المحاضرة الاولى

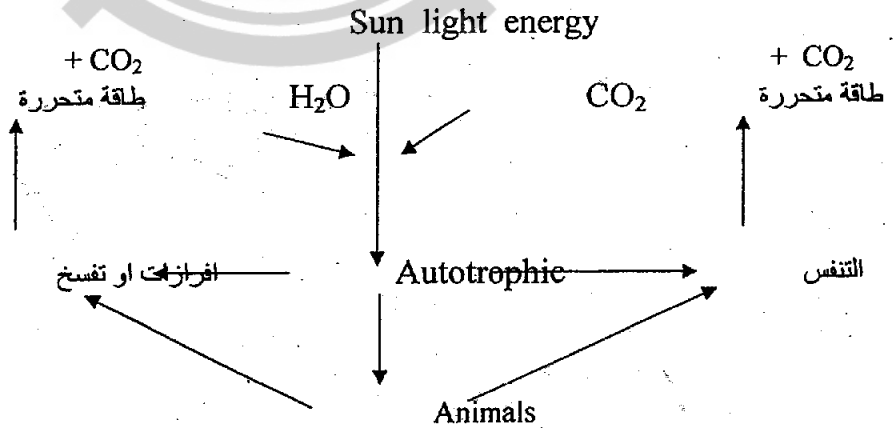
اهمية وظائف البكتريا

علم فسلجة البكتريا , هو دراسة لوظائف خلايا البكتريا من حيث الألية التي تتم فيها و الهدف من كل منها , و العوامل المؤثرة عليها .
لذلك فأن هذا النوع من الدراسة يكون بهدف :

1 – التعرف على أليـــة عمل الاجزاء الدقيقة في الخلية .
2 – التعرف على ميكانيكية الامراضية و كيفية حصول الاصابة , للمساعدة في السيطرة على البكتريا المرضية , لتسهيل تصميم خطوات المعالجة او الوقاية منها .
3 – الاستفادة من النشاط الحيوي للبكتريا و تسخيره للتكيف في الاستخدامات المختلفة , مثل المجال الصناعي كتصنيع الاغذية و الادوية , وفي المجال الزراعي كزيادة خصوبة التربة وفي المجال البيئي كالتغيرات الحاصلة في البيئة و التعدين, وتسخيركل ذلك لخدمة الانسان.
4 – نظرا للتشابه الموجود بين العديد من الجينات البكتيرية وتلك الموجودة في خلايا النبات و الحيوان من حيث الطبيعة الكيميائية , فقد استطاع الانسان ان يفسر الغموض المتعلق بعمل و تركيب الجينات الحيوانية و النباتية من خلال استخدام خلايا البكتريا مختبريا .

تجهيز الخلية الحية بالطاقة :

ان تجهيز الطاقة للخلية الحية هو الشرط الاساس لديمومة حيويتها و فعالياتها الحيوية , لذلك درست مصادر الطاقة وكانت متنوعة وفي مقدمتها المرتبة الاولى ضوء الشمس واسع الانتشار والذي يحمل طاقة كبيرة لا تنضب , حيث تتمكن الاحياء الحاوية على الصبغات المثبتة لضوء الشمس مثل الكلوروفيل على تحويل الطاقة الضوئية الى طاقة كيميائية لكي تستخدم في بناء جزيئات سكر الكلوكوز تكون الطاقة مخزونة فيها , والتي تتحول الى جزيئات لمركبات عضوية اخرى حسب حاجة الخلية من خلال المسارات الايضية المتخصصة Pathways .



دورة الطاقة في الطبيعة

المحاضرة الاولى

علاقة العناصر المعدنية بالخلية الحية :

الى جانب مصادر الطاقة , هناك العناصر المعدنية الضرورية التي تحتاجها الخلايا لبناء جزيئات المركبات العضوية البسيطة ثم المعقدة منها لغرض تكوين الكتلة الحية فيها Biomass والتي تمر من خلال مسارات ايضية كثيرة جدا .

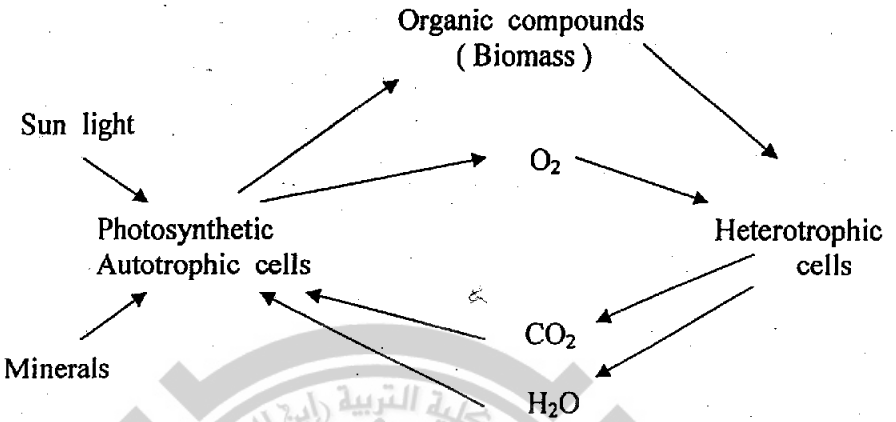
تحتاج الخلية لهذه العناصر بنسب متفاوتة , بعضها يعتبر اساسيا و البعض الاخر ثانويا , علما ان هذه العناصر تمر بحالات وصور مختلفة تشكل دورة تلك العناصر في الطبيعة , ومن اهمها:

1 – العناصر الاساسية / الكربون (50 %) من الوزن الجاف للخلية
الاوكسجين (20 %) =
النيتروجين (14 %) =
الهيدروجين (8 %) =

2 - العناصر الثانوية / الفسفور (3 %) =
الكبريت (1 %) =
الصوديوم (1 %) =
البوتاسيوم (1 %) =
الكالسيوم (0.5 %) =
المغنيسيوم (o.5 %) =
الكلور (0.5 %) =
الحديد (0.2 %) =
عناصر اخرى (0.3 %) =

عنصر الكربون الذي يعتبر اساسيا في بناء المركبات العضوية (الكتلة الحية للخلية) يشكل حوالي 50% من الوزن الجاف للخلية , اذ يشترك في تركيب كل من السكريات والبروتينات والدهون . يستهلك الكربون من قبل الخلايا الحية عندما يكون في صورة غاز CO_2 مذاب بوجود الماء ومصدر ضوئي , فيتكون السكر والذي يتحول فيما بعد الى المركبات الاخرى التي تحتاجها الخلية . قسم من هذه المركبات تستهلك في عملية التنفس فيتحرر منها غاز CO_2 ويتكون الماء وتتحرر جميع الطاقة المخزونة فيها , بينما القسم الاخر منها يتحول الى مركبات اكثر تعقيدا مكونة مادة حية من خلال عملية تمثيل الغذاء في الخلية ليصبح جزءا من مكونات الخلية , لحين موت الخلية فتتعرض الى التحلل والتفسخ وتحول مكونات الخلية العضوية الى عناصرها المعدنية الاولية .

المحاضرة الاولى



دورة الكربون و الاوكسجين في الطبيعة

دور الكائنات الحية المجهرية في دورات العناصر في الطبيعة :

استنادا الى دور الكائن الحي في الطبيعة والوظائف التي يقوم بها , فأنه ينتمي الى احدى المجاميع الاتية :

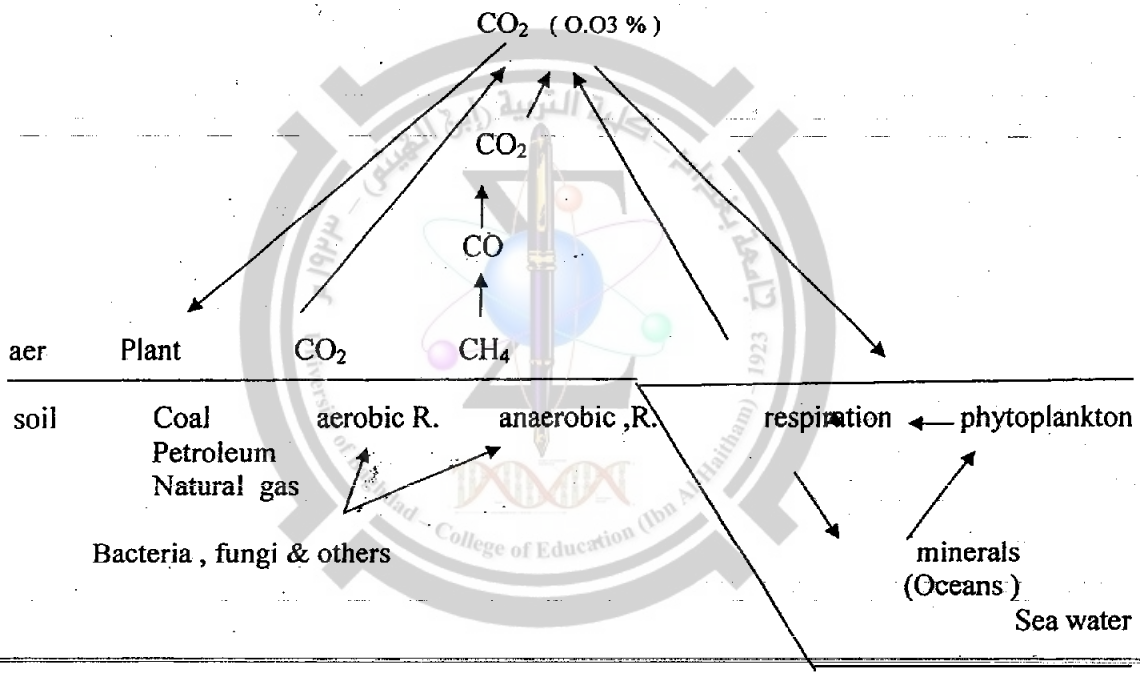
آ - مجموعة المنتجين الاوائل (Primary producers) وهي المستهلكة للطاقة الشمسية لانتاج المركبات العضوية من غاز CO_2 والماء .

ب - مجموعة المستهلكين (Consumers) والتي تعتمد على المجموعة الاولى للحصول على أحتياجاتها من الكتلة الحية الاولية لبناء اجسامها,

ج - مجموعة العوامل المحللة (Degradative agents) والتي تقوم بتحليل الاجسام الميتة و تحليل المركبات العضوية المختلفة الى مكوناتها المعدنية المتكونة منها اصلا . حيث يطلق على عملية التحلل بالتعدين mineralization , علما ان مجموعة العوامل المحللة تشمل أنواعا من البكتريا و الفطريات , واهمية دورها يكمن في حفظ التوازن الحيوي و البيئي بين جميع المكونات البيئية , فتبقى نسبة اي منها ثابتة تقريبا في الطبيعة .

دورة الكربون في الطبيعة :

يتواجد عنصر الكربون في الطبيعة على شكل غاز ثاني اوكسيد الكربون ونسبته 0,03 % من حجم مكونات الهواء ... يستهلك هذا الغاز في عملة التركيب الضوئي في جميع الكائنات المجهرية و غير المجهرية الحاوية على صبغات مثبتة للطاقة الضوئية مثل صبغات الكلوروفيل او غيرها , فيتحول الكربون من الطبيعة المعدنية الى الطبيعة العضوية على شكل جزيئات سكر الكلوكوز , ومنها يتحول الى جميع انواع المركبات العضوية حسب حاجة الكائن الحي .



دورة الكربون في الطبيعة

ان سكر الكلوكوز , أو مصادر الطاقة الاخرى من مركبات مختلفة , الموجود في الخلايا الحية , قد تتعرض الى التحلل خلال عملية الهدم (هظم و تنفس) حيث يتحرر غاز ثاني اوكسيد الكربون و الماء و كل الطاقة المخزونة ,أو قد تتعرض الى عمليات بنائية فتتحول الى مركبات عضوية أكثر تعقيدا مستهلكة للطاقة المتحررة من عملية الهدم . عملية التنفس تتم بطريقتين (تنفس هوائي) بوجود غاز الاوكسجين و (تنفس لاهوائي) عند غياب غاز الاوكسجين , وتختلف نواتج العمليتين عدا أن الطاقة تتحرر من كليهما .

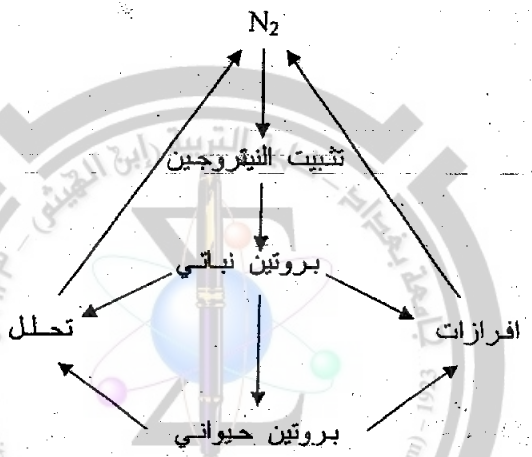
المحاضرة الاولى

عملية تعدين الكربون , اي تحويل المركبات العضوية الى مكوناتها المعدنية , تؤدي اساسا الى تحرير غاز ثاني اوكسيد الكربون , وقد وجد ان (1 – 1.5) % من هذه العملية لايتحرر غاز ثاني اوكسيد الكربون منها وانما يتحرر غاز الميثان CH_4 والذي يتكون عند غياب غاز الاوكسجين من الوسط , وفي الجو يتأكسد هذا الغاز بواسطة جذور $(OH)^-$ في الجو فيتحول الى CO ثم الى CO_2 . علما ان كميات قليلة من غازات اخرى قد تتكون مع غاز الميثان مثل H_2 و CO و N_2O و NO_2 ويعتمد نوع الغاز المتحرر على نوع البكتريا التي تقوم بذلك .
نسبة غاز ثاني اوكسيد الكربون في مياه المحيطات هي اعلى مما هي في الغلاف الجوي , واكثر من 90 % من هذه الكمية الموجودة في المياه هي على شكل حامض $(HCO_3)^-$, جزءا من هذه الكمية المذابة (حوالي 10 % منها) قد تتحول الى الغلاف الجوي سنويا ليحل محلها من نواتج المواد العضوية المتحللة في الماء اضافة الى ذوبان كميات محدودة من هذا الغاز في الماء .

المحاضرة الثانية

دورة غاز النيتروجين في الطبيعة :

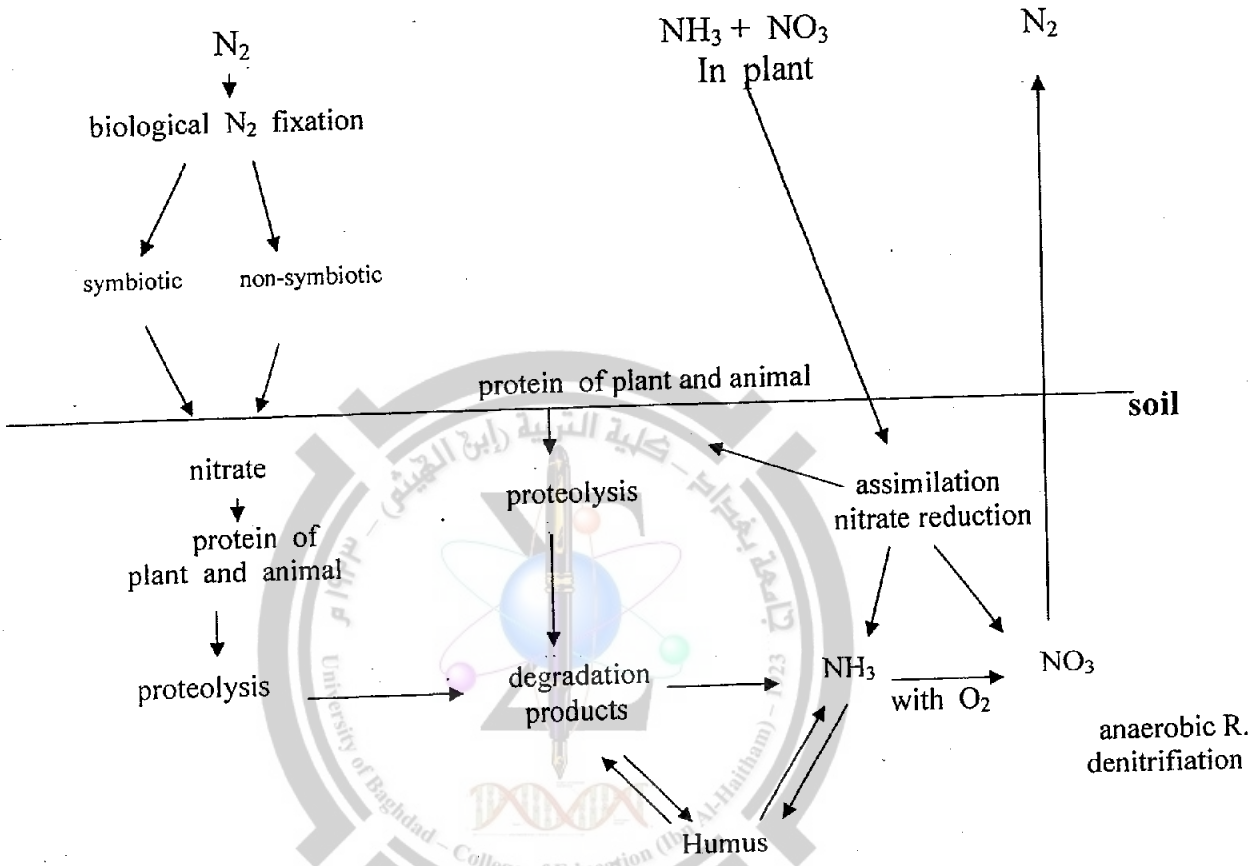
العديد من انواع بكتريا التربة تقوم بتثبيت غاز النيتروجين الجوي منتجة مركبات نيتروجينية مثل بكتريا الرايزوبيوم , والتي يمكن للنباتات فيما بعد ان تستهلكها في صنع البروتينات , بعض هذه البكتريا ذات معيشة حرة في التربة (معيشة غير تكافلية non- symbiotic) , والبعض الاخر ذات معيشة تكافلية (symbiotic) مع بعض النباتات المتكيفة معها .



دورة النيتروجين في الطبيعة

من جهة أخرى نلاحظ ان حلقة الوصل في دورة غاز النيتروجين في الطبيعة هي غاز الامونيا , فهي الناتج النهائي لعملية التحلل الحيوي للمركبات البروتينية و الحوامض الامينية التي تصل الى التربة من خلال الفضلات الحيوانية و النباتية والاجسام الميتة المتحللة , وفي حالة وجود تهوية كافية في التربة فأن الامونيا تتحول الى نترات .

بكتريا *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* تقومان بأكسدة الامونيا الى نتريت ثم الى نترات , ان كل من الامونيا و النترات يأمكان استهلاكهما من قبل النبات كمصدر للنيتروجين في عملية بنائها الحيوي . الى جانب ان بعض انواع البكتريا اللاهوائية تقوم بعملية الدنترة denitrification عند توفر ظروف لاهوائية في التربة فتحلل النترات باستخدامها كمستقبل للهيدروجين حيث تحل النترات محل الاوكسجين كمستقبل نهائي للالكترونات في عملية التنفس , وبذلك يتم استهلاك النترات وتحللها بدلا من استهلاكها كمصدر للنيتروجين في بناء البروتينات في النبات .



دورة النيتروجين في الطبيعة

دورة الفسفور في الطبيعة :

عنصر الفسفور(Phosphorus) يشارك ايضا في العالم الحيوي (Biosphere) على شكل جذور الفوسفات $(PO_4)^{---}$ داخل الخلية , اذ أن اتحاد حامض الفوسفوريك مع الاسترات يتكون استرات الفوسفات , وهو قابل للتحلل مائيا بسهولة عند موت الخلية فتحرر ايونات جذور الفوسفات التي تستفاد منها النباتات في عملية التمثيل الغذائي , اما فوسفات الاملاح الغير كائنة فانها تترسب في التربة , او قد تتحول فيما بعد بتأثير بعض التحولات الكيميائية الى حالة قابلة للذوبان فتنتشر في الطبيعة بتأثير حركة مياه الانهار والبحيرات والمياه الجوفية وغيرها .

المحاضرة الثانية :

دورة الكبريت في الطبيعة :

يدخل الكبريت ايضا ضمن المكونات الحية للخلية وذلك في تركيب بعض الحوامض الامينية مثل Cysteine و Methionine بنسبة تقريبية 1 % من وزنها الجاف . ويشترك الكبريت في اجراء عملية التحلل الحيوي اللاهوائي للمركبات العضوية التي تقوم بها بكتريا المختزلة للكبريتات Sulphate – reducing bacteria , حيث يتكون H_2S خلال هذه العملية وتعتبر المصدر الرئيسي له في الطبيعة .

كما تعتبر الفوسفات و الكبريتات من محددات النمو في الخلايا الحية , وبصورة خاصة في الاحياء المجهرية والنباتات ثم في الحيوانات وخاصة البحرية منها , حيث نقص احدهما او كلاهما يؤدي الى توقف انتاج الكتلة الحية للخلية Biomass .

دورة الكبريت

التطبيقات الحيوية و علاقتها بالانسان :

ان الاحياء المجهرية تمتلك علاقات وثيقة بالكائنات الحية الاخرى , ولها اهمية تطبيقية كبيرة يقابلها نشاطها الضار للانسان و الحيوان والنبات , من حيث كونها مسببات امراضية او متلفة للاغذية مثلا ... لكن بالمقابل لها دور كبير ومهم ومتنوع في المجال الطبي والزراعي و الصناعي , للأدوية والأغذية والتعدين و النفط و اللقاحات وغيرها ...

المحاضرة الثانية

من العمليات التقليدية التي تشارك فيها الاحياء المجهرية , صناعة الخبز وصناعة منتجات الألبان و الخل وصناعة البيرة والمشروبات والكحولات التي تتم بواسطة الخمائروالبكتريا وهي خميرة الخبز و بكتريا حامض اللبنيك وبكتريا حامض الخليك و بكتريا لاهوائيه وخمائر حيث تنتج الاسيتون و الكيسرول و البيوتانول وغيرها ذات الاهمية الكبيرة في مجل اصناعات المختلفة , وصناعة الكحولات التي تقوم بها البكتريا اللاهوائيـــــــة والخمائر حيث تنتج الاسيتون والكليسرول والبيوتانول وغيرها ذات اللاهمية الكبيرة في مجال الصناعات المختلفة .

بعد اكتشاف البنسلين كمضاد حيوي , تم اكتشاف قابلية العديد من الاحياء المجهرية على انتاج مضادات حياتية مختلفة يحتاجها الانسان , مثل بعض الفطريات و الاكتينومايسيتات Filamentous microorganisms وانواع اخرى , علما إن عملية البحث عن انواع جديدة منتجة لمضادات حيوية لاتزال مستمرة لحد الان .

ومن خلال اكتشافات الهندسة الوراثية المايكروبية , ظهرت سلاسل جديدة من المايكروبات تقوم بانتاج مركبات عضوية عديدة ومختلفة تتميز بأهميتها في حياة الانسان , بعض انواع الفطريات اظهرت قابليتها على انتاج الكاروتينويد Carotenoid و الستيرويد Steroid وحامض الكلوتاميك عند اضافة السكر واملاح الامونيوم الى الوسط , بالاضافة الى العديد من الحوامض الامينية وبكميات كبيرة . لقد ازدهرت وتنوعت مجالات دراســـة الهندسة الوراثية المايكروبية مثل انتاج مجموعات انزيمات اللأميليز لتحليل النشويات والبروتيز لتحليل البروتينات والبكتينيز المستعمل في صناعة عصير الفواكه وغيرها العديدمن اللأنزيمات التي تدخل في مجالات التصنيع والتي نحصل عليها من مزارع مايكروبية .

