

Temat: Środowisko życia mikrobów

Spis treści

- **Ciśnienie atmosferyczne i hydrostatyczne**
- **pH**
- **Potencjał oksydoredukcyjny (Eh)**
- **Podział bakterii ze względu na zapotrzebowane na O₂**
- **Kationy i aniony**
- **Związki mineralne**
- **Związki azotu**
- **Związki fosforu**
- **Związki organiczne**
- **μ_{\max} , K_s , K_i**

Ciśnienie atmosferyczne i hydrostatyczne

Ciśnienie atmosferyczne - bakterie nie reagują na zmiany ciśnienia atmosferycznego

Ciśnienie hydrostatyczne to ciśnienie słupa wody które rośnie liniowo wraz z głębokością co 10 m rośnie o 1 atm.

Ponad 75% oceanów ma głębokości od 1000 do 6000 m.

1 atm = 98066,5 Pa = 0,0980665 MPa

10 atm = 1 Mpa

Największe ciśnienie hydrostatyczne panuje na dnie oceanu spokojnego (Rów Filipiński) i na głębokości 10⁴m wynosi 10³ atm

Takie ciśnienie całkowicie hamuje rozwój mikroorganizmów.

Przy ciśnieniu przy 600 atm większość mikroorganizmów już nie rośnie, niektóre jednak przeżywiają ciśnienie 2 x 10³ atm.

Wyróżniamy organizmy:

Barofile (piezofile) żyjące tylko w warunkach wysokiego ciśnienia i nie rosnące przy 1 atm np. *Spirillum* izolowane kominów hydrotermalnych rośnie najlepiej przy ciśnieniu 300-600 atm.

Barotolerancyjne – rosną w warunkach wysokiego i niskiego ciśnienia

Do piezofili zaliczamy:

1. Archeony (Carancheota)
Stanowią one 30% biomasy mikroorganizmów na głębokości 1000-3000m
2. Bakterie (γ proteobacteria)
 - Są one najczęściej także halofilami (wymagają 3 % NaCl) oraz psychrofilami
 - Do piezofili należy opisana niedawno : *Shewanella benthica* wyizolowana z przewodu pokarmowego skorupiaka żyjącego na głębokości 5928 m oraz strzykw z głębokości 4575 m
 - Inne piezofile to: *Colwellia hadaliensis*, *Colwellia* MT41, *Moritella yayanosi*

Charakterystyka wzrostu wybranych mikroorganizmów piezofilnych 10 Atm = 1 MPa

Domena	gatunek	Ciśnienie opt.(Mpa)	Temp. opt. [°C]
Bakterie	<i>Colwellia sp.</i>	80	8
	<i>Moritella japonica</i>	80	10
	<i>Shewanella benthica</i>	45	5
Archeony	<i>Methanothermococcus thermolithotrophicus</i>	50	65
	<i>Methanocaldococcus jannaschii</i>	75	86
	<i>Thermococcus barophilus</i>	45	85

Szczególną odpornością na działanie wysokich ciśnień odznaczają się formy przetrwalne. Przetrwalniki bakterii *Bacillus subtilis* nie tracą zdolności do kiełkowania nawet przy ciśnieniu 900 MPa.

Konidia *Aspergillus Niger* nie są wrażliwe na ciśnienie wynoszące 1000 MPa.

Wzrost większości bakterii ulega zahamowaniu przy ciśnieniu 60 MPa.

Drożdże są znacznie bardziej wrażliwe na wysokie ciśnienia – rozwoju większości z nich nie stwierdza się przy ciśnieniu wynoszącym 0,8 MPa.

Większą tolerancją na wysokie ciśnienia odznaczają się **piezofile (dawniej zwane bazofilami)** zasiedlające głębiny mórz i oceanów.

Zaliczamy do nich mikroorganizmy dla których optymalne ciśnienie dla wzrostu jest wyższe od 40 MPa.

