جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: بنية الخلية البكتيرية ووظائفها (الجزء الأول)

مدرس المادة

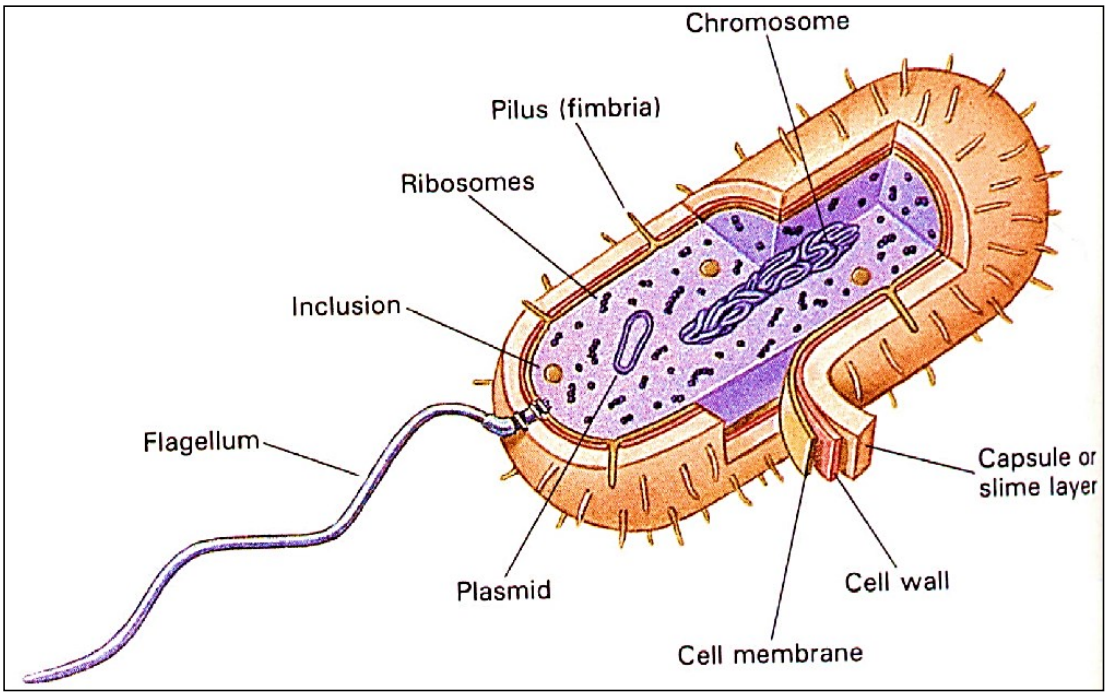
ا.م.د. عمر محمد حسن ا.م.د. جمال عبد الرحمن ابراهيم

بنية الخلية البكتيرية ووظائفها

تركيب الخلية البكتيرية:

الخلية البكتيرية متناهية في الصغر ولكن بتقدم وتطور الأجهزة المختبرية مثل المجاهر الضوئية والالكترونية والفلورسنتية والطرق الكيموحياتية فقد أمكن دراسة أجزائها المختلفة.

تتركب خلية البكتيرية من **الطبقة السطحية والبروتوبلاست**، وتشمل الطبقة السطحية الاسواط والاهداب والمحفظة (الكبسول) وجدار الخلية أما البروتوبلاست فإنه يقع بداخل الجدار الخلوي ويتكون من الغشاء السايتوبلازمي والسيتوبلازم والمادة النووية والمواد المخزنة والريبوسومات والفجوات شكل (1)، وكذلك السبورات الداخلية في البكتيريا المتبوغة. يصل المحتوي المائي للخلية بين (70 – 85%) من وزنها بينما تتراوح المواد الصلبة من (15–30%) من وزن الخلية وتزداد هذه النسبة بزيادة المواد المخزنة في الخلية مثل متعدد بيتا هيدروكسي بيوترات ومتعدد السكريات والفوسفات والكبريت. وتتكون المادة الصلبة في الخلية أساساً من البروتين (50%)، جدار خلوي (10–20%)، RNA (10–20%)، DNA (3 – 4%)، اللبيدات (10%) .



شكل (1). مكونات الخلية البكتيرية.

أولاً: الطبقة السطحية Bacterial surface

1. الاسواط Flagella

هي عبارة عن تراكيب خيطية طويلة مكونة من بروتين من نوع خاص يسمي فلاجلين **Flagelin**، وتنشأ الاسواط من جسم قاعدي منغرس في الجدار الخلوي والغشاء السايتوبلازمي وتمر في الجدار ليمتد السوط الخيطي طويلاً خارج الخلية.

بشكل عام لا تملك البكتريا المكورة اسواطاً، بينما يكون لأكثر من نصف أنواع البكتريا العصوية اسواط، ومعظم أنواع البكتريا اللولبية تتحرك بواسطة الاسواط. يتألف السوط من 3 اقسام: –

1– الخيط **Filament** الذي يتصل بالجزء التالي

2– الخطاف **Hock** يتصل بالجزء التالي

3– الحبيبات القاعدية **Plepharoplast** او الجسم القاعدي **Basal Body** الذي يثبت السوط إلى الجدار الخلية والغشاء البلازمي. تتألف الحبيبات القاعدية في البكتريا G^{+ve} من الساق المحاط بزوج من الحلقات على الغشاء السايتوبلازمي هما الحلقة **M** لها اهمية في تثبت السوط على الغشاء السايتوبلازمي والحلقة **S** لها دور محرك للسوط. يضاف فوق الزوج الحلقي السابق الذكر في البكتريا G^{-ve} زوج اخر هما الحلقة **P** الموجودة على طبقة الشحوم البروتينية **Lipoprotein** والحلقة **L** الموجودة على طبقة الشحوم.

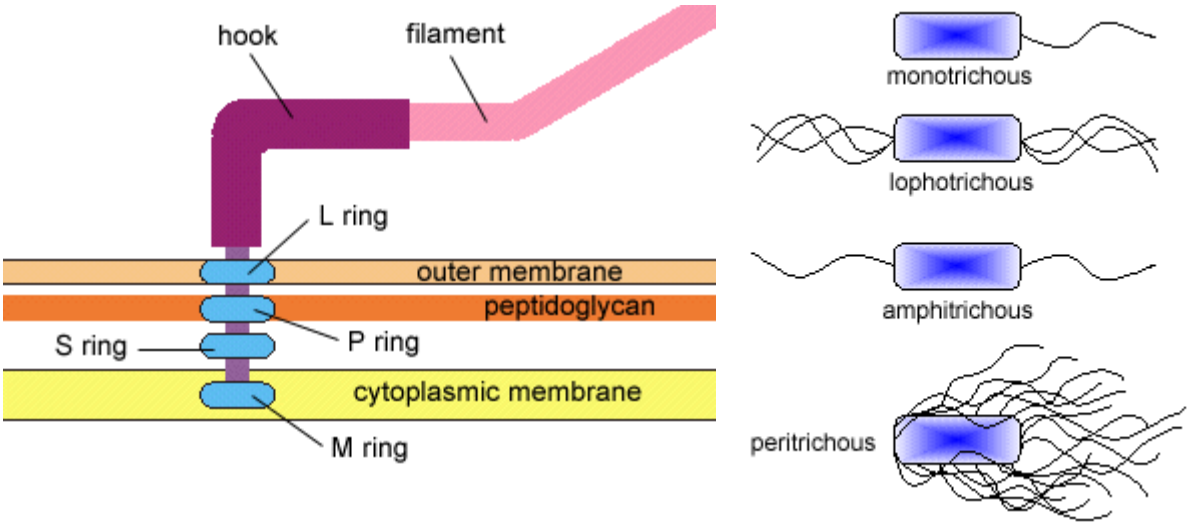
الوظيفة: مسؤلة عن الحركة، ممكن ان تقسم البكتريا تبعا لموقع الاسواط في الخلية الى 4 اقسام

–A– يكون السوط واحد قطبي في احد الطرفين يطلق عليه **Monotrichous**

–B– خصلة من الاسواط وتسمى **Lophotrichous**

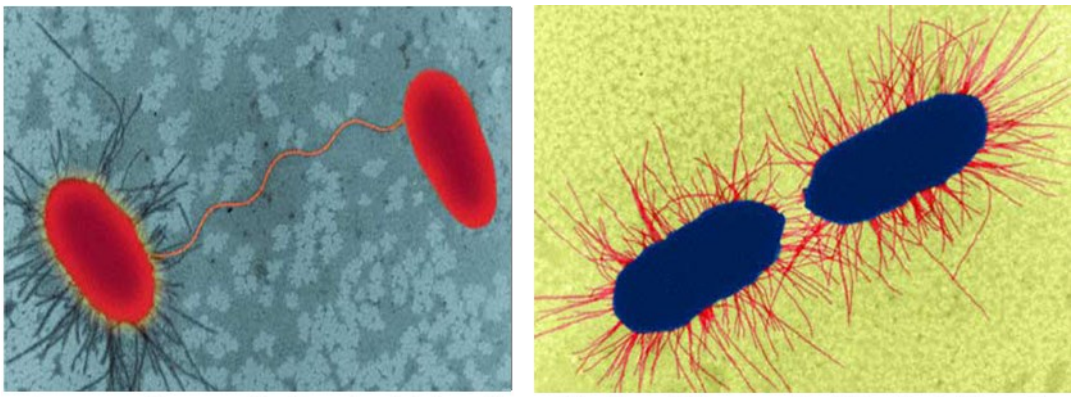
–C– سوط واحد في كلا قطبي الخلية وتسمى **Amphitrichous**

–D– مجموعة من الأسواط تحيط بجسم الخلية يطلق عليها **Peritrichous**



2. الأهداب Fimbriae و الزوائد الشعرية Pili :

تحتوي بعض الخلايا البكتيرية على أهداب تتميز بأنها أقصر من الاسواط وتتكون من بروتين البيلين pilin. وتساعد الخلية على الالتصاق بالسطوح وبخاصة في الحالات المرضية. أما الزوائد الشعرية pili فتوجد بكثرة في البكتريا السالبة لغرام (شكل 2) وهي عبارة عن خيوط دقيقة أطول من الأهداب ويتراوح طولها بين (0 – 20) مايكرومتر، وعرضها بين(3 – 25) ميلي مايكرون، وعددها واحد أو اثنان فقط لكل خلية. تقوم هذه الزوائد بعدد من الوظائف في الخلية البكتيرية، لأنها تشكل المكان الذي يثبت عليه عاثيات البكتريا **(Bacteriophage)**، كما تقوم بتثبيت البكتيريا نفسها في تفاعلات التراص الدموية **Hemagglutination** وتلعب دوراً هاماً في الاقتران **conjugation** ، إذ تشكل قناة الاتصال بين الخليتين البكتيرية المتزاوجة لذا تسمى أحياناً بالزوائد الجنسية **Sexepilus**، إلا أن دورها الرئيسي مازال غير محدد بشكل دقيق.



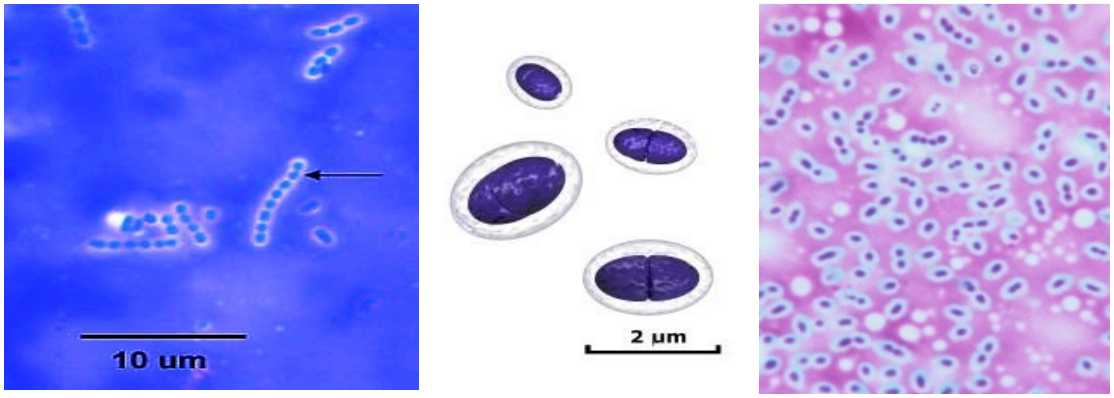
شكل (2). الزوائد الشعرية Pili في بكتيريا *E. Coli*

3. الطبقة اللزجة أو العلبة (المحفظة) Slime layer or capsule

تحاط الخلية البكتيرية بطبقة هلامية لزجة يختلف سمكها بإختلاف النوع فقد تكون غشاء رقيقاً في بعض الأنواع وقد تكون غشاء سميكاً في أنواع أخري وتسمي **علبة Capsule**، (شكل 3). إذا كان تركيبها متماسك وقد يصل سمكها إلى أكثر من ضعف الخلية وتحيط العلبة بالخلية المنفردة أو بالسلسلة من الخلايا إذا كان التجمع في سلاسل. وإذا كان تركيبها مفكك فتسمى هلام أو طبقة لزجة **Slime** وإذا كان تركيبها صلب تسمى **الغمد Sheath** ولا تصبغ علبة البكتريا في التحضيرات المصبوغة بالطرق العادية حيث تظهر الخلية محاطة بمنطقة غير مصبوغة هي الغلاف لذلك يستعمل لصبغ العلبة طرق خاصة وتتركب مادة العلبة في معظم الحالات من مواد كربوهيدراتية معقدة عديدة السكريات وفي بعض الأنواع تدخل الأحماض الأمينية في تركيبها. ومن أمثلة البكتريا التي تكون العلبة ***Leuconostoc mesenteroides*** و بكتريا ***Streptococcus pneumonia*** .

أهمية العلبة

تقوم المحفظة بحماية البكتريا من الظروف البيئية السيئة خصوصاً الجفاف، وتأمين المقاومة ضد البلعمة الخلوية، إضافة لمساعدة الخلية في الالتصاق على السطوح، ووجود الغلاف له تأثير واضح على مظهر المزارع البكتيرية وبهذا فهي تفيد في التمييز بين الأنواع وبعضها.



