

MİKROORGANİZMALARDA ÜREME VE ÜREME EĞRİSİ

Yeni bir ortama ekilen mikroorganizmalar ürerler. Belirli aralıklarla belli miktardaki hücre sayısı / yoğunluğu vb. ölçülecek olursa zaman içerisinde mikroorganizmada belirli bir artış olduğu , yine zaman içerisinde bu artışın sabit kaldığı , sonrasında da bu artışın düştüğü gözlenir.

İşte besiyerinde mikroorganizmanın, besiyerine alışması, üremesi, ve ölümüne bağlı olarak mikroorganizma sayısı/yoğunluğu vb. nin zamana karşı grafiğe aktarılmasıyla üreme eğrisi elde edilmiş olur.

Kesikli (Kapalı)Üretim’de

Üreme eğrisi genelde 4 ana dönem halinde incelenir.

- 1.Lag Fazı- Gecikme Dönemi- Adaptasyon Fazı
2. Log Fazı- Logaritmik Artış Fazı
3. Durgunluk Fazı
4. Ölüm Fazı

1.Lag Fazı- Gecikme Dönemi- Adaptasyon Fazı

Bu dönemde bakterinin üreme hızı 0’dır. Hücrelerin yeni ekildikleri besi yerinde üremek için gerekli enzim ve enzim sistemlerini sentezledikleri –besiyerine adapte oldukları- fazdır.

Lag fazının kısa ya da uzun geçmesi :

1.M.o nın Lag fazını kısa ya da uzun geçirmesi besiyeri kompozisyonu ile yakından ilişkilidir.

Mikroorganizmanın bulunduğu-bir önceki -besi yeri ile yeni ekildiği besiyeri kompozisyonu ve üretim koşulları benzer ya da aynı ise m.o kısa bir adaptasyon fazı geçirir.

2. Lag fazının uzun ya da kısa olması ayrıca ekilen m.o nın hangi fazda olduğu ile de ilişkilidir. Örneğin m.o logaritmik artış dönemindeyken alınıp ekilmişse lag fazı çok kısa olur hatta görülmeyebilir.

2. Log Fazı veya Logaritmik Artış Fazı

M.o nın üremeye başladığı dönemdir. M.o adapte olduğu besiyerinde hızla üremeye başlar. Üreme hızı değişmez – sabittir-ancak pozitiftir.

Jenerasyon süresi: Hücre sayısının 2 katına çıkma süresidir.

Jenerasyon sayısı (g): M.o sayısının 1saatte kaç kez 2 katına çıktığını gösterir.

g: $\log N - \log N_0$

$\log 2$

Örn: Bir bakteri 20 dakikada bir bölünüyorsa ;

g (generasyon sayısı): $60/20 = 3$ olur.

3. Durgunluk Fazı

Hücre üremesi olur. Ancak aynı zamanda besin maddesi , toksik maddelerin birikmesi ve yer sıkıntısı nedeniyle hücre ölümleri de olur.

Bu nedenle yeni hücre sayısı kadar ölen hücre olur ve bu dönemde üreme hızı 0'dır.

4. Ölüm Fazı

Bu dönemde besin maddesi tamamen bitmiştir, toksik maddeler iyice birikmiş ve yer sıkıntısı belirgin hale gelmiştir. Dolayısıyla ölen m.o sayısı üreyenden fazladır.

Bu durumda üreme hızı sabit ancak negatiftir.

Diğer Üreme Çeşitleri:

DIAUXIC (Difazik) ÜREME

Mikropsal üremede kesikli üreme eğrisi dışında da üremeler görülebilir. Örnek üzerinden açıklamak gerekirse ortama 2 farklı karbon kaynağı koyulduğunda mikroorganizma öncelikle kolay kullanabileceği karbon kaynağını kullanır. Bu karbon

kaynağı bittiğinde de 2. C kaynağını kullanma hazırlıklarına yani 2.lag evresine geçer ve üreme eğrisini normal bir şekilde tamamlar.

(1.lag-1.log-2.lag-2.log-durgunluk-ölüm şeklinde)

SENKRONİZE (Eş zamanlı)ÜREME

Bir kültürde m.o ların her biri üreme siklusunun farklı dönemlerinde olabilir ve bazı çalışmalarda kültürdeki her bir hücrenin aynı anda bölünüyor olması gerekebilir. İşte kültür içindeki her bir hücrenin aynı anda bölünmesine senkronize üreme denir.

senkronize üreme 3 şekilde sağlanır:

1. Durgunluk fazındaki kültür taze b.yerine alınırsa hücreler 2 kez senkronize ürerler
2. Pneumococlar düşük ve yüksek sıcaklıkta 1 kaç kez tutulup sonra taze b.yerine ekilirse senkronize ürerler.
3. *E.coli*'nin timin defekti uzun süre timin içermeyen ortamda tutulup sonra timinli ortama geçirilirse canlı kalanlar senkronize ürerler.

