الفصل الثالث

مراجعة بعض خواص البكتيريا

- التوزيع
- الشكل
- الحجم
- الحركة
- التكاثر في البكتيريا

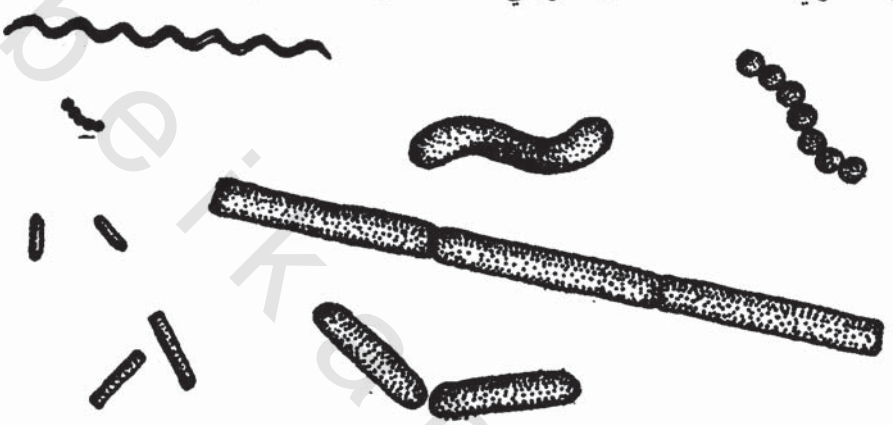
وهي أحياء دقيقة يلزم المجهر لرؤيتها، وحيدة الخلية، وهذا يعني أن الخلية تكون نظاما متكاملا A complete system، ولها القدرة على القيام بجميع الوظائف الفسيولوجية اللازمة التي عادة ما يقوم بها أعضاء وأجهزة وأنسجة معقدة التركيب في الكائنات الحية الأخرى.

التوزيع Distribution

توجد في كل مكان تقريبا، وتوجد بكثرة حيث تكثر المواد العضوية بصورة ميسرة لها، فهي توجد بأعداد هائلة في التربة ومياه الصرف الصحي، والنباتات والحيوانات وفي الهواء الذي نستنشقه وفي الماء الذي نشربه وعلى الملابس التي نلبسها وعلى أجسامنا مباشرة وفي أجسامنا ويمكن القول إنها يمكن أن توجد في كل مكان تقريباً.

الشكل Shape

تتخذ البكتيريا عدة أشكال (الشكل رقم ١)، فمنها الكروي Coccus، والعصوي Rod bacillus، والحلزوني Spiral and Spiral helix .



الشكل رقم (١). بعض أشكال البكتيريا الشائعة في الأغذية

الحجم Size

صغير جدا ولذا يقدر حجمها بالميكرون، والميكرون (μ) يساوي:

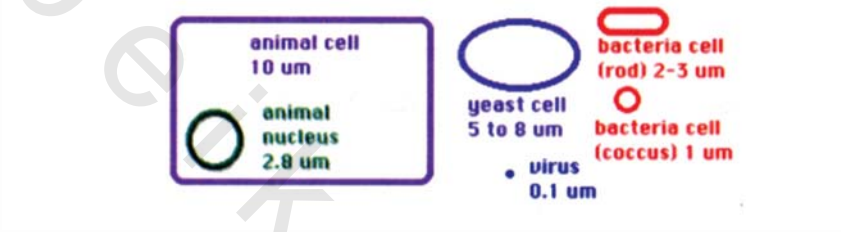
٠,٠٠٠٠٠١ من المتر (١×١٠^{-٦}) = ٠,٠٠١ (١×١٠^{-٣}) مم. وهناك اختلاف هائل في الحجم بين أصغر بكتيريا وأكبر بكتيريا، وعلى العموم فإن:

متوسط قطر الكروية يراوح ما بين ٠,٥ ميكروناً وميكرونٍ واحد

متوسط طول العصوية ١,٥ ميكروناً

متوسط قطر العصوية ٠,٥ ميكروناً

وبالرغم من أن غالبية البكتيريا يقل طولها عن ميكرونين إلا أن هناك بعض البكتيريا التي قد يزيد طولها على ٢٠ ميكروناً. والشكل رقم (٢) يوضح حجم البكتيريا بالنسبة لبعض خلايا الكائنات الحية.