Niektórzy autorzy wyróżniają również hiperpiezofile; szybkość wzrostu tych mikroorganizmów jest najwyższa przy ciśnieniu 60 MPa.

Pod wpływem wysokich ciśnień hydrostatycznych, działających przez dłuższy czas dochodzi do:

- 1- zmiany ultrastruktury komórek
- 2- zmiany ich składu chemicznego

W komórkach obserwuje się :

- Zmniejszenie zawartości związków polisacharydowych i fosfolipidów

Oraz

- Zmiany w błonach prowadzące do zaburzeń funkcji fizjologicznych
- Rybosomy bakteryjne ulegają dysocjacji na podjednostki co prowadzi do zahamowania biosyntezy białek,
- Obserwuje się zmiany strukturalne białek,
- Inaktywacje enzymów oraz
- Zmiany konformacji kwasów nukleinowych

pH = -lg H⁺ (np: pH 7,0= 10⁻⁷ mola H⁺/l)

Różnica wartości o pH = 1 oznacza 10-krotnie większą kwasowość lub zasadowość (jest to funkcja logarytmiczna).

Bakterie dzielimy na	Rozwój zachodzi w pH	Optymalny rozwój w pH
Alkalifile	7-11	9-10
Neutrofile	5-8,5	6,5-8
Acydofile	1-5,5	2,5-4

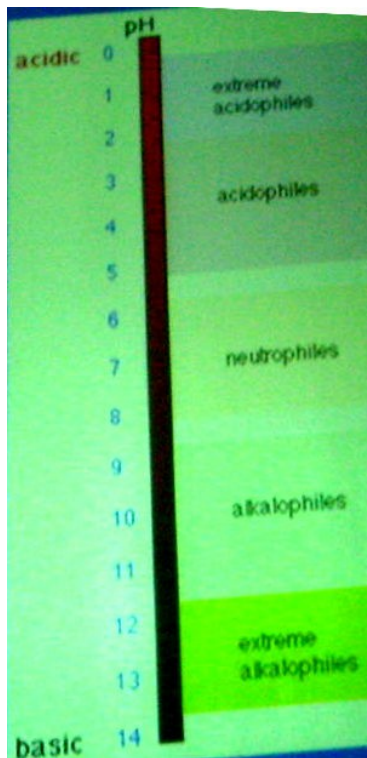
Alkalifile pH >9

Alkalofoby pH <8

Alkalobionty- tolerują środowisko zasadowe przez pewny okres

Alkalofilamia są

- 1- bakterie nityfikacyjne (*Nitrobacter* i *Nitrosomonas*), które rosną w pH=10 (optimum 7,6- 8,8)
 - 2- *Vibrio cholerae* – przecinkowiec cholery
 - 3- *Streptococcus pneumoniae* – przecinkowiec zapalenia płuc
- Archeony *Natronobacterium*, *Natronococcus* bytujące w sodowych jeziorach o pH 12 i barwiące je na czerwono
 - Archeony *Mathanohalophilus*, *Mathanobacterium*, *Thermococcus* – wyizolowane ze środowisk alkalicznych np. jezior sodowych, środowisk geotermalnych



Acidofile pH <4

Acidofoby pH >6

Acidobionty – tolerują środowisko kwaśne przez pewien okres

Acydofilem jest np.:

1. bakteria siarkowa *Acidithiobacillus thiooxidans*
 Utlenia S⁰ do H₂SO₄
 Rozwija się w pH = 1 (optimum 2 – 2,8) !!!
2. Bakteria *Alicyclobacillus* – bakteria termoacidofilna – rośnie w pasteryzowanych sokach owocowych optymalne pH 3,5 – 5 !!! Normalnie rewelacja
3. archeony *Sulfolobus*, *Thermoplasma* – hipertermofile gatunki występujące w wodach płynących przez złoża żelaza i siarki, wodach kopalnianych i glebach wulkanicznych
4. termofilne archeony *Picrophilus oshimae*, *Picrophilus torridus* Gatunki te rosną nawet w pH = 0, optymalny wzrost w pH=0,7
5. inne acydofile to np. bakterie utleniające związki żelaza *Leptospirillus ferrooxidans*