في الطبيعة هناك الكثير من المواد الخام الاولية التي لايمكن استهلاكها الا من قبل الاحياء المجهرية مثل النفط الخام والغازات والسيليلوز وغيرها , والتي تقوم بتحويلها الى جزء من كتلتها الحية او الى مركبات وسطية intermediary products التي تطرح من الخلاياالى الوسط المحيط بها . ان ذلك يعود الى ان الاحياء المجهرية تحتل موقعا قطبيا احاديـــــــــــــا Monopoly position في العمليات المستخدم فيها تلك المواد الخام , لذلك فأن تطبيقات المسارات المايكروبية لمثل هذه العمليات تكون هي البداية حيث يتم استخدام تواتجها في المسارات اللاحقة الاخرى للوصول الى الناتج النهائي المطلوب .

ان التقنيات الوراثية الحديثة , والمتضمنة الاستفادة من ميكانيكية نقل الجينات بين خلايا البكتريا لعناصر الكروموسوم , فيما بينها والخلايا الاخرى , قد فسحت المجال واسعا لاحتمالية نقل DNA من خلية غريبة الى داخل الخلية البكتيرية , ليتم نقل الصفات المرغوبة الى تلـــك الخلايا والتي تكتسب بذلك معلومات وراثية اضافية تدخل ضمن رصيد الخلية من معلومات وراثية , لاظهارها صفة او قابلية جديدة لتلك الخلايا للاستفادة منها علميا و عمليا , مثال على ذلك , نقل جين من الانسان الى خلية بكتيرية ليساعدها في بناء بروتينات مرغوبة , مثل تكوين انواعا من الهرمونات المطلوبة او انتيجينات او اجسام مضادة او غيرها من المواد البروتينية والتي تتكون في الخلايا وتتراكم في المزرعة البكتيرية .

في الوقت الحاضر , هناك ابحاث تجري لمحاولات تهدف الى نقل صفة تثبيت النيتروجين من البكتريا القادرة على ذلك الى خلايا النباتات الخضراء , وكذلك في مجال مقاومة الاصابات ببعض الامراض حيث يتم منح المناعة للنباتات الخضراء ضد الاصابة بالحشرات والامراض الفايروسية المختلفة وغيرها .

من المحاولات الاخرى في تطبيقات التقنيات المايكروبية , هناك مثلا انتاج الانترفيرون والانسولين وهرمونات النمو عند الانسان , بالاضافة الى عوامل تخثر الدم و الانزيمات المذيبة لتخثر الدم وغيرها , كذلك في انتاج اللقاحات ضد الامراض مثل التهاب الكبد الفايروسي و الملاريا و السيلان و الجذام وغيرها , كما قد تستخدم انواعا من البكتريا كلقاح يمنع اصابة الاطفال بالاسهال . كما تستخدم الاحياء المجهرية في انتاج العديد من المركبات العضوية المختلفة التي يحتاجها الانسان مثل الحوامض العضوية المفيدة و الايثانول و غيره .

ايضا يتم الاستفادة من الكائنات المجهرية في مجال تحليل المواد الضارة مثل السموم والمبيدات الملوثة للبيئة , وفي التخلص من بقع النفط على التربة وفي المياه .

من كل ذلك نلاحظ ان اهمية الاحياء المجهرية ليست في كونها عوامل ضارة للانسان فتسبب له الامراض وتتلف غذائه وتغير بيئته , فهي ايضا بالمقابل لها اهمية اكبر من ذلك في التأثير الايجابي على حياة الانسان اليومية , على مستوى الفرد او الجماعة في المجالات الغذائية و الطبية و الصناعية و الاقتصادية و البيئية .

ان اختيار نوع الكائن المجهري لغرض الاستفادة منه في مجال التطبيقات التقنية , يجب في البدء دراسة جميع انواع خواصه المختلفة , التركيبية والمزرعية والفسلجية والجينية والامراضية وغيرها , وفي امكانية تغيير بعض تلك الخواص .

University of Baghdad – College of Education (Ibn Al-Haitham) – 1923

المحاضرة الثالثة

تنمية البكتريا : اطوار النمو , انواع النمو , قياس النمو

النمو البكتيري Bacterial growth هو عبارة عن الزيادة المنتظمة لمضاعفة تراكيب الخلية ثم انقسامها الى خليتين ضمن مدة زمنية يطلق عليها زمن الجيل Generation time ويمكن التعبير بأنه زيادة الكتلة من خلال عمليات البناء الحيوي للجزيئات المعقدة والكبيرة والتي تؤدي الى زيادة الكتلة الحية (Biomass) في الخلية ثم انقسامها الى خليتين .

ان هذه العملية تمر بمراحل متسلسلة يطلق عليها بمراحل النمو وتتضمن

- هضم جزيئات الغذاء الغير ذائبة الموجودة خارج الخلية بالانزيمات الخارج خلوية .

a. دخول جزيئات الغذاء المهضوم الى داخل الخلية .
b. هضم جزيئات الغذاء الكبيرة الى مكوناتها البسيطة .
c. تمثيل جزيئات الغذاء البسيطة و التي ستكون جزءا من تراكيب الخلية ويؤدي ذلك الى زيادة حجم و وزن الخلايا
d. استنساخ وتضاعف المادة النووية في الخلية ثم انقسام الخلية الى خليتين تستلم كل منها نسخة من الكروموسوم .

علما ان انقسام خلية البكتريا يتم وفق سياق الانشطار الثنائي البسيط Binary fission والذي يتضمن :

e. استطالة خلية البكتريا و الناتج عن زيادة حجم مكوناتها .
f. عند زيادة حجم الخلية الى حدود معينة , تبدأ عملية تضاعف وانشطار الكروموسوم وذلك بتكوين حلقتين متماثلتين
g. يتكون حاجزا عرضيا في وسط الخلية مبتدأ من طبقات الجدار بأتجاه مركز الخلية وفي منتصف المسافة بين قطبيها فتتكون خليتين يكون في كل منهما كروموسوما واحدا .
h. الخلايا الناتجة من الانقسام قد تنفصل لتكون خلايا منفردة او تبقى لفترة غير محددة متصلة ببعضها مكونة اشكالا ثنائية الخلايا ... Diplo او مسبحية ...Strepto او متجمعة عنقودية مثل Staphylococcus .

ان المدة التي تستغرق لانجاز الخطوات اعلاه تسمى بزمن الجيل ,والتي قد تطول او تقصر اعتمادا على العوامل الوراثية للخلية ودرجة ملائمة الوسط الزرعي لنموها .

اطـوار النمـو :

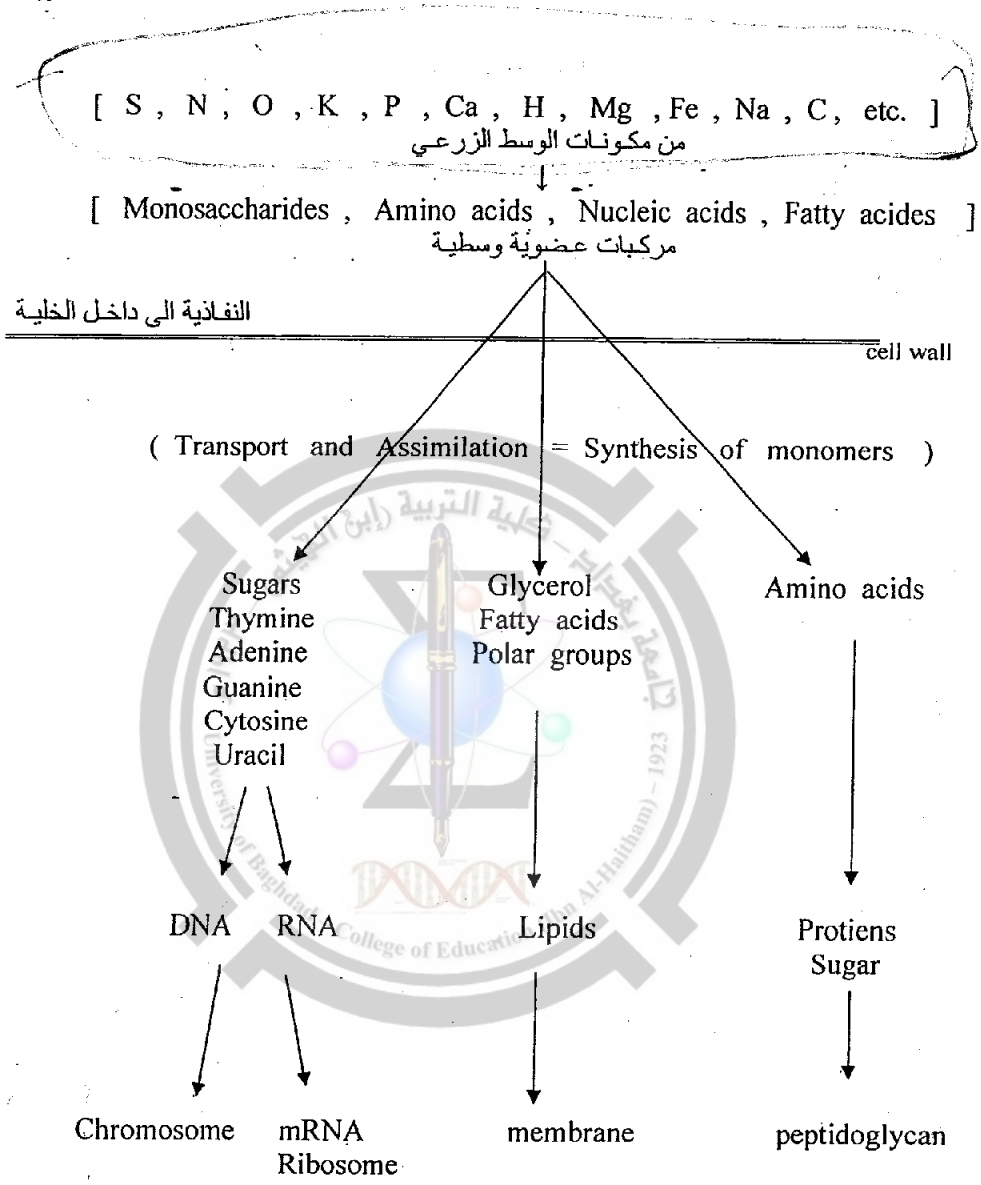
عند زراعة خلايا بكتيرية على وسط زرعي مناسب فأن هذه الخلايا تمر بأربعة اطوار متتالية اثناء نموها على الوسط المذكور وهي:

1 - **Lag phase** طـور التمهيدي (طـور التكيف) : وفيه يتوقف النمو .

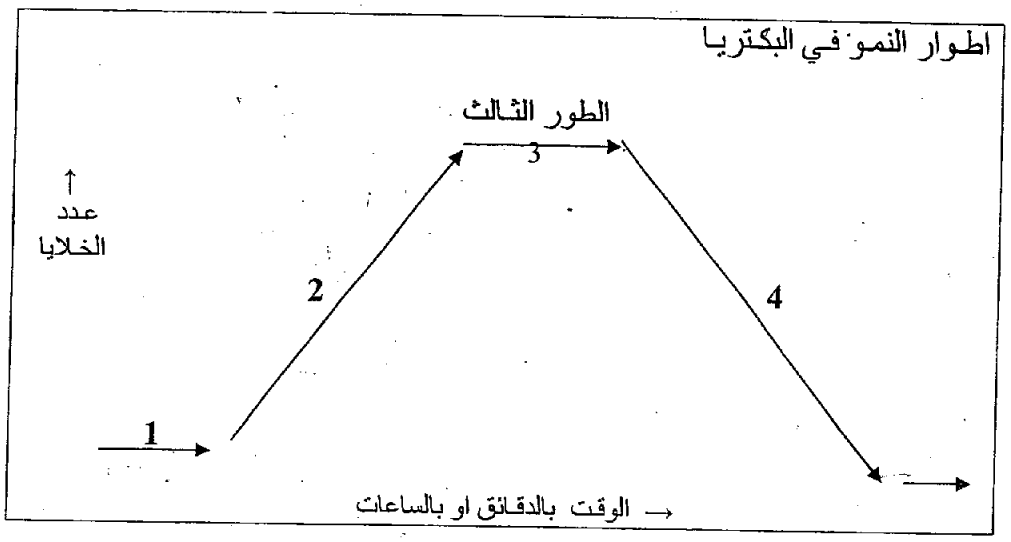
2 - **Log phase** طور اللوغاريتمي (طور التعجيل الايجابي) : وفيه تكون سرعة النمو متصاعدة و بأقصاها .

3 - **Stationary phase** طور الثبوت العددي (طور السكون او الركود) : وفيه تكون سرعة النمو تساوي صفرا

4 - **Death phase** طور الموت اوالهلاك (طور التعجيل السلبي) : وفيه تتناقص اعداد الخلايا تدريجيا .



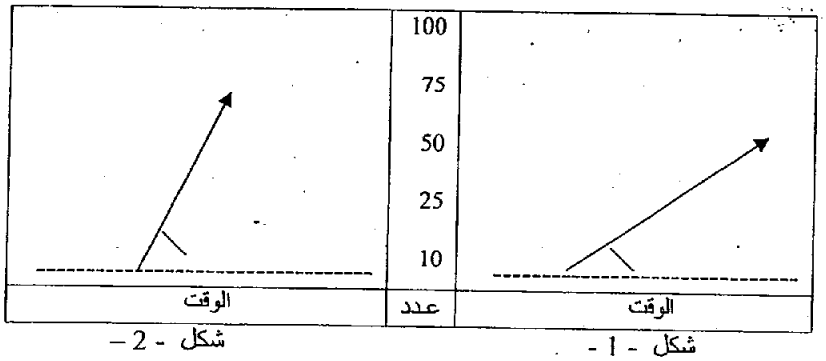
مخطط مبسط لعملية البناء الحيوي الخلوي



يبدأ الطور الاول عند انبات خلايا بكتيرية في وسط زرعي جديد حيث تبدأ بالتعرف على مكونات الوسط و التكيف لغرض استهلاك هذه المكونات كمصادر للطاقة و الغذاء وتسخيرها لعملية النمو ... لذلك نلاحظ ان الخلايا تفقد جزءا من مخزونها الغذائي ويقل حجمها لعدم استهلاك مصادر غذائية خارجية خلال هذا الطور , ان مدة الطور الاول قد تقصر او تطول اعتمادا على درجة ملائمة الوسط الجديد لنموها , فكلما كانت مكوناته اكثر ملائمة للنمو تصبح مدة هذا الطور اقصر . وعندما تكون جاهزة تنتقل الى الطور الثاني .

في الطور الثاني تستهلك الخلايا مصادر الطاقة و الغذاء المتوفرة في الوسط الزرعي وبشكل مكثف وسريع فتنطلق الفعاليات الحيوية للخلية بأقصر وقت لاتمام عملية النمو والانقسام , حيث يزداد حجم الكتلة الحية ويزداد اعداد الخلايا كمتوالية هندسية من خلال تضاعف عدد الخلايا عند نهاية كل زمن جيل خلال الطور الثاني .

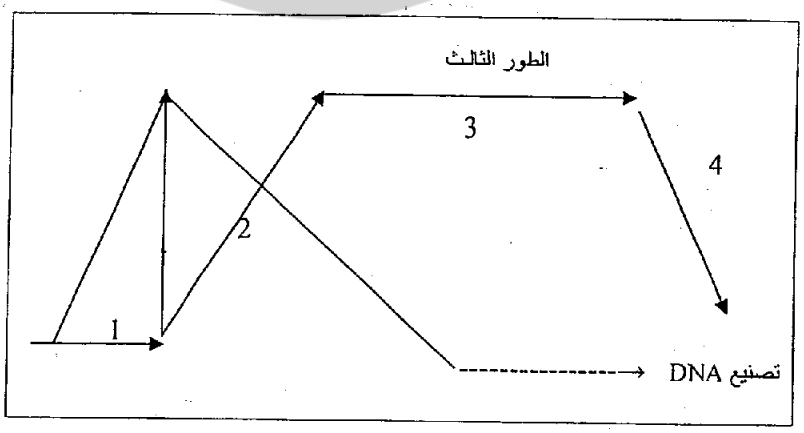
عندما تكون سرعة النمو ثابتة يكون زمن الجيل ايضا ثابتا , وعندها يكون لوغاريتم النمو ممثلا بالخط البياني الذي يكون مستقيما , وفي هذه المرحلة يمكن معرفة درجة ملائمة الوسط لنمو الخلايا من خلال ملاحظة زاوية الانكسار لمنحنى لوغاريتم النمو ..حيث ان القيمة العالية لهذه الزاوية تشير الى ملائمة الوسط الجيدة , و القيمة المتدنية للزاوية فهي تشير الى ضعف استفادة الخلايا من مكونات هذا الوسط .



شكل - 1 - شكل - 2 -

من مقارنة الاشكال 1 و 2 اعلاه يتبين ان المدة اللازمة لزيادة معينة في عدد الخلايا النامية تختلف باختلاف زاوية انكسار منحنى الطور , فكلما كانت الزاوية اصغر , تحتاج الخلايا الى وقت اطول للوصول الى المستوى المطلوب .

سرعة النمو للخلايا تتأثر طرديا مع تركيز المادة الاساس للوسط Substrate (وهي المكون الرئيسي للوسط التي يعتمد عليها الكائن المجهري في نموه) ولكن الى حدود معينة ثم يصبح التأثير عكسيا بحيث زيادة تركيز المادة الاساس تكون معرقلة للنمو وربما توقف النمو لانها بذلك تؤثر على نسبة تواجد المكونات الاخرى التي تحتاجها ايضا الخلايا النامية . يلاحظ ان سرعة تصنيع مادة DNA في الخلايا النامية تزداد بوضوح عند اكتمال الطور الاول لكنها تبدأ بالتناقص او التراجع عند نهاية مدة الطور الثاني لتكون بعدها بطيئة جدا او ربما تتوقف في الطورين الثالث و الرابع .



علاقة تصنيع DNA في الخلايا النامية مع اطوار النمو

في الطور الثالث تتوقف سرعة النمو بعد تناقصها تدريجيا , وفي الخلايا المستمرة بالنمو يصبح زمن الجيل فيها طويلا ...وهو مايسمى بطور الثبوت العددي , حيث ان عدد الخلايا يصبح ثابتا تقريبا و الذي يعزى الى عدة اسباب منها :

- توقف انقسام الخلايا , او ربما عدد الخلايا المتكونة يعادل عدد الخلايا الميتة فتبقى المحصلة ثابتة .
- نفاذ الاوكسجين من الوسط .
- نفاذ مصادر الطاقة و الغذاء من الوسط .
- تراكم الفضلات الناتجة من العمليات الحيوية من مركبات عضوية وغير عضوية في الوسط الخارجي المحيط بالخلايا وتصبح حاجزا بينها ومصادر الهواء والغذاء والطاقة اي ان دورها يصبح مثبطا او ساما قاتلا للخلايا .
- ظاهرة الازدحام الفيزياني للخلايا علما ان معظم انواع البكتريا تقوم خلاياها بتكوين السبورات او مضادات الحياتية او غيرها خلال هذا الطور .

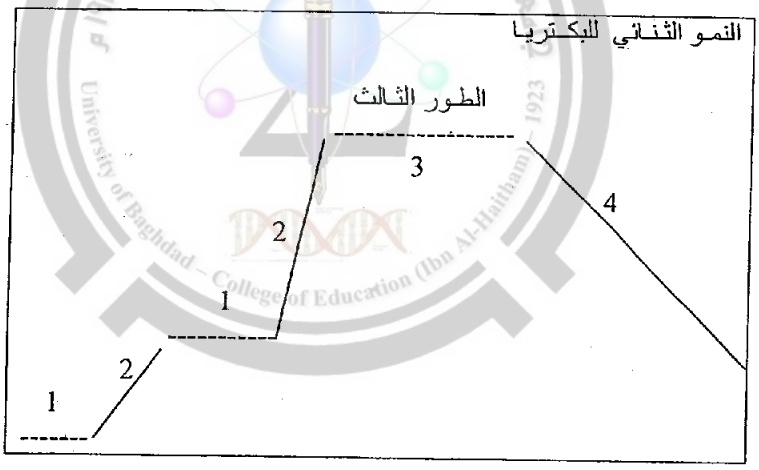
في الطور الرابع يتسارع عدد الخلايا بالتناقص حيث ان عدد الخلايا الميتة يتضاعف خلال الوحدات الزمنية المتتالية , يحدث ذلك نتيجة نفاذ الغذاء وتراكم الفضلات ونواتج تحلل الخلايا الميتة , لكن الذي نلاحظه ان عدد الخلايا النهائي لا يصبح صفرا وانما يكون قليل جدا وذلك بسبب ان الخلايا البكتيرية المتكونة حديثا يجب ان تمر بالاطوار الاربعة لعدم انتقال RNA اليها من الخلية الأم , وهو المسؤول عن بناء الانزيمات الضرورية للنمو, لذلك تحتاج الخلايا الفتية الى وقت اضافي للتكيف وتكوين RNA المطلوب لانتاج الانزيمات لذلك نجد ان الخلية الأم تستمر في نموها و انقسامها بينما الخلية الفتية تحتاج وقت للتكيف لذا نجد في اية لحظة ان بعض الخلايا في طورها الاول, واخرى في الطور الثاني , واخرى في الطور الثالث , او الرابع في نفس الوقت . و بذلك فأن الخلايا المتأخرة في نموها تتميز بأن زمن الجيل فيها يكون طويلا جدا لقلة الغذاء وزيادة التأثير السمي لمكونات الوسط .

ان تعبير الخلية الأم , يقصد به تلك الخلايا القادرة على الاستمرار في فعالياتها الحيوية الاعتيادية , وفي نفس الوقت تقوم بتكوين خلايا جديدة .

انواع النمو البكتيري :

ان اطوار النمو الأربعة تمثل نمو خلايا البكتريا معتمدة على نوع او اكثر من مواد الاساس فتكون المزرعة مغلقة , وعند استهلاك مكونات الوسط , وطرح نواتج الايض المختلفة , تتغير قيمة الاس الهيدروجيني للوسط بسبب تغير مكونات الوسط كما ونوعا , هذا النوع من النمو البكتيري يطلق عليه نمو النظام المغلق Closed system او نمو الوجبة Batch culture او Still culture , حيث ينتهي النمو بنفاذ الغذاء .

احيانا يطلق عليه بالنمو الثنائي عندما تعتمد الخلايا النامية على اكثر من نوع واحد من مواد الاساس , حيث تقوم الخلايا بالتكيف لاستهلاك اسهل هذه المكونات , وعند نفاذها من الوسط يتوقف النمو ليتم تكيف الخلايا من جديد لاستهلاك النوع الاخر من هذه المكونات .



اما النمو المتزامن فيقصد به ان تكون خلايا البكتريا في مرحلة متشابهة اثناء نموها وانقسامها وذلك تحت ظروف تجريبية معينة , فعندما يكون المطلوب متابعة نشاط خلية معينة واحدة ,ولصعوبة ذلك يستعاض عنها بمجموعة خلايا على ان تكون في نفس المرحلة من النمو ,وهناك طرق عديدة للحصول على هذه الصفة فيها

- استخدام المرشحات للحصول على خلايا ذات حجم واحد بافتراض انها في مرحلة متشابهة من نموها .

* تعريض خلايا بكتيرية الى دورات من تغير درجات الحرارة للحصول على خلايا متشابهة .
* حرمان مجموعة من الخلايا من بعض مصادر الغذاء الاساسية ثم تزويدها بالغذاء دفعة واحدة في وقت لاحق.
* باستخدام جهاز الطرد المركزي المتدرج الكثافة فتعزل الخلايا استنادا الى حجمها او وزنها على اعتبار ان المتشابهة بالحجم او الوزن تكون متشابهة بالعمر .
* امرار العالق البكتيري على سطوح Nitro-cellulose حيث تلتصق الخلايا الكبيرة فقط فتعزل الخلايا الفتية .
* معاملة الخلايا البكتيرية ببعض المواد الكميائية مثل (PEA) Phen-ethyl alcohol التي تؤثر سلبا على عملية تضاعف الكروموسوم البكتيري .

