تصنيف الخمائر الموجودة فى سمكة الشفاء

للدكتور أحمد عليان ● والدكتور حسن معوض ●

المقدمة

منذ عامين تقريبا ولفترة وجيزة انتشر استعمال سمكة الشفاء لعلاج بعض الأمراض فى الجمهورية العربية المتحدة مما دفع الصحافة المصرية إلى متابعة ذكر بعض التفسيرات العلمية لهذه الظاهرة ، ولهذا فقد اهتم بعض المشتغلين فى مجال البيولوجيا والطب بالتعرف على الأحياء الدقيقة المسببة لإحداث هذه التغيرات فى محلول الشاى وكذا للتعرف على التأثير العلاجى له .

وقد تبين من دراسة الغشاء السميك الذى يتكون فوق سطح محلول الشاى والذى يطلق عليه سمكة الشفاء أنه عبارة عن ألياف سليلوزية تكونها بكتريا Acetobacter xylinum (حلمى وآخرون ١٩٦٩) . ويعيش مع هذه البكتريا مجموعة من الخمائر فى علاقة تبادلية حيث تقوم الخميرة بتكوين الإيثانول من السكر ، ثم يتأكسد الإيثانول بدوره بواسطة البكتريا المذكورة إلى حامض الخليك ، كما وجد أن محلول سمكة الشفاء تتراوح فيه نسبة السكر ما بين ١ — ٦٪ ، وكحول الإيثايل من ٠,٥ — ١,٥٪ ، وحامض الخليك من ١,٥ — ٣٪ .

وتبين أيضا من بحث حلمى وآخرين (١٩٦٩) أن محلول سمكة الشفاء له تأثير على حيوانات التجارب حيث كان له تأثير مثبط على العصب الحائر وكذا على العقد العصبية ، كما تسبب فى شلل لبعض مناطق الأعصاب الموجودة بالعضلات ، بالإضافة إلى أنه تسبب فى توقف الحركة الانقباضية الخاصة بالأوعية الدموية . ومن ناحية أخرى وجد أن محلول سمكة الشفاء له تأثير منشط على عملية التنفس .

● الدكتور أحمد عليان : مدرس ميكروبيولوجيا الأغذية ، بكلية الزراعة ، جامعة القاهرة .
● الدكتور حسن معوض : باحث بمعمل ميكروبيولوجيا الأراضى ، بالمركز القومى للبحوث .

ومن المعروف عن الخمائر أنها تقوم بتكوين عديد من الفيتامينات خاصة مجموعة فيتامين B. (Prescott and Dunn ١٩٤٩)، علاوة أن بكتريا A. xylinum ، والتى قد تستخدم فى إنتاج ألياف السليلوز (Colvin ١٩٥٧) ، تقوم أيضاً بتكوين هذه الفيتامينات فى البيئة وهى حامض البانتوثنيك والبيوتين والبيرودكسين والريبوفلافين (Litsky and Goldman ١٩٥٣) . وعليه فقد يعزى الأثر الملحوظ من استخدام مثل هذا المشروب إلى وجود بعض هذه الفيتامينات ، بالإضافة إلى أن حامض الخليك (الخل) يعتبر كمادة فاتحة للشهية .

ولهذا فإن الدراسة التصنيفية ، والتى يهدف إليها هذا البحث ، تعتبر ذات أهمية من ناحية الحصول على مزارع نقية من الخمائر ذات الأهمية الاقتصادية .

المواد والطرق المستعملة

تم عزل ١٧ مزرعة من الخميرة من المحلول الناتج عن نمو سمكة الشفاء فى محلول الشاى المحلى بالسكروز . وقد تم العزل على بيئتين ، وهما بيئة آجار مستخلص المولت وهى الأكثر شيوعا لعزل مزارع الخميرة ، وكذا على بيئة معدلة حضرت لتمثل الظروف الطبيعية التى تنمو فيها هذه الكائنات وهى بيئة آجار الشاى والسكروز .

