

نبذة تاريخية عن الاحياء المجهرية (Microbiology)

يتميز علم الأحياء الدقيقة بسلسلة طويلة من الأحداث منذ قديم الزمان، والتي كانت بدايتها ملاحظة العلماء لأسباب الأمراض المعدية، كما قدم العديد منهم مساهمات عظيمة في تطوير هذا العلم والوصول إلى ما وصل إليه العلم في الوقت الحالي من إنجازات، وفيما يلي توضيح لوقت بدء علم الأحياء الدقيقة وكيفية ذلك: ما قبل اكتشاف علم الأحياء الدقيقة طرح العديد من العلماء أفكارهم حول احتمالية وجود كائنات حية دقيقة قبل اكتشافها الفعلي في القرن السابع عشر، فعلى سبيل المثال، افترض العالم الروماني ماركوس تيرينتيوس إمكانية انتشار الأمراض من خلال كائنات غير مرئية، كما حذر من بناء البيوت بجانب المستنقعات لأن هناك كائنات لا تُرى بالعين المجردة تطفو في الهواء، وتدخل الجسم عن طريق الفم والأنف، وتسبب الأمراض، وكتب ذلك في كتابه عن الزراعة في القرن الأول. افترض وجود الكائنات الحية الدقيقة افترض العالم أبو علي بن سينا (ابن سينا) في عام 1546م أنه يمكن لمرض السل وأمراض أخرى أن تكون معدية، كما افترض العالم جيرولامو فراكاستورو وجود كائنات شبيهة بالبذور يمكن أن تنقل العدوى من خلال الاتصال المباشر أو غير المباشر، ولكن كل هذه الفرضيات كانت تخمينية ولا تستند على أي أدلة علمية تطبيقية، ولم يتم إثبات وجود هذه الكائنات فعلياً. اخترع المجهر كان تاجر المنسوجات الهولندي أنطوني فان ليفينهوك (Antoni van Leeuwenhoek) هو أول من اخترع المجهر في عام 1677م، كما يعتبر أول من رأى الكائنات الحية الدقيقة، ولكنه لم يكتشف أهمية هذه الكائنات لصحة الإنسان. تجربة لادزارو سبالانساني افترض العالم لادزارو سبالانساني (Lazzaro Spallanzani) في عام 1768م أن الكائنات الحية الدقيقة تتحرك في الهواء، ويمكن قتلها عن طريق الغليان، وساعدت هذه النظرية العالم لويس باستور في بحثه. البداية الفعلية لعلم الأحياء الدقيقة أظهر عالم لويس باستور (Louis Pasteur) تقدماً عظيماً في علم الأحياء الدقيقة في عام 1857م، حيث بيّن أن الكائنات الحية الدقيقة كانت مسؤولة عن تخمر السوائل، وأنها هي المسؤولة عن تخمير المواد العضوية، أو إفسادها، أو تلوثها، كما أثبت النظرية الجرثومية للمرض، وأطلق مجال علم الأحياء الدقيقة الحديث. إثبات النظرية الجرثومية قام العالم لويس بتوسيع نتائج العالم لادزارو سبالانساني، وذلك عن طريق تعريض الحساء المغلي للهواء في أوعية تحتوي على مرشح لمنع الجزيئات من المرور، وفعل نفس التجربة ولكن دون وضع مرشحات، فلاحظ عدم وجود كائنات حية دقيقة داخل الحساء الأول، كما وجدها في الحساء الثاني، لذلك لاحظ أن هذه الكائنات جاءت من الخارج ولم تنشأ في الحساء نفسه، وهكذا تم إثبات النظرية الجرثومية. البسترة ساعدت تقنية التعقيم والبسترة لمنتجات الألبان في إنقاذ ملايين الأرواح، والتي نشأت في معهد العالم لويس باستير، والتي ألهمت العالم جوزيف ليستر

