محاضرة رقم (4) : فسلجة احياء مجهريه دكتورة : ايمان عبعوب

المغذيات Nutrition

المغذيات : المركبات التي يحصل عليها الكائن الحي المجهري من المحيط لسد حاجته في بناء تراكيبه او الحصول على الطاقة لاداء فعاليته الحيوية .

هناك عاملان يجب معرفتهما كي تعرف حاجة الكائن المجهري لمادة كيمياوية معينة كغذاء وان احد هذين العاملين هو معرفة قدرة دخول المركب عبر الغشاء السايتوبلازمي لاسيما وات هناك الانتخاب او الاختيارية يقع بوجود بغض الانزيمات التي تدعى بالناقلة permeases وهذه تسهل دخول تلك المواد عبر الغشاء السايتوبلازمي . ان الحجم والوزن الجزيئي للمركب يشكل عاملا مهما وذلك لقدرته على دخول الغشاء السايتوبلازمي كما وجد في بعض الاحياء المجهرية بعدم سماحها للاحماض العضوية الخاصة بدورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل ولكنها تسمح بمرور السكريات وهذا لا يعني ان جميع المركبات ذات الاوزان الجزيئية العالية لاتدخل خلال الغشاء السايتوبلازمي فلقد وجد ان لبعض الاحياء القدرة على افراز انزيمات الى خارج خلاياها لهضم وتحليل هذه المركبات لغرض استخدام اجزائها المتحللة كمواد غذائية كما يحدث في تحليل المواد الكاربوهيدراتية الى سكريات بسيطة والبروتينية الى ببتيدات متعددة والدهنيات الى احماض دهنية وكليسرول ، العامل الثاني هو قدرة الكائن المجهري على استخدام هذه المادة كمصدر للطاقة او كوحدة بنائية وذلك لامتلاكها للاجهزة الانزيمية المتخصصة بهذه الفعاليات الحيوية . ان البعض من هذه الانزيمات تتكون بوجود هذه المواد داخل الخلية .

تقسم العناصر حسب الاولوية :

1 – الكاربون

ان المصادر الكاربونية الموجودة في الطبيعة تستغل من قبل الاحياء المجهرية للحصول على الطاقة وكوحدات بنائية فالاحياء المجهرية التي لها القدرة على التخليق والبكتريا التي لها القدرة على اكسدة المواد غير العضوية للحصول على الطاقة تستعمل ثاني اوكسيد الكاربون كمصدر وحيد او رئيسي للكاربون في هذا الغاز يكون على درجة عالية من الاكسدة لذلك يجب اختزاله للاستفادة منه كوحدة بنائية . ان عملية الاختزال هذه تحتاج الى طاقة وهذه الطاقة تاتي من الضوء او من اكسدة المركب غير العضوي . ففي البكتريا يستفاد من ثاني اوكسيد الكاربون كوحدات بنائية ليس باتحاد جزيئين منه لتكوين مركب ثنائي الكربون ويكون الكاربون على حالتين وهي :

1 – كاربون عضوي

2 – كاربون لا عضوي (CO_2 ، CO_3 ، كاربونات)

في بعض انواع البكتريا يستخدم ثاني اوكسيد الكربون كمستلم للالكترونات حيث يتم تحويله الى وحدات بنائية كما هو الحال في بكتريا *Clostridium aceticuas*

$$4H^2 + 2CO_2 \rightarrow CH_3COOH + 2H_2O + energy$$

وبكتريا *Pseudomonas methanica*

$$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O + energy$$

2 – النتروجين

يدخل النتروجين في تركيب الاحماض الامينية والبروتينات والنيوكلوتيدات ، حالة الاكسدة والاختزال لذرة النتروجين الموجودة في النترات NO_3 هي $^{+}5$- وفي الامونيوم NH_4 هي $^{-}3$ وهناك ثلاث حالات وسطية بين النترات والامونيوم وهي اختزال تكون باضافة الكترونين في كل حالة وكالاتي

+5 +3 +1 -1 -3

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O \rightarrow NH_4OH \rightarrow NH_4^+$$

Nitrate Nitrite Ammonium

شكل النتروجين في ايون الامونيوم هو المفضل لان هذا الشكل هو الذي يدخل في تركيب المواد العضوية في الخلية اما النترات NO_3 فيمكن استخدامه من قبل العديد من الفطريات والطحالب وبدرجة اقل من قبل البكتريا والخمائر .

