الفصل السابع

تغذية الأحياء الدقيقة
Microbial Nutrition

الطعام أو الغذاء حاجة أساسية لكل الكائنات الحية بما في ذلك الأحياء الدقيقة. والتغذية nutrition ضرورية: كمصدر للطاقة، وبذل الجهد، وتكوين المواد والمكونات، والخلايا الجديدة، كما أنها ضرورية لنمو الكائن بالمعنى الشامل. ومن أجل الحصول على الطاقة وبناء المكونات الخلوية الجديدة يجب أن يكون للكائنات الحية مصدر من المواد الخام أو المواد المغذية nutrition. والمغذيات nutrients هي المواد التي تستخدم في التمثيل الحيوي biosynthesis وإنتاج الطاقة energy والتي بذلك تكون مطلوبة للنمو الميكروبي microbial growth.

الاحتياجات الغذائية العامة
The Common Nutrient Requirements

يبين تحليل مكونات الخلية الميكروبية بأن أكثر من ٩٥٪ من مادتها الجافة من عناصر عظمى major elements قليلة العدد وهي: الكربون والأوكسيجين والهيدروجين والنيتروجين والكبريت والفوسفور والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنيسيوم والحديد. وتسمى هذه العناصر بالعناصر الكبرى macroelements أو macronutrients؛ لأن الأحياء الدقيقة تحتاجها بكميات كبيرة نسبياً. والعناصر الست الأولى (P, S, N, H, O, C) عبارة عن مكونات للكربوهيدرات carbohydrates والدهون lipids والبروتينات proteins والأحماض النووية nucleic acids. وأن العناصر الأربعة الكبرى المتبقية (Fe^{++} and $^{+++}$, Mg^{++}, Ca^{++}, K^{+}) توجد في الخلية على شكل كاتيونات cations وتلعب أدواراً متباينة. فمثلاً يكون البوتاسيوم K^{+} مطلوباً لنشاط العديد من الإنزيمات بما فيها بعض الإنزيمات اللازمة لتخليق البروتينات. أما الكالسيوم Ca^{2+} فمن بين وظائفه الأخرى مشاركته في مقاومة الحرارة للجراثيم الداخلية endospores للبكتيريا، ويخدم المغنيسيوم Mg^{2+} كعامل مساعد cofactor للعديد من الإنزيمات ولتكوين معقد مع أديتوسين ثلاثي الفوسفات adenosine triphosphate (ATP)، ويثبت الريبوزومات والأغشية الخلوية، أما الحديد في صورة Fe^{2+} أو Fe^{3+} فإنه جزء من مكونات السيتوكرومات cytochromes وكعامل مساعد للإنزيمات والبروتينات حاملة الإلكترون.

كما تحتاج الأحياء الدقيقة في تغذيتها إلى عناصر أخرى ولكن بكميات قليلة وتسمى العناصر الصغرى micronutrients أو minor elements (trace elements = عناصر القلّة).

وتشمل العناصر الصغرى: المنجنيز manganese والزنك zinc والكوبالت cobalt والموليبديتام molybdenum والنيكل nickel والنحاس copper والتي تكون لازمة لأغلب خلايا الأحياء الدقيقة، ومع هذا فإن الخلايا تتطلب من هذه العناصر كميات قليلة والتي توجد كشوائب في المياه والأدوات الزجاجية ومكونات الأوساط الغذائية media العادية والتي تكون غالباً ملائمة للنمو، ولهذا السبب فإنه يصعب تحديد العناصر الصغرى المطلوبة. وبشكل عام فإن العناصر الصغرى تكون جزءاً من الإنزيمات أو العوامل المساعدة وأنها تعمل كوسائط (عوامل مساعدة) catalysts في التفاعلات وفي الحفاظ على maintenance تركيب البروتينات. فمثلاً، يوجد الزنك (Zn^{2+}) عند الموقع النشط لبعض الإنزيمات، ولكنه يشترك في ارتباط تحت الوحدات التنظيمية regulatory وكعامل مساعد catalytic مع إنزيم أسبرتات كاربوكسي ميثيل ترانسفيريز aspartate carboxy methyl transferase في إيشيريشيا كولاي. ويساعد المنجنيز (Mn^{+2}) العديد من الإنزيمات في عملها المساعد على نقل مجموعات الفوسفات، أما موليبديتام (Mo^{2+}) فإنه يكون مطلوباً في تثبيت النيتروجين، على حين يكون الكوبالت (Co^{2+}) أحد مكونات فيتامين ب١٢ (B12).

ويمكن تصنيف العناصر الغذائية بطريقة أخرى فيما يتعلق بالاحتياجات الغذائية فالعناصر الكبرى مثل P, S, N, H, O, C تكون مطلوبة بكميات من الجرامات بالنسبة إلى اللتر من الوسط الغذائي، أما العناصر الصغرى مثل (F, Mg, Ca, K) فإنها تكون مطلوبة غالباً بكميات من المليجرامات في اللتر من الوسط الغذائي، على حين أن عناصر القِلّة (أو النادرة trace elements مثل (Cu, Ni, Mo, Co, Zn, Mn) يجب أن تكون متاحة بكميات من الميكروجرامات.

وعلاوة على العناصر المعدنية الكبرى والصغرى فإن بعض الأحياء الدقيقة قد تكون لها احتياجات خاصة لأنواع معينة من المغذيات مما يعكس طبيعتها النوعية سواء في شكلها أو بيئتها. فالدياتومات (diatoms) تحتاج إلى حامض سيليسيك silicic acid (H_4SiO_4) لتبني جدر خلاياها الجميلة من السيليكا (SiO2)n. وعلى الرغم من ذلك فإن معظم البكتيريا لا تحتاج كميات كبيرة من الصوديوم على الرغم من أن العديد من البكتيريا تنمو في البحيرات الملحية والمحيطات معتمدة على وجود تركيزات عالية من عنصر الصوديوم (Na^+).

