



كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : جراثيم وفيروسات

المحاضرة : 5+4 / نظري / د.مرسال

{{ مكتبة A to Z }}

مكتبة A to Z Facebook Group :

كلية العلوم

14

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

المحاضرتين الرابعة والخامسة

التنفس والنمو عند الأحياء الدقيقة والعلاقات بين الأحياء

التنفس عند الأحياء الدقيقة

التنفس عبارة عن تفاعل معقد لعملية أكسدة بيولوجية (حيوية) لمواد عضوية مختلفة يترافق مع طاقة مطروحة.

من المعروف أن النباتات تحصل على الطاقة الشمسية باستخدام اليخضور (الكلوروفيل) لممارسة نشاطها الحياتي، في حين أن الأحياء الدقيقة تحصل على طاقتها باستخدام التفاعلات الكيميائية التي تترافق مع نشر الطاقة، وهذه الطاقة تعتبر القوة المحركة للخلية حيث تستفيد منها الخلايا بتركيب المركبات العضوية المعقدة الضرورية لحياتها.

وحسب نمط التنفس يمكن تقسم الأحياء الدقيقة إلى مجموعتين:

الأحياء الدقيقة الهوائية :

أو الأحياء الدقيقة ذات التنفس الهوائي Aerobic وهي الأحياء التي تستخدم أكسجين الهواء.

الأحياء الدقيقة اللاهوائية :

أو الأحياء الدقيقة ذات التنفس اللاهوائي Anaerobic وهي الأحياء التي لا تتطلب في تنفسها أكسجين الهواء، وتنقسم بدورها إلى مجموعتين:

المجموعة الأولى :

الأحياء الدقيقة اللاهوائية : التي تعيش بمعزل تام عن الهواء ويكون أكسجين الهواء ساماً لها.

المجموعة الثانية :

الأحياء الدقيقة اللاهوائية الاختيارية : التي تعيش بوجود الأكسجين أو بمعزل عنه على حد سواء. إن عملية التصنيف حسب نمط التنفس شرطية لأن التنفس لا يتعلق فقط بعلاقة الأحياء الدقيقة بأكسجين الهواء، بل بنوعية الأنزيمات المشاركة فيه.

إن الفصل بين عمليتي التغذية والتنفس عند الأحياء الدقيقة غير ممكن، لأنهما تسيران على التوازي، والحرارة اللازمة لتشكيل البروتينات والمركبات العضوية الأخرى خلال العملية الأولى (التغذية) تستمد من الخلايا من العملية الثانية (التنفس) التي تترافق مع نشر الطاقة وبعملتي التنفس والتغذية يمكن أن يشترك مركب واحد مثل السكر الذي يحرق في عملية التنفس لنشر الطاقة، ويستخدم بنفس الوقت في عملية بناء البروتين الخلوي.

في الطبيعة كذلك توجد مجموعة من البكتيريا تتم فيها عملية التنفس بأكسدة بعض المواد اللاعضوية مثل البكتيريا المشكلة للنترت والتي تقوم بأكسدة أملاح الأمونيوم إلى أملاح النترت ، ومن ثم إلى أملاح النترات .

في عام ١٨٦١ اكتشف باستور البكتيريا التي تقوم بعملية التنفس بمعزل عن أكسجين الهواء، وتسمى هذه العملية بالتخمير Fermentation، وقد أحدث اكتشافها خلافاً في نظرية التنفس التي اعتمدت في ذلك الوقت على ربط الحياة بالأكسجين.

في السنوات الأخيرة حددت نظرية الطاقة الحيوية أن المرحلة الأولى من عملية التنفس تتم بنزع الهيدروجين من المواد المغذية بواسطة أنزيمات معينة، والمرحلة الثانية تتم باتحاد الهيدروجين المنزوع مع أكسجين الهواء فتتشكل جزيئة ماء، وهذا يعني حدوث تفاعلات أكسدة وإرجاع لذرات الكربون.

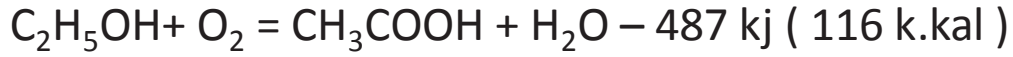
وخلال عملية التنفس الهوائي تتم عملية أكسدة تامة للمواد العضوية وصولاً إلى المنتجات النهائية (غاز ثاني أكسيد الكربون والماء) وانتشار كمية من الطاقة.



نتيجة لعملية تأكسد جزيء من السكر (الغلوكوز) انتشرت كمية من الحرارة قدرها ٢٨٢٢ كيلو جول أو ٦٧٤ كيلو كالوري، وهي بمثابة طاقة كامنة حرارية تستخدمها الخلية في عملياتها الحياتية.

(إن معدل الاستفادة من هذه الحرارة جزئي ولا يتجاوز ١٥ - ٢٥ % من الحرارة الكلية).

ويمكن أن تتم عملية الأكسدة بشكل جزئي، ويبقى السكر في الخلية كطاقة احتياطية وعلى سبيل المثال فإن بكتريا حمض الخل تعمل على أكسدة الكحول الإيثيلي إلى حمض الخل :



وعند الضرورة وبالظروف المناسبة تتم الأكسدة إلى غاز ثاني أكسيد الكربون والماء



أما في عمليات التنفس اللاهوائي (التخمير) فتستخدم الأحياء الدقيقة الكربوهيدرات وبعض الحموض العضوية كمصدر للطاقة، وضمن المنتجات النهائية يكون أحد المركبات غير متأكسد بالشكل الكامل:



الأنزيمات وأهميتها في حياة الأحياء الدقيقة

إن عمليتي التغذية والتنفس في خلايا الأحياء الدقيقة تتم بمشاركة الأنزيمات Enzymes التي تعتبر من خلال دورها في هاتين العمليتين كوسيط عضوي معقد، مما يعني أن كمية ضئيلة من الأنزيم قادرة على الدخول كوسيط في عدد لا متناه من التفاعلات في حالة عدم عطب هذا الأنزيم.

على سبيل المثال جزء واحد من أنزيم الأنفحة Chymosin قادر على تحويل ١٢ مليون جزء من الحليب في حال عدم عطبه، وكذلك الأمر فإن غراماً من أنزيم الأميلاز Amylase قادر على الدخول كوسيط في عملية تحويل طن واحد من النشاء إلى الغلوكوز.

إن تركيب الأنزيمات يتم داخل الخلية البكتيرية، وتمارس هذه الأنزيمات نشاطها داخل الخلية، وبعضها يحتفظ بنشاطه حتى خارج الخلية.

تمتاز الأنزيمات بعدم ثباتها وعطبها عند ارتفاع درجة الحرارة، وتمتاز كذلك بتأثيرها النوعي، فأنزيم اللاكتاز Lactase يدخل في حلمة اللاكتوز كوسيط، ولا يؤثر في السكاكر الثنائية الأخرى مثل المالتوز والسكروروز.

الأنزيمات التي تمارس نشاطها خارج الخلية والتي تسمى بـ Exoferment تتحلل في الوسط المغذي، وتكون مرتبطة بشكل رئيسي بعملية التغذية وتعمل على تفكيك مكونات الوسط المعقدة (بروتين ، نشاء ، سيللوز ..) إلى جزئيات أبسط تمهيداً لانتقالها إلى داخل الخلية.

أما الأنزيمات التي تمارس نشاطها فقط داخل الخلية والتي تسمى بـ Endoferment فإنها تبقى مرتبطة بالسيتوبلازما وتعمل على عمليات التفكيك التالية تمهيداً لتمثلها.