اختزال النترات الى امونيا يكون بمساعدة انزيمين الاول هو Nitrate Reductase الذي يختزل النترات الى نتريت والثاني يختزل النتريت الى امونيا وهو Nitrite oxidoreductase ودور النتروجين في الطبيعة تتضمن العمليات التالية :

أ- النشدرة Ammonification : وهي عملية اطلاق الامونيا نتيجة لتعدين المواد العضوية الحاوية على النتروجين (mineralization) حيث تتحلل البروتينات بفعل البكتريا المسماة proteolytic bacteria والتي تمتلك انزيمات protease (Exoprotease التي تحلل الاواصر الببتيدية في نهاية سلسلة الاحماض الامينية و Endoprotease التي تحلل الاواصر الببتيدية بعيدا عن نهاية السلسلة) وتحلل البروتين اما ان يكون هوائيا وينتج CO_2 وامونيا وماء او لاهوائيا اي تعفن البروتين putrefaction .

ب- اختزال النترات Nitrate Reduction : تختزل النترات الى امونيا مرورا بالنتريت وكما يلي :

$$NO_3 \rightarrow NO_2 \rightarrow NH_3$$

ويتم الاختزال بواسطة انزيم Nitratase (Nitrate Rrductase) ويتوفر الالكترون من جزيء $NADPH_2$

ج- النترجة Nitrification : وهي عملية اكسدة الامونيا الى نترات والبكتريا المسؤولة عنها تسمى بكتريا النترجة Nitrifying bacteria وهي بكتريا ذاتية التغذية كيمياويا Chemoautotroph تتميز النترجة بخطوتين

1 – اكسدة الامونيا الى نتريت والبكتريا المؤكسدة تسمى ، *Nitrosolobus* , *Nitrosomonas*, Nitrosovibrio ,*Nitrosococcus* ,*Nitrosospira* .

2 – اكسدة النتريت الى نترات والبكتريا المسؤولة عن هذه العملية تسمى *Nitrobacter* وتتم الاكسدة كالتالي Oxygenase

$$NH^+_2 + 1_{1/2}O \rightarrow NO_2^- + 2H^+ + H_2O + 65kcol$$

$$NO^-_2 + {}_{1/2}O \rightarrow NO_3^- + 17\text{-}18\ kcol$$

عملية اكسدة النتريت الى نترات سريعة لذا تكون كمية النتريت في الطبيعة قليلة

د- عكس النترجة Denitrification : وهي عملية عكس النترجة اي اختزال النترات وتحويلها اما الى امونيا او نتروجين حر او اكاسيد النتروجين مثل اوكسيد النتريك N_2O او اوكسيد النتروز NO

يوجد نوعين من الاختزال للنترات NO_3 بوجود انزيم Reductase وهما :

1 – اختزال تمثيلي Assimilatory reduction يعطي مركب NH_3

2 – اختزال غبر تمثيلي Dissimilatory reduction يعطي مركبات N_2,NO,N_2O

وتسمى العملية التنفس النتراتي Nitrate Respiration حيث تعمل فيها النترات كمستقبل نهائي للالكترونات .

ح- تثبيت النتروجين Nitrogen fixation وهي عملية تحويل N_2 الجوي الى مركبات نتروجينية مثل النتريت والنترات والامونيوم وهي اهم عملية كيميوحيوية في الارض بعد عملية التركيب الضوئي وبكتريا *Rizobacter* من اكثر الانواع البكتيرية نشاطا في هذا المجال ولكن تتم هذه الطريقة عند توفر مايلي :

1 – انزيم Nitrogenase

2 – واهب للالكترونات (المختزل Reductant)

3 – مصدر للطاقة

4 – ايونات معدنية ثنائية التكافؤ مثل Mn^{+2} و Mg^{+2} وهي تجعل من عملية تثبيت النتروجين كغاز تكافؤ صفر لذا يجب اختزاله الى امونيا حتى تستطيع الخلايا ادخاله في تركيبها

يتم تثبيت النتروجين بطريقتين :

1 – لاتكافليا او لاتعاشيا Non symbiotic fixation : وتقوم به البكتريا الحرة المعيشة في التربه وتحصل على طاقتها بأكسدة الفضلات في النباتات فهي تحصل على طاقتها من النباتات وتقوم بتثبيت N_2 الجوي الكي يستفاد منها النبات مثل بكتريا *Rizobium* تحول N_2 العضوي بشكل امونيا الى N_2 لا عضوي بالطرق التالية

أ– تحويل Ketoacid الى احماض امينية بواسطة اضافة الامونيا لها اي عملية Amination اي اضافة مجموعة امين NH_2

ب- اتحاد NH_4 مع CO_2 و ATP لتكوين Carbomayl phosphate

O

$$NH_4 + CO_2 + ATP \rightarrow H_2N\text{-}C\text{-}O\text{-}P + ADP + PO_3^{=}$$

