تنمية البكتريا Cultivation of Bacteria

أولا: طبيعية التغذية

تقسم البكتيريا الى مجموعتين رئيستين حسب مصدر الكاربون الداخل في عملية البناء الى:

أ- بكتريا ذاتية التغذية Autotrophic ب- بكتريا غير ذاتية التغذية Hetrotrophic

أ) بكتيريا ذاتية التغذية : Autotrophic

وهذا النوع من البكتيريا بإمكانه توفير احتياجاته الكربونية من مصادر لاعضوية باستعمال ثانى أكسيد الكربون الجوى ومن هنا فهى تعيش مستقلة غير معتمدة على غيرها.

وتقسم بكتيريا ذاتية التغذية Autotrophic الى قسمين حسب مصدر الطاقة المستخدم الى:

1- بكتيريا ذاتية التغذية الضوئية Photoautotrophs

مثل البكتيريا الخضراء أو القرمزية التي تحتوي الكلورفيل البكتيري فهي قادرة على القيام بعملية البناء الضوئي باستخدام الطاقة الشمسية

2- البكتيريا ذاتية التغذية الكيميائية Chemoautotrophs

هي نوع من البكتيريا التي تحصل على الطاقة اللازمة لاختزال ثاني أكسيد الكربون عن طريق اجراء بعض التفاعلات الكيميائية و في كل الحالات تنطلق طاقة نتيجة الأكسدة تستفيد منها البكتيريا ذاتية التغذية الكيميائية في تثبيت ثاني أكسيد الكربون في مركبات كربوهيدراتية .

امثلة على البكتيريا ذاتية التغذية الكيميائية
بكتيريا الكبريت الكيميائية
بكتيريا الحديد الكيميائية
بكتيريا النتروجين الكيميائية
ومنها بكتيريا النيتروزوموناس تستفيد من أكسدة الأمونيا في تثبيت ثاني أكسيد الكربون
وبكتيريا الأزوتوباكتر التي تحول النيتروجين الى مواد عضوية مفيدة

ب) البكتيريا غير ذاتية التغذية:**Hetrotrophic**

تعد غالبية انواع البكتيريا غير ذاتية التغذية ، حيث تستمد الطاقة اللازمة لبناء مادتها البرتوبلازمية من تكسير مواد عضوية من الكائنات الحية الأخرى .

وتقسم الى أنواع:

البكتيريا التي تعيش رمية Saprophytic مثال - بكتيريا التحلل

البكتيريا التي تعيش متطفلة Parasitic مثال - جميع البكتيريا المسببة للأمراض.

البكتيريا التي تعيش معيشة تكافلية Symbiotic مع غيرها من الأحيـاء مثال - بكتيريا العقد الجذرية

ثانيا: الظروف البيئية

1- الاكسجين

البكتيريا الهوائية Aerobic Bacteria : تعيش في وجود الأكسجين و لا تستطيع العيش بدونه مثال : بكتيريا الألتهاب الرئوي

ب) بكتيريا لا هوائية Anaerobic Bacteria : تعيش في غياب الأكسجين الحر، بل أي كمية منه تعتبر قاتلة بالنسبة اليه . مثال بكتيريا التيتانوس و بكتيريا الكلوستريديوم

ج) بكتيريا اختيارية Facultitative aerobes : تستطيع النمو في وجود الأكسجين الحر - أو غياب الأكسجين الحر مثال : بكتيريا التفوئيد و بكتيريا الكوليرا.

د) بكتريا لاهوائية بوجود الاوكسجين Aerotolerant anaerobes : بكتريا لاهوائية تنمو بوجد الاوكسجين ولكن تتحسس اذا ارتفاع مستواه اكثر من 2%.

