

Ocetnokislinske bakterije imajo številne zanimive lastnosti

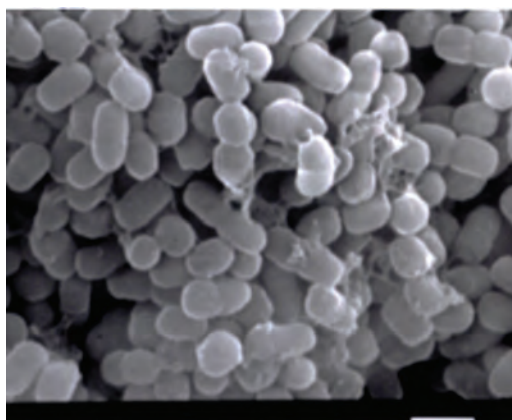
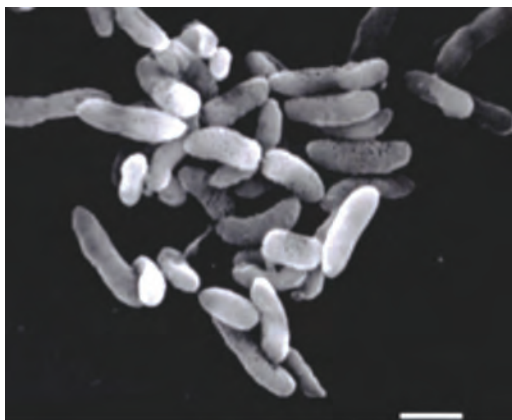
Janja Trček

Ob besedah ocetnokislinske bakterije večina ljudi zagotovo najprej pomisli na kis. Tisti, ki so se že srečali z osnovami mikrobiologije, se verjetno pri tem spomnijo na dva rodova bakterij: *Acetobacter* in *Gluconobacter*. Takšna slika, ki je zakoreninjena v glavah ljudi in tudi v knjigah, pa se je začela na prehodu iz 20. v 21. stoletje močno spreminjati. V članku bodo opisana zadnja spoznanja na tem zanimivem raziskovalnem področju.

Ocetnokislinske bakterije je leta 1837 Friedrich Kützing opisal kot maso miniaturnih organizmov, ki tvori sluz na površini zakisanega vina in piva. Ocetna kislina brez te biomase ne nastaja, kar je dokazal že leta 1868 Louis Pasteur. Na podlagi različnih oblik, velikosti in metabolnih lastnosti (sliki 1 in 2) so bile ocetnokislinske bakterije skoraj stoletje razvrščene v dva rodova: *Acetobacter* in *Gluconobacter*. Konec 20. stoletja pa je uporaba orodij molekulske biologije omogočila opis številnih novih rodov in vrst,

kar je pomenilo začetek velikih sprememb na področju sistematike ocetnokislinskih bakterij. Danes je znanih 15 rodov ocetnokislinskih bakterij (preglednica 1). Pomembnejša objava na tem področju je opis vrste *Acetobacter europaeus*, prevladujoče vrste v industrijskih postopkih pridobivanja kisa (Asai, 1968, Cleenwerck in De Vos, 2008). Metabolne lastnosti ocetnokislinskih bakterij daleč presegajo enolično nastajanje ocetne kisline. Bogat nabor dehidrogenaz, ki so vpete na zunanjo stran notranje citoplazemske membrane, omogoča proizvodnjo številnih za farmacevtsko industrijo zanimivih sladkorjev in alkoholov. Pri takšni namestitvi encimov mora substrat preiti le zunanjo citoplazemsko membrano, saj transport v citoplazmo ni potreben, proizvodi oksidacije pa ponovno enostavno potujejo preko porinov zunanje citoplazemske membrane v namnoževalno gojišče (slika 3). Še posebnega pomena je sposobnost vodenja hitrih in učinkovitih reakcij, ki jih ni mogoče izvesti z organsko sintezno kemijo ali pa vodijo do

