

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

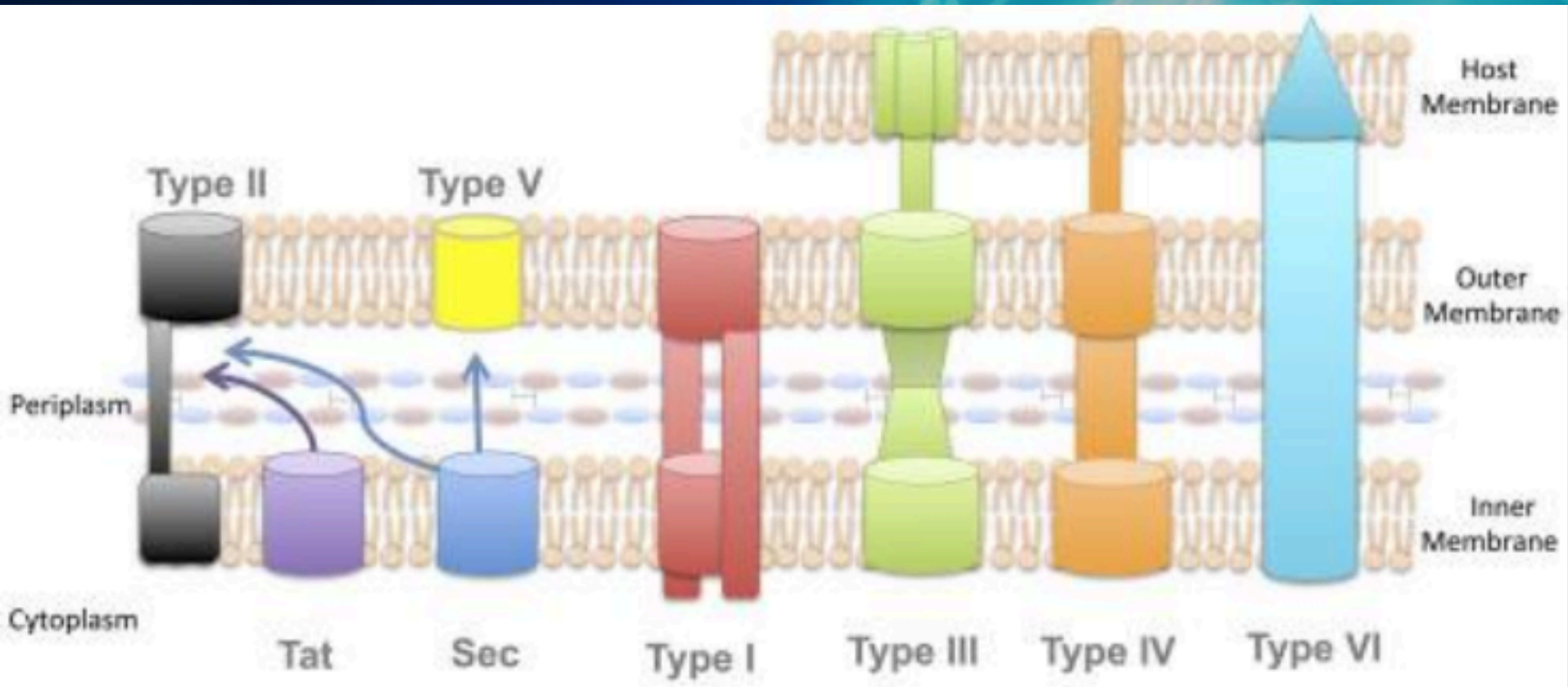
Γιώργος Τσιάμης

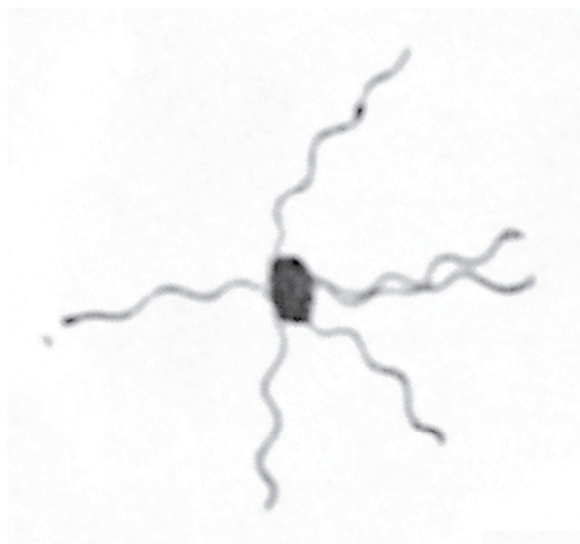
Αναπληρωτής Καθηγητής

Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας

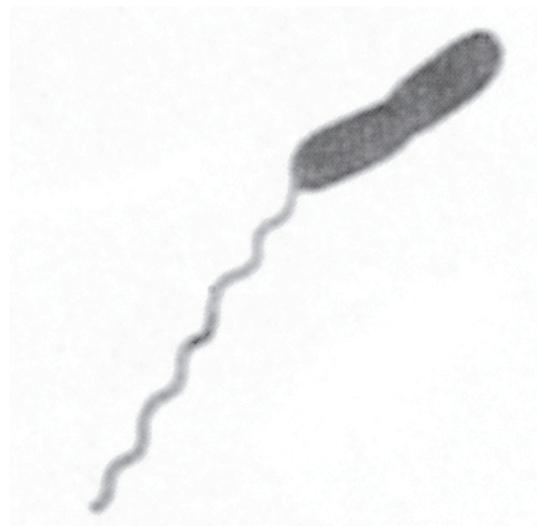
Classes of bacterial protein secretion systems

Secretion Apparatus	Secretion Signal	Steps in Secretion	Folded Substrates?	Number of Membranes	Gram (+) or Gram (-)
Sec	N-terminus	1	No	1	Both
Tat	N-terminus	1	Yes	1	Both
T1SS	C-terminus	1	No	2	Gram (-)
T2SS	N-terminus	2	Yes	1	Gram (-)
T3SS	N-terminus	1-2	No	2-3	Gram (-)
T4SS	C-terminus	1	No	2-3	Gram (-)
T5SS	N-terminus	2	No	1	Gram (-)
T6SS	No known secretion signal	1	Unknown	2-3	Gram (-)
SecA2	N-terminus	1	No	1	Gram (+)
Sortase	N-terminus (Sec) C-terminus (cws)	2	Yes	1	Gram (+)
Injectosome	N-terminus	2	Yes	1	Gram (+)
T7SS	C-terminus	1	Yes	1-3	Gram (+)





(α)



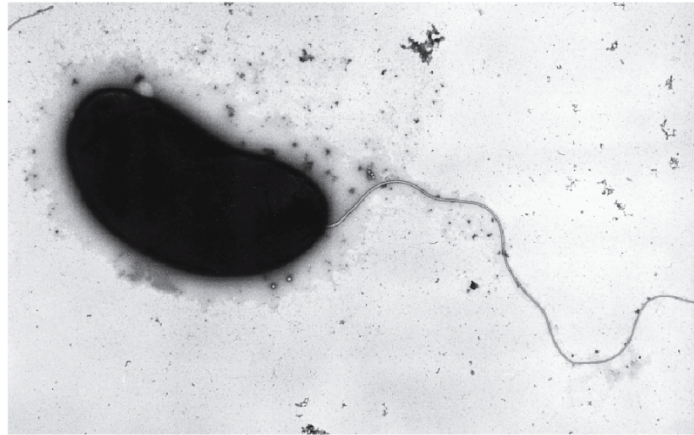
(β)



(γ)

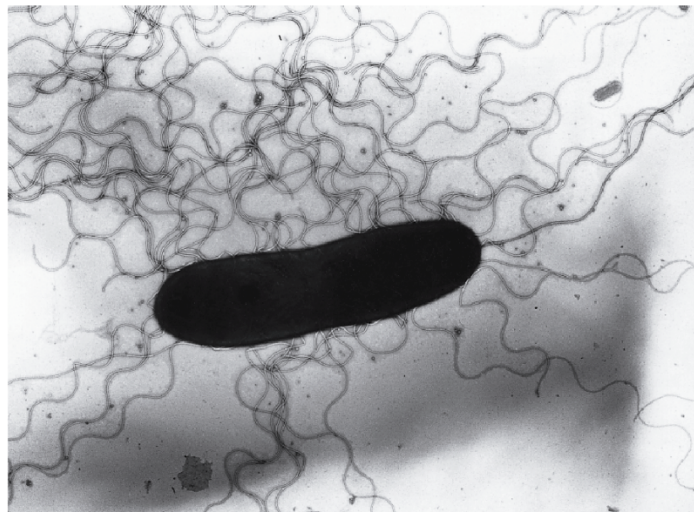
E. Leifson

Εικόνα 4.38 Μικροφωτογραφίες βακτηρίων με διάφορες διατάξεις μαστιγίων. Τα κύτταρα είναι χρωσμένα με ειδική χρωστική (Leifson flagella stain). (α) Περίτριχος τύπος. (β) Πολικός τύπος. (γ) Λοφιότριχος τύπος.



Carl E. Bauer

(a)

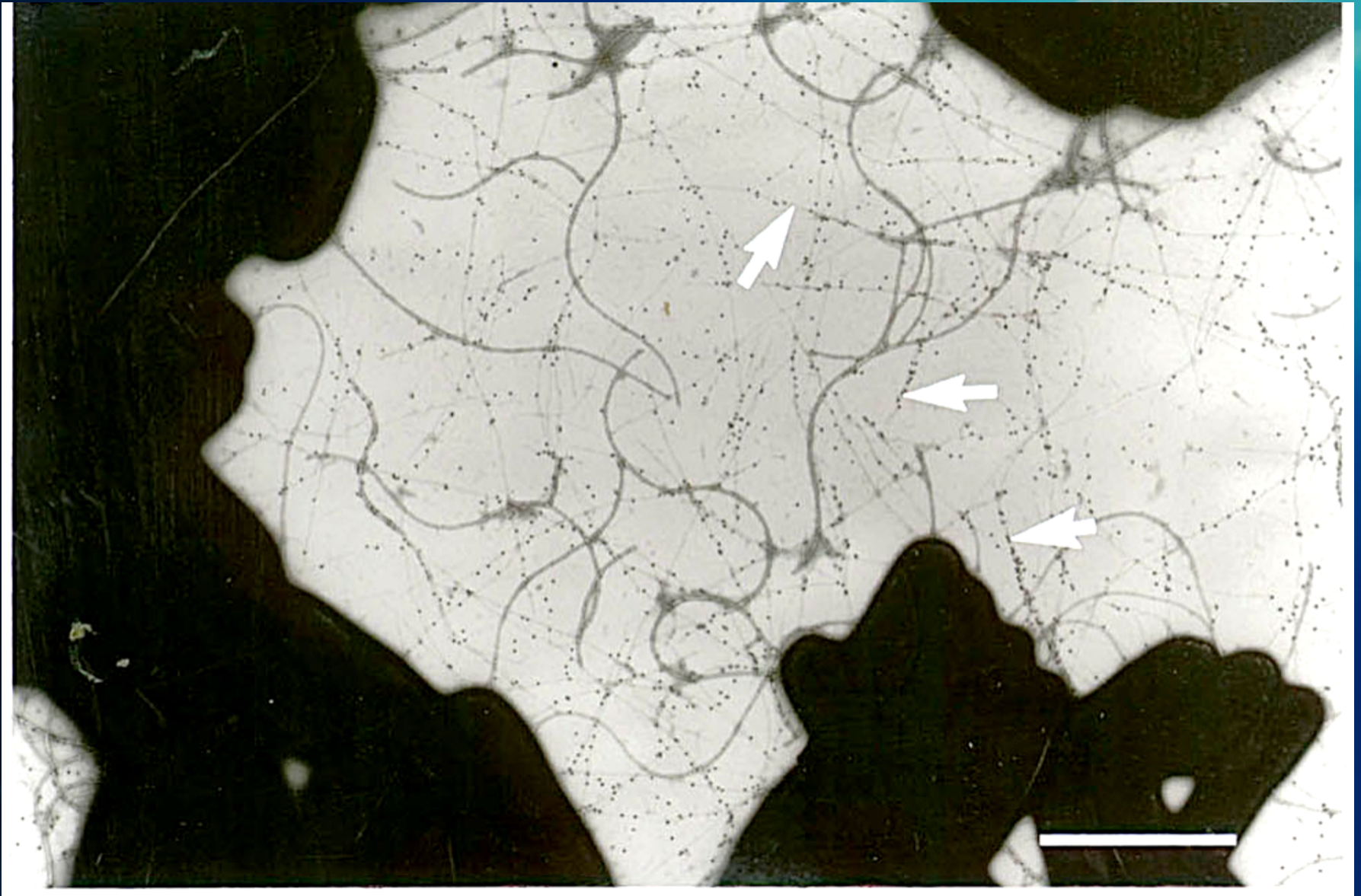


Carl E. Bauer

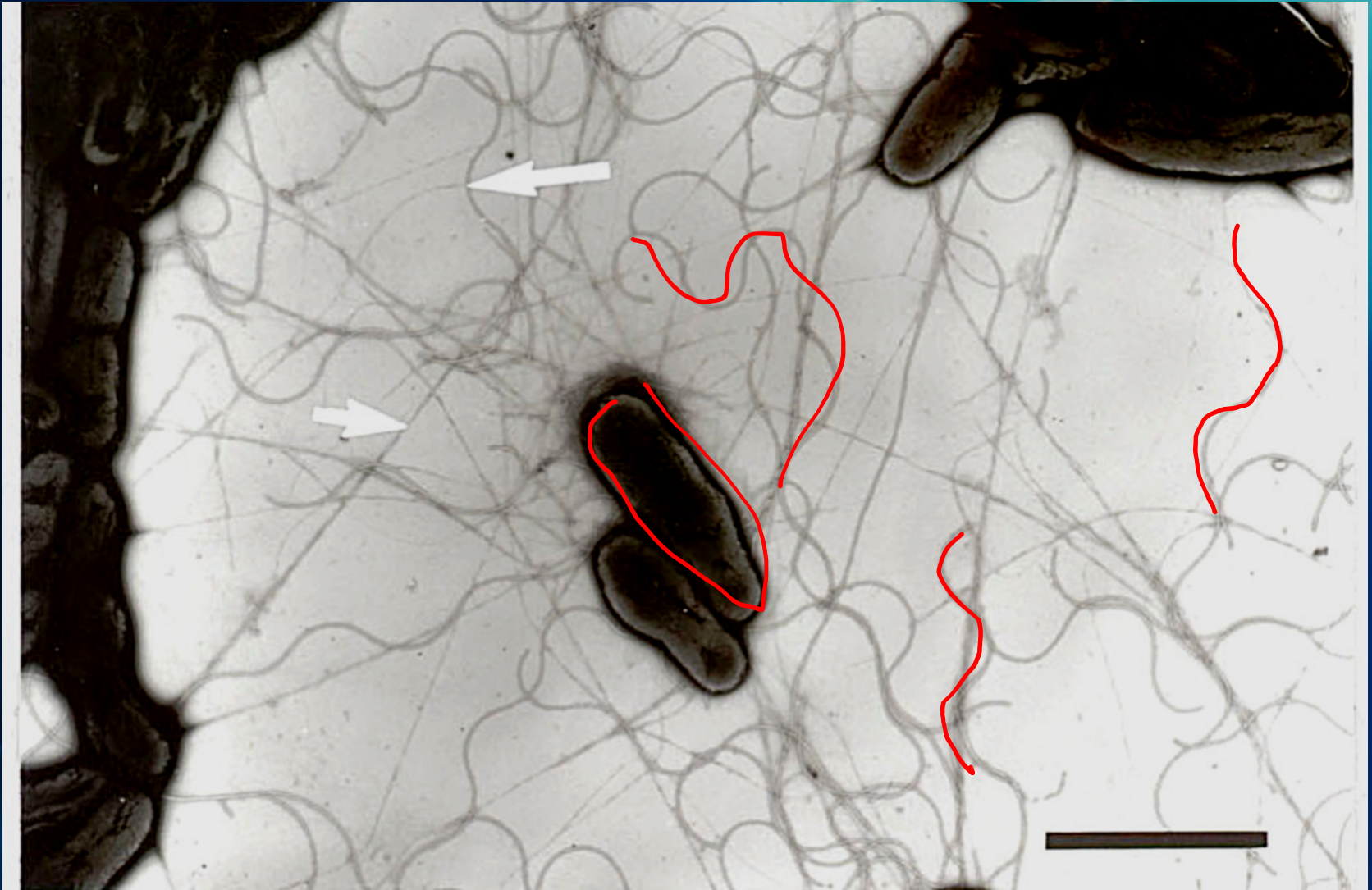
(β)