نمو البكتريا Bacterial Growth

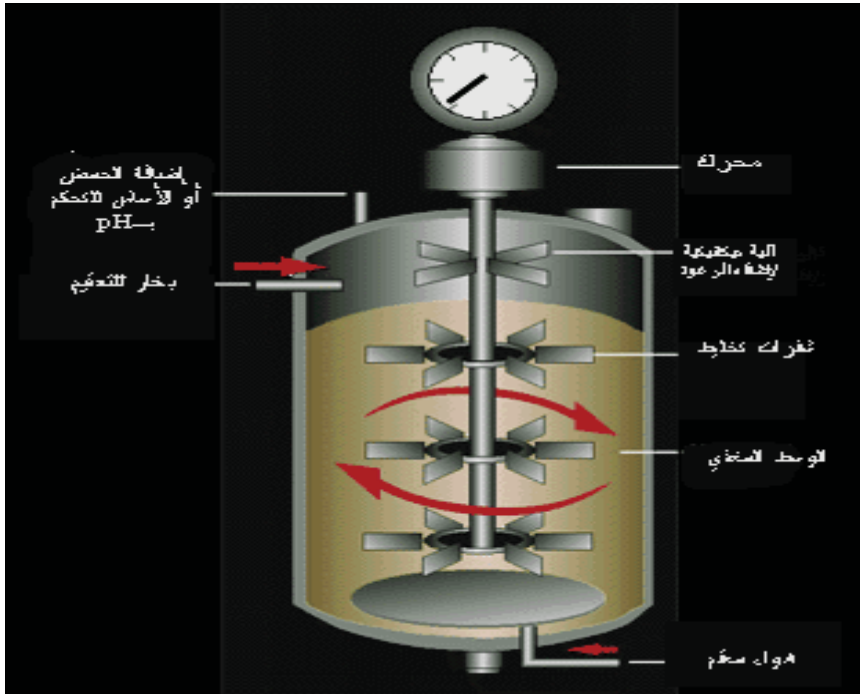
عند وصول خلايا أحد أنواع البكتريا إلى بيئة مغذية مناسبة للنمو من حيث تركيب الوسط المغذي ، pH الوسط، درجة الحرارة، هوائية الوسط، وتركيز المواد السامة أو المثبطة للنمو..... ، تبدأ هذه الخلايا بالنمو والتكاثر مشكلة المزرعة البكتيرية ذات المواصفات الوظيفية المرتبطة بمواصفات الخلايا الأم.

يعتمد تكاثر خلايا البكتريا على استهلاك مكونات الوسط المغذي، والاستفادة من عناصره في الحصول على الطاقة، وتركيب خلايا جديدة إضافة إلى المحافظة على حياة الخلايا الموجودة وتأمين متطلباتها الفيزيولوجية المختلفة، ويرافق ذلك طرح نواتج الاستقلاب والفضلات ونواتج نشاط الخلايا إلى الوسط الخارجي، مما يزيد من تركيزها لحظة بعد لحظة، وتستمر عملية النمو والتكاثر مادام هناك وفر من المواد المغذية الضرورية للنمو، وتتوقف عند نفاذ مصدر الطاقة أو أي عنصر من العناصر الضرورية لعملية النمو، أو عند ارتفاع تركيز الفضلات والسموم أو نواتج النشاط الفيزيولوجي للبكتريا، فعلى سبيل المثال تقوم البكتريا اللبنية بتحويل اللاكتوز إلى حمض اللبن، وفي حال ثبات الشروط الأخرى يستمر نشاط البكتريا اللبنية ما دام هناك وفر من سكر اللاكتوز في الوسط المغذي، ويتوقف عند نفاذه ، ويتوقف كذلك عند ارتفاع تركيز الفضلات والسموم، أو ارتفاع تركيز نواتج عملية التخمير (حمض اللبن الناتج) الذي يصل إلى درجة معينة لا تحتملها البكتريا فيتوقف نشاطها.

وخلال عملية نمو البكتريا في الوسط المغذي نميز حالتين:

الحالة الأولى : لا يضاف إلى المخمر (المزرعة البكتيرية أو الوسط المغذي) أي مواد مغذية جديدة، ولا يطرح من الوسط أي من نواتج نشاط الخلايا أو نواتج الاستقلاب إلى الوسط الخارجي، وتسمى المزرعة البكتيرية في هذه الحالة بالمجموعة الساكنة أو الجملة المغلقة الساكنة.

الحالة الثانية : عندما تضاف إلى المجموعة خلال عملية التكاثر مواد مغذية جديدة بتدفق ثابت أو متغير، وتطرح نواتج نشاط الخلايا جزئياً أو كلياً أو نواتج الاستقلاب إلى الوسط الخارجي، وتسمى المجموعة أو الجملة في هذه الحالة بالمجموعة أو الجملة المفتوحة.



منحني النمو : growth curve

إن دراسة المستعمرة البكتيرية من الناحية الديناميكية والحركية في الجملة المغلقة (الحالة الأولى) ، تتطلب تحديد عدد عناصرها (الخلايا البكتيرية) أو تحديد وزن كل (الكتلة الحيوية B) Biomass . وتجدر الملاحظة إلى أن تغيير أبعاد الخلية في ذات المزرعة لسبب ما مع الاحتفاظ بعدد الخلايا، يؤدي إلى تغيير في الكتلة الحيوية بشكل ملحوظ.

كثافة المزرعة البكتيرية Density : تحدد بعدد الخلايا في وحدة الحجم (وأحياناً الموجودة في وحدة السطح) ، وفي المجال الميكروبيولوجي يستخدم مصطلح التركيز Concentration ، حيث أن تركيز الكتلة الحيوية يعبر عنه بنسبة الكتلة الحيوية إلى حجمها (غ / ل ، مغ / مل ...) .

تعرف سرعة النمو μ بأنها زيادة تركيز الكتلة الحيوية في وحدة الزمن

زمن الجيل الواحد g لبعض أنواع البكتيريا

Bacterium البكتيريا	Medium الوسط المغذي	Generation Time g (minutes)
<i>Escherichia coli</i>	Glucose-salts	17
<i>Bacillus megaterium</i>	Sucrose-salts	25
<i>Streptococcus lactis</i>	Milk	26
<i>Streptococcus lactis</i>	Lactose broth	48
<i>Staphylococcus aureus</i>	Heart infusion broth	27-30
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Milk	66-87
<i>Rhizobium japonicum</i>	Mannitol-salts-yeast extract	344-461
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Synthetic صناعي	792-932

أولاً : الطريقة الدورية للنمو: (الطريقة المتقطعة على دفعات)

تتم هذه الطريقة في المخمر (مجموعة مغلقة) دون اتصال مع الوسط الخارجي (ويقصد بالاتصال مع الوسط الخارجي من حيث إضافة مواد مغذية جديدة كمصدر للطاقة، أو طرح لنواتج التمثيل الغذائي).

- يقسم منحنى النمو إلى أربع مراحل أو أطوار :
- الطور التمهيدي أو طور التأقلم Lag Phase .
- الطور اللوغاريتمي Logarithmic Phase .
- طور الثبات أو الاستقرار Stationary Phase .
- طور الموت Death Phase .