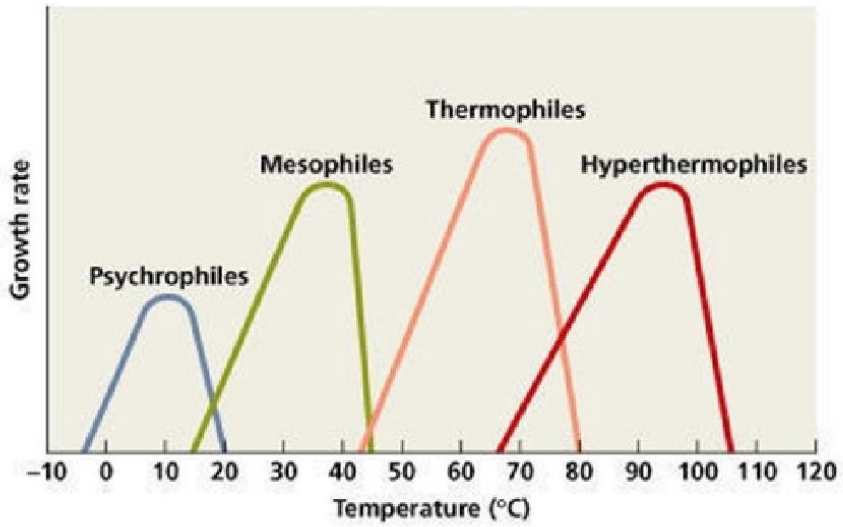
2- درجة الحرارة Tempreture:

1- **Psychrophilic:** تنمو في درجات حرارة اقل من 10م° مثل *Flavobacterium* spp. وبعض أنواعها يستطيع العيش تحت درجة حرارة -20 م°.

2- **Mesophilic:** تنمو مابين 20-40 م°

3- **Thermophilic:** تنمو في درجات حرارة اعلى من 60 م°

4- **Hyperthermophile:** تعيش بين درجة حرارة 70 الى 125 م° مثل بكتريا *Pyrococcus furiosus* التي تعيش تحت درجات حرارة 100 م°



3- حموضة الوسط (pH):

تنمو البكتريا في مديات مختلفة من تركيز ايون الهيدروجين في الوسط الذي تعيش فيه وقسمت الى ثلاثم مجاميع حسب الدرجة المثلى من الحموضة .

أولا: البكتريا المحبة او اليفة الوسط الحامضي Acidophilic

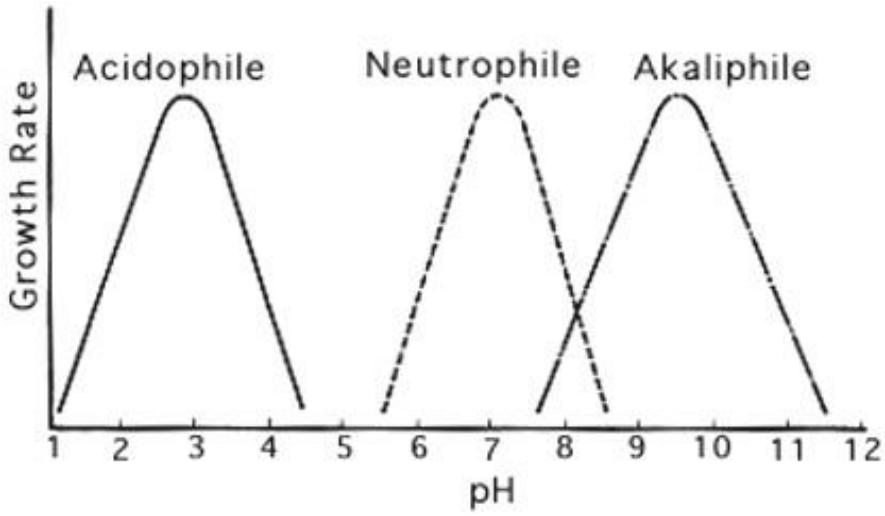
تركيز الوسط اقل من 5 مثل بكتيريا حامض اللاكتك

ثانيا: البكتريا المحبة او اليفة الوسط المتعادل Neutrophilic

ويكون بين 6-8 ومعظم البكتريا تنمو في هذا المستوى من التركيز مثل بكتريا العقد الجذرية