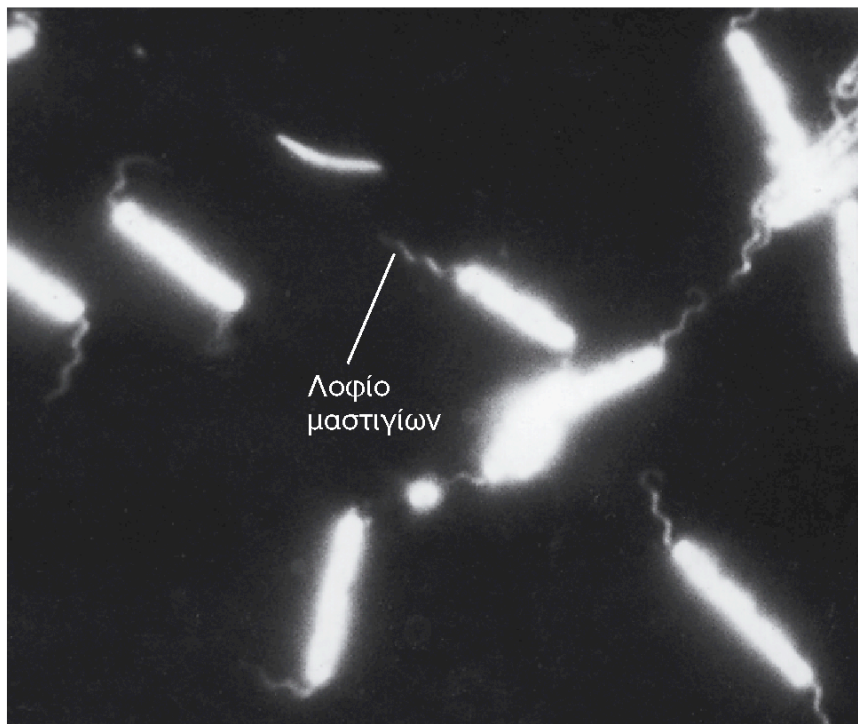
Εικόνα 4.39 Βακτηριακά μαστίγια παρατηρούμενα με αρνητική χρώση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης. (α) Πολικά μαστίγια. (β) Περιρίτριο μαστίγια. Και τα δύο είναι μικρογραφήματα από κύτταρα του φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum centenum*. Κανονικά, τα κύτταρα του *R. centenum* έχουν πολική μαστιγοφορία (α), αλλά υπό ορισμένες συνθήκες αύξησης μπορεί να σχηματίζουν περιρίτριο τύπο μαστιγοφορίας (β). Βλ. επίσης Εικόνα 4.48β.

The Hrp pilus (arrows) is strongly labelled with antibodies to HrpA



Flagella and straight appendages produced by a HrpA mutant





R. Jarosch

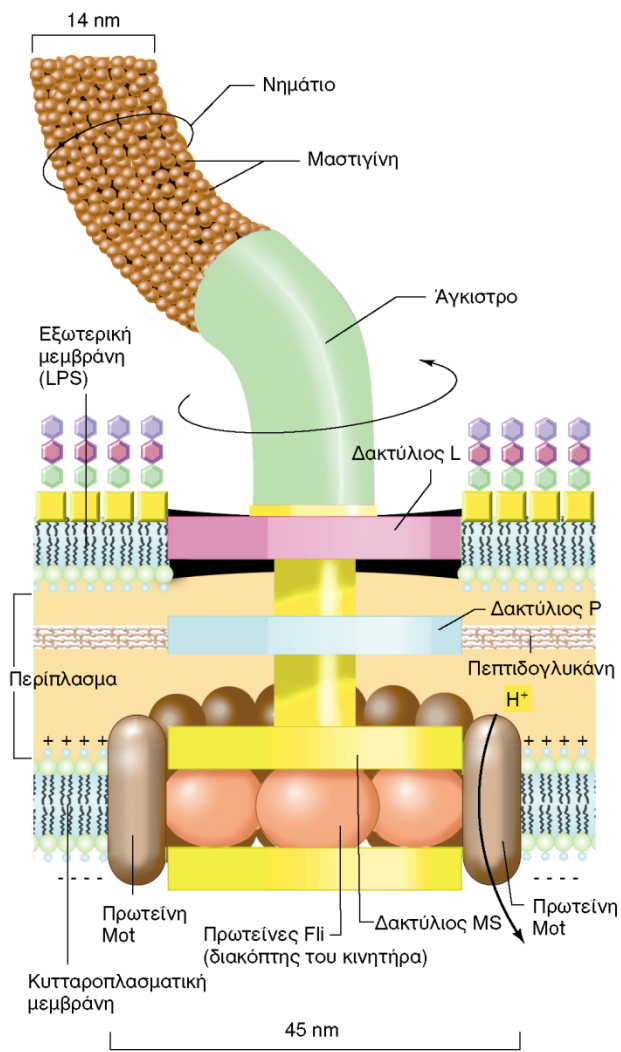
(a)



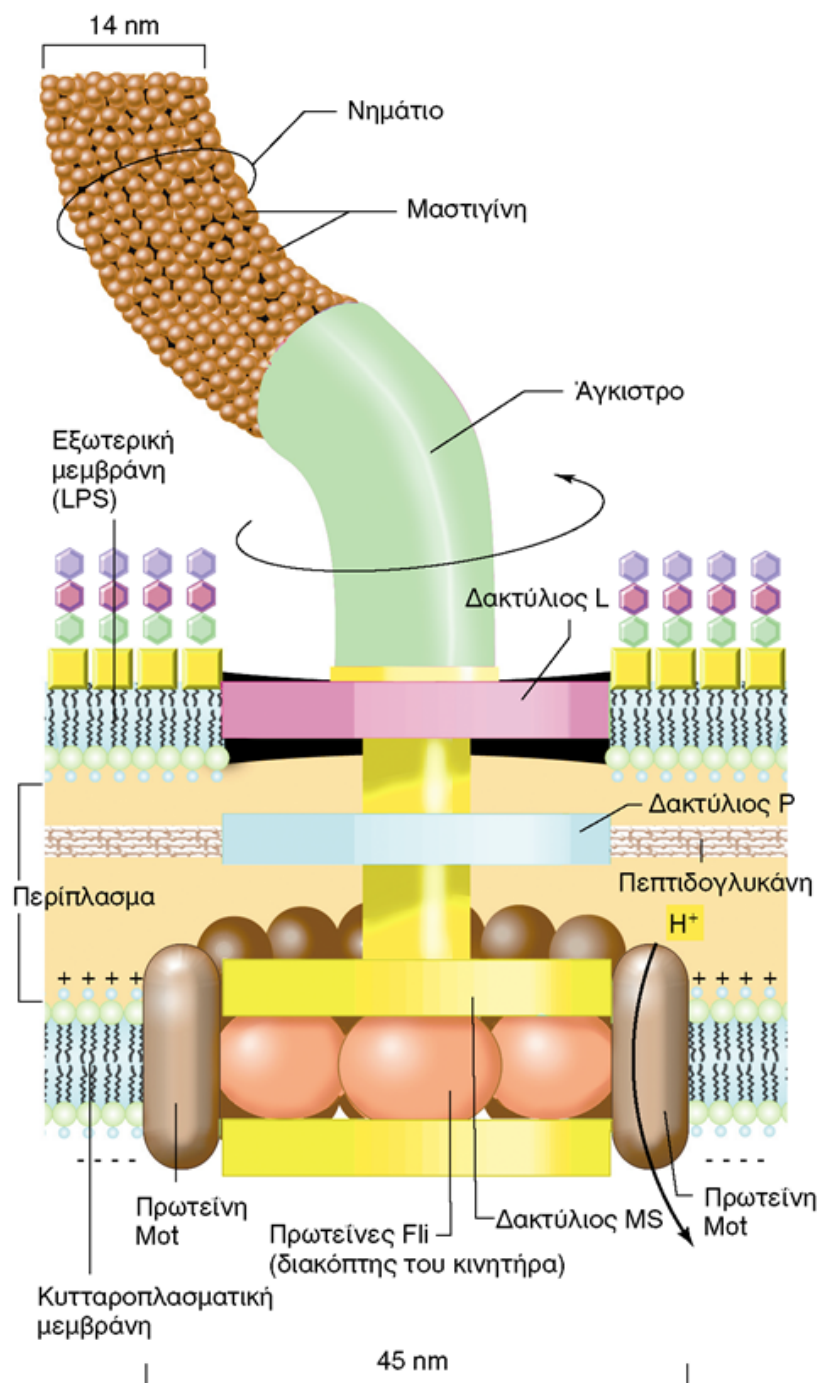
Norbert Pfennig

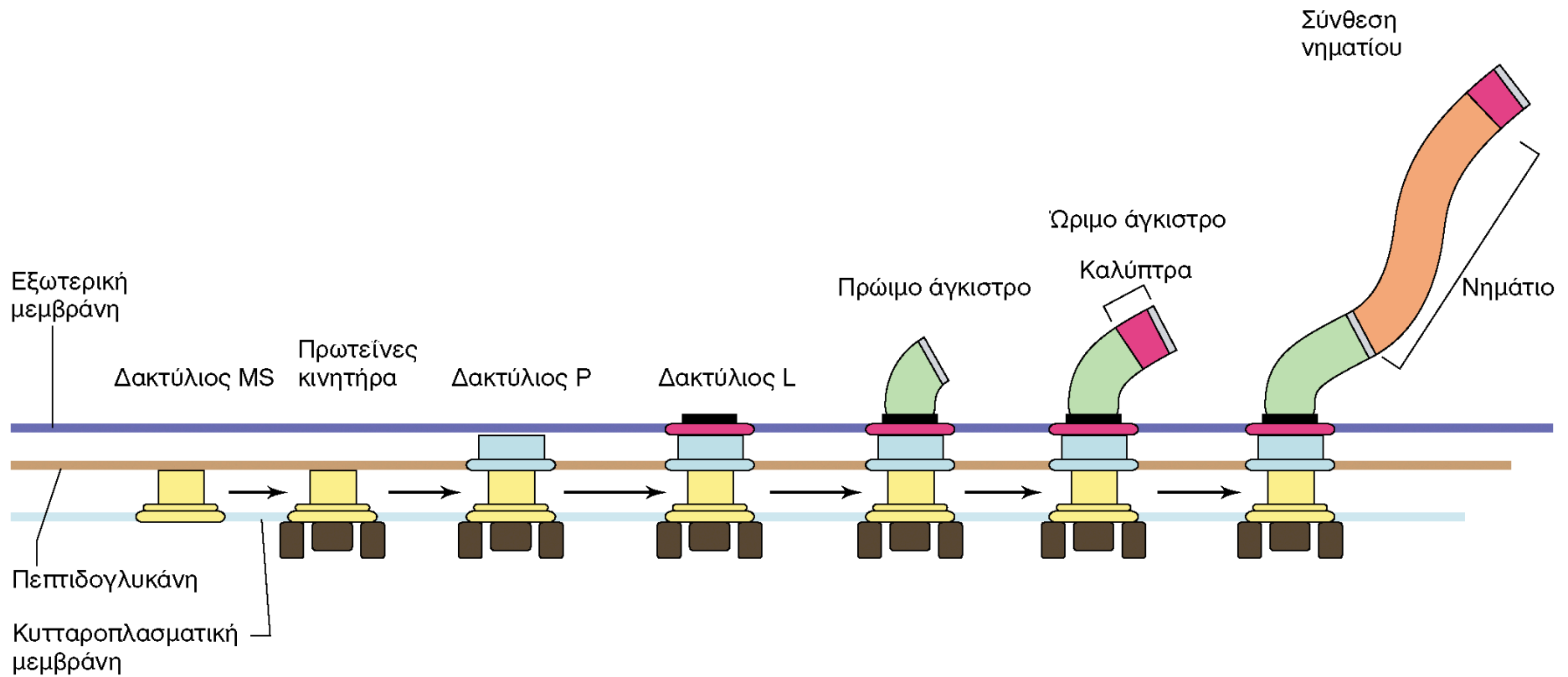
(β)

Εικόνα 4.40 Βακτηριακά μαστίγια, παρατηρούμενα σε ζώντα κύτταρα. (α) Μικροφωτογραφία σκοτεινού πεδίου μιας ομάδας μεγάλων, ραβδόσχημων βακτηρίων με λοφία μαστιγίων σε κάθε πόλο. Πλάτος κάθε κυττάρου: περί τα 2 μm . Η μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου χρησιμοποιεί οριζόντιο φωτισμό για να παράγει ανακλώμενο φως (βλ. Τμήμα 4.1 και Εικόνα 4.5γ). (β) Μικροφωτογραφία αντίθεσης φάσεων του μεγάλου πορφυρού φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum photometricum*. Διαστάσεις κάθε κυττάρου: 3 \times 30 μm . Παρατηρήστε τα λοφιότριχα μαστίγια που προεξέχουν από τον έναν πόλο.



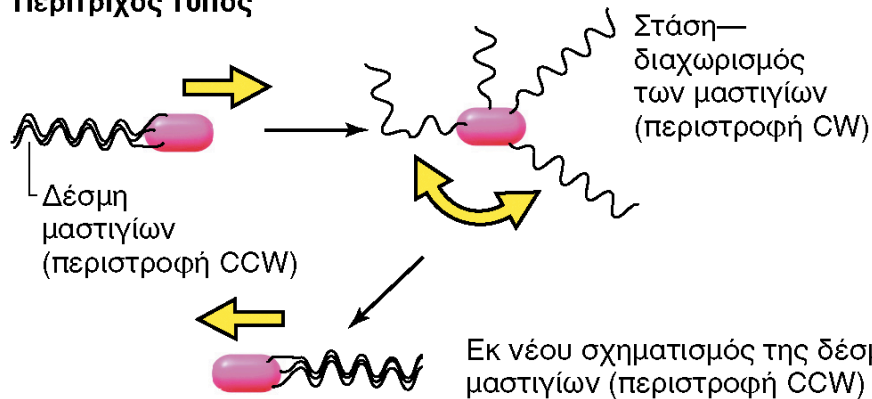
Εικόνα 4.41 Δομή του προκαρυωτικού μαστιγίου και σύνδεσή του με το κυτταρικό τοίχωμα και τη μεμβράνη των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Ο δακτύλιος L είναι ενσωματωμένος στη σπινθήρα του LPS και ο δακτύλιος P στην πεπτιδογλυκάνη. Ο δακτύλιος MS είναι ενσωματωμένος στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Στο νημάτιο υπάρχει μια στενή διόδος (κανάλι) μέσω της οποίας διαχέονται τα μόρια μαστιγίνης για να φθάσουν στη θέση όπου γίνεται η σύνθεση του μαστιγίου. Οι πρωτεΐνες Mot λειτουργούν ως κινητήρας του μαστιγίου, ενώ οι πρωτεΐνες Fli λειτουργούν ως διακόπτης του κινητήρα. Περιστρέφοντας το νημάτιο του μαστιγίου, ο κινητήρας ωθεί το κύτταρο στο εσωτερικό του θρεπτικού του μέσου.