الشكل رقم (٢). يوضح الحجم النسبي لبعض خلايا الكائنات الحية.

وعلى العموم فإن المجهر ضروري لرؤيتها ؛ وذلك لأن العين المجردة يمكن أن ترى شيئا طوله ٤٠٠ ميكرون ولهذا فإن ميكروبا طوله ٠,٢ ميكروناً يلزم له مجهر له القدرة على التكبير ٢٠٠٠ مرة حتى يمكن رؤيته بالعين.

وبالمناسبة فإنه بالمجهر الإلكتروني يمكننا رؤية أشياء ذات قطر أو طول ٠,٠٠١ ميكرونا والسبب في هذا أنه بقوة التكبير والتي قد تبلغ ٤٠٠٠٠٠ مرة يمكن الوصول إلى ٤٠٠ ميكرون (٤٠٠٠٠٠ × ٠,٠٠١ = ٤٠٠ ميكرون).

الحركة Motility

جميع البكتيريا لها القدرة على إحداث حركة اهتزازية Vibratory movement عندما تكون موجودة في وسط سائل، وهذه الحركة تعرف بالحركة البراونية Brownian movement . بعض البكتيريا تحدث حركة انزلاقية Gliding movement، كما أن بعضها يحدث حركة حقيقية بواسطة أسواط Flagella (والمفرد Flagellum).

التكاثر في البكتيريا

تتكاثر البكتريا بالانشطار البسيط Simple fission أو ما يعرف بالانشطار الثنائي Binary fission وهذا هو السبب في تكاثر البكتيريا في وقت قصير جدا ؛ لأن النضج يكون بعد الانشطار أي أن الخلية التي تنشطر يكون لها القدرة على التكاثر بدورها، وهذا يعني أن خلية واحدة، يمكن أن ينتج منها ٤٠٩٦ خلية بعد ١٢ انقساما. فلو افترضنا أن الانقسام يحدث كل ٢٠ دقيقة، لاحتجنا إلى أربع ساعات فقط للوصول إلى هذا العدد (الجدول رقم ١) أما التكاثر الجنسي فغير معروف بين البكتيريا إلى الآن.

الجدول رقم (١). يوضح السرعة الهائلة التي تتكاثر بها البكتيريا.

عدد الانقسامات	عدد الخلايا	عدد الأجيال
١	١	صفر
٢	٢	١
٣	٤	٢
٤	٨	٣
٥	١٦	٤
٦	٣٢	٥
٧	١٢٨	٦
٨	٢٥٦	٧
٩	٥١٢	٨
١٠	١٠٢٤	٩
١١	٢٠٤٨	١٠
١٢	٤٠٩٦	١١

obeikandl.com

حسابات النمو في البكتيريا

كما أسلفنا فإن البكتريا تتكاثر بالانشطار النصفي (أي عند توافر الظروف فإن كل خلية تنشطر إلى نصفين) كل منهما يبدأ بالانقسام إذا كانت الظروف مناسبة.

يعرف الزمن اللازم للانقسام بزمن الجيل Generation time ومقلوب هذا العدد يعرف بعدد الأجيال لوحدة الزمن أو ما يعرف بمعدل النمو Growth rate.

ويختلف زمن الجيل للبكتيريا، ويقدر متوسط زمن الجيل بثلاثين دقيقة، ووجد أن زمن الجيل لبعض البكتيريا تحت الظروف المثلى يكون قصيرا جدا يقدر بـ ٨-١٠ دقائق، كما هو الحال بالنسبة لبكتيريا كلوستريديوم بيرفرنجنس *Cl. perfringens* .