شكل (3). بكتيريا ***Streptococcus*** محاطة بالمحفظة Capsule

4. الجدار الخلوي Cell Wall:

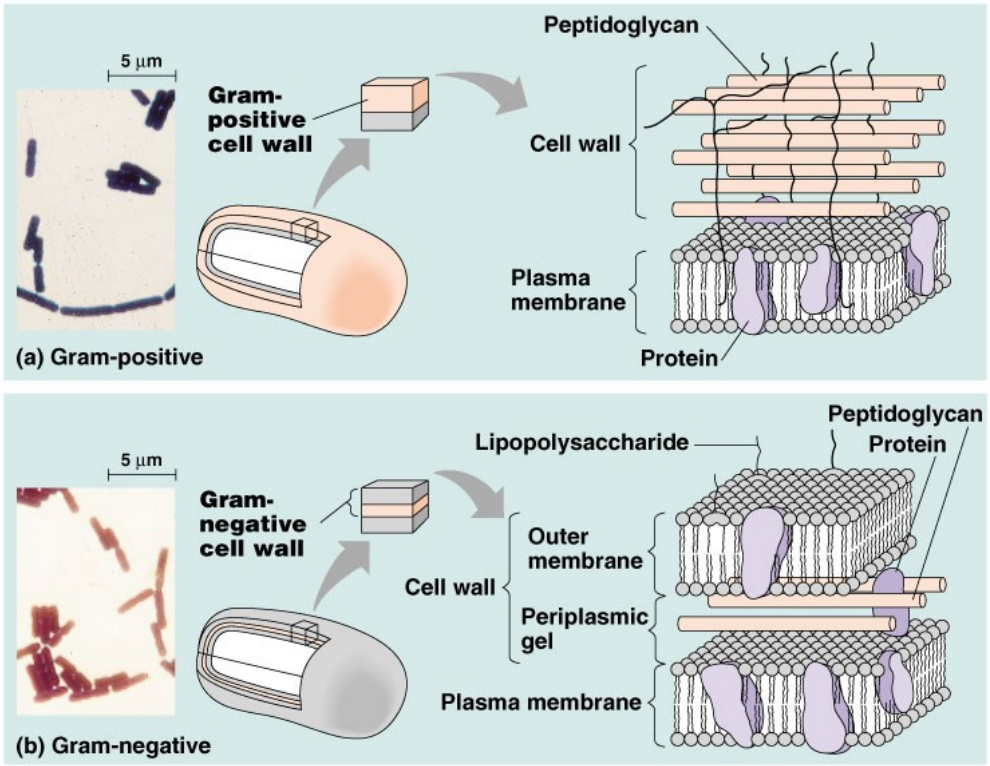
للبكتيريا الحقيقية جدار خلوي عبارة عن غشاء صلب **Rigid** ويتراوح سمكه ما بين 10–20 نانوميتر ويمثل حوالي 20% من الوزن الجاف للخلية، يتكون الجدار الخلوي من عدة طبقات من السكريات المتعددة الأمينية والشحوم وبعض الاحماض الأمينية التي تكون كلها مجتمعة ما يسمى الببتيدات المخاطية **Mucopeptides** او ما يدعى بـ **Peptidoglycan** والكربوهيدرات الداخلة في تركيبه عبارة عن مركبين هما السكر الأميني **N–acetyl glucose amine** والآخر هو **N–acetyl muramic acid** مرتبطة ببعضها بروابط بيتا 1–4 جليكوزيدية. هذا وقد تبين أن تركيب هذا الجدار يختلف تماماً عن جدار الخلية النباتية ويضم أحماضاً (مثل حمض ميوراميك وحمض التيكوئيك Teichoic acid) لا وجود لها إطلاقاً في بقية الخلايا النباتية.

يمكن لبعض الأنزيمات كالليزوزيم **Lysozyme** (الموجود في الدمع أو اللعاب) أو لبعض المضادات الحيوية كالبنسلين، أن تثبط اصطناع طبقة الببتيدات المخاطية المسؤولة عن تماسك الجدار الخلوي، وذلك بأن تمنع ارتباط سلسلة الببتيدات الداخلة في تركيبها، وتفقد بالتالي الخلايا البكتيرية شكلها وتماسكها، وتعرضها أحياناً للتحلل والموت. ففي البكتريا سالبة غرام تكون نسبة الببتيدات المخاطية قليلة. نجد أن هذه الأنزيمية لا تحلل الجدار الخلوي تحللاً كاملاً، وإنما تتحول الخلايا إلى أجسام كروية تدعى **Spheroplaste** وهي عبارة عن بروتوبلاست محاطة بجزء من الجدار المقاوم لأنزيم الليزوزيم.

يعتقد حالياً أن التلوين بصبغة غرام مرتبط بخاصية نفوذية المذيبات الشحمية (كحول – أسيتون) عبر الجدار الخلوي، لأن جميع البكتريا سواء أكانت موجبة أم سالبة غرام تستطيع امتصاص المحلول المائي للبلورات البنفسجية، وعند إضافة محلول Lugol (يود البوتاسيوم) فإن اليود يخترق الجدار الخلوي ويشكل معقداً مع محلول البلورات البنفسجية داخل الخلية البكتيرية، وبإضافة الكحول يظهر الفرق بين البكتريا سالبة الغرام و موجبتها، إذ تتميز الجدر الخلوية في البكتريا سالبة الغرام بأنها تمرره بسرعة كبيرة (بسبب طبيعتها الشحمية) مما يؤدي إلى حل المعقد السابق بإذابته وخروجه من الخلية البكتيرية التي تصبح عديمة اللون من جديد وتأخذ بالتالي اللون الأحمر لمحلول الفوكسين المضاف بعد الكحول. أما بالنسبة لجدر البكتريا موجبة غرام، فإنها تمرر الكحول بصعوبة كبيرة، ولذلك فإن الكمية التي تعبر إلى السايتوبلازم لا تكون كافية لحل هذا المعقد، مما يؤدي إلى بقائه داخل الخلية البكتيرية، ويعطيها بالتالي اللون البنفسجي لاحظ الشكل (4).

أهمية جدار الخليـــة:

- يحفظ الجدار للخلية البكتيرية شكلها المميز كما أنه نظرا لصلابته يحمي الخلية من الظروف الخارجية ومن الانتفاخ الأسموزي عندما تنمو في المحاليل الغذائية المنخفضة التركيز.
- يتحكم في نوع الجزيئات التي تمر خلال ثقوبه تبعاً لحجومها ولكن ليس له خاصية النفاذية الاختيارية مثل الغشاء السايتوبلازمي.
- يشكل الجدار الخلوي الركيزة التي يمكن أن تتثبت عليها عاثيات البكتريا **Bacteriophages** بواسطة ذيلها، حيث تفرز أنزيمات تحلل هذا الجدار وتؤدي إلى عبور DNA الفيروسي الموجود في رأس الفايروس داخل الخلية البكتيرية، ولا يلبث هذا الفايروس أن يتكاثر ويؤدي في النهاية إلى انفجار الخلية.



شكل (4). الجدار الخلوي للبكتريا. لاحظ الفرق في تركيب الجدار بين البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام.

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: بنية خلايا بدائيات النوى ووظيفتها (الجزء الثاني)

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن

ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

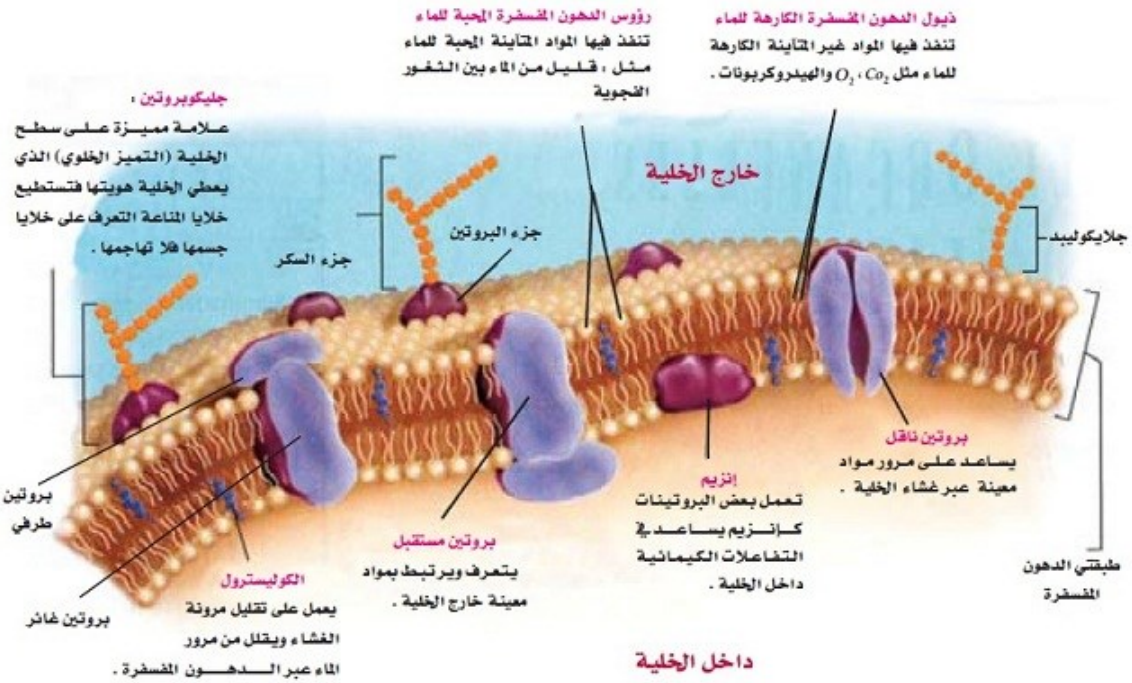
4. الغشاء الخلوي Plasma membrane:

هو غشاء رقيق جداً شبه منفذ (اختياري النفاذية)، يلي الجدار الخلوي، يتركب بصورة رئيسياً من معقد بروتيني شحمي (60% بروتينات و40% شحوماً)، بالإضافة إلى احتوائه أحياناً على كمية من السكريات والبروتينات النووية، وعلى عدد كبير من الأنزيمات التنفسية (السيتوكرومات) وأنزيمات Permeases.

ويمكن إيجاز الدور الذي يلعبه الغشاء السايتوبلازمي في حياة الخلية البكتيرية في النقاط التالية:

- له دور نشط في الانقسام الخلوي، حيث يشكل انبعاجات أنبوبية نحو الداخل تدعى Mesosomes ترتبط المادة النووية.
- يحتوي على أجهزة نقل الالكترونات (السيتوكرومات Cytochromes) الهامة في الأكسدة والاختزال داخل الخلية، أي أنها تقوم بالنسبة للبكتريا بوظيفة بيوت الطاقة Mitochondrion في الخلية الراقية، كما يحتوي الغشاء السايتوبلازمي على بعض الأنزيمات التي تقوم باصطناع السوائل المعقدة، وبعض مكونات الجدار الخلوي.
- يشكل حاجزاً انتقائيا باختياره المواد التي تحتاجها الخلية فقط، كما يحفظ مواد التمثيل داخلها بفضل أنزيم ال Permease وبذلك فهو يلعب دور مرشحة خلوية انتقائية.

إن تخريب الغشاء السايتوبلازمي باستعمال بعض العوامل الفيزيائية أو الكيميائية أو الميكانيكية، يؤدي إلى موت الخلية على الرغم من عدم ظهور أية أعراض شكلية تحت المجهر.



شكل (5) تركيب الغشاء الخلوي.

أما المكونات الداخلية فهي مجموعة من المواد التي تكون محتوى الخلية وتسمى **البروتوبلازما** وهي تشمل:

1- السيتوبلازم Cytoplasm :

عبارة عن مادة هلامية موجودة داخل الغشاء البلازمي، تحتوي بشكل أساسي على الجسيمات الريبية من النمط 70S. وعلى حاملات الأصبغة Chromatophores في البكتريا الخضراء، إضافة إلى المكتنفات inclusions المختلفة مثل حمض بولي بيتا هيدروكسي بيوتريت Polyhydroxybutyric وحبيبات سكرية من نمط الغليكوجين Glycogen والفوليوتين Volutine من نمط الفوسفات المتعددة، وأحياناً الكبريت في البكتريا الكبريتية.

2- المادة النووية Nucleoid:

أثبتت الدراسات الكيميائية الخلوية ودراسات المجهر الإلكتروني أن كل محتوى الخلية من DNA يتركز في المنطقة النووية بشكل خيوط دقيقة ملتفة بعضها فوق بعض، وإن المادة النووية غير محاطة بالبروتينات القاعدية، وغير محددة بغلاف نووي، ولا تحتوي على نويات. كما أن المورثات تتصل معاً لتشكل خيطاً صبغياً واحداً حلقي الشكل، وأحياناً قد تتصل المادة النووية بالغشاء السيتوبلازمي بواسطة الميزوزومات.

3- البلازميدات plasmids:

توجد البلازميدات في البكتريا سواء أكانت موجبة الغرام أم سالبة الغرام، وهي جزيئات DNA حلقية ثنائية السلسلة خارجة عن الصبغيات، وتستطيع التضاعف بشكل مستقل عن الصبغيات البكتيرية. هذا ويمكن أن تندمج البلازميدات مع الصبغيات البكتيرية، وقد توجد أنماط مختلفة منها في الخلية الواحدة.

(1) البلازميدات النقالة Transmissible:

هذه البلازميدات يمكن أن تنتقل من خلية إلى أخرى، وهي كبيرة وتحوي نحو 12 مورثة مسؤولة عن تشكل الأهداب الجنسية والأنزيمات اللازمة للنقل، وزنها الجزيئي $(10 - 40) \times 10^6$ دالتون، وهي توجد في الخلية بأعداد قليلة (1 - 3 وحدات).

(2) البلازميدات غير النقالة Non transmissible: وهي صغيرة ولا تحوي مورثات النقل، وزنها الجزيئي (3 – 20) x 10^6 دالتون، وهي كثيراً ما توجد بأعداد كبيرة (1 – 60 وحدة) في الخلية.

وتحمل البلازميدات المورثات الرامزة للوظائف والبنى التالية:

- مقاومة المضادات الحيوية بفضل العديد من الأنزيمات.
- مقاومة المعادن الثقيلة كالزئبق والفضة بمساعدة أنزيم Reductase.
- مقاومة الضوء فوق البنفسجي بوجود أنزيمات تعديل (إصلاح) DNA.
- الأهداب التي تساعد على التصاق البكتريا بالخلايا الظهارية.
- الذيفانات الخارجية Ectotoxins بما فيها العديد من الذيفانات المعوية.

4- الأبواغ الداخلية Endospoeres :

تكون بعض أنواع البكتريا (وخاصة فصيلة Bacillaceae) في الظروف غير الملائمة أبواغاً من نوع خاص، تتصف بكونها تقاوم الحرارة و الجفاف والتخمر والعوامل الكيميائية والفيزيائية المختلفة مقاومة تفوق أنواع الخلايا الخضرية كافة، حيث تبقى محافظة على حيويتها حتى درجة 70-80° م ولمدة عشر دقائق، كما أن أبواغ بعض الأنواع تحتفظ بحيويتها حتى بعد ساعتين من الغليان، وذلك بسبب غنى البوغة بمعقد من الكالسيوم وحمض الديبيكولينيك Ca-dipicolinic acid ، إذ يعتقد أنه المسؤول عن مقاومتها للحرارة.

يمكن تمييز ثلاثة أشكال من الأبواغ حسب تموضعها داخل الخلية:

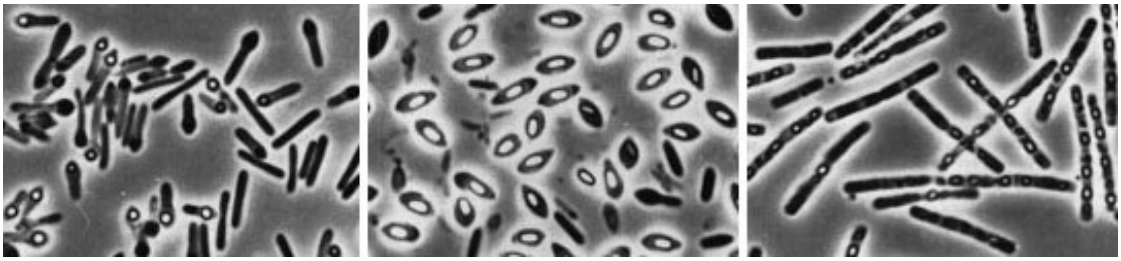
1- أبواغ مركزية حيث تتوضع البوغة في مركز الخلية البكتيرية كما في عصية الجمرة.

2- أبواغ جانبية حيث تتوضع البوغة في أحد جوانب الخلية البكتيرية كما في عصية الكزاز.

3- أبواغ قطبية حيث تتوضع البوغة في أحد قطبي الخلية البكتيرية، كما في العصيات المعوية.

وعندما تتوفر الظروف الملائمة، فإن الأبواغ تأخذ قليلاً من الماء وتفقد قسماً من معقد الـ Ca-dipicolinic acid وتحدث بها تغيرات عديدة ينجم عنها تحطيم الأغلفة البوغية، و خروج خلية بكتيرية نشيطة مماثلة للخلية الأصلية.

