развития.

Спорообразование у бактерий

- Типичное онтогенетическое развитие можно наблюдать при превращении вегетативных клеток в покоящиеся споры или половые клетки (рис. 1).
- Сначала в вегетативной клетке накапливается большое количество гранулёзы, окрашиваемой йодом в темно-синий цвет.
- Затем с одного конца клетки начинает дифференцироваться спорогенное зерно – зачаток будущей споры. Клетка утолщается и принимает веретеновидную форму.
- Спора постепенно оформляется, а цитоплазма лизируется и уменьшается в объеме, пока не останется одна только спора.
- В основе развития лежит неравномерный рост составных частей клетки, при этом размеры клетки почти не возрастают, а на заключительном этапе спорообразования ее биомасса даже уменьшается. Следовательно, развитие может протекать и в отсутствие видимого роста.

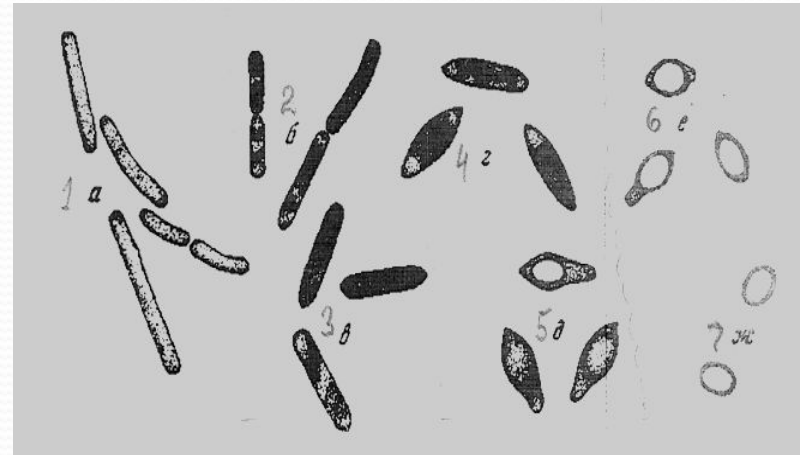


Рис. 1. Ход спорообразования у маслянокислых бактерий
1 – делящиеся вегетативные клетки, 2 – отложение в клетках гранулёзы, 3 – постепенное утолщение клеток, 4 – кластридальные формы, 5 – появление проспор, 6 – оформление спор, 7 – свободные зрелые споры.

Рост и развитие бактериальной культуры

- ❑ Процесс развития культур одноклеточных существ сводится к превращению их вегетативных клеток в покоящиеся формы (рис. 2).
- ❑ При обычном способе культивирования судьба отдельных клеток не совпадает: одни из них быстро заканчивают процесс спорообразования, у других он затягивается, третьи погибают и лизируются раньше, чем успеют превратиться в споры.
- ❑ В связи с этим за ходом развития культуры можно следить по изменениям соотношения различных форм жизненного цикла.
- ❑ Рост и развитие отдельных клеток является иным понятием, чем развитие целой клеточной популяции.