لتقدير عدد البكتيريا بعد انقضاء زمن معين يلزمنا معرفة ما يلي:

١- عدد البكتيريا في البداية

٢- معدل النمو أو زمن الجيل

٣- المدة الزمنية

ولتقدير العدد يمكن استخدام المعادلة الآتية:

$$X_t = X_o 2^{kt}$$

حيث X_t عدد البكتيريا في النهاية No. of Bacteria after sometime (t)

K معدل النمو Growth rate

t المدة Length of time

X_o عدد البكتيريا في البداية No. of Bacteria at the beginning (t=0)

هذه المعادلة يمكن تحويلها إلى لوغاريثم عشري لتصبح $\text{Log } X_t = \text{Log } X_0 + 0.301\ Kt$

أما معدل النمو **K** فيمكن إيجاده بالمعادلة التالية:

$$\text{معدل النمو} = \frac{\text{لو العدد في النهاية} - \text{لو العدد في البداية}}{\text{الوقت} \times ٠,٣٠١}$$

$$K = \frac{\log X_t - \log X_0}{t \times 0.301}$$

$$\text{زمن الجيل} = \text{مقلوب معدل النمو} = \frac{1}{K}$$

$$\text{عدد الأجيال} = \frac{\text{الوقت المنقضي}}{\text{زمن الجيل}}$$

مثال:

عدد البكتيريا في البداية $X_0 = 1000$

عدد البكتيريا في النهاية $X_t = 100000$ بعد زمن قدره أربع ساعات

المطلوب حساب معدل النمو وعدد الأجيال.

$$\text{معدل النمـــو} = \frac{\text{لو العدد في النهاية} - \text{لو العدد في البداية}}{\text{الوقت} \times ٠,٣٠١}$$

= (٥ − ٣) ÷ (٤ × ٠,٣٠١) = ٢ ÷ ١,٢٠٤ = ١,٦٦ انقسام / ساعة

عدد الأجيال = مدة النمو ÷ زمن الجيل = ٤ ÷ ٠,٦ = ٦,٦ جيلاً

تركيب خلية البكتيريا

تتكون الخلية البكتيرية من:

الجدار الخلوي

ويتميز بأنه صلب ويحافظ على شكل الخلية، ويحميها من العوامل الخارجية، كما أن له وظيفة تتعلق بالانقسام. وتصنف البكتيريا إلى مجموعتين وفق تركيب الجدار

obeikandl.com

الخلوي ؛ تتميز المجموعة الأولى ببساطة تركيب جدارها الخلوي نسبيا وسماكته التي تعود أساسا إلى الطبقة السميكة من الببتيدوجليكان Peptidoglycan، مقابل جدار خلوي معقد التركيب نسبيا في المجموعة الثانية، حيث يحتوي على ليبوبروتينات وجلايكوليبيدات. وانعكس هذا الاختلاف على تفاعل الجدارين مع الصبغة المعروفة بصبغة جرام. فالأولى تصبغ باللون البنفسجي، وتسمى الموجبة لجرام، بينما الثانية تصبغ باللون الأحمر، وتسمى السالبة.

الغشاء السيتوبلازمي

غشاء يتكون من طبقتين ويلي الجدار الخلوي مباشرة، وهو غشاء شبه منفذ Semi permeable membrane يتكون أساسا من البروتينات والدهون (ليبوبروتينات Lipoprotein) ويتحكم في دخول المواد الذائبة وخروجها من الخلية وإليها.

السيتوبلازم Cytoplasm

ويشمل منطقة السيتوبلازم الحبيبي، وهي حبيبية Granular المظهر بسبب الرايبوسومات وغنية بالحمض النووي RNA وغنية أيضاً بالبروتين، والجزء السائل الذي يحتوي على العناصر الغذائية الذائبة والجزء الذي يضم المادة النووية والغنية بالحمض النووي DNA.