Acydofilne drożdże i grzyby i glony

1. do acydofili należą np: *Sacharomyces* – *Aspergillus*, - *Penicillium*
2. Opisano:
 - grzyby strzępkowe *Byssoschlamys* rozwijające się w pasteryzowanych sokach owocowych w pH <2
 - Drożdże *Candida davenporti* wyizolowane z napojów bezalkoholowych rosnące w pH 1,4
 - acydofilne grzyby *Trichosporon* rosnące w pH = 0
3. Opisano także acydofilne glony *Chlorella*, *Euglena*, *Chlamidomonas acidophila*, *Ulothrix zonata* występujące w eskremalnie kwasnych strumieniach i źródłach

Organizm	pH		
	minimalne	optymalne	maksymalne
<i>E. coli</i>	4,4	6-7	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	6,6-7	8
<i>Clostridium sporogenes</i>	5,5-5,8	6-7,6	8,5-9
<i>Nitrosomonas sp.</i>	7-7,6	8-8,8	9,4
<i>Nitrobacter sp.</i>	6,6	7,6-8,6	10
<i>Bacillus alcalophilus</i>	8,5	9,5	11,5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4	4,6-5,8	6,8
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	1	2-2,8	6
<i>Bacillus acidocaldarius</i>	2	3,5	6
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	1	2,5	4

Uwaga!! Większość środowisk naturalnych ma pH 5-9 i leży w zakresie pH (6,5–7) optymalnego dla większości mikroorganizmów

pH oddziałowuje bezpośrednio na:

- Dysocjację grup funkcjonalnych białek
- Aktywność enzymatyczną (biologicznie istotne enzymy wymagają stabilnego odczynu (pH ok. 7))

pH oddziałowuje pośrednio na:

- rozpuszczalność nieorganicznych soli np. węglanów, fosforanów
- dysocjacje kwasów i zasad
- specjację i biodostępność oraz toksyczność metali: Al., Cd, Co, Fe, Mo, Pb, Sn, Zn
- w środowiskach alkalicznych powstaje toksyczny amoniak NH_3
- w środowiskach kwaśnych powstaje toksyczny kwas octowy

Przystosowanie do pH polega na:

- Zmianie puli enzymatycznej komórki
- regulacji wewnątrz komórkowego pH

Kwaso i alkalofile utrzymują pH wewnątrzkomórkowe zbliżone do obojętnego

Potencjał Oksydo-redukcyjny (Eh)

$Pe = -\log [e^-]$, gdzie $[e^-]$ – stężenie elektronów

Wartość Eh (potencjału oksydoredukcyjnego) określa tendencje do:

1. oddawania elektronów (utleniania się) -> jednocześnie redukowany jest inny związek
2. przyjmowania elektronów (redukowania się) -> jednocześnie utleniany jest inny związek

Potencjał redoks Eh – oznaczany jest w voltach (V) lub milivoltach (mV)

Drobnoustroje zużywając tlen w procesach metabolicznych obniżają wartość potencjału oksydoredukcyjnego -> powstają warunki beztlenowe

Środowiska dobrze natlenione mają wysoką wartość Eh

Środowiska beztlenowe mają niską wartość Eh np. niskie Eh mają:

- osady i muły denne
- bagna i moczary
- podziemne wody
- źródła ropy naftowej
- przewód pokarmowy zwierząt

W ekologii granicą dzielącą warunki natlenione od zredukowanych

Jest wartość $E_7 = 0,2 \text{ V}$

Jest to potencjał określany do wartości $\text{pH} = 7$

$E_7 > 0,2 \text{ V}$ wskazuje na utlenienie środowiska

$E_7 < 0,2 \text{ V}$ wskazują na zredukowanie środowiska

Miarę potencjału redoks w środowisku może też stanowić stężenie jonów :

