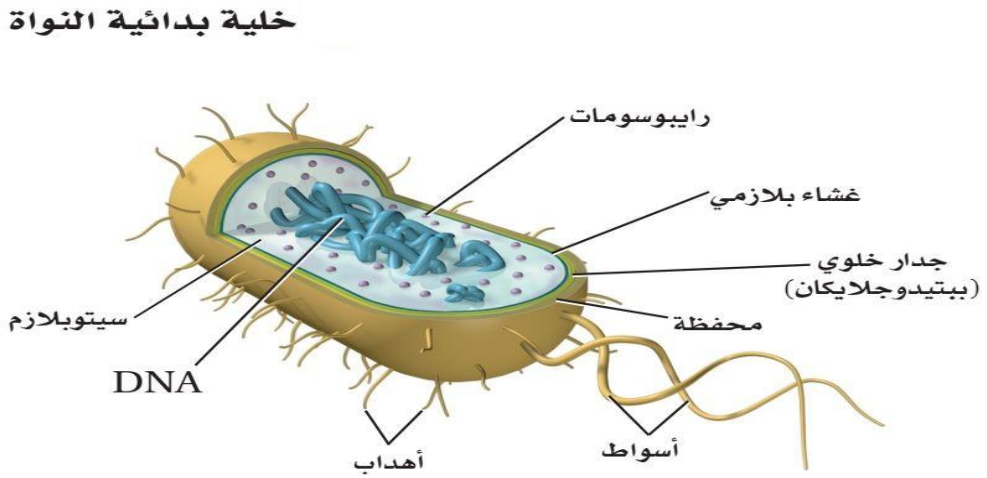
المحاضرة الثالثة

التراكيب الداخلية يقصد بها التراكيب الموجودة داخل الجدار الخلوي وهي

الغشاء السايتوبلازمي – البروتوبلاست – السايتوبلازم – المادة النووية – حبيبات الڤوليوتين – سبورات البكتريا – الحويصلات.



1) الغشاء السايتوبلازمي Cytoplasmic membrane

وهو حاجز منفذ انتقائي يقع مباشرة تحت الجدار الخلوي ويتركب من فوسفولبيدات 20-30% وبروتين حوالي 60-70% وظيفته الأساسية هي تنظيم مرور الجزيئات بصورة انتقائية حيث يقوم بإمرار الجزيئات الغذائية الى الداخل ويسمح للفضلات بالخروج منها. ان أي تلف لهذا الغشاء بفعل العوامل الفيزيائية أو الكيميائية يؤدي الى موت خلية البكتريا كما أنه يحتوي على الأنزيمات المتعددة التي تشترك في تخليق بعض مكونات الجدار الخلوي كما يعد هذا الغشاء مصدراً لتوليد الطاقة (ATP) المستخدمة في أجهزة نقل المغذيات وفي حركة الأسواط.

2) البروتوبلاست Protoplast

وهو الجزء المتكون من الغشاء السايتوبلازمي وما يحتويه من مكونات خلية البكتريا الداخلية ويمكن الحصول عليه من معاملة خلية البكتريا G^+ بواسطة انزيم اللايسوزايم الذي يعمل على اذابة الجدار الخلوي فقط وما يتبقى من الخلية هو البروتوبلاست. كذلك يمكن الحصول عليه من تنمية البكتريا بوجود البنسلين الذي يمنع تكون الجدار الخلوي وفي كلتا الحالتين يجب وضع البروتوبلاست الناتج في محيط يكون فيه الضغط الازموزي متعادلاً مع ما هو موجود داخل الخلية.. ان عملية ازالة الجدار الخلوي لا يؤثر على حيوية خلية البكتريا فتقوم الخلية (البروتوبلاست) بوظائف التكاثر والوظائف الفسيولوجية الاخرى ولكن بحذر تام من ناحية الضغط الازموزي.

