مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية
المجلد ٤ ـ العدد ٤ من ٧٧ إلى ٨٤

صفر ١٤٠٢هـ
كانون الأول ١٩٨١م

البكتريات المتبرعمة من عائلة هيفو ميكرو بيوم
دراسة حول خواصها المورفولوجية ، الفيزيولوجية والبيوكيميائية

الدكتور
جورج بيلوني
كلية العلوم

لمحة حول البكتيريات المتبرعمة :

تعتبر البكتيريات المتبرعمة من عائلة هيفوميكروبيوم Hyphomicrobium بكتيريات غريبة وتختلف عن غيرها من الأنواع البكتيرية من حيث شكلها وطريقة تكاثرها إن هذه البكتيريات لا تتكاثر عن طريق الإنقسام المباشر المعروف بل بوساطة البرعمة التي تعتبر الطريق الوحيد لتكاثرها . إن المعلومات العامة الموجودة عن هذه العائلة البكتيرية من حيث خواصها المورفولوجية ، الفيزيولوجية والبيوكيميائية وكذلك دورها في الطبيعة والتطبيقات العملية قليلة جداً ومتناقضة . من المعروف أن هذه البكتيريات تلعب دوراً في حلقة الآزوت في الطبيعة وتفضل النمو على أوساط غذائية فقيرة مضافاً إليها مصادر كربونية C1 مثل الكحول المتيلي ، الفورمات ، الفورماالدهيد والميتيلامين ، كذلك فهي تنمو على المواد الناتجة عن تفكك المواد البروتينية الموجودة في أنسجة النباتات والحيوانات . إن الكحول الميتيلي وهو مادة سامة يعتبر أفضل مصدراً كربونياً من أجل نمو البكتيريات المتبرعمة . والكحول الميتيلي يتشكل في الطبيعة من تفكك المواد البكتينية وغيرها من المواد العضوية الحاوية على الاتير الميتيلي . بناء عليه فان خاصة استعمال البكتيريات المذكورة للكحول الميتيلي قد جلب أنظار الباحثين من حيث امكانية استعمال هذه الكائنات الدقيقة في تنقية مياه الشرب من الكحول الميتيلي السام والذي يمكن أن يتسرب إلى هناك نتيجة تفكك البكتينات والمواد العضوية الموجودة في التربة . أضف إلى ذلك فان البكتيريات المتبرعمة نظراً لشكلها المميز عن غيرها من البكتيريات ووجود الخلايا التي يصدر عنها الهيف والبراعم فهي تظهر بشكل واضح أثناء تدقيق الزارع البكتيرية المختلفة مجهرياً ، وبما أن شكل البكتيريات يتغير بتغير الوسيط الذي تعيش به كالتربة والماء مثلاً لذلك يمكن استعمال هذه الكائنات على شكل كاشف بسيط Indicator يعطينا فكرة عن تركيب الوسط الذي تعيش به تلك البكتيريات . ومن الشيء المثير للأهتمام هو إمكانية استعمال البكتيريات المتبرعمة في صناعة الأغذية وخاصة المواد البروتينية والمواد العضوية الأخرى .

إن البكتريات المتبرعمة من عائلة هيغوميكر بيوم منتشرة بكثرة في الطبيعة حيث يمكن مصادفتها في المياه العذبة ، المياه المالحة ، المستنقعات ، مياه أحواض الاكفاريوم وفي كل أنواع التربة تقريباً وعلى أعماق مختلفة . وهذا الانتشار الواسع يدل على أهميتها ودورها في الطبيعة . وبما أن المعلومات المعروفة عن هذه البكتريات قليلة ومتناقضة ودراستها غير كافية لذلك قمنا بعزل ثلاث عشرة مزرعة بكتيرية نقية من عينات تربة مأخوذة من مناطق وعلى أعماق مختلفة . وتم تسمية المزارع النقية بالشكل التالي Hyphomicrobium G1 , G2

G3 ---G13 . وتمت دراسة هذه المزارع من حيث كميتها وخواصها المورفولوجية ، الفيزيولوجية والبيوكيميائية .