الكربون ومصادر الطاقة

يمكن للكائنات الحية التي تستطيع الحصول على طاقتها من عملية التمثيل الضوئي photosynthesis أو أكسدة المواد غير العضوية استخدام ثاني أكسيد الكربون CO2 كمصدر رئيس لها. وهذه الكائنات ذاتية التغذية الكربونية carbon autotrophs تختزن ثاني أكسيد الكربون، أما كل الكائنات الحية الأخرى فإنها تحصل على كربون خلاياها بصفة أساسية من المركبات العضوية. وتخدم هذه المركبات العضوية كمصدر للكربون ومصدر للطاقة معاً، ويتم تمثيلها جزئياً في مادة الخلية كما تؤكسد جزئياً لإمداد الطاقة. والمواد العضوية السائدة كما في المجال الحيوي biosphere وهي عديدات التسكر من السيليلوز والنشاء. ويمكن الاستفادة من الجزيئات البنائية أحادية الجزيء monomers مثل الجلوكوز بواسطة العديد من الأحياء الدقيقة. علاوة على ذلك، فإن كل المواد العضوية الأخرى الموجودة طبيعياً يمكن تكسيرها والاستفادة منها بواسطة بعض أنواع الأحياء الدقيقة.

ولأن اختزال ثاني أكسيد الكربون CO_2 عبارة عن عملية مكلفة جداً للطاقة لذلك فإن العديد من الأحياء الدقيقة لا تستطيع استخدام ثاني أكسيد الكربون CO_2 وأن مصدرها الكربوني الوحيد لابد أن يعتمد على وجود مركبات معقدة أكثر اختزالاً من الجزيئات العضوية لاستخدامها كمصدر للكربون. وتعرف هذه الكائنات بمتباينة التغذية heterotrophs. وتستخدم الأحياء الدقيقة متباينة التغذية المواد العضوية كمصدر للكربون وللطاقة معاً، فمثلاً يصطاد المسار التحللي للجلوكوز glycolytic pathway الطاقة على أشكال أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP ونيكوتين أميد أدينين ثنائي النيوكليوتيدة المختزل NADH كما ينتج أيضاً الهياكل الكربونية لاستخدامها في التخليق الحيوي.

ومن الخواص الغذائية المدهشة جداً للأحياء الدقيقة مرونتها الغير عادية فيما يتعلق بمصادر الكربون. فلا توجد أية مركبات عضوية طبيعية إلا ويمكن أن تستغل بواسطة الأحياء الدقيقة. فالاكتينومايسيتات actinomycetes (مجموعة خاصة من البكتيريا) يمكنها أن تكسر الكحول الإميلي amyl alcohol والبرافين وحتى المطاط. ويبدو أن لبعض أنواع البكتيريا القدرة على الاستفادة من كل الأشياء كمصدر للكربون. فمثلاً برخولدريا سيباسيا *Burkholderia cepacia* يمكنها أن تستخدم ما يزيد عن ١٠٠ نوع من المصادر الكربونية. ومن سوء الحظ فإن العديد من المواد التي يصنعها الإنسان مثل البلاستيكات (plastics) و د.د.ت (DDT) تنكسر ببطء أو لا تنكسر على الإطلاق بواسطة الأحياء الدقيقة. وعلى النقيض من البكتيريا متعددة المصادر الغذائية omnivores (الرمية)، فإن بعض البكتيريا تكون متعبة وصعبة في تغذيتها ولا تستخدم إلا مصادر كربونية قليلة. فالبكتيريا التي تتغذى على الميثيل methylotrophic تستخدم فقط غاز الميثان methane أو الميثانول methanol وأول أكسيد الكربون وحامض فورميك وقليل من المركبات المتقاربة. أما الأنواع المتطفلة من جنس ليبتوسبيرا *Leptospira* فتستخدم فقط الأحماض الدهنية طويلة السلسلة كمصدر رئيس للكربونات والطاقة.

وتتباين الاحتياجات الغذائية للأحياء الدقيقة بدرجات كبيرة بين مختلف الأنواع. علاوة على ذلك، فإن الاحتياجات الغذائية يمكنها أن تتغير بين أنواع الجنس الواحد أو أفراد النوع الواحد بسبب حدوث طفرات mutations. ويطلق على الكائن الحي الدقيق الذي يحتاج نفس المواد الغذائية مثل كل أفراده الطبيعيين لنوعه بأنه أصلي التغذية prototroph. وقد يتطفر الكائن الحي الدقيق أصلي التغذية بحيث لا يستطيع أن يمثل مركباً أساسياً في نموه وتكاثره عندئذ فإنه لابد وأن يحتاج إلى إمداده بنفس هذا الجزيء أو إلى مركب يمكن أن يتحول إلى هذا الجزيء المنقوص كمادة غذائية. والكائن الحي الذي يتطفر وتنقصه القدرة على تمثيل مادة غذائية رئيسة بحيث لابد وأن يحصل عليها أو على أصلها (المادة الخام = precursor) من الوسط المحيط يعرف بالكائن منقوص التغذية (في حاجة غذائية) auxotroph. وتعد الحاجة لنوع معين من الأحماض الأمينية amino acids شكلاً شائعاً من الإنتقاص الغذائي auxotrophy. وتستطيع العديد من الأحياء الدقيقة أن تخلق الأحماض الأمينية الرئيسة واللازمة لنموها. وأحياناً تحدث طفرة تقفل تخليق واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية الرئيسة وبذا تصبح هذه الأحياء الدقيقة في عوز أو نقص غذائي

auxotrophs في هذا الحامض الأميني أو غيره، عندئذ لابد من إمداد هذا الحامض الأميني لوسط النمو حتى ينمو الكائن. وتعد كائنات العوز أو الاحتياج الغذائي auxotophs مفيدة في دراسة الوراثة الميكروبية Microbial genetics.

الأنواع الغذائية للأحياء الدقيقة
Nutritional Types of Microorganisms

تحتاج كل الكائنات الحية أيضاً إلى مصادر للطاقة والهيدروجين والإلكترونات كي يحدث النمو. ويمكن تجميع الأحياء الدقيقة في أقسام على أساس الكيفية التي تحصل بها على احتياجاتها الغذائية. ويوجد مصدران فقط للطاقة متاحان للكائنات الحية هما:

١- الطاقة الضوئية light energy المصطادة أثناء التمثيل الضوئي photosynthesis.

٢- الطاقة المستمدة من أكسدة oxidative energy المواد العضوية أو غير العضوية.

وتستخدم الكائنات ضوئية التغذية phototrophs الضوء كمصدر للطاقة، على حين تستمد الكائنات كيميائية التغذية طاقتها من أكسدة المركبات الكيميائية سواء العضوية منها أو غير العضوية. وللأحياء الدقيقة مصدرين فقط لذرات الهيدروجين أو الإلكترونات حيث تستخدم الكائنات صخرية التغذية lithotrophs (التغذية غير العضوية) المواد غير العضوية المختزلة كمصدر للإلكترونات، على حين تستخلص الكائنات عضوية التغذية organotrophs الإلكترونات أو الهيدروجين من المواد العضوية. ويبين الجدول رقم (١٢) مصادر الكربون والطاقة والهيدروجين أو الإلكترونات.