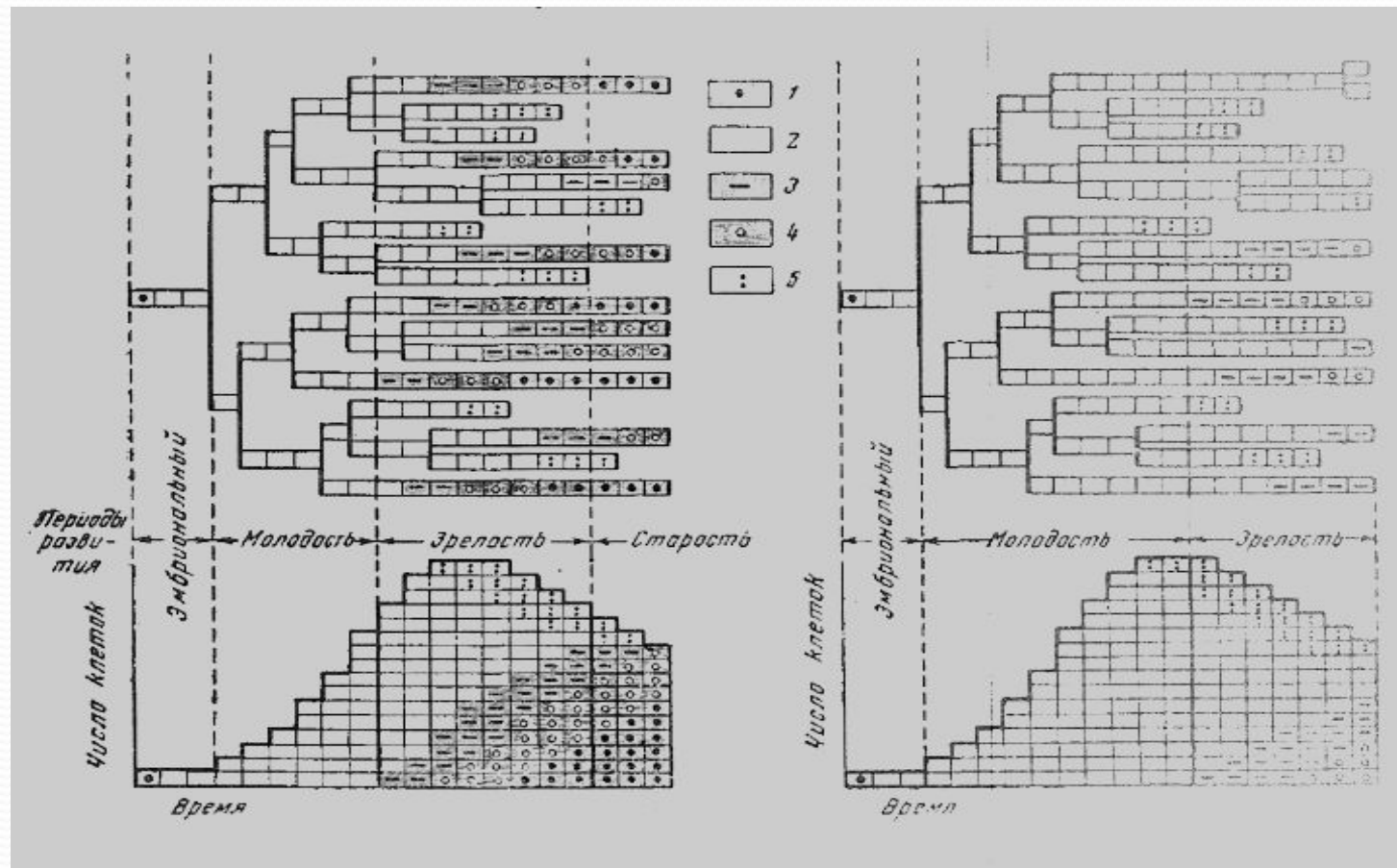


Рис. 2. Схема роста и развития бактериальной культуры
 1 – споры, 2 – вегетативные клетки, 3 – клетки с отложением гранулёзы, 4 – проспоры, 5 – отмирающие клетки по Иерусалимскому

Лагфаза

- ❖ Иногда после высева в свежую среду микробные клетки некоторое время не приступают к размножению, что может быть вызвано разными причинами, например, при посеве покоящимися спорами требуется время для их прорастания. Но и вегетативные клетки иногда не сразу начинают размножаться из-за неблагоприятных условий среды (например, из-за трудной усвояемости питательных веществ).
- ❖ Проходит несколько часов, пока высеянные клетки не приспособятся к имеющимся условиям среды или видоизменят их в нужную сторону. Период начальной задержки роста – «**лагфаза**». К концу его клетки начинают расти, причем скорость роста постепенно повышается (рис. 3). Рост клеток начинается раньше, чем размножение, в связи с чем к концу лагфазы средняя величина клеток увеличивается.

