

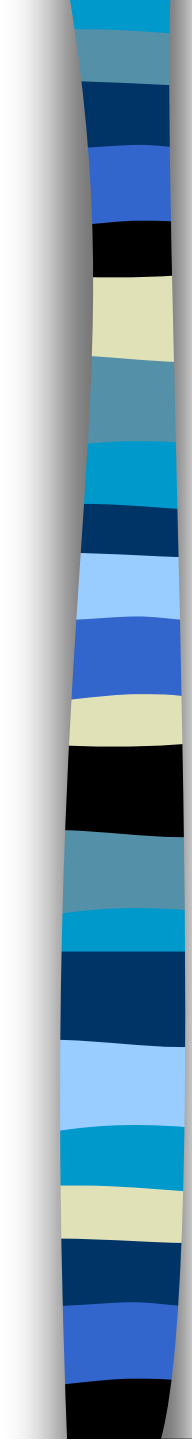
Genel Mikrobiyoloji

Bu ders notunun hazırlanmasında aşağıda belirtilen kaynaktan bire bir yararlanılmıştır.

KAYNAK: Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi, (Ed: Madigan, M. T., Martinko, J. M.), eviri Editörü: kmř, C., Onbirinci Baskıdan eviri, Palme Yayınevi, Ankara, 2010, ISBN: 9786055829629

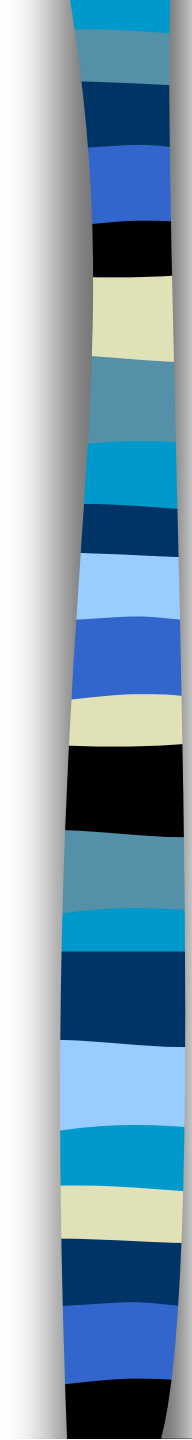
Bakteri Popülasyonun Çoğalması

- Bir hücrenin iki hücre oluşturması “generasyon” olarak tanımlanırken bunun gerçekleşmesi için gerekli zaman “generasyon zamanı” olarak adlandırılır.
- Bu zamanda ayrıca hücre kütlesi de iki katına çıkmış olur.

- 
- Generasyon zamanı mikroorganizmalar arasında büyük farklılık gösterir.
 - Herhangi bir organizmanın generasyon zamanı büyük ölçüde büyüme ortamına ve kullanılan inkübasyon koşullarına bağlıdır.
 - Doğadaki mikrobiyel ikilenme zamanı laboratuvar kültüründe gözlemlenenden çok daha uzun olabilir.

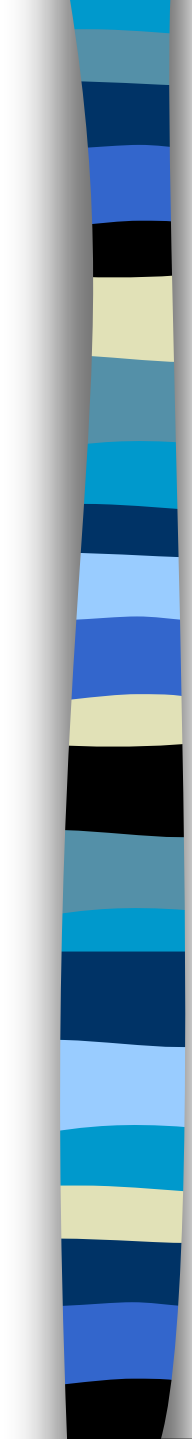
Logaritmik Üreme

Düzenli zaman aralıkları ile hücre sayısının ikiye katlandığı popülasyon artışı “logaritmik üreme” olarak adlandırılır.