وعند تلقيح بيئة آجار الشاى بواسطة محلول سمكة الشفاء ظهرت مستعمرات صغيرة الحجم ضعيفة النمو اتضح بفحصها ميكروسكوبيا أنها عبارة عن خلايا خميرة ، وقد تم عزل أربع سلالات منها ، ثم أجريت لها عملية تنقية بعد ذلك . أما نمو مزارع الخميرة على بيئة آجار مستخلص المولت فقد كان غزيرا ، ويرجع ذلك إلى أن هذه البيئة غنية بمحتواها من العناصر الغذائية وعوامل النمو المختلفة اللازمة لنمو الخميرة ، وقد تم عزل ١٣ سلالة خميرة نقية من هذه البيئة .

وقد أجريت دراسة تصنيفية للمزارع المتحصل عليها سابقا بقصد التعرف على الأنواع التى توجد فى سمكة الشفاء باتباع تقسيمى كل من Lodder and Kreger (١٩٥٢) ، و Kudriavzev (١٩٥٤) .

النتائج ومناقشتها

اتضح أن كل المزارع التى تحت البحث تتبع الخمائر التى تتكاثر خضريا عن طريق التبرعم فقط ، حيث يرتفع على كل خلية برعم أو أكثر يتزايد فى الحجم حتى يصل إلى حجم معين ، ثم ينقسم بعد ذلك عن الخلية وينمو البرعم، ويكرر دورة الحياة . وبجانب التكاثر الخضرى بالتبرعم تتكاثر هذه الخمائر جنسيا أيضا عن طريق تكوين جراثيم أسكية ، حيث اتضح بزراعة كل المزارع المتحصل عليها من منقوع سمكة الشفناه على بيئة Gorodkova (Lodder and Kreger ١٩٥٢) الخاصة بتكوين الجراثيم عند الخميرة أن جميع المزارع التى تحت البحث تكون أكياسا أسكية بداخلها جراثيم وذلك عند تنميتها على هذه البيئة لمدة ٧ — ١٠ أيام. وفى أغلب الأحيان كانت هذه الجراثيم تتكون فى أعقاب حدوث عملية اندماج بين الخلايا Conjugation عن طريق قنوات التكاثر ، وقد تتكون الجراثيم مباشرة داخل الخلايا دون حدوث عملية الاندماج .

وبدراسة الصفات المورفولوجية والفسيولوجية لمزارع الخميرة المفصولة من سمكة الشفناه اتضح أنها تنقسم إلى ثلاث مجموعات ، وتتشابه المزارع الموجودة تحت كل مجموعة فيما بينها فى صفاتها المورفولوجية والفسيولوجية. وفيما يلى ذكر المزارع التى تدخل فى كل مجموعة والصفات التى تميزها :

المجموعة الأولى : وتضم خمس مزارع خميرة (أرقام ٢، ٧، ١١، ١٢، ١٤ فى جدول ١) منها ثلاث مزارع تم عزلها من على بيئة آجار الشاى، ومزرعتان من على بيئة آجار المولت. وتتفق هذه المزارع فيما بينها فى أنها تنمو نموا جيدا على بيئة مستخلص المولت حيث تعطى خلايا مستديرة أو بيضاوية الشكل يتراوح حجمها بين (٢-٥) × (٣ — ٦،٤) ميكرون ، وذلك بالنسبة للمزارع حديثة النمو . أما عند مرور شهر على نمو هذه الخمائر على نفس البيئة وعلى درجة ١٧°م (حرارة الغرفة) فإن النمو يبدو فى صورة حلقة على جدار الأنبوبة، مع ظهور راسب أيضا فى قاع الأنبوبة. وبفحص النمو ميكروسكوبيا لوحظ أن الخلايا كبيرة الحجم تصل إلى (٤ — ٧) × (٥،٤ — ٩،١) ميكرون .