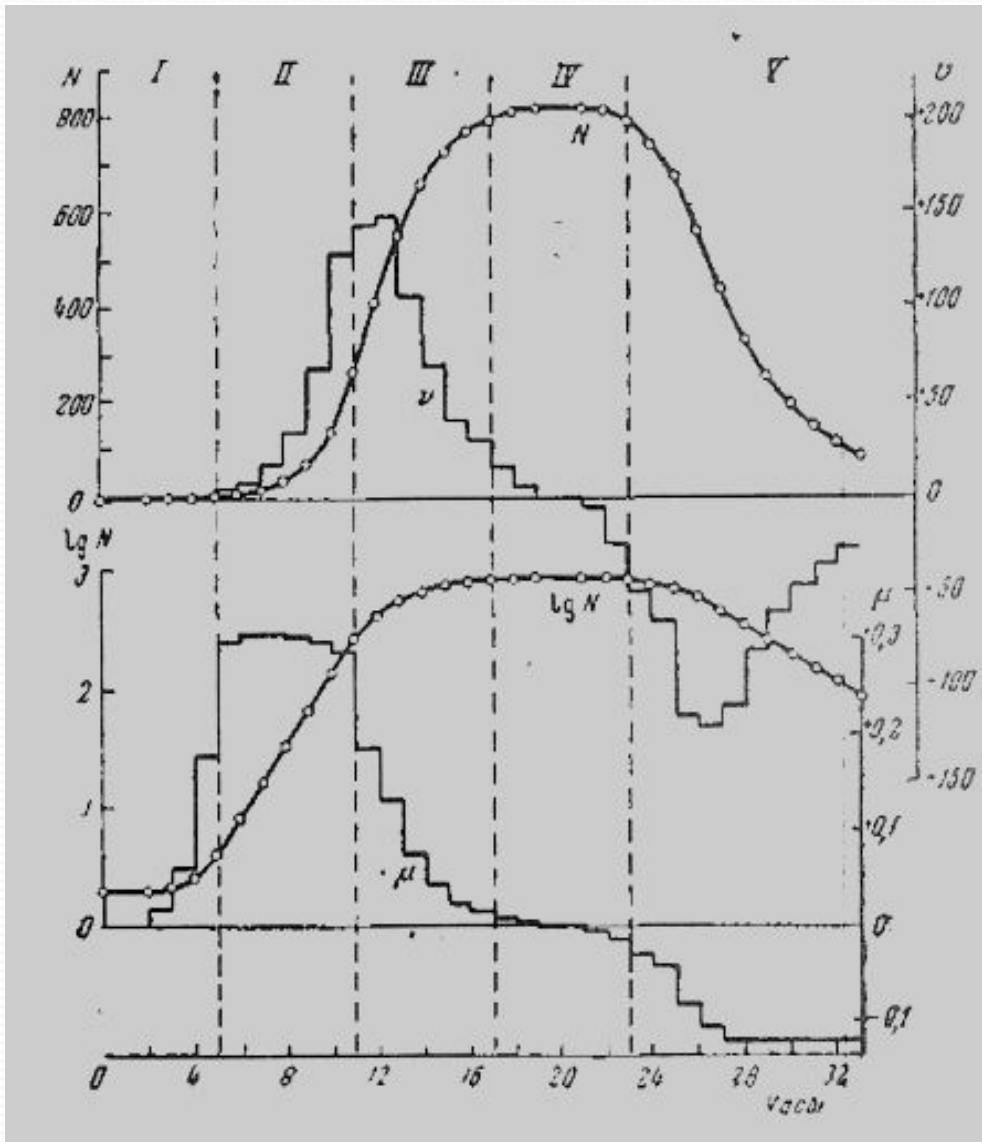


Рис. 3. Схема роста микробной культуры

N – численность клеток ($\lg N$ – в логарифмическом выражении)