- 
- Logaritmik üremede hücre sayısındaki artış hızı başlangıçta yavaş olmakla birlikte, sonradan daha hızlı artar.
 - Bu durum üremenin daha sonraki aşamalarında nüfus patlamasına neden olur.

Üreme Döngüsü

- Kesikli kültür olarak adlandırılan tüp veya erlen gibi kapalı bir kap içerisindeki üreme durumunda logaritmik üreme ilelebet gerçekleşmez.

- 
- Bunun yerine hücre popülasyonuna ait tipik büyüme eğrisi
 - lag fazı,
 - logaritmik üreme fazı,
 - durgun faz ve
 - ölüm fazını içeren tüm üreme döngüsünü ifade eder.

Lag Fazı

- Mikrobiyal popülasyon taze bir besi yerine inoküle edildiğinde gelişme genellikle "lag fazı" olarak isimlendirilen bir zaman sürecinden sonra başlar.
- Durgun fazdan alınan kültürlerin tamamı çeşitli zorunlu bileşenlerini tüketmiş haldedir ve bunların tekrar sentezlenmesi için zamana ihtiyaç vardır.
- İnokulum; ısı, radyasyon ya da toksik kimyasallar ile muamele neticesinde zarar görmüş (ancak ölmemiş) hücreleri içerdiğinde de lag fazı gözlenir, çünkü hücrelerin bu hasarı tamir etmesi için de zaman gereklidir.
-
- Lag faz, popülasyonun zengin kültür ortamından zayıf bir kültür ortamına aktarılması durumunda da ortaya çıkar.

Logaritmik Üreme Fazı

Logaritmik fazda; mevcut kaynaklara ve diğer faktörlere bağlı olarak her bir hücre iki hücre oluşturmak için bölünür ve oluşan yeni hücreler de iki yeni hücre oluşturmak için bölünür. Bu olay devam eder.

Bu nedenle enzim ya da diğer hücre bileşenleri ile ilgili çalışmalarda çoğu kez “logaritmik fazın tam ortasındaki” hücrelerin kullanılması tercih edilir.

Logaritmik üreme hızı organizmalar arasında ve pek çok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterir.

Durgun Faz

○ Tüp ya da erlen içerisinde gerçekleşen kesikli kültür ortamında logaritmik üreme kısıtlanmıştır.

•

• Tipik olarak organizmanın üremesini kısıtlayan iki faktörden biri ortaya çıkar:

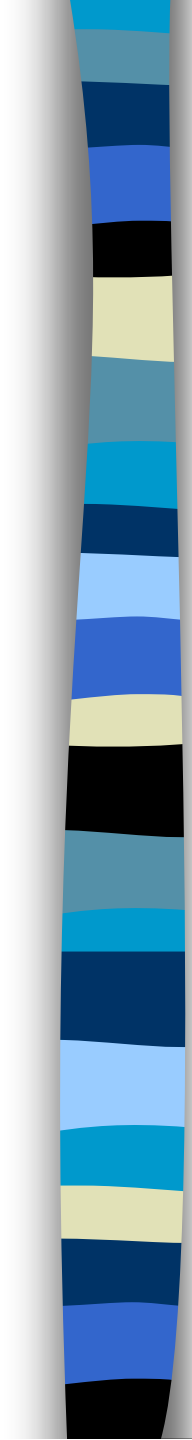
- 1) Kültür ortamındaki zorunlu besinler tüketilir
- 2) Organizmaya ait bazı atık ürünler besi yerinde üremeyi engelleyecek şekilde birikirler.

Ölüm Fazı

- Popülasyon durgun faza ulaştıktan sonra inkübasyon devam ederse, hücreler canlı kalıp metabolik işlemlere devam etmekle birlikte sonuçta ölürlür.
- Bu durumda popülasyon üreme döngüsünün “ölüm fazına” girer.