ثانياً : الطريقة المستمرة في النمو

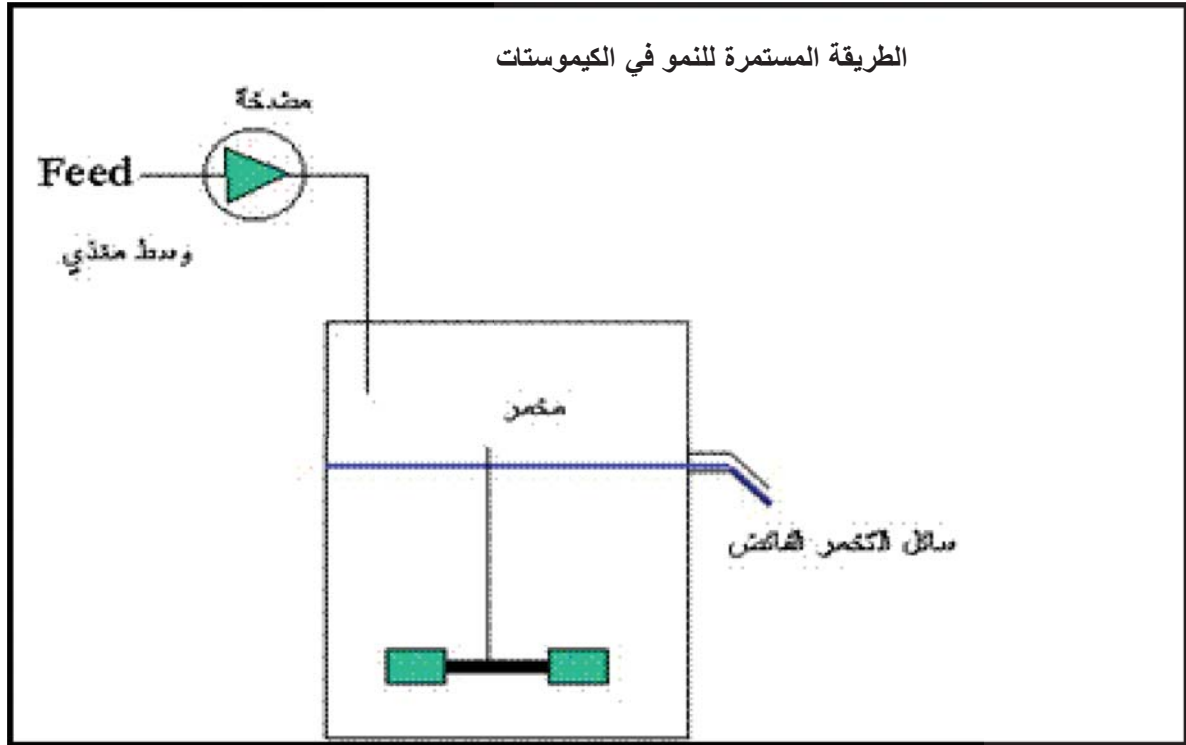
تتم هذه الطريقة في مجموعة مفتوحة على اتصال دائم مع الوسط الخارجي، حيث يتم ضخ المادة المغذية إلى داخل المجموعة بتدفق ثابت وطرح كمية مقابلة من وسط المادة بما تحويه من مخلفات عمليات الاستقلاب خارجاً، وبشكل آخر يمكن أن نقول إن حجم سائل التخمر (وسط النمو) في المفاعل الحيوي Fermenteur يبقى ثابتاً لأن حجم السائل المغذي الذي يتم إمداد المفاعل الحيوي به يساوي حجم السائل المطروح، مما يضمن تأمين شروط قريبة جداً من شروط الطور اللوغاريتمي، حيث يتبين إمكانية المحافظة على الحجم الثابت للوسط المغذي عن طريق انسياب الفائض من السائل عبر فتحة (مخرج) على مستوى معين، مما يضمن حجماً ثابتاً لسائل التخمر داخل المفاعل الحيوي، ويمكن استخدام مضخة مثبتة عند مستوى معين لطرح الفائض، وبهذه الطريقة يمكن التحكم بحجم سائل التخمر داخل المخمر. إن المفهوم الحركي للطريقة المستمرة في الكيموستات Chemostat يتحدد من خلال عمليتين متعاكستين:

العملية الأولى:

تنحصر في تكاثر خلايا البكتريا وانقسامها الذي يترافق مع تدفق مصدر الطاقة إلى المفاعل الحيوي

العملية الثانية:

تنحصر في طرح جزء من سائل التخمر من المفاعل الحيوي بحجم يساوي الكمية المتدفقة إليه.



أثر العوامل الخارجية في نشاط الأحياء الدقيقة

للسطح الخارجي تأثير كبير في حياة الأحياء الدقيقة. فالرطوبة والحرارة والضوء ووجود الأكسجين وغيرها من العوامل الخارجية التي تؤثر في نمو وتوزيع الأحياء الدقيقة في الطبيعة، ويرتبط هذا التأثير بالخواص البيولوجية للكائن الحي، كما يعتمد على آلية تأثير العامل، إذ يمكن أن يكون تأثير أحد العوامل إيجابياً ومنشطاً على كائن ما، وبنفس الوقت يمكن أن يؤثر بشكل سلبي ومميت على آخر.

من العوامل الخارجية التي تؤثر في نمو ونشاط الأحياء الدقيقة:

العوامل الفيزيائية :

الحرارة ، الرطوبة ، الضوء ، الإشعاع ، الكهرباء ، المؤثرات الميكانيكية والضغط ...

العوامل الكيميائية :

الحموض ، كلوريد الزئبق، كلور الكلس القاصر ... ومواد كيميائية أخرى كثيرة ...

العوامل الحيوية (البيولوجية) :

العلاقات بين الأحياء الدقيقة والكائنات الأخرى ، المضادات الحيوية Antibiotics ، ملتهم الجراثيم Bacteriophage ، الليزوزيم Lysozyme .

١ - العوامل الفيزيائية :

١- الحرارة temperature :

تمارس الأحياء الدقيقة نشاطها في مجال حراري محدد ، وعند تعرضها لدرجات حرارة غير مناسبة فإن هذا النشاط يضعف أو يتوقف نهائياً .

تعد الميكروبات أكثر الكائنات الحية تأقلاً مع درجات الحرارة المتغيرة مقارنة بالكائنات الراقية ، فالبكتريا الديمة Saprophytic Bact. تمارس نشاطها في المجال [٢٠ - ٣٠°C] في حين أن بكتريا Bacillus subtilis تمارس نشاطها في المجال [٥٠ - ٦٠ °C] وأوج نشاطها في المجال [٣٧ - ٥٠°C] .

تمارس الميكروبات الممرضة التي تصيب أجسام الكائنات ذات الدم الحار نشاطها الاعتيادي بدرجة حرارة متقاربة مع حرارة الأجسام المضيفة [٣٥-٣٧ °C] ولا تتحمل تغيرات درجات الحرارة.

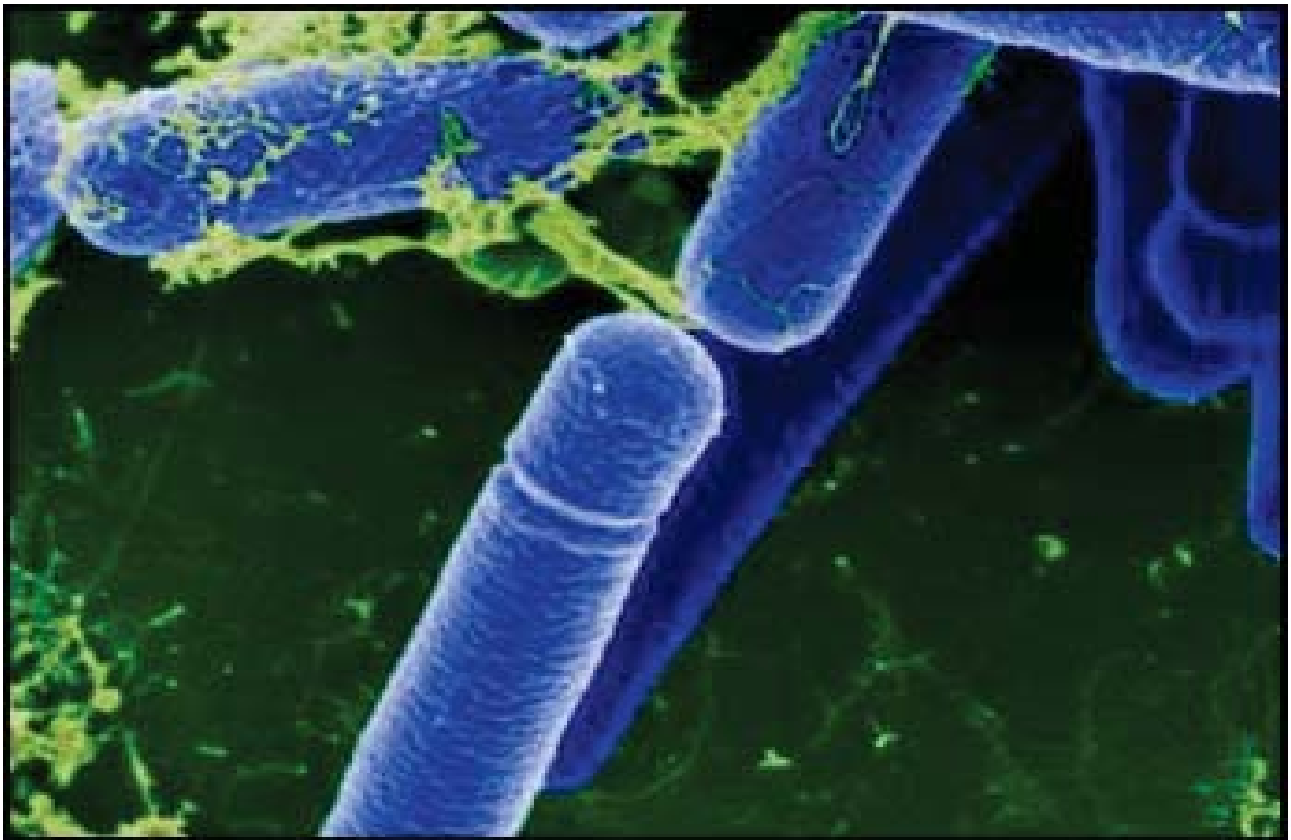
يمكن أن نميز ثلاث درجات حرارة في حياة الميكروبات: درجة الحرارة الدنيا والعظمى ، والمثلى .