3 – الفسفور : يدخل في تركيب RNA و DNA و ATP و Phospholipid coenzyme ويلعب دور مهما في الفعاليات الايضية Metabolism وبتبادل الطاقة فيها . الاوساط الزرعية تحتوي على املاح الفوسفات المعدنية والتي تكون مصدرا للفسفور بالاضافة الى انها تعمل على تنظيم الرقم الهيدروجيني pH للوسط . واكثر املاح الفسفور هي الفوسفات احادية H (K_2HPO_4) والفوسفات ثنائية H_2 (KH_2PO_4) (ملح ضعيف) . وعند اضافة قاعدة له يتحول الى K_2HPO_4 كما يلي

$$\mathbf{KH_2PO_4 + KOH \rightarrow K_2HPO_4 + H_2O}$$

اما الملح القاعدي الضعيف احادي H فيكون على العكس عند اضافة حامض قوي

$$\mathbf{K_2HPO_4 + HCL \rightarrow KH_2PO_4 + KCL}$$

4 – الكبريت :

يدخل في تركيب البروتين وخاصة الحامض الاميني Cysteine حيث يوجد الكبريت بشكل مختزل في مجموعة SH^- كما يدخل في تراكيب الفيتامينات كالثامين والبايوتين والحامض الاميني الميثيونين و COA و CO Carboxylase (مرافق انزيمي) . اوسع مصادر هذا العنصر في الطبيعة هي الكبريتات والتي تختزل الى كبريتيد الهيدروجين وتكون مستلم نهائي للالكترونات ويتم اختزالها بواسطة البكتريا *Desulfovibrio* ويتوفر هذا العنصر في الاوساط

الغذائية المصنعة اما بشكل Sulphide (مصدر غير عضوي) او thiosulphate ($S_2O_3^{=}$) او على شكل مصدر عضوي كالCysteine

5 – الاملاح المعدنية :

تحتاج الاحياء المجهرية الى كميات قليلة من الايونات السالبة Anions والموجبة Cations لنموها وتكاثرها ولوحظ انعدام نمو الاحياء المجهرية في الاوساط الزرعية المستقرة لهذه الايونات وتعمل هذه الايونات كمنشطات للانزيمات في الفعاليات الايضية كانزيم Iso citrate lyase في بكتريا *Pseudomonase aeruogenosa* والذي ينشط بالمعادن مثل المغنسيوم Mg^{+2} والمنغنيز Mn^{+2} و الكوبلت CO^{+2} وتصنف هذه المغذيات اللاعضوية الى صنفين

أ- الايونات الت تحتاجها الاحياء المجهرية بتراكيز عالية نسبيا وتسمى Macronutrient element (المعادن المغذية بكيات كبيرة) وتضاف الى الوسط بشكل املاح لا عضوية وتشمل على

1– Mg^{+2} المغنسيوم : ايون موجب مهم في الخلية فهو عامل مرافق للعديد من الفعاليات الانزيمية مثل فعاليات الفسفرة Phosphorelation التي يدخل فيها ATP ويعمل كعامل منشط لبعض الانزيمات كانزيم Hexokinase وهو ينظم درجة اتحاد جزيئات الرايبوسوم .

2- Fe^{+2} الحديد : ايون موجب يدخل في تركيب الانزيمات المسماة السايتوكروم Cytochrome والبروتينات ويعمل كمرافق للعديد من الانزيمات

3 – K^{+1} البوتاسيوم : ايون موجب يعمل كعامل مرافق لبعض الانزيمات تحتاجه عامة الاحياء المجهرية

4 – Mn^{+2} المنغنيز : ايون موجب يعمل كعامل مرافق لبعض الانزيمات واحيانا يعوض عن المغنسيوم .

5 – Zn الخارصين : ايون موجب يوجد كجزء لا عضوي في تركيب بعض الانزيمات مثل Dehydrogenase

6 – Ca^{+2} الكالسيوم : ايون موجب عامل مرافق لبعض الانزيمات مثل الانزيمات العاملة على البروتين .

7 – Na^{+2} الصوديوم : ايون موجب مطلوب لفعاليات بعض الانزيمات مثل انزيم Oxaloacetate decarboxylase في بكتريا *Aerobacter aeruogenosa* وتحتاجه الطحالب الخضر المزرقة التي تثبت النتروجين والبكتريا التي لها القدرة على

التخليق الضوئي . توجد حاجة خاصة لهذا الايون من قبل الاحياء المجهرية المحبة للملوحة Halophiles وتقسم حسب حاجتها الى :

أ- قابلة الالفة للملوحة تعيش على اوساط حاوية 5-2 % وزن /حجم من NaCl
ب- معتدلة الالفة للملوحة تعيش على اوساط حاوية 5-10 % وزن /حجم من NaCl
ج- عالية الالفة للملوحة تعيش على اوساط حاوية 30-20 % وزن /حجم من NaCl

مثل *Halobacterium* وبعض انواع *Micrococcus* وانواعا من *Saecina* البكتريا الالفة للملوحة العالية تمتاز بانها هوائية وزمن جيلها طويل نسبيا والبروتين المكون لجدار خلاياها والاغوشية ورايبوسوماتها يحتاج الى كمية عالية من الملوحة للمحافظة على ثباته وتمسكه .