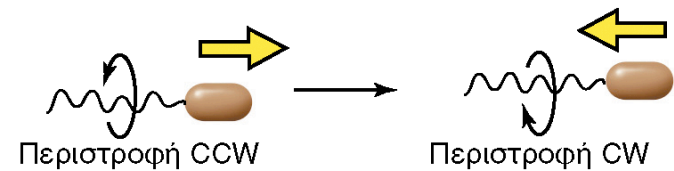


Εικόνα 4.42 Σύνοψη των σταδίων βιοσύνθεσης των μαστιγίων. Η σύνθεση εκκινεί με τη συγκρότηση του δακτυλίου MS στη μεμβράνη και συνεχίζεται με τον σχηματισμό των άλλων δακτυλίων, του άγκιστρου και της καλύπτρας. Στο σημείο αυτό, μόρια μαστιγίνης αρχίζουν να διαχέονται μέσω του άγκιστρου, για να σχηματίσουν το νημάτιο (απαιτούνται περί τα 20.000 μόρια μαστιγίνης ανά νημάτιο). Για να διασφαλισθεί η ομοιόμορφη ανάπτυξη του νηματίου, τα μόρια μαστιγίνης καθοδηγούνται στην ορθή τελική θέση τους από πρωτεΐνες της καλύπτρας.

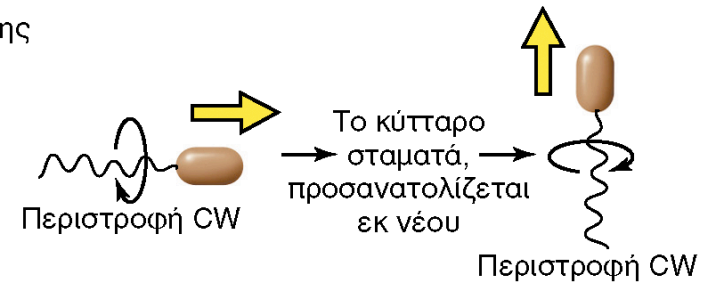
(α) Περίτριχος τύπος



(β) Πολικός τύπος: αντιστρέψιμα μαστίγια

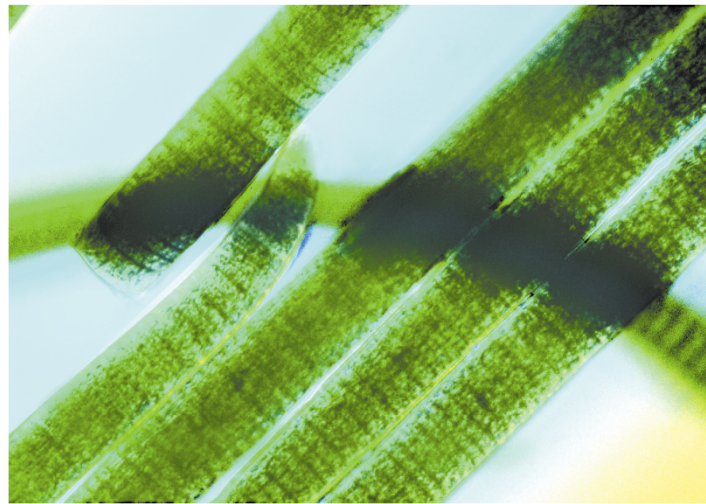


Πολικός τύπος: μαστίγια μονής κατεύθυνσης



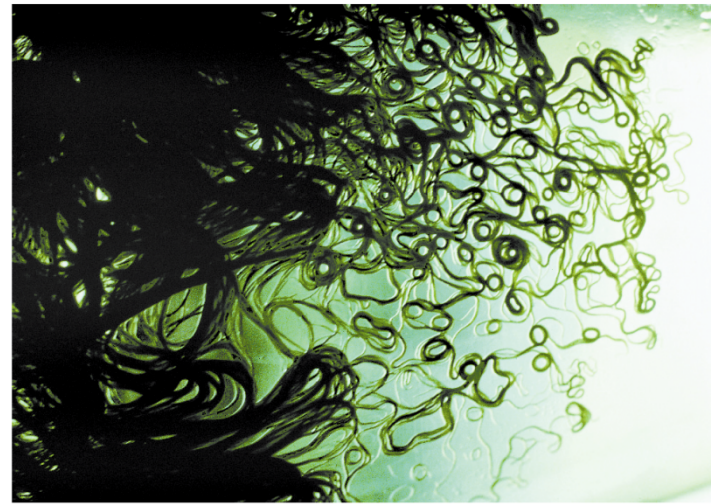
Εικόνα 4.43

Τρόπος μετακίνησης σε προκαρυώτες με περίτριχη (α) και πολική (β) μαστιγοφορία. (α) Περίτριχος τύπος: Κίνηση προς τα εμπρός προσδίδεται με την ταυτόχρονη περιστροφή όλων των μαστιγίων, εν είδει δέσμης, αριστερόστροφα (counterclockwise, CCW). Η δεξιόστροφη περιστροφή (clockwise, CW) προκαλεί στάση του κυττάρου, ενώ επιστροφή κατά την αντίθετη φορά (CCW) οδηγεί το κύτταρο προς μια νέα κατεύθυνση. (β) Πολικός τύπος: Τα κύτταρα αλλάζουν κατεύθυνση αντιστρέφοντας την περιστροφή των μαστιγίων τους (ώστε να σύρουν, αντί να ωθούν το κύτταρο) ή, προκειμένου περί μαστιγίων μονής κατεύθυνσης, σταματώντας κατά περιόδους για να προσανατολισθούν εκ νέου και εν συνεχεία προχωρώντας προς τα εμπρός με δεξιόστροφη περιστροφή των μαστιγίων τους (CW). Η κατεύθυνση κίνησης υποδηλώνεται με κίτρινα βέλη.



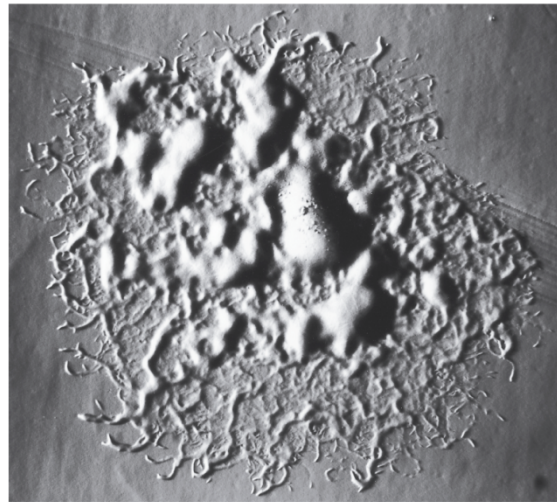
Richard W. Castenholz

(α)



Richard W. Castenholz

(β)



Mark J. McBride

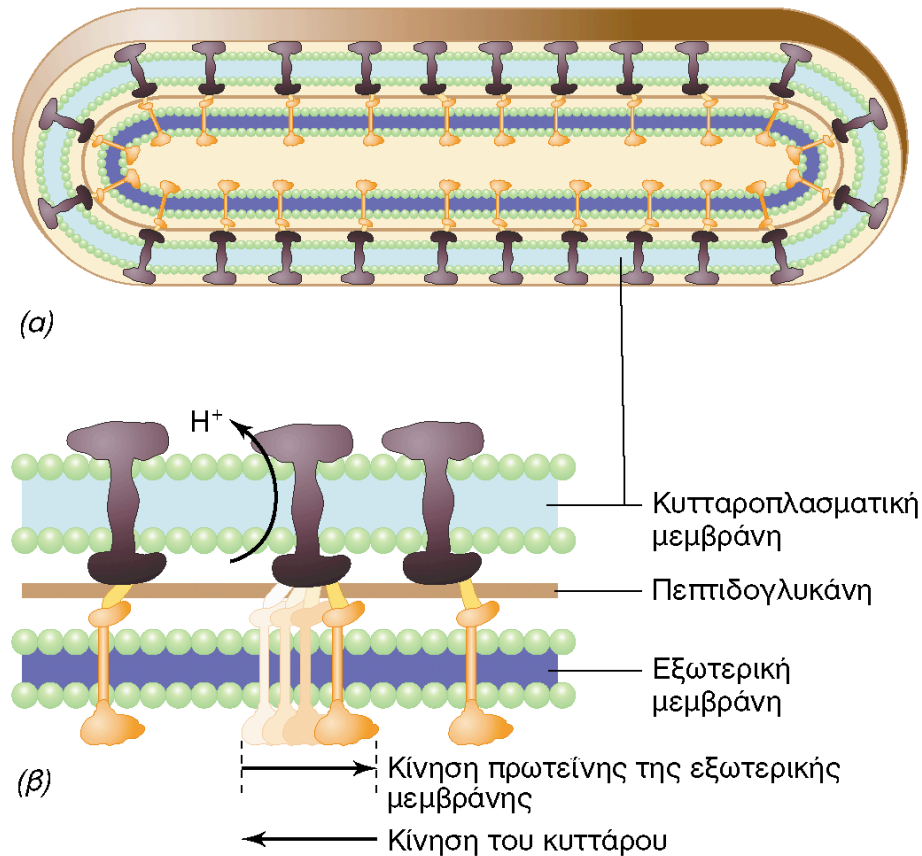
(γ)



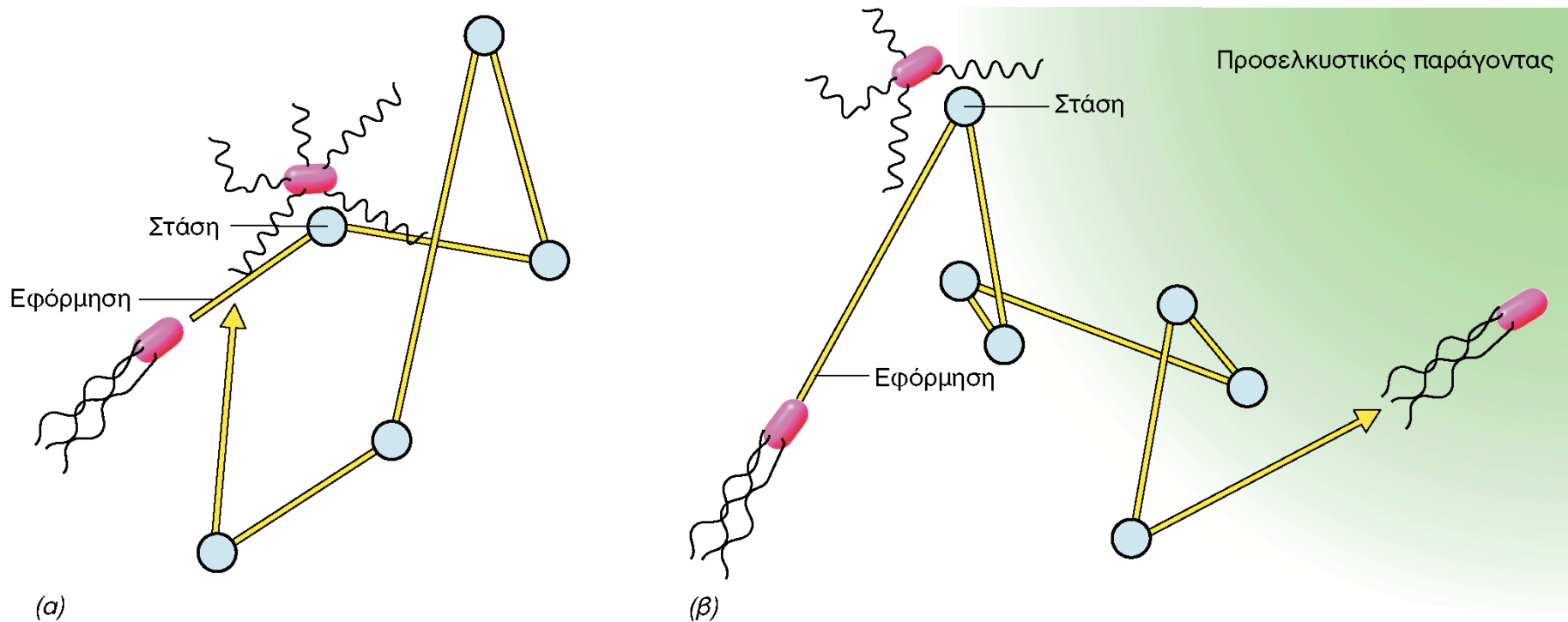
Mark J. McBride

(δ)

Εικόνα 4.44 Ολισθητικά Βακτήρια. (α, β) Το μεγάλο νηματοειδές κυανοβακτήριο *Oscillatoria princeps*. (α) Μικροφωτογραφία. Πλάτος κυττάρου: περί τα 35 μm. (β) Φωτογραφία νηματίων που ολισθαίνουν πάνω σε επιφάνεια από άγαρ. Τα κύτταρα μπορούν να κινούνται ολισθαίνοντας πάνω στη στερεή επιφάνεια, αλλά και ένα νημάτιο μπορεί να ολισθαίνει χρησιμοποιώντας ένα άλλο νημάτιο ως στερεή επιφάνεια. (γ, δ) Το αρνητικό κατά Gram ολισθητικό βακτήριο *Flavobacterium johnsoniae*. (γ) Μάζες κυττάρων που ολισθαίνουν απομακρυνόμενες από το κέντρο της αποικίας (πλάτος αποικίας: περί τα 2,7 mm). (δ) Μεταλλαγμένο στέλεχος που στερεΐται της ολισθητικής ικανότητας και εμφανίζει τυπική μορφολογία αποικιών μη ολισθητικών βακτηρίων (διάμετρος αποικιών: 0,7-1 mm). Σχετικά με τον προτεινόμενο μηχανισμό ολίσησης του *F. johnsoniae*, βλ. Εικόνα 4.45.