هذا ويمكن أن يتم انبات البوغ بصورة تلقائية، أي عند توفر الوسط الملائم، كما يمكن أن يتم بالتحريض كتعريض البوغة لصدمة حرارية، أو بزيادة من CO_2 في الجو المحيط أو باحتواء الوسط على شاردة المنغنيز أو بعض الأحماض الأمينية، حيث ينشط هذا بعض الأنزيمات الخاصة التي تقوم بتخريب وتحليل الجدار الخارجي للبوغة.



شكل (6). اشكال الابواغ حسب موضعها داخل الخلية البكتيرية

ويلخص الجدول الاتي وظائف البنى أو العضيات المختلفة في بدائيات النوى

البنية	الوظيفة
الغشاء البلازمي	النفوذية الاصطفائية، حاجزاً ميكانيكياً للخلية، نقل المغذيات والفضلات، موضع للعديد من العمليات الاستقلابية (التنفس والتركيب الضوئي) استشعار المؤثرات البيئية في عملية الانتحاء الكيميائي Chemo taxis.
الجسيمات الوسيطة (الميزوزومات)	تشارك في الانشطار الخلوي وفي الإفراز.
الريبوزومات	تصنيع البروتينات.
المادة النووية	حمل المادة الوراثية (الدنا DNA).
البلازميد	يحوي العديد من المورثات لمقاومة المضادات الحيوية والأنزيمات والذيفانات.
الأجسام المكتنفة	لتخزين الكربون والفوسفات والمركبات الأخرى.
الجدار الخلوي	يعطي الخلايا شكلها الخارجي ويحميها من الضغط الأزموزي.
المحفظة والطبقات اللزجة	مقاومة البلعمة الخلوية، والالتصاق على السطوح.
الأهداب والشعيرات	الالتصاق بالسطوح والاتصال البكتيري.
الاسواط	الحركة
الأبواغ الداخلية	المحافظة على حياة الخلية في الظروف القاسية

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: التغذية الميكروبية

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن

ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

التغذية الميكروبية Microbial Nutrition

تحتاج الميكروبات كما هي الحال عند بقية الكائنات الحية إلى مواد غذائية Nutrients تساعدها على القيام بتفاعلاتها الحيوية التركيبية biosynthesis وتوليد الطاقة وبناء مادتها الحية.

أولاً: المتطلبات الغذائية العامة The common Nutrient Requirements:

يعد الماء الذي يشكل نحو 80–70% من وزن الخلية حاجة عامة وأساسية لجميع الميكروبات بالإضافة إلى حاجتها للعناصر التي تتألف منها خلاياها وهي:

الكربون، الأكسجين، الهيدروجين، النتروجين، الكبريت، الفوسفور، البوتاسيوم، الكالسيوم، المغنيزيوم والحديد. وهي ما تسمى بالعناصر الكبرى macroelements أو المغذيات الكبرى macronutrients لأنها أساسية ومطلوبة بكميات كبيرة نسبياً من قبل الأحياء الدقيقة. وتشكل العناصر الست الأولى (P–S–N–H–O–C) المركبات السكرية (الكربوهيدراتية) والشحوم والبروتينات والاحماض النووية. بينما تقوم العناصر الباقية الأخرى والتي توجد غالباً على شكل شوارد مختلفة بأدوار عديدة ومهمة في جميع أنشطة الخلية.

يضاف إلى ذلك حاجة جميع الأحياء الدقيقة إلى كميات ضئيلة جداً من مغذيات أخرى، تدعى العناصر الميكروبية microelement أو العناصر النادرة trace element مثل المنغنيز والخارصين والكوبالت والمولبدينيوم والنيكل والنحاس واليود. وغالباً ما تكون هذه العناصر جزءاً من الأنزيمات التي تتوسط آلاف التفاعلات الكيميائية التي يعتمد عليها التمثيل الغذائي في الأحياء الدقيقة. كما تحتاج بعض الأحياء الدقيقة إلى كميات ضئيلة جداً من مواد لا يمكنها تصنيعها ذاتيا وتسمى عادة بعوامل النمو growth factors وتشمل الفيتامينات والاحماض الأمينية وبعض مكونات الأحماض النووية. وهذه العوامل تدخل أيضاً كعوامل مساعدة في عمل الإنزيمات. تختلف حاجة الأحياء الدقيقة إلى هذه العناصر باختلاف الأنواع. ومن الملاحظ بشكل عام أن الخلية وبخاصة البكتيرية تستعمل في بناء البروتوبلازم كمية تقل عن ثلث المواد الغذائية المقدمة لها وتقوم بتفكيك ما تبقى للحصول على الطاقة.

ثانياً: الأنماط الغذائية للأحياء الدقيقة Nutritional Types of Microorganisms:

تحتاج جميع الكائنات الدقيقة إلى الكربون والهيدروجين والأكسجين وإلى الطاقة والإلكترونات لتقوم بعمليات التركيب والبناء أثناء نموها. وتختلف قدرة هذه الكائنات على عمليات التركيب، كما تختلف مصادر الكربون والطاقة والإلكترونات التي تستعملها عند قيامها بعملياتها الحيوية باختلاف الأنواع كما يلاحظ في الجدول (1).

جدول رقم (1) مصادر الكربون والطاقة والإلكترونات

مصادر الكربون	
ذاتية التغذية Autotrophs	CO_2 الجوي وهو المصدر الرئيسي للتركيب الضوئي
غير ذاتية التغذية Heterotrophs	الجزيئات العضوية من الأحياء الأخرى
مصادر الطاقة	
ضوئية التغذية phototrophs	الضوء
كيميائية التغذيةChemotrophs	أكسدة المركبات العضوية و اللاعضوية
مصادر الإلكترونات	
معدنية التغذية Lithotrophs	الجزيئات اللاعضوية
عضوية التغذية Organotrophs	الجزيئات العضوية

وبحسب هذه العوامل فقد قسمت الأحياء الدقيقة حسب ما يلي:

أ- حسب قدرتها على أعمال التركيب:

1. **أحياء دقيقة ذاتية التغذية Autotrophs:** يمكنها أن تركب جميع موادها اعتباراً من الكربون المعدني بشكل CO_2 والآزوت المعدني NH_3 وذلك بفضل احتوائها على عدد كبير من الأنزيمات، وتحصل على الطاقة اللازمة من أكسدة المواد اللاعضوية (المعدنية) كما في جنس Thiobacillus من بكتريا العصيات الكبريتية.
2. **أحياء دقيقة غير ذاتية التغذية Heterotrophs:** لا تملك قدرة كبيرة على تركيب موادها، وهي بحاجة إلى الكربون والآزوت على شكل مركبات عضوية، وتحصل على الطاقة اللازمة لها من أكسدة هذه المركبات العضوية، ويعد معظم هذه البكتريا ممرضاً كما في جنس الـ Escherichia من البكتريا المعوية.
3. **أحياء دقيقة منخفضة التغذية Hypotrophs :** قدرتها على التركيب معدومة، لذا تعيش متطفلة على النسج الحية، كما هو الحال عند الريكتسيا (Rickettsia)، كما وتدخل الفيروسات Viruses تحت هذا النمط من التغذية.

ب- حسب مصدر الطاقة المستعملة:

1. **أحياء دقيقة ضوئية التغذية Phototrophs:** وتمتاز باحتوائها على اليخضور البكتيري Bacterial chlorophyll ولذا فهي تحصل على الطاقة اللازمة باستخدام الضوء وعلى الكربون اللازم للنمو من غاز CO_2 الجوي الذي يختزل بواسطة مركب مانح للالكترونات وحسب طبيعة هذا المركب يمكن أن تقسم إلى :

أ- ضوئية التغذية المعدنية photolithotrophs مانح الإلكترون هنا هو مركب معدني ونذكر منها البكتريا الكبريتية الحمراء Thiorhodaceae وجنس Chromatium.

ب- ضوئية التغذية العضوية photoorganotrophs مانح الإلكترون هنا هو مركب هيدروجيني عضوي ونذكر منها البكتريا اللاكبريتية الحمراء AThiorhodaceae وجنس Rhodopseudomonas.

2. أحياء دقيقة كيميائية التغذية Chemotrophs: تحصل على الطاقة من أكسدة المواد الكيمائية، وحسب هذه المواد يمكن أن تقسم إلى:

أ- كيميائية التغذية المعدنية Chemolithotrophs وتحصل على الطاقة من أكسدة المواد المعدنية مثل SH_2، NO_2، NH_3 ، ونذكر منها بكتريا النترجة.

ب- كيميائية التغذية العضوية Chemoorgnotrophs وتحصل على طاقتها بأكسدة المواد العضوية كالاحماض الأمينية، كما في بعض البكتريا العصوية كجنس الـ Esherichia مثلاً.

3. أحياء دقيقة طفيلية التغذية Paratrophs: تحصل على الطاقة عن طريق التطفل على الخلايا الحية، كما هي الحال عند الريكتيسيا Rickettsias والمغلفات Chlamydias كما تنضوي الفيروسات تحت هذا النمط من التغذية أيضاً.

ويلخص الجدول رقم (2) التصنيف الغذائي للأحياء الدقيقة حسب منبع الطاقة من جهة وحسب طبيعة الجسم المانح للالكترونات من جهة أخرى، مع ما يتبع كل قسم من الأحياء الدقيقة.

مصدر الطاقة	مانح الإلكترون عضوي Organotrophs	مانح الإلكترون معدني Lithotrophs
ضوئي Phototrophs	Photoorganotrophs ويتبعها البكتريا اللاكبريتية الحمراء Athiorhodaceae (مانح الإلكترون هو مركب هيدروجيني عضوي)	Photolithotrophs ويتبعها البكتريا الكبريتية الحمراء Thiorhodaceae (مانح الإلكترون هنا هو الماء).
كيميائي Chemotrophs	Chemoorgnotrophs ويتبعها - الأحياء الدقيقة غير ذاتية التغذية مثال تفاعل عام: $DH_2 + A \rightarrow D + AH_2$ DH_2 مانح الإلكترون العضوي. A مستقبل الإلكترون.	Chemolithotrophs ويتبعها - بكتريا النترجة، الكبريت، الحديد. مثال تفاعل النترجة $NH_4^+ + 3/2O_2 \rightarrow NO_2^- + H_2O + 2H^+$ (مانح الإلكترون هنا هو النشادر NH_4^+ والأخذ هو الأكسجين O_2).

ثالثاً: قبط الخلية للمغذيات Uptake of nutrients by the cell:

يتطلب النمو باعتباره عملية ديناميكية كمية من الطاقة والغذاء من أجل بناء المركبات المختلفة. وبما أن الغذاء موجود في الوسط الخارجي فإن الخطوة الأولى في نمو الأحياء الدقيقة هي امتصاص هذه المواد الغذائية ونقلها إلى داخل الخلية. وتتطلب هذه العملية بعض الطاقة الخلوية وذلك لتوجيه عمليات الاستقلاب الخلوية وعمليات النقل.

لقد لوحظ الانجذاب الكيميائي Chemotaxis نحو الاحماض الأمينية والسكريات في بعض البكتريا المتحركة بسبب احتواء هذه البكتريا على النواقل الكيميائية البروتينية أو السكرية. فلو وضعنا بكتريا *E. coli* (تحوي على تسع نواقل للسكاكر على الأقل) في وعاء يحوي مجموعة من الأنابيب الشعرية التي تضم بعض الاحماض الأمينية أو السكاكر، فإن البكتريا تدخل بعض هذه الأنابيب وتبقى فيها وهو ما يسمى الانجذاب الموجب . فالحامض الاميني السيرين Serine يجذب بكتريا *E. coli* واللوسين Leucine ينفرها.

تحاط معظم الأحياء الدقيقة في الأوساط الطبيعية أو الصنعية بالأيونات (الشوارد) والمواد الغذائية مختلفة التراكيز لذلك لا بد من التمييز بين كيفية استخدام المركبات المعقدة ذات الوزن الجزيئي المرتفع ونفاذية المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض. ففي المرحلة الأولى يتم هضم المركبات المعقدة كالسيللوز والبروتينات والدهون عن طريق أنزيمات خارجية تفرزها خلايا الأحياء الدقيقة إلى الوسط الخارجي عبر الجدار الخلوي، ويمكن الكشف عنها في معظم البكتريا موجبة الغرام إذا كان الوسط سائلاً، أما في البكتريا سالبة الغرام فيلاحظ أن بعض الأنزيمات كما في Ribonuclease والفوسفاتيز القلوية Alkaline phosphatase تبقى مرتبطة بالسيتوبلازما المحيطية Periplasm. تبدأ معظم الأنزيمات الخارجية بتفكيك المركبات المعقدة ثم تنتقل إلى الأكثر تعقيداً محولة إياها إلى وحدات صغيرة بسيطة كما في أنزيم Amylases التي تحلل النشاء عند بكتريا Clostridium Acetobutylicum اللاهوائية تمكنه من العبور إلى داخل الخلية. ومما تجدر الإشارة إليه قدرة بعض البكتريا وبخاصة المخاطية منها Myxobacteria على إنتاج مجموعة من الأنزيمات الخارجية المحللة لأنواع ميكروبية أخرى موجودة في أوساطها الطبيعية، ولذلك تعد من البكتريا الفعالة أو النشيطة جداً.

أما دخول المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض فيتم بإحدى الطرق التالية:

أ. **الانتشار البسيط Simple diffussion:** يتم دخول المواد الغذائية المنحلة وخروجها كالغليسيرول Glycerol عبر الغشاء السيتوبلازمي شبه المنفذ حسب قوانين الانتشار (تتعلق سرعة دخول المواد وخروجها بحجم الجزيئات وشحنتها واختلاف تركيز هذه المواد ضمن الخلية وخارجها) ودون استخدام أية طاقة خلوية.

ب. الانتشار الميسر Facilitated diffusion: حيث يلاحظ عند ازدياد تركيز المواد خارج الخلية ازدياد سرعة دخول هذه المواد وخروجها عبر الغشاء السيتوبلازمي شبه المنفذ (الاصطفائي) باستعمال حوامل البروتينات التي تدعى أحياناً أنزيمات النقل Permeases والموجودة ضمن الغشاء البلازمي.

ج. النقل الفعال Active transport: حيث يتم دخول المواد الغذائية بواسطة مجموعة من أنزيمات النقل النشيطة الموجودة في الغشاء السيتوبلازمي، التي تتميز أولاً بالتخصص في النقل Specificity كما هي الحال في تخصص المجموعة الأنزيمية B–galactosides permease لبكتريا *E. Coli* لنقل السكاكر، وتخصص مجموعات أخرى في البكتريا نفسها لنقل الاحماض الأمينية ثم بارتباطها مع بروتينات الغشاء، إذ لوحظ ارتباط التخصص السابق بنوعية المركبات البروتينية الموجودة على الغشاء السيتوبلازمي. كما تتميز باستخدامها للطاقة الخلوية ففي البكتريا الهوائية تستخدم هذه الأنزيمات الطاقة الناتجة عن أكسدة المركبات المختلفة في أثناء عملية التنفس لذلك فإن العوامل المثبطة للتنفس قد تثبط أيضاً هذه الأنزيمات أما في البكتريا اللاهوائية فتستخدم الطاقة الناتجة في أثناء عمليات التخمر المختلفة.

رابعاً: الأوساط الزرعية Culture Media

وهي الأوساط التي تستطيع الأحياء الدقيقة أن تجد فيها جميع احتياجاتها الغذائية، وغالباً ما نميز بين نمطين من الاستنبات:

الأول يكون باستنبات الميكروبات في الأوساط الحية (In–Vivo) ويميز الميكروبات الطفيلية فقط.