اما النوع الرابع من انواع النمو البكتيري هو النمو المستمر Continous culture والذي تنمو فيه الخلايا تحت ظروف ثابتة في جهاز يسمى المخمر Fermentar او Chemostat ويسمى ايضا Bactogen , حيث يزود بمواد غذائية جديدة تعويضا عن المستهلك منها , وسحب جزءا من الوسط الحاوي على نواتج ايضية وفضلات وخلايا حية, تمزج المواد المضافة جيدا مع الوسط الأصلي الموجود في الجهاز ليبقى تركيز المواد الغذائية غاليا مما يسمح للخلايا بالأستمرار في النمو وبقائها في الطور اللوغاريتمي .
ايضا يتم ضخ تيار ضعيف من الهواء الى داخل الوسط لتكوين فقاعات هوائية بشكل مستمر لغرض التعويض عن غاز الاوكسجين المستهلك , احيانا يستخدم الهزاز لذلك . وقد يستخدم جهاز Turbidostat الذي بواسطه خليته الضوئية يتم التحكم في حجم الغذاء المضاف وبالتالي السيطرة على كثافة معينة للخلايا وجعلها في حالة توازن مستمر.
يطلق على النمو المستمر ايضا بالنظام المفتوح Open system .
نسبة النمو Growth rate , تمثل عدد الأجيال الحاصلة خلال ساعة واحدة , او باليوم الواحد .
اما العامل المحدد للنمو Growth limiting factor والذي من خلاله يتم السيطرة على نمو الخلايا ,وهو عبارة عن احد مكونات الوسط عادة , فهو الذي يعمل على تسريع النمو بأقل تركيز له .

قياس نمو خلايا البكتيرية :

بسبب قصر زمن الجيل للخلايا النامية لذا فأن طرق قياس النمو في خلايا البكتريا تعتمد على قياس الزيادة الحاصلة في الكتلة الحية للخلايا وايضا الزيادة الحاصلة في العدد الكلي للخلايا النامية وخلال فترة زمنية محددة .

لقياس الزيادة الحاصلة في الكتلة الحية , يكون ذلك من خلال :

- قياس الوزن الجاف لعالق بكتيري قبل وبعد عملية النمو .
- قياس نسبة احدى مكونات الخلية (بروتين مثلا) , وقياس نفس النسبة بعد النمو , اي قياس مقدار التغير الحاصل فيها .
- قياس الكثافة الضوئية (Optical density) باستخدام جهاز Spectrophotometer ومقدار التغير الحاصل فيها .
- قياس تغير حجم النواتج الايضية للخلية قبل وبعد النمو .

ان الطرق جميعها المذكورة اعلاه هي غير دقيقة لانها لاتميز بين الخلايا الحية و الميتة فضلا ان العالق ليس دليلا ثابتا , اذ يبقى الوسط رائقا عندما يحتوي لغاية 10^6 خلية/مل ويصبح ذو عكورة قليلة عندما يحتوي على 10^7 خلية / مل .

عند **قياس الزيادة الحاصلة في العدد الكلي لخلايا البكتريا** , يتم اتباع احدى الطرق الاتية :

* طريقة العد المباشر مجهريا : باستخدام المجهر مع شريحة خاصة مصنعة لذلك .
- طريقة التخفيف : وهي طريقة محكمة يمكن من خلالها معرفة العدد الحقيقي للخلايا الحية فقط , ومن سلبياتها انها تستغرق 48 ساعة .

* طريقة العدد الاكثر احتمالا : (MPN) Most probable number وهي طريقة تقريبية تستخدم عادة في عد خلايا البكتريا المعوية .

المحاضرة الرابعة

العمليات الايضية Metabolism

العمليات الايضية , هي عبارة عن مجموعة متكاملة من التفاعلات الكيميائية الجارية داخل الخلايا الحية ,وتعتبر هذه العمليات أساسيات الحياة , والتي تجعل الخلية تنمو وتتكاثر بتراكيب خلوية متشابهة وكذلك من ناحية استجابتها للمؤثرات البيئية المحيطة بها .

التفاعلات الكيميائية الخلوية المتسلسة في العمليات الايضية, تنتظم في مسارات يطلق على كل منها بالمسار الايضي (Pathway) ,اذ يتحول المركب الكيميائي من حالة الى اخرى بوجود انزيمات متخصصة لكل تفاعل منها , والتي تعمل على تفعيل الديناميكية الحركية في التفاعلات المرغوبة لغرض اتمامها ,لذلك فهي مسؤولة عن تنظيم المسارات الايضية في الخلية.

تبدأ العمليات الايضية في الكائن الحي عندما تتعرض الخلية لمصدرغذائي وقد يكون ذات طبيعة سمية مثلا , حيث نجد بعض انواع البروكاريوتا تستخدم H_2S كمصدر للطاقة, في حين يعتبر هذا الغاز ساما للحيوان . اما سرعة العمليات الايضية اومايطلق عليه بنسبة العمليات الايضية (metabolism rate) فهي تتأثر مباشرة بحجم احتياجات الخلية من الغذاء ومدى امكانية الخلية في الاستفادة من مكونات الوسط الموجودة فيه .

ان جوهر العملية الايضية يعتمد على المسارات الايضية التي هي جزءا من العملية الايضية (الفعالية الايضية) , وتكون متباينة في سرعة تفاعلاتها بين انواع الكائنات كما في دورة كريب (Kreb"s cycle) التي تقوم بها خلايا الكائنات الحية بشكل عام , علما أن جميع الفعاليات الايضية تتم في الخلية في نسق محكم بعوامل وراثية تعمل لديمومة حياة الخلية وان اي خلل فيها او توقف يعرض الخلية الى التلف وربما موت الخلية .

ان السيطرة الدقيقة على تفاصيل العمليات الايضية تتم من خلال العوامل الوراثية في الخلية التي توجه كل فعالية ايضية لتكوين مركب معين او جزء محدد من الخلية لاغراض النمو والتكاثر .

من تلك التراكيب المتكونة , المستقبلات (receptors) , التي نلاحظها على سطح الجدار الخلوي في جميع انواع الكائنات , قد تكون لواحق او زوائد او اقطاب كيميائية , يطلق عليها احيانا مواقع الارتباط (Binding sites) او ادوات الارتباط (Ligands) وهي جميعها متخصصة لاجراء الالتصاق بين الخلية والمواد الخارجية عنها, مثل الغذاء او الادوية أو الانزيمات أو غيرها .

المحاضرة الرابعة

تقسم هذه العمليات الى فئتين , تفاعلات هدمية Catabolic reactions التي يحصل فيها هظم واكسدة الطعام داخل الخلية الحية (العمليات التنفسية) والتي ينتج منها تحرير طاقة المخزونة .والمجموعة الثانية هي ذات التفاعلات البنائية Anabolic reaction وتتميز باستهلاكها للطاقة لبناء وتكوين مكونات الخلية مثل البروتين والحوامض النووية والسكريات والدهون والجدار الخلوي وغيرها .

العمليات الايضية الهدمية : Catabolism

للهظم والتنفس هي من احدى صفات الكائن الحي ويتضمن تحليل المركبات العضوية المعقدة الى مركبات بسيطة اوالى مكوناتها المعدنية يرافقها تحرير الطاقة المخزونة فيها حيث يتخلل هذه العملية استهلاك لغاز O_2 وتحرير غاز CO_2 اي بمثابة عملية تبادل للغازات بين الخلية ومحيطها الخارجي ينتج منها تحرير للطاقة المخزونة في الغذاء .
ان طبيعة العمليات الايضية الهدمية تختلف من كائن حي الى كائن حي اخر وذلك في جزيئاتها العضوية والتي ستستخدم كمصدر للطاقة في الكائنات عضوية التغذية (Organotrophic) او استخدام مركبات غير عضوية لتجهيز الخلية بالطاقة في كائنات معدنية التغذية (Lithtrophic) , او استخدام الطاقة الشمسية كمصدر للطاقة ضوئية التغذية (Phototrophic) . في العموم , باختلاف اشكال العمليات الايضية , فهي تعتمد على تفاعلات تحرر الالكترونات من الجزيئات التي تقوم بالاختزال اي المانحة للالكترونات مثل الجزيئات العضوية والماء والامونيا و H_2S وايونات الحديدوز الى الجزيئات المستقبلة للالكترونات مثل الاوكسجين وجذر النترات .

$$H_2 \leftrightarrow 2(H)^+ + 2e^-$$

بروتون الكترون

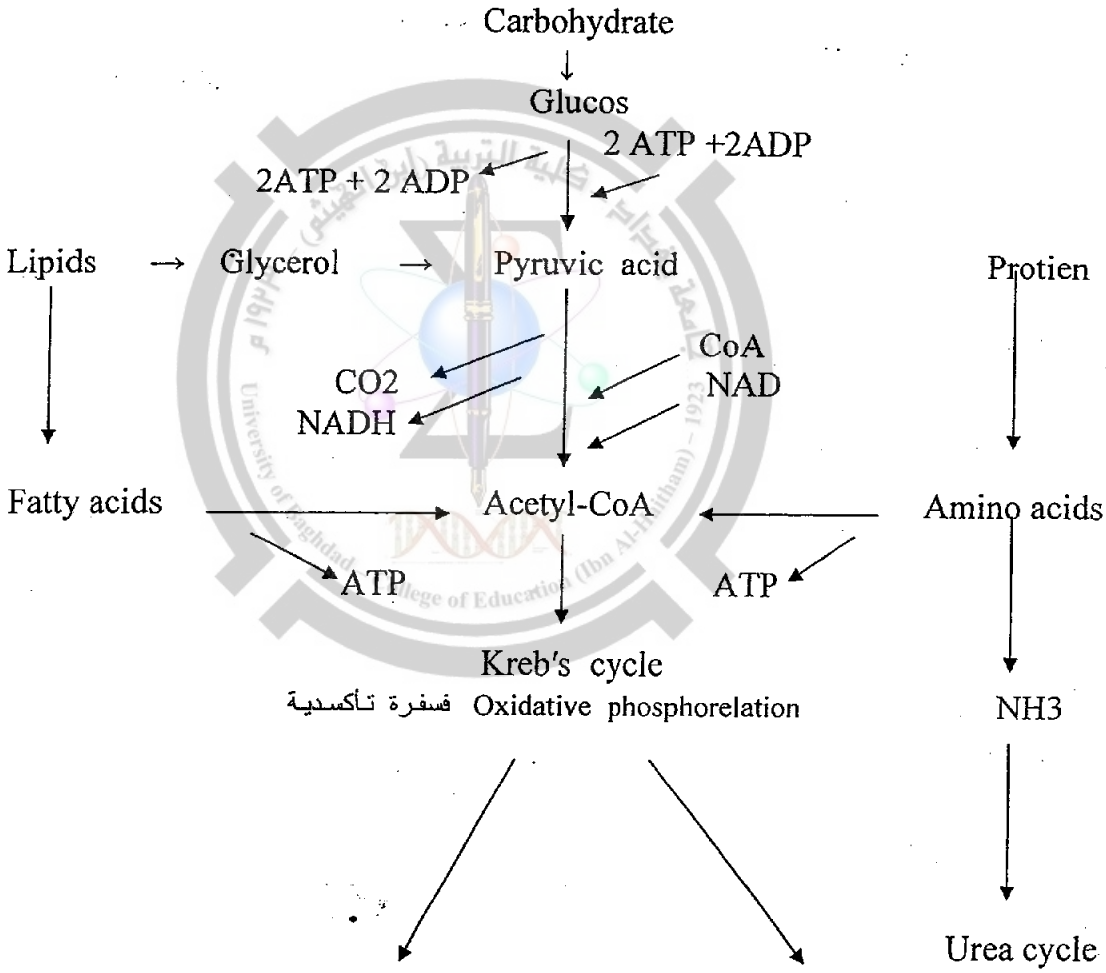
في كائنات ذاتية التغذية مثل السيانوبكتريا والطحالب والنباتات ,تفاعلات نقل الالكترونات لاتحرر طاقة وانما تتضمن عملية تخزين للطاقة الممتصة من اشعة الشمس , على عكس مايجري في الخلايا الحيوانية حيث تتكسر الجزيئات المعقدة الكبيرة الى جزيئات بسيطة غير معقدة , مثل CO_2 والماء, اي في خلايا ذاتية التغذية يتم استهلاك مع خزن للطاقة , و في الخلايا الحيوانات يتم استهلاك الطاقة المخزونة في الغذاء .
ان التفاعلات الهدمية الاكثر شيوعا يمكن تقسيمها الى ثلاثة مراحل وهي :

أ- الجزيئات العضوية المعقدة مثل االبروتين والكاربوهيدرات والدهون ,يتم هضمها بواسطة الانزيمات المتخصصة لها وتحويلها الى مركبات بسيطة خارج الخلية .

ب - المركبات البسيطة يتم انتقالها الى داخل الخلايا لتتحول فيها الى جزيئات بسيطة اكثر, وهي عادة Acetyl coenzyme - A يرافقها تحرير جزء قليل من الطاقة .

حوامض امينية و الدهون الى كليسرول وحوامض دهنية والسكريات المعقدة الى سكريات بسيطة .

في هذه العملية تقوم الحيوانات بأفراز الانزيمات من خلايا متخصصة الى القناةالهظمية , بينما في الخلايا المايكروبية فأنها تفرز انزيماتها الخارج خلوية الى الوسط الخارجي المحيط بها, ثم تنفذ الجزيئات العضوية البسيطة الى داخل الخلية وفق نظام خلوي خاص .



تنفس هوائي كامل
لتوفر انزيمات التنفس الهوائي
$CO_2 + H_2O + 3ATP$

تنفس لاهوائي غير كامل
لتوفر انزيمات التنفس اللاهوائي
$C_2H_5OH + CO_2 + 1\text{-}2\ ATP$

مخطط للعمليات الهدمية في خلايا البكتريا

حامض البايروفيك يمثل مركب وسطي للعديد من المسارات الايضية , وفي معظمها تكون Acetyl – CoA الذي يدخل الى دورة كريب أو Citric acid cycle أو TCA (Tri – carboxlic acid) حيث تتحرر بقية وحدات ATP . ومن اهم نواتج التي ترافق اكسدة NADH بواسطة Acetyl-CoA هي NAD^+ وماء وثاني اوكسيد الكربون . في عملية مرادفة لعملية الكلايكولايسس , يتم تكسير الكلوكوز الى سكرخماسي مفسفر Pentos – phosphate , وفيها يتم اختزال المرافق الانزيمي NADPH و انتاج سكر خماسي مثل الرايبوزالذي يعتبر المكون الاساسي الذي يدخل في بنـــاء الحوامض النووية للخليـة .

الدهون يتم هضمها بالتحلل المائي(hydrolysis) مكونة كليسرول وحوامض دهنية, الكليسرول يشترك في عملية تحلل الكاربوهيدرات اما الحوامض الدهنية حيث تتكسر الى Acetyl – CoA , والتي تشترك فيما بعد بدورة كريب , وبسبب احتواء جزيئات الحوامض الدهنية على حصة كبيرة من مجموعة المثيلين (methylene group) فهي تؤدي الى تحرير طاقة اكبر مما يتحرر من اكسدة السكريات .

تعتبر الحوامض الامينية الحجرالاساسي في بناء البروتينات وجزيئات حيوية اخرى مثل الانزيمات والهرمونات,وعند تعرضها الى التأكسد بازالة مجموعة الامين بواسطـــــة انزيم transaminase فأن الحامض الاميني يدخل الى دورة اليوريا (Urea cycle) ليتحول الى يوريا وثاني اوكسيد الكربون .

عند تأكسد الجزيئات العضوية في مسار ايضي في عملية الاكسدة المفسفرة مثل حامض الستريك يتم تحريك الالكترون من هذه الجزيئات الى جزيئات الاوكسجين يرافقها تكون جزيئات ATP .

تحرير الطاقة من المركبات الغير عضوية :

في خلايا بدائية النواة من النوع ذات التغذية المعدنية الكيميائية Chemolithotrophic بأستخدام الهيدروجين او مركبات الكبريت المختزلة مثل الثايوكبريتات والكبريتيـــد و كبريتيد الهيدروجين , او ايونات الحديدوز, او الامونيا, كمصدر اختزالي للمركبات المعدنية حيث يستفاد من الاوكسجين او جذر النترات وغيرها كمستقبلات للالكترونات يرافقها تحرير للطاقة .

العمليات الحيوية من هذا النوع تتميز بها الكائنات المجهرية التي تلعب دورا مهما في العالم الحيوي من خلال مشاركتها في دورات الكيموحيوية التي تجري داخل التربة او في قاع المسطحات المائية المختلفة وكذلك في عمليات تثبيت النيتروجين و الدنترة وفي زيادة خصوبة التربة .

التنفس Respiration

يعتبر التنفس عملية حيوية تقوم بها جميع الكائنات للحصول على احتياجاتها من الطاقة **من خلال تفكيك و أكسدة جزيئات الغذاء** .
في كائنات ذاتية التغذية Autotrophic تصنع غذائها ومن ثم تستهلكه بطريقتين: في عملية التنفس و عملية البناء, اما كائنات مختلفة التغذية Heterotrophic فتحصل على الطاقة من أكسدة الغذاء المتوفر حولها او في محيطها, بشكل غير مباشر من أشعة الشمس .

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy}$$

تتكون جزيئات ATP خلال سلسلة عملية نقل اللالكترونات	يتكون من خلال سلسلة عمليات نقل اللالكترونات عندما يتحد كل من ايونات H مع الاوكسجين	ناتج من مركب سداسي الكربون في دورة كريب	ضروري لعملية تحلل السكريات خلال دورة كريب وبدونه تتحول العملية الى تخمر .	ضروري لأنطلاق عملية تحلل السكر

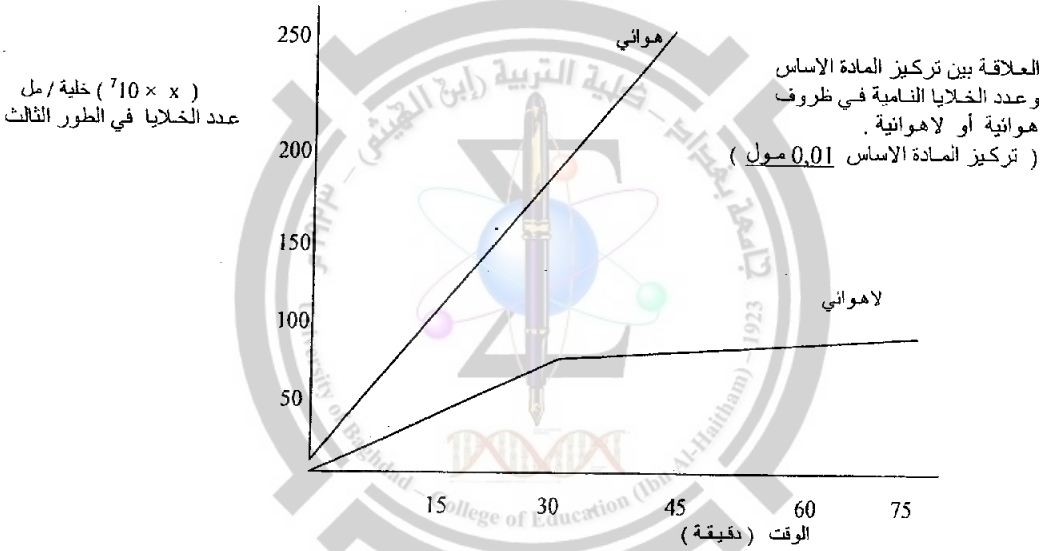
الطاقة المتحررة من عملية التنفس , تستهلك في بناء الجزيئات الكبيرة والتي تخزن فيها الطاقة على شكل طاقة كيميائية (اواصر كيميائية) أوعلى شكل جزيئات ATP في سايتوبلازم الخلية والتي تمثل خزين الطاقة لحين الحاجة اليها.
ان عملية التنفس تجري داخل الخلية بمسارات ايضية متعددة استنادا الى ملائمة طبيعة وقابلية الخلية على المسار الايضي المناسب لها.بعض المسارات تحرر طاقة في حالة يمكن للخلية من استهلاكها في فعالياتها بسهولة, واحيانا قد تولد بعض المسارات حرارة ايضا يرافق تحرير الطاقة .
في مسارات ايضية اخرى للتنفس تقوم بتكوين مركبات وسطية يمكن أن تستهلكها الخلية في بناء المركبات المعقدة التي تحتاجها.
يعتبرالاوكسجين العامل المؤكسد الأهم في عملية التنفس حيث يستهلك أثناء تحرير الطاقة من المركب العضوي ويسمى بالتنفس الهوائي , في حين هناك فئة من الكائنات التي تجري فيها مسارات ايضية للتنفس بدون استهلاك للاوكسجين فيها يطلق عليها بالتنفس اللاهوائي , وقد وجد ان التنفس الهوائي يحرر طاقة اكثر من (5 – 10) أضعاف من الطاقة المتحررة في التنفس اللاهوائي .
هناك علاقة وثيقة بين مادة الاساس ونمو الخلية وخاصة عندما يتوفر الاوكسجين في الوسط حيث تحرر طاقة أكبر مقارنة مع نفس العملية الحيوية التي تجري في غياب الاوكسجين , ان هذه العلاقة تتأثر كثيرا بثلاثة عوامل وهي :

1 - عامل باستور	Pasteur effect
2 - الفسفرة التأكسدية	Oxidative phosphorylation
3 - التمثيل التأكسدي	Oxidative assimilation

اولا : عامل باستور :

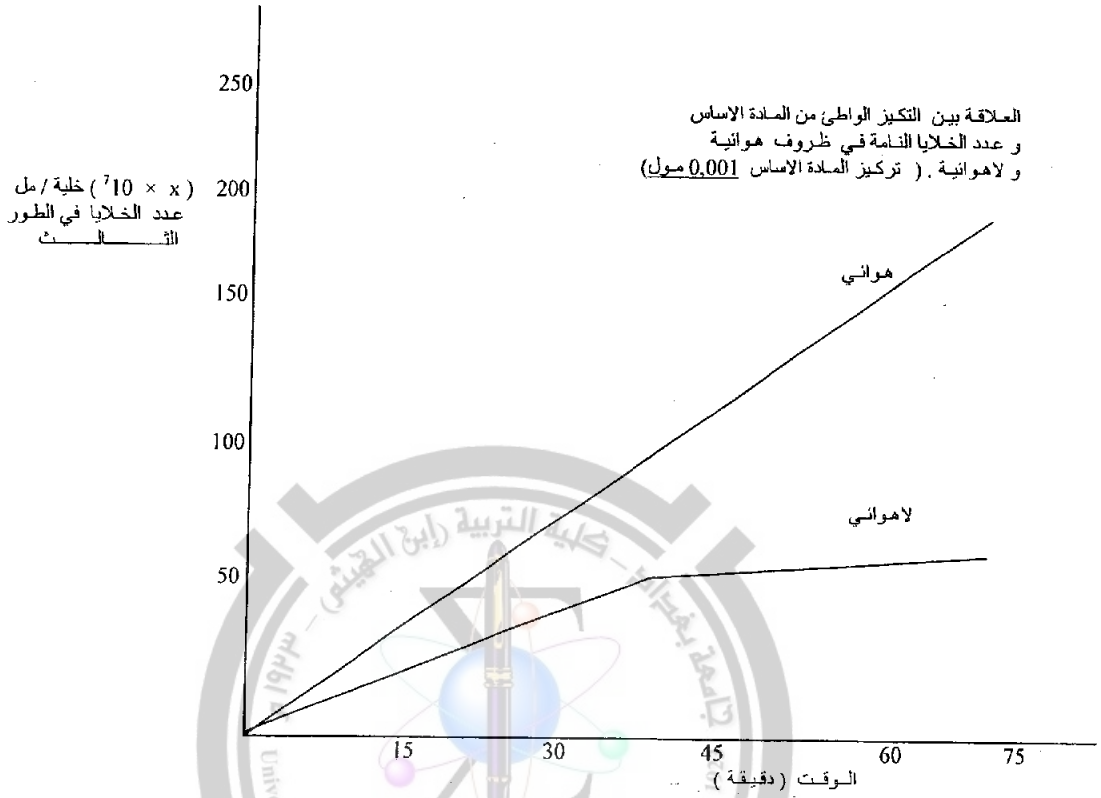
أن الكمية اللازمة من المادة الاساس لنمو الكائن بوجود الاوكسجين تكون أقل من الكمية اللازمة منها لنمو نفس الكائن عند غياب الاوكسجين وبنفس المقدار من النمو .