لاستخدام طرق مشابهة في تعقيم جروح المرضى، والأدوات المستخدمة في الجراحة. [٢] اكتشافات روبرت كوخ ساعد العالم روبرت كوخ في معرفة سبب مرض الجمرة الخبيثة التي كانت منتشرة بين الحيوانات في مزارع ذلك الوقت، في حين أنه تم اكتشاف بكتيريا الجمرة الخبيثة من قبل العلماء بولندر، وراير، ودافين، إلا أن كوخ هو من عرف سبب المرض، وذلك من خلال تلقيح الفئران ببكتيريا الجمرة الخبيثة المأخوذة من دم طحال الحيوانات التي ماتت بسبب هذه البكتيريا، فلاحظ أن الفئران التي تم حقنها قد ماتت بسببها، كما نفذ هذه التجربة على فئران أخرى حقنهم بدم حيوانات سليمة، فلاحظ أن الفئران سليمة ولم تمت، بالإضافة إلى تجربته التي اكتشف من خلالها أن بكتيريا الجمرة الخبيثة لها قدرة على إنتاج جراثيم داخل نفسها يمكنها مقاومة الظروف الصعبة، مثل نقص الأكسجين، وعندما تكون في ظروف مناسبة يمكنها العيش، وتلك الجراثيم هي سبب ظهور بكتيريا الجمرة الخبيثة مرة أخرى؛ على الرغم من عدم اتصالها بأي نوع من الحيوانات. اكتشاف المضادات الحيوية طور العالمان باول إرليش وساهشيرو هاتا أول مضاد حيوي للكائنات الحية الدقيقة، وهو عقار السالفارسان، الذي كان يستخدم لعلاج مرض الزهري في عام 1910م، وقد كان اكتشاف البنسلين من أعظم الاكتشافات والإنجازات البشرية، وذلك حين اكتشف العالم ألكسندر فلمينج البنسلين عام 1928م، وتم تطوير العقار في جامعة أكسفورد، والذي كان مفيداً في قتل الكائنات الحية الدقيقة، وأدى إلى اكتشاف العديد من المضادات الحيوية الأخرى. علم الأحياء الدقيقة الحديث تطور علم الأحياء الدقيقة إلى العديد من المجالات، كما ساعد في صناعة العديد من الأدوية، وتطوير أساليب لمراقبة جودة إنتاج الأغذية ومنتجات الألبان، وصحة المياه، بالإضافة إلى استخدام الكائنات الحية الدقيقة لإنتاج الفيتامينات، والأحماض الأمينية، والإنزيمات، وتصنيع منتجات الألبان المتنوعة، مثل اللبن، والأطعمة المخمرة، مثل المخللات، كما أصبح علم الأحياء الدقيقة أساس لعلم التكنولوجيا الحيوية.

نطوني فان ليفينهوك Antonie van Leeuwenhoek (1632 - 1723) :

باحث وعالم هولندي اخترع أول مجهر ضوئي بسيط شاهد من خلاله كائنات حية دقيقة في قطرات الماء وهو من أوائل العلماء الذين استخدموا العدسات عاش قرابة 91.



ساهم في تدشين علم الطفيليات والأحياء المجهرية الدقيقة العالم الرازي في كتابه (كتاب الحاوي) وابن سينا في كتابه القانون، وآخرون منهم أبو مروان بن زهر الأندلسي) ت 1161م (الذي عرفه الغرب باسم "Avenzorai" الذي لا يعادله في الشرق سوى الرازي، فضلاً عن أنه أول من قدّم وصفاً سريريًا لالتهاب الجلد الخام، ولالتهاب الناشفة والانسكابية لكيس القلب، وأول من ابتكر الحقنة الشرجية المغذية، والغذاء الصناعي لمختلف حالات شلل عضلات المعدة، وأول من استعمل أنبوبة مجوفة من القصدير لتغذية المصابين بعسر البلع، وقدم وصفاً كاملاً لسرطان المعدة، وهو أول من اكتشف جرثومة الجرب وسماها «صؤابة»، ذلك الاكتشاف المثير الذي يأخذ به علم الطفيليات والأحياء المجهرية إلى اليوم.

