اسم المادة : فسلجة أحياء مجهرية **الفصل الدراسي : الاول**

المرحلة :الثالثة/أحياء مجهرية

اسم استاذ المادة :د.ريام فارس صالح **اللقب العلمي : مدرس**

نمو وتكاثر البكتريا Bacterial Growth and Reproduction

تشير كلمة النمو بشكل عام الى الزيادة في الكتلة الخلوية للكائن الحي، بينما التكاثر يشير الى زيادة في العدد للكائنات الحية الا ان في الكائنات الدقيقة كلمة النمو والتكاثر متساوية في المعنى وهي تعني الزيادة في عدد الخلايا، اذ يشير النمو Growth الى الزيادة في عدد الخلايا الكلي وليس الزيادة في حجم الخلية او كتلتها، لذا فانه عند تلقيح وسط غذائي مناسب بمزرعة بكتريا وتحضن تحت الظروف المناسبة فان زيادة هائلة تحصل في أعداد هذه البكتريا أي يحصل لها نمو حيث يعد نمو وتكاثر البكتريا ضروري لاستمرار بقائها اعتمادا على تضاعف معلوماتها الوراثية وعلى قابليتها لتحويل مواد الى المركبات التي تحتاجها في بناء جسمها وتجهيز الخلية بالطاقة.

يتأثر النمو البكتيري بعوامل منها:

1- عوامل الطبيعية: الحرارة- الرطوبة - مثل الحموضة (PH)- مستوى الأوكسجين الخ ...

فمثلا انخفاض درجة الحرارة يؤدى إلى انخفاض معدل النمو البكتيري لذلك الثلاجات تحفظ الاطعمة من البكتيريا بينما الحرارة العالية تقتل البكتريا.

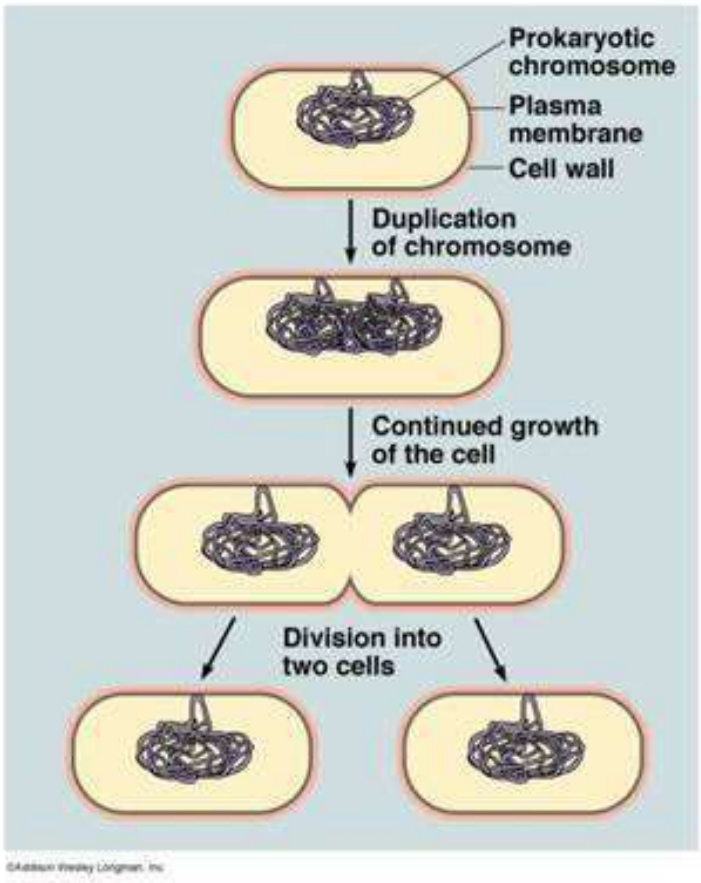
2- عوامل كيميائية: مثل وجود مواد سامة- مغذيات قابلة للتمثيل الغذائي.

3-عوامل حيوية: التنافس بين الكائنات الحية-التطفل- الافتراس.