الأسواط Flagella

تتكون أساسا من البروتين وهي عضو الحركة الحقيقية في البكتيريا.

الحلمات Pili

وهي زوائد لا تستخدم في الحركة بدليل أنها موجودة في البكتيريا المتحركة وغير المتحركة، ويعتقد أن لها وظائف أخرى كالتثبيت والتكاثر.

الكبسولات Capsules

بعض البكتيريا تصنع مواد لزجة من السكرات العديدة تحيط الخلية، يعتقد أنها تقوم بوظيفة أو أكثر مثل الحماية وتخزين الأغذية والماء. ومن ناحية أخرى يزيد وجود المواد الكبسولية من مقاومة الميكروبات الممرضة للأدوية ويزيد من قدرتها المرضية؛ كما يؤثر في قابليتها للصبغ. و وجود مواد لزجة على أسطح المواد الغذائية قد يعني أن البكتيريا من النوع الذي ينتج هذه المواد مثل بعض أنواع جنس باسيلس *Bacillus*.

وفيما يلي استعراض لخطوات الصبغ بطريقة جرام:

١- عند إضافة الجنسيان الأزرق Crystal violet إلى كلا النوعين تصبغ الخلايا باللون الأزرق.

٢- بإضافة محلول اليود يتكون معقد من الجنسيان واليود.

٣- بإضافة الكحول يؤدي إلى سد المسام Pores في جدار الخلية بالنسبة للخلية الموجبة مما يمنع خروج المعقد، وبالنسبة للسالبة يخرج المعقد نتيجة لخروج الدهن بسبب زيادة مسامية الجدار الخلوي.

٤- بإضافة الصفرانين (Safranin) تصبغ السالبة باللون الأحمر أو الوردي بينما لاتنفذ الموجبة الصبغة؛ لذا فإنها تحتفظ باللون الأرجواني Purple.

وزن الخلية البكتيرية

في منتهى الصغر، وفي المتوسط تزن الخلية البكترية حوالي ٢×١٠^{-١٢} جم أي أنه يلزم حوالي ٥×١٠^{١١} خلية لتزن ١ جم، حوالي ٧٠-٨٥٪ منها ماء ونحو ٤٠-٦٠٪ من الوزن الجاف بروتين، وهو الأمر الذي أدى إلى التفكير في استغلال البكتيريا في

إنتاج البروتين، والمعروف ببروتين وحيد الخلية Single cell protein للمساهمة في التقليل من نقص الإمداد الغذائي في بعض مناطق العالم التي تعاني من المجاعات.

أطوار النمو في البكتريا Growth cycle

عند نقل البكتريا من مزرعة إلى مزرعة أو من بيئة إلى بيئة جديدة عادة ما تمر بأطوار أربعة (الشكل رقم ٣) هي:

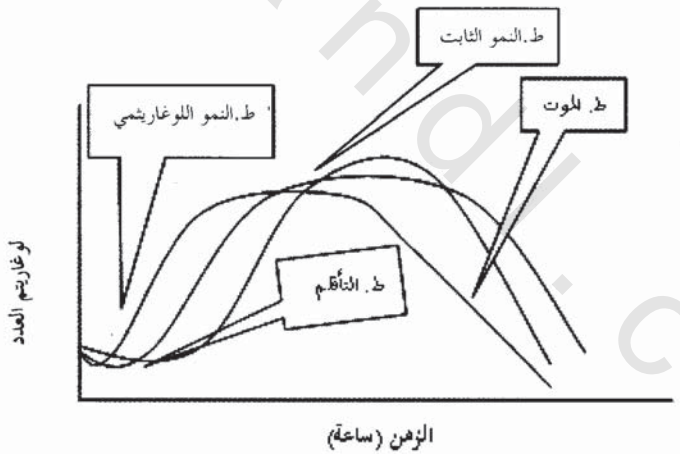
١- طور التأقلم Lag phase

في هذا الطور لا يحدث انقسام للخلية أو أنه يحدث انقسام على نطاق ضيق، وبالمقابل يحدث نمو في حجم الخلايا. و يعتمد طول هذه الفترة وقصرها على البيئة الجديدة المنقول إليها، والظروف البيئية المحيطة، والطور الذي كانت فيه البكتريا قبل النقل، والكمية المنقولة (تركيز الخلايا)، ونوع البكتريا. فإذا كانت البيئة المنقول إليها غنية بالعناصر الغذائية وتفي بمتطلبات الميكروب؛ فإنها تؤدي إلى تقصير فترة هذا الطور والعكس صحيح وإذا كانت الظروف المحيطة -كدرجة الحرارة -قريبة من الظروف المثلى لنمو الميكروب؛ فإن ذلك يؤدي إلى اختصار فترة هذا الطور. ولهذا نعمد إلى التبريد في حفظ المواد الغذائية لإبطاء فعالية الميكروبات في جميع الأطوار بما في ذلك طور الركود. كما أن الطور الذي تكون فيه الخلية الميكروبية عند النقل يلعب دوراً فاعلاً في تحديد الفترة التي يستغرقها طور الركود؛ فالخلية التي تنقل وهي في طور النمو السريع، تأخذ فترة أقل في طور الركود، مقارنة بخلية في طور الركود أو طور الثبات. ولهذا فإنه في التخمرات الصناعية-مثلما يحدث في منتجات الحليب المتخمرة أو في حالة إنتاج الكتلة الحية Biomass-يستخدم بادئ في طور النمو السريع، أي يتم تنشيطه قبل إضافته لحوض التخمر. كما أن لتركيز الخلايا دوراً مهماً أيضاً في تحديد فترة هذا الطور؛ فكلما كان العدد مرتفعاً، كانت فترة هذا الطور أقصر. وأخيراً

وليس آخراً فإن البكتريا تختلف فيما بينها في طول فترة الركود، ويعود هذا الاختلاف لمعدل سرعة النمو Specific growth rate. ولهذا السبب أيضاً يتم اختيار سلالة ميكروبية تتميز بمعدل نمو سريع لاستخدامها في التخمرات الصناعية.

٢- طور النمو اللوغاريثمي Logarithmic Growth phase

وفي هذا الطور تكون الخلايا قد تأقلمت على البيئة الجديدة ؛ لذا تبدأ بالانقسام بصورة ثابتة وسريعة. هذا وتجدر الإشارة إلى أنه في التخمرات الصناعية كمنتجات الحليب، كما هو الحال في البادئات المختلفة Starters تستخدم مزارع وهي في هذا الطور لتقصير فترة الركود أو السبات للإسراع في عملية التخمر وكذلك الحال في التخمرات الصناعية الأخرى مثل إنتاج الكتلة الحية Biomass أو الإنزيمات وغيرها.



الشكل رقم (٣). يوضح أطوار النمو في البكتيريا

٣- طور الانقسام الثابت Stationary phase

وهذا الطور يلي الطور السابق ؛ إذ يحدث من سرعة الانقسام وازدياد العدد أن تستهلك الموارد الغذائية وتكثر المواد الأيضية السامة Toxic metabolites كنتيجة للأيض Metabolism وهذا بدوره يحد من الانقسام وإن كان الانقسام لا يزال

متواصلا إلا أن العدد يظل ثابتا تقريبا في هذا الطور بسبب موت بعض الخلايا. تجدر الإشارة إلى أن مقاومة الخلية الميكروبية للحرارة تبلغ مداها في هذا الطور.

٤- طور الموت Death phase

عندما يزداد النقص في الغذاء وتزداد المواد السامة الناتجة من المخلفات الأيضية إلى مرحلة حرجة تتحول البيئة إلى بيئة سامة للميكروب مما يجعله يدخل مرحلة موت Death. وبعض البكتيريا تلجأ إلى ما يعرف بالتجرثم Sporulation حيث تتحول الخلايا الخضرية إلى جراثيم Endospores تقاوم الظروف المعاكسة وبهذا تحافظ على نوعها.

