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.