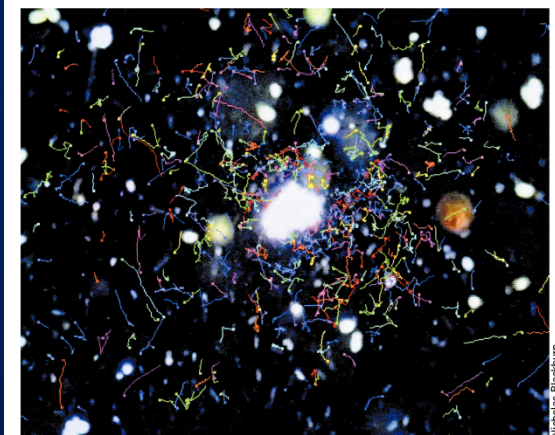
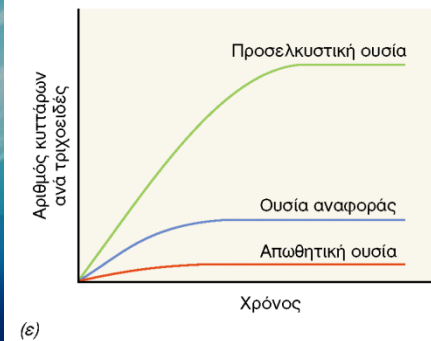
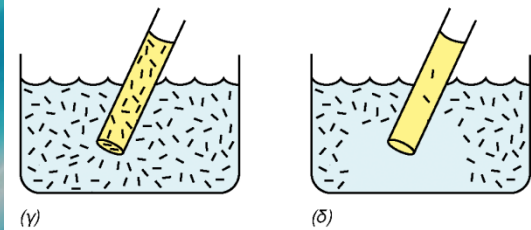
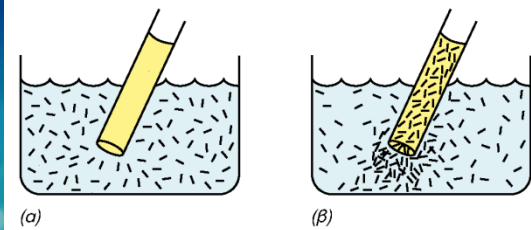


Εικόνα 4.45 Προτεινόμενο μοντέλο ολισθητικής κίνησης του *Flavobacterium johnsoniae* και ορισμένων άλλων ολισθητικών βακτηρίων (ευγενική προσφορά του Dr. Mark J. McBride). (a) Τομή αρνητικού κατά Gram κυττάρου που δείχνει ειδικές πρωτεΐνες ολίσθησης στην κυτταροπλασματική και στην εξωτερική μεμβράνη. (b) Λεπτομερής απεικόνιση μέρους της εικόνας (a). Θεωρείται ότι η πεπτιδογλυκάνη σχηματίζει διαδρόμους (κίτρινο χρώμα) που συνδέουν πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος (καφέ χρώμα) με πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης (πορτοκαλί χρώμα), ώστε να επιτευχθεί η προώθηση των εξωτερικών πρωτεϊνών κατά μήκος του στερεού υποστρώματος. Παρατηρήστε ότι η κατεύθυνση κίνησης του κυττάρου είναι αντίθετη από εκείνη των πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης.

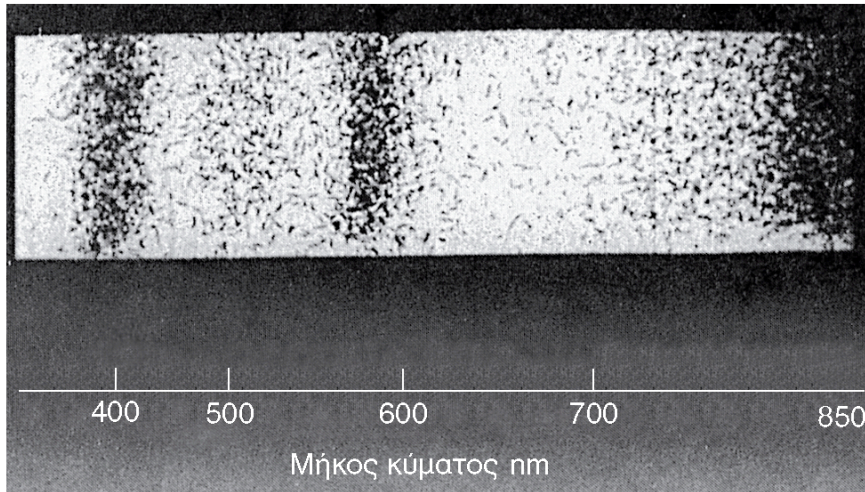


Εικόνα 4.46 Χημειοτακτισμός σε ένα περίτριχο βακτήριο του τύπου της *Escherichia coli*. (α) Απουσία χημειοτακτικού παράγοντα, το κύτταρο κολυμπά χωρίς προσανατολισμό, αλλάζοντας κατεύθυνση μετά από κάθε στάση. (β) Παρουσία προσελκυστικής χημικής ουσίας, οι εφορμήσεις του κυττάρου αποκτούν προσανατολισμό και το κύτταρο κινείται προς την περιοχή αυξανόμενης διαβάθμισης συγκέντρωσης του προσελκυστικού παράγοντα.

Εικόνα 4.47 Χημειοτακτισμός. (α-ε) Τεχνικές μέτρησης του χημειοτακτισμού στα βακτήρια. (α) Εισαγωγή ενός τριχοειδούς σε εναιώρημα κυττάρων. Καθώς εισάγεται το τριχοειδές, αρχίζει ο σχηματισμός διαβάθμισης συγκέντρωσης. (β) Συνάθροιση βακτηρίων στο εσωτερικό τριχοειδούς που περιέχει προσελκυστική ουσία. (γ) Τριχοειδές αναφοράς με διάλυμα άλατος που δεν αποτελεί χημειοτακτικό παράγοντα. Οι συγκεντρώσεις κυττάρων εσωτερικά και εξωτερικά του τριχοειδούς εξισορροπούνται. (δ) Απώθηση βακτηρίων από απωθητικό παράγοντα. (ε) Καμπύλη χρονικής προόδου που δείχνει τη συνάρτηση μεταξύ αριθμού κυττάρων στο τριχοειδές και χρόνου. (στ) Διαδρομές θαλάσσιων, αυτοκινούμενων βακτηρίων που συναθροίζονται γύρω από κύτταρο φύκος (μεγάλη, λευκή κηλίδα στο κέντρο): η εικόνα έχει ληφθεί με συσκευή μαγνητοσκόπησης προσαρμοσμένη σε μικροσκόπιο. Τα βακτηριακά κύτταρα εμφανίζουν, εν προκειμένω, *αεροτακτισμό*, αποκρίνονται δηλ. θετικά προς το οξυγόνο, το οποίο παράγεται από το φωτοσυνθέτον φύκος. Μέση ταχύτητα βακτηριακών κυττάρων: περί τα 35 $\mu\text{m}/\text{sec}$. Διάμετρος φύκος: περί τα 60 μm .

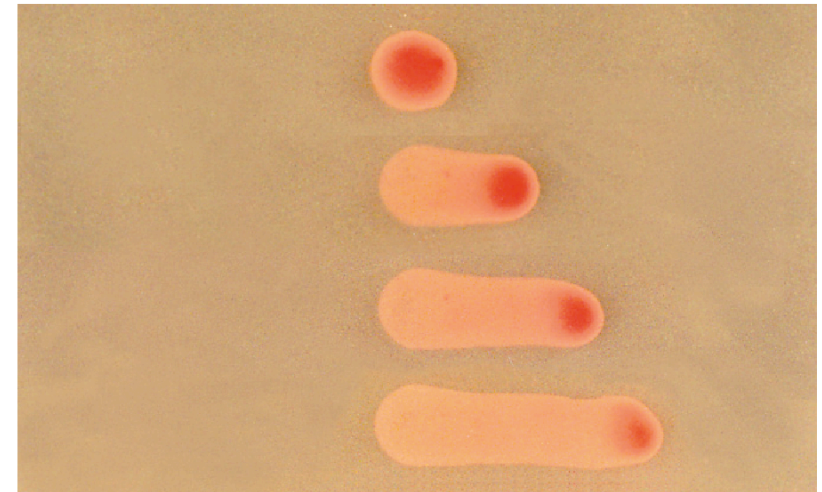


(στ)



Norbert Pfennig

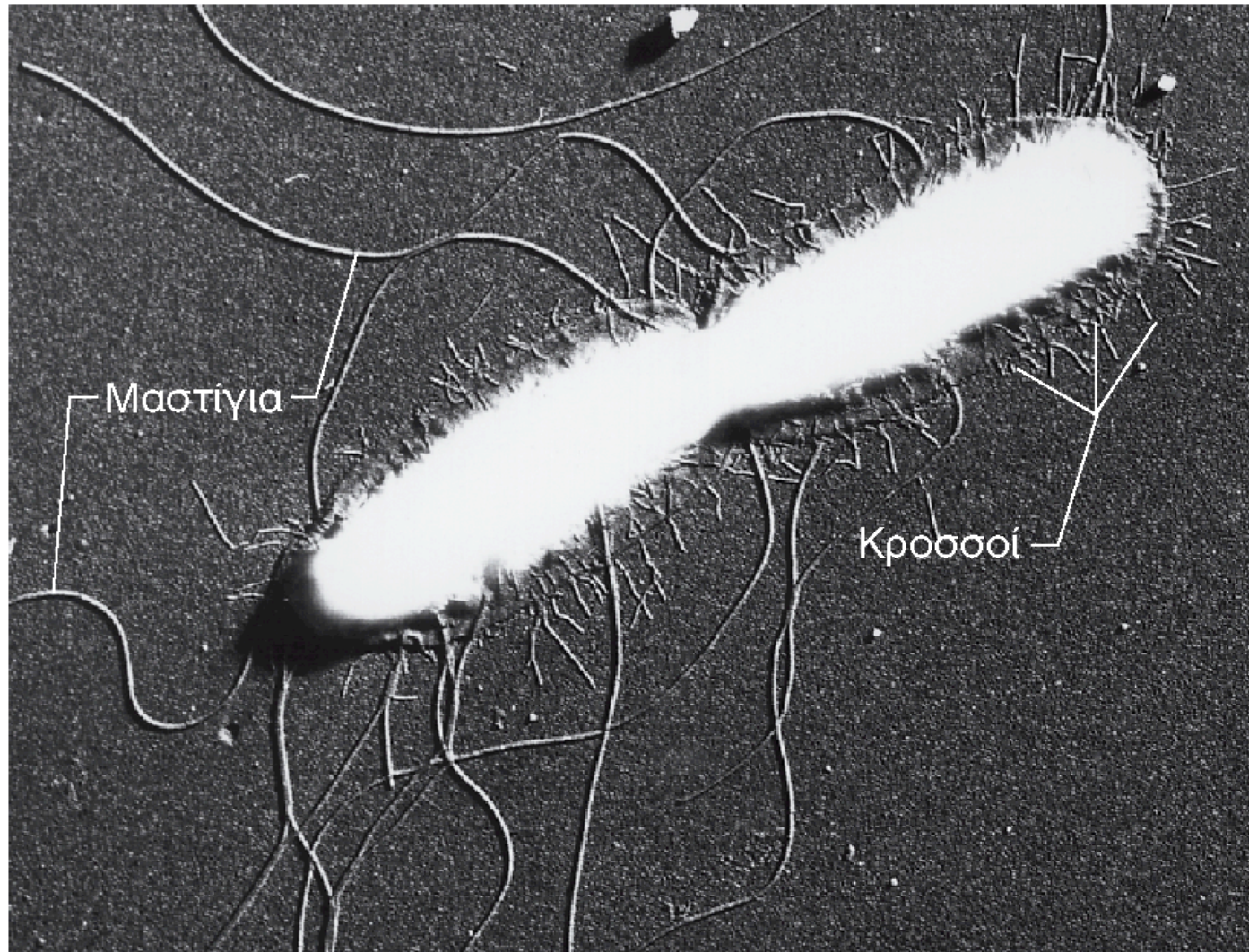
(a)



Carl E. Bauer

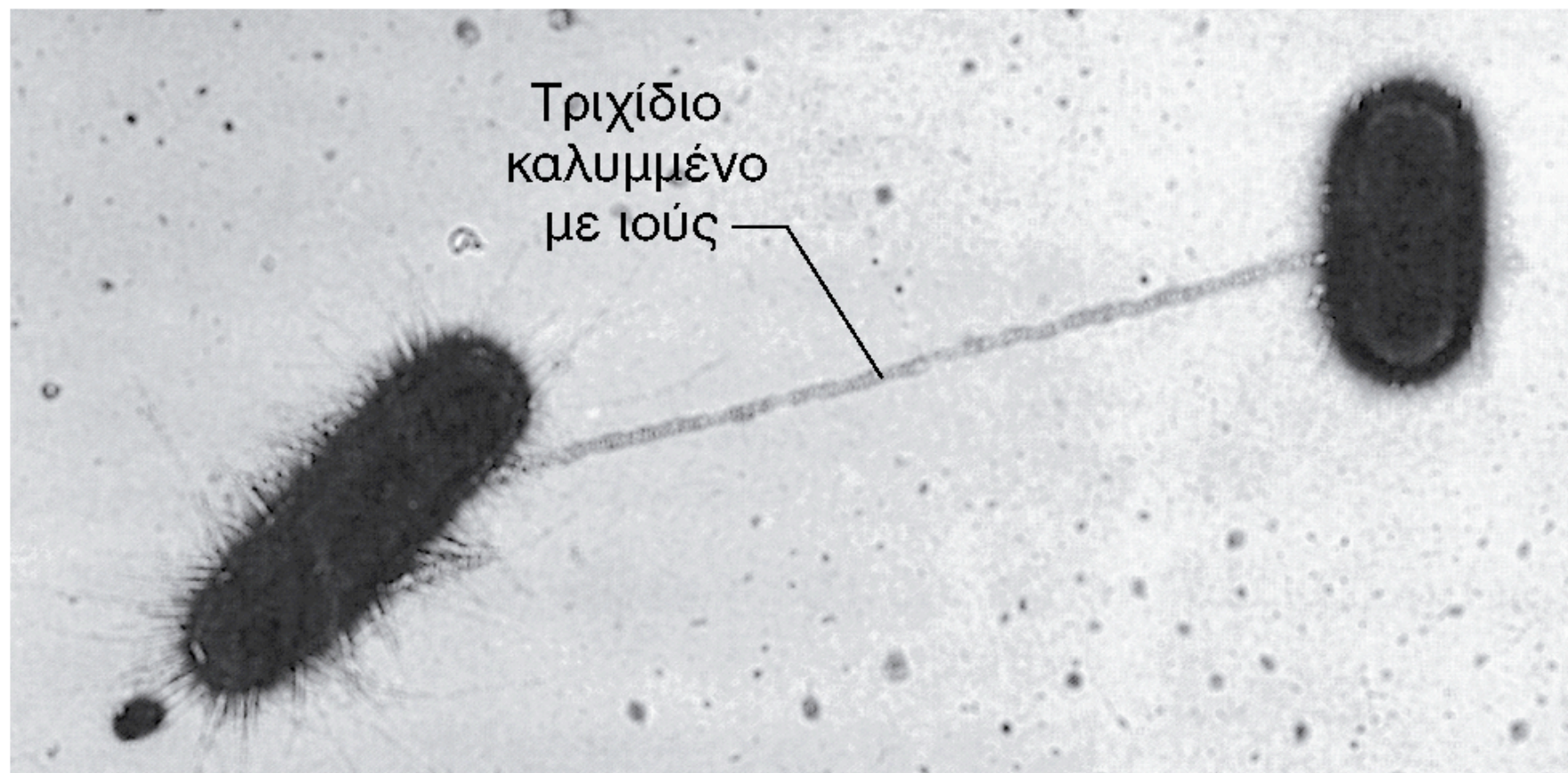
(β)

Εικόνα 4.48 Φωτοτακτισμός. (α) Σκοτοφοβική συνάθροιση του φωτοτροφικού βακτηρίου *Thiospirillum jenense* σε μήκη κύματος στα οποία απορροφούν οι κυτταρικές χρωστικές του. Φάσμα φωτός αναπτύχθηκε σε αντικειμενοφόρο μικροσκοπίου που περιείχε πυκνή καλλιέργεια βακτηρίων. Μετά την πάροδο ικανού χρόνου, ελήφθη μικροφωτογραφία που αποκαλύπτει την επιλεκτική συνάθροιση των βακτηρίων σε περιοχές όπου απορροφά η βακτηριοχλωροφύλλη *a* (πρβλ. Εικόνα 17.3β). (β) Φωτοτακτισμός ολόκληρης αποικίας του πορφυρού φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum centenum* για χρονική περίοδο 2 h (πάνω, το χρονικό σημείο 0). Αυτά τα ισχυρώς φωτοτακτικά κύτταρα κινούνται ενωμένα προς την πηγή φωτός (δεξιά). Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα κυττάρων *R. centenum* υπάρχουν στην Εικόνα 4.39.