التجرثم في البكتيريا

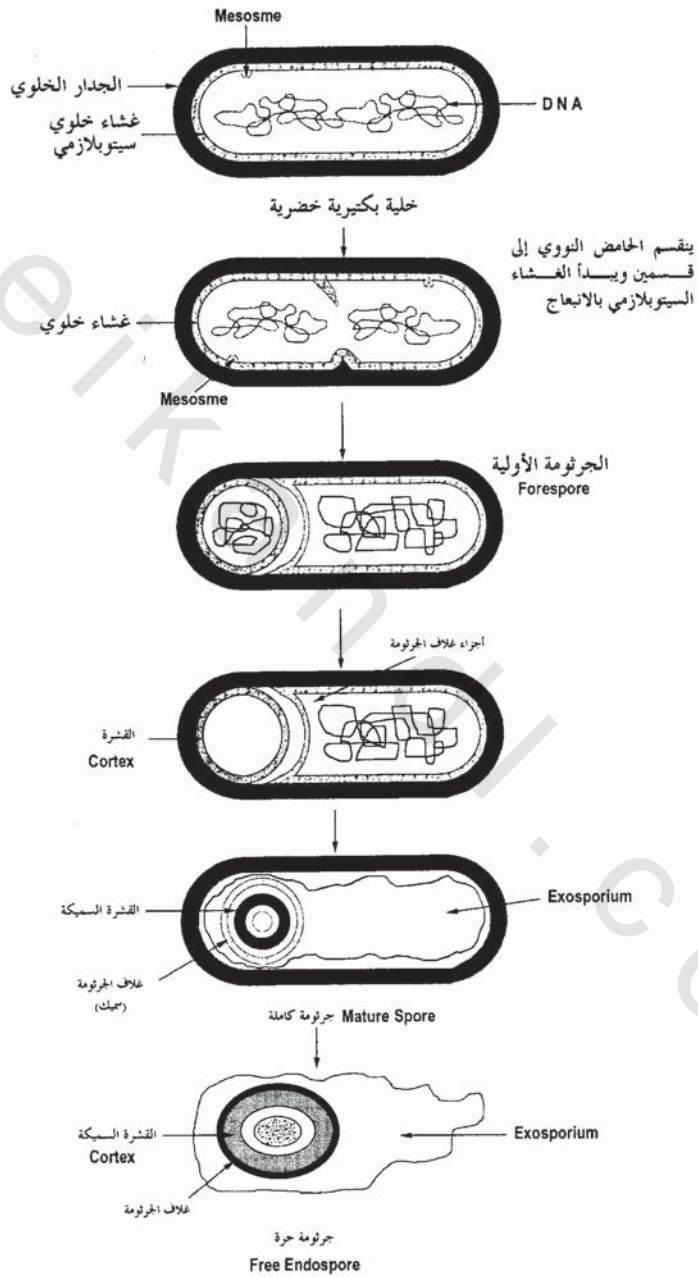
بعض البكتريا ذات الأهمية الغذائية وبالتحديد الأنواع التابعة لجنسي الباسلس والكلوستريديوم لها القدرة على التكشف (أو التحول) تحت ظروف معينة إلى تراكيب خاصة لها القدرة على مقاومة الظروف المعاكسة Adverse conditions للخلايا الخضرية Vegetative cells وتدعى الجراثيم Endospores وتسمى بذلك لأنها تتم داخل الخلية. وهذه التراكيب التي تلجأ إليها بعض البكتيريا تهدف إلى حفظ النوع وليست وسيلة من وسائل التكاثر كما هو الحال في الأعفان والخمائر بدليل أن خلية خضرية واحدة تنبت من الجرثومة. ومن المعروف أن للجراثيم أهمية قصوى في عملية التعليب بسبب مقاومتها الشديدة للحرارة، مما يؤدي إلى أن بعض الجراثيم قد تفلت من عملية التعقيم ومن ثم تعمل على إفساد الأغذية المعلبة أثناء التخزين تحت ظروف خاصة، وقد يؤدي ذلك إلى حدوث تسمم غذائي خطير بسبب تناول مثل هذه المعلبات كما هو الحال بالنسبة للتسمم البوتشليني عن طريق التونة المعلبة. ولهذا فإن الجراثيم البكتيرية تعتبر محل اهتمام دائم للعلماء في مجال الأحياء الدقيقة الغذائي.