Toplam Hücre Sayımı

- Popülasyondaki hücre sayısı doğrudan mikroskopik sayım yapılarak ölçülebilir.
- Doğrudan mikroskopik sayım:
 1. Lam üzerinde kurutulmuş örnekte
 2. Sıvı örnekte (özel sayım lamları kullanılır)

- 
- Doğrudan mikroskopik sayımın kısıtlayıcı unsurları:
 - 1. Ölü hücreler canlı hücrelerden ayırt edilemezler
 - 2. Küçük hücrelerin mikroskop altında görülmesi zordur ve bazı hücreleri gözden kaçırabiliriz.
 - 3. Kesin bir değere ulaşmak zordur.
 - 4. Örnek boyanmadığında faz-kontrast mikroskop kullanılması zorunludur.
 - 5. Düşük yoğunluğa sahip hücre süspansiyonları için uygun bir yöntem değildir.
 - 6. Hareketli hücreler sayımdan önce hareketsiz hale getirilmelidir.

Canlı Hücre Sayımı

- Canlı hücre bölünerek yeni hücreler oluşturabilen hücredir.
- Bu nedenle canlı hücre sayısı plak sayısı veya koloni sayısı olarak adlandırılır.



■ Plak sayımı

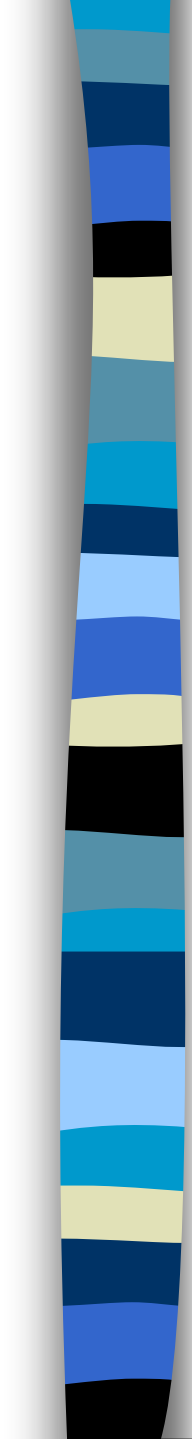
1. Yayma plak yöntemi
2. Dökme plak yöntemi

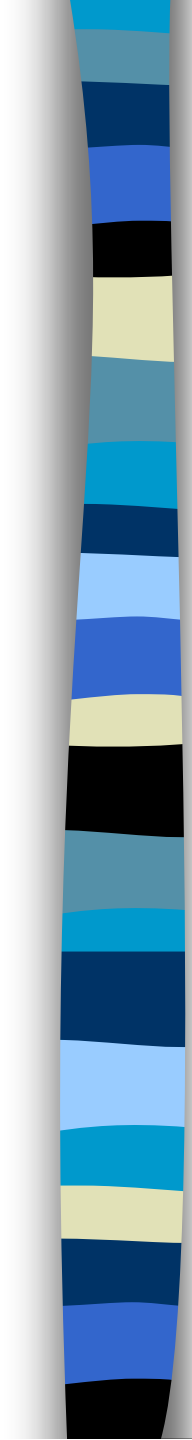
Bulanıklık Ölçümü

- Hücreler süspansiyondan geçen ışığı dağıttıklarından, göze bulanık görülür.
- Ne kadar çok hücre mevcutsa, o kadar fazla ışık dağılır ve süspansiyon oldukça bulanık olur.
- Bulanıklık fotometre veya spektrofotometre cihazlarının kullanımı ile ölçülebilir.

Sürekli Kültür: Kemostat

- Kesikli kültür; üremekte olan organizmanın metabolik aktiviteleri nedeni ile daima değişime uğrayan sabit hacimdeki kültür ortamıdır ve dolayısı ile kapalı bir sistemdir.

- 
- **Sürekli kültür:** Taze besi yerinin sürekli olarak eklendiği ve kullanılan besi yerinin sürekli olarak ortamdan uzaklaştırıldığı ve bu iki işlemin sabit hızla gerçekleştirildiği sabit hacimli açık bir sistemdir.