في حالة البكتريا G^- المعاملة بإنزيم اللايسوزايم والمضادات الحياتية تسمى سفيروبلاست Spheroplast وليس بروتوبلاست، وتمتلك السفيروبلاست غشاء خارجي لأن جدار الخلية

السالبة لصبغة كرام لا يتأثر بالمعاملة فضلاً عن احتوائها على الغشاء السايتوبلازمي الموجود في البروتوبلاست.

بعض أنواع البكتريا مثل المايكوبلازما Mycoplasma لا تمتلك جدار خلوي في طبيعتها وهي تحيط نفسها بغشاء سايتوبلازمي يقوم بوظائف مشابهة للبروتوبلاست.

3) السايتوبلازم The Cytoplasm

يمكن تقسيم مواد الخلية التي يحيط بها السايتوبلازم الى ثلاث مناطق:-

أ) منطقة السايتوبلازم وتكون غنية بالرايبوسومات Ribosomes التي يتم عندها التخليق الحياتي لبروتين الخلية ويشكل الحامض النووي الـ RNA 60% منها.

ب) المنطقة الكروماتينية وتكون غنية بالـ DNA.

ج) الجزء السائل المحتوي على المواد الذائبة. وعلى عكس خلايا النبات والحيوان فإن خلايا الأحياء المجهرية وبسبب عدم وجود الشبكة الاندوبلازمية فإن الرايبوسومات تكون منتشرة بصورة طليقة في السايتوبلازم.

4) المادة النووية Nuclear Material

ليس للبكتريا نواة حقيقية ولكنها تحتوي على أجسام نووية أو نواة بدائية تتكون أساساً من الـ DNA وليس لها غشاء نووي ويطلق عليها النوية Nucleoid أو الجسم الكروماتيني أو الكروموسوم البكتيري.

5) حبيبات الڤوليوتين Volutin granules

حبيبات مخزنة في السايتوبلازم وتعد مخازن للفوسفات كما في بكتريا Corynebacterium وكذلك جسيمات poly hydroxy butyrate (PHB) وتعد مخزناً للكاربون والطاقة كما في البكتريا الهوائية. وكذلك حبيبات السكريات المتعددة والكلايكوجين وكذلك الفجوات الهوائية لمقاومة الضغط الناتج من اعماق المياه ولمنع تمزق الخلايا.

6) سبورات البكتريا Bacterial spores

السبورات عبارة عن خلايا ساكنة ذات جدران سميكة يمكنها النمو والإنبات الى خلايا خضرية عند توفر الظروف المناسبة وعادة يتكون سبور واحد في كل خلية. وتقسم السبورات الى مجموعتين وهي السبورات الداخلية والسبورات الخارجية.

أ) السبورات الداخلية Endospores

وتتكون داخل الخلية ويختلف شكلها وموقعها حسب نوع البكتريا فقد تكون في

1- مركز الخلية كما في Bacillus cereus (سبور مركزي)

2- طرف الخلية كما في Clostridium tetani (سبور طرفي)

3- قريب من الطرف كما في Clostridium subterminate (سبور قريب من الطرف)

وتتكون السبورات الداخلية عندما تكون الخلايا في نهاية طور النمو النشط. والعوامل المحفزة لنمو السبورات هي التقدم في السن والمعاملة الحرارية. والسبورات الداخلية تكون ذات مقاومة شديدة للجفاف والصبغات والمواد المطهرة والإشعاع اضافة للحرارة. وعموماً مختلف السبورات تقاوم حرارة 80 ْم لمدة 10 دقائق وان أهم العوامل المساعدة للسبورات في مقاومة الحرارة هو قلة الرطوبة في تركيب السبور واحتواء جميع السبورات الداخلية على كمية كبيرة من حامض ثنائي بيكولينيك Dipicolinic (DPA) والسبورات قادرة على الانبات بعد بقائها ساكنة لعدة سنين وتتضمن عملية الانبات مرحلتين: 1- انتهاء السكون 2- النمو

ب) السبورات الخارجية Exospores

وتتكون خارجياً (أي خارج الخلايا الخضرية) كما في التبرعم الحاصل في نهاية أحد أطراف الخلايا وتكون مقاومة للجفاف والحرارة ومقاومتها تكون أقل من السبورات الداخلية لعدم احتوائها على حامض (DPA) كما في البكتريا المؤكسدة لغاز الميثان من جنس Methylosinus .