الجدول رقم (١٢). مصادر الكربون والطاقة والهيدروجين والإلكترونات.

المصدر	المادة
مصادر الكربون	
ذاتية التغذية autotrophs	ثاني أكسيد الكربون CO_2 كمصدر رئيس لكربون التخليق الحيوي.
متباينة التغذية heterotrophs	الجزيئات العضوية سابقة التجهيز المختزلة من كائنات أخرى.
مصادر الطاقة	
ذاتية التغذية الضوئية phototrophs	الضوء.
كيميائية التغذية chemotrophs	أكسدة المواد العضوية أو غير العضوية.
مصادر الهيدروجين أو الإلكترونات	
صخرية التغذية lithotrophs	المواد غير العضوية المختزلة.
عضوية التغذية organotrophs	الجزيئات العضوية.

وعلى الرغم من التباين الشديد الذي يرى في الأحياء الدقيقة فإنه يمكن وضع أغلبها في واحد من أربعة أقسام اعتماداً على مصادرها الابتدائية للطاقة وللهيدروجين أو الإلكترونات وكذلك مصدر الكربون (انظر

الجدول رقم ١٣). وبهذا فإن أغلب الأحياء الدقيقة التي درست إما أن تكون ذاتية التغذية غير العضوية الضوئية photolithotrophic autotrophs وإما متغايرة التغذية الكيميائية العضوية chemorganotrophic heterotrophs وتستخدم الكائنات ذاتية التغذية غير العضوية الضوئية photolithotrophic autotrophs وتسمى أحياناً ذاتية التغذية الضوئية photoautotrophs أو ذاتية التغذية غير العضوية الضوئية (photolithoautotrophs) حيث تستخدم الطاقة الضوئية وثاني أكسيد الكربون CO_2 كمصدر للكربون. وتستخدم الطحالب حقيقية النواة والبكتيريا الخضراء المزرقة (البكتيريا الزرقاء cyanobacteria) الماء كمانح للإلكترونات مع تحرر الأوكسيجين. ولا تستطيع بكتيريا الكبريت الأرجوانية والخضراء أن تؤكسد الماء ولكنها تستخلص الإلكترونات من مانحات غير عضوية مثل الهيدروجين H_2 وكبريتيت الهيدروجين H_2S والكبريت العنصري S. أما الأحياء الدقيقة متغايرة التغذية الكيميائية العضوية chemorganotrophic = heterotrophs (chemoheterotrophs) فإنها تستخدم المركبات العضوية كمصدر للطاقة والهيدروجين والإلكترونات وللتخليق الحيوي للكربون. وغالباً فإن نفس المادة العضوية المستخدمة للتغذية سوف تحقق هذه المتطلبات. ويجب ملاحظة أن كل الكائنات المُمْرِضة تكون في الأساس من هذا النوع في التغذية الكيميائية المتغايرة، وأن بعض البكتيريا الأرجوانية والخضراء ضوئية التخليق photosynthetic تستخدم المادة العضوية كمانح للإلكترونات ومصدر للكربون، أما متغايرة التغذية العضوية الضوئية (photoorganoheterotrophs) photoorganotrophic heterotrophic فهي شائعة في البحيرات والمجاري المائية الملوثة، ويمكن أيضاً لبعض هذه البكتيريا أن تنمو كذاتية التغذية الضوئية photoautotrophs بالهيدروجين الجزيئي كمانح للإلكترونات.

الجدول رقم (١٣). الأنواع الغذائية العظمى للأحياء الدقيقة.

الأنواع الغذائية العظمى	مصادر الطاقة والهيدروجين أو الإلكترونات والكربون	الأحياء الدقيقة المثلة
التغذية الذاتية غير العضوية الضوئية photolithoautotrophy	طاقة الضوء، مانحات الهيدروجين والإلكترونات غير العضوية (e/H)، وثاني أكسيد الكربون CO_2 مصدر للكربون.	الطحالب، وبكتيريا الكبريت الخضراء الأرجوانية، والبكتيريا الزرقاء (الطحالب الخضراء المزرقة).
متغايرة التغذية العضوية الضوئية photoorganoheterotrophy	طاقة الضوء ومانحات الهيدروجين والإلكترونات، ومصدر الكربون العضوي كما يمكن أيضاً أن يكون CO_2.	البكتيريا الأرجوانية غير الكبريتية والبكتيريا الخضراء غير الكبريتية.
ذاتية التغذية الكيميائية غير العضوية Chemolithoautotrophy	مصدر كيميائي للطاقة (غير عضوي) = مانحات للهيدروجين والإلكترونات غير العضوية — و CO_2 كمصدر للكربون.	البكتيريا المؤكسدة للكبريت وبكتيريا الهيدروجين وبكتيريا النيترة وبكتيريا الحديد
متغايرة التغذية الكيميائية العضوية Chemoorganoheterotrophy	مصدر كيميائي للطاقة (عضوي) ومانحات للهيدروجين أو الإلكترونات عضوية ومصدر كربوني عضوي.	الأوليات والفطريات ومعظم البكتيريا غير ضوئية التخليق (معظم الكائنات المُمْرِضة).

عن بريسكوت وزملاؤه ١٩٩٩.