أما الثاني فيكون باستنباتها في أوساط صنعية مخبرية (In–Vitro) وفي النمط الثاني هذا يمكن للوسط أن يكون سائلاً ومحتوياً على بعض العناصر المعدنية الضرورية، كما يمكن أن يكون صلباً بإضافة بعض المواد الخاصة كالآجار Agar أو الجيلاتين.

إن اختلاف المتطلبات الغذائية للأحياء الدقيقة. يحتم وجود عدة أنواع من الأوساط تختلف باختلاف النوع المراد استنباته وهذه الأنواع هي:

أ– الأوساط الغنية Enriched media

تتألف هذه الأوساط من مرق اللحم Nutrient broth أو الآجار المغذي Nutrient Agar الذي أضيف إليه قليل من الدم أو خلاصة بعض النباتات أو المصل الفيزيولوجي. تستعمل هذه الأوساط للأحياء الدقيقة غير ذاتية التغذية.

ب- الأوساط الاختيارية Selective media

إن إضافة بعض المواد الكيميائية الخاصة لوسط الآجار المغذي يساعد على نمو بعض الأحياء الدقيقة، بينما لا يؤثر على البعض الآخر. فعند إضافة تركيز ما من البلورات البنفسجية يثبط نمو بعض البكتريا موجبة غرام، بينما لا يؤثر ذلك على نمو بعض البكتريا سالبة غرام. وكذلك الحال بالنسبة لبعض المركبات الكربونية، حيث يستعمل المالتوز مثلاً لبعض البكتريا، بينما تفضل أخرى السكروز.

ج- الأوساط التفريقية Differential media: يمكن إضافة بعض الأوساط الخاصة لمستعمرة ما، من التفريق بين الأنواع المختلفة. فلو أضفنا لمستعمرة بكتيرية مثلاً وسطاً من الآجار والدم، فإنه يحتمل ظهور منطقة شفافة حول المستعمرات البكتيرية النامية نتيجة تحليل البكتريا لكريات الدم الحمراء، كما يمكن ألا تظهر هذه المنطقة الشفافة حول المستعمرات مما يدل على أن هذه البكتريا لا تستطيع تحليل الكريات الحمر. وبذلك يستنتج أن هذا الوسط قد استطاع أن يفرق لنا نوعين من البكتريا الأول محلل للوسط المضاف والثاني غير قادر على تحليله.

د- الأوساط التجريبية Assay media

يمكن استعمال بعض الأوساط المحددة التركيب والمختارة تجريبياً لقياس كمية الفيتامينات، والاحماض الأمينية أو المضادات الحيوية الناتجة عن نمو بعض الأحياء الدقيقة.

هـ- الأوساط الخاصة بتعداد البكتريا Media for Enumeration of Bacteria

وهي أوساط خاصة ونوعية تستخدم لأجل تقدير أعداد نوع معين من البكتريا كما هي الحال بالنسبة لبكتريا الحليب أو المياه. وغالباً ما تكون هذه الأوساط محددة التركيب.

و- الأوساط التي تحدد صفات البكتريا Media for characterization of Bacteria

وهي أوساط خاصة ونوعية أيضاً، تستعمل لعزل الأنواع البكتيرية التي لها قدرة وظيفية ما، كما هي الحال بالنسبة للبكتريا المثبتة للنتروجين أو بكتريا النترجة....الخ.

ز- الأوساط المنظمة Maintenance Media

قد لا يكون غرض التجربة أحياناً الوصول إلى نمو بكتيري معين بقدر ما هو المحافظة على استمرار هذا النمو. ولذلك تضاف بعض المواد الخاصة بحيث تحفظ المستعمرة من الفناء، وتبقيها حية أطول فترة ممكنة.

وأخيراً فإن هنالك تدرجاً في الأوساط بين الصلب، ونصف الصلب، والسائل يختلف باختلاف النوع البكتيري المستنبت، وسوف يعالج ذلك بالتفصيل في الدروس العملية.

خامساً: عزل المزارع النقية Isolation of Pure Cultures

توجد الأحياء الدقيقة في موائلها Habitats الطبيعية بشكل معقد ومختلط مع العديد من الأنواع الأخرى. وهذا ما يسبب لعلماء الأحياء الدقيقة مشاكل عديدة، لأن دراسة صفات النوع تتطلب عزله في مزارع نقية تمكننا من دراسة خصائص مستعمراته الظاهرية (لونها، قطرها، شكلها) على الأوساط الغذائية المناسبة. ثم فحصها بعد تلوينها بالطرق المعروفة. كما يمكن دراسة المتطلبات الغذائية للأحياء الدقيقة وخواصها البيوكيميائية Biochemical والمصلية Serological والمرضية Pathogenicity.

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: النمو الميكروبي

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن

ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

النمو الميكروبي Microbial Growth

تطلق كلمة النمو في بدائيات النوى عموما وفي بعض المكروبات من حقيقيات النوى للتعبير عن الزيادة في تعداد الخلايا الميكروبية عن العدد الأصلي، الذي بدأت به المزرعة نموها أي أن النمو في البكتيريا يعبر عن التكاثر، ويأتي كنتيجة طبيعية للانقسام الخلوي للخلايا الميكروبية، فيزداد عددها دون ازدياد في حجم أفرادها.

منحني النمو The Growth Curve

يمثل نمو الأحياء الدقيقة بيانياً برسم منحني يوضح العلاقة بين الزمن الكلي للحضن (t) ولوغاريتم عدد الخلايا الناتجة (log b) يتميز هذا المنحنى بوجود أربعة أطوار هي:

1. طور الكمون Lag phase

إن إضافة الميكروبات إلى بيئة جديدة لا يعني مضاعفة عددها فوراً، بسبب الظروف الجديدة المختلفة عن سابقتها. وهذا لا يعني أيضاً أنها ستدخل في مرحلة سكون، فقد أثبتت الدراسات أن الخلية المفردة في هذا الطور تزداد بالحجم، وتكون نشيطة فيزيولوجياً، كما تقوم بتركيب بروتوبلازم جديدة.

إن الخلية الميكروبية في هذه الظروف الجديدة ربما تعاني من عجز في أنزيماتها، وهي بحاجة إلى الوقت لتتلاءم فيه مع هذه البيئة **ولذلك فإننا نقول بأن هذه الخلية كامنة فقط من حيث انقسامها، أي أن النمو يكون معدوماً.**

تختلف مدة هذا الطور بحسب:

- **نوع الميكروب**
- **عمر الميكروب المزروع:** إذا كانت الميكروبات فتية، فإن مدت هذا الطور ستكون أقصر.
- **طبيعة البيئة الجديدة:** تقتصر مدة هذا الطور إذا كانت البيئة ملائمة ولا تحتوي على مواد مثبطة للنمو أو مضادات حيوية.
- **كمية الميكروبات المزروعة:** كلما كانت الكمية كبيرة قصرت مدة هذا الطور أيضاً.

2. الطور اللوغاريتمي Logarithmic phase

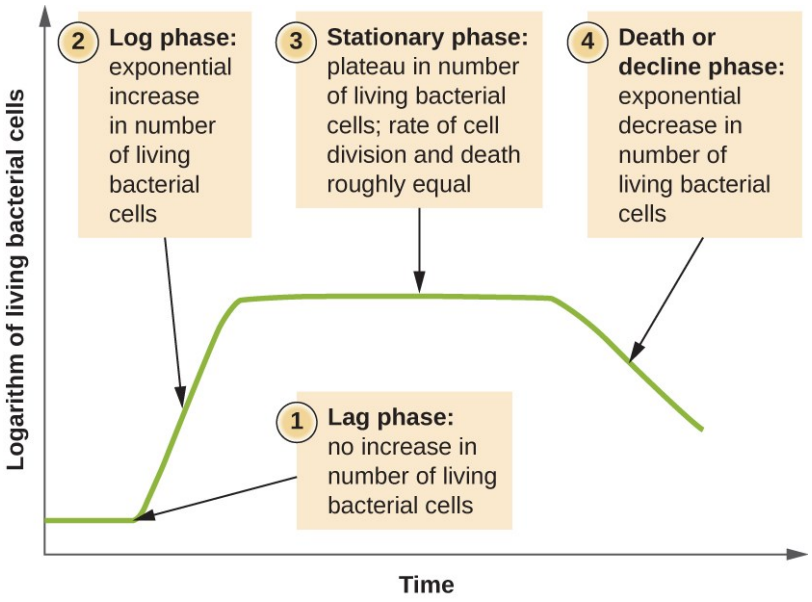
يتسارع النمو الميكروبي في هذا الطور، ويكون معدل النمو ثابتاً يأخذ منحنى النمو شكل الخط المستقيم (عند وضع لوغاريتم عدد الخلايا مقابل الزمن)، كما يبلغ التزايد في عدد الخلايا أقصاه بسبب قصر زمن الانقسام، يضاف لذلك أن الخلايا الميكروبية تكون متشابهة في تركيبها الكيميائي ونشاطها الاستقلابي، وفي بقية صفاتها الفيزيولوجية. ترتبط المدة الزمنية لهذا الطور ببدء الطور الذي يليه.

3. طور الثبات Stationary phase

ينتهي الطور اللوغاريتمي للنمو بعد عدة ساعات، ويبدأ معدل التكاثر بالتناقص حتى يتوازن مع معدل موت الخلايا، بشكل يبقى فيه عدد الخلايا الحية ثابتاً، وبذلك يبدأ طور الثبات. ويعزى حدوث هذا الطور لعدة أسباب لعل أهمها نقص المواد الغذائية وتراكم نواتج النمو السامة الناتجة عن النشاط الخلوي مما يؤدي إلى اختلاف تركيب الوسط. يتوقف طول زمن هذا الطور بالدرجة الأولى على النوع الميكروبي، وعلى حساسيته للظروف المحيطة فكلما زادت الحساسية قصرت فترة الطور.

4. طور الهبوط Decline phase

يلي طور الثبات ويسمى بطور الموت أيضاً، لأن معدل موت الخلايا الميكروبية يكون كبيراً، بسبب نفاذ المواد الغذائية، وتراكم المواد المثبطة للنمو. تختلف المدة الزمنية لهذا الطور باختلاف النوع الميكروبي، فبينما نجد أن خلايا بعض المكورات سالبة غرام تموت خلال 72 ساعة أو أقل، نجد أن بعض الخلايا في أنواع أخرى تبقى حيّة فترة تتراوح بين أشهر إلى عدة سنوات.



المفهوم الرياضي للنمو: معدل النمو وزمن الانقسام

لقد أوضحنا سابقاً أن تكاثر الخلية الميكروبية يعني انقسامها إلى خليتين، فإذا بدأنا بخلية واحدة، فإننا نعبر عن عدد الخلايا الناتجة بالمتوالية الهندسية:

$$1 \rightarrow 2 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \rightarrow 2^4 \rightarrow 2^5 \rightarrow \ldots\ldots 2^n.$$

حيث 2^n هي عدد الخلايا الناتجة بعد مرور عدد (n) من الأجيال. ويدعى الزمن اللازم لتكوين الخلية وشروعها في الانقسام بزمن الانقسام Generation Time

ويختلف هذا الزمن باختلاف النوع الميكروبي فيتراوح في بعضها من عدة دقائق مثل *E. coli* (15–35) دقيقة، إلى عدة ساعات في بعضها الأخر كما في *Mycobacterium tuberculosis* (12–20) ساعة، كما يختلف باختلاف الظروف البيئية (تركيب الوسط الغذائي، الظروف الفيزيائية)، فالبكتريا قادرة على النمو في ظروف مختلفة، ولكن النمو الأفضل يتطلب ظروفاً مثلى محددة وخاصة بكل نوع.

ففي الظروف المثلى نستطيع تحديد زمن الانقسام لمزرعة ميكروبية ما، ثم حساب نموها بعلاقة رياضية بسيطة. يحسب زمن انقسام خلية ميكروبية واحدة إما باستعمال المجهر أو بزراعة عدد معين من الميكروبات في وسط سائل ملائم وحضنها في ظروف مناسبة مدة 24 ساعة (وقد تكون أقل أو أكثر) ومن ثم حساب العدد النهائي للمكروبات بتقدير الكثافة الضوئية بجهاز قياس العكر، حيث تزداد هذه الكثافة بازدياد تعكر الوسط الدال على ازدياد الميكروبات ويلاحظ هنا القيام بتجربة حضن للوسط السائل المغذي دون أية ميكروبات، ليستعمل كشاهد Blank في ظروف حضن العينة المدروسة نفسها.

يمكن حساب عمر الجيل ومعدل النمو وفق معادلة معينة ويتطلب ذلك معرفة عدد الخلايا المزروعة في البداية وعدد الخلايا الناتجة في نهاية الزرع، فمثلا لو زرعنا خلية بكتيرية واحدة في وسط زرعي وتحت ظروف نمو مناسبة فإنها ستتضاعف بعد مرور مدة عمر الجيل فيصبح عدد الخلايا في الجيل الثاني 2 والثالث 4 والرابع 8 وهكذا وبهذا يتضاعف العدد في كل جيل.

فلو فرضنا ان أ = عدد الخلايا المزروعة في البداية (في الوقت صفر)

ب = عدد الخلايا بعد مرور فترة زمنية معينة

ن = المدة اللازمة لإنهاء التجربة

ج = عمر الجيل

ع = عدد الأجيال

لو = لوغارتم 10

فلو بدأنا الزرع بخلية واحدة فان العدد النهائي للبكتريا (ب) في نهاية التجربة بعد مرور فترة زمنية (ن) سيكون:

ب = 1 × $2^{ع}$

حيث ع يمثل عدد الاجيال

وإذا بدانا الزرع بعدد خلايا قدره (أ) فان المعادلة ستكون

ب = أ ×$2^{ع}$ ولو اخذنا لوغارتم الطرفين يكون

لو ب = لو أ + ع لو 2

ع = (لو ب – لو أ) ÷ لو 2

وبما ان لو 2 = 0.301 اذن تصبح المعادلة:

ع = (لو ب – لو أ) ÷0.301

ع = 3.3 لو (ب ÷ أ) وبهذا نستطيع حساب عدد الاجيال

عمر الجيل يساوي المدة الزمنية التي يستغرقها الجيل الواحد

ولهذا فان عمر الجيل ج هو ج = ن ÷ ع

وبالتعويض في المعادلة تصبح ج = ن ÷ 3.3 لو (ب ÷ أ)

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: تقدير النمو الميكروبي

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن

ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

تقدير النمو الميكروبي

بما أن النمو الميكروبي هو الزيادة في عدد الخلايا المتكونة نتيجة الانقسام، فإنه من الممكن تقدير هذا النمو بطرق عديدة مبنية على الأسس التالية:

1. تقدير العدد الكلي للخلايا الميكروبية مباشرة باستعمال المجهر، أو بطرق غير مباشرة بإجراء عد المستعمرات.
2. تقدير الكتلة الخلوية مباشرة عن طريق تقدير الزيادة في الوزن الجاف أو الرطب، أو عن طريق أحد عناصر المحتويات الخلوية كالكربون أو النتروجين أو بطريق غير مباشر اعتماداً على تقدير درجة تعكير البيئة.
3. تقدير النشاط الخلوي، وهي طريقة غير مباشرة تعتمد على مقارنة النشاط الأنزيمي الناتج بمقدار النمو المراد قياسها.

يمكن إذاً تتبع إحدى الطرق التالية:

أ- تقدير العدد الكلي للخلايا:

يتم هذا التعداد مباشرة بالمجهر في تحضيرات ملونة. ينشر حجم معلوم من المزرعة أو المعلق الميكروبي (0.01 مل) بانتظام على مساحة معلومة من صفيحة زجاجية، حيث يثبت الغشاء الناتج ويلون، ثم تحصى الميكروبات الفردية بفحصه تحت حقل المجهر، ومنه يحسب عدد الخلايا في (1 مل) من المعلق.