علما ان كل كائن يلائمه نمطا أو نوعا من المادة الاساس اثناء النمو . لذلك فأن النمو الفعال للكائن في ظروف هوائية لكل وحدة قياس من المادة الاساس يؤدي الى تكوّن خلايا أكثر بأقل احتياجات مستهلكة من مكونات الوسط .



يستمر النمو الهوائي بدون توقف متجاوزا عدد الخلايا (250×10^7) خلية / مل عند وجود 0,01 مول من الكلوكوز مثلا.اما في النمو اللاهوائي فأن النمو اللاهوائي سيتوقف عندما يصل عدد الخلايا الى (50×10^7) خلية / مل , وفي نفس الظروف المذكورة . لذلك نجد أن النمو في المعيشة الهوائية هو الافضل .

في حالة اعادة التجربة المذكورة بعد تغيير في كمية المادة الاساس في الوسط فيكون مثلا 0,001 مول , مع اضافة كبريتات الامونيوم ($(NH_4)_2SO_4$) , نجد أن الخلية لاتحصل على جميع احتياجاتها من المصدر الغذائي فيؤدي الى نموها بمعدلات قليلة مقارنة مع معدلات نموها في التجربة الاولى , كما ان اختلافها عن النمو اللاهوائي في ظروف مماثلة يكون أقل وضوحا مقارنة بالتجربة الاولى .

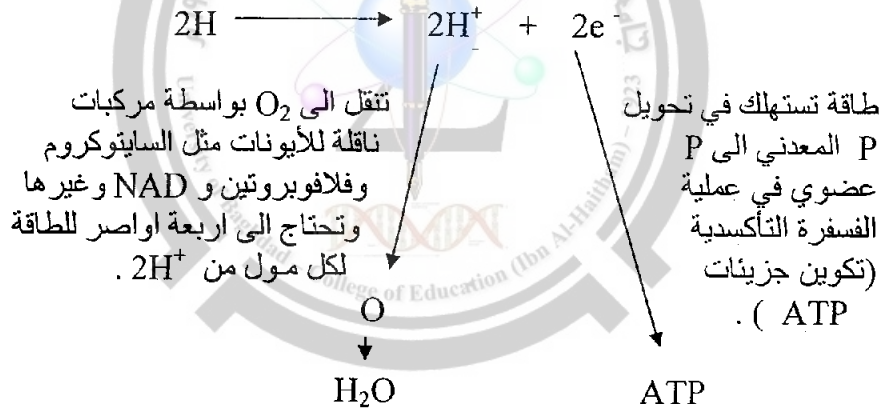


لذلك عند توفر وحدات قياسية من المادة الاساس , يكون نمو الخلايا كبيرا مع توفر الاوكسجين مقارنة بالخلايا الاخرى التي تنمو بغياب الاوكسجين , وقد لوحظ أن عامل باستور يبدو أن تطبيقه مناسبا جدا لفئة النمو اللاهوائي الاختياري . وقد قسمت الكائنات المجهرية الى خمسة فئات على اساس درجة حاجتها من الاوكسجين اثناء النمو .

ثانيا : الفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation

من أهم اشكال الطاقة المتاحة في الخلية ,هي المركبات الناقلة للطاقة , وهي عبارة عن وحدات الطاقة المفسفرة (مثال ATP) .والدراسات الحديثة اهتمت بشكل مباشر بالمسارات الايضية للتنفس المستهلكة للاوكسجين , وخاصة تلك التي تشارك فيها السايتوكرومات Cytochromes حيث تلعب دورا في تكوين وحدات الطاقة المفسفرة. تتلخص المسارات الايضية المذكورة بنقل وتمرير $2H^+$ من Nicotinamide - CoA وعن طريق Flavoprotien أو Cytochromes أو Cytochrome oxidase أو NADH الى الاوكسجين .

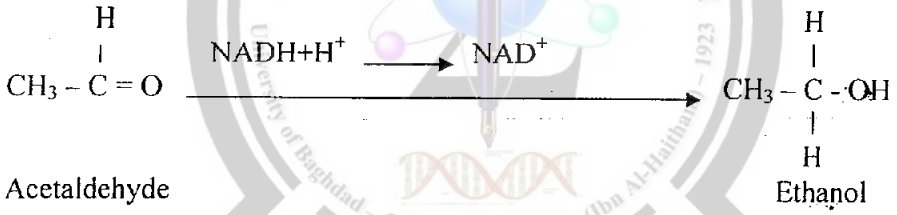
علما أن **الفسفور المعدني يتحول الى فسفور عضوي** خلال عمليات تمثيل الغذاء في الخلية ليستفاد منه في تكوين وحدات الطاقة المفسفرة .
عند نقل $2H^+$ من المركب المختزل **Nicotinamide Co-enzyme** الى الاوكسجين يستهلك طاقة وهي متوفرة في الخلية لانجاز هذا العمل حيث يستهلك اربعة اواصر للطاقة أوأكثر بقليل احيانا لكل مول من $2H^+$, وذلك وفق نظام محكم ومسيطر عليه في الخلية .
أن **الطاقة المتحققة** لاتبدو على شكل حرارة , وانما **بشكل يناسب استهلاكها** من قبل الخلية, والتي يمكن قياسها ليس فقط من خلال * **الزيادة الحاصلة في النمو**, وانما ايضا من * **قياس مقدار الفسفور المتحول الى وحدات الطاقة المفسفرة** .
أن الانظمة الخاصة لعملية الفسفرة التأكسدية موجودة في العديد من انواع البكتريا, وهي تعتمد على مقاطع جزيئية تعمل فقط بوجود وحدات عضوية, والمقاطع المذابة منها تحتاج الى اكمال نظام النقل لغاية الاوكسجين .
أن العديد من المواد الاساس المتأكسدة تؤدي الى تكوين جزيئات ATP علما أن كمية الفسفور المستخدمة في هذه العملية أكبر من كمية الاوكسجين المستهلك فيها بما يعادل مرة ونصف المرة .

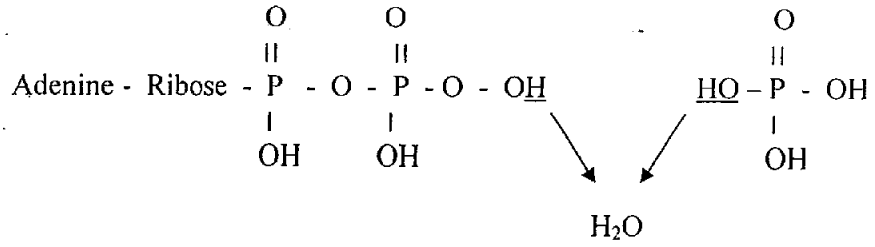


ثالثا : التمثيل التأكسدي Oxidative assimilation

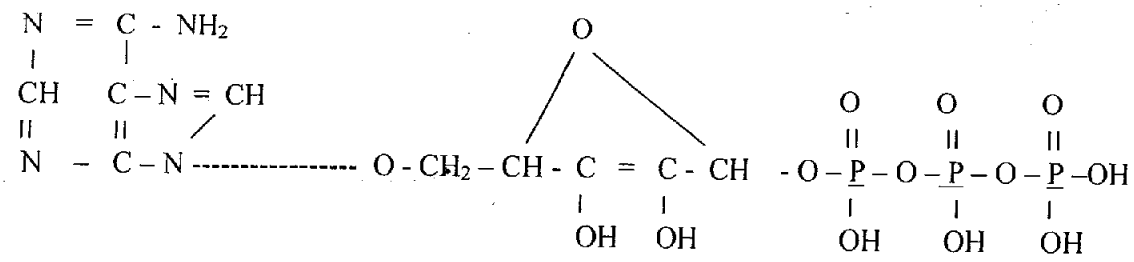
تتمثل هذه الظاهرة بحصول عملية النمو في الخلية ولكن بدون أن يحصل فيها نمو حسب المقاييس المعمول بها, أي لايوجد زيادة في الحجم او الكتلة , وانما الذي يحصل هو استهلاك للمادة الاساس(كلوكوز مثلا) خلال فترة سكون الخلية (أي في الوقت الذي لاتحصل زيادة في حجم او كتلة الخلية),عند ذلك نلاحظ اختفاءالمادة الاساس وتوقف عملية التأكسد السريع فيها.اما نتائج التحليل الكيميائي لمكونات الوسط يتبين بأن 30 - 60 % من المادة الاساس قد تأكسدت مكونة ماء وثاني اوكسيد الكربون , والجزء المتبقي منها تم تمثيله واضافته الى مكونات التركيبية للخلية .

من كل 1 مول من الكلوكوز (الحاوية على 6 مول من الكربون) المجهزة للخلية, تتكون 3 مول من ثاني اوكسيد الكربون مع زيادة في مكونات الخلية بحوالي 3 مول من الكربون , وذلك بتأثير الطاقة المتحررة عن التأكسد داخل الخلية.





(تكوين جزيئة ATP من اندماج جزيئة ADP مع مجموعة فوسفات)



Adenine mol. Ribos mol.

(AMP) Adenylic acid

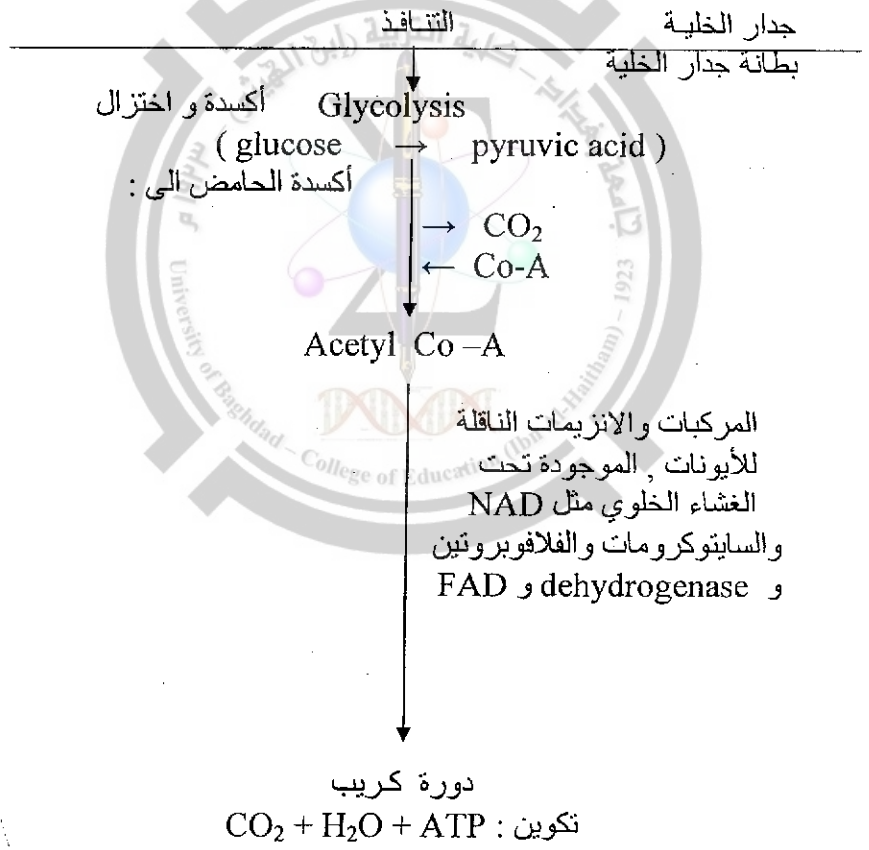
ADP

ATP

المحاضرة السادسة

التنفس الهوائي :

عملية التنفس الهوائي هي عبارة عن سلسلة تفاعلات أكسدة وأختزال داخل الخلية تتضمن أكسدة المركب العضوي أكسدة كاملة بوجود الانزيمات التنفسية المتخصصة و المركبات الناقلة للايونات .
عملية التنفس تبدأ بعد انتهاء عملية تحلل الكربوهيدرات (كلايكولايسس) والتي تنتهي بتكوين حامض البايروفيك, حيث يستهلك بطرق متعددة حسب قابلية واحتياجات الخلية .



أن عملية تحلل الكربوهيدرات تقوم بها جميع أنواع الكائنات الحية, لكن طريقة استهلاك حامض البايروفيك تختلف من كائن الى آخر, حيث يحتاج بعضها الى وجود غاز الاوكسجين أو بدونه (تنفس لاهوائي) في داخل الخلية. لذلك تختلف كمية الطاقة المتحررة من جزيئة الكلوكوز الواحدة من كائن الى آخر استنادا الى نوع الكائن والطريقة المتبعة لتحرير الطاقة بعضها تحرر كامل الطاقة المخزونة في المادة الأساس , والبعض الأخر تحرر كمية طاقة أقل.

أول مراحل هذه العملية تتضمن نقل الالكترونات من المركب العضوي (المادة الاساس) الى مركب عضوي آخر (حامض البايروفيك), حيث تتحول كل جزيئة كلوكوز الى جزيئتين لحامض البايروفيك يرافقها استهلاك جزيئتين من ATP وانتاج اربعة جزيئات أخرى من ATP .

أما المرحلة التالية من التنفس , فتشمل سلسلة تفاعلات كيميائية متعاقبة (دورة كريب) التي ينتج منها جزيئات ATP مع نواتج أخرى . في هذه المرحلة يتأكسد البايروفيت الى Acetyl-CoA بوجود مجموعة انزيمات مستلمة لايونات (H^+) وهي انزيمات السالبة للهيدروجين Dehydrogenase , مستقبلات هذه الايونات موجودة في بطانة الغشاء الخلوي وقد تكون NAD او جزيئات الاوكسجين اوغيرها, من اهم المركبات العضوية الناقلة للايونات داخل الخلية خلال تفاعلات الاكسدة والاختزال هي :

NAD , NADH , FAD , FADH , Dehydrogenase Flavoprotein , Cytochrome : A , B , C

علما أن مركبات السايتوكروم البروتينية تحتوي على أيون الحديد في تركيبها .

أن مخزون الطاقة في الخلية هو رصيدها من جزيئات ATP فيها , وعند الحاجة الى الطاقة يتم تحويل جزيئة حامض البايروفيك بوجود جزيئة ATP الى Acetyl-CoA لتشارك في دورة كريب التي ينتج عنها تحرير الطاقة مع نواتج أخرى . يتم ذلك عند ازاحة جزيئة CO_2 من جزيئة البايروفيت ثم ازالة e^- لاختزال NAD^+ فيتكون NADH , وبوجود أنزيم متخصص يسمى Coenzyme – A الذي يتحد مع Acetyl المتبقي من العملية اعلاه مكونا Acetyl CoA الذي يدخل الى دورة كريب من خلال :

1 – اتحاد مجموعة Acetyl من Acetyl Co-A مع Oxaloacetate الموجودة اصلا في دورة كريب فتتكون املاح السترات (citrate) .

2 - تتحول املاح السترات (املاح حامض الستريك) الى مركب مناضر له هو Isocitrate .

3 - يتأكسد الناتج الاخير(Isocitrate) مكونا ά - ketoglutarate وخلال ذلك تتكون جزيئة CO_2 ويتم اختزال NAD^+ الى NADH وFAD الى FADH .

4 - يتأكسد ketoglutarate - ά الى Succinyl – CoA ويكـــون ايضا NADH وجزيئة CO_2 .

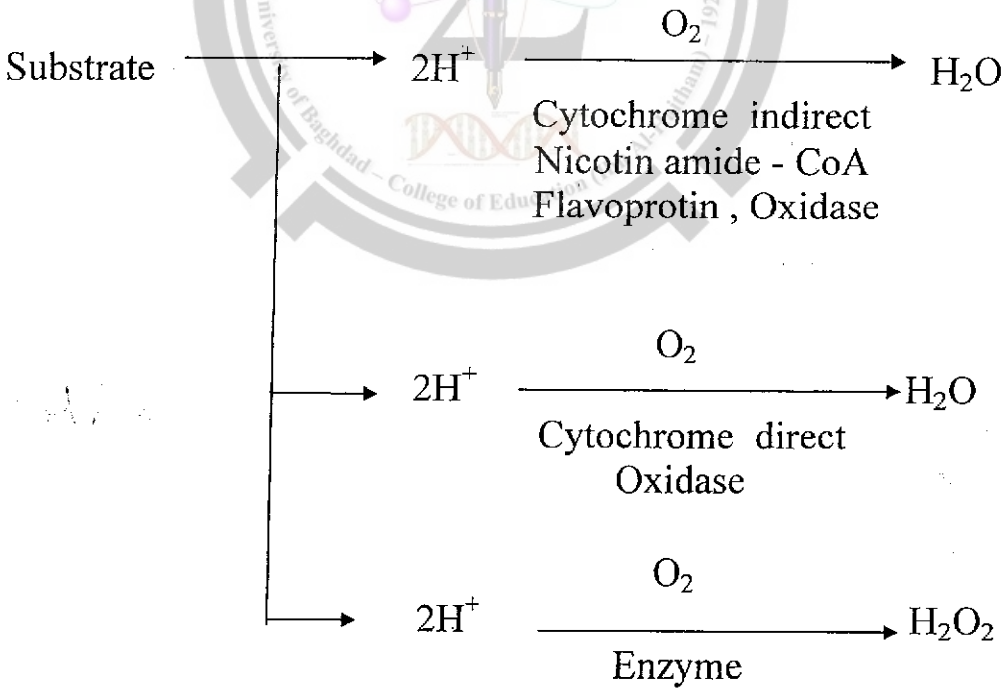
5 - يتحول Succinyl – CoA الى Coenzyme – A و Succinate وتتحول جزيئة ADP الى ATP.

6 - يتأكسد Succinate الى Fumarate فتتحول جزيئة FAD الى FADH .

7 - Fumarate يتحلل مائيا الى Malate .

8 - يتـأكسد Malate الى oxaloacetate مختزلا NAD^+ الى NADH .

أن عملية نقل الالكترونات أو الايونات داخل الخلية تتم بمؤازرة انزيمات متخصصة بعضها يحمل طاقة عالية, والبعض الاخر أقل من ذلك, من أهم هذه العوامل الناقلة NADH و FADH المتكونان خلال دورة كريب ويعتبران عوامل مختزلةتحمل طاقة كبيرة وهما مهيئان للاندماج مع بروتونات الهيدروجين المتحررة خلال دورة كريب ونقلهما لهذه الايونات الى داخل الخلية وفق ما يسمى بنظام (سلسلة نقـــل الالكترونات داخل الخلية Electron Transport Chain) .



(Pathways to oxygen)

تتباين انواع الكائنات المجهرية في حاجتها من غاز الاوكسجين , وعلى هذا الاساس تم تقسيمها الى خمسة مجاميع وهي :

1) البكتريا الهوائية Aerobic Bacteria

وهي البكتريا الى لايمكنها من النمو بغياب الاوكسجين في الوسط , وتشمل العديد من اجناس البكتريا والاعفان وغيرها . لذلك نجد أن عامل باستور قد لاينطبق على هذه الفئة بشكل واضح , كونه يتلخص بجودة وكفاءة النمو بوجود الاوكسجين مقارنة مع النمو بغياب الاوكسجين مقابل وحدة واحدة من مكونات الوسط المستخدم في النمو.أن كفاءة النمو بوجود الاوكسجين حيث تتوفر لها طاقة اكبر مما توفره وحدة واحدة من المادة الاساس وذلك اذا تمكنت الخلية من تمرير ايونات $2H^+$ الى الاوكسجين , حيث ان نمو الخلية يحتاج الى طاقة محددة, وفي حالة توفر طاقة اكبر بصيغة التي تستهلكها الخلية بسهولة فأنه سيقود الى معدلات نمو اكبر.

2) البكتريا اللاهوائية Anaerobic Bacteria

هي مجموعة بكتريا لايمكنها النمو بوجود الاوكسجين في الوسط (تحتاج لظروف لاهوائية) والذي بوجوده يوقف نموها بتأثيره السمي عليها ويسبب موت الخلايا.

3) البكتريا اللاهوائية الاختيارية Faccultative anaerobic bacteria

تنمو خلايا هذه المجموعة بوجود الاوكسجين في الوسط او بغيابه, لكنها تفضل الظروف الهوائية لأنها في ذلك يتم تحرير طاقة اكبر.في هذه الخلايا , التنفس الهوائي يؤدي احيانا الى تحفيز انزيمات معينة تعمل على تثبيط المسارات الايضية اللاهوائية, وفي نفس الوقت تحفز على تكوين نظام لنقل الايونات مستفيدة من وجود الاوكسجين في الوسط .

4) البكتريا الأليفة للهواء القليل Microaerophil bacteria

هذه المجموعة من خلايا البكتريا لاتحتاج الى وجود غاز الاوكسجين في الوسط بنسبة اكثر من (2– 5) % من حجم الهواء في الوسط ,حيث ان زيادة النسبة تؤدي الى زيادة تفاعلات الاكسدة التي لاتلائمها وقد تقتلها.

في هذه الخلايا نلاحظ وجود مسار ايضي معتمد على الاوكسجين منطلقا من مادة غير مادة الاساس, وهذا المسار لايحرر طاقة بشكل تستفاد منه الخلية في نموها لذلك نجدها بمعدلات متشابهة اذا توفر الاوكسجين في الوسط اولم يتوفر . مثال على ذلك بكتريا *Streptococcus faecalis* التي تنموفي وسط يحتوي على كلوكوز وببتون بنفس المعدل الذي تنمو فيه بوجود او عدم وجود غاز الاوكسجين في الوسط . كما لوحظ ان تركيب خلايا هذا النوع (*S. faecalis*) لايحتوي على Cytochrome , وفي نموها لاتستهلك الاوكسجين ,كما ان بأمكانها النمو في وسط يحتوي على

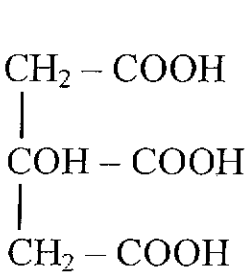
الكليسرول (glycerol) عندما يتوفر الاوكسجين معه (حيث يتأكسد الكليسرول من خلال السكر الثلاثي لتكوين حامض اللاكتيك) وخلالها يستهلك الاوكسجين بكميات غير قليلة ينتج منها H_2O_2 الذي يقتل الخلية اذا لم يتحول الى صيغة اخرى .
أن هذا الكائن لايمتلك مقومات(انزيمات) المسار الايضي لنقل الايونات من سكر الكلوكوز الى الاوكسجين , وانما يحتوي على انزيمات المسار الايضي ما بين الكليسرول والاوكسجين(المتوفر في الوسط كغاز خامل).أن السكر الثلاثي المفسفر – Triose P , المتحول خلال التخمر الى حامض اللاكتيك ومحررا جزء من الطاقة , يلاحظ انه يؤدي الى النمو باستهلاك (1) مول من الكليسرول بوجود الاوكسجين (في ظروف بيئية ثابتة) بمعدل يشبه نموه باستهلاك 0,5 مول من الكلوكوز بوجود أو عدم وجود الاوكسجين في الوسط . لذلك اتفق على حقيقة وجود مسار ايضي للاوكسجين يحرر طاقة لايتم استهلاك الخلية لها بشكل مباشر للنمو . أن معظم بكتريا حامض اللاكتيك مثل Streptococci و Lactobacilli تنتمي الى هذه الفئة ولا ينطبق عليها عامل باستور.