Fe^{3+} (dominują przez $E_h > 0,2 \text{ V}$)

Fe^{2+} (dominują przy $E_h < 0,2 \text{ V}$)

Na potencjał redoks wpływa

- pH zmiana pH p jedną jednostkę powoduje zmianę potencjału redoks o 58 mV
- Stężenie O_2 spadek stężenia tlenu ze 100% do 10% powoduje spadek potencjału redoks o 30 mV

Podział bakterii ze względu na zapotrzebowane na O₂

1. Tlenowe (aeroby) rozwijają się tylko w warunkach tlenowych Eh od + 0,2 do + 0,4 V.
Przy całkowitym wysyceniu tlenem (100% O₂) potencjał E₇ wynosi 0,5 V
2. Względne beztlenowce (mikroaerofile) rozwijają się na granicy Eh - .../+... V
3. Beztlenowe (anaeroby) rozwijają się przy braku O₂ Eh poniżej 0,2 V

Uwaga!! wtedy gdy Eh spadnie poniżej wartości (0,2 V),

- Niektóre beztlenowce (np. Bakterie redukujące siarczany) mogą rosnąć nawet w obecności tlenu!!
- Na inne nawet ślady O₂ działają silnie toksycznie (np. na archeony metanogenne)

Zależność rozwoju mikroorganizmów od tlenu

mikroorganizmy	Grupa środowiskowa		wymagania
	tlenowe	beztlenowe	
obligatoryjnie tlenowe	Rosną	Nie rosną	wymagają i wykorzystują do oddychania
mikroaerofile	Rosną	Nie rosną	wymagają O ₂ przy ciśnieniu < 0.2atm
Fakultatywne tlenowce (fakultatywne beztlenowce)	Rosną	Rosną	nie wymagają, ale wykorzystują jak jest
aerotolerancyjne beztlenowe	Rosną	Rosną	nie wykorzystują i nie wymagają
obligatoryjne beztlenowe	Nie rosną	Rosną	tlen działa toksycznie

Bezwzględne beztlenowce

Niemożność rozwoju przy wysokim potencjale oksydoredukcyjnym wynika z braku mechanizmów ochrony przez toksycznymi rodnikami np:

- Nadtlenek wodoru H₂O₂
- Rodnik hydroksylowy ⁰OH

Rodniki te powstają w wyniku działania światła (lub niektórych enzymów) na tlen.

Bezwzględne beztlenowce nie posiadają:

- Katalazy
- Peroksydazy
- Dysmutazy

Rozkładające toksyczne połączenia

Obrona przed agresywnym tlenem w czasie tzw. stresu tlenowego jedyne bakterie wytwarzają katalazę lub dysmutazę nadtlenkową, a inne nie mają takich zdolności

mikroorganizm	katalaza	dysmutaza
Tlenowce	+	+
Fakultatywne beztlenowce	+	+
Mikroaerofile	-	+
Obligatoryjne beztlenowce	-	-