علم الاحياء الدقيقة: microbiology

هو العلم الذي يهتم بدراسة الكائنات الحية الصغيرة الحجم والتي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة بل نحتاج الى استخدام المجهر الذي يقوم بتكبير صورة الجسم الى اضعاف ماهي عليه ، وتشمل هذه الكائنات البكتريا Bacteria والبروتوزوا Protozoa والفيروسات Viruses والفطريات Fungi والطحالب Algae والركتسيا Rickettsia.

فروع علم الاحياء الدقيقة

مجالات مختلفة من علم الأحياء الدقيقة البحتة

1. علم الحيوان الأولي

دراسة علم الحيوان الأولي عن الأوليات ، الطلائعيات "الشبيهة بالحيوان".

2. علم الجراثيم

في علم الجراثيم ، ندرس علم التشكل ، والبيئة ، وعلم الوراثة ، والكيمياء الحيوية بكتيريا.

على سبيل المثال :يدرس هذا الفرع عن العصيات ، العصوية ، السبيريوم ، الريكتسيا ، والميكوبلازما.

3. علم الفطريات

في علم الفطريات، ندرس الخصائص الجينية والكيميائية الحيوية ، والتصنيف ، والفوائد) استخدامات tinder، والطب التقليدي، والغذاء، ومركبات entheogens، والسمية أو الإصابة بالعدوى الفطريات

.يسمى الشخص المتخصص في علم الفطريات بطبيب الفطريات.

على سبيل المثال :يدرس هذا الفرع الفطر والعفن والخمائر.

4. علم النبات / علم الطحالب:

في علم الطحالب أو علم الطحالب ، ندرس الطحالب.
على سبيل المثال: يدرس هذا الفرع الطحالب الخضراء (Chlorophyta) ، Euglenophyta
(Euglenoids)، الطحالب الحمراء (Rhodophyta) ، إلخ.

5. علم المناعة:

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة البحت ، ندرس أجهزة المناعة في جميع الكائنات الحية.
على سبيل المثال: يدرس هذا الفرع الاضطرابات المختلفة مثل أمراض المناعة الذاتية وفرط الحساسية
ونقص المناعة وأيضًا الموضوعات الأخرى المتعلقة بعلم المناعة.

6. علم الفيروسات:

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة البحت ، ندرس الفيروسات.
على سبيل المثال: يدرس هذا الفرع فيروس الجدري وفيروس الإيبولا وما إلى ذلك.

7. علم الديدان

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة البحت ، ندرس حول الديدان الخيطية أو الديدان المستديرة.
على سبيل المثال: هذا الفرع يدرس حول الديدان الخيطية التي تتطفل على البشر بشكل شائع وتشمل
الأسكاريد (الأسكاريس) ، الفيلاريات ، الديدان الخطافية ، الديدان الدبوسية (Enterobius) ، والديدان
السوطية (Trichuris trichiura)

8. علم الخلايا الميكروبية

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة البحت ، ندرس التفاصيل المجهرية وغير المجهرية للكائنات الحية
الدقيقة.

على سبيل المثال: يدرس هذا الفرع البنية الداخلية ، والبنية الخارجية ، وما إلى ذلك من الكائنات الحية
الدقيقة.

9. علم الأحياء الدقيقة التطوري

يدرس هذا الفرع تطور الميكروبات. ينقسم هذا الفرع إلى مجموعتين: التصنيف الميكروبي (تسمية
وتصنيف الكائنات الحية الدقيقة) والنظاميات الميكروبية (التنوع والعلاقة الوراثية للكائنات الحية الدقيقة)

10. جيل الأحياء الدقيقة

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة النقي ، ندرس الكائنات الحية الدقيقة التي لها نفس خصائص
والديهم

11. نظم الأحياء الدقيقة

علم الأحياء الدقيقة للأنظمة هو تخصص يربط بين علم الأحياء وعلم الأحياء الدقيقة.