يقصد بدرجة الحرارة المثلى تلك الدرجة التي يكون فيها نشاط الميكروب أعظماً ،

أما درجة الحرارة الدنيا فهي أدنى درجة حرارة يتحملها الميكروب ويمارس فيها نشاطه، ويتوقف هذا النشاط في حال تجاوزها انخفاضاً.

ودرجة الحرارة العظمى أعلى درجة حرارة يتحملها الميكروب ويمارس فيها نشاطه، ويتوقف هذا النشاط في حال تجاوزها ارتفاعاً.

- عصيات Bacillus subtilis



يمكن تقسيم الأحياء الدقيقة تبعاً لعلاقتها بدرجة الحرارة إلى ثلاث مجموعات :

الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة : Thermophiles

هي مجموعة الأحياء الدقيقة التي تمارس نشاطها بدرجات الحرارة العالية نسبياً والتي تصل درجة حرارتها العظمى إلى 80°C و درجة حرارتها المثلى $50-60^{\circ}\text{C}$ أما درجة حرارتها الدنيا فهي 35°C ، وتعيش هذه الأحياء الدقيقة في مياه الينابيع الحارة والسطح الخارجي للتربة، وتمارس نشاطها على سطح الحبوب الرطبة ، الطحين ، والقطن حيث تفكك موادها العضوية وترتفع درجة حرارتها ، وفي حال وصول درجة الحرارة إلى 90°C يتوقف نشاط هذه الأحياء الدقيقة .

الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة المتوسطة : Mesophiles

تضم هذه المجموعة العدد الأكبر من الأحياء الدقيقة لأن مجالها الحراري $[25 - 36^{\circ}\text{C}]$ معتدل ومناسب لنموها، ويتوقف نشاط هذه الأحياء الدقيقة في المجال $[43 - 50^{\circ}\text{C}]$ (درجة الحرارة العظمى) أما درجة حرارتها الصغرى فهي 10°C .
وتتنمي إلى هذه المجموعة الميكروبات الممرضة التي تعيش في أجسام الكائنات الحية ذات الدم الحار وبكتريا التعفن (الرميات)
. Saprophylic

الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة Psychrophiles

تضم مجموعة الأحياء الدقيقة التي تنمو وتتطور بدرجة حرارة منخفضة مثل البكتيريا التي تعيش في المستنقعات الباردة والأماكن الباردة (البرادات) وبعض أنواع البكتيريا التي تسبب تعفن الأسماك والنباتات المائية ، وتعد هذه المجموعة من الأحياء الدقيقة المسؤولة عن فساد الأغذية المحفوظة بالتبريد .

درجة الحرارة المثلى لهذه المجموعة [٢٠°C - ١٥] والصغرى [٠°C - ٦ (-)]

درجات الحرارة المنخفضة :

إن درجات الحرارة المنخفضة لا تميت الأحياء الدقيقة بل توقف نشاطها ، حيث تتوقف تفاعلات التعفن والتفسخ والتخمر ، لهذا تستخدم درجات الحرارة المنخفضة كوسيلة لحفظ المواد الغذائية (اللحم ، الألبان ، الأسماك) والمواد الأخرى سريعة التلف .

يتوقف نمو وتطور أغلب أنواع البكتيريا العنقية مثل العصيات المعوية ، وكذلك الكثير من الخمائر في درجة الحرارة ٢-٣ °C ، أما البكتيريا الممرضة والبكتيريا اللبنية فلا تتكاثر بدرجات حرارة أقل من ١٠ °C .

تتحمل بعض أنواع البكتيريا درجات حرارة منخفضة جداً لفترات زمنية طويلة جدا ، فمنها يتحمل درجة حرارة الهواء السائل (١٩٠°C -) ودرجات حرارة الهيدروجين السائل (٢٥٢°C -) .

تتباطأ عمليات الاستقلاب الحيوي تدريجياً مع انخفاض درجة حرارة الوسط عن الدرجة المثلى للكائن الحي ، وتتوقف عملية الاستقلاب بانخفاض درجة الحرارة عن الدرجة الدنيا ، ويحافظ الكائن الحي الدقيق على قدرته على الحياة ، لكن مع استمرار تأثير درجات الحرارة المنخفضة (اخفض من الصفر المئوي) في الكائن الحي الدقيق يؤدي تدريجياً إلى موت الخلايا بسبب ارتفاع الضغط الحلولي في الخلية نتيجة تجمد الماء الحر في السيتوبلازما .

تحدث عدة تغيرات في خلايا الأحياء الدقيقة نتيجة لانخفاض درجات الحرارة مثل تغير لزوجة البروتوبلازما ، وتغير درجة التشتت الغروي للمكونات البروتينية ، ويتوقف نشاط الأنزيمات، وتنخفض سرعة التفاعلات البيوكيميائية داخل الخلية ، وتشكل شوارد كلور الصوديوم المنحل في الماء خارج خلايا الأحياء الدقيقة أثراً مميتاً في الخلايا عند انخفاض درجات الحرارة إلى أدنى من $^{\circ}\text{C}$ (٢٠ -) .

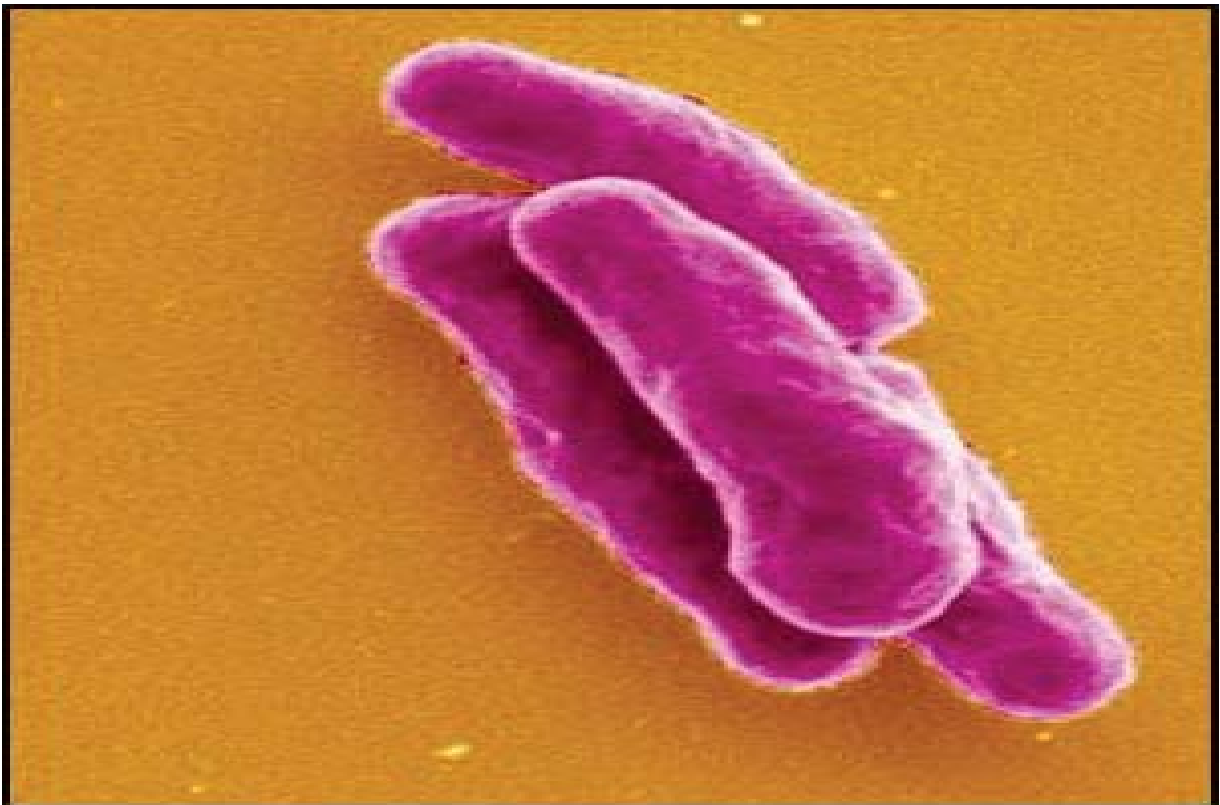
درجات الحرارة العالية :