أما المجموعة الثالثة وهي ذاتية التغذية الكيميائية غير العضوية chemolithoautotrophs (chemolithotrophic autotrophs) فإنها تؤكسد المركبات غير العضوية المختزلة مثل الحديد والنيتروجين أو جزيئات الكبريت لإطلاق الطاقة والإلكترونات اللازمه للتخليق الحيوي. ويعتبر ثاني أكسيد الكربون CO_2 مصدراً للكربون. ويمكن لقليل من الكائنات كيميائية التغذية الغير عضوية أن تحصل على الكربون اللازم لها من مصادر عضوية، ولذلك يطلق عليها متغايرة (متباينة) التغذية. أما البكتيريا التي تعتمد على مصادر الطاقة العضوية ومصادر الكربون العضوية (أحياناً CO_2) فإنها قد تسمى خلطية التغذية mixotrophic (حيث تشارك فيها عمليات أيض التغذية الذاتية مع التغذية المتغايرة). وتشارك الكائنات كيميائية التغذية غير العضوية بدرجة كبيرة في عمليات التحول الكيميائي للعناصر مثل تحويل الأمونيا (النشادر) إلى نترات أو الكبريت إلى كبريتات التي تحدث باستمرار في النظام البيئي ecosystem. وعلى الرغم من أن أنواعاً عديدة من الأحياء الدقيقة تتبع نوعاً واحداً فقط من الأقسام الغذائية الأربعة إلا أن البعض قد يظهر مرونة أيضية كبيرة وتغير أنماطها الأيضية كاستجابة للتغيرات البيئية. فمثلاً، فإن العديد من بكتيريا الكبريت الأرجوانية تعمل كمتغايرة التغذية الضوئية العضوية في غياب الأوكسيجين لكنها تؤكسد المواد العضوية وتعمل ككيميائية التغذية باستخدام الأوكسيجين العادي. وعندما يقل مستوى الأوكسيجين فإن كلاً من أيض التخليق العضوي والتأكسدي قد يعملان تزامنياً. ويبدو أن نوع المرونة يكون معقداً ومربكاً إلا أنه يعطي الكائنات التي تمتلكه ميزة عندما تتغير الظروف البيئية.

احتياجات النيتروجين والفوسفور والكبريت

لابد لنمو الأحياء الدقيقة من الحصول على كميات كبيرة من النيتروجين والفوسفور والكبريت. وعلى الرغم من إحتمال حصولها على هذه العناصر من نفس المواد المغذية الأخرى التي يتوفر بها الكربون إلا أن الأحياء الدقيقة تستخدم أيضاً المصادر غير العضوية. ويعد النيتروجين مهماً لتخليق الأحماض الأمينية والبيورينات purines والبريميدينات pyrimidines اللازمة لتخليق الأحماض النووية وبعض الكربوهيدرات والدهون والعوامل المساعدة للإنزيمات ومواد أخرى. ويمكن لكثير من الأحياء الدقيقة الاستفادة من النيتروجين الموجود بالأحماض الأمينية كما تستخدم كثيراً النشادر (أمونيا ammonia) مباشرة من خلال عمل إنزيمات مثل جلوتاميت ديهدروجينيز glutamate dehydrogenase وجلوتاميت سينثيز glutamate synthetase ومعظم الأحياء الدقيقة ضوئية التغذية phototrophs وغير ضوئية التخليق التي تختزل النترات إلى نشادر وتؤكسد النشادر إلى نترات. وكثير من البكتيريا مثل البكتيريا الزرقاء cyanobacteria والبكتيريا التكافلية symbiotic كالريزوبيام *Rhizobium* يمكنها أن تختزل وتمثل assimilate النيتروجين الجوي باستخدام نظام إنزيم نيتروجينيز (nitrogenase).

أما الفوسفور فيوجد في الأحماض النووية والدهون الفوسفورية phospholipids والنيوكليوتيدات nucleotides مثل أدينوسين ثلاثي الفوسفات adenosine triphosphates (ATP) والعديد من العوامل المساعدة co-factors وبعض البروتينات ومكونات الخلية. وتستخدم كل الأحياء الدقيقة تقريباً الفوسفات العضوية كمصدر للفوسفور وتستغلها

مباشرة ولكن بعض الأحياء الدقيقة مثل إيشيريشيا كولاي *Escherichia coli* فإنها تحصل بنشاط على الفوسفات من البيئة المحيطة بها، وفي الواقع فإن مستويات الفوسفات المنخفضة في الوسط تحد (limit) من النمو الميكروبي في البيئات المائية.

ويلزم الكبريت لتخليق مواد مثل الأحماض الأمينية المحتوية على الكبريت مثل سيستايين cystiene وميثيونين methionine وبعض الكربوهيدرات والفيتامينات مثل بيوتين biotin وثيامين thiamin. وتستخدم أغلبية الأحياء الدقيقة الكبريتات sulfates كمصدر للكبريت وتختزلها، أما بعض الأحياء الدقيقة الأخرى فإنها تحتاج إلى مركبات كبريتية مختزلة مثل سيستئين.

عوامل النمو
Growth Factors

تنمو وتتكاثر العديد من الأحياء الدقيقة وخاصة ذاتية التغذية غير العضوية الضوئية photolithotrophic autotrophs عندما تتوفر لها العناصر المعدنية ومصادر الطاقة والكربون والنيتروجين والفوسفور والكبريت. ولهذه الكائنات إنزيماتها ومساراتها pathways اللازمة لتخليق كل مكوناتها الخلوية اللازمة لحياتها السليمة. وعلى النقيض، فإن العديد من الأحياء الدقيقة ينقصها واحد أو أكثر من الإنزيمات الضرورية. ولهذا فإنها لا تستطيع أن تصنع كل مكوناتها ولهذا يجب أن تحصل عليها من البيئة وتكون في حاجة للمركبات العضوية كمكونات أساسية للخلية لاستخدامها كأصول precursors لمثل هذه المكونات، كما أنها لا يمكن أن تخلّق هذه المواد ومن ثم يطلق عليها عوامل النمو growth factors.

وتوجد ثلاثة أقسام رئيسة لعوامل النمو: هي الأحماض الأمينية amino acids، والبيورينات purines والبريميدينات pyrmidines، والفيتامينات vitamins. وتلزم الأحماض الأمينية لتخليق البروتينيات بينما تلزم البيورينات والبريميدينات لتخليق الأحماض النووية.

وتعد الفيتامينات مركبات عضوية صغيرة والتي تتكون منها عادة كل العوامل المساعدة للإنزيمات، أو جزء منها، كما أن جزءاً صغيراً منها يستخدم كمادة وسط substrate للنمو. وتحتاج بعض الأحياء الدقيقة لنموها للعديد من الفيتامينات، فمثلاً تحتاج إنتيروكوكاس فيكاليز (*Enterococcus faecalis*) ثمانية أنواع مختلفة من الفيتامينات. وتختلف أنواع الفيتامينات التي تحتاجها الأحياء الدقيقة نوعياً وكمياً على حسب نوع هذه الأحياء الدقيقة والوظائف التي تحتاجها، ومن أمثلة ذلك:

١- بيوتين biotin: ومن وظائفه تثبيت CO_2 في عملية الكربوكسلة carboxylation وفي الأيض أحادي الكربون One-Carbon Metabolism ومن أمثلة ذلك بكتيرة ليكونوستوك ميزينتروويدز *Leuconostoc mesenteroides* وفطرة خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* وطحلب أوكروموناس مالهاميتزيس *Ochromonus malhamensis*، ومن الأوليات أكانثوميبا كاستيللاني *Achanthamoeba castellani*.