12. علم الأحياء الدقيقة الجزيئي

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة البحت ، ندرس المبادئ الجزيئية للعمليات الفسيولوجية في الكائنات الحية الدقيقة

13. علم دراسة العلاقات الجينية

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة النقي ، ندرس العلاقات الجينية بين الكائنات الحية المختلفة

14. علم وظائف الأعضاء الميكروبي

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة النقي ، ندرس كيفية عمل الخلية الميكروبية كيميائياً. يشمل دراسة نمو الميكروبات ، والتمثيل الغذائي الميكروبي ، وهيكل الخلية الميكروبية.

15. علم البيئة الميكروبية أو علم الأحياء الدقيقة البيئية

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة النقي ، ندرس علاقة الكائنات الحية الدقيقة ببعضها البعض ومع بيئتها.

16. علم الوراثة الميكروبية:

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة النقي ، ندرس كيفية تنظيم الجينات وتنظيمها في الميكروبات فيما يتعلق بوظائفها الخلوية المرتبطة ارتباطاً وثيقاً بمجال البيولوجيا الجزيئية.

17. علم الأحياء الدقيقة الخلوية

إنه تخصص يربط بين علم الأحياء الدقيقة وبيولوجيا الخلية.

18. علم الطفيليات:

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة البحت ، ندرس الطفيليات ومضيفها والعلاقة بينهم . على سبيل المثال: يدرس هذا الفرع عن Plasmodium spp و Leishmania و Entamoeba و Giardia، إلخ.

مجالات مختلفة من علم الأحياء الدقيقة التطبيقي

1. علم الأحياء الدقيقة الطبية

يدرس هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة الميكروبات المسببة للأمراض ، ودورها في أمراض الإنسان ، وعلم الأوبئة ، وما إلى ذلك.

2. علم الأحياء الدقيقة الصيدلانية

هذه الدراسة الفرعية حول تلك الميكروبات مسؤولة عن إنتاج المضادات الحيوية والإنزيمات والفيتامينات واللقاحات والمنتجات الصيدلانية الأخرى.

3. علم الأحياء الدقيقة الصناعية

في علم الأحياء الدقيقة الصناعي ، ندرس استغلال الميكروبات لاستخدامها في العمليات الصناعية. على سبيل المثال ، ندرس حول التخمر الصناعي ومعالجة مياه الصرف الصحي.

4. التكنولوجيا الحيوية الميكروبية

في التكنولوجيا الحيوية الميكروبية ، ندرس معالجة الكائنات الحية الدقيقة على المستوى الجيني والجزئي لتوليد منتجات مفيدة.

5. ميكروبيولوجيا الغذاء

في علم الأحياء الدقيقة للأغذية ، ندرس الكائنات الحية الدقيقة المسببة لفساد الطعام وانتقاله مرض.

6. علم الأحياء الدقيقة الزراعية

في علم الأحياء الدقيقة الزراعي ، ندرس تلك الكائنات الدقيقة ذات الصلة بالزراعة.

7. علم الأحياء الدقيقة النباتية

في علم الأحياء الدقيقة للنبات ، ندرس التفاعلات بين الكائنات الحية الدقيقة والنباتات ومسببات الأمراض النباتية.

8. ميكروبيولوجيا التربة

في علم الأحياء الدقيقة للتربة ، ندرس الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في التربة.

9. علم الأحياء الدقيقة البيطري

في علم الأحياء الدقيقة البيطري ، ندرس دور الميكروبات في الطب البيطري أو تصنيف الحيوانات

10. علم الأحياء الدقيقة البيئية

في هذا الفرع من علم الأحياء الدقيقة ، ندرس وظيفة وتنوع الميكروبات في بيئاتها الطبيعية. ينقسم هذا المجال أيضًا إلى فروع مختلفة مثل ، البيئة الميكروبية ، دورة المغذيات الميكروبية ، علم الأحياء الدقيقة ، التنوع الميكروبي ، المعالجة الحيوية.

11. الأحياء الدقيقة المائية

في علم الأحياء الدقيقة للمياه ، ندرس تلك الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في الماء.

12. علم الأحياء الجوية

في علم الأحياء الدقيقة الجوي ندرس الكائنات الدقيقة المحمولة جواً.