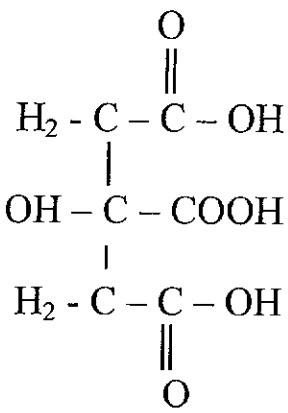
5) البكتريا المتحملة للاوكسجين Aerotolerant bacteria هي فئة من البكتريا المتحملة للاوكسجين, فهي لاتحتاج الى وجوده في الوسط اثناء نموها, لكن بامكانها البقاء حية بوجوده مع توقف النمو, ثم تعاود نموها عند زواله من الوسط .

Acetic acid

$CH_3 – COOH$

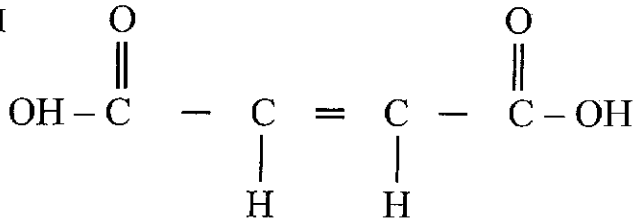
Citric acid





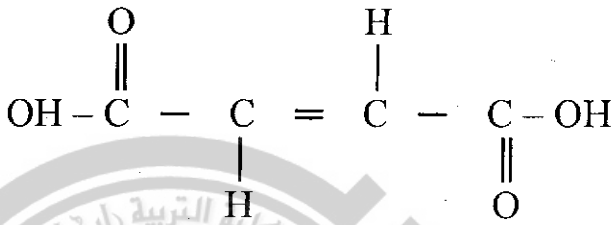
Maleic acid

COOH-CH-CH-COOH



Fumaric acid

COOH-CH-CH-COOH



Succinic acid $COOH - CH_2 - CH_2 - COOH$

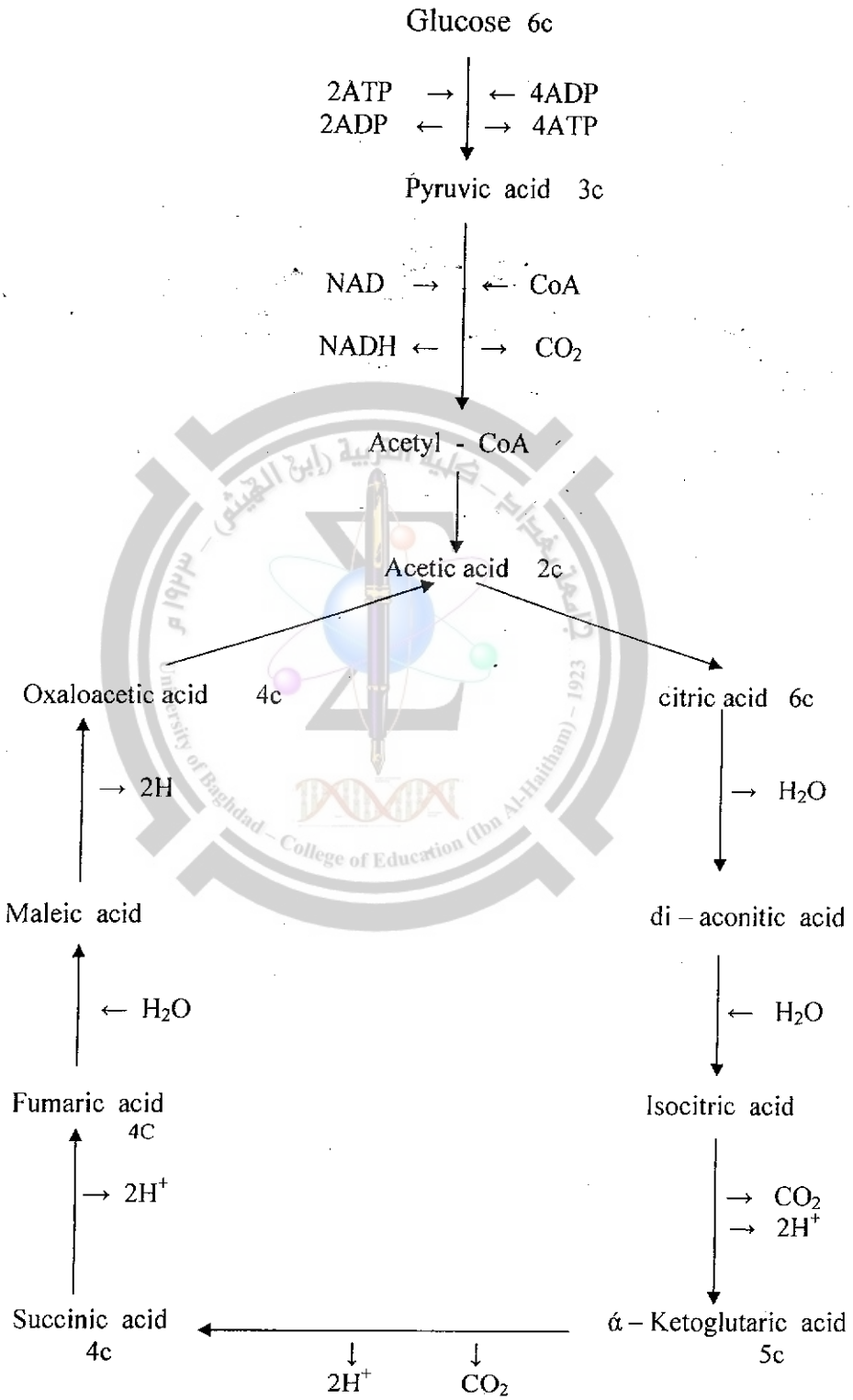
Coenzyme A HSCoA

Carboxylic acid (acetic acid) $CH_3 - COOH$

Acetyl coenzyme A $CH_3 - CO - SCoA$

α - Ketoglutarate $COOH-CH_2-CH2-CO-COOH$

Oxaloacetate $COOH-CO-CH_2-COOH$



Krebs cycle دورة كريب

التنفس اللاهوائي و التخمر

التنفس اللاهوائي هو عملية سحب الكترونات (e^-) من المركب العضوي لتحرير الطاقة منه عندما يكون المستقبل النهائي للالكترونات مركبات معدنية من غير الاوكسجين , اي انها تفاعلات مزيلة للهيدروجين dehydrogenation reactions حيث يتم نقل ايونات الهيدروجين (H^+) من المركب المانح الى المركب المستقبل له , يرافق ذلك تحرير للطاقة والتي يتم استهلاكها في فعاليات الحيوية للخلية .
ان هذه العملية بديلة عن ماتقوم به انواع اخرى من البكتريا القادرة على اجراء الاكسدة بوجود الاوكسجين والذي يعتبر المستقبل النهائي للايونات . اما تلك الانواع البكتيرية القادرة على القيام بكليهما فيطلق عليها البكتريا اللاهوائية الاختيارية , ان سبب التباين فيما بين هذه الانواع الثلاثة هو في قدرة كل نوع من البكتريا المذكورة على انتاج نوعية انزيمات تتلائم والطريقة المتبعة في تنفسها .

تتنوع بدائل غاز الاوكسجين في التنفس اللاهوائي استنادا الى ماهو متوفر في الاوساط الزرعية وكذلك قدرة الكائن المجهري للاستفادة منه كمستقبلات نهائية للايونات الفائضة .
في مقدمة هذه البدائل هو جذر النترات (NO_3^-) وعند ذاك يطلق على هذه العملية باختزال النترات وفيه يتحلل الى نتريت او ربما اكثر الى اكاسيد نيتروجينية او الى غاز النيتروجين الجوي (N_2) يرافقها تحرير الطاقة لكن بمعدلات متناقصة تدريجيا حسب كفاءة النظام المتبع من قبل الكائن المجهري .

$$(NO_3)^- + 2(H^+) + 2e^- \xrightarrow[NADH^+ \longrightarrow NAD]{2ADP \longrightarrow 2ATP} (NO_2)^- + H_2O$$

يحتاج هذا التفاعل $2e^-$

$$(NO_3)^- \longrightarrow (NO_2)^- \longrightarrow NO \longrightarrow N_2O \longrightarrow N_2\uparrow$$

يحتاج هذا التفاعل الى $8e^-$
عملية الدنترة denitrification

ليس جميع الانواع المستهلكة لجذر النترات بامكانها تحليله الى عناصره الاولية , بعضها باستهلاك ($2e^-$) لتحول النترات الى نتريت ونحصل على جزيئتين ATP من كل جزيئة كلوكوز واحدة , انواع اخرى لها القدرة على لاستمرار في استهلاك

المحاضرة السابعة

التنفس اللاهوائي و التخمر

التنفس اللاهوائي هو عملية سحب الكترونات (e^-) من المركب العضوي لتحرير الطاقة منه عندما يكون المستقبل النهائي للالكترونات مركبات معدنية من غير الاوكسجين , اي انها تفاعلات مزيلة للهيدروجين dehydrogenation reactions حيث يتم نقل ايونات الهيدروجين (H^+) من المركب المانح الى المركب المستقبل له , يرافق ذلك تحرير للطاقة والتي يتم استهلاكها في فعاليات الحيوية للخلية .

ان هذه العملية بديلة عن ماتقوم به انواع اخرى من البكتريا القادرة على اجراء الاكسدة بوجود الاوكسجين والذي يعتبر المستقبل النهائي للايونات . اما تلك الانواع البكتيرية القادرة على القيام بكليهما فيطلق عليها البكتريا اللاهوائية الاختيارية , ان سبب التباين فيما بين هذه الانواع الثلاثة هو في قدرة كل نوع من البكتريا المذكورة على انتاج نوعية انزيمات تتلائم والطريقة المتبعة في تنفسها .

تتنوع بدائل غاز الاوكسجين في التنفس اللاهوائي استنادا الى ماهو متوفر في الاوساط الزرعية وكذلك قدرة الكائن المجهري للاستفادة منه كمستقبلات نهائية للايونات الفائضة .

في مقدمة هذه البدائل هو جذر النترات (NO_3^-) وعند ذاك يطلق على هذه العملية باختزال النترات وفيه يتحلل الى نتريت او ربما اكثر الى اكاسيد نيتروجينية او الى غاز النيتروجين الجوي (N_2) يرافقها تحرير الطاقة لكن بمعدلات متناقصة تدريجيا حسب كفاءة النظام المتبع من قبل الكائن المجهري .

$$(NO_3)^- + 2(H^+) + 2e^- \xrightarrow[NADH^+ \longrightarrow NAD]{2ADP \longrightarrow 2ATP} (NO_2)^- + H_2O$$

يحتاج هذا التفاعل $2e^-$

$$(NO_3)^- \longrightarrow (NO_2)^- \longrightarrow NO \longrightarrow N_2O \longrightarrow N_2\uparrow$$

يحتاج هذا التفاعل الى $8e^-$

عملية الدنترة denitrification

ليس جميع الانواع المستهلكة لجذر النترات بامكانها تحليله الى عناصره الاولية , بعضها باستهلاك ($2e^-$) لتحول النترات الى نتريت ونحصل على جزيئتين ATP من كل جزيئة كلوكوز واحدة , انواع اخرى لها القدرة على لاستمرار في استهلاك

جامعة بغداد – كلية التربية (ابن الهيثم) – ١٩٢٣ م
University of Baghdad – College of Education (Ibn Al-Haitham) – 1923

النتريت و تستهلك ($6e^-$) اضافية لتحصل على طاقة اكثر ومحررة غاز N_2 الجوي , لكن هذه الطريقة (عملية الدنترة) ليست شائعة في البكتريا اللاهوائية لأن الناتج النهائي منها له تأثيرات سامة على معظم العمليات الحيوية في الخلية .

ان اختزال النترات من قبل البكتريا اللاهوائية في التربة, يقلل من خصوبة التربة و يقلل استفادة النبات من املاح النترات الموجودة في التربة , ويستدعي لاضافة الاسمدة لتعويض مايستهلك من املاح التربة .

هناك فئة اخرى من بكتريا لاهوائية وخاصة المجبرة منها مثل بكتريا *Clostridium sp.* تمتلك نظام متميز في استهلاك جذر الكبريتات $(SO_4)^=$ كمستلم نهائي للايونات الفائضة من عملية تحرير الطاقة, ينتج منها غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S, وفي هذه الحالة الكفاءة تكون اقل مما هي في عملية الدنترة , اذ يتم تحرير جزيئة ATP واحدة من كل جزيئة كلوكوز وتحتاج لذلك ($8e^-$) :

$$(SO_4)^= + (CH_3COO^-) + 3(H^+) \xrightarrow{ADP \rightarrow ATP} H_2S + 2CO_2 + 2H_2O$$

اختزال الكبريتات بوجود الخلات

$2H^+$ H^+

$(SO_4)^=$	$(S)^=$
عامل مؤكسد	عامل مختزل

حامض الفيوماريك (Fumaric acid) هو احد البدائل المستخدمة كبديل عن غاز الاوكسجين في التنفس اللاهوائي , ويتميز بقلة الكفاءة بانتاج جزيئات ATP من المادة الاساس , كذلك غاز CO_2 و اللذان ينتجان غاز الميثان عند استهلاكهما من قبل البكتريا اللاهوائية المجبرة و خاصة المتواجدة منها في التربة الطينية الخالية من الهواء , او في امعاء الحيوانات المجترة , او في خزانات المياه الثقيلة حيث تتوفر شروط البيئية للتنمية اللاهوائية المجبرة .

تتميز هذه الطريقة بقلة الطاقة المتحررة مقارنة بالطرق الاخرى , والعديد من هذه الكائنات المجهرية تستهلك جذر الكربونات $(CO_3)^-$ في آلية عملياتها الحيوية التي ينتج منها غاز الميثان :

$$(CO_3)^= + 2(H^+) + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 3H_2O$$

جذر حامض الكربونيك — غاز الميثان

ان البكتريا المنتجة لغاز الميثان تستهلك عادة مركبات تحتوي على طاقة عالية من الالكترونات , يساعدها ذلك في تحويل CO_2 الى CH_4 .

ايون الحديديك Fe^{3+} ايضا بامكان بعض انواع البكتريا في استهلاكه كبديل عن غاز الاوكسجين في نموها اللاهوائي وذلك باختزاله الى ايون الحديدوز Fe^{+2} .

ظروف نمو لاهوائية للبكتريا

$$Fe(OH)_3 \longrightarrow Fe(OH)_2$$

ان اي نظام او اكثر من هذه الانظمة اذا توفر في الكائن المجهري فيكون باستطاعته الاستفادة منه في تحرير الطاقة بانتاج جزيئات ATP جديدة , لكنها تتميز بقلة كفائتها مقارنة بالانواع الاخرى باستهلاكها لكل مول من المادة الاساس المستهلكة فيها , علما في حالة وجود الاوكسجين او المستقبلات المثبتة للاوكسجين فأنه لاوجود لهذه الانظمة في الخلية .

هناك العديد من الدراسات حول هذا الموضوع في الوقت الحاضر لتفسير سبب موت الخلايا بوجود الاوكسجين والظروف المؤثرة في ذلك , لذا هناك عدة نظريات تحاول تفسير هذه الظاهرة , وادناه بعض منها الاكثر قبولا :

1 – للاوكسجين تأثير سام قاتل او سام غير قاتل للخلايا

2 – ينتج الكائن بوجود غاز الاكسجين بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والذي له تأثير سام على الخلايا خاصة تلك التي لاتكون انزيم الكاتاليز Catalase وقد يكون سام غير قاتل ايضا .

3 – حاجة بعض الانواع من الكائنات المجهرية الى جهد واطئ من الجهد التأكسدي – الاختزالي , لذا بوجود الاوكسجين حيث يتوفر جهد تأكسدي – اختزالي عالي يمنع نمو هذه الكائنات , الا اذا كانت المادة المانحة لهذا الجهد (substrate) ذات جهد واطئ , فقد يحدث النمو بوجود الاوكسجين .

من ذلك نجد ان الكائن لايستطيع النمو بوجود الاوكسجين , لكن التعرض له لايمنعه من اعادة النمو عندما يتم ازالة الاوكسجين من الوسط . ايضا يمكن القول بأن H_2O_2 يمنع نمو الكائن المجهري عندما يكون موجودا في الوسط .

$$H_2O_2 \leftrightarrow H_2O + O^{=}$$

من كل ذلك يمكن ترشيح النظرية الثالثة كونها اكثر قبولا لنمو الكائن اللاهوائي المجبر في الوسط حيث قيمة الجهد التأكسدي – الاختزالي السائد في الخلية .

التخمـــــــر Fermentation :

عملية التخمر تقوم بها بعض خلايا البكتريا والخمائر لتحرير الطاقة من الغذاء , حيث تتم في اجواء خالية من الاوكسجين , وهي جزء من عملية التنفس اللاهوائي وتتميـــز بعدم وجود مستقبل نهائي خارجي للالكترونات الفائضة .
السكر هو مادة الاساس للتفاعل في العديد من عمليات التخمر حيث يؤدي الى انتاج الايثانول وحامض اللاكتيك و غاز الهيدروجين عادة بالاضافة الى حامض البايروفيك .
هناك نواتج اخرى تنتجها مجاميع معينة من الكائنات المجهرية مثل حامض البيوتيريك Butyric acid و الاسيتون Acetone وحامض الخليك Acetic acid وغيرها في حين تقوم الخمائر عادة بعملية التخمر مكونة كحول الايثانول في عمليـــة انتاج المشروبات الكحولية او بعض الحوامض العضوية حيث يرافقها تكون غاز CO_2 ايضا .
تختلف آلية التخمر عادة باختلاف نوع السكر المستخدم في عملية التخمر , عند استخدام سكر الكلوكوز فأن كحول الايثانول (C_2H_5OH) يكون هو الناتج النهائي مـــن العملية .

$$\underset{\text{سكر كلوكوز}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{كحول الايثانول}}{2C_2H_5OH} + 2CO_2 \uparrow + \underset{\text{طاقة}}{2ATP}$$

ان عملية التخمر يعتقد بأنها اول طريقة وجدت في الطبيعة لانتاج الطاقة في الكائنات البدائية الاولية في اول ظهور للحياة في الطبيعة , حيث كان تركيز غاز الاوكسجين عاليا في الجو (ذات جهد تأكسدي - اختزالي عالي) وبشكل لايلائم الكائـــن الحـــي لاستخدامه كما هـــو الان .

ان النواتج الوسطية لعملية التخمر تحتوي عادة على جزء من الطاقة الكيميائية , لعدم اكسدتها بشكل كامل , لكنها عادة تبقى على حالها لعدم امكانية استهلاكهـــا اكثر مالم يتوفر غاز الاوكسجين أو بدائله من العوامل المؤكسدة المستقبلة للالكترونات ليتم تحرير كامل الطاقـــة المتبقيـــة فيهـــا .
كذلك فأن انتاج جزيئات ATP خلال عمليات التخمر تكون أقل كفاءة مما هي في عمليات الفسفرة التأكسدية (Oxidative – phosphorylation) عندما يتأكسد

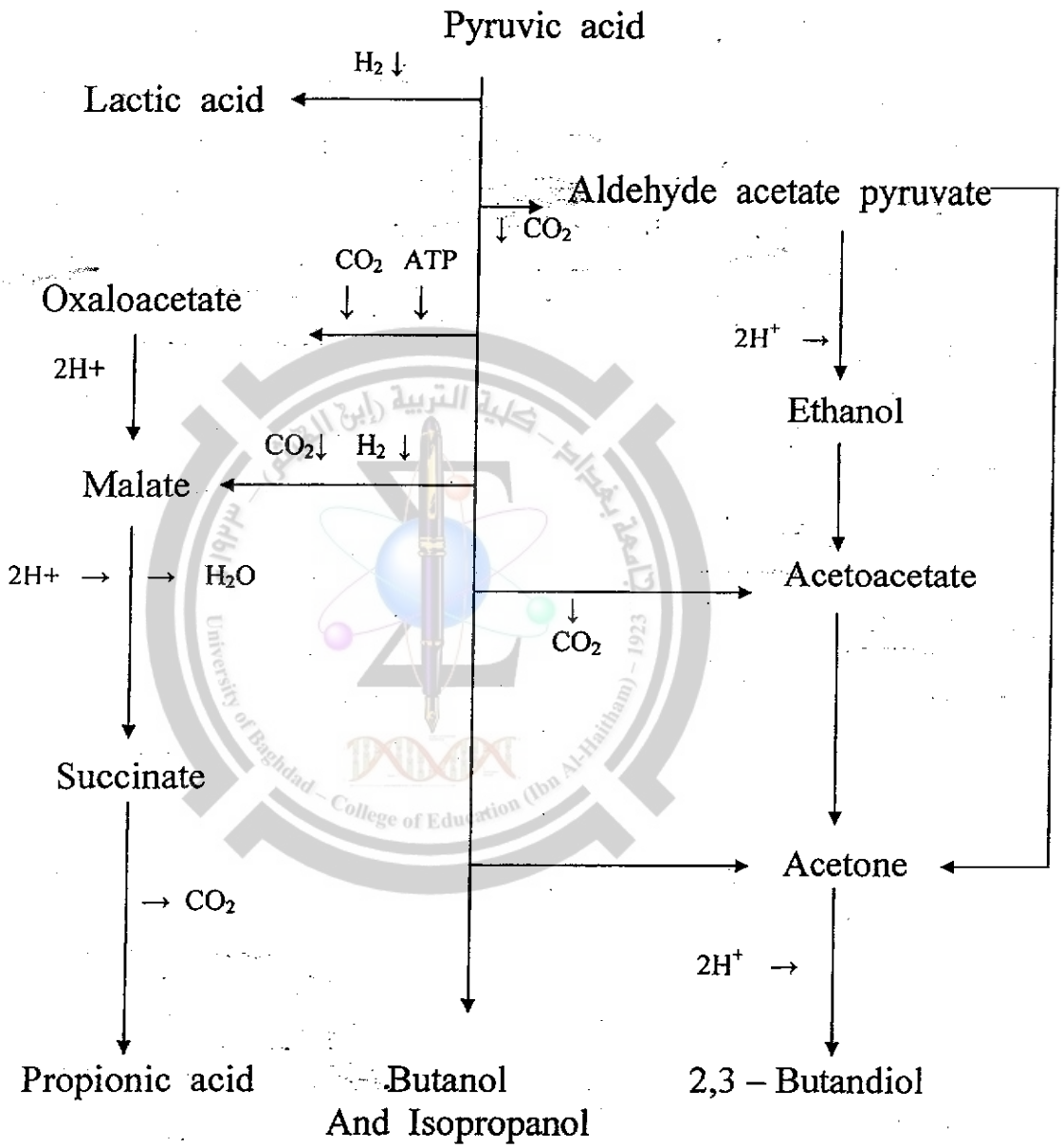
كل حامض البايروفيك الى غاز CO_2 (تنفس هوائي) , من عملية التخمر تتكون جزيئتين ATP من كل جزيئة كلوكوز مقابل 36 جزيئة ATP من كل جزيئة كلوكوز في التنفس الهوائي .

ان نواتج عمليات التخمر تتوقف عادة عند بعض المركبات الوسطية , والتي تحتاج الى توفر غاز الاوكسجين لاتمام عملية التأكسد . علما ان هذه المركبات تتكون اثناء اختزال حامض البايروفيك لتكوين NAD^+ , الذي تحتاجه الخلية لأتمام عمليات تحرير الطاقة .