٨ – Cl^{-1} الكلور : ايون سالبا غالبا ماتحتاجه الاحياء المجهرية الالفة للملوحة
ب – الايونات التي تحتاجها الاحياء المجهرية بتراكيز واطئة جدا وتسمى بالمغذيات المعدنية بكميات قليلة Micronutrient element مثل الكوبلت الذي يدخل في تركيب فيتامين B_{12}

عوامل النمو والفيتامينات

عامل النمو : كل مركب عضوي يتطلبه النمو

الفيتامينات : مركبات عضوية يتطلبها النمو بكميات ضئيلة جدا

وكلا من عوامل النمو والفيتامينات هي مركبات تفتقد الاحياء المجهرية القدرة على تخليقها لذا تحتاج الى اضافتها في وسطها لغرض نموها .

Auxotrophic Microorganism : هو ذلك الكائن الحي المجهري الذي يفقد القدرة على تكوين الفيتامينات او عامل النمو

Prototrophic Microorganism : هو الكائن الحي المجهري الذي يستطيع تخليق الفيتامين او عامل النمو .

Indispensable : هي حالة كون عوامل النمو او الفيتامينات ضرورية للنمو بحيث لا يحصل اي نمو الا عند توفرها (الكائن الحي المجهري في هذه الحالة فاقد القدرة على تكوين عامل او الفيتامين).

Accessory او المهيج Stimulatory : هو الكائن المجهري الذي يستطيع ان يكون الفيتامين او عامل النمو ولكن بكميات غير كافية وهنا يكون عامل النمو اضافيا او مهيجا للنمو .

يجب ان تتوافر عوامل النمو والفيتامينات بتراكيز معينة لحصول حالة نمو مثلى لانه اذا زاد تركيزها عن الحد الواجب توفره تصبح سمية وبصورة عامة تتناسب كمية الزرع تناسب طرديا مع كمية عامل النمو حتى الوصول الى كمية قصوى من هذا العامل وان اي زيادة بعدها تصبح ضارة بالنمو . والتراكيز التي يحتاجها الكائن الحي المجهري من هذه الفيتامينات او عوامل

النمو تعتمد على الظروف او العوامل الاخرى مثل طبيعة المواد الغذائية الاخرى المتوفرة ، الدالة الحامضية ، التهوية ، درجة الحرارة . فمثلا خميرة *Saccharomyces cerevisiae* تنمو جيدا في الوسط الزرعي بدرجة حرارة 30 مْ ودون الحاجة الى فيتامين panthathonic acid لكنها تحتاج لهذا الفيتامين عند نموها بدرجة حرارة 38 مْ . وفي بعض الاحيان تنعدم الحاجة الى فيتامين او عامل نمو معين اذا توفرت في الوسط الزرعي المواد التي يتخلق منها فمثلا بكتريا *Corynebacterium diphtheria* تحتاج الى فيتامين pantathonic acid وتستطيع النمو في وسط حاوي على B-alanine والذي يدل على انها تستطيع تخليق الفيتامين الاول من B-alanine بسلسلة من التفاعلات تكون فيها اولا حامض pantoic acid ثم تكون بعدها pantathonic acid كذلك تنهي الحاجة الى الفيتامين او عامل النمو اذا توفرت في الوسط المادة التي تخلق منه مثلا pimelic acid الذي يعتبر عامل لنموبكتريا الدفتريا ومنه تخلق Biotin لذا لا توجد حاجة للحامض عند توفر Biotin في الوسط الزرعي .

الثايمين يتكون من جزئين حلقين هما Pyrimidine و Thiazole بعض الطحالب تحتاج لكلا الجزئين لتصنيع الثايمين منها طحلب *Amphora coffaeiformis* والبعض الاخر يحتاج لوجود جزء واحد فقط في نموها واذا كان الفيتامين بعدة اشكال يمكن ان يتحول من شكل الى اخر فعند تواجد احد هذه الاشكال في الوسط الزرعي فانه يعوض عن الحاجة ويساعد في استمرار النمو مثل فيتامين B_6 والذي يتواجد بثلاثة اشكال .