ثالثا: البكتريا المحبة او اليفة الوسط القاعدي Akaliphilic

الـpH بين 8.5 - 10.5 مثل *Vibrio* spp

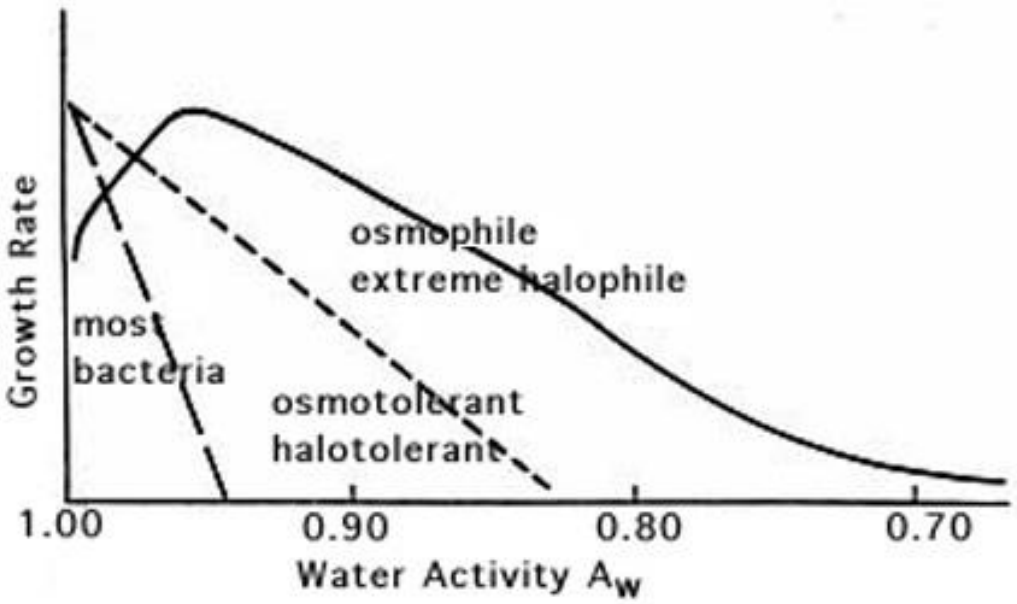


Organism	Minimum pH	Optimum pH	Maximum pH
Thiobacillus thiooxidans	0.5	2.0-2.8	4.0-6.0
Sulfolobus acidocaldarius	1.0	2.0-3.0	5.0
Bacillus acidocaldarius	2.0	4.0	6.0
Zymomonas lindneri	3.5	5.5-6.0	7.5
Lactobacillus acidophilus	4.0-4.6	5.8-6.6	6.8
Staphylococcus aureus	4.2	7.0-7.5	9.3
Escherichia coli	4.4	6.0-7.0	9.0
Clostridium sporogenes	5.0-5.8	6.0-7.6	8.5-9.0
Erwinia caratovora	5.6	7.1	9.3
Pseudomonas aeruginosa	5.6	6.6-7.0	8.0
Thiobacillus novellus	5.7	7.0	9.0
Streptococcus pneumoniae	6.5	7.8	8.3
Nitrobacter sp	6.6	7.6-8.6	10.0

4- ازموزية الوسط او توفر الماء الحر:

1- المحبة للملوحة Halophites: والتي تعيش في مدى من التركيز الملحي بين 10 - 20% مثل Staphylococcus aureus

2- Extreme halophites: والتي تعيش في مدى من التركيز الملحي بين 15 - 30% .



ثالثا: النمو والتكاثر Growth and Propagation of Bacteria

نمو وتكاثر البكتريا

عادة يشير النمو البكتيري إلى الزيادة في عدد الخلايا الكلي وليس الزيادة في حجم الخلية او كتلتها ,تتكاثر البكتريا بوساطة الانشطار الثنائي binary fission والذي فيه تنشطر الخلية المفردة إلى خليتين متماثلتين وهو أسلوب تكاثر لاجنسي وتعد من اكثر طرق التكاثر شيوعا في البكتريا كما وتتكاثر بعض انواع البكتريا بطريقة التبرعم budding مثل بكتريا *Hyphomicrobium vulgare* وقليل من البكتريا تتكاثر بواسطة تكوين الكونيدات مثل بكتريا *Streptomyces* spp. ويتكاثر بعض انواع البكتريا الخيطية بواسطة عملية التجزئة fragmentation مثل بكتريا *Nocardia* spp.