تتكاثر البكتريا بوساطة الانشطار الثنائي Binary fission اذ تنقسم الخلية المفردة الى خليتين متماثلتين وهي تعد طريقة تكاثر لاجنسي وتعد من اكثر طرق التكاثر شيوعا في البكتريا حيث تحصل زيادة في المحتويات البروتوبلازمية وانقسام للمادة الوراثية ومن ثم يتكون حاجز

عرضي يقسم الخلية الى خليتين وان الخلية الناتجة تحمل صفات الخلية الاصلية وكما موضح في الشكل رقم (1).

توجد طرق اخرى تتكاثر بها البكتريا مثل التبرعم Budding حيث انه ينشأ برعم الصغير من احد اطراف الخلية الام ثم يبدأ البرعم بزيادة حجمه حتى يصبح مماثلا للخلية الأم ثم ينفصل عنه ومن الطرق الاخرى للتكاثر تجزء الخيوط وتكوين الكونيدات.



شكل (1) يوضح الانقسام البكتيري

منحني النمو البكتيري: Bacterial growth curve

يقصد بمنحنى النمو البكتيري الأطوار (المراحل) التي تمر بها البكتيريا أثناء النمو والانقسام اذ من المعلوم ان معدل التكاثر لأغلب أنواع البكتريا سريع ، اذا لقحت خلية بكتيرية واحدة من بكتريا *E.coli* في وسط غذائي وحضنت بدرجة الحرارة المناسبة لنموها فان الخلية الواحدة تنقسم لاثنتين خلال 20 دقيقة واذا استمر معدل النمو بشكل ثابت فان خلال 10 ساعة يصل العدد الى مليار ولكن هذا العدد لا يبقى الى ما لانهاية نتيجة استهلاك المغذيات وإنتاج الفضلات السامة وموت العديد من الخلايا البكتيرية، كما ان البكتيريا تتفاوت اجناسها في سرعة معدل التكاثر فعمر الجيل Generation time هو الزمن اللازم لإتمام دورة الانقسام من خلية أبوية إلى خليتين بنويتين يستدل من خلاله على معدل النمو للكائن و يختلف باختلاف البكتريا ويتراوح مابين (20–60) دقيقة ولكن الأنواع البطيئة يصل عمر الجيل لها الى عدة ساعات كما ان تغييرات شكلية وحجمية تحصل خلال نمو البكتريا على فترات يمكن ان تسجل بشكل منحني يعرف بمنحني النمو.

يتألف منحني النمو من أربعة أطوار:

1- **طور الركود : lag phase** – البكتيريا تكيف نفسها مع ظروف النمو فعند تلقيح البكتريا في مزرعة جديدة فانها تتوقف لفترة عن الانقسام ولا يحصل أي زيادة في أعداد البكتريا وإنما تبقى ثابتة مؤقتا كما مبين في شكل رقم (2) وهذا لا يعني أن الخلايا في سبات تنتج البكتيريا في هذه المرحلة الانزيمات المناسبة من أجل استغلال مصادر الغذاء الجديدة . وتنتج المواد المطلوبة لنموها كالزلاليات والحوامض النووية حيث الخلايا تتهيأ للنمو وتخليق الأحماض النووية وتصنيع الأنزيمات ومرافقاتها تستمر هذه المرحلة حتى تصل البكتيريا إلى درجة إنها تستطيع الانقسام لذا فان الوقت للازم للتهيئة للظروف الجديدة لا يرافقه زيادة في عدد الخلايا.

ان مدة الطور تعتمد على كمية ونوع اللقاح البادئ البكتيري–عمر المزرعة–الوسط المناسب يقصر الطور بزيادة كمية اللقاح المضاف وصغر عمرها وتشابه الوسط الجديد مع القديم بينما

تطول المدة اذا كانت كميه اللقاح قليلة او المزرعة قديمة او مسنة او المزرعة الجديدة تختلف عن القديمة.

2- طور النمو اللوغاريتمي: - Exponential or Logarithmic phase

يزداد عدد الخلايا زيادة اسية وبمعدل ثابت عالي تحت ظروف مثالية للنمو من درجة الحرارة وتوفر المواد المغذية تنقسم البكتيريا بوتيرة ثابتة ويتضاعف عددها في كل جيل .