J. P. Duguid and J. F. Wilkinson

Εικόνα 4.49 Ηλεκτρονικό μικρογράφημα ενός διαιρούμενου κυττάρου *Salmonella typhi*, που εμφανίζει μαστίγια και κροσσοί. Διάμετρος κάθε κυττάρου: περί τα 0,9 μm .

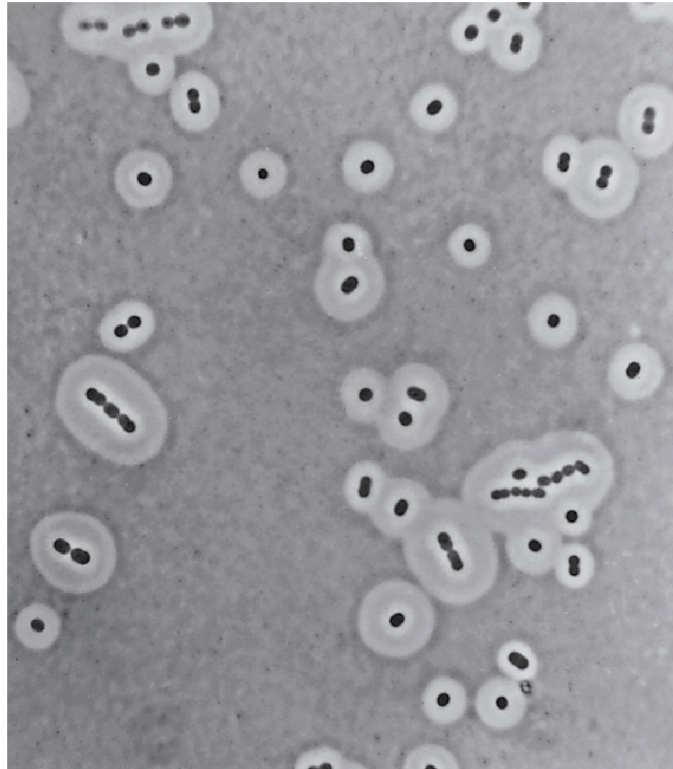


Charles C. Brinton, Jr.

Εικόνα 4.50 Η ύπαρξη τριχιδίων στο κύτταρο της *Escherichia coli* αποκαλύπτεται με τη χρήση ιών που προσκολλώνται ειδικά στα τριχίδια αυτά. Διάμετρος κυττάρου: περί τα 0,8 μm .

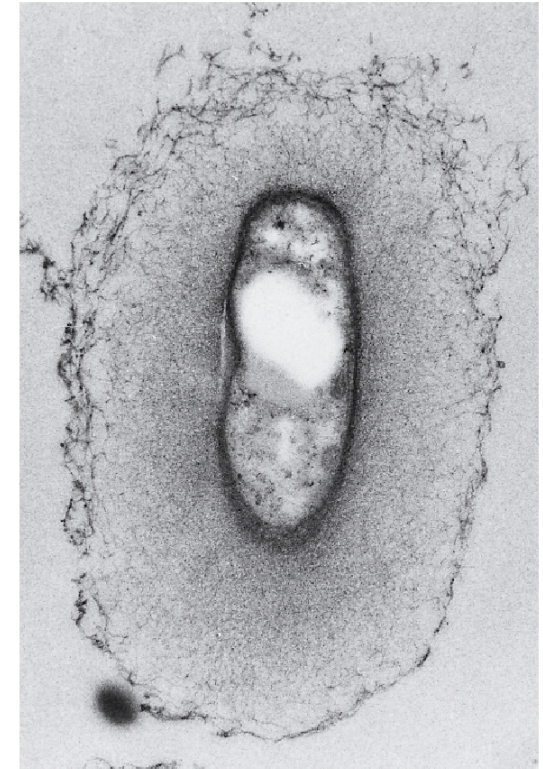
Εικόνα 4.51 Βακτηριακές κάψες. (α)

Η μικροσκοπία αντίθεσης φάσεων δείχνει την ύπαρξη κάψας σε ένα είδος *Acinetobacter*, με αρνητική χρώση ινδικής μελάνης. Η ινδική μελάνη δεν διαπερνά την κάψα, η οποία αποκαλύπτεται με μορφή περιγράμματος φωτεινής δομής σε σκοτεινό φόντο. (β) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα λεπτής τομής ενός κυττάρου *Rhizobium trifolii* χρωσμένου με ερυθρό του ρουθηνίου για να αποκαλυφθεί η δομή της κάψας. Διάμετρος κυττάρου (χωρίς την κάψα): περί τα 0,7 μm. Αν και οι περισσότερες κάψες είναι πολυσακχαρτικές, μερικά βακτήρια έχουν πρωτεϊνικές κάψες. Τα κύτταρα του *Bacillus anthracis*, π.χ., μικροοργανισμού που συνδέεται τόσο με ζωικές ασθένειες όσο και με κρούσματα βιοτρομοκρατίας (Τμήμα 25.11), έχουν μια κάψα πολυ-D-γλουταμικού οξέος που τα προφυλάσσει από τους καταστρεπτικούς μηχανισμούς άμυνας των ξενιστών.



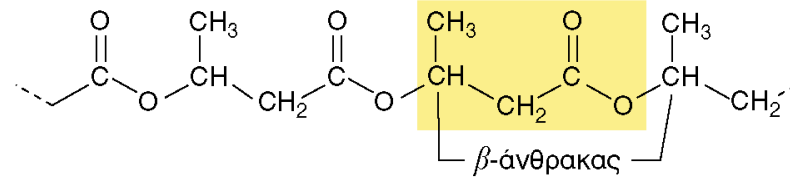
Elliot Juni

(α)

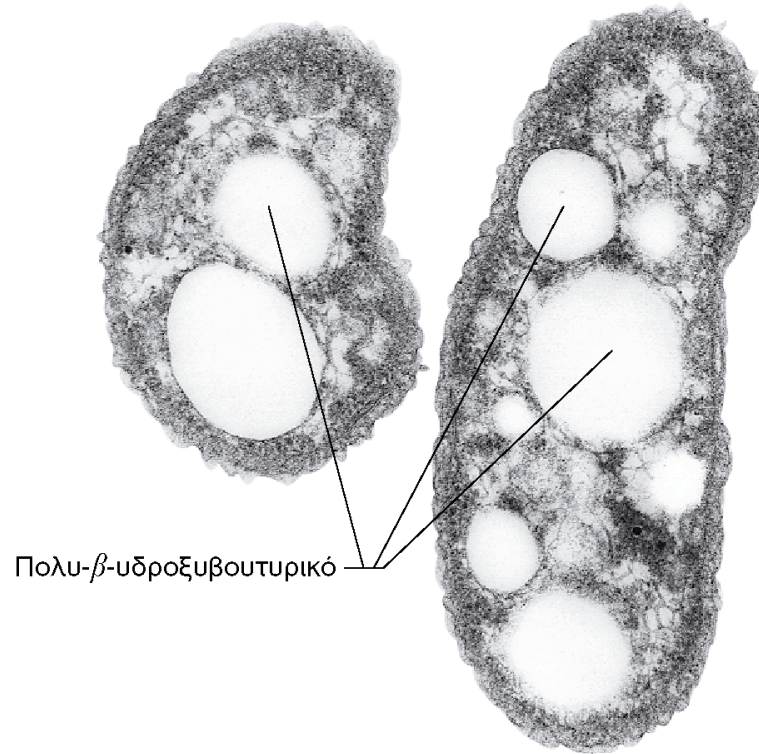


Frank Dazzo and Richard Heinzen

(β)



(a)

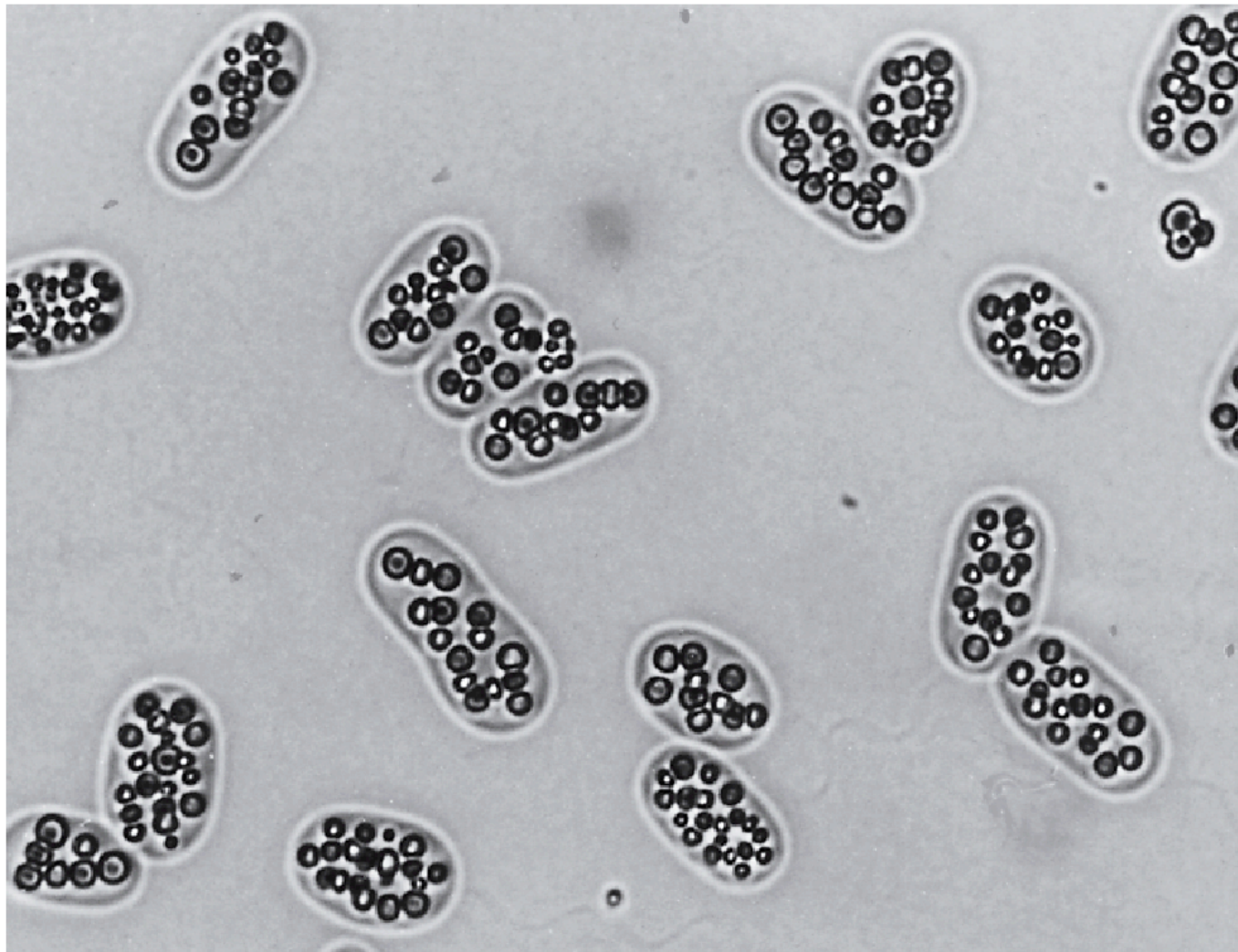


Πολυ-β-υδροξυβουτυρικό

(β)

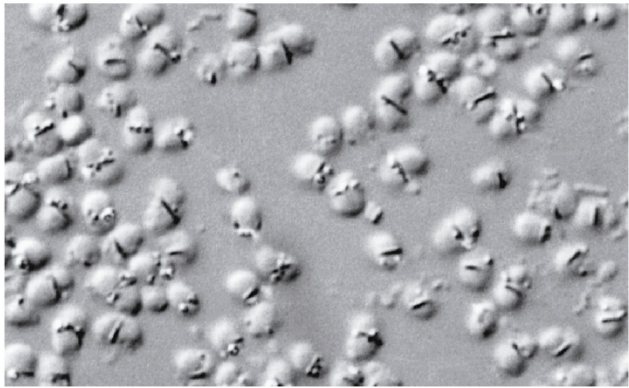
F. R. Turner and M. T. Madigan

Εικόνα 4.52 Πολυ-β-υδροξυβουτυρικό (PHB). (a) Χημική δομή του PHB, ενός κοινού πολυ-β-υδροξυαλκανοϊκού οξέος. Η μονομερής μονάδα παρουσιάζεται με κίτρινη σκίαση. Άλλα πολυμερή αλκανοϊκού σχηματίζονται όταν η μεθυλομάδα του β-άνθρακα αντικατασταθεί από υδρογονάνθρακες μακρύτερων αλυσίδων. (β) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα λεπτής τομής κυττάρων του φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodovibrio sodomensis*, που περιέχει κοκκία PHB.



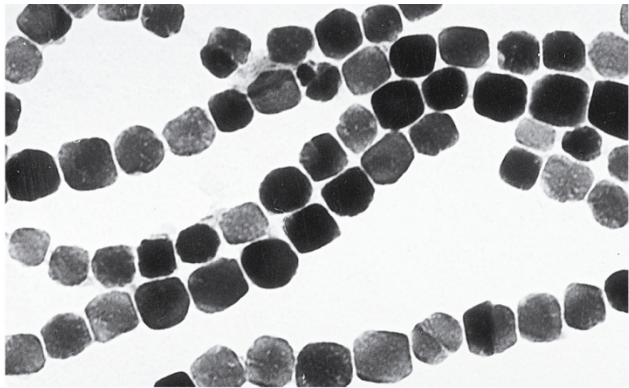
Norbert Pfennig

Εικόνα 4.53 Μικροφωτογραφία φωτεινού πεδίου κυττάρων του πορφυρού θειοβακτηρίου *Isochromatium buderi*. Παρατηρήστε, μέσα στα κύτταρα, τα κοκκία θείου. Διαστάσεις κάθε κυττάρου: περίπου $4 \times 7 \mu\text{m}$.