وهنالك طريقة للتكاثر الجنسي يطلق عليه الاقتران

منحني النمو الطبيعي

اذا لقحت خلية بكتيرية واحدة في وسط غذائي وحضنت بدرجة الحرارة المثالية للنمو فان الخلية تبدي خواص منحني النمو الذي يتكون من اربعة اطوار -:

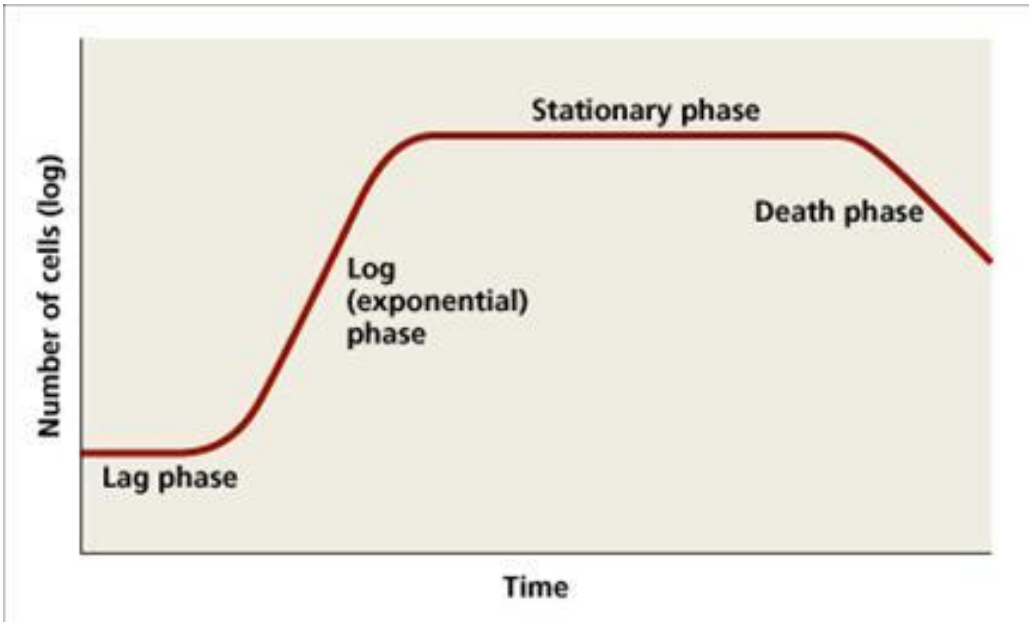
1- **طور الركود: lag phase** لاتزداد اعداد الخلايا في هذا الطور ولكن تبقى ثابتة مؤقتا ولكنها ليست في حالة سبات لكونها في حالة من الاستعداد للنمو والعمل على تخليق الاحماض النووية والانزيمات ومرافقات الانزيم حيث لايرافقه زيادة في عدد الخلايا

2- طور النمو: اللوغارتمي exponential or logarithmic phase
يزداد عدد الخلايا زيادة اسية وبمعدل عال تحت الظروف المثالية من درجة الحرارة وتوفر الغذاء وتكون الخلايا البكتيرية في هذا الطور متماثلة من حيث التركيب الكيميائي والفعالية الحيوية .لذا تستخدم في هذا الطور لاجراء الاختبارات المايكروبيولوجية

3- طور النمو الثابت Stationary phase
يتباطا معدل تكاثر الخلايا في هذا الطور الان خط النمو يبقى مستقيما و ليس هناك زيادة في معدل النمو ويرجع ذلك الى قرب نفاذ المادة الغذائية واحتمالية انتاج مواد ايضية سامة نتيجة النمو فيتوقف الانقسام نتيجة لماسبق ويتساوى معدل الموت مع معدل النمو.

4- طور الموتDeath phase :

في هذا الطور يكون معدل موت الخلايا اعلى من معدل انتاج خلايا جديدة وهذه الحالة تعود الى نفاذ المواد الغذائية الاساسية من الوسط وتراكم المواد السامة المثبطة للنمو وفي نهاية ها الطور يقل معدل موت الخلايا وسبب ذلك يعود الى قلة اعداد الخلايا الحية المتبقية مما يجل باقي المواد الغذائية في الوسط يكفي لاستمرار نشاطها وتصبح الخلايا الميتة في الوسط مصدرا غذائيا جديدا للخلايا الحية



الأهمية التطبيقية لمنحنى النمو:

يعتبر ذا اهمية قصوى في التعامل مع البكتريا بالذات في مجالات مقاومة البكتريا ،الإصابات المرضية ،فساد الأغذية الميكروبي ...الخ ، بصفة عامة فان الخلايا عندما تكون في اوج نشاطها فانها تكون اكثر عرضة للتاثر بالعوامل التي تؤدي الى تعطيل عمليات الايض والتكاثر في الخلية ومن الناحية المرضية فان الخلايا في الطور النشط تكون اكثر ضراوة وامراضية مقارنة بتلك في الاطوار المتاخرة ويفضل ان تتم عمليات التصبيغ لدراسة الخلايا في مرحلة الطور النشط (باستثناء صبغ الجراثيم) .

Reproduction:التكاثر

يتم التكاثر في البكتيريا بعدة طرق :

أولا: التكاثر اللاجنسي:

1- **التكاثر بطريقة الانشقاق الثنائي** :Binary fission يحدث هذا النوع من الانقسام في الظروف الملائمة وفيه تستطيل الخلية البكتيرية وتتخصر عند وسطها ويستمر هذا التخصر حتى تنفصل الخلية الى خليتين ويتم هذا في فترة لا تتجاوز العشرين دقيقة فى بعض أنواع من البكتيريا بينما قد تستغرق خمس أو ست ساعات في أنواع أخرى

2- **التكاثر بتكوين الجراثيم الكونيدية : Conidia** يحدث هذا النوع في فصائل خاصة من البكتيريا (Streptomycetaceae) .ويتم التكاثر عن طريق سلسلة من الجراثيم الكونيدية التي تنشأ نتيجة لظهور جدر فاصلة في الأجزاء الطرفية للخيوط . وينتمى الى هذه الفصيلة جنس Streptomyces التي تنتج بعض أنواع الاستربتومايسين والكلورومايستين وغيرها من المضادات الحيوية الميسينيةMycenic . antibiotics

ثانيا: التكاثر الجنسي Sexual Reproduction

تم التعرف على هذا النوع من التكاثر فى البكتيريا بواسطة المجهر الالكترونى ، حيث تبين وجود جسر يصل ما بين بكتيريتين عضويتين وتنتقل المادة الوراثية خلال هذا الجسر من بكتيريا الى اخرى بل وجد ان بعض البكتيريا تدفع بمادتها الوراثية الى بكتيريا اخرى من نفس النوع وتعرف البكتيريا التى تنتقل منها المادة الوراثية باسم البكتيريا الذكرية والبكتيريا التى تستقبل الصبغات باسم البكتيريا الانثوية.

رابعا: ايض البكتريا Metabolisms of bacteria

عمليات الايض في البكتريا

تعرف التفاعلات الايضية للخلية بانها مجمل مايحدث من تفاعلات كيميائية في لخلية لغرض هدم وتحليل المواد الغذائية ومن ثم اعادة بناء مكونات الخلية وتقسم عملية الايض اللى نوعين من التفاعلات تفاعلات الهدم وتفاعلات البناء الانزيمات البكتيرية

ان الانواع البكتيرية التي تقوم بالعديد من التفاعلات الانزيمية تحتوي بالضرورة الى على نظام انزيمي يضم العديد من الانزيمات كل منها يتخصص في تفاعل معين ،فعندما تنمو الخلية البكتيرية في بيئة ما فان النشاط الانزيمي الكيميائي يتمثل في تحليل المواد الغذائية المكونة للبيئة ومن ثم بناء مواد خلوية جديدة ولتحقيق مثل هذه العملية تفرز البكتريا نوعين من الانزيمات

-انزيمات خارجية exoenzymes تقوم بتحليل مواد البيئة

-انزيمات داخليةendoenzymes تقوم بعملية بناء مواد الخلية الجديدة

وان اغلب الانزيمات تتكون من جزئين احدهما ذو طبيعة بروتينية ويعرف باسم apoenzyme والجزء الاخر غير بروتيني ويعرف بالمرافق الانزيمي coenzyme ولاجل سير التفاعل يلزم ان يكون الجزئين متحدين مكونين مايعرف بالتركيب الانزيمي الكامل haloenzyme