Ancak;

Bu yöntemlerden hangisi uygulanırsa uygulansın üreme ancak 1-4 siklus senkronize devam eder sonra hücreler yine gelişigüzel üremeye devam ederler.

SÜREKLİ ÜREME

M.o. üremesinde farklı fazların olmasının nedeni, besin maddesinin tükenmesi ve bazı toksik maddelerin birikmesi ve yer sıkıntısı sonucu olmaktadır. Eğer bir kültürde hücreler logaritmik artış döneminde iken ortama sürekli taze ortam ekleyip aynı miktarda eski kültür ortamdan uzaklaştırılacak olursa m.o.lar sürekli logaritmik artış döneminde tutulmuş olur ve sürekli üretim böylece sağlanmış olur. Ve üreme eğrisi şekil değiştirmiş olur:

Sürekli üretim sanayi için gereklidir ve 2 şekilde yapılır:

- 1. Kemostat tipi sürekli üretim:** Yeni –taze – b.yerinin eklenip eskisinin uzaklaştırılması mevcut bir maddenin(bir kimyasalın) azalma oranına göre yapılır.
- 2. Turbidostat tipi sürekli üretim:** Bulanıklık esas alınır . Fotosel ile ortamın bulanıklığı tayin edilir. Bulanıklık aynı zamanda üremenin bir belirtisidir. Bulanıklık artınca otomatik olarak taze besi yeri eklenir, eski b. Yeri de uzaklaştırılır

ÜREMENİN ÖLÇÜLMESİ

1.Direkt Yöntemler

a.Kuru Ağırlık Yöntemi: sabit hacimdeki kültürde üreyen m.o.nın kurutulup tartılması esasına dayanır. Öncelikle filtre kağıdı kurutulup tartılır ve darası alınır. Sonra sabit hacimde üretilmiş kültür bu filtre kağıdından süzülür kurutulur ve tartılır. Aradaki fark kuru ağırlık yöntemiyle üremeyi verir.

Bu yöntem bakteri dışında miçelial veya filamentöz yapıdaki fungusların üremelerinin ölçümünde uygundur.

b.Coulter Sayıcısı ile Sayım: Bu sayıcıda bulunan bir delikten süspansiyon halindeki hücrelerin geçisi sağlanır. Sıvı geçtikçe içindeki m.o.lar sayılır.

c.Direkt Sayım Yöntemi: Sayım için özel lamalar (hemositometre, toma lamı) kullanılır. Bu yöntemle hem canlı hem de cansız m.o bir arada sayılır. Yani total hücre sayımı yapılmış olur.

d.Boyalı Sayım Yöntemi:Bu tür sayımlarda kullanılan özel boyalar sayesinde canlı ve cansız m.o. lar ayrı ayrı sayılabilir.

2.İndirekt Yöntemler

a.Kimyasal İçerik Artışının Saptanması: M.o. üremesine bağlı olarak kültür ortamındaki hücresel karbon, azot ve protein artışları ölçülerek bir sonuca varılabilir.

b.Enzim Miktarındaki Artışın Saptanması: Bazı enzimlerin artışı m.o.nın üremesine bağlı olarak yükselir. Enzim aktivitesi ölçülerek m.o. üremesi karşılaştırılır.

c.Ürün Artışının Saptanması: Örn: laktik asit bakterileri üremeye bağlı olarak laktik asit yaparlar. Bu durumda laktik asit ölçülerek üreme ile dolaylı yoldan bağlantı kurulur.

d.Spektrofotometrik Yöntem: Bakteriler için en uygun yöntemdir. M.o. üremesine bağlı olarak oluşan bulanıklığı ölçme esasına dayanır. Sıvı kültürde bulanıklığın artması üremenin artışını işaret eder. Bulanıklık ölçmede spektrofotometre denen aletler kullanılır.

e.Plak Yöntemi: Canlı her bir hücrenin agar plağında 1 koloni oluşturma esasına dayanır. Hücre sayısını belirlemek istediğimiz süspansiyonun seri dilüsyonlarından belli bir hacmi agar plağına ekilir her bir canlı hücrenin bir koloni yapmasından yola çıkarak ana solüsyonun içindeki canlı bakteri sayısı dilüsyon da hesaba katılarak hesaplanır. Doğru sayım için 300-400 koloni sayımı uygundur.