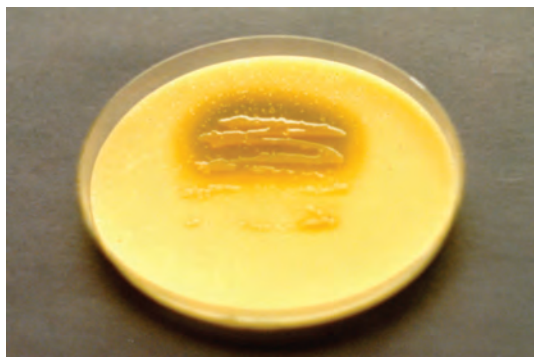
Slika 1: Vrstična elektronska mikrofografija vrst *Gluconacetobacter intermedius* JK3 (levo) in *Acetobacter pasteurianus* KKP 584 (desno). Daljica prikazuje razdaljo 1 mikrometer. Foto: Janja Trček.



prenizkega izkoristka, na primer oksidacije D-sorbitola v L-sorbozo, ki je vmesni proizvod pri pridobivanju C-vitamina, oksidacije glukonata v 5-ketoglukonat, ki je pomemben predhodnik proizvodnje vinske kisline, oksidacije glicerola v dihidroksiaceton, ki je sestavina kozmetičnih preparatov za porjavenje, in sinteze miglitola, ki prepreči aktivnost encima α -glukozidaze. Ta encim je odgovoren za razgradnjo polisaharidov in sproščanje glukoznih enot v kri pri človeku, njegovo neaktivnost, ki jo povzroči miglitol, pa je treba doseči pri vnosu večjih količin hranil pri ljudeh s sladkorno boleznijo (Deppenmeier in Ehrenreich, 2009).

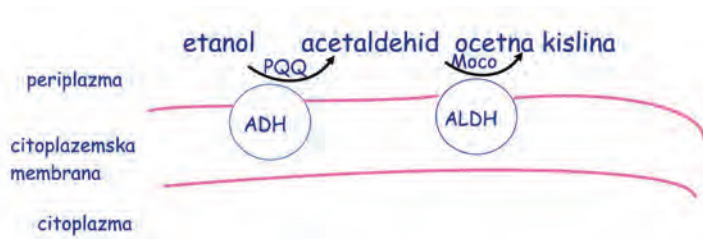
Naslednja zanimiva lastnost ocetnokislinskih bakterij je tvorba polisaharidov, ki jih celica izloči v svojo okolico in ki okoli celic oblikujejo plasti sluzi. Te polisaharide koristno uporabljajo v živilstvu (zgoščevalci živil), v medicini (nosilci za nadzorovano sproščanje zdravil, obliži za rane), v elektroindustriji (diafragma za zvočnike) in v tekstilni industriji (poskusi izdelave materiala za oblačila). Sestavljeni so iz različnih monomernih enot, najbolj pogoste pa so glukozna, galaktozna in manozna. Zaradi različne sestave in razvejenosti polisaharidov imajo te makromolekule različno kemijsko sestavo, strukturo, molekulsko maso in topnost v vodi. Na kemijsko sestavo in strukturo bak-

Rod	Tipski sev rodu	Avtorji in leto objave
<i>Acetobacter</i>	<i>A. aceti</i>	Beijerinck, 1898
<i>Gluconobacter</i>	<i>G. oxydans</i>	Asai, 1935
<i>Acidomonas</i>	<i>A. methanolica</i>	Urakami s sod., 1989
<i>Gluconacetobacter</i>	<i>G. liquefaciens</i>	Yamada s sod., 1998
<i>Asaia</i>	<i>A. bogorensis</i>	Yamada s sod., 2000
<i>Kozakia</i>	<i>K. baliensis</i>	Lisdiyanti s sod., 2002
<i>Saccharibacter</i>	<i>S. floricola</i>	Jojima s sod., 2004
<i>Swaminathania</i>	<i>S. salitolerans</i>	Loganathan in Nair, 2004
<i>Neoasaia</i>	<i>N. chiangmaiensis</i>	Yukphan s sod., 2006
<i>Granulibacter</i>	<i>G. bethesdensis</i>	Greenberg s sod., 2006
<i>Tanticharoenia</i>	<i>T. sakaeratensis</i>	Yukphan s sod., 2008
<i>Ameyamaea</i>	<i>A. chiangmaiensis</i>	Yukphan s sod., 2010
<i>Neokomagataea</i>	<i>N. thailandica</i>	Yukphan s sod., 2011
<i>Komagataeibacter</i>	<i>K. xylinus</i>	Yamada s sod., 2013
<i>Endobacter</i>	<i>E. medicaginis</i>	Ramírez-Bahena s sod., 2013



Preglednica 1: Seznam rodov ocetnokislinskih bakterij na dan 1. oktobra leta 2013 (<http://www.bacterio.net/>).

