نمو وتكاثر البكتريا Bacterial Growth and Reproduction

يمثل النمو بشكل عام زيادة في حجم كتلة الكائن الحي في حالة الاحياء متعددة الخلايا كالحيوانات والنباتات التي تنتج عن انقسام الخلايا الجسمية زيادة في حجم الكائن دون حصول زيادة في عدده، اما الاحياء وحيدة الخلية فيمثل النمو فيها زيادة عدد افرادها وعملية الزيادة في عدد الاحياء تنتج عن الانقسام الخلوي فينتج عنه انشطار كل خلية الى اثنتين كما في البكتريا اواكثر احيانا في حالة الفطريات والخمائر المتبرعمة، بالنسبة للنمو البكتيري يتضمن زيادة في الحجم والعدد بنفس الوقت اذ مصطلح النمو والتكاثر متساوية في المعنى تعني الزيادة في عدد الخلايا.

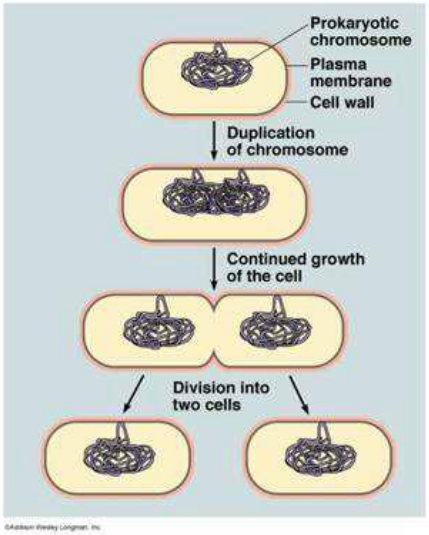
تتكاثر البكتريا بوساطة الانشطار الثنائي العرضي Binary fission فتنقسم الخلية الواحدة الى خليتين متساويتين فتحصل مجموعة من التغيرات في الخلية الام تخدم عملية النمو والتكاثر منها تكوين جدار خلوي عرضي يقسم الخلية الى خليتين وتبدأ عملية الانقسام اولا باستطالة الخلية ثم يحصل استنساخ للمادة النووية والتي تتوزع على نصفي الخلية المنقسمة ثم تنشطر الخلية الى قسمين متماثلين بعد تكون الجدار الفاصل بينهما وكما موضح في الشكل رقم (1).

هناك عوامل تحفز الخلية على الانقسام اذ ان شكل وحجم الخلايا البكتيرية يلعب دورا مهما في الانقسام اذ يزداد حجم الخلية بشكل اسرع من مساحتها السطحية وباستمرار النمو وخاصة في الخلايا الكروية او البيضوية يصبح الفرق بين الحجم والمساحة السطحية كبير جدا وهنا يصبح الغشاء السايتوبلازمي عاجزا عن تجهيز الخلية بحاجتها من الغذاء والمتطلبات الاخرى او تخليصها من الفضلات لذا تصبح الخلية مضطرة الى اعادة التوازن بين الحجم والمساحة ويحصل هذا بانقسامها، اما البكتريا العصوية فان شكل الخلية الاسطواني يعطيها قدرة على الاستطالة الى ابعد مدى مع الحفاظ على قطر الخلية وبذلك تسهل مرور المغذيات.

نمو الاحياء المجهرية مرتبط غالبا بانقسام الخلية ولكن قد يحصل النمو دون حصول انقسام بسبب وجود بعض المؤثرات الخارجية كما في البكتريا العصوية اذ تحصل فيها كل متطلبات الانقسام من استنساخ الحامض النووي وتكون الجدار والغشاء الخلوي والمحتويات السايتوبلازمية الاخرى ولكن لا تنشطر الخلية وانما تستطيل وتصبح بشكل خيوط طويلة غير مجزأة وهنالك الكثير من المواد والعوامل التي تعيق الانشطار وتمنعه من خلال منع او اعاقة تكوين الجدار العرضي في الخلية المنقسمة ومن هذه العوامل الاشعة فوق البنفسجية وبعض الادوية والمضادات

واملاح الصفراء والمعقمات او المنظفات او احداث الطفرات او ازالة بعض المغذيات المهمة من وسط التنمية كل هذه المواد تعيق الانشطار ولكنها لاتمنع النمو.