٢- سيانوكوبالامين (ب١٢) (B12) cyanocobalamin: ومن وظائفه إعادة الترتيب الجزيئي molecular rearrangements – والأيض أحادي الكربون – وحمل مجموعات الميثيل. ويحتاجه طحلب يوجلينا جراسيليز *Euglena gracilis* والدياتومات وطحالب أخرى عديدة، ومن الأوليات بعض أنواع الأميبا.

٣- حمض فوليك folic acid: ويستخدم في الأيض أحادي الكربون ومن أمثلتها بكتيريا إنتيروكوكاس فيكاليز ومن الأوليات تيتراهايمينا بايريفورميز *Tetrahymena pyriformis*.

٤- حمض ليبويك lipoic acid: ووظيفته نقل مجموعة أسيل acyl group، مثل بكتيريا لاكتوباسيللاس كازياي *Lactobacillus casei*، ومن الأوليات أنواع تيتراهايمينا.

٥- حمض بانتوثينيك pantothenic acid: وهو أصل للمرافق الإنزيمي- أ (co-enzyme-A) ويحمل مجموعات أسيل (أكسدة البيروفيت وأيض الأحماض الدهنية). وتحتاجه بكتيريا بروتياس مورجانياي *Proteus morganii* وأنواع فطرة هانسينياسبورا *Hanseniaspora spp* ومن الأوليات أنواع باراميسيام *Paramicium spp*.

٦- بيريدوكسين (ب٦) pyridoxine (B6): ومن وظائفه أيض الأحماض الأمينية (نقل الأمين transamination) ومثال ذلك: بكتيريا أنواع لاكتوباسيللاي ومن الأوليات تيتراهايمينا بايريفورميز.

٧- نياسين (حمض نيكوتينيك) niacin (nicotinic acid): أصل (مُنشىء) لـ NAD نيكوتين أميدأدينين ونNADP: نيكوتين أميدأدينين فوسفات – ويحمل الإلكترونات وذرات الهيدروجين وتحتاجه بكتيريا بروسيللا أبورتاس *Brucella abortus* وهيموفيلاس إنفلونزاي *Haemophilus influnzae* وفطر بلاستوكلاديا برينجشيمياي *Blastocladia pringsheimii* ومن الأوليات كريثيديا فاسيكيولاتا *Crithidia fasciculata*.

٨- رايبوفلافين (ب٢) riboflavin (B2): وهو منشىء لـ FAD: فلافين أدينين ثنائي النيوكلوتيد وFMN: فلافين أحادي النيوكليوتيد – ويحمل الإلكترونات وذرات الهيدروجين. تحتاجه بكتيريا كولياكتر فيبريوبدز *Caulibacter vibrioides* وفطر أنواع دكتيوستيليام *Dictyostelium spp* ومن الأوليات تتراهايمينا بايريفورميز.

٩- ثيامين (ب١) thiamine (B1): وهو مهم لنقل مجموعات الألدهيد (مثل إزالة الكربوكسيل من بيروفيت pyruvate decarboxyiation – وأكسدة حمض ألفاكيتو) ومن أمثلتها بكتيريا باسيللاس أنثراسيز *Bacillus anthracis* وفطر فايكومايسيز بلاكيسلياناس *Phycomyces blakesleeanus* وطحلب أوكروماتس مالهامينسيز *Ochromanas malhamensis* وكولبيديام كامبيلام *Colpidium campylum*.

إن المعرفة بالاحتياجات النوعية لعوامل النمو للعديد من الأحياء الدقيقة قد تجعل من الممكن عمل معايرات assays كمية لاستجابات النمو المتنوع في العديد من المواد. فمثلاً، يمكن استخدام أنواع من الجنسين البكتيريين لاكتوباسيللاس *Lactobacillus* وستربتوكوكاس *Streptococcus* في المعايرات الميكروبية لأغلب الفيتامينات والأحماض الأمينية. ويتم ذلك بتنمية البكتيريا المناسبة في سلسلة من أوعية المزارع culture vessels كل منها تحتوي على وسط غذائي medium بكمية فائضة من كل المكونات المطلوبة عدا عامل النمو المطلوب معايرته، بعدئذ تضاف كميات مختلفة من عامل النمو إلى كل وعاء ثم بعدئذ يعمل منحنى قياسي standard curve على رسم بياني أحد محاوره كمية عامل النمو أو تركيزه والمحور العمودي يمثل النمو الكلي للبكتيريا. ومثالياً، فإن كمية النمو الناتج تكون طردية

مباشرة مع كمية عامل النمو الموجود، فإذا ضوعفت كمية عامل النمو، فإن النمو النهائي يتضاعف. ويمكن تقدير كمية عامل النمو في عينة مختبرة test sample بمقارنتها بمعدل النمو الناتج عن المنحنى القياسي. وتعد المعايرات الميكروبيولوجية نوعية specific وحساسة وبسيطة ولا تزال تستخدم في معايرات مواد مثل بيوتين وفيتامين ب١٢ على الرغم من التقدم في تقنيات المعايرات الكيميائية.

