

KOMMENTARER TILL KAPITEL 6

Skilj mellan tillväxt av en enskild cell och tillväxt av en population av celler. Vid tillväxt av en enskild cell ökar dess storlek och vikt vilket oftast är ett förstadium till själva celledningen. Tillväxt av en population resulterar i att **antalet** celler ökar.

Studier av tillväxt av mikroorganismer innebär i de flesta fall populationsstudier \Rightarrow individuella variationer förbises.

De flesta bakterier förökar sig genom **enkel tudelning**, **jfr fig. 6.1**, enl:

$$1 \rightarrow 2 \rightarrow 4 \rightarrow 8 \rightarrow \dots \rightarrow 2^n$$

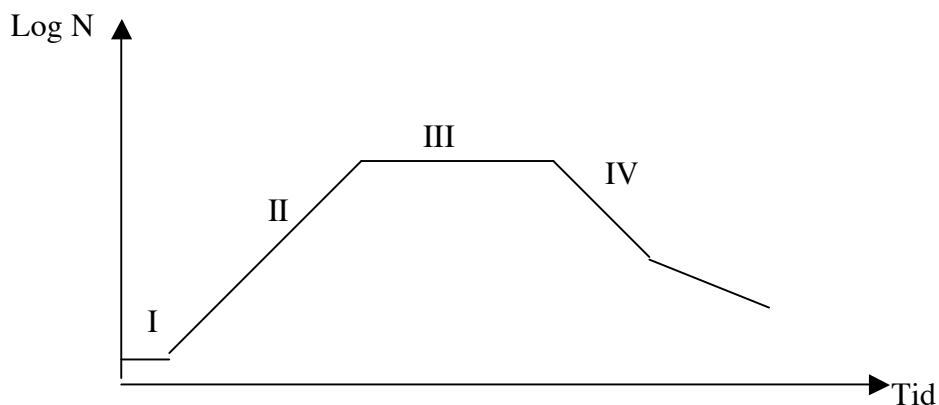
Om - n = antal generationer; N = antal bakterier; N_0 = antal bakterier från början – erhålls följande ekvation:

$$N = N_0 2^n \text{ - exponentiell tillväxt}$$

$g = t/n$; g = generationstiden; t = tid (timmar eller minuter av exponentiell tillväxt)

TILLVÄXTKURVA FÖR BAKTERIER

När man beräknar tillväxt av bakterier använder man sig oftast av ett slutet system - en batchodling = satsvis odling. Man ympar (inoculate) då en kolv med näringsmedium med en renkultur av bakterier. Därefter inkuberar man kolven vid en lämplig temperatur. Prover ur kolven tas vid lämpliga tidpunkter.



N = antal levande bakterier

Olika faser i tillväxten:

- I: Lagfas.** Anpassningsfas. I denna fas ökar inte antalet bakterier utan det sker endast en ökning av cellvolymen. Bakterierna anpassar sig till det näringsmedium som de har ympats till. De gör sig också av med slaggprodukter.
- II: Exponentiell fas.** Här sker det en exponentiell ökning av antalet bakterier. Endast i denna fas kan man beräkna tillväxthastighet och generationstid.
- III: Stationär fas.** I denna fas är antalet bakterier oförändrat - lika många celler dör som nybildas. Här är det maximala cellutbytet. Ympen består i de flesta fall av bakterier som befinner sig i den stationära fasen. Övergången från exponentiell fas till stationär fas kan ha flera orsaker. Det kan ha bildats slaggprodukter som hämmar tillväxten, något näringsämne har blivit begränsande etc.
- IV: Avdödningsfas.** Energikällan är slut. Avdödningsfasen är till en början ofta exponentiell.

Om tillväxtmediet är lämpligt sker en **balanserad tillväxt**, vilket innebär att alla cellkomponenter kan användas för beräkning av tillväxthastighet i den exponentiella fasen. Tillväxtkurvans utseende varierar beroende på vilken typ av cellräknings-metodik man har använt.