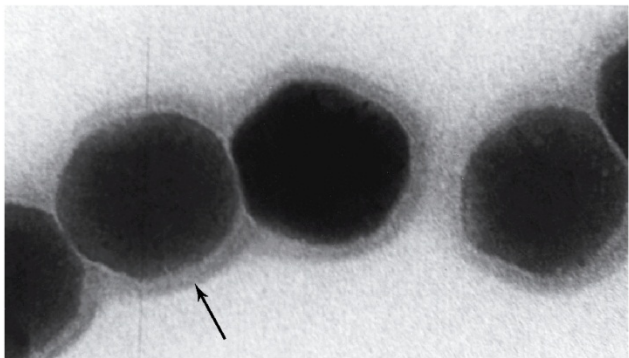
Stefan Spring

(α)



R. Blakemore and W. O'Brien

(β)



Dennis Bazylinski

(γ)

Εικόνα 4.54 Μαγνητοτακτικά βακτήρια και μαγνητοσώματα. (α) Μικρογράφημα αντίθεσης συμβολής κοκκιωδών μαγνητοτακτικών βακτηρίων, όπου μπορούν να παρατηρηθούν μαγνητοσώματα. Διάμετρος κάθε κυττάρου: περί τα 2,2 μm . (β) Μαγνητοσώματα που έχουν απομονωθεί από το μαγνητοτακτικό βακτήριο *Magnetospirillum magnetotacticum*. Μήκος κάθε σωματιδίου: περί τα 50 nm (🔗 Εικόνα 12.32). (γ) Ηλεκτρονικό μικροφωτογράφημα μαγνητοσωμάτων ενός μαγνητικού κοκκιώδους βακτηρίου, υπό μεγάλη μεγέθυνση. Το βέλος υποδεικνύει τη μεμβράνη που περιβάλλει κάθε μαγνητοσώμα. Η μεμβράνη αυτή, όπως και η μεμβράνη του ΡΗΒ (βλ. Εικόνα 4.52), δεν είναι στην πραγματικότητα μια μοναδιαία μεμβράνη, αλλά μια μονοστιβάδα, παρ' όλο που περιέχει λιπίδια και πρωτεΐνες. Πλάτος μαγνητοσώματος: περί τα 90 nm.



T. D. Brock

Εικόνα 4.55 Επιπλέοντες «ανθοί» αεροκυστιδιοφόρων κυανοβακτηρίων σε λίμνη πλούσια σε θρεπτικά συστατικά (Λίμνη Mendota, Madison, Wisconsin, ΗΠΑ).



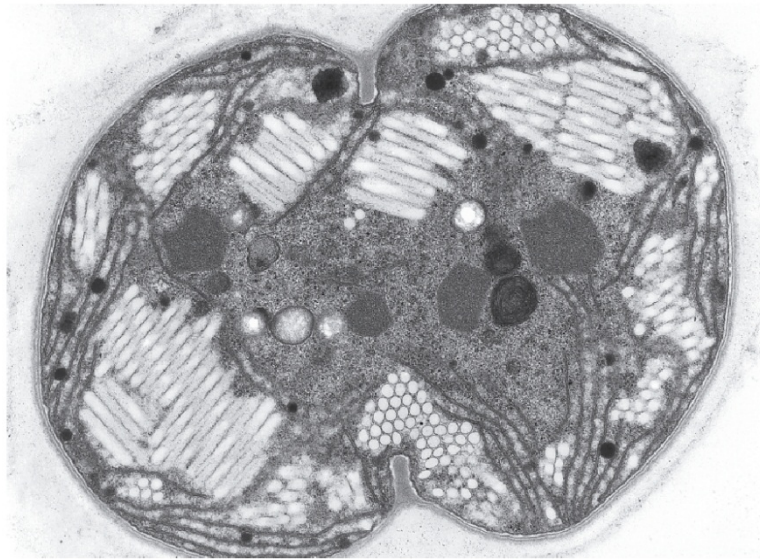
A. E. Konopka and J.T. Staley

Εικόνα 4.56 Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα διέλευσης αεροκυστιδίων που είχαν απομονωθεί από το βακτήριο *Ancylobacter aquaticus* και εξετάσθηκαν σε αρνητικώς χρωσμένα παρασκευάσματα. Διάμετρος αεροκυστιδίου: περί τα 100 nm. (Αναδημοσιεύεται κατόπιν αδείας από το Allan E. Konopka, J. C. Lara, & James T. Staley, 1977. *Archives of Microbiology* 112:133-140. ©1977 Springer-Verlag GmbH & Co. KG.)



A. E. Walsby

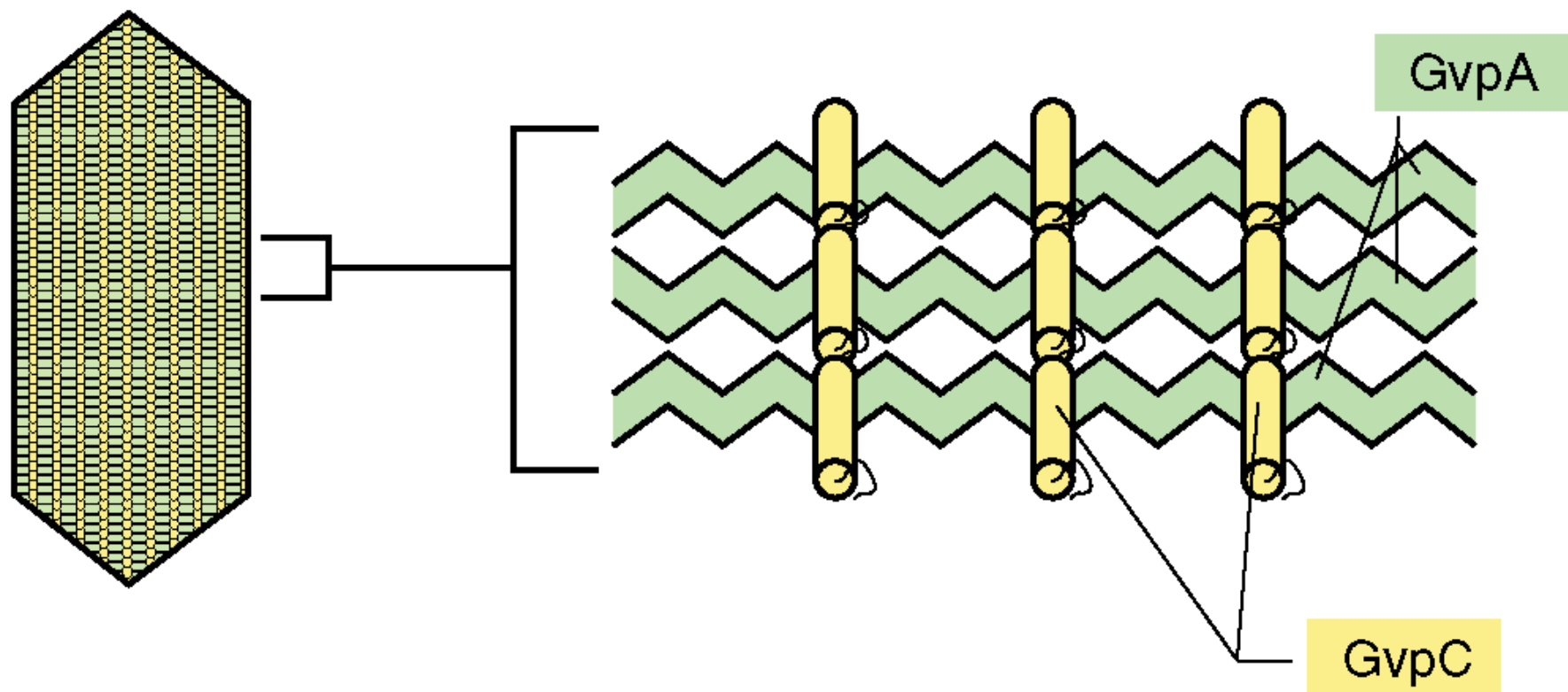
(a)




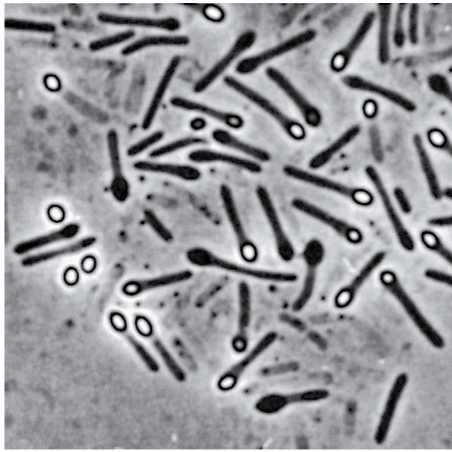
S. Pellegrini and M. Grilli-Caiola

(β)

Εικόνα 4.57 Αεροκυστίδια των κυανοβακτηρίων *Anabaena* και *Microcystis*. (a) *Anabaena flos-aquae*. Το σκουρόχρωμο κύτταρο στο κέντρο (μια ετεροκύστη) στερείται αεροκυστιδίων. Στα άλλα κύτταρα, τα κυστίδια συνενώνονται ως φωτεινά αντικείμενα που σκεδάζουν το φως (βέλη). (β) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα διέλευσης του κυανοβακτηρίου *Microcystis*. Τα αεροκυστίδια είναι διατεταγμένα σε δέσμες, που εμφανίζονται στην εικόνα τόσο σε διαμήκεις όσο και σε εγκάρσιες τομές.

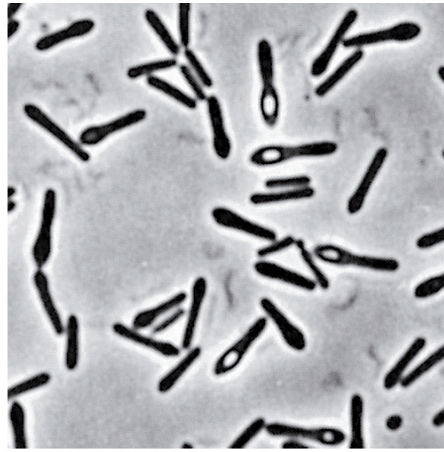


Εικόνα 4.58 Υποθετικό μοντέλο της αλληλεπίδρασης μεταξύ των δύο πρωτεϊνών, GvpA και GvpC, που σχηματίζουν το αεροκυστίδιο, δομή στεγανή στο νερό αλλά διαπερατή από τα αέρια. Η GvpA, που έχει δομή άκαμπτης β-πτυχωτής επιφάνειας, σχηματίζει τις «πλευρές». Η GvpC, που έχει δομή α-έλικας, είναι ο διασυνδέτης ( Τμήμα 3.7 και Εικόνα 3.16).



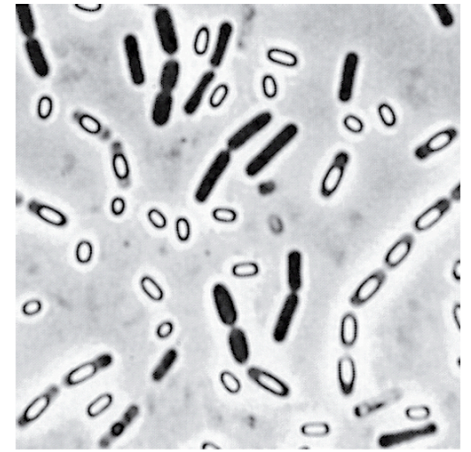
H. Hippe

(a)



H. Hippe

(β)



H. Hippe

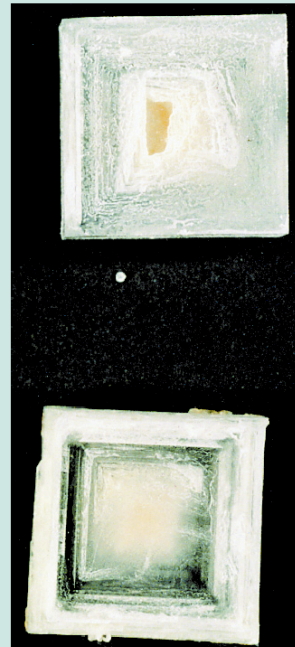
(γ)

Εικόνα 4.59 Το βακτηριακό ενδοσπόριο. Μικροφωτογραφίες αντίθεσης φάσεων που απεικονίζουν διάφορους μορφολογικούς τύπους ενδοσπορίων και την ενδοκυτταρική θέση τους. (α) Τερματική. (β) Υποτερματική. (γ) Κεντρική.



Gerhard Gottschalk

(a)

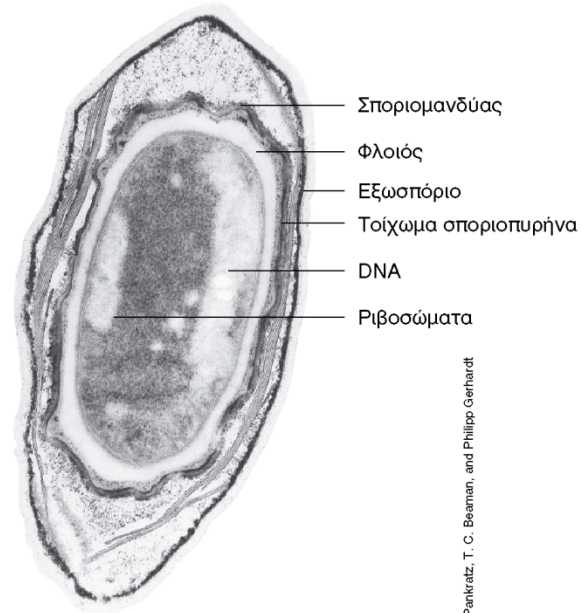


William D. Grant

(β)

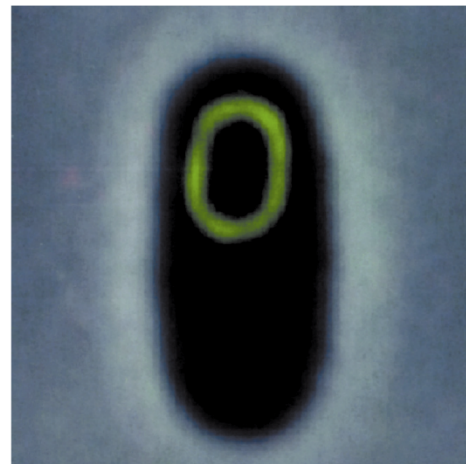
Εικόνα 1. Μακροβιότητα των ενδοσπορίων.

(a) Φωτογραφία δοκιμαστικού σωλήνα που περιέχει σπόρια του βακτηρίου *Clostridium aceticum* από παρασκεύασμα της 7ης Μαΐου του έτους 1947. Μετά από λανθάνουσα φάση διάρκειας άνω των 30 ετών, τα σπόρια τοποθετήθηκαν σε υλικό καλλιέργειας όπου άρχισαν να αναπτύσσονται εντός 12 ωρών¹. (β) Αλόφιλα βακτήρια εγκλωβισμένα σε κρυστάλλους αλατιού. Οι κρύσταλλοι αυτοί (διαμέτρου περί το 1 cm) αναπτύχθηκαν στο εργαστήριο παρουσία κυττάρων του γένους *Halobacterium* (κιτρινωπό χρώμα), τα οποία διατηρούν τη βιωσιμότητά τους εντός των κρυστάλλων. Παρόμοιοι κρύσταλλοι, οι οποίοι όμως χρονολογούνται από την Πέρμια Περίοδο (πριν από 250 εκατομμύρια έτη περίπου), έχει αναφερθεί ότι περιείχαν βιώσιμα αλόφιλα ενδοσποριογονικά βακτήρια⁴.