13. التكنولوجيا الحيوية

في التكنولوجيا الحيوية ، ندرس تكنولوجيا الحمض النووي المؤتلف أو الهندسة الوراثية

دور الاحياء الدقيقة في احداث الامراض :

البكتيريا كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية في معظم الاحيان، تكون مادتها الوراثية DNA غير محاطة بغشاء وبالتالي ال تكون منتظمة ضمن نواة كما هو الحال عند الكائنات حقيقية النوى. يتميز الجدار الخلوي في البكتيريا بعدم احتوائه على الكيتين والسيليلوز بل يتكون من بروتينات وسكريات وبعض الأحماض الامينية للنبات ومعظم البكتيريا الممرضة للنبات هي ع من البكتيريا تسبب أم هناك ما يقرب من مائة نو راضا اختيارية الترمم. وقد تكون البكتيريا ذات شكل عصوي، كروي، لولبي، أو خيطي. لها أسواط، أو بدون أسواط، متبوعة أو غير متبوعة. يتم التكاثر الخضري عند معظم أنواع البكتيريا بواسطة انقسام البسيط . الصفات العامة للبكتيريا الممرضة للنبات :إن معظم البكتيريا الممرضة للنبات عصوية الشكل باستثناء الجنس Streptomyces ذي الشكل الخيطي . تعتمد صبغة غرام على خصائص تركيب الجدار الخلوي حيث تتفاعل مكوناته مع صبغة غرام وتشكل معقدا (أزرق : موجبة لصبغة غرام، أحمر : سالبة لصبغة غرام. وتضم ال يزول عند غسله بالكحول البكتيريا السالبة لصبغة غرام معظم البكتيريا الممرضة للنبات تبدأ بالتكاثر عند درجات الحرارة 01-5 م والحرارة المثلى لتكاثرها 01-55م ويتوقف عندما ترتفع الحرارة إلى - 01 00 م . تفضل الاوساط المعتدلة أو الضعيفة القلوية .كل أنواع البكتيريا غيرية التغذية، معظمها هوائية ، وال يوجد بكتيريا إجبارية التطفل .انتشار ومصادر العدوى الاولية : تستطيع البكتيريا الدخول إلى النبات عبر الانسجة السليمة. إن إصابة النبات بالبكتيريا مرتبطة بوجود قطرات الماء . إن انتقال البكتيريا بواسطة الهواء لمسافات بعيدة محدود . يكون انتقال البكتيريا داخل النبات بشكل سلبي أي تعتمد على حركة النسغ . تنتشر البكتيريا عبر الاوعية الناقلة وتغزو الانسجة المجاورة وتدخل إلى البذور أي أن الإصابة البكتيرية غالبا . ما تكون جهازية ساكنة والتي تستطيع البقاء حية طويلا في التربة باستثناء بعض أنواع البكتيريا تملك أطوارا أنواع الجنس .Agrobacterium.

المحاضرة الثالثة

التركيب الخلوية Structure

تضم الخلية البكتيرية تراكيب وعصيات كثيرة يقع قسم منها خارج الخلية في حين نجد القسم الاخر محاطا بغلاف الخلية . ان هذه التراكيب لا توجد جميعا وفي ان واحد في جميع انواع الخلايا البكتيرية ، بل نجد بدلا من ذلك ان قسما منها ينحصر وجوده في بعض الانواع بحيث يعد صفة مميزة لهذه الانواع من الناحية التصنيفية في حين ان التراكيب الاخرى مثل الجدار الخلوي والساييتوبلازم توجد بصورة طبيعية في جميع انواع الخلايا البكتيرية