ان عملية التكاثر في البكتريا لاتتم فقط بالانشطار اذ ان هناك بعض الاجناس ممكن ان تتكاثر بطرق اخرى منها طريقة التكاثر بالتجزأ كما في بعض انواع رتبة actinomycetalase اذ يتكون خيط طويل مجزأ الى وحدات صغيرة الكونيدات او يمكن ان يحصل التكاثر بالتبرعمBudding حيث انه ينشأ برعم الصغير من احد اطراف الخلية الام ثم يبدأ البرعم بزيادة حجمه حتى يصبح مماثلا للخلية الأم ثم ينفصل عنه.



شكل (1) يوضح الانقسام البكتيري

منحني النمو البكتيري: Bacterial growth curve

عند تلقيح وسط زرعي بنوع معين من البكتريا و مع توفير كافة ظروف التنمية تنمو هذه الخلايا البكتيرية المزروعة وتتضاعف بالانقسام وبمعدل ثابت واذا قمنا بحساب معدل النمو والتضاعف من خلال حساب عدد الخلايا او المستعمرات النامية على فترات وتسجل عدد الخلايا المتكونة في كل فترة ثم ترسم علاقة بيانية بين عدد الخلايا المطلق ولوغارتم العدد المطلق من جهة وبين الوقت على المحور الاخر فأننا نحصل على خط بياني للعلاقة وباستمرار رسم العدد المطلق لعدد الخلايا دون استخدام اللوغارتم يؤدي الى تكون خط طويل على طول الورقة يصل الى عدة اميال وهنا يصل عدد الخلايا الى الملايين في الملمتر الواحد اذا استمرت العملية للحساب 24 ساعة ولذا ترسم العلاقة على ورقة بيانية.
لذلك يستعمل الورق البياني لرسم العلاقة وهنا يستخدم لوغارتم العدد البكتيري بدل العدد المطلق وباستمرار حساب الخلايا الى ان تتوقف الزيادة في العدد نحصل على خط بياني يمثل منحنى النمو.

ان منحنى النمو البكتيري الأطوار (المراحل) التي تمر بها البكتيريا أثناء النمو والانقسام اذ من المعلوم ان معدل التكاثر لأغلب أنواع البكتريا سريع وتحصل زيادة في العدد الكلي 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 تسجل بشكل منحني يعرف بمنحني النمو الذي يتألف من أربعة أطوار:

1- **طور الركود : lag phase** - يسمى هذا الطور ايضا بالطور الكامن Latentt. phaseعند تلقيح وسط زرعي معين بنوع بكتيري تحت ظروف مناسبة لايحصل انقساما لهذه الخلايا البكتيرية مباشرة عند زرعها بل تبقى لفترة من الزمن دون تغير او زيادة في عددها ولكن هذا لا يعني ان هذه الخلايا خاملة في هذا الطور بل تمر بسلسلة من النشاطات تنتج البكتيريا في هذه المرحلة الانزيمات المناسبة من أجل استغلال مصادر الغذاء الجديدة . وتنتج المواد المطلوبة لنموها كالزلاليات والحوامض النووية فيزداد حجمها بشكل واضح وتبني جميع المتطلبات البروتوبلازمية اللازمة للانقساما تستمر هذه المرحلة حتى تصل البكتيريا إلى درجة إنها تستطيع الانقسام لذا فان الوقت للازم للتهيئة للظروف الجديدة لا يرافقه زيادة في عدد الخلايا.

هناك عوامل مؤثرة خلال هذا الطور منها نوع البكتريا، حجم اللقاح المضاف ، الظروف البيئية، نوع الوسط المستعمل، مرحلة او الطور للمزرعة الذي نقلت منه العينة ، الوقت الذي تاخذه البكتريا لتصنيع المواد الأساسية كانزيمات الخاصة بعمليات الايض والمرافقات الانزيمية Coenzym او عوامل الانقسام، اذا نقلت عينة بكتيرية من وسط الى وسط اخر مشابه وبنفس الظروف فان الخلايا لاتمر بطور الركود وانما تستمر بالانشطار وتبقى في الطور اللوغارتمي.