H. S. Pankratz, T. C. Beaman, and Philipp Gerhardt

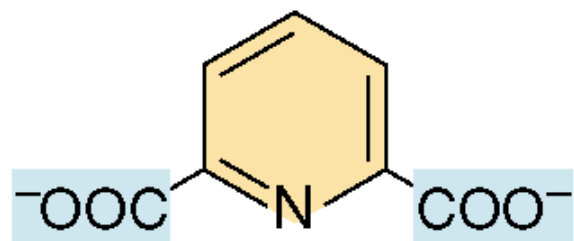
(α)



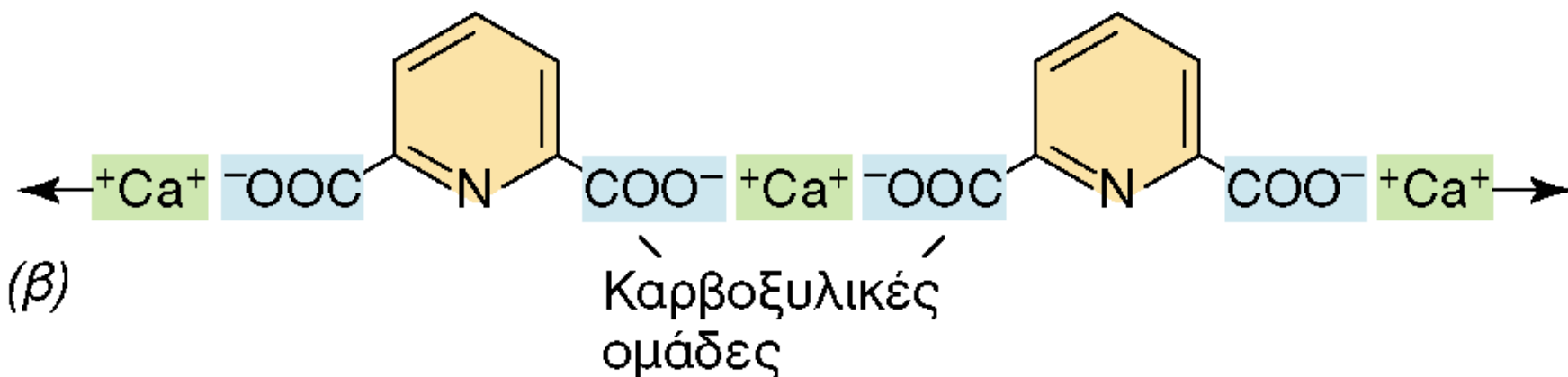
Kristen Price

(β)

Εικόνα 4.60 Το βακτηριακό ενδοσπόριο. (α) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα διέλευσης ενός ώριμου ενδοσπορίου από *Bacillus megaterium*. (β) Μικροφωτογραφία φθορισμού ενός κυττάρου *Bacillus subtilis* που υφίσταται εκβλάστηση. Το πράσινο χρώμα οφείλεται στην ειδική χρώση μιας πρωτεΐνης εκβλάστησης στον σποριομανδύα.



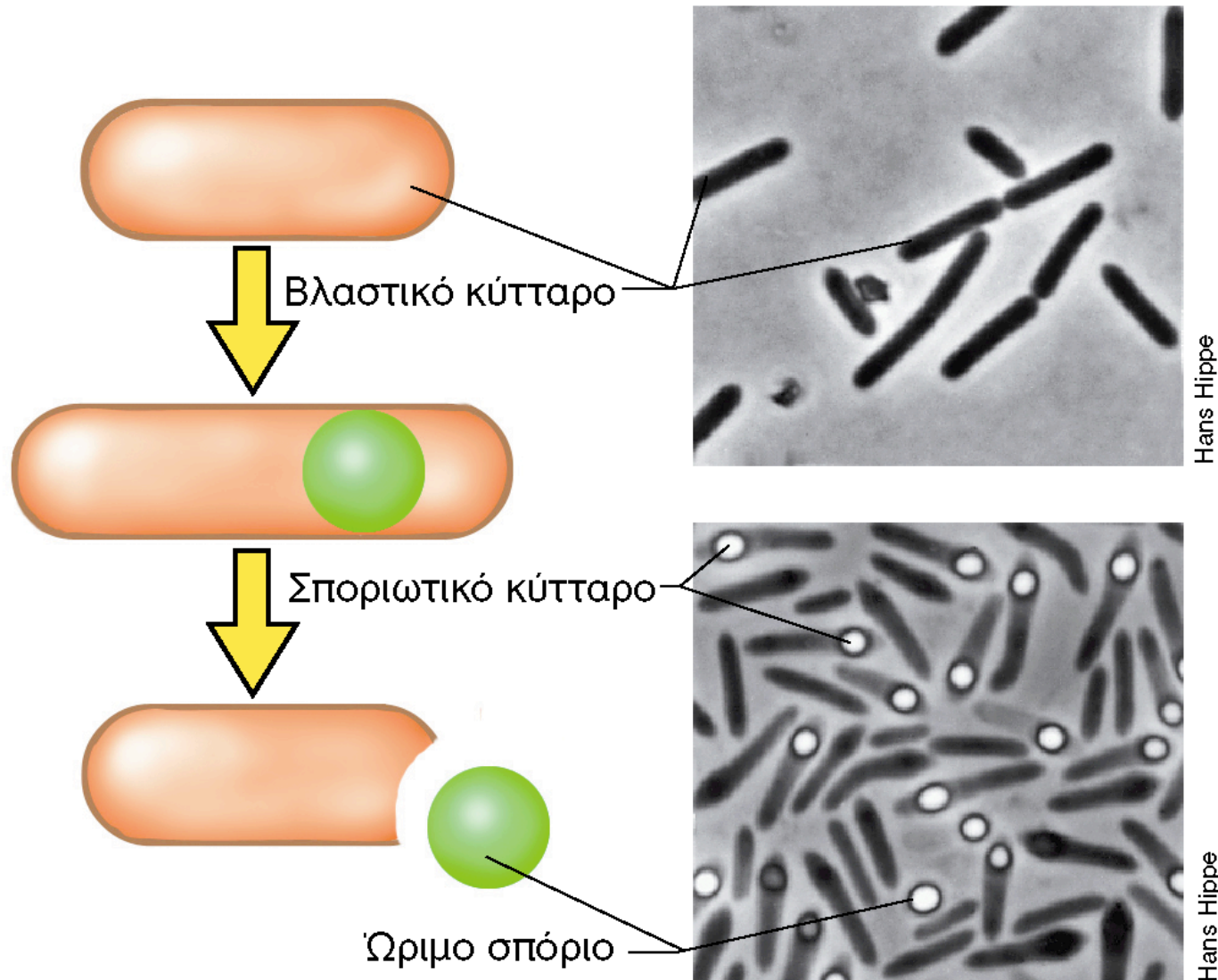
(a)



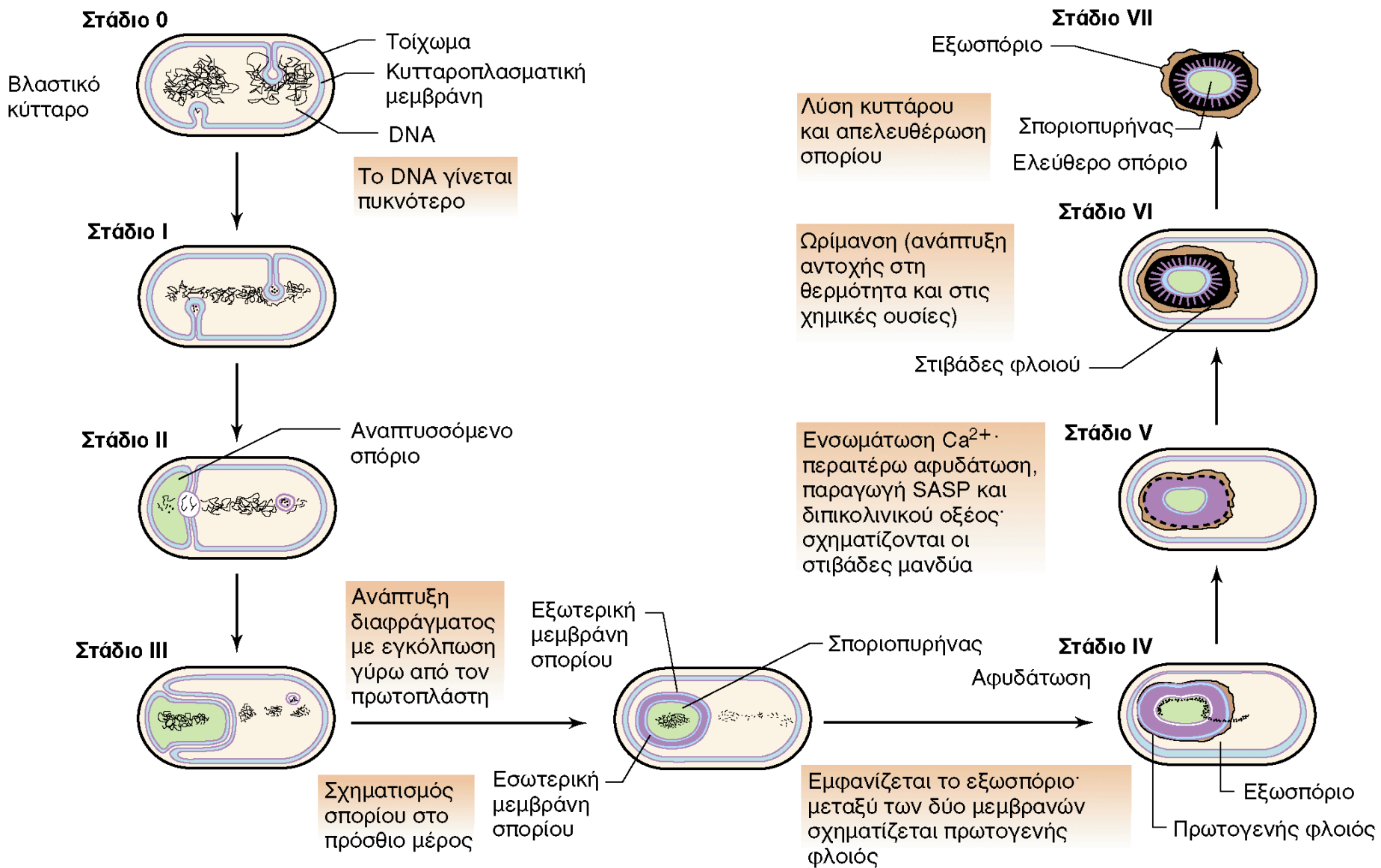
(β)

Εικόνα 4.61

Διπικολινικό οξύ (DPA). (α) Δομή. (β) Τρόπος διασύνδεσης Ca^{2+} και μορίων DPA για τον σχηματισμό συμπλόκου.

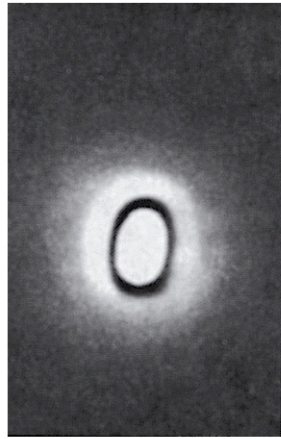


Εικόνα 4.62 Σχηματισμός του ενδοσπορίου. Μικροφωτογραφίες αντίθεσης φάσεων από κύτταρα *Clostridium pascui*.



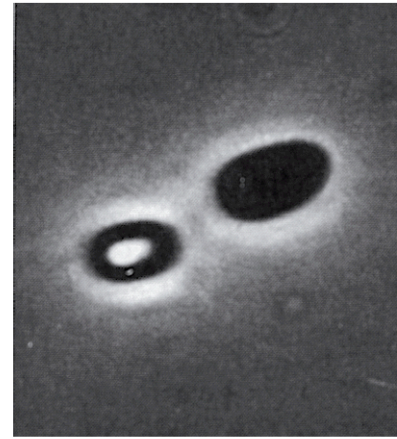
Εικόνα 4.63

Στάδια στον σχηματισμό του ενδοσπορίου. Τα στάδια αυτά (0 έως VII) καθορίζονται από τον συνδυασμό γενετικών μελετών και μικροσκοπικών αναλύσεων.



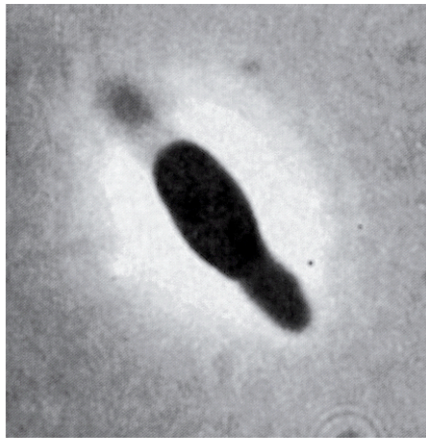
Judith Hoeniger and C. L. Headley

(α)



Judith Hoeniger and C. L. Headley

(β)



Judith Hoeniger and C. L. Headley

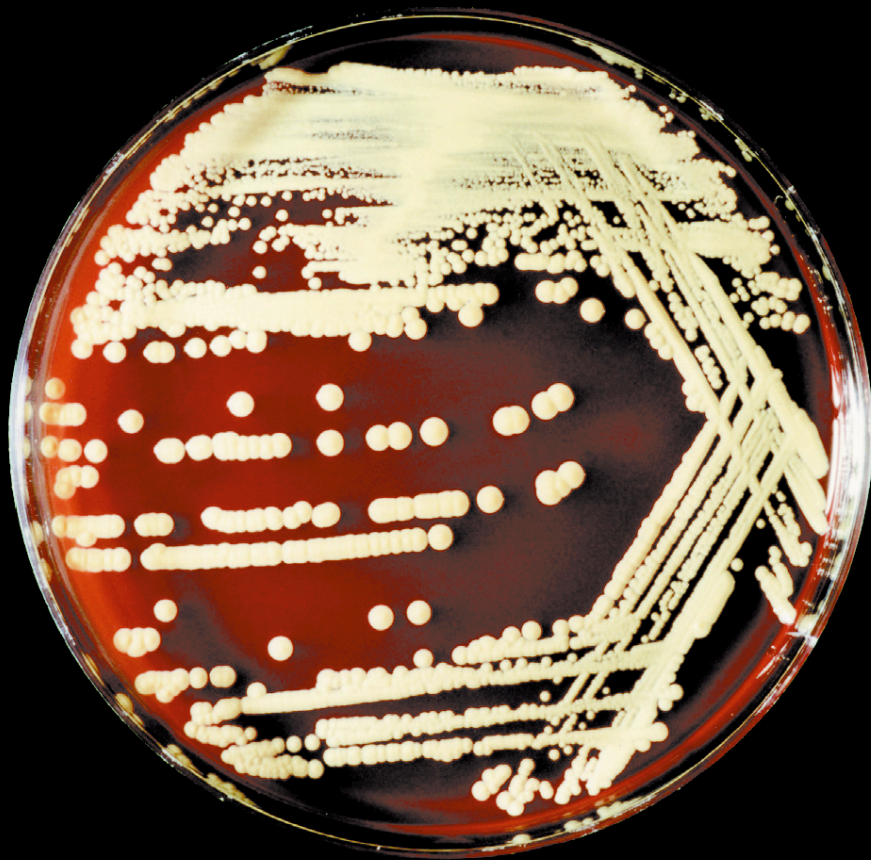
(γ)



Judith Hoeniger and C. L. Headley

(δ)

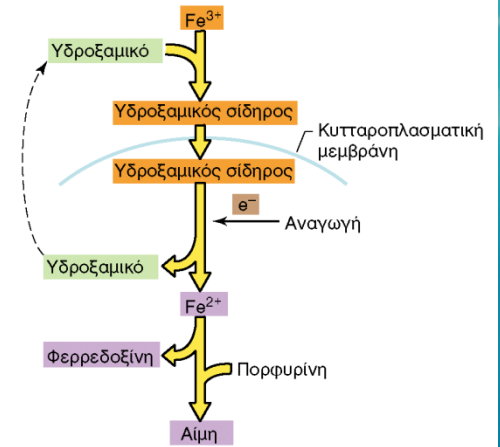
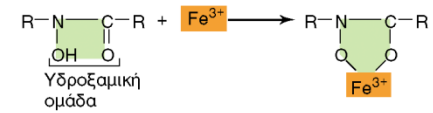
Εικόνα 4.64 Εκβλάστηση του ενδοσπορίου στον *Bacillus*. Σταδιακή μετατροπή του ώριμου ενδοσπορίου (α) σε βλαστικό κύτταρο (δ). Οι μικροφωτογραφίες δείχνουν την πλήρη σειρά συμβάντων, με αφετηρία ένα έντονα διαθλαστικό, ώριμο σπόριο. Στο (β) (ενεργοποίηση) η διαθλαστικότητα χάνεται, ενώ στα (γ) και (δ), αναπτύσσεται το νέο βλαστικό κύτταρο (αυξητική έκρηξη).