من المركبات الوسطية التي تكونها خلايا البكتريا ,مادة الخل (1) (حامض الخليك) , الذي يتكون في جميع فعاليات البكتريا المخمرة , وحامض اللاكتيك (2) من تخمر سكر اللاكتوز في الحليب ,علما ان الخمائر تكون من عملية التخمر جزيئتين من كحول الايثانول وجزيئتين من ثاني اوكسيد الكاربون من كل جزيئة كلوكوز , وهو مايحصل في عملية تخمر الخبز والمعجنات والمخللات وغيرها. وفي المخطط التالي يوضح اهم الاتجاهات المتبعة في انواع خلايا البكتريا في تكوين المركبات الوسطية :

تكوين المركبات الوسطية

عمليات التخمر الاساسية
انطلاقا من البايروفيت :



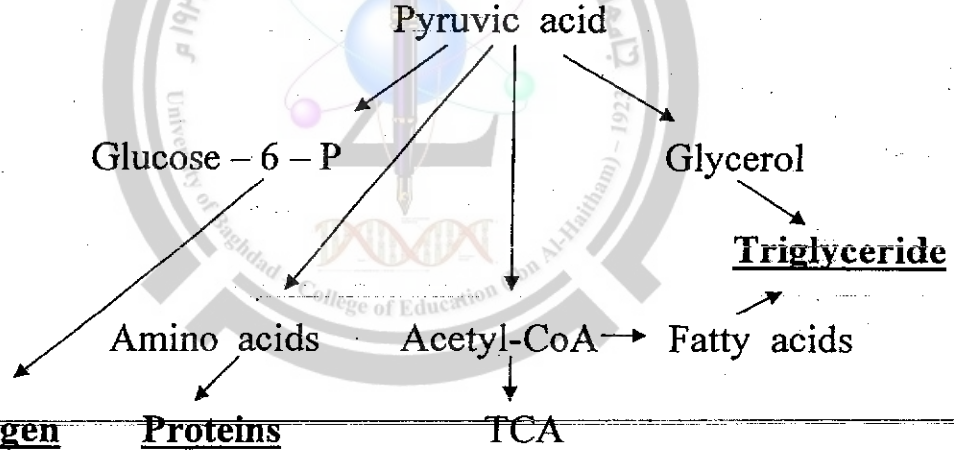
جامعة بغداد – كلية التربية (ابن الهيثم) – ١٩٢٣ م
University of Baghdad – College of Education (Ibn Al-Haitham) – 1923

العمليات الحيوية البنائية
Anabolism

تقوم خلايا الكائنات المجهرية كما في بقية الكائنات الحية بعمليات حيوية متخصصة في صنع جزيئات كبيرة معقدة لمركبات عضوية كثيرة , لتشترك في عملية تكوين اجزاء جديدة في جسم الخلية , يطلق عليها بالعمليات الحيوية البنائية anabolism .
الهدف منها توفير اجزاء جديدة ضمن مكونات الخلية تتلائم مع عملية نمو الخلية وانقسامها الى خليتين بهدف النمو و التكاثر .

هذه العمليات هي في الحقيقة مكملة للعمليات الهدمية التي توفر طاقة كامنة في الخلية لتستهلكها في بناء الجزيئات الكبيرة , وهي بذلك تلبي الاحتياجات الحيوية للخلية مستندة على مايمكن للخلية أن توفره من مستلزمات هذه العمليات من مواد اولية وانزيمات وطاقة كامنة على شكل ATP عادة .

المخطط ادناه يوضح: المسارات الرئيسية للعمليات البنائية في الخلايا:

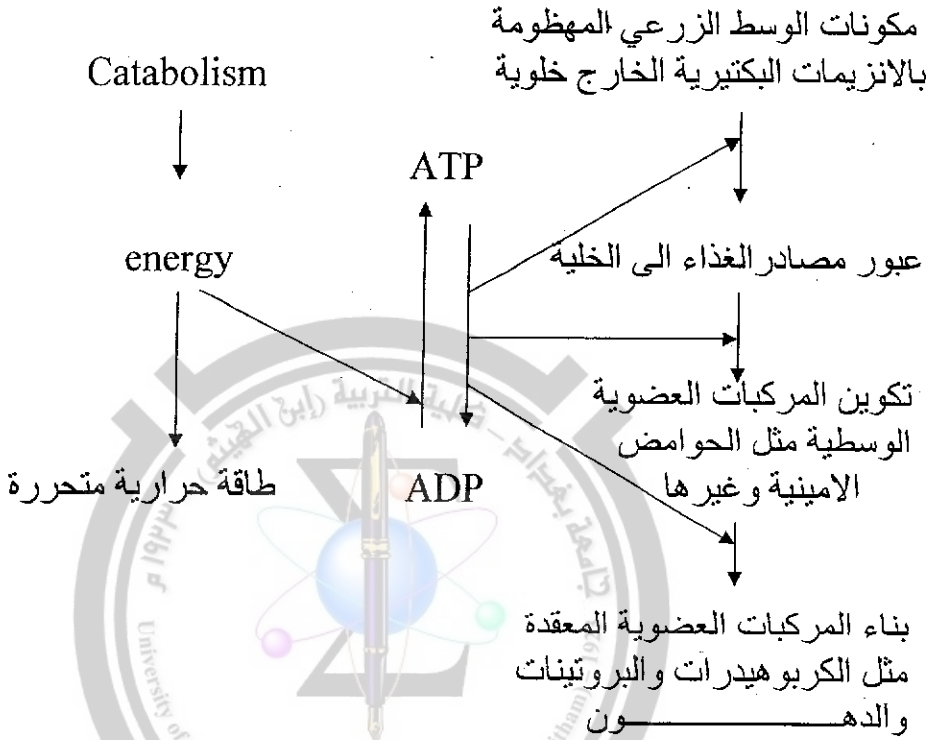


لذلك يمكن تتبع تكوين اجزاء الخلية البكتيرية من المركبات اعلاه كما يأتي :

inclusion , capsule , cell wall , RNA , DNA : Glycogen
capsule , pilli , flagella , envelop , enzymes : Proteins
Peptidoglycan , cytoplasm , polyribosome
Nucleoid , RNA , DNA
capsule , envelop , lipopolysaccharide (LPS) : Lipid

جامعة بغداد – كلية التربية (ابن الهيثم) – ١٩٢٣ م
University of Baghdad – College of Education (Ibn Al-Haitham) – 1923

ومن خلال الطاقة المتحررة في العمليات الهدمية يتم بناء الجزيئات الكبيرة كالآتي :



بناء المركبات الكربوهيدراتية :

في كائنات ذاتية التغذية هناك طرق متعددة في بناء جزيئة مركب عضوي بسيط مثل السكر الثلاثي ويكون ذلك :

1 – باستخدام الطاقة الضوئية لتحويل جزيئة CO_2 الى سكر ثلاثي مفسفر (التركيب الضوئي) :

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{ATP \rightarrow ADP} Triose - P + O_2$$

2 - باستخدام الطاقة الكيميائية المتحررة من أكسدة مركبات عضوية أو معدنية وبغياب الضوء (التركيب الكيميائي) :

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{ATP \rightarrow ADP} Triose - P + \text{مركب معدني}$$

كائنات ذاتية التغذية بامكانها استهلاك مصادر كربونية معدنية متعددة , ولكـن افضلها في هذا المجال هو غـاز ثاني اوكسيد الكربون .
في كائنات مختلفة التغذية (غير ذاتية التغذية) لها القدرة على استهلاك مصـــادر كربونية متنوعة وحسب النمط المتبع من قبلها في طريقة الحصول على الغذاء, فضلا عن قدرتها في انتاج الانزيمات اللازمة لعملية تحليل مكونات الغذاء واعـادة بنائها , بعضها قد تستهلك مركبات ذات ذرة كربون واحدة مثل CH_4 و CH_3OH , أو ذرتي كربون مثل CH_3CH_2OH وغيرها .

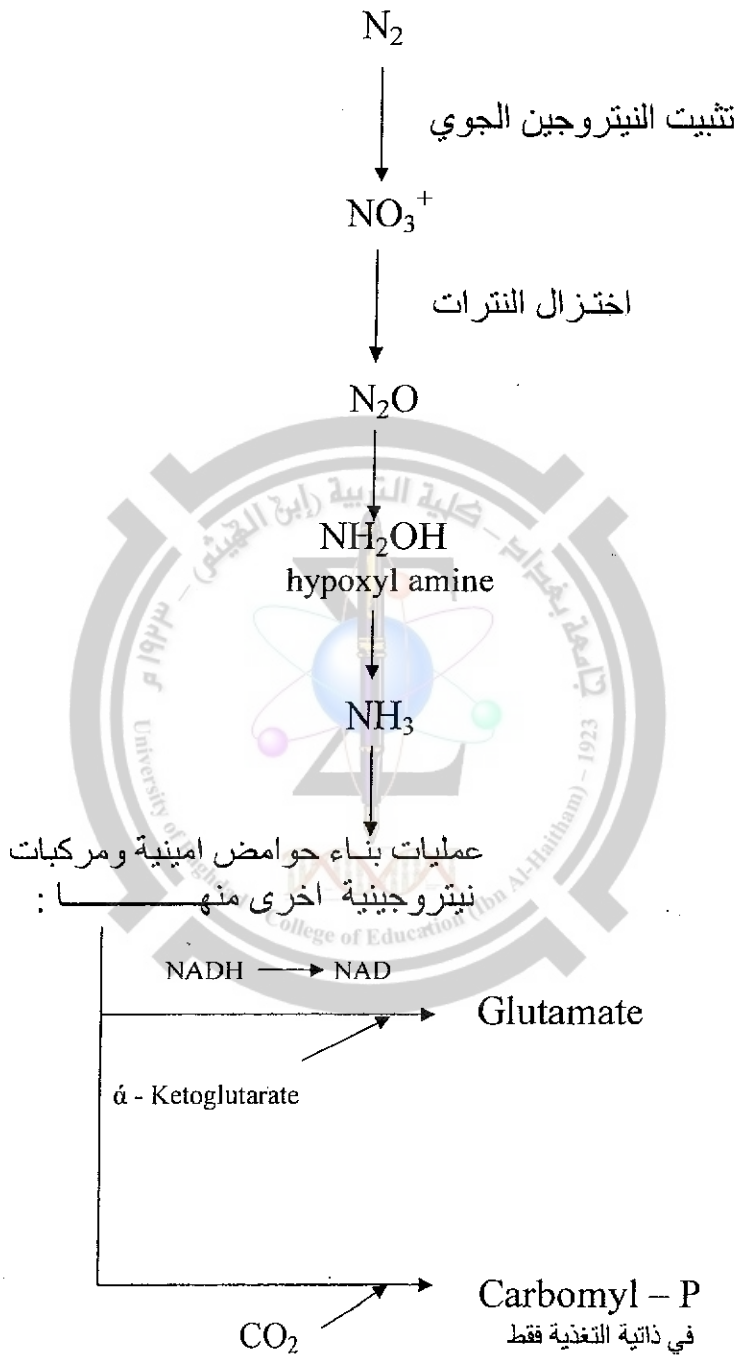
بعض كائنات مختلفة التغذية تقوم باستهلاك انواعا من الحوامض العضوية كمصدر للكربـون مثـل : fumaric acid , malic acid , oxalic acid وغيرها.

بنـاء المركبات البروتينية :
عنصر النيتروجين من أهم العناصر المكونة للبروتينات بعد عنصر الكـربون , ويوجد في الجـو بتركيز 80% لكنـه بصورة لايمكن للكائـن الحي استهلاكـــه الا اذا كان على شكل مركب كيمياوي .
أن مصادر النيتروجين في الطبيعة عديدة حسب الحالـه الكيميائية التي هو فيها, فهو يتحول من غاز N_2 جوي الى مركب كيمياوي خلال عملية تثبيت النيتروجين في التربة والتي قد تكون طبيعية (عند حدوث البرق و المطر) أو أن تكون حيوية امـا تعايشيـة في عقد جذرية , أو لاتعايشية في البكتريا الحرة في التربة .

المركبات التي يدخل النيتروجين في تركيبها قد تكون اكاسيد او املاح أو حوامض نيتروجينية منها بسيطـة التركيب مثل النتريت والنترات والحوامض الامينيـــة أو الامونيا وغيرها, الحوامض الامينية تعتبر الوحدات الاساسية لتكوين جزيئة البروتين واعداد الشائع منها في خلايا البكتريا هو عشرون حامض اميني , جميعها من نوع الفا – بروتين وصيغتها الكيميائية :

$$\begin{array}{l} COOH - CH - R \\ \quad\quad\quad | \\ \quad\quad NH_2 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \quad\quad O \quad\quad H \\ \quad\quad || \quad\quad | \\ HO - C \quad - \quad C - R \\ \quad\quad\quad\quad\quad | \\ \quad\quad\quad\quad NH_2 \end{array}$$



تثبيت عنصر النيتروجين واستهلاك مركباته في الخلية الحية

تتباين الحوامض الامينية فيما بينها كلما تغير تركيب الجذر الكيمياوي (R) , وقد قسمت هذه الحوامض الى مجموعتين اساسية و ثـانويـة :

الحوامض الامينية الاساسية هـي :

Tryptophan , Lysine , Arginine , Histidine , Valine , Threonine , Methionine , Leucine , Isoleucine , Phenylalanine

الحوامض الامينية الثـانوية هـي :

Aspartate , Asparagine , Glutamate , Glutamine , Proline , Glycine , Cysteine , Alanine , Serine , Tyrosine .

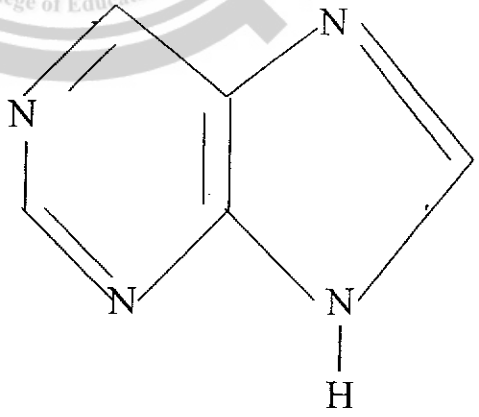
عنـد بنـاء الحوامض الامينية في الرايبوسومات , يتـم اتبـاع مسارات ايضيـة متعددة منـها :

آ – لتكوين مجموعة Glutamate يتم اختزال جـذر الامين α- Ketoglutarate

ب – لتكوين مجموعة Aspartate يتم نقـل جـذر الامين من Oxaloacetate .

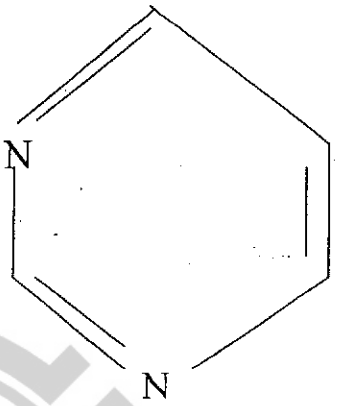
وعندها تتكون الجزيئات الكبيرة ذات الطبيعة البروتينية مثـل الانزيمات والحوامض النووية RNA و DNA وغيـرها من جزيئات صغيـرة متبلمرة لحوامض امينية خلال نظام دقيق في الرايبوسومات تتحكـم بـه عوامل وراثيـة وعوامل بيئيـة مع توفيـر الطاقة اللازمة لذلـك .

آ – جزيئة البيورين Purine تتكـون من سكـر Ribose – P مع الحامض الامينـي Glycine كمصـادر للكربون والنيتروجين :



جزيئة Purine

ب – جزيئة البريميدين Pyrimidine فتتألف من Ribose – P مع مركبات وسطيـة مثـل Carbomyl – P :



جزيئـة Pyrimidine

بنـاء المركبات الدهنيـة :

تتكـون الدهـون من خلال مسارات ايضية متعددة من مجموعتين , الاولى عبارة عـن Glycerol مشتقـة من حامض البايروفيك , بينمـا تكـون المجموعة الثـانية عبارة عـن حوامض دهنيـة , وهي مشتقـة من Acetyl – CoA , ومـن خلال اتحادهما يتكون المركب الدهني Triglyceride .

تتميـز جزيئة الحامض الدهني باحتوائها على ترتيب للـذرات بشكل متناظر و متعدد وتتميـز باحتوائها على طاقـة مخزونة عالية . تشارك الدهون في بناء معظم اجزاء الخلية وباشكال و حالات عديدة , اما الفائض منها فيمكن خزنه كقطيرات دهنية في الفجوات الخلوية في السايتوبلازم .

Glutamic acid
حامض اميني

Decarboxylation → Aminobutyric acid

Dehydrogenase → α – Ketoglutaric acid
NAD → NADH
H_2O → NH_3

transaminase
oxaloacetic acid → ά- Ketoglutaric acid + Aspartic acid

اما عمليات بناء الحوامض الدهنية في الخلية فيتم من خلال مسارات ايضية متخصصة مبتدئة من مركب Acetyl – CoA , مثال على ذلك بناء الحامض الدهني Palmitic acid كما يأتي :

$$CH_3 - (CH_2)_{12} - CO - CH_2 - CO - S - CoA$$

↓ تفاعل اختزالي

$$CH_3 - (CH_2)_{12} - CHOH - CH_2 - CO - S - CoA$$

↓

$$CH_3 - (CH_2)_{12} - CH = CH - CO - S - CoA + H_2O$$

↓ تفاعل اختزالي

$$CH_3 - (CH_2)_{12} - CH_2 - CH_2 - CO - S - CoA$$

↓ تحلل مائي

$$CH_3 - (CH_2)_{12} - CH_2 - CH_2 - COOH + HS - CoA$$

↓

$$CH_3 - (CH_2)_{14} - COOH$$

Palmitic acid

رابعا : الضغط الجوي

تأثير الضغط الجوي هو تأثير فيزيائي يتمثل بقوة ضاغطة على كل اجزاء الخلية السطحية والداخلية, ويبدو ان خلايا البكتريا قد تكيفت في بيئات مختلفة وبدرجات متفاوتة حسب نوعها على تحمل الضغط الجوي ولكن الى حدود معينة بعدها تتهشم الخلايا الى الداخل, وهناك انواع من خلايا البكتريا قد تكيفت على الضغط القليل وتتواجد في المناطق الجبلية, وانواع اخرى على العكس نجدها في اعماق البحار حيث يزداد الضغط الخارجي كثيرا .

ان لزيادة الضغط علاقة مباشرة بدرجة الحرارة التي تتناسب طرديا مع الضغط , لذلك نجد ان الخلايا المتكيفة مع زيادة الضغط قد تكيفت ايضا مع تحمل ارتفاع درجات الحرارة , وهو مايشير الى وجود متغيرات في الخواص الفيزيائية والكيميائية لمكونات خلية البكتريا وهو مايبرر تحملها ميكانيكيا عند زيادة الضغط وكيميائيا عند زيادة درجة الحرارة , واذا تجاوز التأثير حدود التحمل فيؤدي الى تلف وتغيير في طبيعة بروتين الخلية ومكوناتها الاخرى لجدار الخلية والذي يؤدي الى موتها .

خامسا : الجاذبية الارضية

تتأثر الاحياء المجهرية بالجاذبية الارضية , لكنها لايمكن ملاحظتها بسهولة لتداخل تأثيرها مع المؤثرات البيئية او التركيبية الخلوية .

في الفطريات يمكن ان نلاحظ هذه الظاهرة من خلال نمو حاملات الابواغ نحو الأسفل .. في حين هناك انواع اخرى تنمو حاملات الابواغ فيها نحو الاعلى باتجاه مصدر الضوء لان تأثير الاضاءة يبدو اكثر وضوحا على الخلية من تأثير الجاذبية الارضية عليها .

في الابتدائيات والطحالب لايبدو تأثير الجاذبية الارضية عليها واضحا لقلة الدراسات حول هذا الموضوع ... وقد افترض ان سبب انتشار الاميبا الحرة في ترسبات قعر المسطحات المائية هو بتأثير الجاذبية الارضية ...في حين الانواع الاخرى ذات القدرة على السباحة مثل السوطيات والهدبيات فيمكن ان نصادفها عادة قريبة من السطح العلوي للمسطحات المائية.

3 - في مجال التعقيم تستخدم اشعة كاما لقابليتها على النفاذ في الاجسام المعرضة للاشعاع ولعمق (1 – 2) سم , يليها اشعة X التي لها القابلية للنفاذية اقل من أشعة كاما في حين تستخدم اشعة الفا وبيتا لتعقيم سطوح الاجسام الصلبة لضعف امكانية اختراقها للاجسام .

من الملاحظ ان السبورات البكتيرية الداخلية endospores اكثر مقاومة لتأثير اشعة كاما من بقية اجزاء الخلية, وهناك بعض انواع الخلايا الخضرية القدرة على مقاومة تأثير الاشعاع لوجود بعض الانزيمات التي تساعد في اصلاح التلف الحاصل بتأثير التعرض للاشعاع مثل خلايا بكتريا *Micrococcus radiodurans* .

ثالثا : الضغط الاسموزي

ويتمثل بالضغط المسلط لانتشار الماء والمواد المذابة من والى الخلية مع محيطها الخارجي, وبذلك فهو يأثر بشكل مباشر على فعالية الخلايا البكتيرية, وعموما نجد ان معظم انواع البكتريا قد تكيفت مع الضغط الاسموزي الواطئ (بكتريا المياه العذبة , او الغير اليفة للملوحة), في حين هناك انواع اخرى قد تكيفت للضغط الاسموزي العالي (بكتريا المياه المالحة, او الاليفة للملوحة) .

ان عملية التحكم بالنفاذية بين الخلية ومحيطها الخارجي يقوم بها الغشاء السايتوبلازمي, وتقوم الخلية بجعل مقدار الضغط الداخلي فيها دائما اكبر مما هو خارجها لأن عكس ذلك يؤدي الى فقدان الماء وبالتالي توقف النمو في الخلية وربما موتها .البكتريا الأليفة للملوحة العالية Halophilic bacteria تتميز بقدرتها على النمو في الاوساط المالحة حيث يتوقف نمو الانواع الاخرى , اما اذا استبدل الملح بالسكر فأن نموها يتذبذب ويتراجع .

تقسم هذه المجموعة من البكتريا الى فئتين هما :

- المتكيفة للملوحة .... وهي القادرة على تحمل تراكيز ملحية في الوسط لغاية 20 % من NaCl .
- المتحملة للملوحة ....وهي التي لاتنمو في اوساط يقل فيها تركيز الملوحة عن 15 % من NaCl, وبأمكانها النمو في اوساط لغاية تركيز 31 % من الملح .

تفسير هذه الظاهرة باحد الاحتمالين :

- نوعية بروتين الخلية تساعد في مقاومة التأ ثير المثبط للملح عليه .
- نوعية انزيمات الخلية تحتاج الى تراكيز ملحية عالية لتنشيطها كيميائيا .

المحاضرة الثـامنة

في هذا المجال نجد ان طاقة الطول الموجي A^{o} 2800 هي الموجات التي تمتص طاقتها جزيئة DNA في الخلية فتؤدي اما الى حدوث طفرة وراثية في الخلية او الى موت الخلية استنادا الى كمية الجرعة, حيث ان التغيير في جزيئة DNA قد يكون في تجزأ جزيئة الثيامين Thiamine او في تكوين اواصر جديدة في بروتيـــن جزيئة DNA .

هناك العديد من انواع الخلايا لها امكانية اصلاح الخلل الحاصل عند تعرضهـا للاشعاع , بالتعرض مباشرة اما الى مصدر ضوئي اعتيادي ,او للظلام .... عند تعرضها للضوء الاعتيادي تستعين الخلية بوجود انزيم يسمـــــى Photo reactivation enzyme , والذي يقوم بقطع اواصر الثيامين المتأثرة وعمـل سلسلة جديدة من جزيئة DNA خالية من الاجزاء التالفة بالاشعاع. وفي حالـــة تعريض الخلية الى الظلام فيتم حفظ الخلايا المصابة في محل مظلم حيث يتـــم اصلاح الخلل ولكن ليس بشكل كامل , كما ان جزيئة DNA لاتعود بالضبط كما كانت الاشعة المرئية لها تأثيرات واضحة على الخلايا الحية وذلك من خلال:

1 – توفير الطاقة لعملية التركيب الضوئي .
2 – حث الكائن المجهري للاقتراب او الابتعاد عن مصادر الضوء .
3 – تحفيز معظم الفطريات على تكوين سبوراتها .
4 – تأثير قاتل للكائنات المجهرية .