7) الحويصلات Cysts

تراكيب ذات جدران سميكة تستخدم للسكون والسبات الحيوي وهي مقاومة للظروف الصعبة وتتشابه مع السبورات في بعض الأوجه إلا انها لا تمتلك المقاومة العالية للحرارة وتختلف في تركيبها الكيميائي عن السبورات الداخلية. مثالها الحويصلة الناتجة من جنس Azotobacter .

تنمية البكتريا

يمكن تنمية البكتريا على أوساط غذائية في المختبر وأن تنميتها تتأثر بالظروف الفيزيائية المحيطة كدرجة الحرارة والـ pH وتركيز الغازات.

العوامل اللازمة لتنمية البكتريا

أ) الاحتياجات الغذائية

1- مصدر الكاربون- بعض الأحياء تستخدم CO_2 كمصدر وحيد للكاربون وتسمى ذاتية التغذية Autotrophs وقسم يستخدم الكاربون العضوي كمصدر أساسي للكاربون وتسمى غير ذاتية التغذية Heterotrophs ولا تستطيع ان تستخدم CO_2 كمصدر وحيد للكاربون.

2- مصدر الطاقة- قسم يستفاد من الضوء كمصدر للطاقة فتسمى ضوئية التغذية Phototrophs وقسم يعتمد على المركبات الكيمائية فتسمى Chemotrophs.

3- مصدر النتروجين- بعض البكتريا تستخدم النتروجين الجوي والبعض الاخر يستخدم مركبات النتروجين غير العضوية مثل NO_2 و NO_3 وأملاح الأمونيوم (NH_4^+) وقسم يستخدم النتروجين من مصادر عضوية كالأحماض الامينية او نواتج التحلل المائي للبروتين. ان زيادة نسبة N:C تكون مناسبة لنمو الفطريات وانخفاضها مناسب لعملية تكوين السبورات وهكذا فإن اهمية النسبة تبدو متباينة.

4- عنصر S و P - تحتاج البكتريا للكبريت لتصنيع الأحماض الأمينية التي يدخل في تركيبها الكبريت مثل Cystein و Cystine و Methionin وبعض البكتريا تحصل على هذا العنصر من مصادر عضوية والآخر يحصل عليه من مصادر لاعضوية والبعض يمكن ان يستخدم الكبريت المعدني. أما عنصر P فانه يجهز بصورة فوسفات وهو مهم لتخليق الأحماض النووية والنيوكليوتيدات والفسوسفولبيدات.

5- العناصر المعدنية- مثل Fe^{+2}، Mg^{+2}، Ca^{+2}، K^+ بتراكيز متوسطة و Zn^{+2} Cu^{+2}، Mn^{+2}، Mo^{+6}، Ni^{+2}، B^+، Co^{+2} بتراكيز واطئة.

6- الماء- ضروري لإذابة الغذاء وتهيئة وسط مناسب لمختلف الفعاليات الحيوية ومقاومة التغيرات المفاجئة في درجات حرارة المحيط البيئي في الخلايا ومهم في جميع تفاعلات التحلل التي تقوم بها الخلية.

7- الفيتامينات- تحتاج لها الخلية كمرافقات انزيمية Coenzyme أو كوحدات بناء للإنزيمات نفسها، بعض البكتريا بإمكانها تخليق الفيتامينات وقسم منها لا يستطيع تخليقها لذا يجب اضافتها للأوساط الغذائية.

ب) الاحتياجات الفيزيائية للنمو

1- درجة الحرارة- وهي مهمة لأنها تتحكم بمعدل التفاعلات الكيميائية التي تحدث داخل الخلية وتقسم البكتريا حسب درجة الحرارة الى ثلاث أقسام هي:-

أ- البكتريا المحبة للبرودة Psychrophiles

لها القابلية على النمو في درجة حرارة صفر درجة مئوية أو أقل ويمكنها النمو بشكل أفضل بدرجة حرارة أعلى، حرارة نموها المثالية 15 ْم والعظمى لنموها هي 20 ْم.