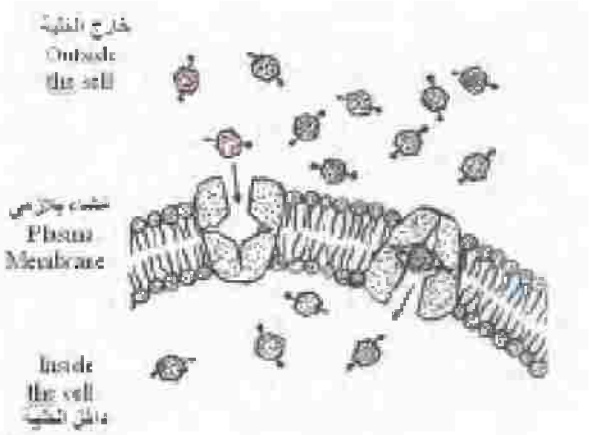
أخذ المواد الغذائية بواسطة الخلية

Uptake of Martinets by The Cell

إن أول خطوة في استخدام المواد الغذائية هي أخذ المواد المغذية المطلوبة بواسطة الخلية الميكروبية. ويجب أن تكون آليات الأخذ نوعية — بمعنى أن المواد الضرورية اللازمة وليست غيرها هي التي تؤخذ. فليس من مصلحة الخلية أن تأخذ مادة أو مواد لا تستخدمها. وحيث إن معظم الأحياء الدقيقة تعيش في بيئات فقيرة في المواد المغذية، لذلك فيجب عليها أن يكون لها القدرة على نقل المواد المغذية من البيئات التي توجد فيها المغذيات بتركيزات ضعيفة إلى داخل الخلية ضد متدرج التركيز against concentration gradient وأخيراً فإن جزيئات المواد المغذية يجب أن تمر من خلال الغشاء البلازمي المنفذ والذي لا يسمح بالمرور الحر لمعظم المواد. وبالنظر إلى التنوع الهائل في المواد المغذية وتعقيد هذا العمل، فليس من المستغرب أن تستخدم الأحياء الدقيقة آليات عديدة مختلفة للنقل. وأهم آليات النقل هي: ١- الانتشار الميسر facilitated diffusion ٢- النقل النشط active transport و٣- نقل المجموعة group translocation. ويبدو أن الأحياء الدقيقة حقيقية النواة لا تستخدم نقل المجموعة ولكنها تدخل المغذيات باستخدام آلية الإدخال الخلوي endocytosis.

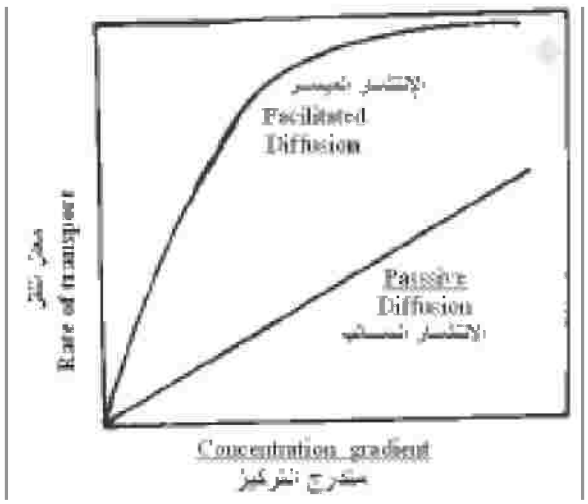
١- النقل الميسر Facilitated Diffusion

يمكن لعدد قليل من المغذيات، مثل الجليسرول أن يعبر الغشاء البلازمي مباشرة بواسطة الإنتشار السالب passive diffusion. ويطلق على الانتشار السالب مصطلح الانتشار البسيط وهو العملية التي تتحرك أو تنتقل فيها الجزيئات من منطقة أعلى في التركيز إلى أخرى أقل في التركيز بسبب الرج الحراري العشوائي. ويتوقف معدل الانتشار السالب على حجم متدرج التركيز بين خارج الخلية وداخلها (انظر الشكل رقم ٧٦). وفي الحقيقة يلزم متدرج تركيز عال نسبياً حتى يتسنى الأخذ المناسب للمغذيات بالانتشار السالب (بمعنى أنه يلزم أن يكون التركيز خارج الخلية عال). وأن معدل الأخذ يتناقص كلما زادت كمية المغذيات المكتسبة ما لم تستخدم مباشرة. ولهذا، فإن الانتشار السالب لا يعد كفئاً ولا يستخدم بدرجة شاملة بواسطة الأحياء الدقيقة. وعلى الرغم من أن الجليسرول يمكن أن يدخل الخلايا بالانتشار السالب، فإن آلية أخرى للنقل تعمل أيضاً. إذ أن الجزيئات الصغيرة مثل CO_2, O_2, H_2O تتحرك غالباً عبر الغشاء بواسطة الانتشار السالب.



الشكل رقم (٧٦). معدل النقل بالنسبة لمتدرج التركيز في الانتشار السالب والميسّر (عن: Prescott. *et al.*, 1999).

ويزداد معدل الانتشار عبر الأغشية انتخابية النفاذية selectively permeable باستخدام البروتينات الحاملة carrier proteins والتي تسمى أحياناً الإنزيمات الساحة (برميزيس permeases)، والتي تكون مطمورة في الغشاء البلازمي. وبسبب أن الحامل يسهّل عملية الانتشار فإنه يسمى الانتشار الميسّر facilitated diffusion. ويزداد معدل الانتشار الميسّر مع زيادة متدرج التركيز بسرعة أكبر وعند التركيز الأقل للجزيئات المنتشرة مقارنة بالانتشار السالب (انظر الشكل رقم ٧٧). ويلاحظ أن معدل مستويات الانتشار تتوقف أو تصل إلى قيمة أعلى فوق القيمة النوعية للمتدرج بسبب كون الحامل مشبعاً – بمعنى أن البروتين الحامل يرتبط وينقل العديد من الجزيئات الذائبة بقدر الإمكان. ويشبه منحنى الإنتشار الميسّر شكل نشاط الإنزيم. كما أن البروتينات الحاملة تشبه الإنزيمات أيضاً في تخصيصها specificity للمادة المراد نقلها، فكل حامل انتخابي سوف ينقل فقط الذائبات المتشابهة. وعلى الرغم من ضرورة الحامل البروتيني فإن الانتشار الميسّر ما هو إلا انتشار حقيقي. ويعمل متدرج التركيز عبر الغشاء على دفع حركة الجزيئات ولا يلزم لها بذل أية طاقة إضافية، وعندما يختفي متدرج التركيز، فإن الحركة للداخل تتوقف.



الشكل رقم (٧٧). نموذج بياني للنقل الميسّر (عن: Prescott. *et al.*, 1999).

وعلى الرغم من أن دراسات عديدة قد أجريت على الانتشار الميسَّر، إلا أن هذه العملية لا تزال غير مفهومه تماماً. وعقب أن يرتبط جزيء المادة الذائبة بالسطح الخارجي فإن الحامل البروتيني قد تحدث فيه تغيرات شكلية conformational changes ويمرر الجزيء داخل الخلية. وأن الحامل البروتيني سوف يعود إلى طبيعته الشكلية الأصلية بحيث يكون مستعداً لالتقاط جزيء آخر. وتعد هذه الآلية عكسية reversible، فإذا كان تركيز الذائبات داخل الخلية أعلى من خارجها، فإنها سوف تتحرك للخارج. وبسبب أن الخلية تعمل أيضاً metabolizes للمغذيات بمجرد دخولها، فإن دخولها يكون مفضلاً.