الكائنات المجهرية مختلفة التغذية لاتحتاج الى مصدر ضوئي , وبعض الفطريات تنطلق فيها عملية التكاثر الجنسي او تكوين السبورات عند تعرضها للاشعاعات فوق البنفسجية او اشعة ذات اللون الازرق , كما تتأثر عملية تكوين الصبغات في الاحيـاء المجهرية عند تعرضها للضوء , وقد لاتتكون الصبغات عند تنمية الخلايا في الظلام . ان الصبغات الموجودة تحت الغشاء الخلوي تقوم بامتصاص الاشعة مستفيدة من المستقبلات Photoreceptore, ولكل صبغة امكانية امتصاص طاقة الاشعة لموجات ذات أطوال محددة .

طرق استخدام تأثيرات الاشعاع على الخلايا الحية :

1 - تأين بعض مكونات الخلية وتغيير طبيعتها الكيميائية, فتؤدي الى تكوين ايونات و جذور حرة ينتج عنها تكون مركبات كيميائية جديدة غير مرغوبا بها في الخلية , فتؤدي الى موت الخلايا .
2 – التأثير القاتل لهذه الاشعة على خلايا الاحياء المجهرية جعلها مناسبة في استخدام اشعة U.V في تعقيم هواء مختبرات التحليلات الطبية وقاعات المختبرات البحثية وايضا الادوات وصالات العمليات الجراحية وغيرها على ان يتم تحديد كمية ومدة جرعة الاشعاع .

ثانيا : الاشعاع

هي عبارة عن موجات كهرومغناطيسية تتحرك بسرعة الضوء وتتناسب طاقتها طرديا مع عدد الذبذبات وعكسيا مع طول موجتها, تفقد طاقتها عند الاصطدام بالاجسام التي تكتسب تلك الطاقة .

يقاس الطول الموجي للاشعاع بوحدات قياس هي :

nm نانومتر 1 = 10^{-9} من المتر

A° انكلستروم 1 = 10^{-10} من المتر

اشعة الشمس هي المصدر الرئيسي للاشعاع الذي تتعرض له الخلايا الحية , وتنقسم هذه الاشعة الى ثلاث فئات , هي :

1	الاشعة الايونية او الموجات المايكروية Ionizing radiation (microwave)	اشعة كاما اشعة الفا اشعة بيتا (اشعة U.V فوق البنفسجية)	طول موجاتها قصير وتحمل طاقة عالية
2	الاشعة المرئية Middle wave	Visible light الضوء الممكن رؤيته من قبل الانسان (قوس وقزح) Spectrum of rainbow colores	طول موجاتها متوسط وتحمل طاقة معتدلة
3	الاشعة تحت الحمراء Long wave	I . R . rays (infra red)	طول موجاتها كبير وتحمل طاقة قليلة

ان الطاقة المحمولة على الاشعة المرئية تعتبر معتدلة و بالامكان لجميع الكائنات الحية تحملها وكذلك طاقة لاشعة تحت الحمراء والتي تعتبر طاقتها ضعيفة وغير مؤثرة على الخلايا الحية,اما الطاقة المحمولة على الموجات القصيرة (اشعة فوق البنفسجية) فهي كبيرة ومؤثرة على الخلايا الحية, وتعتمد درجة تحمل الخلايا للاشعاع على كمية الجرعة المتمثلة بـ :

- طول موجة الاشعة
- مدة التعرض للاشعة

الاشعة الايونية Ionizing radiation وهي الموجات المايكروية ذات الطاقة العالية, تسبب تأ ين الجزء الذي يمتصها وخاصة جزيئات الماء التي تتأين كالاتي :

$$H_2O \rightarrow (H_2O)^+ + e^-$$

$$H_2O + (H_2O)^+ \rightarrow (H_3O)^+ + (OH)^-$$

$$2H_2O \longrightarrow (H_3O)^+ + (OH)^- + e^-$$

3 – تغيير في مكونات الجدار الخلوي من الحوامض الدهنية بما يساعد الخلية على تحمل الحرارة العالية, فقد وجد ان زيادة تحمل الخلية يرافقه زيادة الحوامض الدهنية المشبعة والتي عند انخفاض درجة الحرارة تتحول الى حوامض دهنية غير مشبعة ... في تجربة اجريت على خلايا *E. coli* تم قياس كمية الحوامض الدهنية المشبعة والغير مشبعة فيها عند تنميتها في درجتين حراريتين مختلفتين حيث كانت النتائج :

Fatty acids	10°C	45°C
Saturated fatty acids	3.9	7.7
Unsaturated fatty acids	26	9.2

علما ان درجة ذوبان الدهون تتناسب طرديا مع درجة تشبعها .... لذلك فأن تغير درجة ذوبان الدهون في الخلية مع تغير درجة الحرارة له اهمية كبيرة للخلية وعلى درجة سيولة المواد خارج الخلية, فتتحكم الخلية بمكونات جدارها الخلوي من الاحماض الدهنية بما يساعدها على استمرارية عملية التنافذ بين الخلية والوسط, ولكن درجة التحمل هذه لها حدود معينة.

امثلة على الفئات الثلاث :

المجموعة	البكتريا	درجة الحرارة الدنيا °م	درجة الحرارة المثلى °م	درجة الحرارة العليا °م
اليفة للحرارة المنخفضة	*Pseudomonas fluorescens*	8–	20	37
=	*Candida scottii*	0	15 – 4	15
=	*Chlamydomonas nivalis*	36–	0	4
اليفة للحرارة المعتدلة	*E. coli*	10	37	45
=	*Streptococcus faecalis*	0	37	44
=	*Neisseria gonorrhoeae*	30	36	38
اليفة للحرارة العالية	*Bacillus stearothermophilus*	30	55	75

بعض المصطلحات ذات العلاقة :

Slow cooling	تبريد تدريجي
Fast cooling	تبريد صاعق (cold shock)
Chilling	تبريد قريب من درجة الانجماد
Freezing	تجميد قريب من درجة الانجماد
Fast freezing	تجميد صاعق
Slow freezing	تجميد تدريجي

ان الاختلاف بين الفئات الثلاث هو التنوع في الطبيعة البروتينية للانزيمات والتراكيب الخلوية الاخرى , فقد وجد امتلاك رايبوسومات خلايا الفئة الاليفة للحرارة المنخفضة (الفئة الاولى) لنوع معين من البروتينات اطلق عليها العامل البروتينتي Protein – factor والذي ينشط عند زيادة برودة الوسط حيث يساعد في بناء البروتينات الضرورية لبناء الخلايا , وعند ازالته من الخلية تفقد تلك الخلايا قدرتها على النمو في الدرجات الحرارية الواطئة .

الفئة الثانية (الاليفة للحرارة المعتدلة) لوحظ تأثرها عند انخفاض او ارتفاع درجات الحرارة عن معدلاتها المتوسطة , عند التبريد وجد ان جميع الخلايا تتعرض للموت عند تعرضها للتبريد المفاجئ, مثلا من +36 لغاية +4 او الصفر المئوي خلال بضعة ثواني او اقل من خمسة دقائق , حيث وجد ان 95% من هذه الخلايا تموت حالا, اما اذا كان التبريد تدريجيا لنفس درجات الحرارة اعلاه, فقد وجد ان معظمها تتكيف مع انخفاض الحرارة وتبقى حية.

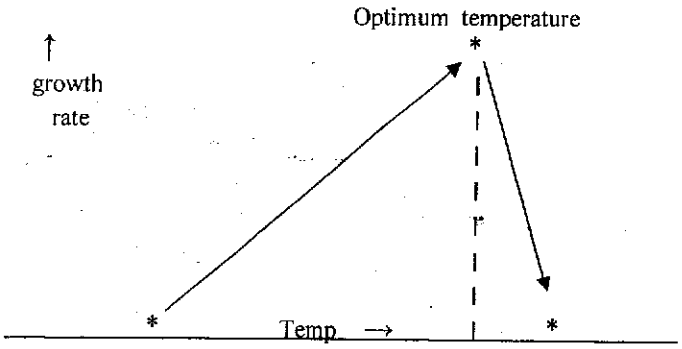
في حالة تعرض الخلايا للانجماد , وجد ان خلايا الاليفة للبرودة ليس لها حدود واضحة للتحمل, اما خلايا الفئات الاخرى (الاليفة للحرارة المتوسطة اوالعالية) , فتموت بسبب :

1 – تكتل البروتين الخلوي وخاصة في درجات الانجماد القريبة من الصفر المئوي (- 2 °م مثلا).
2 – تكون البلورات الثلجية في الماء الحرفي الخلية وعند زيادة حجمها تؤدي الى انفجار الخلية, في بعض الانواع قدرة اكبر على تحمل الانجماد من خلال تحمل تمدد البلورات الثلجية لوجود مركبات عضوية ساندة للخلية في منع انفجارها .

في حالة ارتفاع درجات الحرارة يكون لها تأثير سلبي ايضا على البكتريا الاليفة للحرارة المعتدلة, فقد وجد مثلا عند تعرض خلايا *E. coli* و*Bacillus subtilis* لدرجة حرارة 60 °م لمدة ثمانية دقائق تؤدي الى تغيير الطبيعة البروتينية لهذه الخلايا بنسبة 60 % .

الفئة الثالثة (الاليفة للحرارة العالية) تنتشر في بيئات مختلفة متميزة بارتفاع درجة حرارتها مثل الينابيع الحارة وغيرها , وقد فسرت بعدة فرضيات منها :

1 – اتحاد ايونات لبعض العناصر مثل Ca^{++} و Mg^{++} و Mn^{++} وغيرها مع الجزيئات الكبيرة في الخلية مكونة مركب معقد (بروتين- RNA) الذي يعزى له قدرة الخلايا على تحمل الحرارة العالية.
2 – تغيير في تركيب بروتين المشارك في تركيب الجدار الخلوي وذلك بتغيير مواقع واشكال الجزيئات المتبلمرة من الحوامض الامينية بما يساعد الخلية على تحمل الحرارة العالية .



عند اجراء اختبار لتحديد المدى الحراري لنمو الكائنات المجهرية, يتم تلقيحها لوسط زرعي سائل وحفظها في درجات حرارية مختلفة مثل (– 5 والصفر المئوي و 4 و 20 و 28 و 37 و 45 و 55)°م , وتقرأ معدلات سرعة النمو لكل منها في فتـــرات متتالية تفصل بينها 3 ساعات ولغاية 24 ساعة, تتوزع في ثلاثة مجاميع هي:

1 – اليفة للحرارة المنخفضة Psychrophil , التي تنمو مابين (– 5 و + 20)°م
2 - اليفة للحرارة المتوسطة Mesophil , التي تنمو مابين (15 و 40)°م
3 - اليفة للحرارة العالية Thermophil , التي تنمو مابين (35 و 55 <)°م

Ps.	درجة حرارة الثلاجة و المجمدة
Me.	درجة حرارة الغرفة و جسم الانسان
Th.	درجة حرارة البسترة و الينابيع الحارة

نطاق درجة حرارة نمو الاحياء المجهرية , ويلاحظ عدم قدرة اي منها في النمو ضمن جميع درجات الحرارة .

العوامل الفيزيائية المؤثرة على النمو

ان نمو وتكاثر الكائنات المجهرية هي واحدة من اهم صفات هذه الكائنات, ويحدث ذلك نتيجة لتبادل المواد والطاقة بين هذه الكائنات ومكونات الوسط المغذي او عناصر البيئة المحيطة بها, وللكائن الحي المجهري عوامل داخلية ذاتية تتحكم بعملية النمو وهو العامل الوراثي, وعوامل خارجية هو العامل البيئي الذي يتضمن عوامل ذات طبيعة فيزيائية وكيميائية وحيوية, من **العوامل الفيزيائية** :

1 – درجة الحرارة
2 – الاشعاع
3 – الضغط الجوي
4 – الضغط الاسموزي
5 – الجاذبية الارضية

اما **العوامل الكيميائية** فمنها :

1 – الأس الهيدروجيني
2 – التهوية
3 – الاكسدة الضوئية
4 - الانجذاب
5 – انواع الاوساط الزرعية
6 – مصادر الغذاء ومتطلبات النمو

ومن **العوامل الحيوية** :

1 – نوع الكائن المجهري
2 – عمر اللقاح
3 – الامتصاص و النقل
4 - المركبات المعدنية و العضوية كمثبطات للنمو .

اولا : درجة الحرارة

تنمو معظم الاحياء المجهرية عند مدى درجة الحرارة 30 م, ولكل منها حدود دنيا وقصوى من درجات الحرارة لكي تنمو ضمن ذلك المدى, تتسارع معدلات النمو لكل نوع مع ارتفاع درجات الحرارة ومرورا بالدرجة الحرارية المثلى Optimum temperature تصل الى الحد الاقصى واذا تجاوزته تبدأ معدلات النمو بالتراجع, ثم تتوقف نتيجة تخثر انزيمات الخلية متأثرة بالحرارة العالية أو المتجمدة كونها مركبات عضوية ذات طبيعة بروتينية .

ان ارتفاع درجات الحرارة تأثر بشكل مباشر على جميع الفعاليات الحيوية للخلية اذ يتلف جزئها البروتيني, كذلك الرايبوسومات (وهي مواقع بناء البروتين) وايضا اسواط الخلية, ويكون تغييرها غير عكسي, علما ان انخفاض درجة الحرارة دون الحد الادنى يؤدي ايضا الى تخثر انزيمات الخلية.

مفردات فسلجة البكتريا - عملي

الاسبوع	العنوان
1	ارشادات مختبرية + الحسابات الرياضية
2	اطوار النمو , وطرق قياس الزيادة في الكتلة الحية
3	طرق قياس الزيادة في عدد الخلايا النامية , طرق قياس الكثافة الضوئية Optical dencity OD
4	تجربة : تأثير الحرارة على نمو البكتريا
5	= : = pH = =
6	= : = المصدر الكربوني =
7	= : = = النيتروجيني =
8	امتحان فصلي
9	تجربة : تأثير الضغط الاسموزي على نمو البكتريا
10	= : = العناصر المعدنية Fe, S, P, K, CaCO3 على نمو البكتريا
11	= : تأثير صبغة بلورات البنفسج على نمو البكتريا
12	= : = التهوية على نمو البكتريا
13	= : = الاشعاع = =
14	= : = المضادات الحياتية على نمو البكتريا
15	مراجعة عامة

University of Baghdad – College of Education (Ibn Al-Haitham)

مفردات فسلجة البكتريا - نظري

الاسبوع	عنوان المحاضرة	الملاحظات
1	وظائف البكتريا	
2	عوامل النمو	
3	اطوار النمو	
4	العمليات الايضية	العمليات الهدمية
5		التنفس الهوائي
6		التنفس اللاهوائي
7		التخمـــــــر
8	امتحان فصلي	
9		العمليات البنائية
10	العوامل المؤثرة على النمو	العوامل الفيزيائية
11		العوامل الكيميائية
12		العوامل الحيوية
13	السموم البكتيرية	الداخلية والخارجية , انواعها وطرق انتقالها وتأثيرها على البيئة
14	الفلزات وعلاقتها بنمو البكتريا	
15	مراجعة عامة	

University of Baghdad – College of Education (Ibn Al-Haitham)

العوامل الكيميائية المؤثرة على النمو

اولا : <u>الاس الهيدروجيني</u>

هو عبارة عن محصلة تأين جزيئة الماء في تفاعل عكسي مستمر تتكون خلاله ايونات $+(H)$ و $-(OH)$:

$$2H_2O \quad \leftrightarrow \quad (H_3O)^+ \quad + \quad (OH)^-$$

ان تركيز كل من $(H_3O)^+$ و $(OH)^-$ هو 1×10^{-7} مول, ويلاحظ بقاءه ثابتا لكنه يتغير عند ذوبان اية مادة غريبة والتي عند ذوبانها تكون ايونات موجبة وسالبة فتزيد من تركيز اما ايونات $(OH)^-$ او ايونات $(H_3O)^+$.

<u>طرق قياس pH</u> :

أ – باستخدام ورق اللتموس التي يتغير لونها عند ملامستها للمحلول وبالمقارنة مع الالوان المثبتة على العلبة نتمكن من معرفة قيمة pH بدقة, علما ان التحول نحو اللون الاحمر دليل على الحامضية في المحلول وتحولها الى اللون الازرق دليل على قاعدية المحلول .

ب – باستخدام السحاحة : حيث تحسب كمية الحامض او القاعدة اللازمة لمعادلة قيمة pH لحجم معين من المحلول .

ج – باستخدام اجهزة كهربائية ثابتة او متنقلة, وعند غمس الالكترود في المحلول نحصل على قراءة رقمية تمثل قيمة pH في المحلول.

<u>امثلة على قيم pH</u> :

الدم	:	7,35 - 7,45	وسط قاعدي
الماء المقطر	:	7,00	وسط متعادل
الادرار	:	4,8 - 7,00	وسط حامضي

ان قيمة pH في الوسط تؤثر بشكل مباشر على حياة الخلية لانها تمثل معدل الايونات الموجبة والسالبة الموجودة حول السطح الخارجي للخلية, والتي تشترك في تفاعلات عملية التنافذ في الخلية خاصة تلك التفاعلات التي تجري تحت جدار الخلية مباشرة مثل تفاعلات التنفس وتحرير الطاقة.

وتتباين قدرة انواع الاحياء المجهرية في الاستفادة من الايونات الموجبة اوالسالبة حيث ان بعضها يفضل النمو في الاوساط القاعديـــة وبعضها الاخر يفضل النمو في الاوساط الحامضية , مثل كائنات بدائية النواة تنمو في اوساط متعادلة او قاعدية ضعيفة, بينمـا حقيقية النواة تنمو في اوساط متعادلة او حامضية مع وجود بعض الاستثناءات لانـواع قليلة مثل بكتريا حامض الخليك وبكتريا حامض اللبنيك Acetic & Lactic acid bacteria . وقد وجد ان لكل نوع من الاحياء المجهرية , قابلية على النمو في مدى معين مـــن الاس الهيدروجيني , وضمنه pH الامثل لنمو ذلك الكائن .

اما الاس الهيدروجيني لسايتوبلازم الخلية فقد وجد انه يبقى ثابتا ولا يتأثر بالأس الهيدروجيني خارج الخلية لوجود الغشاء البلازمي الذي يتحكم بنوعية وكمية الايونات المتبادلة بين الخلية والوسط المحيط بها, علما بأن pH الحامض للوسط يسبب زيادة النسبة المئوية للحوامض الدهنية المشبعة وانخفاضها بالنسبة للحوامض الدهنية الغير المشبعة الموجودة في الغشاء البلازمي للخلية وهذا التغيير يؤدي الى فقدان مرونة الغشاء البلازمي وفي اداءه للتفاعلات البايوكيميائية ونظام نقل وافراز البروتينات في الخلية .

ثانيا : التهوية

1 – **غاز CO_2**

تحتاج الاحياء المجهرية الى غاز CO_2 بدرجات متباينة حسب نوع الانشطةالحيوية التي تقوم بها مثل الهوائية واللاهوائية او ذاتية التغذية او منتجة لانزيم الاوكسيديـز والبيروكسيديز وغيرها .

يتـم استهلاك غاز CO_2 من قبل الكائنات المجهرية عندما يكون ذائبا في الماء مكونا الايونات :

$$CO_2 + H_2O \dashrightarrow \underset{\text{ايون حامض الكربونيك}}{(H-C(=O)-O-O)^-} + (H)^+$$

ومن العوامل المساعدة على زيادة ذوبان الغاز CO_2 في الماء هي ارتفاع درجـــة الحرارة وزيادة قيمة pH للوسط لذلك تستخدم هاتين الوسيلتين كعوامل محـددة او سيطرة على استخدام CO_2 من قبل الكائنات المجهرية .

الكائنات المجهرية ذاتية التغذية تستهلك غاز CO_2 المذاب في الماء كمصدر للكربون في عملية التركيب الضوئي وحيث تقوم بصنع جميع المركبات العضوية . امـــا اذا كانت فعالية الكائن المجهري في هذا المجال اقل كفاءة فيجب اضافة المركبات العضوية الضرورية في النمو الى الوسط ليتم استهلاكها كمصدر للكربون, وهي الكائنات مختلفة و مختلطة التغذية Heterotrophic و Mixotrophic .

المحاضرة العاشرة

هناك مجموعة اخرى من الاحياء المجهرية تستهلك CO_2 كمستقبل نهائي للالكترونات بدلا من O_2 حيث يتكون غاز الميثان كناتج نهائي في الخلية methanobacteria وعند تأكسد غاز الميثان methano – oxidizing تتحرر العناصر الاولية في الخلية وهو الماء وغاز CO_2 , من هذه البكتريا :

Methanococcus
Methanobacillus
Methanosarcina
Methanobacterium

2 – غاز O_2

تختلف كمية غاز O_2 الذي تحتاجه حسب انواع الاحياء المجهرية , علما ان عملية توفير O_2 للكائنات المجهرية اسهل من عملية ازالته من الوسط وذلك من خلال :

- ضخ الهواء الى الوسط الزرعي .
- استخدام الجهاز الهزاز (Shaker) لغرض اذابة الهواء في الوسط الزرعي.

وعند ازالة O_2 من هواء الوسط لتنمية الكائنات المجهرية اللاهوائية فيتم بطرق عديدة منها :

- استخدام مفرغة الهواء وامكانية ضخ غاز N_2 الى الوسط .
- اشعال شمعة او حرق ورقة داخل وعاء التنمية اللاهوائية, وغلقه باحكام فيؤدي الى نفاذ O_2 وتكوين CO_2 .
- استخدام عوامل مختزلة مثل Thioglycolate التي تتأكسد بالاوكسجين وتستهلكه داخل الوعاء .
- استخدام تراكيب جاهزة تعمل على تنشيط الهيدروجين واتحاده مع O_2 حيث ينفذ من الوسط , يطلق على مثل هذه التراكيب HGK , وهي : Hydrogen generation kit .

تقسم الاحياء المجهرية الى عدة فئات رئيسية على اساس حاجتها من غاز الاوكسجين وكما يأتي :

- Aerobic bacteria , وهي الفئة التي تحتاج غاز الاوكسجين بشكل مطلق ولايمكنها النمو بغياب الاوكسجين من الوسط , اي هي الكائنات المجهرية الهوائية التي لايمكنها النمو في اوساط يقل فيها تركيز الاوكسجين عن 20 % من هواء الوسط .

- Anaerobic bacteria , لاتحتاج هذه الفئة الى الاوكسجين وهي بذلك لايمكنها النمو الا اذا كان الوسط خاليا من الاوكسجين , وهي الفئة التي لاتحتاج الى وجود غاز الاوكسجين في الوسط (الكائنات المجهرية اللاهوائية) , ووجوده يسبب وقف نموها او موت هذه الكائنات .
- Aerotolerant bacteria , هي فئة من البكتريا المتحملة للاوكسجين , فهي لاتحتاج الى وجود الاوكسجين في الوسط اثناء نموها, لكنها بالامكان بقائها حية بوجوده ثم تعاود النمو عند زواله من الوسط .
- Microaerophil bacteria ,هي البكتريا الأليفة للهواء القليل, وهي لاتحتاج الى وجود غاز الاوكسجين في الوسط بنسبة اكثر من (2 – 5) % من حجم هواء الوسط , لان زيادة تركيز الاوكسجين تؤدي الى زيادة تفاعلات الاكسدة وهي لاتلائم خلايا من هذا النوع .
- Faccultative anaerobic , بكتريا هذه الفئة تكون لاهوائية اختيارية اي انها تنمو بوجود الاوكسجين في الوسط اوعند غيابه, لكنها تفضل الظروف الهوائية لأنها في ذلك يتم تحرير طاقة اكبر. في هذه الخلايا التنفس الهوائي يؤدي احيانا الى تحفيز انزيمات معينة تعمل على تثبيط المسارات الايضية اللاهوائية وفي نفس الوقت تحفز على تكوين نظام نقل الالكترونات مستفيدة من وجود الاوكسجين في الوسط .