2- طور النمو اللوغاريتمي: - Exponential or Logarithmic phase

في هذا الطور تمر البكتريا بالتضاعف والانشطار بشكل منتظم وثابت وتكون عملية الزيادة في عدد البكتريا زيادة عددية اسية اولوغارتمية تتناسب طرديا مع الوقت (النمو يكون بشكل خط مستقيم) . يكون الانشطار في هذا الطور سريع جدا حيث يتضاعف العدد كل 10 دقائق كما في بكتريا القولون وتكون الخلايا الناتجة متماثلة في مكوناتها الكيميائية والايض لديها نسبة عالية من التمثيل الغذائي ومتماثلة خلاياها في الشكل المظهري و تكون فتية لذا فأنها تستعمل في الاختبارات الميكروبية في المختبر، خلاياها الطور تكون أكثر حساسية للمضادات الحيوية.

العوامل التي تؤثر على مدة هذه المرحلة: 1) نوع البكتريا فهناك انواع تنشطر في دقائق وانواع اخرى تحتاج الى ساعات او ايام لكي تنشطر ومثال على ذلك تنشطر *Bacillus mycoides* بفترة 28 دقيقة بينما تنشطر ب 17 دقيقة بكتريا *E. coli* و تنشطر ب 35 دقيقة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*.

2) العوامل البيئية منها درجة حرارة البيئة حيث تكون عمليات الايض في اعلى معدلاتها ولهذا تكون الخلايا في هذا الطور حساسة جدا للمؤثرات البيئية اكثر مما عليه في الاطوار الاخرى

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 -

هذا الطور تبقى اعداد خلاياه البكتيرية ثابتة دون تغيير او زيادة لمدة من الزمن فيصبح منحنى النمو بشكل خط مستقيم افقي ----- عكس ماهو عليه في الطور اللوغارتمي والذي يكون منحنى النمو تصاعدي وبهذا يحصل في هذا الطور ثبات في النمو نتيجة توقف الخلايا عن الانشطار وهنا يحصل توازن بين الانشطار ومعدل الموت . ويبدأ هذا الطور بعد مرور فترة من النمو اللوغارتمي حيث تواجه المزرعة صعوبات نمو منها قلة المواد الغذائية او قرب نفاذها من الوسط و انتاج فضلات ومواد ايضية سامة الأمر الذي قد يغير من درجة الاس pH فضلا عن انخفاض في معدل التمثيل الايضي وفي اعقاب ذلك تقل وتيرة تكاثر البكتيريا ويموت بعضها حيث لا يمكن أن يستمر النمو البكتيري في ظل وجود عدد محدود من العناصر الغذائية المتاحة

لذلك فإنه يتباطأ ويصل العدد الإجمالي إلى الحد الأقصى ويستقر ويكون حجم وشكل الخلايا متجانس في هذا الطور.

4 – طور الموت death or decline phase :

في هذا الطور يكون معدل الموت اكثر من معدل الانشطار فيكون منحنى النمو تنازليا لوغارتميا وهو عكس الطور اللوغارتمي حيث تموت الخلايا بمعدل ثابت وتظهر بشكل خلايا غير منتظمة في الشكل والحجم حيث يعتمد طول اوقصر الطور هذا على نوع البكتريا.

و ان العوامل المسؤولة عن ذلك هي: –

1) نفاذ العناصر الغذائية الاساسية من الوسط تماما.

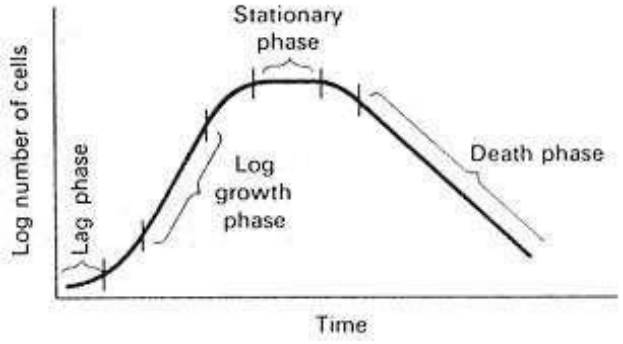
2) تراكم النواتج السامة المثبطة للنمو بشكل كبير.

(3) وجود إنزيمات التحلل الذاتي أمرًا شائعًا في هذه المرحلة.

في نهاية هذا الطور نلاحظ بقاء القليل من الخلايا على قيد الحياة لعدة أشهر أو سنوات ، وتسمى هذه المرحلة بطور البقاء على قيد الحياة survival phase .