Slika 2: Rast ocetnokislinske bakterije na gojišču Frateur. Nastala kislina raztopi kalcijev karbonat (CaCO_3) v gojišču, kar vidimo kot prozorno območje okoli namnožene biomase bakterij. Foto: Janja Trček.



Slika 3: Encimska kompleksa alkohol dehidrogenaza (ADH) in aldehid dehidrogenaza (ALDH) sta vključena v ocetnokislinsko oksidacijo in pričvrščena na zunanjo stran notranje citoplazemske membrane. Nad encimoma sta označena koencima, pirolokinolin kinon (PQQ) in molibdopterin (Moco), ki sodelujeta pri posamezni stopnji oksidacije etanola v ocetno kislino.

terijskih polisaharidov vplivajo tudi sestava namnoževalnega gojišča in razmere namnoževanja bakterij (Freitas s sod., 2011).

Ocetnokislinske bakterije so bile v zadnjih letih pogosto najdene kot simbionti v prebavilih več žuželk, na primer v vinski mušici (*Drosophila melanogaster*), komarju (*Anopheles*, *Aedes*), čebeli (*Apis mellifera*), škržatku (*Scaphoideus titanus*) in volnati uši (*Saccharicoccus sacchari*). Za te skupine žuželk je značilno prehranjevanje s hranili, ki so bogata s sladkorji (nektar, sadni sladkor). Ocetnokislinske bakterije niso nujno potrebne za preživetje teh žuželk, zato niso primarni simbionti, vendar njihova vloga v gostiteljski žuželki še ni povsem znana. Zelo verjetno pa so ocetnokislinske bakterije vključene v zagotavljanje hranil gostitelju, zniževanje vrednosti pH v prebavilih gostitelja, s čimer ustvarjajo razmere za zaščito pred škodljivimi mikroorganizmi, ali/in v vzdrževanje raznolikosti mikrobiote v žužkah ter tako zagotavljanje ustreznih hranil koristnim mikroorganizmom gostitelja. Razširjenost in raznolikost ocetnokislinskih bakterij v posameznih tkivih različnih vrst žuželk sta zanimivi področji raziskovanja, ker bi se ta znanja lahko uporabila za zatiranje žuželk ali pa tudi za nadzorovanje prenosa tistih bolezni, ki jih prenašajo posamezne žuželke (Crotti s sod., 2010).

Med ocetnokislinskimi bakterijami pa najdemo tudi vrste, ki so spodbujevalci rasti rastlin. To povezujemo z različnimi lastnostmi ocetnokislinskih bakterij, na primer s sposobnostjo pretvorbe zračnega N_2 v

NH_4^+ , obliko, ki jo rastlina lahko uporabi kot vir dušika, nastajanjem fitohormonov in raztapljanjem mineralov. Prve ocetnokislinske bakterije s sposobnostjo vezave zračnega N_2 so bile izolirane iz tkiva sladkornega trsa, kasneje pa so bile najdene tudi v rizosferi (območje neposredno okoli koreninskega sistema rastlin) kavovca, sladkega krompirja, riža, ananasa, manga, banan, korenja, čaja, redkve, rdeče pese, pa tudi v koreninah in steblih riža. Kljub spodbudnim rezultatom raziskav je uporaba pokazala, da je vezava N_2 pri teh endofitskih bakterijah odvisna od bakterijskega seva kot tudi od lastnosti rastline (vrste, kultivarja, starosti in tako dalje), zunanjih razmer rasti ter kakovosti zemlje, zato so pred nadaljnjo široko uporabo potrebne dodatne raziskave (Pedraza, 2008). Ocetnokislinske bakterije so desetletja opisovali kot varne in nepatogene bakterije. Leta 2004 pa je bilo prvič objavljeno, da vrsto *Asaia bogorensis* povezujejo z vnetjem potrebušnice pri bolnici, ki je imela vstavljen kateter. Dve leti kasneje so iz oteklih bezgavk bolnikov s kronično granulomatozno boleznijo (okvara nevtrofilov, ki ovira uničenje patogenov) izolirali in opisali novo vrsto ocetnokislinske bakterije, *Granulibacter bethesdensis*, za katero so dokazali, da povzroča limfadenitis (vnetje bezgavk), vročino in izgubo teže pri teh bolnikih. Kasneje so bile ocetnokislinske bakterije, tudi rodova *Acetobacter* in *Gluconobacter*, pogosto opisane kot vir okužb pri bolnikih s kroničnimi boleznimi (na primer cistična fibroza) in ljudeh s stalno vnesenimi medicinskimi aparati