توصف هذه المرحلة بالرسم على شكل خط متعامد بشكل حاد وتكون جميع الخلايا في هذا الطور متماثلة من حيث الشكل المظهري والفعالية الحيوية والتركيب الكيميائي لذا فأنها تستعمل في الاختبارات الميكروبية في المختبر.

تطول او تقصر مده الطور بفعل عوامل توفر المغذيات ودرجة الحرارة وعدم حدوث تراكم كبير للنواتج الايضية ويمكن ان يطول عمر الطور بإضافة المغذيات الى المزرعة ومعادلة المواد السامة الناتجة عن الايض.

3 - طور النمو الثابت:- Stationary phase -

بسبب زيادة اعداد البكتيريا تسوء ظروف التنمية اذ تتناقص المواد الغذائية وتصبح عاملاً محدداً. يضاف الى ذلك تراكم إفرازات مواد سامة في الوسط الغذائي الأمر الذي قد يغير من درجة الاس pH وفي اعقاب ذلك تقل وتيرة تكاثر البكتيريا ويموت بعضها . في هذه المرحلة يكون عدد البكتيريا الناتجة مساوياً لعدد الوفيات (البكتيريا الميتة حيث ينخفض معدل التكاثر للخلايا ويكون ثابت ليبدا طور الثبات اذ عدد الخلايا الحية يساوي عدد الخلايا الميتة ويمثل النمو بخط مستقيم وليس هنالك زيادة في معدل النمو في هذا الطور وتستمر الخلايا في نشاطها الا انه يكون بطئ ويكون حجم وشكل الخلايا متجانس ويرجع ذلك الى 1) قرب نفاذ او استهلاك المواد المغذية المتوفرة في الوسط

2) انتاج فضلات ومواد ايضية سامة 3) توقف عملية الانقسام كمحصلة لما سبق.

4 – طور الموت death or decline phase :

بعد طور النمو الثابت فان معدل موت الخلايا يكون اعلى من معدل انتاج خلايا وتظهر بشكل خلايا غير منتظمة في الشكل والحجم وهذه الحالة تعود الى

1) نفاذ العناصر الغذائية الاساسية من الوسط تماما

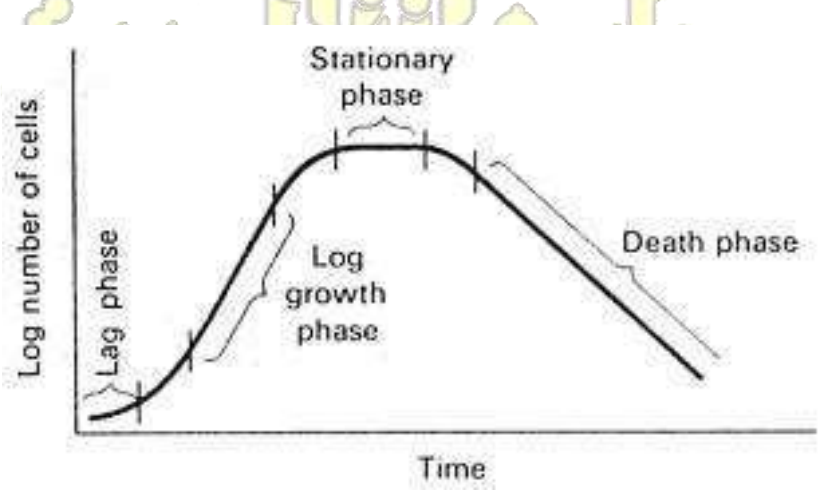
2) تراكم النواتج السامة المثبطة للنمو بشكل كبير

اذ يتناقص عدد الخلايا الحية في هذا الطور بمعدل اسي وعلى عكس المعدل الاسي للنمو المميز لطور النمو اللوغارتمي ويعتمد طول اوقصر الطور هذا على نوع البكتريا.

في نهاية هذا الطور نلاحظ ان معدل الموت للخلايا يقل والسبب يعود الى

1) قلة اعداد الخلايا الحية المتبقية مما يجعل المواد المغذية المتبقية في الوسط تكفي لاستمرار نمو الخلايا الباقية.