يبدأ التجرثم عادة في نهاية طور النمو اللوغاريثمي وأثناء طور الانقسام الثابت بعدما تنفذ المواد الغذائية وبعدما تتراكم المخلفات الأيضية السامة وعندما تتزاحم الخلايا في حيز محدود .

خطوات التجرثم

تنتظم المادة النووية Nuclear material والتي هي عبارة عن شريط من DNA على شكل خيط على طول محور الخلية (الشكل رقم ٤).

وتنقسم مكونات الخلية إلى قسمين غير متساويين مع تقعر في الغشاء الخلوي Invagination of the cell membrane كبداية لانفصال الجزأين حيث يتجه التقعر إلى مركز الخلية إلى أن يحدث انفصال كامل للجزأين. ويبدأ ما يعرف بعملية التخليج Engulfment ليتم احتواء الجزء الأصغر من الخلية داخل غشاءين خلويين خارجي وداخلي Outer and Inner memebranes وهذا ما يعرف ببداية الجرثومة Forespore وعندما تصل مرحلة التجرثم إلى هذه الخطوة يكون التجرثم إجباريا Committed step أي أن البكتيريا ليس أمامها إلا التجرثم متى ما وصلت لهذه المرحلة. ويبدأ تكون ما يعرف بالكورتكس Cortex بين الغشاءين الداخلي والخارجي من الجدار الخلوي فتكتسب الخلية خاصية كسر الضوء Refractility وتحتوي على معقد من حمض ديبي كولينك Dipicolinic acid (DPA) مرتبطا بالكالسيوم. ويتكون غلاف الجرثومة Spore coat من البروتين، ويكون موضعه بعد الغشاء الخارجي. وفي بعض الأنواع تتكون طبقة خارجية تعرف بالإكسوسبوريم Exosporium وبعد ذلك تتحلل بقية الخلية الأم لتتحرر منها جرثومة حرة Free spore تتكون من المركز Core الذي يحتوي على المادة الوراثية الأساسية محاطا بأغلفة خارجية، وتبقى هذه الجرثومة ساكنة Dormant.



الشكل رقم (٤). خطوات التجرثم في البكتيريا.

أهم الخصائص الفسيولوجية والشكلية للجراثيم

١- عملية التجرثم تعتبر معقدة، وما يزال يكتنف الكثير من جوانبها الغموض، وكذلك الجراثيم ؛ فهي تراكيب معقدة تختلف في التركيب كثيرا عن الخلية الأم من حيث التركيب الكيميائي وكذا الخصائص الفسيولوجية.

٢- لها خاصية تشتيت الضوء عن مساره الأصلي، ويعود السبب للغلاف الجرثومي الذي يشكل البروتين المكون الرئيسي له.

٣- تقاوم الحرارة، فعلي الرغم من أن معظم الخلايا الخضرية البكتيرية يقضى عليها بالتسخين عند درجة حرارة ٨٠-٩٠°م، إلاّ أن الجراثيم البكتيرية يمكن أن تعيش في درجة حرارة عالية تصل إلى ١٢٠° م لعدة ساعات، ويعود السبب في ذلك إلى حمض ديبي كولينيك Dipicolinic acid (DPA) وقلة الماء. ولقد وجد أن طفرة *B. subtilis* التي فقدت القدرة على تصنيع DPA فقدت أيضا خاصية مقاومة الحرارة، وتعتبر الحرارة الرطبة ذات فعالية أكبر من الجافة مع مثل هذه الجراثيم.