جدول (١)

قدرة الخمائر المعزولة على تمثيل وتخمير السكريات

رقم المزرعة	تمثيل السكريات						تحضير السكريات							
	المقارنة	الجلوكوز	الجالاكتوز	السكروز	المالتوز	اللاكتوز	المقارنة	الجلوكوز	الجالاكتوز	السكروز	المالتوز	اللاكتوز	الرافينوز
٢، ٧، ١١، ١٢، ١٤	−	+	+	+	+	−	−	ضعيف جدا	−	−	−	−	−
١٦، ١٩، ٢٢	−	+	−	+	+	−	−	+	−	+	+	−	+
٣، ٤، ٥، ١٣، ١٥، ١٨، ٢٠، ٢١، ٢٣	−	+	+	+	+	−	−	+	−	+	−	−	−

وعند زراعة هذه الخمائر على البيئة الخاصة بتكوين الجراثيم يلاحظ خلال أسبوع من الزراعة تكوين جرثومة إلى أربع جراثيم كروية أو بيضاوية الشكل ذات سطح أملس داخل أكياس أسكية . وتتكون الجراثيم فى أعقاب حدوث عملية اندماج بين خليتين مختلفتين أو متفقتين من حيث الشكل والحجم ، ويمكن لفترة طويلة ملاحظة الخلايا المحتوية على الجراثيم وهى متصلة ببعضها عن طريق قناة .

وعند اختبار قدرة هذه المزارع على تكوين الميسيليوم الكاذب على بيئة آجار البطاطس لوحظ أن هذه المزارع لها القدرة على تكوين ميسيليوم كاذب ذى خلايا أسطوانية الشكل . كما يتكون الـ Blastospores ذات الشكل الكروى أو البيضاوى فى أماكن اتصال خلايا الميسيليوم الكاذب .

أما من ناحية الصفات الفسيولوجية لهذه الأنواع المعزولة فيتضح من جدول (١) أن جميعها له القدرة على تمثيل كل من الجلوكوز والجالاكتوز والسكروز والمالتوز ، فى حين أنها لا تمثل اللاكتوز . وفيما يختص بقدرتها على تخمير السكريات فلم تستطع تخميرها حيث كانت النتيجة سلبية ، فيما عدا فى حالة الجلوكوز فقد أظهرت قدرة خفيفة على تخميره . ولم تتمكن تلك الخمائر من استعمال نترات البوتاسيوم كمصدر للنتروجين .

ويتضح من الصفات سابقة الذكر أن جميع هذه المزارع المستخدمة تتبع نوع Debaryomyces vini .

المجموعة الثانية : وتضم ثلاث مزارع (أرقام ١٦ ، ١٩ ، ٢٢ فى جدول ١) تم عزلها من بيئة آجار المولت . وعند تنمية هذه المزارع على بيئة آجار المولت لوحظ أن الخلايا حديثة السن توجد فى شكل كروى أو بيضاوى ، ويتراوح قطرها بين (٢,٥ — ٥,٥) × (٣,٢ — ٦) ميكرون ، فى حين أن نفس هذه المزارع النامية على بيئة مستخلص المولت تكون خلايا أكبر قليلا مما هى عليه فى البيئة السابقة . هذا ويتكون على البيئة الأخيرة حلقة على جدار الأنبوبة وراسب فى قاعها ، وذلك بعد مضى شهر من النمو وعلى درجة ١٧° م .

وتشبه طريقة تكوين الجراثيم نفس طريقة تكوين الجراثيم السابقة ، إلا ان

هذه الجراثيم تكون أكبر حجما ، وتحتوى على قطرة من الزيت فى وسطها ، كما توجد غالبا جرثومة أو جرثومتان فى كلا الخليتين الداخلتين فى عملية الاندماج. وتختلف هذه المزارع السابقة اختلافا جوهريا فى عـــدم قدرتها على تكوين الميسليوم الـكاذب .

وفيما يختص بالصفات الفسيولوجية لهذه المزارع فقد اتضح أن جميع هـذه المزارع قادرة على تمثيل الجلوكوز والسكروز والمالتوز فقط ، بينما لاتتمكن من تمثيل الجالاكتوز واللاكتوز . أما بالنسبة لتخمير السكريات فالمزارع المذكورة تخمر الجلوكوز والسكروز والمالتوز والرافينوز، فى حين أنها لاتستطيع تخمير كل من الجالاكتوز واللاكتوز . وتتفق هذه المزارع فى عدم قدرتها على تمثيل نترات البوتاسيوم كمصدر للنيتروجين .