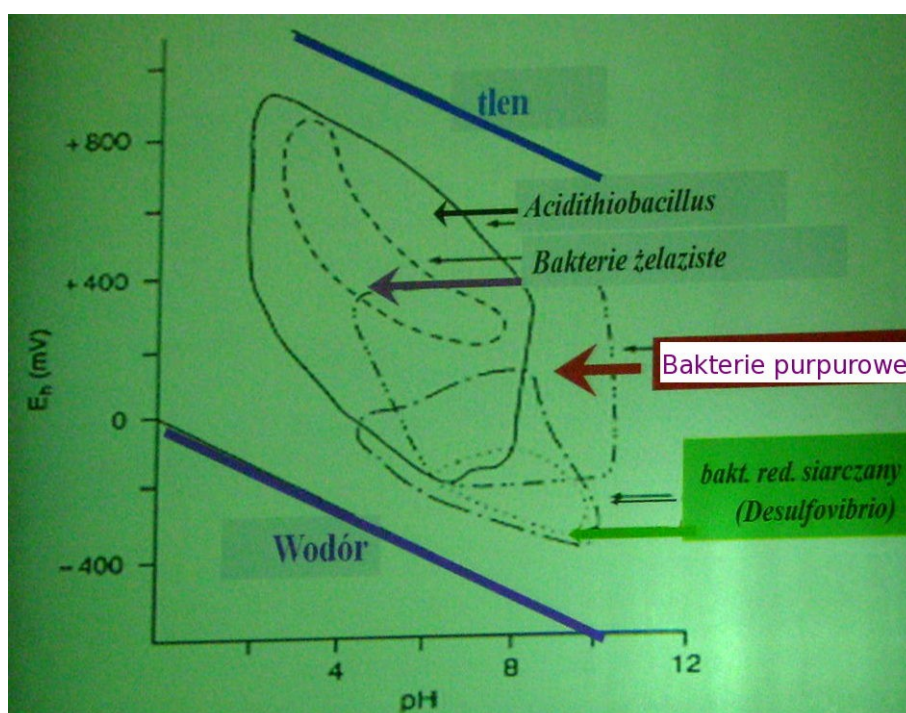
Bakterie beztlenowe np. bakterie żwacza czy Archaea nie są zdolne do syntezy katalazy czy dysmutazy- enzymów odpowiedzialnych za rozkład toksycznych nadtlenków (silne utleniacze) produkowanych w procesie oddychania tlenowego, dlatego giną od śladowych ilości tlenu

Głębokość a potencjał redoks w środowisku wodnym

Głębokość



Eh > + 300 mV	Bezwzględne tlenowce: <ul style="list-style-type: none"> wiele bakterii grzybów strzępkowych bakterie nitryfikacyjne <i>Acidithiobacillus</i>
Od +300 do +100 mV	Fakultatywne tlenowce <ul style="list-style-type: none"> bakterie denitryfikacyjne bakterie redukujące Mn⁴⁺
Od +100 do -100 mV	BEZTLENOWCE: Np. bakterie żelaziste
Od -100 do -200 mV	Np. bakterie redukujące siarczany
Eh < (-) 200 mV	Np. archeony metanogenne



Zakres pH i Eh w zbiornikach wodnych odpowiedni dla niektórych grup bakterii

Kationy i aniony

1. W przyrodzie **rzadko** występują **zbyt duże stężenie soli**.
Jednak w ściekach przemysłowych, w wodach kopalnianych jest to zjawisko częste
2. Sole mineralne **w małym** stężeniu **stymulują** wzrost mikroorganizmów a **w dużym są toksyczne**
3. Kationy **dwuwartościowe** są bardziej **toksyczne** niż jednowartościowe
4. Sole metali **ciężkich** są bardziej **toksyczne** niż lekkich
5. Sole z kationami należącymi do grupy **drugiej** są bardziej toksyczne niż **pierwszej**

Grupa	Zahamowania wzrostu <i>E. coli</i> przy stężeniu
1: K, Na, Li, Sr, Mg, Ca, Ba, Mn, Sn	0,05-2 M
2: Ni, Ti, Zn, C, Fe, Co, Pb, Al., Ce, Cd, Hg	0,00001 – 0,001 M

Aniony

Toksyczność anionów wzrasta w następującym kierunku:

$SO_4 < Cl < NO_3 < SO_3 < Fe(CN) < octan < J < H_2PO_4 < benzoesany < CrO_4 < NO_2 < F < salicylany < Cr_2O_7 < TeO_3$

Salicylany i benzoesany są bardziej toksyczne niż siarczany, chlorki i azotany.