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 أجيال.

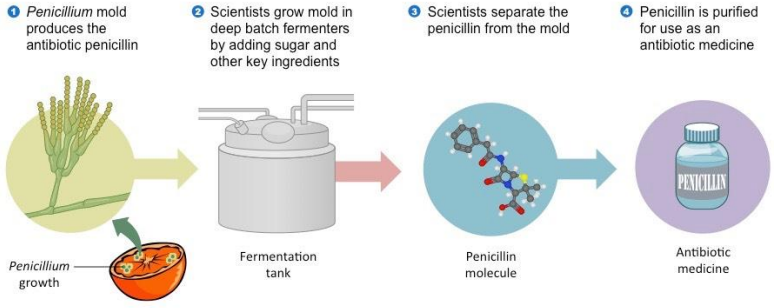
يمكن حث المزرعة على النمو التزامني باستخدام عوامل فيزيائية وكيميائية مثل خفض درجة الحرارة الى الحد الذي يتوقف فيه الانقسام لمدة من الزمن لكن الخلايا مع ذلك تصل الى مرحلة الانشطار ولكنها لاتنشطر وتقف على حافة مرحلة الانشطار وبعد رفع درجة الحرارة فان جميع الخلايا تبدا بالنمو والانشطار بنفس المستوى تقريبا.

الطرق المستعملة في تنمية البكتريا

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

1- **مزارع الوجبات او الدفعة: Batch culture**

تلقح بيئة طازجة سائلة بعدد من الخلايا البكتيرية المراد تنميتها حيث توفر كمية المغذيات في البداية وتحضن تحت ظروف بيئية مناسبة للنمو من درجة حرارة وأس هيدروجيني في نظام مغلق لفترة محدودة من الزمن فعندها تستهلك المغذيات وغيرها من العوامل الأخرى التي تختلف مع مرور الوقت وتتجمع النواتج الحيوية المطلوبة، كما يمكن متابعة صفات منحنى النمو الطبيعي للبكتريا التي تحصل في هذه المزارع والمعتمدة في الصناعات منها التخمرات باستعمال البكتيريا او الفطريات، كما تمتاز هذه المزارع بسهولة التعامل في إعداد المخمر لكن تستهلك هذه المزارع وقت ومكلفة من الناحية المادية مثال ذلك انتاج مضاد حيوي البنسلين من الفطر *Penicillium* كما موضح في الشكل ادناه.

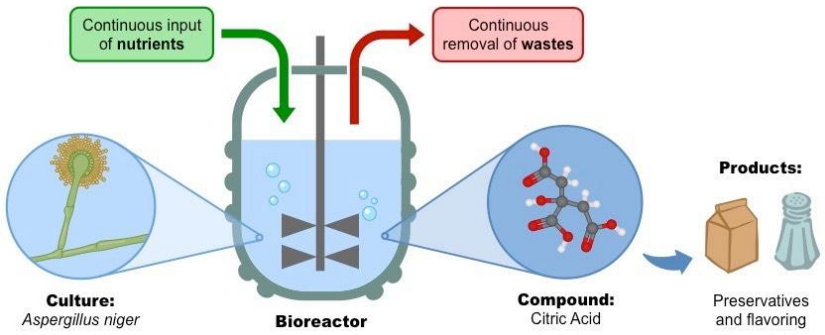


يتم تستعمل هذه المزارع على نطاق واسع لتنقية الأيض الثانوي مثل المضادات الحيوية والأصباغ، وما إلى ذلك هذه المزارع ليست مناسبة لإنتاج الأيض الأولي.

2- المزارع المستمرة: Continuous culture

تسمى أيضا بالنظام المفتوح open system التي تهدف الى الحفاظ على استمرارية النمو في الطور اللوغارتمي من خلال اضافة المواد الغذائية الطازجة باستمرار مع إزالة المخلفات والنواتج المتراكمة بنفس المعدل والحفاظ على الظروف البيئية الأخرى في القيم المثلى ثابتة.

تستعمل المزارع في الصناعات التي تتطلب استخراج الأيض الأولي مثل الأحماض الأمينية، والأحماض العضوية مثل انتاج حامض الستريك Citric Acid بالمخمر او المزرعة المستمرة يكون باستعمال الفطر *Aspergillus niger* 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 .