تستعمل حالياً صفائح خاصة مثل **Petroff hausser** فيها حجرة للعد تساعد على إجراء العد بشكل دقيق وسريع دون تلوين. ومن عيوب هذه الطريقة كونها تعطي العدد الكلي للخلايا الحية والميتة، وأنها ليست كافية في حالة المعلقات المخففة جداً، بالإضافة لكونها مجهدة للنظر.

شريحة العد بتروف هاوسر

ب- طريقة عد المستعمرات بالأطباق:

تعتمد هذه الطريقة على زراعة الميكروبات في أوساط غذائية صلبة ملائمة داخل أطباق بتري معقمة، حيث يؤخذ (1 مل) من المزرعة المراد فحصها ويلقح بها الوسط الزرعي الصلب، ثم تحضن هذه الأطباق بدرجة حرارة ملائمة، وتعد المستعمرات النامية فيها بعد فترة زمنية معينة تختلف باختلاف النوع الميكروبي المدروس مثلا (24 ساعة) لبكتيريا ***E. coli*** وثلاثة أيام على الأقل لبكتيريا Azotobacter .

يمكن أن نحصل بهذه الطريقة على عدد كبير من المستعمرات التي تتداخل حدودها، ويصبح احتمال الخطأ كبير، لذلك يجري تخفيف متدرج للعينة المدروسة لدرجة تسمح بظهور عدد من المستعمرات في الأطباق يتراوح بين (30-300) مستعمرة، وبمعرفة التخفيف نستطيع معرفة عدد الميكروبات الموجودة في (1 مل). تعطي هذه الطريقة نتائج جيدة عند زراعة بكتريا الحليب والماء والأغذية وغيرها، لأنها طريقة سهلة ودقيقة.

ج- تقدير العدد في الوسط السائل:

تستعمل هذه الطريقة بشكل خاص لعد ميكروبات التربة. حيث تلقح أوساط غذائية سائلة، ملائمة وموزعة في أنابيب اختبار بمعلق التربة المتدرج في التخفيف، وتحضن في الظروف المناسبة فترات زمنية تختلف باختلاف النوع المدروس. تنمو

البكتريا في هذه الأوساط، ويترافق نموها بتشكل راسب حبيبي غروي ولزج في أسفل الأنابيب، أو غشاء رقيق في وسط السائل أو على سطحه. تعد هذه الأنابيب موجبة بالمقارنة مع الأنابيب السالبة التي لا تحوي على الراسب أو الغشاء. يحسب العدد الأكثر احتمالاً بالرجوع إلى جداول خاصة.

د- طريقة العد باستعمال أغشية الترشيح:

يجري ترشيح ميكروبات الماء أو الهواء بأوراق ترشيح خاصة Millipore مختلفة في أقطار مساماتها ثم توضع ورقة الترشيح هذه داخل أطباق خاصة وتحصى مباشرة أو بعد تلوينها. يمكن أن تحتضن أوراق الترشيح في ظروف مناسبة، ثم تحصى المستعمرات النامية بعد فترة معينة.

هـ- تقدير درجة تعكير البيئة Turbidimetrice method

تنمو الميكروبات في الأوساط السائلة، ويترافق هذا النمو بزيادة تعكر الوسط بسبب ازدياد عدد الخلايا فيه. فإذا مررنا حزمة ضوئية خلال الوسط، فإن الخلايا البكتيرية تمتص وتبعثر بعض هذه الأشعة الضوئية. والحقيقة أن كمية الضوء الممتصة والمبعثرة تتناسب مع كتلة الخلايا في الوسط، حيث أن ازدياد عدد الخلايا يؤدي إلى زيادة تبعثر الضوء وامتصاصه. ولقياس مدى هذا التبعثر يستعمل إما مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer أو مقياس العكر Turbidimeter .

تستعمل هذه الطريقة بكثرة في دراسة نمو البكتريا لسرعتها ودقتها. ولكن لا يمكن استعمالها في الأوساط الملونة كثيراً أو التي تحتوي على مواد عالقة أخرى غير الخلايا البكتيرية، أو عندما يكون نمو المزرعة ضعيفاً. تجدر الإشارة إلى أن هذه الطريقة تأخذ في الحساب الخلايا الميتة والحية على السواء.

و- تقدير الزيادة في محتويات الخلية من النتروجين:

ذكرنا سابقاً أن الخلية الميكروبية تتركب بشكل أساسي من البروتين، ولما كان النتروجين يشكل القسم الرئيسي من هذا البروتين (إذ يشكل 5.5% من وزن الكتلة الجاف)، فإن كميته في المستعمرة تتناسب مع عدد الخلايا البكتيرية وحجمها.
غالباً ما يجري قياسان لكمية النتروجين في المستعمرة أحدهما قبل بدء النمو والآخر في نهايته ثم تحسب الزيادة في النمو تعد هذه الطريقة غير حساسة، لأنها تصلح في حال وجود أعداد كبيرة من الميكروبات فقط.

ز- تقدير الزيادة في الوزن الجاف للخلية:

تستعمل هذه الطريقة في حال المزارع الميكروبية ذات النمو الكثيف، وهنا يجب غسل الخلايا جيداً من الشوائب والمواد العالقة بها، وتعد من الطرق غير الحساسة أيضاً.

ح- تقدير النشاط الخلوي:

يكون ذلك بتقدير التغيرات الكيميائية التي تحدث لإحدى مكونات الوسط، كأن تقدر كمية الحمض الناتجة عن تخمير سكر الغلوكوز بواسطة نوع ميكروبي معين لأن هذه الكمية تتناسب عادة مع الأعداد الميكروبية في المزرعة. كما قد يتم تقدير النشاط الخلوي بقياس النشاط الأنزيمي لأنزيم ما كقياس قدرة النتروجينيز Nitrogenase على تحويل الأستيلين C_2H_2 إلى اثيلين C_2H_4 في عملية القياس غير المباشرة لتثبيت النتروجين الجوي من قبل ميكروبات التربة المثبتة للنتروجين حيث تتناسب كمية الاثيلين المنطلقة مع عدد الميكروبات المثبتة للنتروجين في المزرعة المدروسة.

ط- النمو المتواقت Synchronous growth:

إن انقسام الخلايا في مزرعة ميكروبية ما قد لا يحدث بالوقت نفسه بالنسبة لجميع الخلايا. ولما كانت ضروريات البحث تقتضي أحيانا الحصول على خلايا متشابهة تماما، بحيث أن كل خلية من هذه المزرعة تمثل تماماً جميع الخلايا الموجودة فيها، فإن إحداث مثل هذا التواقت هام جداً صناعياً.

لقد أثبتت التجارب إمكانية إحداثه إما بتغيير الظروف الفيزيائية حيث تحفظ الخلايا فترة من الزمن على درجات حرارة منخفضة فيحدث فيها استقلاب بطيء، ولكنها لا تبدأ بالانقسام إلا عند رفع درجة الحرارة، وإما باستعمال كمية من خلايا الطور أللوغاريتمي الحديثة التي تفصل بالترشيح أو بالتثقيل التفاضلي Deferential centrifugation من مزرعة ما لتستخدم في تلقيح الوسط المناسب.

ي- الاستنبات المستمر Continuous culture:

إن إطالة الطور اللوغاريتمي في المزارع البكتيرية هي أحد المواضيع الهامة بالنسبة لكل من البحث العلمي والتقدم الصناعي، وهذا ما يمكن تحقيقه مختبرياً، إذ يعمد إلى جعل وسط الاستنبات ثابتاً، إما بإضافة تيار ثابت من الوسط المستعمل باستمرار بحيث يبقى تركيز الشوارد والعناصر الغذائية بالنسبة نفسها وذلك باستعمال جهاز يسمى Chemostat، أو بإضافة وسط الاستنبات الطازج عند وصول درجة عكر المزرعة حداً معينا في جهاز يسمى Turbidostat. يطلق على هذا النمو اسم النمو المتوازن أو النمو الثابت.

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: العوامل المؤثرة على معدل نمو الميكروبات (الجزء الأول)

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن
ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

العوامل المؤثرة على معدل نمو الميكروبات

تؤثر عوامل البيئة المختلفة على نمو الميكروبات سواء وجدت هذه الميكروبات في بيئاتها الطبيعية أم في بيئاتها الصنعية وفيما يلي أهم هذه العوامل:

1. الغــذاء:

تختلف حاجة الأحياء الدقيقة إلى المواد الغذائية باختلاف الأنواع الميكروبية، وفي جميع الحالات يجب توافر المواد التي تستغل في العمليات البنائية للخلية وفي عمليات التنفس، ومن الملاحظ بشكل عام أن الخلية الميكروبية تستغل في بناء البروتوبلازم كمية تقل عن ثلث المواد الغذائية المقدمة لها ويتحلل الباقي للحصول على الطاقة. ولذلك يزداد النمو بدرجة واضحة عند وجود المواد الغذائية المناسبة بكميات كافية بينما يؤدي النقص في أي منها إلى إعاقة النمو وتوقفه.

2. الرطوبة والجفاف:

تحتاج الأحياء الدقيقة إلى الرطوبة والماء الحر لنقل المواد الغذائية في صورة ذائبة إلى داخل الخلية، والفضلات إلى خارجها وحفظ المحتوى المائي للبروتوبلازم. ولذلك فإن بعض الميكروبات وبخاصة تلك التي تعيش في مياه البحار أو المياه العذبة، وكذلك الأنواع المرضية تموت بسرعة إذا تعرضت للجفاف. أما تلك التي يمكن أن تعيش في بعض المواد الغذائية كالشحم والزيت فإنها غير قادرة على التكاثر في هذه المواد بسبب نقص الماء.

ومن الملاحظ بشكل عام أن الأحياء الدقيقة تستطيع تحمل الجفاف إما بتوقفها عن النمو أو بتكوينها للأبواغ كما يمكن لعدد كبير منها أن تبقى حية لمدة طويلة دون أن تنمو أو تتكاثر إذا تعرضت للتجفيف تحت ضغط منخفض (درجة عالية من التفريغ)

حيث تهبط الأفعال الحيوية وتتوقف المبادلات الغذائية تماما. وتستعمل هذه الطريقة لحفظ المزارع البكتيرية سنين عديدة حيث أمكن حفظ بعض بكتريا الدفتيريا مدة (15 سنة) وبكتيريا السل *Mycobacterium tuberculosis* مدة (17 سنة) وبعض أنواع جنس Streptococcus مدة (25 سنة). كما توجد طريقة أخرى للتجفيف هي التجفيف بالتبريد أو التجفيد (Lyophilization) تتضمن المراحل التالية:

1) يوضع المعلق البكتيري (بالحليب) في أنبوب ويغطى بسدادة قطنية.

2) تجمد الخلايا بوضعها في مزيج من الجليد الجاف والأسيتون تحت درجة (−75ْ م).

3) توضع الأنابيب في جهاز وتعرض فيه للتجفيف تحت التفريغ.

4) يغلق أنبوب الاختبار بشكل محكم.

5) يحفظ الأنبوب بحالة التجفيد.

حيث يجري تجميد العينة بسرعة في حرارة − 75 °م أو − 76 °م، ثم تجفيفها في ظروف خلاء عالية وذلك بتصعيد الماء (تحول الماء من الحالة الجامدة إلى الحالة الغازية مباشرة) لمدة زمنية محددة. وقد شاع استعمال هذه الطريقة حاليا لحفظ المزارع والأبواغ الميكروبية ومزارع النسج ولتصنيع عدد كبير من المشروبات والمنتجات الغذائية المختلفة ولتحضير العينات للمجهر الالكتروني الكانس.

3- درجة الحرارة Temperature

لا تملك الأحياء الدقيقة أجهزة خاصة لتنظيم الحرارة في داخلها وحرارتها هي حرارة الوسط الذي تعيش فيه. لذلك تتحكم حرارة الوسط هذه بالتفاعلات البيوكيميائية التي تقوم بها الميكروبات، فتؤثر على سرعتها وتحدد بالتالي سرعة النمو الكلي لهذه الميكروبات ومقداره. تستطيع جميع الميكروبات العيش في مجال حراري معين وعندما تتعداه تفقد القدرة على الاستمرار، ولذلك فإن لكل نوع ميكروبي درجة حرارة دنيا ودرجة

حرارة قصوى ودرجة حرارة مثلى تقع بين الدرجتين السابقتين وتعرف بدرجة الحرارة المثلى للنمو **optimum growth temperature** إذ يبلغ النمو فيها أقصاه، ومما يجدر ذكره أن هذه الدرجة قد لا تكون المثلى بالنسبة لبقية النشاطات الأخرى للخلية. تؤثر تغييرات درجة الحرارة على الفعاليات الايضية، لا بل وعلى شكل الخلية الميكروبية أيضاً ويمكن تقسيم الميكروبات تبعاً لتفضيلها لدرجة الحرارة إلى ثلاث مجموعات:

أ – الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة Psychrophiles

تتميز هذه الميكروبات بقدرتها على النمو في درجة حرارة دنيا هي الصفر مئوية أو ما يقاربها، وقصوى هي حوالي 30 م ولكن الدرجة المثالية لنموها هي بين 15– 20 م. إلا أن هناك أنواعاً تكيفت لتعيش في درجة حرارة تقرب من –7 م في حين يكون نموها المثالي بين 20– 30 م وتنتسب إلى هذه المجموعة بعض أنواع بكتريا التربة والبحار وبعض الأنواع التي تسبب تعفن الأسماك والنباتات المائية، والتي تسبب فساد الأغذية المحفوظة بالتبريد.

ب – الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة المعتدلة Mesophiles

وهي الميكروبات التي يكون نموها الأفضل بين درجة حرارة 25 – 40 م تتراوح حرارتها الدنيا بين 10 – 15 م وتصل حرارتها القصوى إلى 45 م. وتضم هذه المجموعة عددا كبيرا من الميكروبات الرمية Saprophiles ، وجميع الميكروبات المرضية المتطفلة على الإنسان والحيوانات ذوات الدم الحار والتي تنمو بشكل جيد في الدرجة 37 م.

ج – الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة Thermophiles

يتحقق النمو الأفضل لهذه الميكروبات بين 45 – 60 م، علما بأن بعض معدلات النمو لهذه الميكروبات تدخل حدود الميكروبات المحبة للحرارة المعتدلة وتتراوح حرارتها

الدنيا بين 25 –45 م بينما تصل حرارتها القصوى إلى 75 م وأحيانا إلى 90 م. تنتشر ميكروبات هذه المجموعة في الينابيع الحارة وفي روث الحيوانات فتسهم في رفع درجة حرارة الأسمدة الطبيعية عند تخمرها كما يصادف بعضها في بعض المواد الغذائية المحفوظة، تقسم ميكروبات هذه المجموعة إلى قسمين:

- ميكروبات محبة للحرارة اختيارياً Facultative thermophiles
- ميكروبات محبة للحرارة إجبارياً Obligate thermophiles

وهي التي لا يمكنها أن تعيش إلا في الأوساط ذات الحرارة العالية (60ْ م فما فوق) كما هي الحال في بعض أنواع الميكروبات التي تعيش في الينابيع الكبريتية الحارة.

4. الضغط Pressure

يعد الضغط أحد العوامل الهامة التي تؤثر على حياة الأحياء الدقيقة ونموها ويجب أن نميز بين نوعين من الضغط:

1- الضغط الخارجي أو الميكانيكي:

يمكن لبعض أنواع الميكروبات أن تتحمل الضغط العالي جداً والذي يتجاوز 1200 كغ / سم^2 كما هو الحال في بعض البكتريا التي تعيش في أعماق البحار والمحيطات وتلك التي تعيش في الطبقات الأرضية البترولية، حيث تتعرض إلى ضغوط عالية تلاءم نمط حياتها فتنمو وتتكاثر بينما لا تستطيع النمو والتكاثر في الضغوط العادية وتدعى بالميكروبات المحبة للضغط Parophiles. وفيما عدا ذلك تموت معظم الميكروبات غير المتبوغة عندما يطبق عليها ضغط يتراوح بين 300 – 6000 ضغط جوي خلال 45 دقيقة بينما تحتاج الميكروبات المتبوغة إلى أكثر من 20.000 ضغط جوي كي تتخرب وتموت.