كمية البكتريات المتبرعمة :

تبين أن عدد البكتريات المتبرعمة في ١ غرام من التربة يختلف حسب نوع التربة وحسب العمق أيضاً حيث تراوح العدد من عدة آلاف إلى عدة ملايين . فمثلاً العدد البكتيري في الأتربة الطينية ، الغنية بالمواد العضوية الكلسية والرملية هو قليل نسبياً بينما في الأتربة الخفيفة ، الملحية والفقيرة فان العدد يرتفع إلى عدة ملايين . أما بالنسبة للعمق فتبين أن السطح العلوي للتربة أي حتى ٢ سم يحوي قليلاً من البكتريات المتبرعمة ويزداد العدد في طبقات التربة الواقعة بين ٣ ـ ١٠ سم ثم يبدأ بالانخفاض كلما تعمقنا . وقد لوحظت هذه البكتيريات على أعماق ٤٠ سم . إن انتشار البكتريات المذكورة في كل مكان تقريباً وفي كل أنواع الأتربة يدل على دورها الهام في الطبيعية .

مورفولوجية خلايا البكتريات المتبرعمة :

إن حجم وأشكال خلايا البكتريات المتبرعمة يتغير مع تغيرات تركيب الوسط الذي تعيش به البكتريات وكذلك مع تغير النوع . وتصادف عند كل الأنواع خلايا بيضوية وعضوية الشكل (شكل ١ ، ٣) . وبشكل نادر نصادف خلايا اجاصية الشكل (شكل ٢ ، ١٦) . كما لوحظت خلايا بأشكال مثلثية أثناء النمو على بعض الأوساط الغذائية وعند بعض الأنواع (شكل ١٧) . وهنالك الخلايا العملاقة التي لوحظت عند النوع G11 والتي احتوت داخلها على مادة عاكسة للضوء هي مادة بولي اوكسي بوتيرات (شكل ١٦) . إن الخلايا العملاقة تم مشاهدتها أيضاً ـ أثناء نمو البكتريات على أوساط تحوي مركبات الحديد (شكل ١٤ ، ١٥) . والبكتريات المتبرعمة يمكن أن تصادف بشكل افرادي أو بشكل تجمعات تأخذ شكل الوردة وهذه لوحظت فقط عند الأنواع G1 , G2 (شكل ١ ، ٧) وبشكل نادر تصادف خلايا متصلة مع بعضها ومن المعتقد أن هذه الخلايا تقوم بعملية اقتران أو تكاثر جنسي (شكل ١١ ، ١٢ ، ١٣) . أما حجم الخلايا فهو متقلب كثيراً ويتغير مع تغير النوع ووسط النمو ويبلغ بشكل وسطي ٠,٥ ـ ١,٠ × ١ ـ ٣ ميكرون .

ومن حيث تشكل الهيف من الخلايا فان الخلايا بشكل عام تحوي على هيف واحد يصدر عن أحد أقطاب الخلية (شكل ، ٤ ، ٥ ، ٦ ، ٧) . إن طول الهيف يختلف حسب النوع وحسب تركيب الوسط الذي تعيش به البكتريات ويمكن أن يصل حتى ٢٠ ميكرون . ويصادف عند بعض الأنواع خروج هيفين من قطب واحد للخلية (شكل ٨) وعند بعض الأنواع الأخرى يخرج من كل قطب للخلية هيفاً واحداً (شكل ١٠) . والجدير بالذكر أن

الشكل ١ - ١٧ : مورفولوجيا خلايا البكتريات المتبرعمة

خروج الهيف من قطب واحد أو من قطبي الخلية أو خروج هيفين من قطب واحد ، كل هذا يتعلق بالوسط المستعمل ونوع البكتريا . إن تشكل أكثر من هيفين لوحظ فقط عند الخلايا مثلثية الشكل (شكل ٧) وذلك فقط على الأوساط التي تحوي المتيلامين أو الأسباراغين . ولقد تبين أن الهيف يمكن أن يتفرع ويعطي فرعاً واحداً أو أكثر (شكل ٩ ، ١٦) . إن تفرع الهيف بشكل قليل أو كثير يتعلق أيضا بتركيب الوسط الغذائي ولقد لوحظ أن النوع G11 يعطي تفرعات بنسبة عالية وهنا يعطيه شكلاً شجرياً .