٤- تقاوم الجفاف.

٥- تقاوم المطهرات الكيميائية.

٦- تقاوم الأشعة، مثل الأشعة فوق البنفسجية وأشعة جاما.

٧- تقاوم الصبغ العادي، ويلزم أساليب صبغ خاصة لها.

٨- ليس لها نشاط أيضي يذكر وتعتبر في حالة سبات أو بيات Dormancy، وقد وجدت جراثيم حية في معلبات لحوم يصل عمرها نحو ١١٨ سنة، بل عثر على جراثيم تحتفظ بحيويتها في مومياء مصرية مرت عليها آلاف السنين.

تنشيط الإنبات

يتم تنشيط إنبات الجراثيم Spore germination التي تعتبر في حالة ساكنة Dormancy بعدة طرق، منها:

١- التعرض للحرارة أو ما يعرف بالصدمة الحرارية Heat shock وهي جرعة حرارية دون الحد اللازم للقضاء عليها Sublethal في حدود ٦٠ - ٧٠°م لعدة دقائق.

٢- عوامل كيميائية مثل مواد ترطيب سطحي Wetting agents والكلور، والمنجنيز، والكوبلت، والفوسفات، والزنك، والادينوسين، والألانين، والجلوكوز، والتيروسين، وحمض اللبن.

يمكن متابعة عملية التجرثم وإنبات الجراثيم بالكشف عنها بمتابعة الخصائص المميزة للجراثيم كخاصية انكسار الضوء Refractility حيث تفقد الجراثيم هذه الخاصية بالنظر إليها باستخدام مجهر خاص يعرف بالمجهر ذي الأطوار المتباينة Phase contrast microscope لتمييز الجراثيم، وتعتمد فكرة هذا المجهر على الحقيقة المعروفة عن انكسار الضوء واختلاف أطواره عند مروره من مادة إلى أخرى مختلفة في الكثافة، حيث ينحرف الضوء عن مساره الطبيعي في حين أن المجهر الضوئي العادي لا يُمَكِّن من تمييز الاختلافات البسيطة في معامل انكسار المواد المفحوصة. وعليه نستطيع عن طريق التحكم في الضوء رؤية التفاصيل الدقيقة التي تختلف في معامل الانكسار. وبعملية الإنبات تفقد الجرثومة خاصية مقاومتها الشديدة للحرارة ومقاومتها للإشعاع والكيماويات الضارة Injurious chemicals ومقاومتها للصبغ العادي، كما أن الجرثومة تنتفخ وينشق غلافها Spore coat وتفقد حوالي ٣٠٪ من وزنها الجاف الذي معظمه عبارة عن كالسيوم وحمض ديبي كولينيك DPA.

عملية التهيئة للنمو Outgrowth

عبارة عن طور تمهيدي للنمو، إذ يتم تهيئة الجرثومة في طور الإنبات للنمو ويتم تصنيع RNA جديد، ثم بروتين، ومن ثم يتكون الجدار الخلوي والأغشية الخلوية. وقبل بدء الانقسام يتم استنساخ الحمض النووي DNA replication.

موضع الجرثومة

تتخذ الجراثيم عدة مواضع داخل الخلية (الشكل رقم ٥)، فهي إما أن تكون:

وسطية Central مثل جراثيم بكتيريا كلوستريديوم بيرفرينجنس *Cl. perfringens* .

أو طرفية Terminal مثل جراثيم بكتيريا كلوستريديوم أسيتيكوم *Cl. aceticum* .

أو تحت طرفية Subterminal أي بين الطرف والوسط مثل جراثيم بكتيريا كلوستريديوم *Cl. botulinum* .

الشكل رقم (٥). يوضح موضع الجرثومة داخل الخلية البكتيرية.

openkandl.com