2- الضغط الحلولي:

تؤثر تراكيز المحاليل الغذائية على نمو الأحياء الدقيقة تأثيراً كبيراً، وتقسم المحاليل عموما إلى ثلاثة أقسام:

- المحاليل ذات التركيز الضعيف Hypotonic أو ذات الضغط الحلولي المنخفض.
- المحاليل ذات التركيز العالي Hypertonic أو ذات الضغط الحلولي المرتفع.
- المحاليل ذات التركيز المتساوي Isotonic أو ذات الضغط الحلولي المتعادل.

فإن وضعت الخلية الميكروبية في سائل ذي ضغط حلولي مرتفع، خرج منها الماء وانكمشت Plasmolysis، أما إذا وضعت في سائل ذي ضغط حلولي منخفض دخل إليها الماء وانتفخت وربما تمزقت. وتشير الدراسات إلى أن معظم الميكروبات لا تتأثر بتغير تركيز المحلول بحدود (0.5 – 3%) لأن الضغط الحلولي داخل الخلية يساوي تقريبا (5 – 25) ضغطاً جوياً، بينما يسبب الضغط الحلولي المرتفع (90 – 100 ضغط جوي) تأثيراً مؤذياً بالنسبة لها باستثناء الميكروبات المحبة للملوحة Halophilic التي تعيش في أوساط تحتوي على تركيز مرتفع من الملح (15 – 25%) وتسبب فساد الأغذية المملحة كالمخللات واللحوم المملحة والجلود المدبوغة، وكذلك الأسماك المملحة التي يمكن أن تعيش عليها بكتيريا *Seratia salinaria* فتعطيها اللون الأحمر والرائحة الكريهة وتسبب فسادها.

5. المحتوى الأوكسجيني للوسط Oxygen concentration

تحتاج الأحياء الدقيقة إلى الأوكسجين من أجل عمليات الأكسدة والاختزال التي تحدث في أثناء التنفس، ويعد الأوكسجين وغاز ثاني أكسيد الكربون من أهم الغازات التي تؤثر على حياة الميكروبات ونموها. ولذلك فهي تقسم تبعا لحاجتها للأوكسجين إلى خمسة أقسام:

أ- الهوائية الإجبارية Obligate aerobe

وهي البكتيريا التي تنمو بوجود كميات كبيرة من الأوكسجين كجنس Azotobacter و Nitrobacter بسبب احتوائها على أنزيمات الأكسدة (سيتوكرومات – بيروكسيداز) فقط.

ب – اللاهوائية الإجبارية Strict anaerobe

وهي التي تنمو بغياب الأوكسجين كجنس Bacteriodes و Clostridium بسبب احتوائها على أنزيمات نزع الهيدروجين فقط، فتحصل على الطاقة اللازمة لأفعالها الحيوية بواسطة عملية التخمر حيث تنزع الهيدروجين خلال سلسلة من تفاعلات الأكسدة والاختزال بين مركبات عضوية بعضها يعمل كمانح للهيدروجين (فتتأكسد) والآخر كمستقبل له (فيختزل). وبهذا تسعى هذه البكتريا لجعل طاقة الأكسدة والاختزال (Eh) الداخلية فيها مناسباً لظروف عملياتها البنائية ونموها.

ج – اللاهوائية اختياريا Facultative anaerobe

تتمكن بعض انواع البكتيريا من النمو بوجود الأوكسجين أو غيابه كما في جنس Escherichia، فتحصل على الطاقة اللازمة لأفعالها الحيوية بعملية التخمر عند فقد الأوكسجين من الوسط وتقوم بعملية التنفس في حالة وجوده.

د – اللاهوائية المتحملة للهواء Aerotolerant anaerobe

تستخدم الفعاليات التخمرية لإنتاج ATP والحصول على الطاقة فهي بكتيريا لاهوائية لكنها تستطيع ان تحمي نفسها من التأثير السمي للأوكسجين بسبب امتلاكها لأنزيم superoxide dismutase وPeroxidase لكنها لا تمتلك انزيم catalase مثل بكتيريا *Propionibacterium acnes*.

هـ – المحبة لآثار من الأوكسجين Microaerophile

وهي التي تنمو وتقوم بأفعالها الحيوية بوجود كميات قليلة جداً من الأوكسجين كما في بكتريا حمض اللبن Lactobacillus حيث تكون خلاياها مجهزة ببعض أنزيمات الأكسدة مما يجعلها شديدة الحساسية تجاه الكميات الكبيرة من هذا الأوكسجين.

ولتنمية الميكروبات الهوائية فانه يكفي ان تترك أنابيب الزرع تحت الظروف العادية لتوفير احتياجاتها من الأوكسجين، أما إذا أريد الحصول على نمو أفضل فتزداد درجة تعريض هذه المزارع إلى الأوكسجين الجوي عن طريق التهوية الاصطناعية.

اما تنمية الميكروبات اللاهوائية فتتطلب طرق خاصة، إذ يجب التخلص من الأوكسجين الجوي من الجو المحيط بالمزارع قبل استنبات البكتريا ولهذا يعمد إلى ما يلي:

1. إضافة بعض المركبات المختزلة إلى الوسط مثل ثيوغليكولات الصوديوم Sodium Thioglycolate حيث ينعدم الأوكسجين ويصبح الوسط لا هوائيا.
2. إزالة الأوكسجين آليا من مزارع الميكروبات عن طريق التفريغ (الخلخلة) بواسطة مضخة تفريغ آلية وإحلال غاز النتروجين أو خليط من النتروجين وثاني أكسيد الكربون محل الهواء.
3. إضافة بعض المواد الكيميائية التي تستهلك أوكسجين الوسط أثناء تفاعلها معاً داخل الأوعية المغلقة للمزارع الميكروبية، ومن أمثلة المواد التي تضاف مزيج من حمض البيروجاليك $C_6H_3(OH)_3$ + هيدروكسيد البوتاسيوم.
4. استخدام GasPak الخاص بالنظم اللاهوائية حيث يتم توليد الهيدروجين وثاني أكسيد الكربون من مغلف GasPak. بينما تقوم غرفة البالاديوم Palladium

بإنتاج الماء حيث يقوم البلاديوم بدور الوسيط ليشكل الماء من اتحاد الهيدروجين والأوكسجين حيث يسحب الأوكسجين بهذه الطريقة.

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: العوامل المؤثرة على معدل نمو الميكروبات (الجزء 2)

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن

ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

العوامل المؤثرة على معدل نمو الميكروبات

6. حموضة أو قلوية الوسط Acidity or Alkalinity (pH)

يختلف تأثير درجة الـ pH باختلاف النوع الميكروبي إذ أن لكل نوع ميكروبي درجة pH مثالية يبلغ النمو عندها أقصاه، ودرجة دنيا وهي أقصى درجة حموضة يمكن أن يحدث عندها النمو، ودرجة قصوى وهي أعلى درجة قلوية تسمح بالنمو.

تتراوح درجة الـ pH المثالية بالنسبة لمعظم البكتريا بين (6.5– 8) إلا أن هنالك بعض البكتريا التي تشذ عن ذلك. بينما تفضل الفطريات الأوساط الحمضية (3.5 – 4) والطحالب تفضل الأوساط القلوية أي ثمانية وما فوق. فإذا زرعت بعض الميكروبات بدرجة pH = 7 فإن هذه الدرجة لا تبقى ثابتة، وإنما تتغير نحو الحامضية أو القلوية بسبب نواتج الايض المختلفة لـهذه البكتريا، وهذا ما يؤثر على نموها. لذلك يضاف للأوساط الزرعية أحياناً محاليل منظمة (Buffer Solutions) تملك القدرة على الاتحاد مع الاحماض والقلويات، مما يحفظ pH الوسط خلال مدة النمو. من هذه المركبات KH_2PO_4 و K_2HPO_4 .

7. تأثير الإشعاعات Radiation

الإشعاعات هي الأشعة غير المرئية المنبعثة من الضوء الطبيعي أو الصناعي، وتتميز بعض الإشعاعات بتأثير ضار أو مميت للأحياء الدقيقة، لذلك فهي تستخدم في عمليات التعقيم المختلفة، وهناك نوعان من الإشعاعات:

- **الكهرومغناطيسية Electromagnetic**

ولها آثار فيزيولوجية مختلفة على الأحياء عامة، وتضم الأشعة فوق البنفسجية ultra violet، الأشعة المرئية visible rays، والأشعة تحت الحمراء infra red حيث

يستخدم النوعان الأخيران كمصدر هام للطاقة من قبل الميكروبات التي تقوم بعملية التمثيل الضوئي بينما تعد الأشعة فوق البنفسجية ذات تأثير قاتل أو ضار.

- المشردة أو المؤينة Ionizing

وهي ذات تأثير مميت على الأحياء بشكل عام، لأنها تسبب تشرد (تأين) بعض المركبات الخلوية، وتضم أشعة X ، الأشعة الكونية cosmic rays والنظائر المشعة.

ويهتم العاملون بتأثير الأشعة على الميكروبات بنوعين منها هما:

أ. الأشعة فوق البنفسجية Ultra violet

وهي أشعة ذات موجات طويلة تتراوح بين 2000 – 2950 انكستروم، تحمل كمية كبيرة نسبيا من الطاقة تؤثر بها على الخلايا الحية تأثيراً ضاراً أو مميتاً . فإذا كان زمن تعرض البكتريا لهذه الأشعة قصيراً فإن جزئيات الاحماض النووية والبروتينات تمتص قدراً قليلاً من الأشعة مما يؤدي إلى تغيير في بعض روابطها الكيميائية ويزيد من معدل حدوث الطفرات. أما إذا كان زمن التعرض للأشعة كبيراً فإن جزئيات الاحماض النووية والبروتينات تتحطم وتتخرب كلياً مما يؤدي إلى موت الخلايا.

ولهذا تستعمل الأشعة فوق البنفسجية للتعقيم في المستشفيات والمختبرات الميكروبيولوجية والطبية ومخازن اللحوم والمواد الغذائية المختلفة.

ب. الأشعة المشردة (المؤينة):

وهي أشعة ذات موجات قصيرة تتراوح بين (0.06 – 1000) انكستروم، تحمل كمية كبيرة من الطاقة تجعلها ذات قدرة نفوذية عالية داخل الأنسجة الحية فتؤدي إلى تشرد (تأيـن) جزئيات الاحماض النووية وما تحمله من مورثات، وبالتالي تخريب هذا

التركيب الجزيئي وظهور الطفرات التي تبقى ثابتة في كل الأجيال القادمة. أما إذا كانت جرعات الأشعة كبيرة وفترة تعرض الخلايا لها كبيرة أيضا فإنها ستؤدي إلى الموت الحتمي. لذلك تستعمل هذه الأنواع من الأشعة في الصناعات الغذائية والأغراض الطبية المختلفة.

8. تأثير المواد الكيميائية السامة:

يختلف تأثير المواد السامة على الأحياء الدقيقة باختلاف طبيعتها وتركيزها ومدة تأثيرها، فقد تؤدي إلى وقف نمو الخلايا الميكروبية وعرقلة تكاثرها فتدعى مواد مثبطة للبكتريا (Bacteriostatic) كما هي الحال في بعض الأصبغة الأنيلينية والمركبات السلفونااميدية، أو تكون مواد قاتلة فتدعى مواد قاتلة للبكتريا (Bactericidal) كما هي الحال في الهالوجينات ومشتقاتها، مركبات المعادن الثقيلة، الفينول ومشتقاته، الكحوليات، المطهرات disinfectants، والغازات القاتلة وغيرها.

9. تأثير المضادات الحيوية المختلفة:

المضادات الحيوية Antibiotic هي عبارة عن مواد كيميائية تنتج عن النشاط الحيوي لبعض الأحياء الدقيقة، وتملك القدرة على قتل نمو العديد من الأنواع الميكروبية أو تثبيطها، ولكنها في الوقت ذاته قليلة السمية بالنسبة للإنسان. لذا تستعمل هذه المضادات الحيوية في معظم المجالات الطبية كمواد مضادة للميكروبات بشكل عام. وهناك ثلاثة أنواع من الأحياء الدقيقة التي تنتج معظم المضادات الحيوية الطبية وهي:

- الفطريات مثل جنس Penicillium الذي يفرز البنسيلين.
- البكتريا وبخاصة جنس Bacillus الذي يفرز Bacitracin و Polymyxin

- البكتريا الخيطية Actinomyetes وبخاصة جنس Streptomyces الذي يفرز tetracycline, chloramphenicol, streptomycin و erythromycin.

هذا وقد أمكن عملياً تصنيع معظم هذه المضادات مع تغيير بعض الجذور في تركيبها للحصول على خواص جديدة تتلاءم مع جسم الإنسان من حيث تركيزها في مصل الإنسان، وقدرتها السمية وتأثيرها المثبط على البكتريا المختلفة.

أما آلية تأثير المضادات الحيوية فقد أصبح معروفاً نسبياً بالنسبة لعدد كبير منها ومازال مجهولاً لبعضها الآخر. ويمكن بشكل عام تحديد هذه الآلية في النقاط التالية:

أ - تؤثر بعض المضادات الحيوية على الجدار الخلوي البكتيري كالبنسيلين الذي يثبط عمل الأنزيمات التي لها وظيفة ضم حمض المورامیك Muramic acid الى المواد عديدة السكاكر المخاطية Mucopoly saccharide المميزة لجدار الخلية البكتيرية، فيمنع اصطناع هذا الجدار ويؤدي بالتالي إلى انحلال الخلية وقتلها. ويمكن منع تأثير البنسيلين بواسطة أنزيمه البنسيليناز Penicilinase التي تفرزها بعض البكتريا المقاومة للبنسيلين، كما هي الحال في المكورات العنقودية Staphylococcus والبكتريا سالبة الغرام بشكل عام، لذلك فهو غير فعال لمعالجة الأمراض الناجمة عن هذه البكتريا.

ب - تستطيع بعض المضادات أن توقف تصنيع البروتينات كما هي الحال في الكلورامفينيكول الذي يؤثر على عدد كبير من البكتريا موجبة الغرام وسالبة الغرام،

ت - هناك العديد من المضادات الحيوية التي تؤثر على النفوذية الخلوية المتعلقة بالغشاء السيتوبلازمي حيث يوجد أنزيم Permease أو تؤثر على الضغط

الحلولي فتحدث تغييراً في سطح الخلية الميكروبية، مما يؤدي إلى خروج بعض الجزيئات والأيونات من الخلية ويؤدي بالتالي إلى موت الخلية كما هو الحال في Polymyxine .

ث - يمكن لبعض المضادات أن تخرب الأنزيمات التي تتوسط تركيب البروتينات أو أنزيمات التنفس السيتوكرومية وتؤدي بالتالي إلى قتل الخلية، كما هي الحال في الستريبتوميسين والتتراسيكلينات.

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: الايض الميكروبي - الايض البنائي

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن

ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

الايض الميكروبي Microbial Metabolism

يستعمل اصطلاح الايض للدلالة على التحولات الكيميائية التي تطرأ على المواد المختلفة الموجودة في الخلايا الحية. وهناك نوعان من الايض:

الايض البنائي: (Anabolism or Biosynthetic)

هو مجموعة من التفاعلات التي تؤدي إلى تركيب جزيئات عضوية معقدة بدءاً من جزيئات صغيرة مثل NH_3، NO_3، CO_2 .....الخ، كما هي الحال في عملية التركيب الضوئي والتركيب الكيميائي، وتترافق عمليات الايض البنائي غالباً مع امتصاص طاقة، ولذلك فهي تفاعلات حرارية داخلية.