ينخفض النشاط التكاثري عند الأحياء الدقيقة بارتفاع درجة الحرارة عن الدرجة المثلى ، ويتوقف تطورها بشكل كامل بارتفاع درجة الحرارة عن الدرجة العظمى وتموت فيما بعد ، وتسمى الأحياء الدقيقة الثابتة اتجاه الحرارة العالية **Thermo stabile** أو **Heat resistant** .

تحدث درجات الحرارة العالية تغيرات غير عكوسة تعرف بتخثر البروتين ، وحيث إن الأنزيمات تحوي في تركيبها على البروتين فإنها تتخثر وتتسبب بالحرارة ، وبالمقابل نجد أن البكتريا المقاومة للحرارة تحوي على أنزيمات مقاومة للحرارة ، لهذا نجد أن التسخين لدرجة الحرارة $^{\circ}\text{C}$ ٦٠ يميت معظم الأحياء الدقيقة باستثناء تلك المقاومة للحرارة والتي تتكاثر بالأبواغ .

إن تعرض الأحياء الدقيقة لدرجة الحرارة 60°C يميتها خلال ٣٠-٦٠ دقيقة ، في حين أن تعرضها لدرجة الحرارة 70°C يميتها خلال ١٠ - ١٥ دقيقة فقط ، أما التسخين لدرجة الغليان فيميت الأحياء الدقيقة بشكل آني ، ويعد عامل مرض السل من البكتريا غير المتبوغة والأكثر مقاومة للحرارة.

البكتريا المسببة لمرض السل *Mycobacterium tuberculosis* .



تتحمل الأحياء الدقيقة التي تتكاثر بالأبواغ درجات حرارة عالية نسبياً وأبواغ هذه الأحياء الدقيقة تتحمل درجة الغليان خلال زمن يبدأ من عدة دقائق كما في أبواغ *Bacillus subtilis* وينتهي عند زمن يزيد عن الست ساعات كما في *Clostridium botulinum*-
ومنها ما يتحمل درجة الحرارة 120°C لمدة ١٥ دقيقة كأبواغ *Actinomyces*.

بكتريا *Clostridium*



إن خاصية مقاومة الحرارة عند نوع ما من الأحياء الدقيقة لا تعتبر صفة دائمة، وترتبط بعوامل كثيرة أهمها عمر الخلايا ، ومحتوى وخواص الوسط الموجودة فيه، فالخلايا المأخوذة بنهاية طور النمو اللوغاريتمي تعتبر أكثر مقاومة للحرارة ، ووجود الأملاح والبروتينات والدهن في الوسط يزيد من مقاومة الأحياء الدقيقة للحرارة ، لهذا نجد أن البكتيريا المتواجدة في الحليب تتحمل درجات حرارة أعلى من تلك التي تتحملها فيما لو وجدت في الماء.

تنخفض مقاومة الأحياء الدقيقة للحرارة بانخفاض درجة pH الوسط وبارتفاع رطوبة الوسط ، حيث تموت الأحياء الدقيقة في الأوساط الرطبة بسرعة أكبر مقارنة بالأوساط الجافة ، نتيجة لتخثر البروتين بدرجات حرارة أخفض .

٢ - التجفيف :

إن دخول المواد المغذية إلى الخلايا، وطرح الفضلات منها يتم بواسطة المحاليل المائية، لهذا تعد الميكروبات حساسة جداً تجاه الجفاف، ودرجة تحملها للجفاف تختلف باختلاف مواصفاتها وطريقة التجفيف المتبعة، في حين أن الأبواغ لا تتأثر بالجفاف، حيث تحافظ على هذا الشكل من الحياة بحالة الجفاف عشرات السنين.

تتحمل المكورات العنقودية *Staphylococcus* - حالة الجفاف لمدة تصل إلى السنتين، والعصيات اللبنية لغاية عشر سنوات، أما عصيات السل فتتحمل الجفاف من ثلاثة أشهر وحتى تسعة أشهر نتيجة لنزع الماء من الخلية، و تضعف التفاعلات الحياتية فيها وتتوقف عملية الانقسام.

لهذا وبهدف حفظ بعض الأغذية (اللحم ، السمك ، الحليب ، الخضار ، الفواكه) يتم تجفيفها، وبإعادة ترطيب هذه المواد المجففة تنشط الأحياء الدقيقة وتتكاثر بسرعة مسببة تلفها.

لوقف نشاط الأحياء الدقيقة لا يتطلب الأمر التجفيف الكامل، بل يكفي تخفيض نسبة الرطوبة لدرجة محددة كافية لوقف التفاعلات الحياتية (الرطوبة الحدية)، والحد الأدنى الكافي لاستمرار نمو البكتريا يقارب % ٣٠ في حين أن الفطور تستمر بنموها في رطوبة % ١٥ .

٣- الضوء Light :

تؤثر أشعة الشمس المباشرة بشكل مميت على كافة البكتريا باستثناء البكتريا الضوئية التي تنمو في الأماكن المضاءة وتحول الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية تستفيد منها .

يتوقف نمو البكتريا وتموت عند تعرضها لأشعة الشمس المباشرة خلال فترة زمنية محددة تبدأ بعدة دقائق وتنتهي بساعات، أما الضوء المتبدد فيؤثر بشكل أضعف في الميكروبات، ويختلف تأثيره باختلاف الفترة الزمنية لتعرض الميكروبات له. وحرصاً على عدم تعرض المستنبتات البكتيرية في المختبرات للضوء المتبدد وحرصاً على عدم جفافها ، يتم حفظها في أماكن مظلمة.

٤ - الإشعاعات والكهرباء:

يختلف تأثير الإشعاعات على الخلايا الحية حسب طول الموجة وشدتها ومدة التأثير، ويمكن أن نميز نمطين للإشعاعات:

الإشعاعات غير المؤينة Nonionizing radiation:

الإشعاعات غير المؤينة هي إشعاعات ذات موجات أطول من الإشعاعات المؤينة وأقل طاقة منها، مثل الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet light (UV) حيث تصل طول موجاتها إلى ٢٦٠ نانوميتر، وتعد أكثر الموجات إبادة للميكروبات، لأنها تمتص بشكل جيد من قبل DNA مما يتسبب في تخرّبها.

وتستخدم الأشعة فوق البنفسجية على شكل مصابيح بنطاق واسع في تعقيم الهواء وتعقيم الصالات والأماكن التي يتم فيها استنبات مزارع ميكروبية بهدف التصنيع (تصنيع المضادات الحيوية والفيتامينات)، وغرف العمليات ومصانع عديدة.

حيث أن الأشعة فوق البنفسجية تقتل الميكروبات والأبواغ التي تتعرض مباشرة لها، وبما أنها تمتاز بضعف النفاذية فالميكروبات المغطاة بالورق أو الزجاج والأقمشة لا تتأثر بها، مع الإشارة إلى أن للأشعة فوق البنفسجية تأثيراً مدمراً إلى حد ما في جلد الإنسان وعينه.