3 – الانزيمات الحساسة للاوكسجين

Oxygen sensitive enzymes

العديد من الانزيمات تتلف عند وجود غاز O_2 في الوسط حيث يتم مسخ البروتين فيها ولايمكن اعادة نشاطها في الوسط . من هذه الانزيمات البكتيرية, المثبتة لغاز N_2 الجوي ...لذلك عند استخلاص هذه الانزيمات يجب ان يتم في ظروف لاهوائية مطلقة ...كما في بكتريا Azotobacter اللاهوائية, وفي انواعها اللاهوائية الاختيارية لاتقوم بتثبيت N_2 في حالة وجود O_2 في الوسط. في الخمائر, هناك بعض الانواع تستعين بأنزيم Oxygenase (وهو انزيم ناقل لأيون الاوكسجين) حيث تنتجه الخلية ليقوم بتوفير O^{-2} في الخلية اثناء تكوينها للحوامض الدهنية الغير مشبعة unsaturated fatty acids , وعند نموها لاهوائيا يجب اضافة هذه المركبات الى الوسط لعدم امكانية انتاجها في الخلية عند غياب O_2 من الوسط .

4 – سمية الاوكسجين Toxicity of oxygen

عند تحلل المركبات العضوية المعقدة داخل الخلية لتحرير الطاقة منها, تتحرر ايضا عدد من $(H)^+$ الفائضة, فتقوم المركبات الناقلة للايونات داخل الخلية مثل Flavoprotein بنقلها الى الاوكسجين الذي يستقبلها كمستقبل نهائي لهذه الايونات .

$$FP + 2(H)^{+} \rightarrow FPH_2$$

بعدها يتعرض الناتج الاخير للاكسدة فيتكون بيروكسيد الهيدروجين الذي له تأثير سام في الخلية, وعند تراكمه فيها يؤدي الى موتها :

$$FPH_2 + O_2 \rightarrow FP + H_2O_2$$

خلايا البكتريا ذات المعيشة الهوائية تقوم بانتاج انزيمات Catalase و Peroxidase المزيلة H_2O_2 من وسط الخلية, حيث تقوم بفصل O_2 عن H_2 ودمج H_2 مع جزيئة H_2O_2 اخرى فتتكون جزيئات الماء ويتحرر O_2, اي جزيئة الاولى من بيروكسيد الهيدروجين تمنح ايونات والجزيئة الثانية تكون مستقبلة لها .

$$H_2O_2 + H_2O_2 \xrightarrow{\text{enzyme}} 2H_2O + O_2$$

في بعض الحالات الفلافوبروتين المتأكسد يعطي $(H)^{+}$ واحدا فقط لجزيئة O_2 ويحتفظ بالايون الاخر فيتكون مركب سام جدا هو $(O)^{-}$ super oxide جزيئة اوكسجين تحمل الكترون فائض وتكون لها فعالية تأكسدية غير اعتيادية تؤدي الى قتل الخلية . لذلك فأن البكتريا الهوائية وكذلك اللاهوائية الاختيارية تقوم بأنتاج انزيم (SOD) Super oxide dismutase الذي يمنع تراكم ايونات $(O)^{-}$ في الخلية :

$$FP + 2(H)^{+} \longrightarrow FPH_2$$
$$FPH_2 + O_2 \longrightarrow FPH+ + (O)^{-}$$
$$(H\text{-}O\text{-}O^{-})$$

$$2H^{+} + 2(O)^{-} \xrightarrow{\text{enzyme}} H_2O_2$$

في البكتريا اللاهوائية مثل بكتريا حامض اللبنيك Lactic acid bacteria يكون حامض اللبنيك المتكون هو الناتج النهائي للتفاعل... وهي غير قادرة على النمو بوجود O_2 لعدم قدرتها على انتاج انزيمات catalase او cytochrome والتي يدخل الحديد في تركيبها, لان التخلص من H_2O_2 يتطلب اضافة مادة Porphyrine الى الوسط والذي يساعد في انتاج هذه الانزيمات ويعمل مرافقا انزيميا لها عند وجود RBC في الوسط كمصدر للحديد, عندها تقوم الخلية بانتاج انزيم catalase ويسمى في هذه الحالة Pseudo – catalase لان انتاجه مؤقتا .

يعتبر حاليا SOD من الانزيمات المهمة الذي من خلاله يمكن السيطرة على نموالبكتريا :

ت	اسم المجموعة	SOD	Catalase
1	البكتريا الهوائية و اللاهوائية الاختيارية:		
	E. coli	+	+
	Pseudomonas	+	+
2	البكتريا المتحملة للاوكسجين :		
	Streptococcus lactis	+	—
	Streptococcus faecalis	+	—
	Lactobacillus lactis	—	—
	Lactobacillus acidophilus	—	—
3	البكتريا اللاهوائية الاجبارية :		
	Clostridium	—	—

ثالثا : الاكسدة الضوئية : Photooxidative effect :

لوحظ ان توفر غاز O_2 مع مصدر ضوئي في الوسط وامتلاك الخلية لصبغات معينة, تؤدي الى زيادة التأثير السام للاوكسجين على الخلية, حيث تم تفسير ذلك بتحول الصبغة الى مركب منشط للاوكسجين عند تعرضها لمصدر ضوئي :

$$P \xrightarrow{\text{light}} P''$$

صبغة — صبغة منشطة

وبتكون الناتج الاخير يتحول O_2 الى عنصر سام في الخلية :

$$O_2 \xrightarrow{\text{الصبغة المنشطة } P''} O_2''$$

عنصر سام وقاتل للخلية

الناتج الاخير سام جدا على الخلية يشبه تأثير $(O)^-$ عليها. وفي حالة امتلاك الخلية لصبغة الكاروتين فأنها تساعد في التخلص من تأثير العنصر القاتل "O_2 ...حيث اجريت تجربة استخدمت فيها بكتريا تحتوي على صبغة الكاروتين ومعيشتها لاهوائية اختيارية وجد انها تنمو جيدا في الضوء او في الظلام ... ولكن عند ازالة صبغة الكاروتين منها اصبحت تنموجيدا فقط في الظلام في الظروف الهوائية, وبامكانها النمو في الضوء في ظروف لاهوائية .

نوع المعيشة	اوكسجين	ضوء	صبغة الكاروتين	نمو البكتريا
هوائي	+	+	-	-
=	+	+	+	+
=	+	-	-	+
=	+	-	+	+
لاهوائي	-	+	-	+
=	-	+	+	+
=	-	-	-	+
=	-	-	+	+

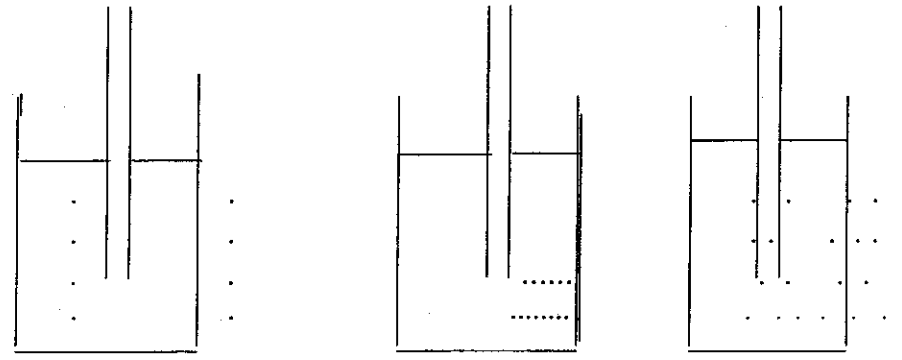
رابعا : ظاهرة الانجذاب Taxes

ظاهرة انجذاب الكائن المجهري نحو المصدر المفيد ومبتعدا من المصدر الغير مفيد تبدو واضحة ويمكن اثباتها مختبريا,(+ ve) positive taxes هو الانجذاب الموجب اي الانجذاب نحو المصدر المؤثر, و (— ve) negative taxes وهو الانجذاب السلبي اي الابتعاد عن المصدر المؤثر.

عند غمس انبوب شعيري يحتوي على محلول سكري في معلق بكتيري, نلاحظ بعد وقت قصير ان الخلايا قد تجمعت حول فتحة الانبوب الشعيري , وبعض الخلايا قد دخلت في الانبوب الشعيري فعلا ومبتعدة عن الجدران الداخلية لانبوب الاختبار.

اما اذا استبدلت محتويات الانبوب الشعيري تحامض او قاعدة مخففة , نجد بعد قليل ان

خلايا البكتريا قد ابتعدت عن الانبوب الشعيري وقد التصقت بالجدران الداخلية لانبوبة الاختبار .



انبوب شعيري فارغ في معلق بكتيري
انبوب شعيري يحتوي على محلول سكري في معلق بكتيري
انبوب شعيري يحتوي على حامض او قاعدة مخففة في معلق بكتيري

ظاهرة الانجذاب يمكن ملاحظتها مع عوامل مختلفة كما يحصل بالمصدر الكيميائي اوالكهربائي او غيره بتأثير المستقبلات على سطح الخلية مثل Photoreceptor .

الاتجذاب الكيميائي	Chemotaxes
الانجذاب الهوائي	Aerotaxes
الانجذاب المغناطيسي	Magnetaxes
الانجذاب الكهربائي	Galvanotaxes
الانجذاب الضوئي	Phototaxes
	etc.

لتفسير هذه الظاهرة فقد اتفق على وجود مايشبه الجهاز العصبي في خلية البكتريا يسمى (نظام فرق التركيز المؤقت) Temperal gradient concentration system , وفي هذه الحالات نجد ان خلية البكتريا تحتاج الى وقت اضافي لحين حصول رد الفعل فيها , فلو كانت
الخلية تتحرك بسرعة 10 مايكرون / ثانية و الوقت الذي تحتاجه لرد الفعل هو 20 ثانية ,
فأنها ستتحرك مسافة 10 X 20 = 200 مايكرون قبل ان يظهر عليها رد الاستجابة بالانجذاب الموجب او السالب .

العوامل الكيميائية و الحيوية المؤثرة على النمو

اولا : انواع الاوساط الزرعية

تتباين انواع الاوساط الزرعية من حيث اختلاف خواص نوع الوسط الزرعي , مثل تغير قيمة الاس الهيدروجيني او تغير كمية ونوعية مكونات الوسط,او الغرض المستخدم من أجله .
قد تختلف خواص الوسط الزرعي من وجبة الى وجبة اخرى حسب حاجة الكائن المجهري المطلوب تنميته على ذلك الوسط لأختلاف حاجات الكائن المجهري حسب نوعية الصفة الفسلجية التي يتصف بها, اما التباين في التركيب الكيميائي فهو بسبب اختلاف حاجات هذه الكائنات المجهرية المنماة على تلك الاوساط, بعضها يحتاج الى نوع من السكريات او من احماض امينية محددة اوالى مركبات معينة داعمة لأغناء الوسط (مثل وسط أكار الدم) او اضافة الدارئ (buffer) لغرض تثبيت قيمة الأس الهيدروجيني في الوسط اثناء النمو. لذلك فقد تنوعت تسمية الاوساط الزرعية, مثل اوساط العزل والتنقية والحفظ والاختبارات البايوكيميائية والحساسية للمضادات الحياتية, اوساط متخصصة مثل S.S. medium وغيرها.
احيانا يتم اضافة بعض المواد الكيميائية الى الوسط لاغراض تثبيط نمو انواع معينة دون غيرها مثل املاح الصفراء التي تثبط نموالبكتريا غيرالمعوية.

ثانيا : مصادر الغذاء ومتطلبات النمو

تعتبر مكونات الوسط الزرعي وسيلة الكائن المجهري للحصول على مصادرالغذاء الضرورية للنمو والتكاثر ...لذلك تمر الخلية بفترة تكيف (طورالتمهيدي) للتطبع على استهلاك تلك المكونات.
يلاحظ في هذا المجال ان الكائن المجهري يلجأ الى استهلاك المصدر المتميز بسهولة نفاذيته الى الخلية وهضمه وتمثيله بأقل طاقة ممكنة,وعند نفاذ هذا المصدر يلجأ الكائن المجهري لاستهلاك المكونات الاخرى بالتكيف عليها من جديد وفق نمط النمو الثنائي , اي يمر مرتين بالطورالتمهيدي .
متطلبات النمو Growth requirments تمثل حاجة الكائن المجهري من المركبات الكيميائية التي تدخل في بناء تراكيب الخلية, والتي تتنوع حسب جنس ونوع الكائن المجهري ونمطه الحيوي, هذه المتطلبات تكون غير ثابتة اعتمادا على درجة توفرها من مصادرها لتلك البيئة.
من اهم العناصرالتي تحتاجها خلية البكتريا هو عنصرالكربون الذي يشكل 50 % حوالي من الوزن الجاف للخلية, والاوكسجين بنسبة 20 % والنيتروجين 14 % والهيدروجين 8 % .

يعتبر الماء من اهم جميع العناصر المذكورة كونه : 1- يشكل حوالي 85 % من تركيب الخلية فضلا عن 2- اهميته كوسط لاجراء التفاعلات الحيوية الخلوية , 3- دوره المهم في عملية التنافذ بين الخلية ومحيطها الخارجي كونه مذيبا لمعظم المواد 4- لأحتوائه على نسب صغيرة من العديد من المصادر المعدنية فيعتبر مصدرا لها لتوفير احتياجات الخلية اثناء نموها .

ثالثا : نوع الكائن المجهري و عمر اللقاح

لمعظم انواع الاحياء المجهرية اوساط زرعية ملائمة لها بعضها اوساط انتخابية ... علما ان زمن الجيل قد يتغير في النوع الواحد بتغيير الظروف او بتأثير العامل الوراثي فيها, بعضها يستغرق زمن الجيل فيها 10 دقائق او 20 دقيقة, واحيانا تكون لانواع اخرى بضعة ساعات.
اما عن عمر اللقاح المأخوذ من مزرعة بكتيرية فأنه يحمل خلايا بعمر يوازي عمر المزرعة, قد تكون في الطور الاول او في الطور الثاني او الثالث او اكثر, وعند اخذ لقاح من مزرعة تمر في الطور اللوغاريتمي نلاحظ ان الطور الاول في المزرعة الجديدة سيكون اقصر, اما اذا كان اللقاح من مزرعة معمرة فأن الطور الاول في المزرعة الجديدة سيكون أطول . والانزيمات البنائية عادة تكون في افضل فعالية لها في نهاية الطور الاول وبداية الطور الثاني , بينما تنشط الانزيمات الهدمية من نهاية الطور الثاني.

رابعا : الامتصاص والنقل

تتضمن عملية انتقال العناصر من الوسط الى داخل الخلية, وهي عملية معقدة, تشترك فيها العديد من الانزيمات والمركبات الكيميائية الموجودة تحت الغشاء السايتوبلازمي والجدار الخلوي .

تتأثر هذه العملية بعاملان اساسيان في الخلية هما :
1 – تركيز المواد الكيميائية المختلفة الموجودة داخل وخارج الخلية , وهي المسؤولة عن تحديد معدلات نمو الخلية .

2 – درجة تركيز الايونات داخل الخلية وهي عادة تكون عالية لتحقيق معدلات نمو عالية.

اما العوامل الثانوية المؤثرة من الوسط الزرعي على هذه العملية فهي :

1 – درجة الحرارة
2 – الاس الهيدروجيني
3 – السموم : والتي تأثر من خلال ارتباطها بالغشاء الدهني لجدار الخلية,فتثبط انتقال العديد من المواد وتؤدي الى ضعف النمو.
4 – المعادن الثقيلة : (كذلك)
5 – المركبات البديلة : عند وجود مركبات مرادفة للمواد المطلوبة analagues وبذلك يمكن ان يحصل تنافس على المستقبلات البروتينية في جدار الخلية .
6 – الفيتامينات : اغلب انواع الفيتامينات التي تحتاجها الخلية للكائن المجهري هي :

Biotin , Riboflavin (B_2) , Cobalamin (B_{12}) فيتامين B_{12} يسلك سلوك Co-enzyme وتحتاج الخلية منه ما يعادل تركيز (0,1 – 0,5) ملغرام/ مل.

عملية الانتقال للمواد من الوسط المحيط بالخلية الى داخلها يمكن ان تجري وفق احدى الطرق الاتية :

1 – الانتشار الايجابي Passive diffusion :

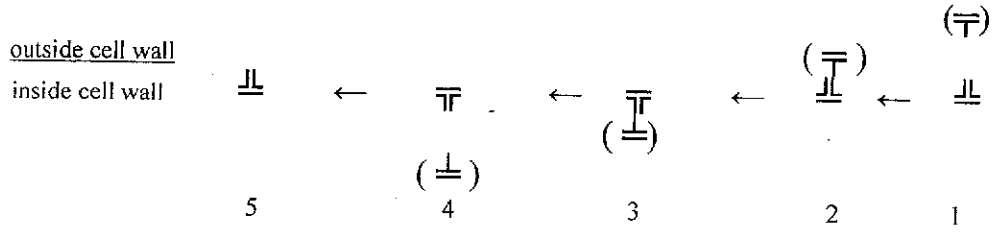
تتضمن تبادل للمواد بين الوسط المحيط بالخلية وسايتوبلازم الخلية,على اساس اختلاف تركيز تلك المواد, حيث تنتقل من التركيز العالي الى التركيز الواطئ حتى يتساوى التركيزين, لذلك جميع المواد المنتشرة بين الوسط المحيط بالخلية والسايتوبلازم , يجب ان تكون مذابة في الماء .

من المواد المنتشرة حول الخلية :غازات O_2 و CO_2 المذابة في الماء مع جميع انواع الاملاح المعدنية والمركبات العضوية التي تحتاجها الخلية,الا ان الخلية تتحكم بهذه العملية عندما تصبح الحالة ذات تأثير سلبي عليها اذ ان زيادة الماء مثلا داخل الخلية يسبب تخفيف المركبات الخلوية ومن ضمنها الانزيمات, وبالتالي تفقد فعاليتها القصوى, لذلك تتحكم الخلية بكمية الماء الداخل اليها بما يناسب تركيز مركباتها الملائم لنموها الامثل .

2 – الانتشار الميسر Facilitated diffusion :

تعتبر طريقة سهلة لانتقال المواد بين الوسط الخارجي للخلية والسايتوبلازم , وعادة تكون عبارة عن مركبات ذات جزيئات كبيرة نسبيا, يتم انتقالها من التركيزالعالي الى التركيز الواطئ , يحصل ذلك بوجود مجموعة من المستقبلات المتخصصة على سطح الخلية, وتساعد الانزيمات المتخصصة بتنظيم عملية تنافذ تلك المواد. وتتم هذه العملية

بدون صرف طاقة من قبل الخلية ...لذلك فأن هذه العملية تلجأ اليها الخلية وخاصة البكتريا اللاهوائية التي تتميز بعدم قدرتها على تحرير طاقة كبيرة اثناء تنفسها اللاهوائي من مصادر الطاقة المختلفة.



ان الانزيمات المتخصصة في هذه العملية يطلق عليها peremase enzymes وهي موجودة على سطح الغشاء الخلوي ... تتحد مع الجزيئة التي لها مستقبلات متخصصة للانزيم بروابط ضعيفة, وبمجرد ان يحدث الاتحاد تلتف جزيئة الانزيم الى الداخل تجذب معها جزيئة المركب اي ان حالة الارتباط هي السبب في دوران جزيئة الانزيم . وعندما تصبح جزيئة المركب في الداخل يضعف الارتباط بينهما وينفصلان,عندها تعود جزيئة الانزيم الى الدوران كما كانت قبل هذا الاتحاد. ان هذا الاتحاد يسبب تغيير في شكل جزيئة الانزيم وهو السبب الذي يدعوها الى الدوران وبعد انفصالها عن جزيئة المركب تعود الى شكلها الطبيعي فتلتف الى الاتجاه الذي كانت عليه.

هذه العملية تتم بسرعة اكبر من عملية الانتشار الموجب, والملاحظ انه في حالة تعادل التركيزين للمادة يؤدي الى بقاء اتحاد الجزيئتين من دون انفصال, اي عدم دوران جزيئة الانزيم, بمعنى توقف عملية الانتشار.

3 – الانتقال الفعال Active transport :

هذه العملية ضرورية للكائن المجهري والتي يتم فيها نقل مركبات معينة ضرورية الى داخل الخلية وتراكمها فيها حتى ولو كان تركيزها خارج الخلية واطئا, ومن خواص هذه العملية :

- تكوين مركب معقد من المركب الاساس والانزيم المتخصص له ليتم نقله من خارج الخلية الى السايتوبلازم .
- تحتاج هذه العملية الى الطاقة اللازمة لنقل المركب الذي تحتاجه من التركيز الواطئ الى التركيز العالي(اي عكس الانتشار).
- لايحدث اي تغيير في تركيب المركب المنقول الى داخل الخلية.
- الانزيمات متخصصة كل منها لنقل مركب معين عدا في بعض الحالات التي يقوم فيها الانزيم بنقل عدة مركبات.

- بعض انواع الكائنات المجهرية تمتلك نظام انزيمي كامل للقيام بهذه العملية لان فقدان اي من هذه اللانزيمات يحرم الكائن المجهري من الاستفادة من المركب الذي تحتاجه لعدم وجود الحامل الذي ينقله للخلية, هذه المجموعة من الكائنات لها نظام انزيمي كامل لتمثيل مركب معين لكنها بسبب طفرة وراثية قد تفقد الحامل الخاص بنقل ذلك المركب, علما ان الانزيمات المتخصصة المذكورة تكون عادة موجودة على الغشاء الخلوي بالرغم من وجود اوعدم وجود المركب الذي تحتاجه الخلية والمتخصص لها,وهناك انزيمات اخرى غير موجودة دائما لكن الخلية تقوم بتكوينها عند توفر المركب المتخصصة له .

خامسا : المركبات المعدنية و العضوية كمثبطات للنمو

يتأثر نمو خلايا البكتريا بالعديد من العناصر المعدنية ومركباتها, وكذلك بالمركبات العضوية التي تعمل على تثبيط نمو الخلايا وربما قتلها, وامثلة عليها :

1 – مساحيق الغسيل : تذيب المركبات الدهنية في جدار الخلية فيفقد خواصه الفيزيائية والكيميائية .
2 – مركبات الامونيا الرباعية : تذيب المركبات الدهنية الموجودة في جدار الخلية وتغير من خواصه الفيزيائية والكيميائية.
3 – الكحولات : تغير من خواص الفيزيائية والكيميائية لجدار الخلية والغشاء السايتوبلازمي, وكذلك بروتينات الخلية.
4 – الفينولات : تغير من خواص الفيزيائية والكيميائية لجدار الخلية والغشاء السايتوبلازمي, وكذلك بروتينات الخلية.
5 – الفورمالدهايد : يغير من خواص الكيميائية للحوامض الامينية في الخلية ويوقف نشاطها وفعالياتها .
6 – المعادن الثقيلة : تثبط عمل الانزيمات من خلال الاتحاد بها وتغيير خواصها الكيميائية.
7 – الهالوجينات : يأثر الكلور على الانزيمات الحاوية على أصرة — SH — وكذلك على الحوامض الامينية, اما اليود فيأثرعلى الانزيمات ذات الاصرة - SH - فقط .
8 – الاصباغ : تأثرعلى بروتينات الخلية وتغيرمن خواصها الكيميائية فتثبط نمو الخلايا .

جامعة بغداد – كلية التربية (ابن الهيثم) – ١٩٢٣ م
University of Baghdad – College of Education (Ibn Al-Haitham) – 1923