2) تصبح خلايا البكتريا الميتة في الوسط مصدرا غذائيا جديدا للخلايا الحية اذا ان بعض الاجناس تموت ببطء بحيث يمكن للخلايا الحية ان تستمر لعدة اشهر وحتى لعدة سنوات.



شكل (2) اطوار النمو للبكتريا

النمو التزامني Synochronous growth

عملية انشطار الخلايا في الطور اللوغارتمي يكون عشوائي وليس متزامن اي ان الخلايا البكتيرية ليست جميعها في مرحلة نمو ومستوى نمو واحد فبعضها في حالة انشطار واخرى انهت الانشطار توا وبين الحالتين مجاميع اخرى في مراحل مختلفة من مراحل النمو وهذا ما يحصل في معظم المزارع

النمو التزامني هو نمو الذي يحصل لجميع الخلايا البكتيرية في المزرعة بوقت واحد وتسمى هذه المزرعة بالمزرعة التزامنية

يحصل النمو التزامني عند نقل خلية من مزرعة لوغارتمية الى وسط غذائي جديد بنفس مكونات الوسط الاول وبنفس الظروف وهنا تنشطر الخلية الى 2 بعد بلوغ عمر الجيل وتكون الخليتان متشابهتان وبسبب هذا التشابه يكون انشطارها متزامن والتزامن يكون تقريبي ويستمر لعدة اجيال

يمكن حث المزرعة على النمو التزامني باستخدام عوامل فيزيائية وكيميائية مثل خفض درجة الحرارة الى الحد الذي يتوقف فيه الانقسام لمدة من الزمن لكن الخلايا مع ذلك تصل الى مرحلة الانشطار ولكنها لاتنشطر وتقف على حافة مرحلة الانشطار وبعد رفع درجة الحرارة فان جميع الخلايا تبدا بالنمو والانشطار بنفس المستوى تقريبا.

الطرق المستعملة في تنمية البكتريا

هناك عدة طرق مختبرية يمكن التحكم بها في تنمية البكتريا منها:

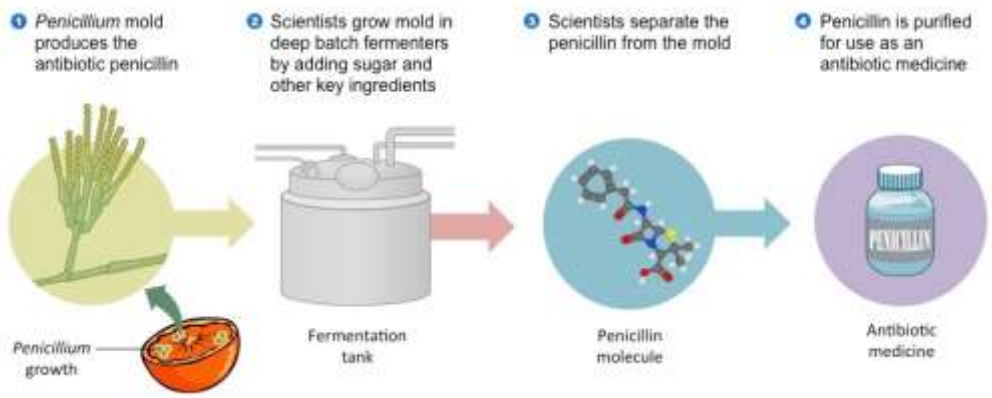
1- مزارع الوجبات او الدفعة: Batch culture

في هذه الطريقة تلقح بيئة طازجة سائلة بعدد من الخلايا البكتيرية المراد تنميتها حيث توفر كمية من المواد المغذية في البداية وتحضن تحت ظروف مناسبة للنمو من درجة حرارة واس هيدروجيني في نظام مغلق فعندها تستعمل الكائنات الدقيقة المغذيات وغيرها من العوامل الاخرى

ومع الوقت تستنفذ وبهده الطريقة تستهلك العناصر الغذائية في الوسط الغذائي في حين تتجمع النواتج الحيوية المطلوبة.