- 
- **Kemostat:** çok yaygın olarak kullanılan sürekli kültür düzenekleridir. Kemostat kültürlerin hem üreme hızını hem de popülasyon yoğunluğunu eş zamanlı olarak kontrol eder.
 - Bu tür bir kontrolde iki etmen çok önemlidir:
 - 1) seyreltme hızı
 - 2) karbon ve azot kaynağı gibi kısıtlayıcı besinlerin konsantrasyonu

Çevresel etmenlerin mikrobiyal üreme üzerine etkileri

Mikroorganizmaların üremeleri üzerinde etkili pek çok çevresel faktör olmakla birlikte, temelde 4 önemli etmen vardır:

Sıcaklık, pH, suyun mevcudiyeti ve oksijen

Sıcaklık: Mikroorganizmaların yaşadığı minimum , optimum ve maksimum sıcaklıklar birbirinden farklıdır.



- Optimum gelişme sıcaklıklarına göre organizmalar 4 grup altında toplanır:

- **Psikrofiller**
- **Mezofiller**
- **Termofiller**
- **hipertermofiller**

Düşük sıcaklıkta Mikrobiyal Üreme

- **Psikrofil** : 15°C ve daha düşük optimal /maksimum 20 °C nin altında / minimum 0°C veya daha düşük değerlerde gelişir.
- **Psikotolerant**: 0°C yaşayabilen ancak 20-40°C'ler arasında optimum değere sahip organizmalar

Psikrofillerdeki Moleküler Adaptasyon

- Molekül yapıları henüz tam olarak anlaşılmamakla birlikte, soğukta aktif olanların inaktif olanlara kıyasla **daha fazla α -heliks, daha az β -tabaka** içerdiği bilinmektedir.

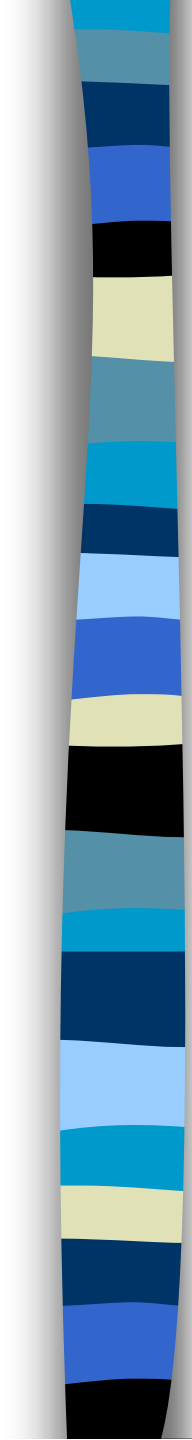
Yüksek Sıcaklık ve Mikrobiyal Üreme

- Enzim yapısında sadece birkaç noktadaki kritik amino asit değişikliği, bu enzimin sıcaklığa dayanıklı üç boyutlu yapı kazanmasını sağlamaktadır.
- Hipertermofillerdeki proteinlerin sıcaklığa dayanıklı olmaları çeşitli amino asitlerin pozitif ve negatif yükleri arasındaki iyonik bağların sayısındaki artışın ve sıkıca paketlenmiş hidrofobik iç kısımlara sahip proteinlerin sulu sitoplazma içinde çözünmeye karşı koymalarındandır

pH, Ozmolarite ve Oksijen'in Mikrobiyal Üreme Üzerine Etkileri

pH

- ❖ Bir çözeltinin asidik ya da bazik oluşu onun pH'sını ifade eder.
- ❖ Her organizma gelişmesi için uygun olan bir pH aralığında ve genelde iyi tanımlanmış olan bir pH optimumuna sahiptir.
- ❖ En iyi gelişimi düşük pH değerlerinde gösteren organizmalara **asidofiller** denir. Fungus grubundaki organizmaların asit toleransları bakterilerden daha fazladır.