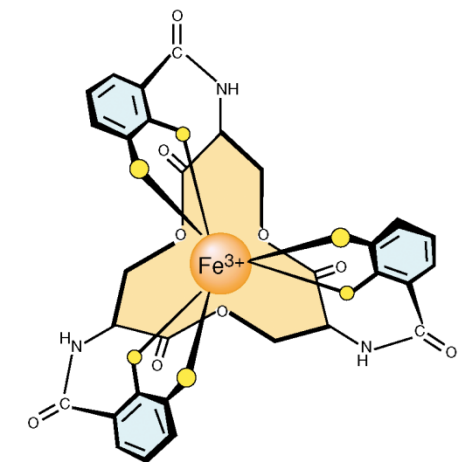
ΘΡΕΨΗ, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

5

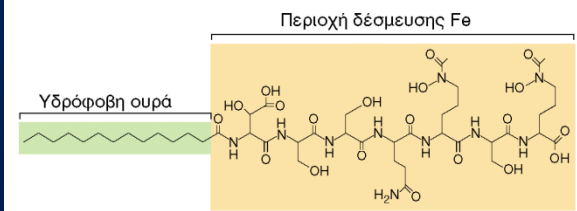
Η μελέτη των μικροοργανισμών συνήθως απαιτεί την καλλιέργειά τους στο εργαστήριο. Αυτό μπορεί να γίνει με αρκετούς τρόπους, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης στερεών θρεπτικών υποστρωμάτων και τρυβλίων Petri, όπως φαίνεται σε αυτό το κεφάλαιο. Μεμονωμένα κύτταρα που επιστρώνονται στην επιφάνεια του τρυβλίου αυξάνονται και διαιρούνται σχηματίζοντας αποικίες. Αν και υπάρχουν μερικά κοινά θρεπτικά χαρακτηριστικά για όλους τους οργανισμούς, πολλοί μικροοργανισμοί έχουν ιδιαίτερες απαιτήσεις όσον αφορά τη θρέψη και την καλλιέργειά τους. Επιπλέον, για να συνεχιστούν οι διαδικασίες της ζωής, όλοι οι μικροοργανισμοί είναι υποχρεωμένοι να εκτελούν μία ή περισσότερες σειρές χημικών αντιδράσεων που αφορούν τη διατήρηση ενέργειας. Έτσι, για την κατανόηση της θρέψης και της βιοενεργητικής, είναι απαραίτητο να κατανοήσουμε πώς κατορθώνουν τα μικροβιακά κύτταρα να επιβιώνουν στο φυσικό τους περιβάλλον.



(α)



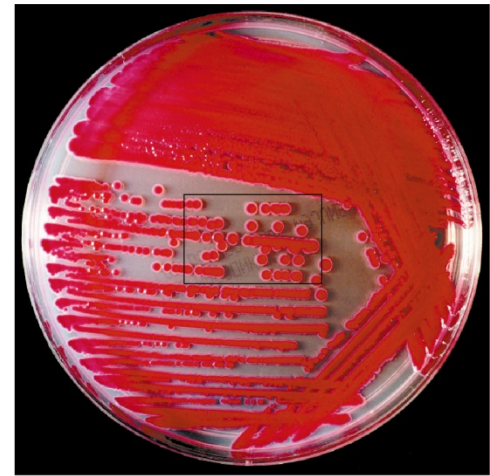
(β)



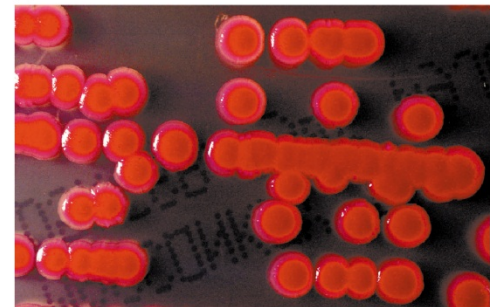
(γ)

Εικόνα 5.1 Χηλικές ενώσεις του σιδήρου που παράγονται από τους μικροοργανισμούς. (α) Υδροξυαμικό οξύ. Ο σίδηρος προσδένεται υπό τη μορφή Fe^{3+} και απελευθερώνεται μέσα στο κύτταρο υπό τη μορφή Fe^{2+} . Κατόπιν, το υδροξυαμικό οξύ βγαίνει από το κύτταρο και επαναλαμβάνει τον κύκλο. (β) Εντεροβακτήτινη σιδήρου του βακτηρίου *Escherichia coli*. Τα άτομα οξυγόνου κάθε μορίου κατεχόλης υποδηλώνονται με κίτρινο χρώμα. (γ) Ο πεπτιδικός σιδηροφορέας υδατοχηλίτην.

Εικόνα 5.2 Παραδείγματα βακτηριακών αποικιών. Οι αποικίες είναι ορατές μάζες κυττάρων που σχηματίζονται από διαδοχικές διαιρέσεις ενός ή λίγων κυττάρων. Το μέγεθος, το σχήμα, η υφή, και το χρώμα μιας βακτηριακής αποικίας καθορίζονται από τον οργανισμό που τις σχηματίζει. Ανάλογα με το μέγεθος και την οργάνωση των κυττάρων στην αποικία, ο αριθμός κυττάρων από τα οποία αυτή αποτελείται μπορεί να ποικίλλει σημαντικά. Δεν είναι ασυνήθιστες αποικίες με πάνω από ένα δισεκατομμύριο μεμονωμένα κύτταρα. (α) *Serratia marcescens*, ανάπτυξη σε άγαρ MacConkey. (β) Απεικόνιση σε μεγαλύτερη μεγέθυνση των αποικιών που περιέχονται στο τετράγωνο της εικόνας (α). (γ) *Pseudomonas aeruginosa*, που αναπτύσσεται σε άγαρ τρυπτικής και σόγιας. (δ) *Shigella flexneri*, ανάπτυξη σε άγαρ MacConkey.



(α)



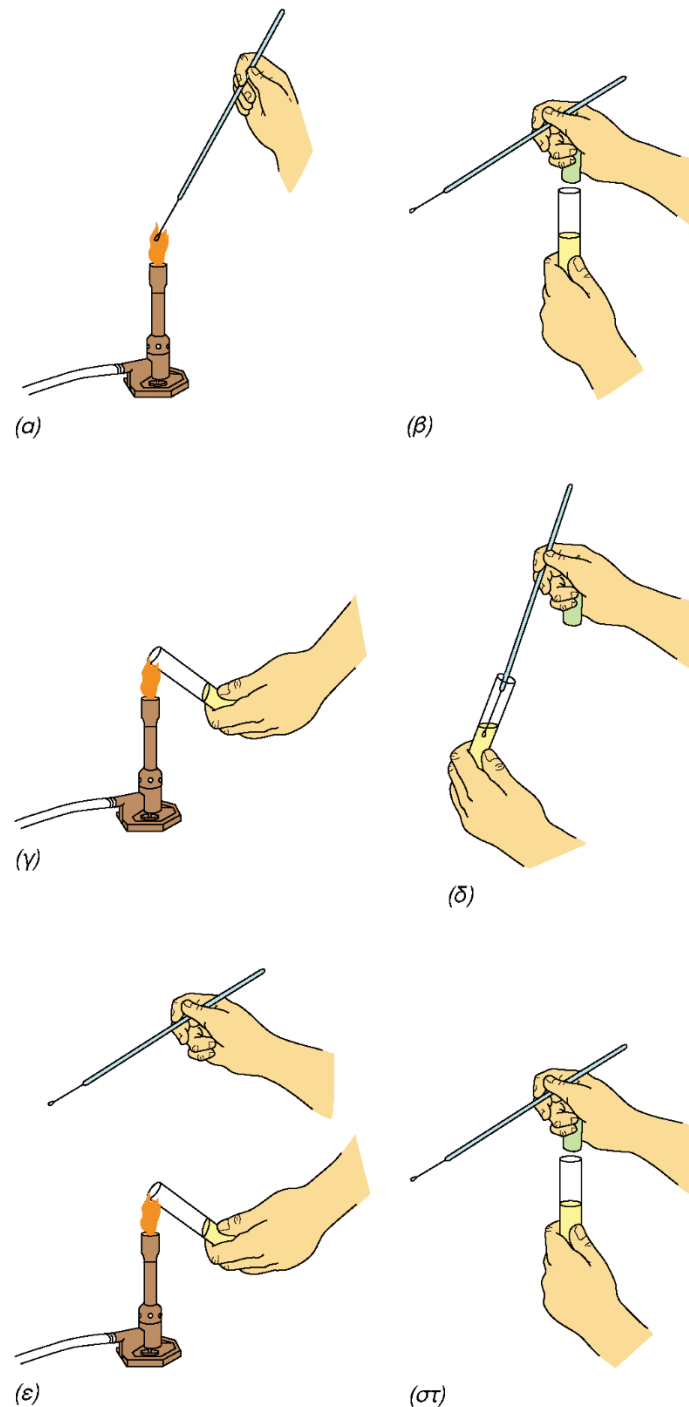
(β)



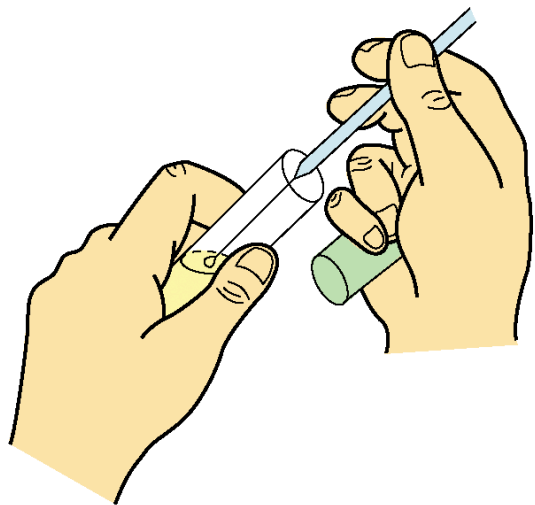
(γ)



(δ)



Εικόνα 5.3 Ασπτική μεταφορά. (α) Ο βρόχος ενοφθαλμισμού θερμαίνεται μέχρι να ερυθροπυρωθεί και ψύχεται για λίγο στον αέρα. (β) Αφαιρούμε το πώμα του δοκιμαστικού σωλήνα. (γ) Περνάμε το άκρο του σωλήνα μέσα από τη φλόγα. (δ) Το δείγμα μεταφέρεται στον αποστειρωμένο βρόχο ενοφθαλμισμού. (ε) Μετά τη λήψη του δείγματος με τον βρόχο ενοφθαλμισμού, περνάμε πάλι τον σωλήνα μέσα από τη φλόγα και μεταφέρουμε το δείγμα σε νέο αποστειρωμένο θρεπτικό υλικό. (στ) Επανατοποθετούμε το πώμα στον σωλήνα. Ο βρόχος ενοφθαλμισμού πυρακτώνεται πάλι πριν την περάτωση της εργασίας.



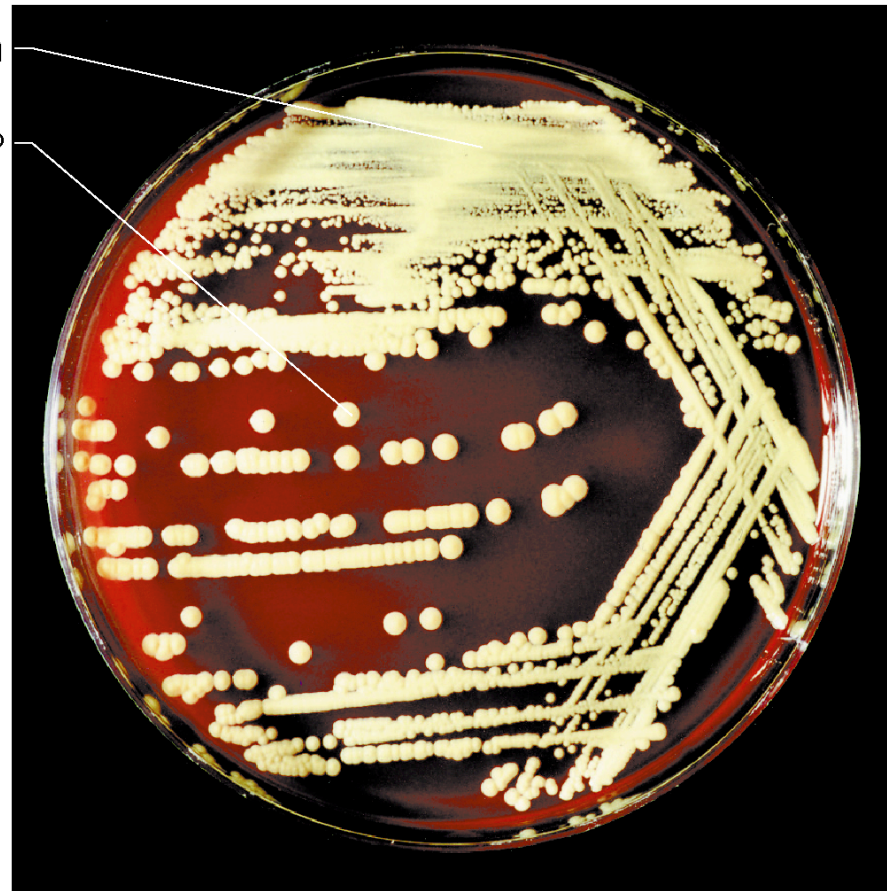
Πυκνή ανάπτυξη στην αρχή της επίστρωσης

Μεμονωμένες αποικίες στο τέλος της επίστρωσης

(α)



(β)



(γ)

James A. Shapiro, University of Chicago

Εικόνα 5.4 Μέθοδος επίστρωσης μικροοργανισμών σε στερεά θρεπτικά μέσα για τη δημιουργία αμιγών καλλιιεργειών. (α) Ο βρόχος ενοφθαλμισμού αποστειρώνεται και κατόπιν εμβαπτίζεται στο υλικό του δοκιμαστικού σωλήνα. (β) Το δείγμα επιστρώνεται σε παράλληλες γραμμές πάνω σε τρυβλία Petri με στερεοποιημένο θρεπτικό μέσο, διασπείροντας τους μικροοργανισμούς ως εξής: Ακολουθώντας την αρχική επίστρωση σχηματίζουμε νέες παράλληλες γραμμές υπό γωνία, αποστειρώνοντας κάθε φορά τον βρόχο ενοφθαλμισμού. (γ) Η καλλιέργεια του μικροοργανισμού μετά από επώαση. Οι αποικίες του βακτηρίου *Micrococcus luteus* σε τρυβλία που περιέχουν άγαρ αίματος είναι τόσο ευδιάκριτες και καλά απομονωμένες, ώστε είναι δυνατή η δημιουργία αμιγών καλλιιεργειών.