إن أشعة الشمس تشمل إضافة إلى الأشعة فوق البنفسجية على الأشعة تحت الحمراء Infra red، وهي ذات موجات طويلة وطاقة منخفضة، تتحول بسرعة إلى طاقة حرارية.

الإشعاعات المؤينة : Ionizing radiation

الإشعاعات المؤينة هي إشعاعات ذات طول موجة أقصر من الإشعاعات غير المؤينة ، مثل أشعة الراديو ورونتجن (أشعة X) ، و تنتج نواة العناصر المشعة عند تفككها ثلاثة أنواع من الأشعة: ألفا (α) ، بيتا (β) ، و غاما (γ) وأكثرها نفوذاً هي أشعة غاما، والأثر الكيميائي والبيولوجي لهذه الأشعة غير متشابه ، إلا أن أشعة غاما تعتبر أقل نشاطاً من أشعة ألفا وبيتا ولها قدرة كبيرة على النفاذ إلى الخلايا مسببة تخرّبها نتيجة تأين الماء وتشكل جذور حرة فعالة قادرة على تخریب شريط DNA في النواة.

إن الجرعات الصغيرة من الأشعة المؤينة وبشكل متقطع (غير مستمر) تحفز الخلية البكتيرية على الانقسام و التكاثر، وعند بعض الميكروبات يزداد نشاط التخليق للدهون والحموض النووية والمضادات الحيوية

أما في حال تعرضها لجرعات كبيرة فتحدث تغيرات عميقة في بنية الخلية الميكروبية، وتتسبب في تفاعلات غير عكوسة تؤدي إلى موتها، ومع ذلك لا تستخدم الإشعاعات المؤينة على نطاق واسع في التعقيم، فالأغذية المعقمة بأشعة X أو أشعة γ يتبدل لونها ونكهتها ورائحتها، إضافة إلى غلاء الأجهزة المستخدمة. ولذلك تستخدم مثلاً في تعقيم المواد الصيدلانية والأدوات الطبية التي تستعمل لمرة واحدة.

تعد الميكروبات بشكل عام أكثر تحملاً للإشعاعات النووية من أجسام الحيوانات، وبمرات عديدة تصل إلى المئات والآلاف ، وتعتبر الخمائر والفطور العفوية أكثر تحملاً لهذه الأشعة من البكتيريا، وتكون الجرعة المميتة لأشعة غاما بحدود ٥٠٠ ألف رونتجن في الدقيقة، وتختلف من ميكروب لآخر أما بالنسبة للكهرباء فإن تأثير التيار (المستمر والمتناوب) في الميكروبات غير ملحوظ، بينما يقتلها التيار الكهربائي ذو التوتر العالي.

٥- الموجات فوق الصوتية Supersonic Wave

إن الموجات فوق الصوتية (بتردد أعلى من ٢٠ كيلو هرتز وخارج مجال السمع البشري الذي يتراوح مجاله بين ١٦-٢٠ كيلو هرتز) التي يمكن الحصول عليها في ظروف المختبر تحمل طاقة ميكانيكية ، وتحدث عدة تغيرات فيزيائية وكيميائية وبيولوجية في خلايا الميكروبات في حال التعرض إليها، فيحدث تعطيل وإبطال للأنزيمات والذيفانات والفيروسات وتهدم الخلايا.

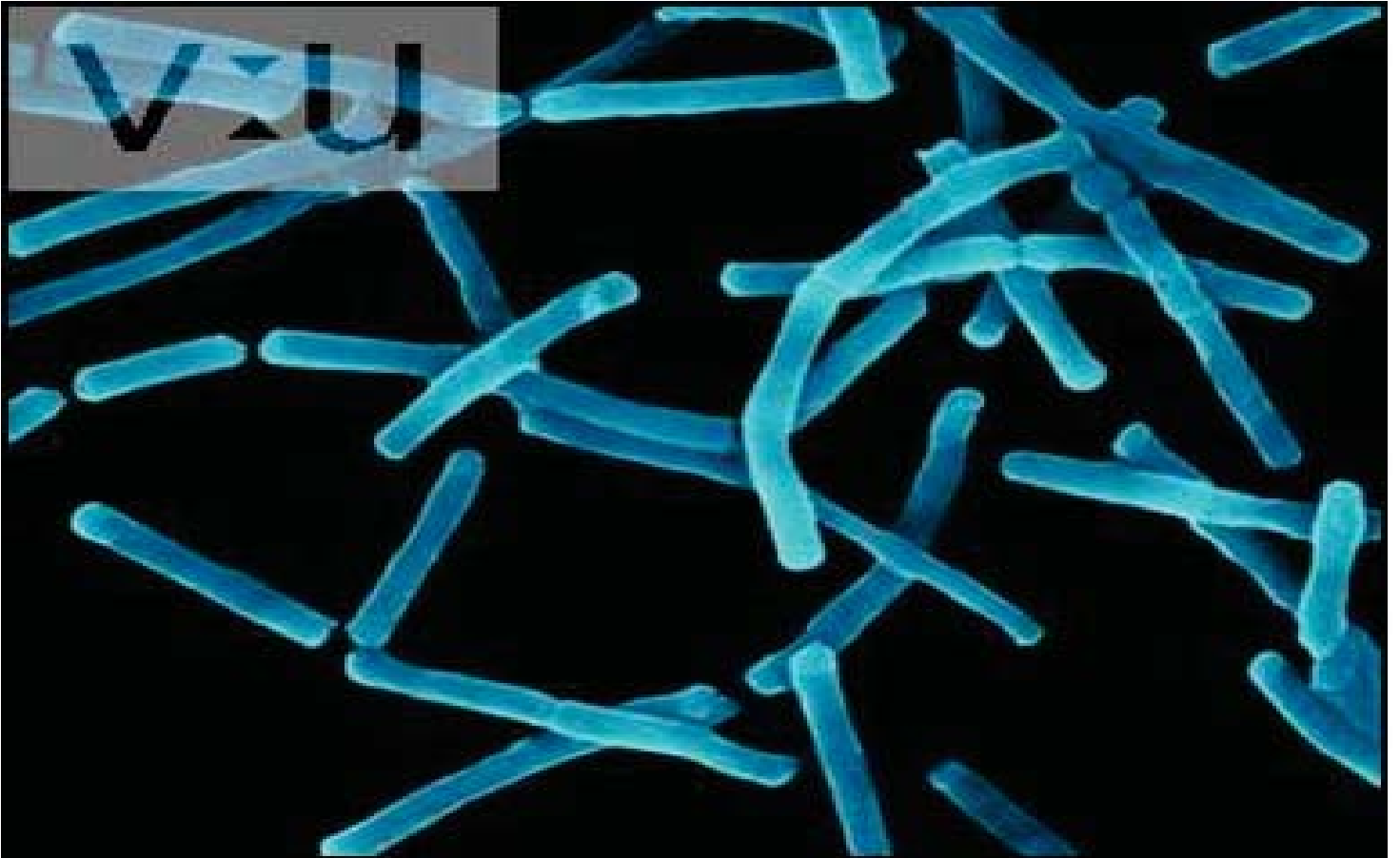
يمكن استخدام الموجات فوق الصوتية في مجال تعقيم المياه والحليب وعصير الفواكه، وفي تطهير الأدوات، وفي استخراج المواد داخل الخلوية كالأنزيمات والسموم والفيتامينات والحموض النووية والمركبات الأخرى . . .

٢- المؤثرات الميكانيكية

للمؤثرات الميكانيكية انعكاس مختلف على الأحياء الدقيقة ، فالاهتزازات الضعيفة بطيئة التواتر تؤثر بشكل إيجابي في نمو وتطور الأحياء الدقيقة، بعكس الاهتزازات القوية سريعة التواتر، مع الإشارة إلى أن التأثيرات المتكررة تسبب تخرب وموت الأحياء الدقيقة عدا الفيروسات.

تعد البكتريا التي تعيش في التربة أكثر حساسية للمؤثرات الميكانيكية مثل عصية *Bacillus megatherium* ، أما البكتريا التي تعيش في المياه الجارية فتعد مقاومة للتأثيرات الميكانيكية .