تكاثر وحلقة حياة البكتريات المتبرعمة :

إن الخلايا البكتيرية الفتية أي التي لا تحوي أهيافاً هي خلايا متحركة بواسطة سوط واحد أو سوطان قطبيان وتدعى هذه الخلايا بالخلايا السابحة . وعندما تصل الخلية السابحة إلى حجم معين تبدأ باعطاء الهيف من أحد قطبي الخلية أو من قطبيها . إن الخلية تفقد سوطها عندما تبدأ باعطاء الهيف وتصبح عديمة الحركة ، وبعد أن يصل الهيف إلى طول معين يتشكل انتفاخ على قمته وهذا الانتفاخ يزداد حجماً ويعطي البرعم الذي ينفصل عن الخلية الأم عند بلوغه حجماً معيناً ويتشكل له سوطاً وينضم إلى الخلايا السابحة التي تعود لتكرر حلقة الحياة نفسها . وفي بعض الحالات لا ينفصل البرعم عن الخلية الأم ويبدأ باعطاء الهيف ثم البرعم وهكذا . وبهذا الشكل يمكن أن تتشكل سلاسل أو تجمعات من البكتريات المتبرعمة . ودلت التجارب أن نمو الهيف طولاً يتوقف مع بداية عملية البرعمة .

نمو البكتريات المتبرعمة على أوساط مختلفة :

بينت التجارب عدم نمو البكتريات المتبرعمة على الأوساط الغنية من مواد طبيعية مثل دم إنسان ، دم أرانب ، مصل حصان ، مرق اللحم وغيرها . ولقد نمت البكتريات بشكل جيد على أوساط فقيرة صناعية مثل الأوساط الملحية مضافاً إليها بعض المصادر الكربونية مثل الكحول الميتيلي . ان استعمال الكحول الميتيلي من قبل البكتريات المتبرعمة يعتبر خاصة هامة جداً من حيث إمكانية استعمال هذه البكتريات في الحصول على المواد البروتينية الغذائية وكذلك في تنقية مياه الشرب من بعض المواد السامة . وتم تجريب نمو البكتريات المتبرعمة على أوساط تحوي مصادر كربونية مختلفة واستعمل بهذا المجال ٢٦ مصدراً تنتمي إلى كحولات ، سكريات بكل أنواعها ، أملاح الصوديوم لاحماض دهنية ، امينات واميدات . كما تم تجريب النمو على أوساط تحوي مصادر آزوتية مختلفة واستعمل بهذا المجال ١٧ مصدراً تنتمي إلى امينات ، أحماض أمينات ، أحماض أمينية ، اليوريا وأملاح آزوتية . ولقد أظهرت الأنواع البكترية الثلاث عشرة نمواً مختلفاً فيما بينها عندما نمت على أوساط تحوي مصادر

كربونية وآزوتية مختلفة كما أبدت أشكالاً مختلفة مع كل نوع من هذه المصادر . ان هذا يؤكد إمكانية استعمال هذه البكتريات في بعض التطبيقات العملية مثل استعمالها على شكل كاشف Indicator سهل يمكن أن يعطي فكرة عن الوسط الذي تعيش به البكتريات المتبرعمة كالتربة والماء .

نمو البكتريات المتبرعمة في درجات حرارية مختلفة وأوساط ذات درجات PH مختلفة :

تم تجريب نمو البكتريات المتبرعمة الثلاث عشرة في درجات حرارية مختلفة في الدرجات ٢٥ ، ٣٠ ، ٣٥ ، ٣٧ ، ٤٠ . ولقد أبدت البكتريات نمواً لكن بدرجات مختلفة عندما تم حضنها في الدرجات المذكورة ولقد فضل أكثرها الدرجة ٣٠ بينما النوع G7 نما بشكل أفضل في الدرجة ٣٧ والنوعين G5 , G4 في الدرجة ٣٥ . أما من حيث نمو البكتريات المتبرعمة على أوساط ذات درجات PH مختلفة فلقد تم استعمال الأوساط ذات درجات PH التالية : ٥,٥ ، ٦,٠ ، ٧,٢ ، ٧,٧ ، ٨,٥ . ولقد أبدت البكتريات المعزولة نمواً مختلفاً عندما تم تنميتها في الدرجات المذكورة ولقد فضل أكثرها الدرجة ٧,٢ وابدى النوعين G10 , G3 نمواً أفضل في الدرجة ٥,٥ .