يمكن متابعة صفات منحنى النمو الطبيعي للبكتريا التي تحصل في هذا النوع من المزارع وهذا الأسلوب الأكثر شيوعا المعتمد في الصناعات منها التخمرات باستعمال الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا والفطريات.

ان خصوصية نوعية هذه المزارع تتم باستعمال كميات محدودة من المواد الغذائية لفترة زمنية معينة وسهولة التعامل في إعداد المخمر وكما ان الظروف البيئية داخل المخمر تختلف مع مرور الوقت (غير ثابتة) ومع ذلك، يتم الحفاظ على درجة الحرارة المطلوبة وظروف درجة الحموضة والضغط، وما إلى ذلك بشكل صحيح (تجهيزها قبل المعاملة) لأجل الحصول على المنتج الناجح ولكن تستهلك هذه المزارع وقت ومكلفة من الناحية المادية فعلى سبيل المثال لهذا النوع من المزارع انتاج مضاد حيوي البنسلين من الفطر *Penicillium* كما موضح في الشكل ادناه



الوعاء المستعمل وهو المخمر يكون مغلق لا تضاف اليه أي مغذيات أو غازات أو سوائل لكن بعد انتهاء فترة التخمر المطلوبة، يتم تستعمل هذه المزارع على نطاق واسع لتنقية الفضلات الأبعد الأيض الثانوي مثل المضادات الحيوية والأصباغ، وما إلى ذلك هذه المزارع ليست مناسبة لإنتاج الأيض الأولي.

2- **المزارع المستمرة: Continuous culture**

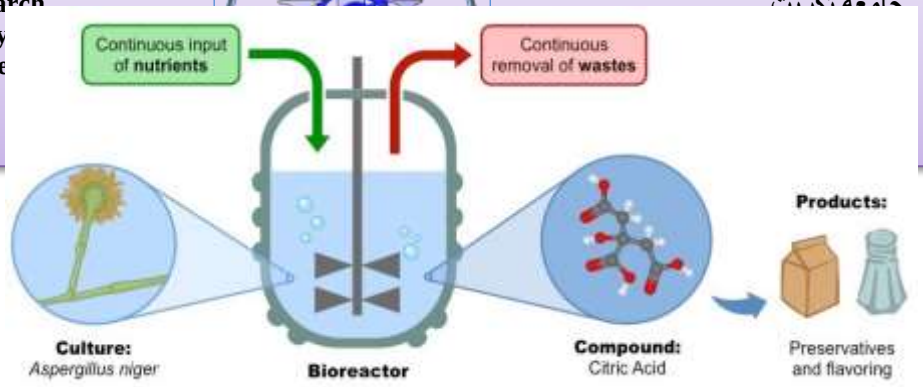
تقنية أخرى لنمو الكائنات الدقيقة وتسمى بالنظام المفتوح open system التي تهدف للحفاظ على استمرارية النمو في الطور اللوغارتمي ويمكن تحقيق ذلك من خلال اضافة المواد الغذائية الطازجة باستمرار مع إزالة المخلفات والنواتج المتراكمة بنفس المعدل والحفاظ على الظروف البيئية الأخرى في القيم المثلى ثابتة.

يفضل المحافظة على نمو البكتريا بمعدل عال وثابت بحيث تبقى الخلايا باستمرار في طور النمو اللوغاريتمي log phase وابطاء وصول الخلايا البكتيرية الى طور النمو الثابت stationary phase يتم ذلك من خلال مراقبة العملية باستمرار والسيطرة على النظام.