V – общая скорость роста культуры

μ – удельная скорость роста культуры

I – лагфаза

II – экспоненциальная (логарифмическая) фаза

III – фаза замедления роста

IV – максимальная стационарная фаза

V – фаза отмирания

Экспоненциальная фаза

- После лагфазы наступает период, когда культура растет с постоянной удельной скоростью. Через определенные сроки происходит удвоение численности клеток и их суммарного веса.
- Промежуток времени, в течение которого биомасса возрастает вдвое, – **продолжительность генерации**. Скорость роста и размножения у отдельных клеток в культуре не совпадает, поэтому продолжительность генерации представляет собой средневзвешенную величину.
- В этот период численность клеток и их суммарная биомасса возрастают в геометрической прогрессии согласно экспоненциальному закону.
- Данный период роста культуры – **«логарифмическая (экспоненциальная) фаза»**.
- Рост культуры можно охарактеризовать любым из следующих уравнений:

$$\begin{aligned}m_1 &= m_0 e^{\mu(t_1-t_0)} \\ N_1 &= N_0 e^{0,693V(t_1-t_0)} \\ N_1 &= N_0 2^{V(t_1-t_0)}\end{aligned}$$

где m_0 , N_0 , t_0 – начальные значения биомассы, числа клеток и времени, m_1 , N_1 , t_1 – их конечные значения, e – основание натурального логарифма, V – общая скорость роста культуры, μ – удельная скорость роста культуры.

Стационарная фаза и фаза отмирания

- ✓ Экспоненциальная фаза постепенно переходит в фазу замедления роста. Удельная скорость роста μ (как и скорость клеточного размножения V) в этот период понемногу падает, пока нарастание биомассы культуры вовсе не прекратится – наступает **стационарная фаза** роста культуры.
- ✓ В течение стационарной фазы численность живых клеток держится на постоянном уровне, что связано или с превращением вегетативных клеток в неразмножающиеся формы (например, в споры), или с тем, что между их отмиранием и размножением устанавливается подвижное равновесие. Когда численность живых особей перестала повышаться, общее число клеток может возрастать за счет накопления погибших, но не успевших еще лизироваться клеток.
- ✓ После стационарной фазы количество живых клеток все более падает. Уменьшается и вес биомассы культуры из-за начавшегося автолиза. Наступает **фаза отмирания** культуры.

Изменения клеток в процессе роста

- Процесс роста культуры сопровождается изменением морфологии клеток, их химического состава и физиологической активности (рис. 4). Во время лаг-фазы клетки обычно увеличиваются в размерах, и содержание РНК в них повышается. При цитологических окрасках они обнаруживают базофилию, которая сохраняется и в течение логарифмической фазы.
- В период замедления роста культуры содержание РНК в клетках начинает уменьшаться, и базофилия сменяется все более резко выраженной оксифилией.
- Одновременно со скоростью роста изменяется и физиологическая активность микробов. Быстро растущие клетки быстрее потребляют питательные вещества и образуют продукты обмена, чем клетки, рост которых начал замедляться.
- В процессе роста культуры происходят также изменения ферментативного аппарата клеток, поэтому некоторые биохимические свойства клеток оказываются приуроченными к определенному периоду роста.