بكتريا *Bacillus megatherium*.



- تأثير الضغط :

إن ارتفاع الضغط يؤثر بشكل ضعيف في الأحياء الدقيقة، حيث تعيش الأحياء الدقيقة في قاع البحار والمحيطات وتنمو وتتكاثر في شروط من الضغط الهيدروستاتي المرتفع ، والذي يصل إلى عدة مئات من الميغاباسكال (MPa) ، وتبين نتيجة عدة دراسات أن مجموعات مختلفة من البكتريا والخمائر والفطور العفوية تستطيع أن تتحمل ضغوطاً تصل حتى ٣٠٠ ميغاباسكال ، مع الإشارة إلى أن الأحياء الدقيقة أكثر حساسية لانخفاض الضغط المفاجئ.

- ٣ - العوامل الكيميائية :

يختلف تأثير المواد الكيميائية في الأحياء الدقيقة باختلاف طبيعة هذه المواد وتركيزها ونوع الأحياء الدقيقة نفسها ، فبعض من هذه الأحياء الدقيقة تعتبر مقاومة لتأثير المواد الكيميائية مثل عصيات السل والمكورات العنقودية والبكتريا التي تتكاثر بالأبواغ (بسبب انخفاض نسبة رطوبتها وعدم نفوذية جدارها) ، وكثير من المواد الكيميائية تثبط نمو وتكاثر الميكروبات وتسمى في هذه الحالة Bacteriostatic أما المواد التي تؤدي بالنهاية إلى موتها فتوصف بأنها مبيدة Bacteriocidal ، ويعود سبب ذلك إلى التفاعلات التي تتم بين هذه المواد الكيميائية وبروتوبلازما الخلية.

تنخرّب بروتوبلازما الخلية تحت تأثير المثبطات Inhibitor وتتوقف التفاعلات الحيوية فيها ويتوقف انقسامها وتموت.

من العوامل الكيميائية المؤثرة في النشاط الحيوي للأحياء الدقيقة:
التركيب الكيميائي للوسط .
تركيز شوارد الهيدروجين (pH الوسط) .
كمون عمليتي الأكسدة والإرجاع أو هوائية الوسط (rH_2) .
تأثير المواد السامة .

تأثير تركيز شوارد الهيدروجين (تأثير الـ pH) :

يرتبط النشاط الحيوي للأحياء الدقيقة إلى حد كبير بتركيز شوارد الهيدروجين في الوسط ، وتؤثر شوارد الهيدروجين في شحنة المواد الغروية للغشاء الخلوي، مما يؤدي إلى تغير في نفوذيته، ويؤثر تغير درجة الـ pH في مستوى تشتت المواد الغروية للسيتوبلازما ونشاط الأنزيمات وقدرتها على تسريع العمليات البيوكيميائية في الخلايا ، فعلى سبيل المثال تنتج الخمائر في الوسط الحمضي الكحول الإيتيلي بشكل رئيسي وكميات قليلة من الغليسرين ، أما في الوسط القلوي فإنها تنتج الكحول الإيتيلي وكميات مضاعفة من الغليسرين .

إن نمو هذا الميكروب أو ذاك يتم في مجال محدد من الحموضة أو القلوية ، والمجال الأمثل لمعظم الميكروبات هو الوسط المعتدل أو القلوي الخفيف، أما الخمائر فالمجال الأمثل لنموها هو الوسط الحمضي الخفيف.

في حال ارتفاع تركيز شوارد الهيدروجين في الوسط عن الحد الأقصى لمجال الـ pH الملائم لنمو الأحياء الدقيقة فإن نشاطها يتوقف، لهذا عند تحضير الوسط المغذي الملائم لنمو الأحياء الدقيقة في ظروف المختبر يؤخذ بعين الاعتبار الـ pH الملائم لها.

جدول يوضح مجال (pH) نمو بعض الأحياء الدقيقة

(pH)			الأحياء الدقيقة
الحد الأقصى	الأمثل	الحد الأدنى	
٦,٨	٥,٨	٤	١ - الخمائر
٧,٩ ٧,١	-	٥,١ - ٤ ٣,٩-٣	٢ - البكتريا اللبنية Streptococcus lactic Lactobacterium casei
٧,٨	-٦,٥ ٧,٨	٤,٤	٣ - العصيات المعوية Escherichia coli
-	-٦,٩ ٧,٣	٥,٧	٤ - Clostr, amylobacter
٨,٥ ٩,٤	٦,٨ -٧,٥ ٨,٥	٥,٨ ٤,٢	٥ - البكتريا العفنية Bac.mesentericus Clostr . putrificum
-٩,٢ ١١,١	-١,٧ ٧,٧	١,٢	٦ - الفطور Aspergillus niger

تأثير كمون الأكسدة والإرجاع (هوائية الوسط) :

يمكن التأثير في سرعة نمو وتطور الأحياء الدقيقة من خلال التحكم بكمون الأكسدة والإرجاع ، وبذلك يمكن توجيه العمليات البيوكيميائية التي تمارسها ، فمثلا إذا أضفنا للوسط المغذي مستقبلات للهيدروجين كأزرق الميتيلين، فيمكن أن تنمو الأحياء الدقيقة الهوائية في وسط خالٍ من الأكسجين ، وبتخفيض قيمة rH_2 اصطناعيا في الوسط المغذي يمكن أن تنمو الأحياء الدقيقة اللاهوائية على الرغم من وجود الهواء .

تنتج البكتريا اللبنة المنتجة للنكهة حمض اللبن بشكل أساسي عند قيمة rH_2 قريبة من الصفر ، وتنتج عند قيمة rH_2 (٦-٨) إضافة إلى حمض اللبن مركبات النكهة . دلت التجارب العملية على أن أي خلل في نظام التهوية ينعكس بشكل حاد على سير عملية النمو وعلى مردود الكتلة الحيوية للأحياء الدقيقة الهوائية و اللاهوائية الاختيارية .

وتهدف عملية التهوية بشكل عام إلى :

- تأمين انحلال الأكسجين اللازم لعملية نمو الخلايا بسائل التخمير الذي تسبب به .
 - طرح الغازات المتشكلة كنتيجة لعملية التنفس خارج الوسط .
 - تخليط وتدوير الوسط المغذي بحيث يحقق تجانسا مستمرا وتوزعا منتظما للمواد المغذية وللفضلات مع المحافظة على الخلايا بشكل معلق وضمان عدم ترسبها .
- إذا كمية الكتلة الحيوية بالنسبة للأحياء الدقيقة الهوائية والأحياء الدقيقة اللاهوائية الاختيارية تتعلق بكمية الأكسجين المنحل في الوسط المغذي

ثبت عمليا أن الأكسجين يلعب أدوارا متعددة وأساسية ، فمثلا عند زيادة الضغط الجزئي للأكسجين في الوسط تزداد كمية الميتاكوندريا في خلايا الخمائر وتنخفض كمية الأنزيمات المتشكلة وخصوصا أنزيمات حلقة كريبس ، وكنتيجة لتغير نسبة الأكسجين المنحل في الوسط المغذي تتغير سرعة النمو وقيمة ثابت الإشباع عند الأحياء الدقيقة الهوائية والأحياء الدقيقة اللاهوائية الاختيارية ، وتنخفض نسبة الحموض الطيارة في الوسط .

تأثير المواد السامة الكيميائية Anticeptic :

تعتمد طبيعة وقوة تأثير المواد السامة الكيميائية في الأحياء الدقيقة على تركيز المادة السامة ، زمن تماس المادة السامة مع الكائن الحي الدقيق ، شروط الوسط (pH ، التركيب الكيميائي ، الحرارة) ، وأيضا ثبات ومقاومة الكائن الحي الدقيق للمادة الكيميائية .

تؤثر المواد السامة الكيميائية العضوية في الأحياء الدقيقة بتركيز منخفضة جدا ، على عكس المواد الكيميائية اللاعضوية ، التي يكون تأثيرها مهيجا عند التراكيز المنخفضة ، ويمكن أن تنشط عملية النمو ، أما زيادة التركيز فتؤدي في البداية إلى تثبيط النمو ومن ثم موت الخلايا . تمتاز الأبواغ بمقاومة عالية للمواد السامة الكيميائية تفوق مقاومة الأشكال الإغشية بأضعاف .