١- الجدار الخلوي Cell Wall

الخلية البكتيرية تحفظ محتوياتها داخل جدار خلوي ، والجدار الخلوي ان هو وجد في اي كائن حي فهو تركيب معقد من الناحية الكيمياوية حيث يتكون من عدد من الانواع المختلفة من الجزيئات الكبيرة Macromolecules وان واحدة من هذه المواد على الاقل تكون مسؤولة عن قوة الجدار الخلوي ، ونستطيع ان نشخص هذه المادة عن طريق تعريض الخلية الى انزيم محلل معروف مفعوله . فاذا ما تحللت الخلية فهذا يعني ان المادة المعينة قد دمرت وبهذا تعرف هوية هذه المادة الاساسية في تركيب جدار الخلية على انها هي المسؤولة عن التكامل التركيبي للجدار الخلوي . ويتكون هذا الجدار من نوع فريد من مادة عضوية متعددة Organic polymer تدعى Murein او البيبتيدوكلايكان Peptidoglycans وهذه المادة عبارة عن مكررات متباينة Heteropolymers وتتكون من عدة انواع مختلفة من الوحدات الفرعية مثل الكربوهيدرات وبعض الحوامض الامينية . وتوجد الكربوهيدرات على شكل سكريات امينية ونجد اثنين منها في الميورايين حيث يدعى اول هذه السكريات بخلات الكلوكوز الامينية (N-acetylglucose amine AG) اما ثاني السكريات هذه فيدعى (N- acetylmuramic acid AMA) ويوجد AG ضمن مكررات حيوية Biological Polymers كثيرة اخرى مثل الكايتين ، في حين ان AMA موجود في الميورايين فقط اما الحوامض الامينية بوصفها وحدات فرعية ضمن تركيب مادة الميورايين ، فهي تتباين من مجموعة حيوية الى اخرى حيث يوجد ثلاثة منها كحد ادنى في جميع الاحوال وتتمثل هذه الحوامض alanine بالالانين والكلوتاميك glutamine واما حامض Diaminopimelic او اللايسين Lysine وتحتوي البروتينات دائما على كل من الحوامض المذكورة ماعدا حامض Diaminopimelic فهو لا يوجد ابدا في البروتينات .

وتعد جدران الخلايا البكتيرية معقدة جدا في تركيبها حيث نجد فيها مكونات اخرى الى جانب الميورايين وفي الحقيقة ان مادة الميورايين Murein لا تشكل الا جزءا بسيطا من المكونات الاخرى الا ان اهمية مادة الميورايين تاتي من كونها علامة تصنيفية Taxonomic Marker لجميع الخلايا البدائية النواة حيث نجدها في جدران جميع هذه الخلايا وبدون استثناء فضلا عن غيابها التام من اي مادة تركيبية اخرى في الخلايا الحقيقية النواة

ومادة الببتيدوكلايكان Peptidoglycan او الميورابين مجسمة اي لها ثلاثة ابعاد ومن هنا تاتي قوتها وهي بذلك لا تعترض دخول الماء والمواد المغذية مثل المعادن والكلوكوز والحوامض الامينية حتى المواد العضوية ذات الجزيئات الكبيرة نسبيا هذا فضلا عن المواد التالفة تخرج من الخلية من خلال هذا المرر .

ان صلابة تركيب الببتيدوكلايكان Peptidoglycan تتأتى من الاواصر العرضية التي تربط البوليمر Polymer المكورات . وفي جدران الخلايا الموجبة لصبغة كرام فان هذه الاواصر العرضية تكون اكثر عددا مما هي عليه في جدران البكتريا السالبة لصبغة كرام . وعليه فان مادة الببتيدوكلايكان ليست المادة الوحيدة الموجودة في جدران الخلايا البكتيرية ، فهناك مواد معقدة اخرى تشكل معها مجمل هيكل هذه الجدران . ففي البكتريا السالبة لصبغة كرام يكون الجدار رقيقا جدا يبلغ سمكه (١٠-١٥) نانوميتر وهو يشكل (١٠-٢٠)% من وزن الخلية الجاف ، ويتكون من (٥-١٥) % من Peptidoglycan و ٣٥ % من الدهون الفوسفاتية Phospholipids و ١٥ % Protein و ٥٠ % Lipopolysaccharides اما البكتريا الموجبة لصبغة كرام فيكون جدارها اكثر سمكا مما هو عليه في البكتريا السالبة لصبغة كرام ، حيث يبلغ سمكه حدود ٢٥-٣٥ nm ويشكل ٢٠-٤٠ % من وزن الخلية الجاف ، ويحتوي على ٢٠-٨٠ % من مادة Peptidoglycan اضافة الى مواد اخرى مثل البروتينات والسكريات المتعددة وحامض Teichoic acid .