Observera att **fig. 6.8** inte är helt riktig. I den röda kurvan där man har räknat antalet levande celler (viable count) saknas lagfasen. För den gröna kurvan har man använt celltätheten, mätt med en spektrofotometer, som cellräkningsmetodik. Med denna metodik kan man inte skilja mellan levande och döda celler och av denna anledning är det svårt att se någon nedgång i avdödningsfasen (även döda celler absorberar ljus). Stationärfasen bör också luta svagt uppåt av denna anledning.

Fig 6-2 och 6-3 visar hur själva celldelningen går till:

- FtsZ finns i alla prokaryoter och i mitokondrier & kloroplaster
- Strukturlikhet med tubilin; celldelningsprotein hos eukaryoter
- FtsZ binder till cellens mitt och polymeriseras till en ring runt cellen
- FtsZ-ringen attraherar andra enzymer och bildar en "divisome"
- Divisomen syntetiserar cellvägg & membraner tills cellen är dubbelt så stor
- FtsZ ringen krymper och formar ett septum
- Till slut bryts ringen ner och cellen delas

OMGIVNINGSAKTORERS INVERKAN PÅ MIKROORGANISMER

Temperatur

En av de faktorer som påverkar mikroorganismer mest. Bakterier som grupp tål större miljövariationer än andra grupper av organismer.

I det här sammanhanget är det viktigt att skilja mellan överlevnad och tillväxt.

Brett område inom vilket mikroorganismer kan växa **-4°C - drygt 100°C**.

Undre gräns: Fryspunkt för intracellulärt vatten + salter.

Övre gräns: Denaturering av proteiner, nukleinsyror etc.

En enda mikroorganism kan inte växa i hela spannet. För en enskild bakterie är spannet **ca 30-40°C**.

Tillväxten styrs av en mängd enzymatiska reaktioner.

Mikroorganismer har en **minimitemperatur**, en **optimumtemperatur** och en **maximumtemperatur**. **Kardinaltemperaturer**. Tillväxthastigheten minskar snabbt vid temperaturer över optimumtemperaturen ⇒ **optimum- och maximumtemperaturen ligger nära varandra, jfr fig. 6.16.**

Minimitemperaturen beror på **transitionstemperaturen för membranet**. Fluiditeten minskar vid sjunkande temperatur - bakterien kompenserar detta genom att öka mängden omättade fettsyror - till slut övergår membranet i ett kristallint stadium ⇒ **transport ej möjlig**. Elektrontransportkedjan fungerar ej.

Det sker en försvagning av hydrofoba bindningar i proteiner + förändring av proteinkonformationen. Allosteriska proteiner är köldkänsliga.

Maximumtemperaturen beror på stabiliteten hos proteiner - katalytisk eller strukturell. Dessutom har membranlipiderna betydelse.

Kardinaltemperaturerna är karaktäristiska för en bakterie men är inte helt fixa - kan förändras av faktorer i omgivningen.

Psykrofiler uppvisar en **hög halt av omättade fettsyror** för att göra membranet mer rörligt medan **termofiler** har en **hög halt mättade** för att stabilisera.

Prokaryoter kan växa vid **högre temperaturer** än **eukaryoter**. **Mindre strukturellt komplexa organismer** kan växa vid **högre temperaturer** än mer **komplexa organismer**. **Icke-fotosyntetiserande** organismer kan växa vid **högre temperaturer** än **fotosyntetiska**.

pH

På samma sätt som för temperatur har mikroorganismer ett **pH-spann** för tillväxt samt ett **pH-optimum**.

De flesta **bakterier** trivs bäst runt ett **neutralt pH**. **Jästsvampar** trivs bäst vid ett **lägre pH (4.7-6.0)** och **mögelsvampar** vid ett **ännu lägre pH (3.9-6.0)**.