ومن أكثر أنواع البكتيريا غير المتبوعة المقاومة لتأثير المواد السامة بكتريا Staphylococcus والبكتريا المسببة لمرض السل .

المعادن الثقيلة :

تعتبر المعادن الثقيلة من أشد المواد سمية للأحياء الدقيقة ، ويكفي وجود الميليغرامات منها في اللتر مثل شوارد المعادن كالفضة والذهب والنحاس والزنك والزرنيق ، كي تؤثر تأثيرا قاتلا من خلال تحطيمها للرابطة SH - في أنزيمات الخلية .

الحموض والأسس والمؤكسدات القوية تحلمه بروتين الخلية وتخربه ، أما الألدهيدات وبعض الأملاح المعدنية فإنها تدخل في تفاعلات مختلفة مع بروتين البروتوبلازما وتوقف نشاطه .

الفينول ومشتقاته : للفينول ومشتقاته تأثير قاتل في الأحياء الدقيقة عند تركيز % ٥ - ٢ حيث تقوم هذه المركبات بخفض التوتر السطحي للوسط المغذي للسائل ، مما يؤدي إلى وقف نمو الأحياء الدقيقة في هذا الوسط، وتؤدي إلى تخريب الأغشية السيتوبلازمية .

الفورمول : إن تأثير محلول ١ % من محلول الفورمول يعتبر قاتلا للأحياء الدقيقة .

كلور الكلس القاصر : التركيز القاتل ١٠ % .

لين الكلس الطازج : التركيز القاتل ٥ % .

الكحول : يعتبر الكحول فعالا بتركيز % ٨٠ - ٧٥ أكثر من التراكيز العالية ، ويعود ذلك إلى أن نفوذية المحاليل الممددة للكحول أعلى من نفوذية المحاليل المركزة .

- العوامل البيولوجية

- علاقات الأحياء الدقيقة :

تعيش الأحياء الدقيقة في الطبيعة جنباً إلى جنب أو على علاقة وارتباط مع بعضها البعض أو مع الأحياء المحيطة بها سواء كانت نباتات أم حيوانات، ويمكن أن تكون هذه العلاقة ذات أثر نافع أو محايد أو ضار بالنسبة لبعضها في ظروف محددة ويمكن أن تتغير هذه العلاقة إذا تغيرت الشروط المحيطة بها .

ويمكن أن نميز عدة أنماط من العلاقات المتبادلة

أولاً - علاقة التعايش أو التكافل Mutualism:

تكون العلاقة بين نوعين أو أكثر من الأحياء ذات طابع تعاوني وتحمل المنفعة لكلا الطرفين ، حيث يقوم أحد النوعين أو كلاهما بتحويل الوسط ليكون ملائماً لنمو الأنواع الأخرى ، وفي كثير من الأحيان تكون نواتج الأعمال الحيوية لأحد الأنواع من الأحياء الدقيقة غذاء لنوع آخر أو مصدراً لطاقته ، وبذلك تنمو هذه الأحياء معاً ويكون نموها وتطورها أفضل منه عندما تتواجد بشكل منعزل .

فالأحياء الدقيقة الهوائية تستخدم الأكسجين وتقوم بتفكيك نواتج استقلاب الأحياء الدقيقة اللاهوائية ، أو بمعنى آخر تحول مكونات الوسط ليصبح أكثر ملاءمة لنمو الأحياء الدقيقة اللاهوائية ، في حين أن الأحياء الدقيقة اللاهوائية تقوم بدورها بتثبيت أزوت الهواء وتحويله إلى مركبات أزوتية يمكن أن تكون غذاء للأحياء الدقيقة الهوائية .

تنمو البكتريا المثبتة للأزوت في العقد الجذرية للبقوليات ، حيث تقوم بتثبيت الأزوت على شكل قابل للتمثيل من قبل النبات ، ويقدم النبات البقولي الغذاء اللازم لهذه البكتريا .

ثانياً - علاقة التعايش الإيجابي من طرف واحد Commensalism:

تقوم هذه العلاقة المتبادلة بين الأحياء الدقيقة والكائنات الحية الأخرى ، وتتميز بعيش أحد الطرفين على حساب الطرف الآخر دون أن يسبب له أي أذى .

نلاحظ مثل هذه العلاقة بين البكتريا اللبنية ، الخمائر ، العصيات المعوية وميكروبات أخرى مع جسم الإنسان والحيوان ، إذ تعيش هذه الأنواع في أمعاء الإنسان والحيوان وتحصل على المواد المغذية الضرورية منه دون أن تسبب أي ضرر أو أذى له ، بل تقدم له منفعة هامة وهي مجموعة من الفيتامينات والأنزيمات تنتجها وتطرحها في الأمعاء ، وتمنع نمو وتطور البكتريا العفنية ، فهي أقرب إلى علاقة تعايش منه إلى علاقة تطفل.

ثالثاً - علاقة التطفل Parasitism:

يعد التطفل نوعاً من العلاقات المتبادلة بين الكائنات الحية ، عندما يعيش أحد الطرفين على حساب الطرف الآخر (المضيف) مسبباً له الضرر ، وليست العلاقة بين الأحياء الدقيقة الممرضة والكائنات الحية (إنسان ، حيوان ونبات) إلا علاقة تطفل، وتعد البكتريوفاج طفيليات مطلقة حيث تنمو داخل الخلية البكتيرية مسببة تخرّبها وموتها.

رابعاً - علاقة اتكالية التعايش - الميتابايوز Metabiosis :

يطلق هذا المصطلح على تلك العلاقة بين نوعين من الأحياء الدقيقة ، حيث يقوم النوع الأول بإجراء تغييرات في تركيب الوسط المغذي بحيث يصبح ملائماً لنمو النوع الآخر، أي يقوم النوع الأول بتهيئة الوسط ليصبح مناسباً لنمو النوع الثاني.

فعلى سبيل المثال تقوم البكتريا التي تفكك السيليلوز بإنتاج مجموعة من الحموض العضوية التي تؤثر سلباً في البكتريا نفسها، فتقوم بكتريا التآزت بأكسدتها إلى غاز ثاني أكسيد الكربون وماء وتسمح للبكتريا الأولى بممارسة نشاطها الحيوي.

وتقوم الخمائر بتحويل السكر إلى كحول إيثيلي، ومع ارتفاع نسبة الكحول الإيثيلي في الوسط يتباطأ نشاط الخمائر حتى يتوقف عند تركيز محدد تتعلق قيمته بنوع السلالة المستخدمة، وتنتهي الشروط المناسبة للبكتريا الخلية بتحويل الكحول إلى حمض خل، ومن ثم تقوم الفطور العفنية بأكسدة حمض الخل الناتج إلى غاز ثاني أكسيد الكربون والماء.

خامسا - علاقة التضاد (التنازع) (Antibiosis):

تتكون هذه العلاقة عندما لا يستطيع نوع من الأحياء الدقيقة أن ينمو ويتطور بوجود نوع آخر ، ووصف باستور هذه العلاقة لأول مرة، وقد يكون سبب هذه العلاقة هو التنازع على المواد الغذائية أو نتيجة للمضادات الحيوية التي يفرزها الطرف الأول مما يمنع نمو عناصر الطرف الثاني، أو نتيجة لتحطيم بعض الأحياء لبعضها الآخر والتهامها ، أو نتيجة لتغيير تركيب الوسط المغذي من قبل أحد الطرفين وطرح نواتج استقلابية تثبط نمو عناصر الطرف الآخر.

مثال هذا النوع هو العلاقة بين البكتريا اللبنية الحمضية وبكتريا التعفن حيث تقوم البكتريا اللبنية بإنتاج حمض اللبن الذي يمنع أو يثبط نمو بكتريا التعفن، لهذا السبب تستخدم البكتريا اللبنية في معالجة البكتريا العفنية التي تصيب أمعاء الإنسان والحيوان.