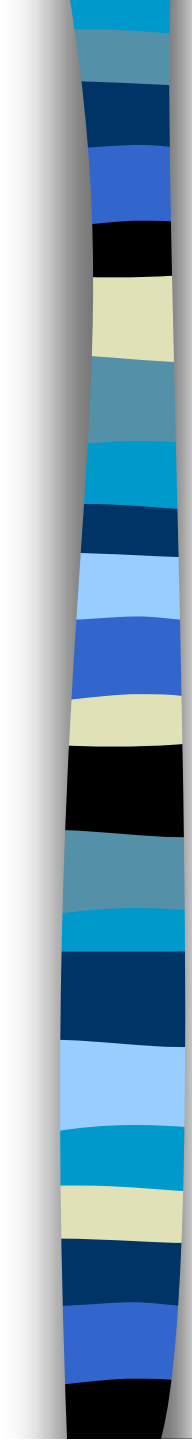
- 
- ❖ Asidofilik olan bakteriler de vardır. Aslında bunların bazıları **zorunlu asidofil** olup, nötral pH'da gelişemezler.
 - ❖ Asidofil olmayı belirleyen kritik etmen sitoplazmik zarın kararlılığıdır.
 - ❖ Bu durum, zarın kararlı olabilmesi için hidrojen iyonu konsantrasyonunun yüksek olması gerektiğini göstermektedir.
 - ❖ Birkaç ekstremofilin pH optimumu oldukça yüksek olup bu değer bazen pH 10 olabilir. Bu organizmalara **alkalifiller** denir.
 - ❖ Alkalifil mikroorganizmalar genel olarak tuz gölleri ya da fazla miktarda karbonat içeren toprak gibi oldukça bazik ortamlarda bulunurlar.

Hücre içi pH

- ✓ **Optimum gelişme pH'sı** sadece hücre dışındaki çevrenin pH değerini ifade eden bir terimdir.
- ✓ **Hücre içi pH değeri** asidik ya da bazik koşullara dayanamayan makromoleküllerin hasar görmesini önlemek için nötrale oldukça yakın bir değerde değişmeden kalmak durumundadır.

Su aktivitesi ve Ozmozis

- ✓ Suyun varlığı genelde “su aktivitesi” gibi fiziksel terimlerle ifade edilmektedir.
- ✓ a_w olarak kısaltılan su aktivitesi, bir bileşik ya da çözelti ile denge halinde olan havadaki buhar basıncının saf suyun buhar basıncına oranıdır.
- ✓ Dolayısı ile bu değer 0-1 arasında değişir.
- ✓ Su konsantrasyonunun yüksek (çözünen konsantrasyonunun düşük) olduğu bölgeden, su konsantrasyonunun düşük (çözünen konsantrasyonunun yüksek) olduğu bölgeye doğru difüze eder.
- ✓ Bu olay **ozmozis** olarak adlandırılır.

- 
- ✓ Organizmalar çok düşük su aktivitesine sahip ortamlarda nasıl yaşarlar?
 - ✓ Bir organizma düşük su aktivitesine sahip bir yerde bulunuyor ise çevresinden su sağlayabilmesi için tek yol; hücre içi çözünen konsantrasyonunu arttırmaktır.
 - ✓ Hücre içi çözünen konsantrasyonu:
 - ✓ 1) inorganik iyonların çevreden hücre içine pompalanması
 - ✓ 2) organik çözünen sentezi ya da bunların konsantre edilmesi ile arttırılabilir.

Oksijen ve Mikrobiyal Gelişme

- ✓ Oksijen suda az çözünür ve su içinde ya da diğer nemli habitatlardaki mikroorganizmaların solunum aktivitelerinden ötürü O₂ hızla tüketilir.
- ✓ Dolayısı ile oksijensiz ortamlar doğada oldukça yaygındır.
- ✓ Aerob
- ✓ Anaerob
- ✓ Mikroaerofil