ويتبين من الصفات السابقة الذكر أن هذه المزارع تتبع نوع Saccharomyces fermentati

المجموعة الثالثة : وتضم هذه المجموعة تسع مزارع خميرة تم عزل ثمان منها من بيئة آجار المولت ، ومزرعة واحدة من بيئة آجار الشاى والسكروز. وتنمو هذه الخائر على بيئة آجار المولت فى صورة خلايا كروية أو بيضاوية الشكل مزدوجة أو منفردة ، وتتراوح أقطار الخلايا حديثة السن منها بين (٣ — ٤،٥) × (٣،٥ — ٦،٦) ميكرون، وينموها على بيئة مستخلص المولت تعطى بعد شهر حلقة على جدران الأنبوبة وراسبا من النمو فى قاع الأنبوبة .

وتتكون الجراثيم على بيئة Gorodkova بعد سبعة أيام من النمو فى أكياس أسكية تحتوى على جرثومة إلى أربع جراثيم ، وتتكون الجراثيم فى أعقاب حدوث عملية اندماج .

وتتميز هذه المزارع بقدرتها على تكوين الميسليوم الـكاذب . وهو عبارة عن سلسلة من خلايا كروية أو بيضاوية ، وعند مناطق اتصالها ببعضها تتكون مجموعات من الـ Blastospores الكروية التى عادة تكون خلية أو خليتين . وبدراسة الصفات الفسيولوجية لهذه المزارع وجد أن جميعها قادر على تمثيل الجلوكوز والجالاكتوز والسكروز والمالتوز، فى حين أنها لاتمثل اللاكتوز (جدول ١). أما فيما يختص بتخمير السكريات فقد وجد أن لهذه الأنواع القدرة على تخمير الجلوكوز والسكروز فقط ، بينما الجالاكتوز والمالتوز واللاكتوز

والرافينوز فقد ظلت لمدة شهر من بداية الزراعة دون تخمير ، كما وجد أن هذه المزارع غير قادرة على تمثيل النترات كمصدر وحيد للنيتروجين .

وبمقابلة هذه النتائج بمثيلاتها المذكورة فى المرجعين المستخدمين (Lodder and Kreger ١٩٥٢ ، و Kudriavzev ١٩٥٤) وجد أن هذه المزارع لا تشترك فى جميع خواصها مع أحد الأنواع المذكورة، إلا أنها تقترب جداً من نوع Saccharomyces veronae وتختلف عنه فقط فى عدم قدرتها على تخمير سكر الرافينوز ، وربما أن هذه المزارع قد سبق لها أن نشأت من هذا النوع بعد حدوث بعض التغيرات الفسيولوجية عليها ، وعليه فإن هذه المزارع مازالت تحت البحث .

الملخص

أمكن الحصول على سبع عشرة مزرعة نقية من الخمائر الموجودة فى محلول غشاء سمكة الشفاء . وباجراء عملية تصنيف لها ، وجد أنها تنقسم إلى ثلاث مجموعات تتشابه كل مجموعة فيما بينها، وتتبع المجموعة الأولى تحت نوع Debaryomyces vini وتتبع المجموعة الثانية تحت نوع Saccharomyces fermentati . أما مزارع المجموعة الثالثة فلم يمكن تصنيفها ، ولو أنها تقترب جـــداً فى خواصها من نوع Saccharomyces veronae ، وهى ما زالت تحت البحث .

المراجع

(1) Colvin, J. R. (1957) Arch. Biochem. Biophys., 70 · 294-295.
(2) Helmy, R., M. Sharaf, A. M. Alian, and Z. Isaak (1969) Med. Jour., Cairo Univ., 37 : 79-99.
(3) Kudriavzev, V. I. (1954) Classification of yeast. Moscow Acad. Sci., U.S.S.R. (In Russian).
(4) Litsky, W., and C. L. Goldman (1953) Food Res., 18.
(5) Lodder, J., and N. J. W. Kreger (1952) The yeasts, a taxonomic study. North Holland Publ. Co., Amsterdam.
(6) Prescott, S., and C. Dunn (1949) In Industrial microbiology. McGraw-Hill Book Co., New York.

* * *