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.