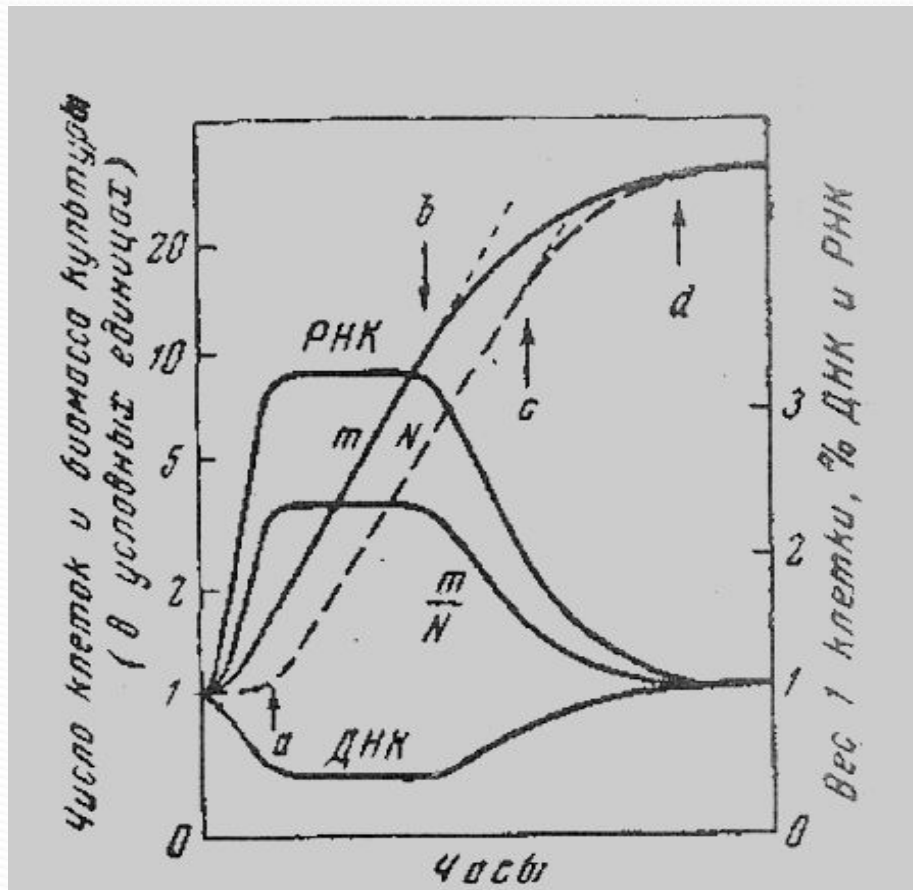


Рис. 4. Кривые роста культуры и изменения свойств бактериальных клеток
 Начальные значения всех свойств приняты за единицу
 m – нарастание суммарной биомассы культуры (в логарифмическом масштабе)
 N – увеличение численности клеток (в логарифмическом масштабе)
 m/N – средний вес одной клетки
 РНК – процентное содержание РНК
 ДНК – процентное содержание ДНК

Периоды развития культуры

- Учитывая изменения свойств клеток, можно говорить о физиологическом возрасте культуры и периодах ее развития (Иерусалимский, 1949). Онтогенетическое развитие организмов принято разделять на четыре основных периода:
 - эмбриональный;
 - молодость;
 - зрелость;
 - старость.
- Те же самые названия можно условно применять и к микробным культурам. Так, эмбриональный период соответствует лаг-фазе, когда клетки приспосабливаются к имеющимся условиям среды. Молодость культуры совпадает во времени с фазой экспоненциального роста, клетки обладают высокой физиологической активностью, быстро делятся, протоплазма их базофильна, и содержание РНК в ней высокое.
- Стационарную фазу нельзя назвать периодом зрелости культуры, поскольку показателем физиологической зрелости культуры служит начавшийся процесс спорообразования или же структурно-биохимическая перестройка вегетативных клеток, связанная с их переходом в покоящееся состояние.

Периоды развития культуры

- Когда причиной остановки роста культуры является переход клеток в состояние физиологического покоя, стационарная фаза и период зрелости совпадают во времени. Однако рост и размножение вегетативных клеток могут прекратиться из-за создавшихся неблагоприятных условий среды, и в таких случаях клетки перестают размножаться раньше, чем успеют превратиться в физиологически зрелые формы, а период зрелости культур сдвигается на более позднее время или может и вовсе не наступить, если вегетативные клетки начнут дряхлеть и отмирать, так и не превратившись в покоящиеся формы. Период молодости культуры в этом случае сразу сменится периодом старости.
- Таким образом, между фазами роста культуры и морфофизиологической изменчивостью клеток не существует постоянной связи, именно поэтому целесообразно пользоваться особым понятием «**периоды развития**» для характеристики изменений, претерпеваемых микробными клетками в процессе роста культуры.

Заключение

Микробные культуры представляют собой сложные системы, претерпевающие множество различных изменений в процессах роста и развития.