ولا يبدو أن الانتشار الميسَّر مهماً بالنسبة لبدائيات النواة. فالجليسرول ينتقل بالانتشار الميسَّر في إيشيريشيا كولاي وسالمونيللا *Salmonella* وسيدوموناس *Pseudemonas* وباسيللاس *Bacillus* وعديد من البكتيريا الأخرى. وهذه العملية أكثر استخداماً في الخلايا حقيقية النواة حيث تستخدم في نقل العديد من السكريات والأحماض الأمينية.

على الرغم من أن حاملات الانتشار الميسَّر يمكنها أن تحرك الجزيئات بكفاءة للداخل عندما يكون تركيز المادة الذائبة أعلى في الوسط الخارجي، فإنها لا يمكن أن تأخذ الذائبات التي يكون تركيزها أعلى داخل الخلية، أي ضد متدرج التركيز. وتعيش الأحياء الدقيقة غالباً في بيئات تتميز بأن مصادر المغذيات بها منخفضة، ولكنها مع ذلك تنمو وتزدهر، إذ يجب أن يكون لها القدرة على نقل وتركيز هذه المغذيات، بناءً عليه، فإن آليات الانتشار الميسَّر لا تكون دائماً مناسبة ولابد من استخدام آليات أخرى. وفي مثل هذه الأحوال فإن الآليتين اللتان تستخدمان هما النقل النشط ونقل المجموعة.

٢- النقل النشط Active Transport

النقل النشط هو عبارة عن نقل جزيئات الذائب solute إلى تركيزات أعلى أو ضد متدرج التركيز مع استخدام طاقة مبذولة. وبسب أن النقل النشط يتضمن نشاطاً حاملاً من البروتين carrier protein، فإنه يشبه النقل الميسَّر في بعض النواحي. فترتبط الحاملات البروتينية بذائبات معينة بتخصصية كبيرة للجزيئات المنقولة. ويمكن للذائبات المتشابهة أن تتنافس على نفس الحامل البروتيني في كلٍ من الانتشار الميسَّر والنقل النشط. ويتميز النقل النشط بتأثير تشبع الحامل عند تركيزات الذائبات العالية (الشكل رقم ٧٨). ومع هذا فإن النقل النشط يختلف عن الانتشار الميسَّر في استخدام طاقة الأيض وفي قدرتها على تركيز المواد الذائبة. وتقوم مثبطات الأيض التي تقفل إنتاج الطاقة بتثبيط النقل النشط ولكنها لا تؤثر في الانتشار الميسَّر (على الأقل لوقت وجيز).

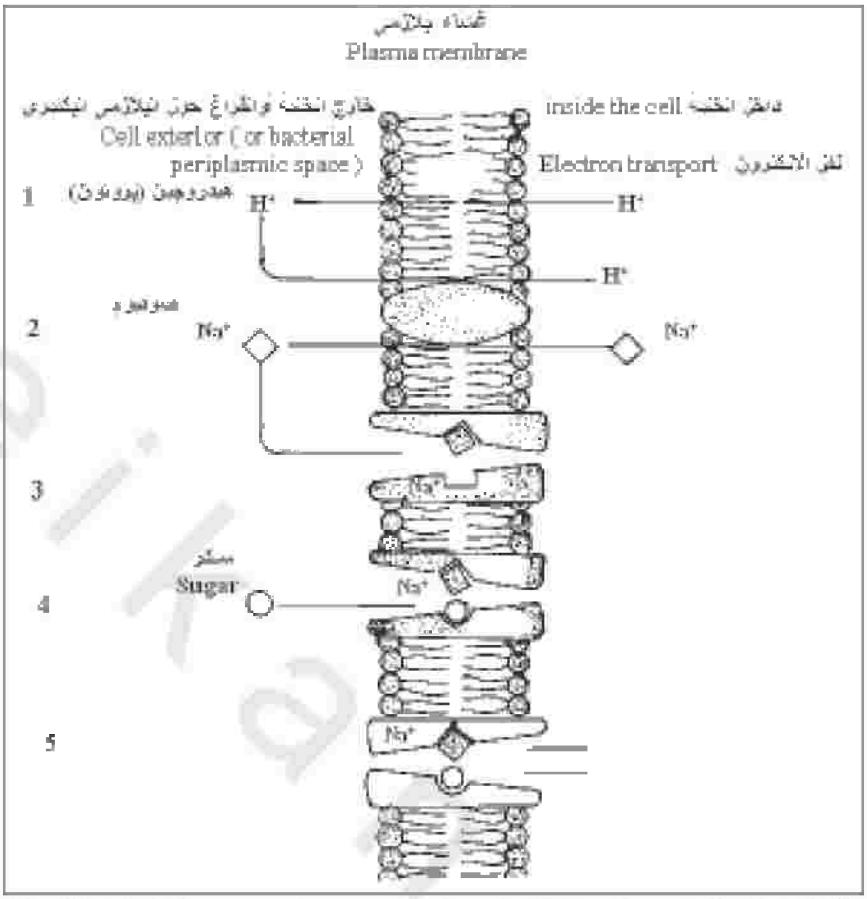
وتستخدم نظم النقل الخاصة بالارتباط بالبروتين مادة وسط خاصة بالارتباط بالبروتين substrate binding protein التي تقع في الفراغ حول البلازمي (البيريبلازمي) periplasmic للبكتيريا سالبة الجرام. وترتبط هذه البروتينات

البيربيلازمية، والتي تقوم أيضاً بالجذب الكيميائي chemotaxis، بالجزيء المراد نقله، عندئذ تتفاعل مع بروتينات النقل الموجودة بالغشاء البلازمي لتحرك جزيء الذائب إلى داخل الخلية. ويبدو أن البروتين المعقد والمرتب بالغشاء يكون مكوناً من عديد من تحت الوحدات ويكوّن ثقباً في الغشاء. ويكون مصدر الطاقة هو ATP على الرغم من أن مركبات الفوسفات الأخرى الغنية بالطاقة تحرك أخذ المواد في بعض نظم النقل، وتنقل إيشريشيا كولاي أنواعاً عديدة من السكريات (أرابينوز، ومالتوز وجالاكتوز، وريبوز، وأحماض أمينية (جلوتاميت وهستيدين وليوسين) بواسطة هذه الآلية. ويوجد النقل المدفوع بـ أدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) في البكتيريا موجبة الجرام، ولكنه غير مفهوم جيداً بالنسبة للكائنات السالبة الجرام.