وظائف الجدار الخلوي :-

- ١- يحدد شكل الخلية البكتيرية ويعطيها الصلابة .
- ٢- محيط بالغشاء البلازمي وباقي محتويات الخلية .
- ٣- مقاوما لشدة ضغط البروتوبلاست Protoplast الذي يحتويه وبهذا فهو يمنع تحلل الخلية عند وضعها في بيئة واطنة الشد .

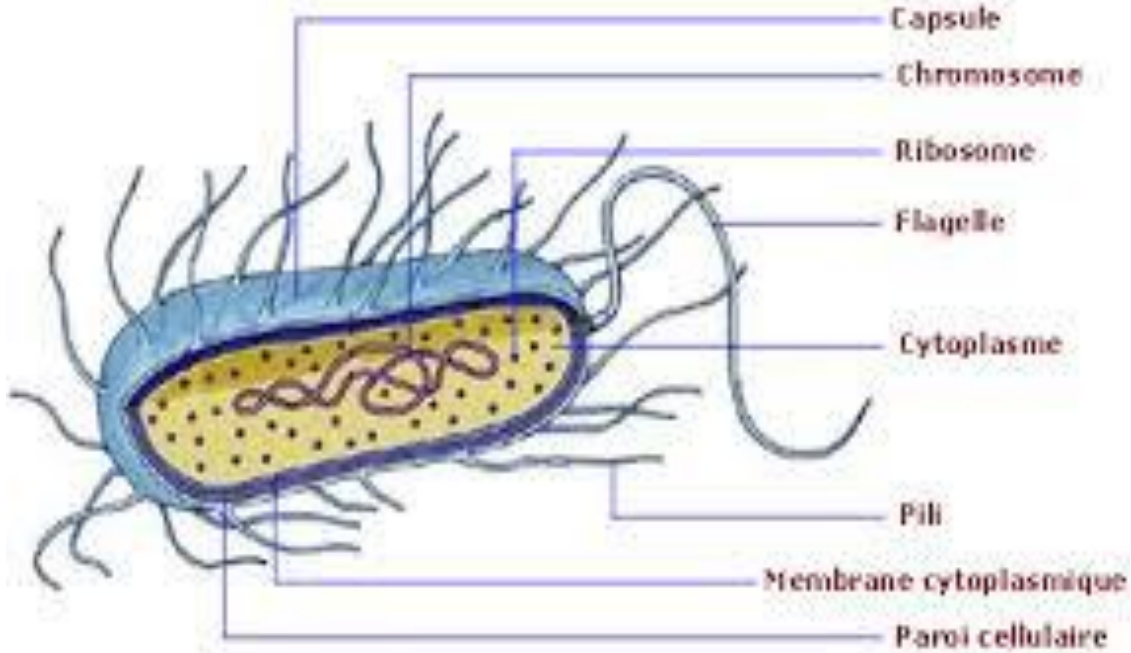


Figure 1 : Structure d'une cellule procaryote (bactérie)

شكل (٢) رسم تخطيطي لخلية بدائية النواة (بكتريا)

٢ - الغشاء السايئوبلازمي Cytoplasmic membrane

يقع تحت الجدار الخلوي مباشرة وهو تركيب واضح يمكن عزله عن بقية التراكيب الخلوية . فعند ازالة الجدار الخلوي عن طريق استخدام lysozyme ثم انفجار البروتوبلاست بوضعه في محلول واطيء الشد تندلع محتويات الغشاء السايئوبلازمي او ما تسمى بالسايئوبلازم للخارج ويبقى الغشاء السايئوبلازمي على شكل كيس رقيق فارغ حيث ينظف بغسله بالماء وطرده مركزيا . ان الغشاء السايئوبلازمي يتكون من ثلاث طبقات متتالية وان التحاليل الكيماوية اوضحت ايضا ان هذه الاغشية تشابه اغشية الخلايا الحيوانية فهي تتكون من البروتين بنسبة ٦٠% والكربوهيدرات بنسبة ١٠% اما ٣٠% الباقية فتتمثل بالدهونات وتمتاز بكونها لا تحتوي على الستيروولات Sterols على عكس الاغشية الحيوانية التي تحتوي على هذه المادة . والغشاء السايئوبلازمي لا يذوب عند تعرضه lysozyme وهذا يعني عدم احتوانه على مادة Peptidoglycan . اما البروتينات الموجودة في هذا التراكيب فهي كانزيمات او هي انزيمات فعلا .