Vattenaktivitet

Vatten är den viktigaste beståndsdelen i celler - stora vattenkrav.

En cells vattenbehov beskrivs ofta mha vattenaktiviteten i det medium där cellerna befinner sig.

a_w : Mått på tillgängligt vatten.

Dest.vatten: $a_w = 1.0$

De flesta bakterier: $a_w > 0.9$

Svamp växer vid lägre a_w än bakterier

Jästsvampar: $a_w \approx 0.88$

Mögelsvampar: $a_w \approx 0.80$

Salt och socker sänker vattenaktiviteten

Vissa bakterier kan öka sin interna saltkoncentration för att kunna ta upp vatten (ersätter H_2O). **Kräver energi**. En del organismer bättre än andra \Rightarrow kan växa vid låga a_w .

Halofila bakterier: $a_w \approx 0.75$

Ändring av koncentrationen lösta ämnen ändrar också det **osmotiska trycket**.

Cellväggen utgör ett skydd mot förändringar av det osmotiska trycket.

Ämnen som pumpas in i cellen eller syntetiseras inne i cellen som svar på sänkt vattenaktivitet kallas **compatible solutes** (den engelska benämningen används i detta fall)

Ex. Compatible solutes, jfr tabell 6.3

1. *Halobacterium* - ökar K^+ -koncentrationen inne i cellen
2. Vissa **osmotoleranta jästsvampar** syntetiserar **polyalkoholer** (ex. glycerol, ribitol och arabinitol).
3. Den halofila **algen *Dunaliella*** syntetiserar **glycerol**.

Gasmiljö

CO₂

Måste ibland tillföras för att stimulera tillväxten - speciellt autotrofer.

O₂

Se fig 6.25 som är mycket pedagogisk

Obligata aeroba organismer - många bakterier, de flesta svampar, protozoer, alger.

Fakultativt anaeroba organismer - vissa bakterier och jästsvampar.

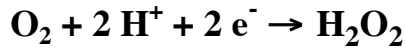
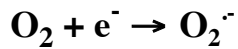
Växer både med och utan syre, men har ett högre energiutbyte med syre, därför är det kraftigare växt vid ytan i rör c.

Obligata anaeroba organismer - vissa bakterier.

Mikroaerofila bakterier - växer vid låga O₂-koncentrationer

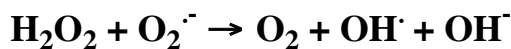
Aerotoleranta bakterier t ex mjölksyrabakterier. Använder inte O₂ men är inte heller känsliga mot det., växer lika bra i hela röret (e).

Varför tål inte alla organismer syre? Vid **reduktionen av O₂ till H₂O** bildas det flera intermediära former t ex **superoxidanjon(O₂^{•-}) och väteperoxid(H₂O₂)**



Både O₂^{•-} och H₂O₂ är kraftiga oxidationsmedel och O₂^{•-} kan dessutom förorsaka lipidperoxidationer

H₂O₂ och O₂^{•-} kan vidare reagera enligt:



Exakt hur denna reaktion sker vet man inte men den katalyseras troligen av metalljoner (järnkelater).

OH[•] kan skada nästan alla molekyler som finns i levande celler t ex hydroxylera purin- och pyrimidinbaser i DNA ⇒ mutationer

Enzymet **katalas omvandlar H₂O₂ till H₂O och O₂, jfr fig. 6.28**

Enzymet **superoxiddismutas** kan **omvandla superoxidjonen, jfr fig. 6.28**

Obligata anaeroba bakterier saknar båda dess enzym.

Vissa fakultativt anaeroba organismer samt aerotoleranta organismer saknar katalas (kan ha peroxidas istället) ev. klarar cellen låga halter av H₂O₂.

Syre är energimässigt den bästa elektronacceptorn men är ”farlig” i det att den ger radikaler som bryter ner proteiner och DNA. Dessa skador på celler gör att de åldras.