(na primer kateter). Danes zato v literaturi to skupino bakterij opisujejo kot pogojno patogene bakterije. To je še posebej zaskrbljujoče zato, ker so ocetnokislinske bakterije ubikvitarni organizmi, kar pomeni, da jih najdemo povsod v naravi, predvsem pa na rožah in sadju v tropskem in zmernem podnebju, zaradi česar lahko domnevamo, da je hrana pomemben vir prenosa teh bakterij na človeka. Večina do sedaj izoliranih sevov ocetnokislinskih bakterij iz kliničnih vzorcev pa je odpornih proti več antibiotikom, kar pomeni težavo pri zdravljenju okužb s temi bakterijami (Alauzet s sod., 2010).

Zaradi velikega števila ekoloških niš, ki jih ocetnokislinske bakterije naseljujejo, lahko pričakujemo, da bo v prihodnjih letih opisanih še več novih rodov in vrst. Genetski elementi, kot so plazmidi, insercijske sekvence in transpozoni, ki jih pogosto najdemo pri tej skupini bakterij, jim omogočajo uporabo različnih načinov prenosa genov, hitro prilagajanje na nova okolja in razvoj novih vrst. Tudi njihove metabolne lastnosti še niso povsem raziskane, zato lahko pričakujemo odkritje novih uporabnih lastnosti ocetnokislinskih bakterij. Zaradi vsega tega bo skupina ocetnokislinskih bakterij v prihodnjih letih zagotovo ostala zanimiv predmet raziskovanja.



Janja Trček je doktorirala leta 1999 s področja mikrobiologije na Univerzi v Ljubljani. Zatem se je izpopolnjevala na različnih podpodročjih mikrobiologije na Univerzi ETH-Zürich, Univerzi Ludwig Maximilian v Münchnu, Univerzi Yamaguchi na Japonskem in nazadnje na Inštitutu Karolinska v Stockholmu. Od leta 2012 je redno zaposlena kot visokošolska učiteljica na Oddelku za biologijo Fakultete za naravoslovje in matematiko na Univerzi v Mariboru, kjer se ukvarja z biologijo in genetiko prokariotov.

Literatura:

Alauzet, C., Teyssier, C., Jumas-Bilak, E., Gouby, A., Chiron, R., Rabaud, C., Counil, F., Lozniewski, A., Marchandin, H., 2010: *Gluconobacter* as well as *Asaia* species, newly emerging opportunistic human pathogens among acetic acid bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 48: 3935-3942.

Asai, T., 1968: *Acetic acid bacteria*. Tokio: University of Tokyo Press. 343 s.

Cleenwerck, I., De Vos, P., 2008: *Polyphasic taxonomy of acetic acid bacteria: An overview of the currently applied methodology*. *International Journal of Food Microbiology*, 125: 2-14.

Crotti, E., Rizzi, A., Chouaia, B., Ricci, I., Favia, G., Alma, A., Sacchi, L., Bourtzis, K., Mandrioli, M., Cherif, A., Bandi, C., Daffonchio, D., 2010: *Acetic acid bacteria, newly emerging symbionts of insects*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 6963-6970.

Deppenmeier, U., Ehrenreich, A., 2009: *Physiology of acetic acid bacteria in light of the genome sequence of *Gluconobacter oxydans**. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 16: 69-80.

Freitas, F., Alves, V. D., Reis, M. A., 2011: *Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications*. *Trends in Biotechnology*, 29: 388-398.

Pedraza, R. O., 2008: *Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria*. *International Journal of Food Microbiology*, 125: 25-35.