الأنزيمات الميكروبية ودورها في التحولات الغذائية:

تقوم الأنزيمات الميكروبية كما هي الحال بالنسبة للخلايا الحية بدور الوسيط العضوي في التفاعلات الحيوية الكيميائية كلها، التي تقوم بها الخلية الميكروبية حسب التفاعل العام التالي، إذ تستطيع جزيئة أنزيم واحدة تحويل مليون جزيئة ركيزة substrate في الدقيقة الواحدة.

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons P + S$$

تتألف الأنزيمات الميكروبية من سلاسل ببتيدية تتركب على الشيفرة الوراثية DNA، ويرتبط هذا التركيب أحياناً بوجود مادة أو مجموعة من المواد تلعب دور المحرض، لتكوين مجموعة من **الأنزيمات المتكيفة Adaptive أو المحرضة Induced** تسهم في تحويل مادة غذائية ما، كما هي الحال في بكتريا ***E. coli*** التي تستطيع عند نموها في وسط يحوي سكر الحليب اللاكتوز أن تصنع مجموعة من الأنزيمات تقوم بتحويل اللاكتوز إلى سكر غلوكوز وغالاكتوز، بينما لا تصنع هذه الأنزيمات إذا

وضعت في وسط يحوي سكراً آخر. وتدعى هذه الظاهرة بالتحريض الأنزيمي **Enzyme Induction** وهي عكس ظاهرة الكبح الأنزيمي **Enzyme Repression** والمتمثلة في تثبيط تركيب جميع الأنزيمات التي تتدخل في سلسلة التفاعلات البنائية عند وجود النواتج النهائية لهذه التفاعلات في الوسط، وتتم عملية تنظيم تصنيع الأنزيمات عند الأحياء المجهرية بوساطة مجموعة من المورثات المتخصصة بوظائف محددة يمكن إيجازها كما يلي:

أ. مجموعة مورثات بنائية Structural genes:

تساعد في عملية تصنيع الأنزيمات، وتحمل المعلومات الوراثية التي يجب أن تنقل إلى السيتوبلازم بواسطة الحمض الرّيبي النووي المرسال mRNA.

ب. مجموعة مورثات موجهة Operon genes:

تتوضع على الخيط الصبغي بجانب المورثات البنائية وتتحكم بنشاطها، وبخاصة أثناء تركيب mRNA.

ج. مجموعة مورثات منظمة Regulator genes:

تعمل على تركيب كابح سيتوبلازمي نوعي يستطيع أن يثبط نشاط المورثات الموجهة باتحاده معها.

تكون جزيئة ATP:

تستعمل طاقة الأكسدة والاختزال التي تحدث في الخلايا الميكروبية لتكوين جزيئات ATP التي تحمل طاقة كيميائية كبيرة تستعمل في التفاعلات الكيميائية.

التركيب الضوئي والكيميائي في البكتريا

تقوم بعض البكتريا بعملية التركيب الضوئي تماماً كما هي الحال في النباتات الخضراء، بسبب احتوائها على **اليخضور البكتيري Baceriochlorophyll** الذي اكتشفه العالم واسنك Wassink في عام 1939، والذي يتميز عن اليخضور أ باحتوائه $-CO-CH_3$ بدلاً من $-CH=CH_2$ في الحلقة الأولى وزمر هيدروجينية بدلاً من جذر C_6H_5 و CH_3 في الحلقة الثانية. ومن أهم أنواع هذه البكتريا نذكر **البكتريا الكبريتية الحمراء** التي تنتمي إلى **فصيلة Chromataiaceae والبكتريا الكبريتية الخضراء التي تنتمي إلى فصيلة Chlorobacteriaceae** ، والتي لا تختلف عملية التركيب الضوئي فيها عن النباتات الخضراء إلا في نوع المانح الهيدروجيني المستعمل، ففي حين تستخدم النباتات الماء فإن البكتريا تستخدم كبريت الهيدروجين H_2S وعلى ذلك لا ينطلق الأوكسجين بل يتكون بدلا منه عنصر الكبريت الذي يترسب في البكتريا الكبريتية الحمراء داخل الخلايا ويطرح في البكتريا الكبريتية الخضراء إلى الوسط الخارجي حسب التفاعل:

$$6CO_2 + 12H_2S \xrightarrow[\text{كلوروفيل بكتيرى}]{\text{طاقة ضوئية}} C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 12S$$

كبريتيد الهيدروجين — جلوكوز — كبريت يترسب

بينما تقوم أنواع بكتيرية أخرى لا تحتوي اليخضور البكتيري بتثبيت غاز CO_2 واختزاله دون استخدام الطاقة الضوئية، وإنما تستخدم الطاقة الناتجة عن أكسدة بعض المواد اللاعضوية المعدنية، ولما كانت هذه الطاقة هي طاقة كيميائية لذا تدعى **بالتركيب الكيميائي Chemosynthesis**، وبحسب طبيعة تفاعل الأكسدة الناشر للطاقة يمكن أن نميز عدة مجموعات من بكتريا التركيب الكيميائي، ونذكر من أهمها:

1. البكتريا النتروجينية Nitrobacteria:

وهي البكتريا التي درسها بالتفصيل العالم وينوغرادسكي Winogradsky في معهد باستور منذ عام 1890، واكتشف فيها عملية التركيب الكيميائي، فلقد لاحظ وينوغرادسكي أن أكسدة الأمونيوم إلى نترات تتم على مرحلتين:

المرحلة الأولى:

تتضمن أكسدة الأمونيوم إلى نتريت وتدعى العملية النترجة Nitrosofication، ويقوم بها جنس نموذجي هو النتروزوموناس Nitrosomsnas، وأجناس أخرى توجد في التربة، ويمكن تمثيلها بالتفاعل التالي:

$$2NH3 + 3O2 \longrightarrow 2HNO2 + 2H2O + 79K.cal.$$

المرحلة الثانية:

تتضمن أكسدة النتريت إلى نترات وتدعى عملية النترتة Nitratation ويقوم بها جنس نموذجي هو النتروباكتر Nitrobacter، وأجناس أخرى توجد في التربة، ويمكن تمثيلها بالتفاعل التالي:

$$HNO2 + {}^{1}/_{2}\,o2 \longrightarrow HNO3 + 21.6K.cal.$$

وتستخدم الطاقة الناتجة من التفاعلين السابقين لاختزال تماماً CO_2 كالنباتات.

2. البكتريا الكبريتية Thiobacteria:

يعيش معظم هذه البكتريا في المياه الكبريتية، بعضها لا يحتوي أصبغة، ولذلك تسمى البكتريا البيضاء مثل بكتريا الجنس Achromatium، وبعضها الأخر يحتوي أصبغة غير يخضورية مثل بكتريا الجنس Beggiatoa، كذلك فإن القسم الأخر من هذه

البكتريا يعيش في التربة مثل النوع ***Thiobacillus thioparus*** وجميع هذه البكتريا تقوم بأكسدة كبريت الهيدروجين على مرحلتين:

المرحلة الأولى:

تتضمن أكسدة كبريت الهيدروجين وتكوين الكبريت الذي يظهر في صورة حبيبات في بروتوبلازما الخلية البكتيرية، ويمكن تمثيلها بالتفاعل التالي:

$$H_2S + {}^1/_2 O_2 \longrightarrow H_2O + S + 65K.cal.$$

المرحلة الثانية:

تتضمن أكسدة الكبريت الناتج إلى حمض الكبريت وفق التفاعل التالي:

$$2S + 2H_2O + 3O_2 \longrightarrow 2H_2SO_4 + 283.6K.cal.$$

وتستخدم البكتريا الطاقة الناتجة من الأكسدة في بناء السكريات، بدءاً من CO_2 المذاب في الماء أو الموجود في الجو.

3. البكتريا الحديدية Ferrobacteria:

تؤكسد هذه البكتريا مركبات الحديد الثنائية إلى مركباته الثلاثية وفق التفاعل التالي:

$$4FeCO_3 + O_2 + 6H_2O \longrightarrow 4Fe(OH)_3 + 4CO_2 + 81K.cal.$$

ويقوم بذلك بعض الأجناس مثل Leptothrix الذي تحاط فيه الخلايا بحبيبات الصدأ الغروية التي تفرزها البكتريا، بينما يترسب هيدروكسيد الحديد في صورة أشرطة لولبية في النوع ***Didymohelix ferruginea***.

4. البكتريا الهدروجينية Hydrogen bacteria:

تحصل البكتريا الهدروجينية على الطاقة اللازمة للتركيب الكيميائي للمواد العضوية في خلاياها من تأكسد الهدروجين الذي يمثله التفاعل التالي:

$$2H_2 + O_2 \longrightarrow 2H_2O + 137K.cal$$

ويقوم بذلك بعض الأجناس مثل Hydrogenomonas ، وقد وجد روهلاند Ruhland أن بعض أنواع البكتريا الهدروجينية تمتص من الهدروجين ضعف ما تمتصه من الأوكسجين تقريباً، وعزا ذلك إلى أن الهدروجين يستخدم إضافة إلى التفاعل السابق في تفاعل اختزال CO_2 وفق ما يلي:

$$2H_2 + CO_2 \longrightarrow (HCOH) + H_2O - 112K.cal$$

ويتلازم هذا التفاعل الأخير الماص للطاقة مع التفاعل الأول المنتج للطاقة.

5. بكتريا الميثان Methanobacteria:

مع أنه لا يمكن عدّ جميع بكتريا الميثان من الكائنات ذاتية التغذية، لأن قسماً منها يعتمد على أكسدة مركب عضوي كما هي الحال في بكتريا ***Bacillus methanicus*** والذي يؤكسد الميثان وفق التفاعل التالي:

$$CH_4 + 2O_2 \dashrightarrow CO_2 + 2H_2O + 212K.cal$$

ثم تستخدم الطاقة الناتجة في اختزال CO_2، وقسم آخر ينتج الميثان ويرجع CO_2 وذلك بدءاً من الطاقة المنطلقة من أكسدة بعض المواد المعدنية (كالهيدروجين مثلاً) الموجود في الوسط، كما هي الحال في جنس Methanococcus الذي ينتشر انتشاراً واسعاً في الطبيعة.

نلاحظ في جميع الحالات السابقة أن بكتريا التركيب الكيميائي والتركيب الضوئي لا تقوم بدور يذكر في إنتاج السكريات إذا ما قورنت بالنباتات الخضراء، إذ لا يزيد مردود هذه العملية على 5% مقارنة مع المردود النظري، وتأتي أهميتها على نحو خاص لإظهار الطبيعة الكيميائية لعملية التركيب الضوئي بصورة عامة.

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: الايض الهدمي - الكربون

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن

ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

الايض الهدمي Catabolism

هو مجموعة من التفاعلات التي تؤدي إلى تفكيك المركبات العضوية المتكونة بالايض البنائي أو المقدمة كغذاء إلى أبسط منها من حيث التركيب، وغالباً ما يحدث على مرحلتين: تتضمن الأولى منهما التحلل المائي للجزيئات الكبيرة إلى جزيئات صغيرة، كما هي الحال في تحويل عديدات السكر إلى سكريات بسيطة، وتتضمن الثانية تحول الجزيئات الصغيرة إلى جزيئات أكثر بساطة، كما هي الحال في تحول جزيئات السكريات البسيطة إلى الماء وغاز CO_2.

تترافق عمليات الايض الهدمي بانطلاق الطاقة الموجودة في الأغذية، وتتناسب كمية الطاقة المنطلقة من بعض الأغذية، كالغلوكوز مثلاً، مع نوعية حياة الخلية، ففي الظروف الهوائية يكون التفكك كاملاً والطاقة المتحررة كبيرة وهي حالة **التنفس**، وفي الظروف اللاهوائية يكون التفكك ناقصاً ولا يتحرر سوى جزء من الطاقة وهي حالة **التخمر Fermentation**.

تستخدم الطاقة المتحررة عن العمليتين السابقتين في الحفاظ على حياة الخلية أو في بعض التفاعلات التركيبية، كما قد يضيع قسم منها في صورة حرارة.

تتعرض المواد الغذائية داخل الخلايا الميكروبية إلى عدد من التحولات، مما يتيح للخلية الحصول على الطاقة أو استخدام هذه المواد لتركيب موادها البنائية والوظيفية، وتقوم الأنزيمات كما أسلفنا وبطرائق خاصة ومختلفة بمهمة العامل المساعد لتنشيط هذه التحولات. تقوم الميكروبات بتنفيذ جميع التفاعلات الايضية الأساسية التي تحدث عند الأحياء الأخرى، ولذلك سوف نركز الاهتمام على ايض العناصر الغذائية الأساسية ومركباتها.

أولا: ايض الكربون

يتضمن جميع العمليات الحيوية الكيميائية المتتابعة المؤدية إلى التحولات الايضية المختلفة للسكريات، والتي تمد الخلية الميكروبية بالطاقة اللازمة لنموها واستمرار حياتها، وذلك إما من خلال عمليات الأكسدة التي تحدث أثناء التنفس الهوائي Aerobic Respiration، أو عمليات التخمر Fermentation التي تحدث أثناء التنفس اللاهوائي Anaerobic Respiration، ونوضح فيما يلي هذه العمليات على سكر الغلوكوز لأنه من أكثر السكريات التي أجريت عليها التجارب هوائياً ولا هوائيا.

التنفس الهوائي

تقوم الكثير من الميكروبات باستخدام الأكسجين الجوي لأكسدة المواد العضوية أكسدة كاملة فتحصل على أكبر قدر من الطاقة أو أكسدة جزيئة ينتج عنها مواد عضوية مؤكسدة جزئياً وتحصل البكتريا على قدر أقل من الطاقة:

$$C_6H_{12}O_6 + 9.5O_2 \xrightarrow{\text{enzymes}} 3(COOH)2 + 3H2O + \square 39K.cal \text{ or } 25ATP$$

يتم التنفس الهوائي عند بدائيات النوى على ثلاث مراحل:

المرحلة الأولى: هي مرحلة التحلل السكري Glycolysis اللاهوائية ويتأكسد فيها الغلوكوز إلى حمض البيروفيك $CH_3–CO–COOH$ **والمرحلة الثانية** هي حلقة كريبس Krebs cycle **والمرحلة الثالثة** هي سلسلة نقل الالكترونات، حيث تتأكسد المواد العضوية إلى CO_2 ويتحد الهيدروجين المتحرر مع مستقبل ما خلال سلسلة من التفاعلات تدعى حلقة حمض الليمون The Citrice acid cycle أو حلقة كربيس، بينما تتأكسد ذرات الهيدروجين المتحررة بأوكسجين الهواء وتنتج الطاقة في صورة ATP في المرحلتين الثانية والثالثة. ومن الجدير بالذكر أن تأكسد الغلوكوز يتم عن طريق تحوله أولاً إلى حمض البيروفيك $CH_3–CO–COOH$ الذي لا يلبث أن يتفكك بفعل الأوكسجين والمجموعة الأنزيمية المختلفة إلى CO_2 و H_2O.

يتأكسد الغلوكوز أكسدة كاملة إلى غاز ثنائي أكسيد الكربون والماء ويتحرر كامل الطاقة (38ATP)، ويتم ذلك على ثلاث مراحل هي التحلل السكري وحلقة كريبس وسلسلة نقل الالكترونات عبر المركبات الوسيطة الناتجة عن المرحلتين الأولى والثانية، حيث يتحد الهيدروجين المتحرر مع مستقبل ما (NAD أو FAD يصبحان NADH أو FADH) وهو ما يسمى عملية الأكسدة الفوسفورية.