اقسام الانزيمات البكتيرية

تقسم الانزيمات البكتيرية تبعا للتفاعلات التي تقوم بها كعوامل مساعدة فمثلا الانزيمات التي تقوم بازالة الهيدروجين تسمى dehydrogense والتي تقوم بازالة مجموعة هيدروكسيل تسمى decarboxylase وتمتلك الخلية البكتيرية عدد كبير من الانزيمات التي تقوم بالمساعدة في العديد من التفاعلات مثل

1- تفاعلات الاكسدة والاختزال oxidation and reduction

كيميائيا يطلق على المادة تأكسدت إذا ما فقدت الكترونات واختزلت اذا اكتسبت الكترونا وعلى العموم اذا تاكسدت مادة معينة فبالمقابل هناك مادة تختزل لان الالكترونات التي تفقدها مادة تكتسبها مادة اخرى وهي عموما تحصل بمساعدة الانزيمات المزيلة للهيدروجين dehydrogenase enzymes وان عملية الاكسدة ليست مقتصرة على اتحاد المواد بالاوكسجين فانواع اخرى من البكتريا تنمو في غياب الاوكسجين ولكنها قادرة على الحصول على طاقتها بعملية الاكسدة البيولوجية اللاهوائية التي لاتستعمل الاوكسجين والتي تسمى بالتخمر fermentation اما الاكسدة البيولوجية الهوائية تسمى بالتنفس respiration

2- تفاعلات التحلل المائي hydrolysis

انزيمات التحلل المائي تعمل على تحليل البروتين الى احماض امينية والدهون الى احماض شحمية وجلسرين والكاربوهيدرات الى سكريات متعددة وسكريات احادية

3- تفاعلات ازالة مجموعة الأمينdeamination

وهي تتم على مرحلتين فعلى سبيل المثال يقوم انزيم L-glutamic acid deaminase بازالة الهيدروجين من الحامض الاميني ومن ثم يحدث تحلل مائي محررا الامونيا

4-زالة مجموعة الكاربوكسيل decarboxylation

حيث تتم ازالة مجموعة الكاربوكسيل من الاحماض الامينية بواسطة انزيمات carboxylase

حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية Antibiotic Sensetivity

لوحظ ظاهرة تثبيط الاحياء المجهرية لنمو بعضها البعض من قبل باستور وقبله بقليل . واطلق الباحثون بعد ذلك كلمة التثبيط الحيوي (Antibiosis) على تلك الظاهرة وسموا المادة المثبطة بالمضاد الحيوي (Antibiotic) والمضادات الحيوية عبارة عن مركبات عضوية تتكون في الاحياء المجهرية خلال عمليات الايض بصورة عرضية كمركبات ثانوية ، وهي ليست لها وظيفة محددة

داخل الخلية الجرثومية ولها تاثير مثبط لنمو كائن دقيق اخر او قاتل له بتركيز واطئ ولكل منها مجموعة خاصة من الاحياء المجهرية التي تتاثر بها عند العلاج

لاحظ (Alexander Fleming) عام 1928 ظاهرة التثبيط الحيوي في بكتريا الـ S. aureus حول نمو الفطر Pencillium كما وجد ان الراشح الماخوذ من مزارع الفطر ذاته مثبط لنمو العديد من المكورات الموجبة لصبغة غرام . وتم تنقية مادة البنسلين اثناء الحرب العالمية الثانية بدافع الحاجة لماسة للعلاج

تدعى الكيمياويات المضادة للجراثيم والمستعملة في المواد العلاجية او الدوائية (Chemotheraputic agents)

.

من اهم الجراثيم المنتجة للمضادات الحيوية هي الجراثيم العائدة الى الرتبة (Actinomycetales) والجنس Streptomyces هو الاكثر انتاجا للمضادات الحيوية والاكثر استعمالا في صناعتها .

من اهم الطرق المستخدمة في فحص الحساسية للمضادات الحيوية:

1- طريقة التخفيف (التراكيز المختلفة من المضاد في الوسط الزرعي السائل

.

2- طريقة الانتشار :

وتضم الثانية طريقتين شائعتي الاستخدام في مختبرات الإحياء المجهرية وهما

أ- طريقة الحفر في الاكار

ب- طريقة أقراص المضادات الحيوية كما في الشكل أدناه