ب- البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles

تنمو بمدى يتراوح بين (25-40) ْم وتضم العديد من الانواع والأجناس أكثر من المجموعتين الاخرى وإن غالبية البكتريا المرضية للإنسان والحيوان تقع ضمن هذه المجموعة حيث تنمو جيداً بدرجة حرارة الجسم 37 ْم.

ج- البكتريا المحبة للحرارة العالية Thermophiles

حرارة نموها المثالية 45 ْم ومداها الحراري 40-65 ْم.

2- الـ pH - أمثل pH للنمو هو المتعادل 6.5-7.5 والمدى هو من 5-9 وقسم قليل من البكتريا يمكنه النمو في الـ pH الحامضي المنخفض أو القاعدي المرتفع.

3- الغازات- يعد O_2 و CO_2 من الغازات المهمة التي لها تأثير كبير في نمو البكتريا وتقسم البكتريا حسب استجابتها لغاز O_2 الى أربعة مجاميع هي:

أ- البكتريا الهوائية Aerobic Bacteria وهي البكتريا التي تحتاج الى O_2 في نموها.

ب- البكتريا اللاهوائية Anaerobic Bacteria وهي البكتريا التي لا تستطيع النمو بوجود O_2 ويعد O_2 ساماً لها.

ج- البكتريا اللاهوائية الاختيارية Facultative anaerobic Bacteria تنمو بوجود أو عدم وجود O_2.

د- البكتريا المحبة للقليل من الأوكسجين Micro aerobic Bacteria تحتاج للقليل من O_2 ولا تستطيع أن تتحمل المستوى الطبيعي للأوكسجين في الهواء.

ج) الأوساط الغذائية للبكتريا Bacterial Media

وهي البيئات الحاوية على العناصر الغذائية الضرورية للنمو والتكاثر فإذا كانت هذه الأوساط معروفة التركيب سميت بالأوساط التركيبية Synthetic media وإذا كانت غير معروفة التركيب سميت بالأوساط المعقدة Complex media والأوساط الغذائية إما أن تكون سائلة أو صلبة بإضافة الاكار بنسبة 1.5-2% ، وتبعاً للغرض الذي تستخدم لأجله الأوساط الغذائية تقسم الى الأنواع التالية:-

1- الأوساط الانتقائية (الانتخابية) Selective media هي الأوساط التي تشجع على نمو وسيادة نوع معين من البكتريا دون غيره مثل الوسط المستخدم في تنمية البكتريا المحللة للسليلوز.

2- الأوساط التفريقية Differential media تستخدم للتفريق بين الأنواع المختلفة من البكتريا لاحتوائها على مركبات معينه مثل وسط أكار الدم Blood agar لتمييز البكتريا المحللة للدم دون غيرها لقدرتها على تكوين مناطق شفافة حول مستعمراتها لتحليلها الدم.

3- أوساط لعد البكتريا Enumeration media أوساط تستخدم لعد جميع أنواع البكتريا مثل Nutrient Agar.

4- أوساط لتشخيص البكتريا Characterization media أوساط تستخدم للكشف عن خواص معينة في البكتريا كأن تستخدم لتحديد نوع النمو الناتج كأن يكون غازاً أو تغيير لون البيئة.

5- أوساط الإدامة أو الحفظ Maintenance media تستخدم لإدامة وتنشيط حيوية البكتريا المخزنة مثل Nutrient Agar.

6- الأوساط المدعمة Enriched media أوساط سائلة عادة يضاف لها مركب معين لتنشيط نوع معين من الأحياء المجهرية وتثبيط بقية الأنواع مثل إضافة البترول (الهايدروكاربون) كمصدر وحيد للكاربون الى الوسط السائل لتنشيط البكتريا القادرة على تحلل مادة البترول وتثبيط بقية أنواع البكتريا.

د. سرمد غازي / قسم علوم الأغذية