Związki mineralne

1. Pierwiastki budulcowe:

- C (47% - 48% w suchej masie)
- O (30-31 % w suchej masie)
- H (6,5 % w suchej masie)
- N (8 -10% w suchej masie)
- oraz P, S, Ca, Mg, K, Fe, Si

2. Mikroelementy: np. bor, mangan, molibden, miedź, brom, fluor, jod, glin, cynk

3. Wymagane jony:

- Fe^{2+} - b. żelaziste
- Fe^{3+} - b. żelazowe
- NO_3^- - b. denitryfikacyjne
- S^{2-} - b. utleniające zw. siarki
- SO_4^{2-} - b. redukujące siarczany
- CO_2 – archeony metanogenne

W zbiornikach wodnych zawsze w nadmiarze występują Mg, Ca, K, Na, S, Cl

Pozostałe pierwiastki mogą występować w stężeniach limitujących wzrost

Optymalna proporcja między węglem, azotem i fosforem dla bakterii wynosi około

C:N:P=100:10:1

Związki azotowe

Związki azotowe występują w formie:

1. Wolnego azotu N_2
2. Związków nieorganicznych (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-)
3. Związków organicznych (naturalnych lub zanieczyszczeń)

Wody deszczowe zawierają: 0,3-0,4 mg N- NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- /l

Wody mg/l	N- NH_4^+	N- NO_2^-	N- NO_3^-	N-org
Czyste	0,1	>0,01	~5	do 0,5
zanieczyszczone	1-3 (..10)	0,2-2	~20	>0,5

Zasoby azotowe wód określa tzw. **Azot ogólny**:

- Nieorganiczne zw. azotu
- Organiczne zw. azotu (rozpuszczalne lub koloidalne)
- Azot związany w organizmach żywych

Wartość graniczna azotu powyżej której występują **zakwity glonów 0,3 mg N/l**

Związki fosforu

1. Związki fosforu występują w bardzo małych stężeniach często - 0,01 mg PO_4 /l
2. Zawartość fosforu całkowitego w wodach wynosi 0,022-4,64 mg PO_4 /l
3. Związki fosforu występują w postaci:
 - Związków mineralnych
 - Związków organicznych

4. Stężenie fosforanów rośnie w pionowym profilu jezior wraz z głębokością np.:
Powierzchnia 0,04

↓
Osady denne 1,00 mg PO₄/l

Związki organiczne:

1. Allochtoniczne napływowe dostające się wraz ze ściekami, nawozami, pestycydami stanowią nawet do 30-75% związków organicznych w zbiornikach
2. Związki organiczne naturalne
 - związki humusowe
 - kwasy humusowe (ciemnobrązowe)
 - fulwokwasy (jasnożółte)
 - produkty metabolizmu organizmów wodnych
 - produkty rozkładu resztek zwierzęcych i roślinnych

Rozpuszczalna materia organiczna (DOM) często limituje rozwój bakterii

Produktywność w wodach świadczy ich trofii

Trofia	mg C/m ² /doba
Ultra-oligotroficzne	<50
Oligotroficzne	20-300
Mezotroficzne	250-1000
Eutroficzne	>1000
Hipertroficzne	>5000

μ_{max}, K_s, K_i

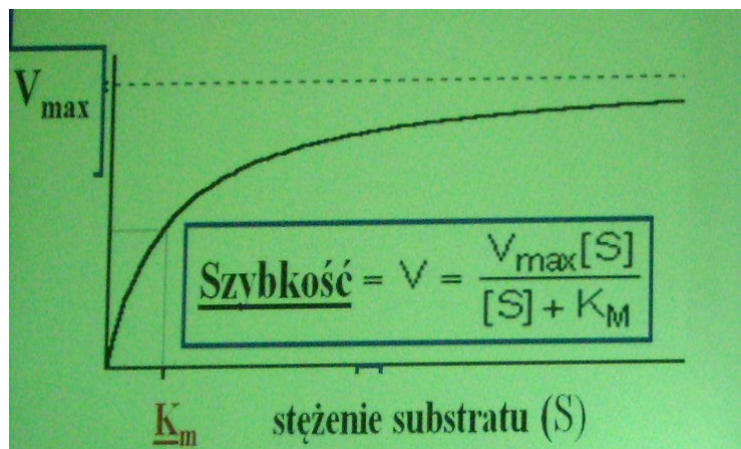
Czynniki wpływające na zwycięstwo mikroorganizmów we współzawodnictwie to:

1. **Właściwa szybkość wzrostu (μ_{max})** – miara szybkości wzrostu
2. **Stała nasycenia substratem (K_s)** – miara powinowactwa bakterii do substratu: niskie K_s – oznacza duże powinowactwo do substratu
3. **Stała inhibicji (K_i)** – miara tolerancji na inhibujące działanie substratu

Stała Michaeli Menten

Szybkość procesu enzymatycznego zależy od łatwości, tworzenia kompleksu enzymów z substratem.

Zależność tę przedstawia różniczenie matematyczne Michaelisa-Menten, zawierające charakterystyczna dla danego enzymu tzw. stałą Michaelis’a (K_m)

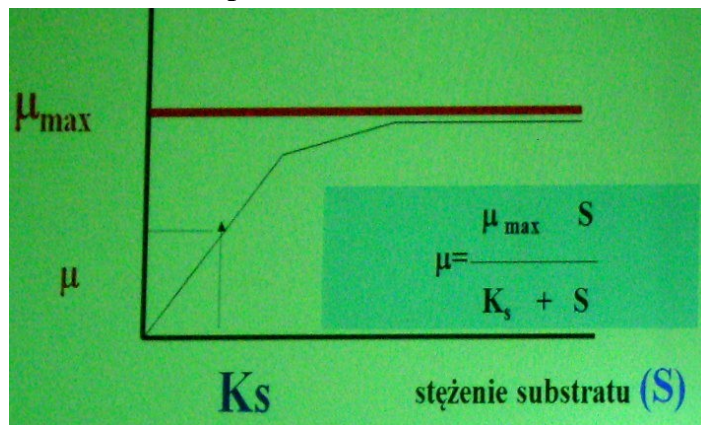


Równanie Michaelisa-Menten

Standardowy Wykres

Stałą Michaelis’a (K_m) określa stężenie substratu przy którym szybkość reakcji enzymatycznej (V) jest równa **połowicie** szybkości maksymalnej osiągniętej przy wysyceniu enzymy substratem i niezależnej już od dalszego wzrostu jego stężenia

Model Monoda pochodna równania Michaeli i Menten



Kolejny superwykres ☺

Stała nasycenia substratem K_s wyraża stężenie substratu przy $\frac{1}{2}$ maksymalnej szybkości wzrostu (μ_{max}) jest ona miarą powinowactwa bakterii do substratu.

Niskie wartości K_s wskazują wysokie powinowactwo do substratów pokarmowych

Ze wzoru Monoda wynika, że gdy:

1. Substraty (S) znajdują się w nadmiarze to:
 - selekcja mikroorganizmów oparta jest o maksymalną szybkość wzrostu (μ_{max}) = zwyciężają mikroorganizmy o wysokich szybkości wzrostu
 - Mikroorganizmy te cechuje niska specyficzność substratowa (wysokie K_s)
 2. Substraty występują w stężeniach limitujących to:
 - selekcja mikroorganizmów oparta jest na zdolności wykorzystywania niskich stężeń substratów
Mikroorganizm cechuje wysoka specyficzność substratowa (niskie K_s)
 - Mikroorganizmy cechują niskie wartości (μ_{max})
- ❖ Kiedy ma miejsce zjawisko współzawodnictwa substancje pokarmowe
Gatunki z niskim wartościami K_s wypierają gatunki o wysokich wartościach K_s
- ❖ Uwaga Maksymalna szybkość wzrostu (μ_{max}) nie jest zależna od substratów pokarmowych, ale jest charakterystyczną determinantą organizmu