التخمر Fermentation

يحصل بعض الميكروبات على الطاقة اللازمة عند أكسدة الأغذية بمعزل عن الأكسجين، فيكون المستقبل النهائي للالكترونات المنزوعة مادة عضوية أخرى وهو ما يسمى بالتخمر، ففي الظروف اللاهوائية يتحول الغلوكوز بعد سلسلة من التفاعلات إلى حمض البيروفيك الذي يتحول بدوره إلى نواتج مختلفة تحددها الأنواع الميكروبية التي تقوم بعملية التخمر، وبذلك يمكن تمييز ستة أنواع من الأحياء الدقيقة تبعاً لهذه النواتج هي:

أ. **ميكروبات التخمر الكحولي** Alcoholic fermentation

حيث يتحول حمض البيروفيك الناتج إلى كحول ايتيلي وغاز ثنائي أكسيد الكربون. ونذكر منها النوع *Klebsiella aerogenes*.

ب. **بكتريا تحدث التخمر اللبني البسيط** Homofermentative bacteria

حيث يتحول حمض البيروفيك الناتج عن تحلل الغلوكوز إلى حمض اللبن (اللاكتيك) وتنطلق طاقة. ونذكر منها العصيات اللبنية *Lactobacillus lactis* والعصيات الجبنية *L. casei* و *Streptococcus lactis*.

ج. بكتريا التخمر اللبني المختلط Heterofermentative

حيث ينتج مع حمض اللبن نواتج أخرى مثل حمض السكسينيك Succinic acid حمض الخل، الكحول الإيتيلي، غاز ثنائي أكسيد الكربون، وأحياناً الغليسيرول وتنطلق طاقة. ونذكر منها بكتريا *Leuconostoc dextranium* و *Streptococcus thermophils* الموجودة في الحليب ومشتقاته.

د. بكتريا التخمر البروبيوني Propionic fermentation:

حيث ينتج إضافة إلى حمض البروبيونيك، كميات ضئيلة من حمض الخل وحمض اللبن وحمض السكسنيك وثنائي أكسيد الكربون، ونذكر منها بعض أنواع الجنس *Propionibacterium* الهوائية واللاهوائية اختيارياً، والموجودة في الحليب ومشتقاته وفي التربة أيضاً.

هـ. بكتريا التخمر الزبدي أو البوتيري Butyric fermentation:

حيث تنتج *Butyric acid* (الزبدة) وغاز ثنائي أكسيد الكربون. كما ينتج بعض أنواعها الهيدروجين وحمض الخل في التفاعل المختلط. ونذكر منها بعض أنواع الجنس Clostridium كما في *C. butyricum* التي تتوسط التفاعل السابق ثم *C. butylicum* التي تحدث التخمر البوتانولي ثم *C. acetobutylicum* التي تحدث التخمر الاسيتوبوتانولي.

و. بكتريا مجموعة القولون من فصيلة Enterobacteriaceae:

التي تحدث تخمرات مميزة يتكون فيها حمض اللبن وحمض النمل Formic acid (فورميك) H–COOH وكحول ايتيلي وبيوتيلين غليكول $CH_3–(COOH)_2–CH_3$ وأحياناً أسيتون.

ولا يتسع المجال هنا لدراسة التفاصيل الدقيقة التي تتم لتكوين المركبات السابقة، ولكن يكفي أن نذكر أن الأحياء الدقيقة تقوم بعملية تفكيك الغلوكوز والحصول على حمض البيروفيك، وذلك بتحول جزيء الغلوكوز بوجود الطاقة في صورة ATP إلى إستر فوسفاتي هو (غلوكوز – 6 – فوسفات) الذي يمكنه أن يتبع إحدى الطرائق الثلاث. ويسمى المسلك الأول انترا– دودوروفا (E.D) Etenra Doudorova ويوجد في البكتريا فقط، والثاني طريق ايمبدن– ميرهوف– بارنسا Embden System Meyerhof Parnsa (E.M.P) ويوجد في الخمائر والعضلات والبكتريا وجميع الكائنات الحية تقريباً، والثالث طريق الهكسوز وحيد الفوسفات Hexose Monophosphate Shunt (H.M.P) ويوجد في النباتات وبعض الأحياء الدقيقة.

ايض عديدات السكر والمواد البكتينية والسليلوز

تمتلك بعض الأحياء الدقيقة القدرة على تفكيك بعض عديدات السكر كالاينولين والمانيتول والنشاء كما هي الحال في ***Clostridium pasteurinum*** وينتج عن هذا التفكك حمض الزبدة وحمض الخل وغاز الهيدروجين وثنائي أكسيد الكربون، كما يمكن لنوع آخر من الجنس نفسه ***C. pectinovorum*** أن يعطي النواتج السابقة بتفكيكه للنشاء والبكتين والغليكوجين والديكستران، ويضاف إلى ما سبق قدرة بكتريا أخرى على تفكيك السليلوز، وحتى الخشبين إلى سكريات بسيطة ثم إلى حموض وكحولات لا تلبث أن تتفكك بوساطة أحد أنواع البكتريا المنتجة للميتان Methanobacterium لنتج غاز الميتان CH_4.

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

اسم المادة: فسلجة الاحياء المجهرية

المستوى الدراسي: الدراسات الأولية

المرحلة: الثالث

عنوان المحاضرة: الايض الهدمي (النتروجين والفسفوروالكبريت)

مدرس المادة

ا.م.د .عمر محمد حسن
ا.م.د .جمال عبد الرحمن ابراهيم

ايض النتروجين

تملك بعض الأحياء الدقيقة متباينة التغذية القدرة على استهلاك النتروجين بأشكاله المختلفة الموجودة في الطبيعة، لذلك تختلف الأنواع الميكروبية في قدرتها على استخدام شكل معين من النتروجين وفي نوع البروتينات والأنزيمات التي تحتويها.

أ. النتروجين الجوي

تتميز بعض البكتريا متباينة التغذية بقدرتها على الاستفادة من النتروجين الجوي، وتحويله إلى مركبات يمكنها الدخول في تكوين النتروجين العضوي، ومن هذه ما يعيش حراً مثل Azotobacter, Spirillum, Clostridium ومنها ما يوجد متعايشاً مع جذور النباتات الراقية مثل بكتريا العقد الجذرية Rhizobium.

ب. النتروجين العضوي

تفرز الأحياء الدقيقة أنزيمات بروتيناز خارجية تعمل على هدم البروتينات وتحويلها إلى ببتيدات تتحلل بدورها بأنزيمات الببتيداز إلى احماض أمينية:

proteinase ***peptidase***

وتتميز أنواع الجنس Clostridium وبخاصة *C. histolyticum* وبعض أنواع Actinomyces بقدرتها الكبيرة على تفكيك البروتينات بالمقارنة مع الأجناس Pseudomonas, Proteus بينما تتميز أنواع الجنس Streptococcus بقدرة ضعيفة على تفكيك الببتيدات.

لقد بينت الدراسات الحديثة باستخدام النظائر أن الحمض الأمينية الموسومة (المعلمة) Labeled بالنظير $^{15}N_2$ والموجودة في بيئة نمو كائن دقيق، تدخل في تكوين بروتيناته الخلوية كما يمكن لهذه الاحماض الأمينية أن تتحول إلى احماض امينية أخرى.

ج. الأمونيا (النشادر)

تستعمل الاحماض الأمينية الناتجة عن المرحلة السابقة، إما في تركيب البروتينات وغيرها من التراكيب الخلوية فتشكل غذاء لبقية الأحياء الدقيقة، أو أنها تتفكك بوساطة بعض البكتريا من أنواع Micrococcus و *Proteus vulgarism* إلى احماض أبسط، وذلك إما بنزع المجموعات الأمينية NH_2 بعملية **Deamination** أو إزالة جزيئات CO_2 بعملية **Decarboxylation**.

وينطلق عن تفكك الأمونيوم (النشادر) الذي يمكن أن:

- يستعمل من قبل الميكروبات متباينة التغذية لأنه الصيغة الأكثر تمثلاً لها، وبخاصة في صيغته المرجعة ($-NH_2$).
- يدخل في جزيئات بعض الاحماض الأمينية فيكون بعض الأميدات مثل الاسبارجين والغلوتامين.
- يندمج مع غاز ثنائي أكسيد الكربون فيعطي اليوريا.

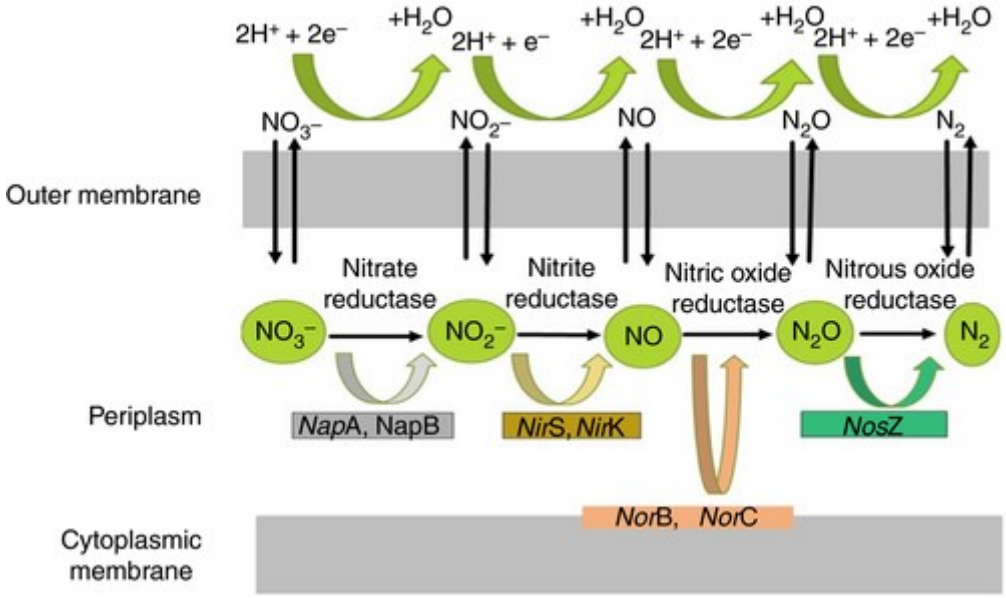
إلا أن هذا التفاعل لا يستعمل الأمونيوم الحر، وإنما يستعمل حمض الغلوتاميك وحمض الاسبارتيك كمواد ناقلة للأمونيوم.

د. النتروجين النتراتي

تستطيع بعض ميكروبات التربة والمياه استعمال المواد اللاعضوية كمصدر للطاقة (للالكترونات) أثناء نموها، فبكتريا النترجة تستطيع أن تحول الأمونيوم الناتج عن تفكك المواد العضوية في التربة إلى نتريت ونترات بوساطة بكتريا Nitrosomonas و Nitrobacter كما أوضحنا سابقاً، أما بالنسبة لبكتريا المياه نذكر النوع *Nitrosocystes ocean* الذي يؤكسد الأمونيوم في البحار.

هـ. عملية نزع النتروجين Denitrification

وهي عكس عملية النترجة السابقة إذ يتم فيها نزع النتروجين من مركباته، وبذلك تستطيع بعض أنواع من جنس Chromobacterium و Serratia تحويل النترات الموجودة في أوساطها السائلة إلى نتروجين حر. وهذا ما تقوم به بعض بكتريا التربة في الظروف الهوائية أيضاً مثل أنواع Thiobacillus أو Clostridium.



ايض الفوسفور

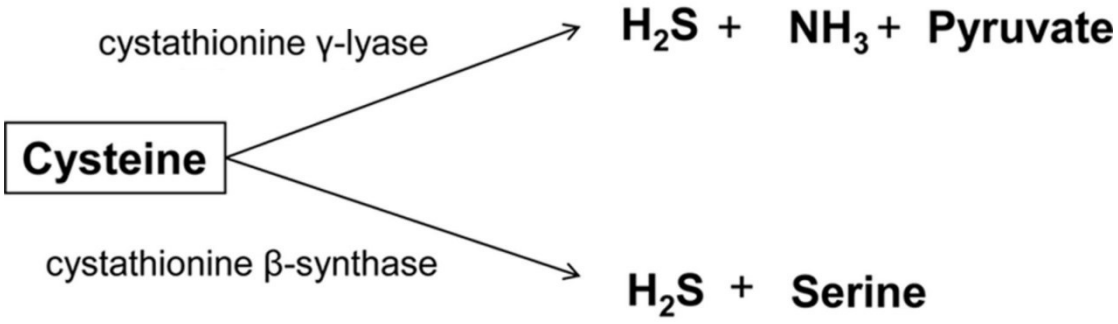
يدخل الفوسفور في انتاج العديد من المركبات العضوية المهمة في الخلية الحية مثل ATP والاحماض النووية والاغشية الخلوية ولذلك فهو يلعب دوراً فسلجياً مهماً، وتستطيع بعض أنواع البكتريا مثل *Nocardia corllina* و *Bacillus megaterium* أن تمعدن الفوسفور العضوي الموجود في البيئة المحيطة بها في صورة احماض نووية، بيورينات Purines، بريميدينات Pyrimidines، ATP أو مركبات دبالية.

بينما تقوم أنواع ميكروبية أخرى المنتجة للأحماض العضوية بتفكيك الفوسفات غير المذابة $Ca_3(PO_4)_2$ وجعلها مذابة ($CaHPO_4$) وصالحة للاستعمال من قبل الكائنات الأخرى.

وجدير بالذكر أن كمية الفوسفات داخل الخلية الميكروبية تبقى ثابتة على الرغم من تغيراتها في الوسط الخارجي، حيث يدخل بعضها في عمليات الايض الخلوية ويختزن على شكل فوسفات متعددة تستعمل عند الحاجة.

ايض الكبريت

تتميز بعض الميكروبات بقدرتها على أكسدة بعض المركبات الكبريتية للحصول على الطاقة المخزونة في تلك المركبات، وهكذا تستطيع بعض البكتريا مثل *E. coli* و *Bacillus subtilis* أن تفكك هوائياً أو لا هوائياً البروتينات والاحماض الأمينية الكبريتية منتجة الكبريت الحر أو H_2S أو غير ذلك، كما في تفكك الحمض الاميني السيستين إلى حمض البيروفيك او الحمض الاميني السيرين بحسب الانزيم الميكروبي:



ثم تقوم بكتريا المياه مثل Thiothrix و Beggiatoa بأكسدة H_2S إلى ماء وكبريت:

$$2H_2S + ½\ O_2 \longrightarrow 2H_2O + 2S + Energy$$

وبفضل هذه الطاقة تستطيع البكتريا إنتاج السكريات:

وقد دلت التجارب على أن الأوكسجين المنطلق يستخدم مباشرة لأكسدة جزيئة جديدة من H_2S بينما يتوضع الكبريت الناتج داخل الخلية، أي أن هناك علاقة ثابتة بين كمية CO_2 الممتصة من قبل البكتريا وكمية H_2S المتفككة مما يدل على ازدواجية التفاعل. ومما يجدر ذكره أن بعض أنواع بكتريا الجنس Thiobacillus الموجودة في التربة تستطيع أن تؤكسد مختلف المركبات الكبريتية إلى حالة كبريتات.

المراجع

السعد، مها رؤوف. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، العراق. 1982.

Kim, B.H. and Gadd G.M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, New York, USA. 2008.

Moat, A.G. J.; Foster, W. and Spector M.P. Microbial Physiology, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Publications, New York, USA. 2002.

Watson, D. Microbiology and Microbial Physiology. White Word Publications, New York, USA. 2018.