استعمال البكتريات المتبرعمة للنترات وترسيبها لمركبات الحديد :

بينت التجارب أن البكتريات المتبرعمة تقوم باستعمال النترات وهذا يؤكد دورها الهام في حلقة الآزوت في الطبيعة وكذلك دورها في حياة التربة من حيث إفقار التربة عنصرها الهام لنمو النبات وهو النترات . ان هذه البكتريات يمكن أن تساهم في تقليل تركيز النترات في التربة الغنية به عندما يكون التركيز عالياً وضاراً بالنبات لذلك من الممكن استعمال هذه البكتريات في اصلاح التربة في هذا المجال . ولقد دلت التجارب أيضاً أن البكتريات المتبرعمة تلعب دوراً في ترسيب مركبات الحديد على خلاياها وسويقاتها ، لذلك هنالك إمكانية استعمالها في حماية أنابيب محطات التوليد الكهربائية من التلف نتيجة تراكم الصدأ عليها وذلك عن طريق تنمية هذه البكتريات في هذه المحطات .

القيمة المرضية للبكتريات المتبرعمة وتحسسها تجاه المضادات الحيوية :

لقد تبين ان البكتريات المدروسة هي غير مرضية بالنسبة للأرانب حيث لم يلاحظ تأثير الأرانب بها عند حقنها بجرعات مختلفة من البكتريات . وأبدت البكتريات المعزولة الثلاث عشرة نتائجاً مختلفة بالنسبة لتحسسها بالمضادات الحيوية . كل الأنواع كانت حساسة لكن بدرجات مختلفة بالنسبة لـ ستربتوميسين ، كاناميسين ، نيوميسين ، ريفاميسللين ، نوفوميسين واريتروميسين . كل المزارع كانت مقاومة بالنسبة لـ اولياندوميسين ،

لينكوميسين ، أوكساسيللين ، نوفوبيوسين وليفوميسين . بالنسبة للبنسلين فان نوعين فقط أبديا تحسساً هما G10 , G11 . ولقد أبدت الأنواع الثلاث عشرة اختلافاً كبيراً فيما بينها من حيث التحسس بالنسبة لـ اريترومايسين وتيتراسكلين .

تركيب قواعد (أسس) الـDNA عند البكتريات المتبرعمة :

تم معرفة تركيب قواعد (أسس) الـDNA أي نسبة الغوانين والسيتوزين لكل نوع من البكتريات الثلاث عشرة وذلك عن طريق تحطيم الخلايا بوساطة الأجهزة فوق السمعية والحصول على DNA بشكل صاف ولقد تبين على أن نسبة الغوانين والستيوزين تتراوح من ٥٦,٦ ـ ٧٠ Mol٪ بالنسبة لكافة الأنواع الثلاث عشرة . إن هذه النتائج تؤكد وجود أنواع مختلفة من البكتريات المدروسة وكذلك تدعم استعمال هذه الطريقة في تحديد العائلة أو النوع البكتيري لبكتريات مجهولة .

وأخيراً ، استناداً للدراسات المتعددة للبكتريات المعزولة الثلاث عشرة التي تمت من حيث خواصها المورفولوجية ، الفيزيولوجية والبيوكيميائية وبمقارنة هذه الخواص مع خواص الأنواع الأخرى لعائلة هيغوميكروبيوم المسجلة في المراجع والمقالات المختلفة وكذلك في الكتاب العام للتصنيف البكتيري(Bergey's) ، تبين أنه يوجد لدينا أربعة أنواع بكتيرية من بين الأنواع الثلاث عشرة تعتبر أنواعاً جديدة لم تكن معروفة سابقاً وهذه الأنواع يمكن أن تشكل عائلة بكتيرية متبرعمة جديدة أعطي لأنواعها اسماء رمزية في الوقت الحاضر هي Hyphomicrobium G10 , G11 , G12 , G13 , وبالنتيجة يمكن القول بأن البكتريات المتبرعمة تقوم بأدوار مختلفة في الطبيعة ويمكن استخدامها في بعض التطبيقات العملية وخاصة في مجالات اصلاح التربة ، تنقية مياه الشرب من بعض المواد السامة ، الحصول على المواد البروتينية للغذاء ، حماية أنابيب المحطات الكهرمائية من الصدأ . ولقد تكلمنا عن المجالات المذكورة وغيرها أثناء سردنا لهذا البحث .