تستعمل المزارع في الصناعات التي تتطلب استخراج الأيض الأولي مثل الأحماض الأمينية، والأحماض العضوية، وما إلى ذلك من الكائنات الحية الدقيقة فعلى سبيل المثال انتاج حامض الستريك Citric Acid بالمخمر او المزرعة المستمرة يكون باستعمال الفطر *Aspergillus niger*

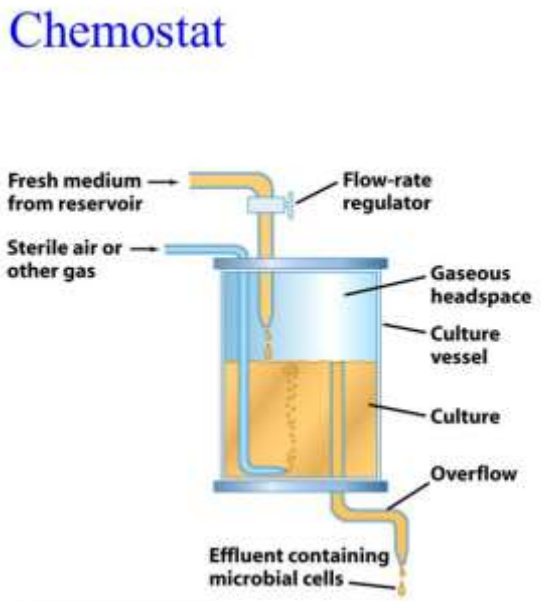
جامعة تكريت

حيث يضاف مادة الأساس Carbohydrates للمخمر بشكل مستمر فينتج الحامض الذي يزال باستمرار من المخمر وكما موضح ادناه.



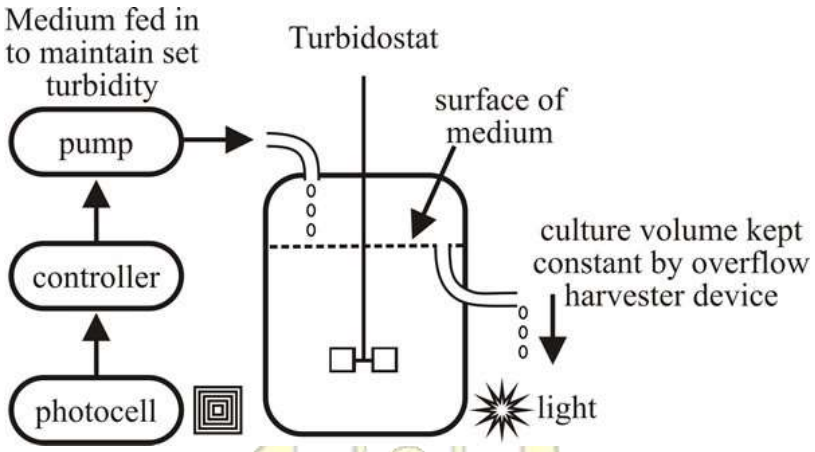
يبنى نظام المزارع المستمرة على احد الأساسين:

1- الحالة الكيميائية : Chemostat – يضاف وسط متجدد باستمرار في الوقت الذي يزال الوسط القديم للحفاظ على حجم الزرع ثابتاً في وعاء النمو . وعلى هذا الأساس يتحكم في معدلي إضافة المادة المغذية الطازجة (معدل التخفيف) و سحب الوسط المملوء بالخلايا الناضجة عند قيم ثابتة محددة من الظروف البيئية للوسط.



ب الحالة العكرة : Turbidostat – ويتم فيها المحافظة على المجموع الخلوي الكلي ثابتا

باستخدام جهاز قياس العكارة في وعاء المزرعة Culture Vessel وفي ضوء ذلك يتم التحكم بمعدل إضافة المادة الطازجة وبمعدل خروج ناتج الخلايا.



أهمية دراسة منحنى النمو:

تفيد دراسة منحنى النمو البكتيري في التعامل مع البكتيريا ومعرفة أوج نشاطها وأطوار نموها المختلفة حيث يفيد ذلك في :

- مجالات المقاومة و/ أو المكافحة.
- الإصابات المرضية.
- فساد الأغذية الميكروبي والتسمم اذ بشكل عام يستفاد من دراسة اطوار نمو الاحياء المجهرية في التحكم في عملية حفظ الاغذية وذلك بمحاولة ابقاء الاحياء المجهرية في طور الركود لاطول فترة ممكنة (lag phase) وذلك باستعمال الحفظ بالتبريد.
- ملاحظة** الطور اللوغارتمي هو أكثر الأطوار حساسية وعرضة للموت بفعل الحرارة أو المواد الكيميائية.