كما تستخدم البكتيريا أيضاً ما يسمى بقوة البروتونات الدافعة proton motive force (على شكل متدرج بروتونات الذي يتولد أثناء نقل الإلكترونات) لدفع النقل النشط، وبروتينات النقل الموجودة بالغشاء والمسؤولة عن هذه العملية ينقصها البروتينات النوعية البيربيلازمية التي ترتبط بالذائبات. ومثال ذلك إنزيم السماح بنقل اللاكتوز lactose permease في إيشيريشيا كولاي. وتدفع الطاقة المخزنة على صورة متدرج بروتونات نقل الذائبات. ويطلق على نقل الذائبات بمصاحبة نقل الإلكترونات بالنقل المترافق symport. ويعتقد بأن ارتباط البروتون ببروتين النقل يغير من شكل وميل المادة المنقولة بالنسبة للذائب المراد نقله. كما تستخدم إيشيريشيا كولاي أيضاً نقل البروتون المترافق لأخذ الأحماض الأمينية والأحماض العضوية مثل سكسينات succinate ومالييت malate.

ويمكن للقوة الدافعة للبروتونات أن تقوّي النقل النشط بطريق غير مباشر أحياناً من خلال تكوين متدرج أيون الصوديوم للخارج كاستجابة لحركة البروتونات للداخل (الشكل رقم ٧٨) ويتميز هذا الشكل من النقل المترافق بأن المادتين المنقولتين تتحركان في اتجاهين متضادين ولذلك يسمى بالنقل المتضاد antiport. كما أن متدرج الصوديوم المتولد عن النقل المتضاد وبالبروتون يدفع بعدئذ نقل السكريات والأحماض الأمينية، حيث يتصل أيون الصوديوم بالبروتون الحامل مسبباً تغيراً في شكله. بعدئذ يرتبط البروتين الحامل بالسكر أو الحامض الأميني بقوة ويوجه موقع ارتباطه إلى داخل الخلية. ويعد أيضاً النقل المترافق أو المتضاد للصوديوم عملية مهمة أيضاً في خلايا الكائنات حقيقية النواة حيث تستخدم في أخذ السكريات والأحماض الأمينية، وفي هذه الحالة فإن ATP، وليست قوة دفع البروتونات، هي التي تدفع الصوديوم في خلايا حقيقيات النواة.

ويبدو من المعقول أن لكل نوع من الأحياء الدقيقة نظاماً واحداً للنقل الخاص بالمغذيات، ولكن لا يكون ذلك صحيحاً دائماً، فإيشيريشيا كولاي مثلاً لها على الأقل خمسة نظم لنقل سكر الجلوكوز وثلاثة نظم لنقل الحامضين الأمينيين جلوتامات وليوسين ونظامين لنقل معقدات البوتاسيوم. وعندما يوجد أكثر من نظام نقل للكائن لنفس المادة، فإن هذه النظم تختلف في مصدر طاقتها وميلها للمادة المراد نقلها وفي طبيعة تنظيمها. ويفترض أن هذا التنوع يعطي الكائن الذي يمتلكه ميزة تنافسية خاصة في البيئات المتغيرة.



الشكل رقم (٧٨). آلية النقل النشط باستخدام مندرجات البروتون والصوديوم: (١) تستخدم طاقة نقل الإلكترون لضخ البروتونات إلى خارج الغشاء البلازمي، (٢) يدفع مندرج البروتون طارداً أيونات الصوديوم بآلية النقل المضاد، (٣) يرتبط الصوديوم بمعقد الحامل البروتيني، (٤) يغير شكل الارتباط بالذائب solute، ويرتبط بالذائب مثل السكر أو الحامض الأميني، (٥) بعدئذ يبدل تشكل الحامل وبذلك يتحرر الذائب على الجانب الداخلي للغشاء. ويعقب هذا تفكك الذائب من الحامل (عن: Prescott, *et al.*, 1999).

٣- نقل المجموعة Group Translocation

تتحرك الذائبات في النقل النشط عبر الغشاء من دون أي تحرر. وتأخذ العديد من بدائيات النواة procaryotes أيضاً الجزيئات بواسطة نقل المجموعة، وهي عملية ينقل فيها الجزيء إلى الخلية أثناء تحوره الكيميائي. ومن هذه الأمثلة نظام فوسفوإينول بيروفات phosphoenol pyruvate (PEP) ونظام نقل مجموعة الفوسفات للسكر إنزيميا (PTS) sugarphosphotransferase وبهذين النظامين ينقل العديد من السكريات إلى داخل خلايا الكائنات بدائية النواة.

فوسفوإينول بيروفات + سكر (في الخارج) ⟵ بيروفات + سكر مفسفر (في الداخل)

أخذ الحديد Iron Uptake

تحتاج كل الأحياء الدقيقة تقريباً إلى عنصر الحديد اللازم للسيتوكرومات cytochromes وللعديد من الإنزيمات. ويعد أخذ الحديد صعباً لعدم ذوبانه، إن كان على شكل أيونات حديديك Fe^{3+} ومشتقاته حيث لا يوجد بها إلا قليل من الأيونات الحرة التي يمكن تقلها. ولذلك تغلبت على هذه المشكلة بعض البكتيريا والفطريات عن طريق إفرازها ما يسمى حاملات الحديد (سايدروفورات siderophores)، وحاملات الحديد هذه عبارة عن جزيئات منخفضة الوزن الجزيئي والتي لها القدرة على التعقد مع أيونات الحديديك وإمدادها للخلية والنقل المتعقد بالحديد يكون عادة مع أي من هذه المواد الثلاث هيدروكسامات hydroxamate أو فينولات phenolates أو كاتيكولات catecholates فمثلاً فيريكروم ferrichrome عبارة عن هيدروكسامات تنتجها العديد من الفطريات، أما إنتيروباكتين enterobactin فهو كاتيكولات تنتجها إيشيريشيا كولاي.

وتفرز الأحياء الدقيقة حاملات الحديد (سايدافورات) عندما يكون الحديد المتاح في الوسط قليلاً.