وظائف الغشاء السايئوبلازمي :-

- ١- كغشاء شبه ناضح يعمل حاجزا تنافذيا osmotic barrier لا يسمح بمرور المواد ذات حجم جزيئي يزيد على حجم جزيئة الكليسرين وبهذا فهو يسمح بتكوين ضغط تنافذي داخل الخلية ويحافظ عليها .

٢- السماح بمرور الجزيئات الكبيرة الايضية وذلك ضمن انظمة دقيقة ومتخصصة تدعى عادة انظمة النقل النشط **Active transport system** و احيانا تدعى بانزيمات النضوح او **Permeases** حيث يتخصص كل نظام من هذه الانظمة لمادة شئ معينة او مجموعة مواد تتقارب بتركيبها الكيماوي بعضها مع البعض الاخر فالخلية مثلا تستطيع اخذ سكر الفركتوز وليس اللاكتوز

٣- ان اغشاء يوظف نفسه لخرن العديد من الانزيمات التي تحتاجها الخلية في عمليات تمثيل الطاقة ، وهو بذلك يؤدي وظيفة مهمة في ديمومة حياة الخلية .

الية انتقال المواد عبر الغشاء الساييتوبلازمي :-

١- النقل السلبي **Passive transport** وهو نقل المواد من خارج الخلية الى داخلها بصورة بطيئة والقوة المحركة للجزيئات المارة خلال الغشاء هي الفرق بين تركيز الجزيئات او المادة على جانبي الغشاء البلازمي.

٢- النقل الفعال **Active transport** تحتاج هذه العملية الى طاقة لكي تستمر بنقل المواد المعينة وتستطيع ان تخزن المادة داخل الخلية بحيث تركيزها عما هو عليه خارج الخلية اي في الوسط البيئي.

ولتوضيح عمل الانظمة الانشطة سنتناول عملية نقل السكريات السداسية الكربون **Hexoses** عبر الغشاء الساييتوبلازمي ، وتحتاج الخلية لهذا الغرض الى الطاقة حث تجهز هذه الطاقة عبر اصرة الفوسفات الغنية بالطاقة والموجودة ضمن جزيئة ال **Phosphoenol pyruvate (PEP)** وهنا يتدخل ما يسمى بالبروتين الحامل للطاقة **Carrier protein** حيث تحمل الطاقة على هذا البروتين من خلال انتقال الفوسفات اليه بتفاعل يتوسطه انزيم ثم يقول هذا البروتين الحامل للطاقة بفسفرة السكر السداسي الموجود خارج الغشاء الساييتوبلازمي من خلال تفاعل اخر تنتقل فيه الفوسفات الى السكر بتوسط انزيم معين

PEP+ Protein-----→Pyruvate +protein phosphate

Protein phosphate + suger-----→Sugar-6-Phosphate +Protein

ان مجموع هذه التفاعلات تؤدي الى انتقال السكر المعني الى داخل الخلية عبر الغشاء الساييتوبلازمي .

٣- الفراغ الساييتوبلازمي من خلال تقنية المجهر الالكتروني تشير الى ان هناك فراغا ضئيلا يتوسط الجدار الخلوي والغشاء الساييتوبلازمي وفي هذا الفراغ يوجد عدد من الانزيمات المحللة حيث يتم تبسيط الجزيئات المعقدة التي تدخل الخلية عبر الجدار الخلوي وتحولها الى سكريات

وحوامض امينية وما شابه ، ثم يتم بعد ذلك تحميل هذه المواد المبسطة الى داخل الخلية بتوسط الانظمة النشيطة

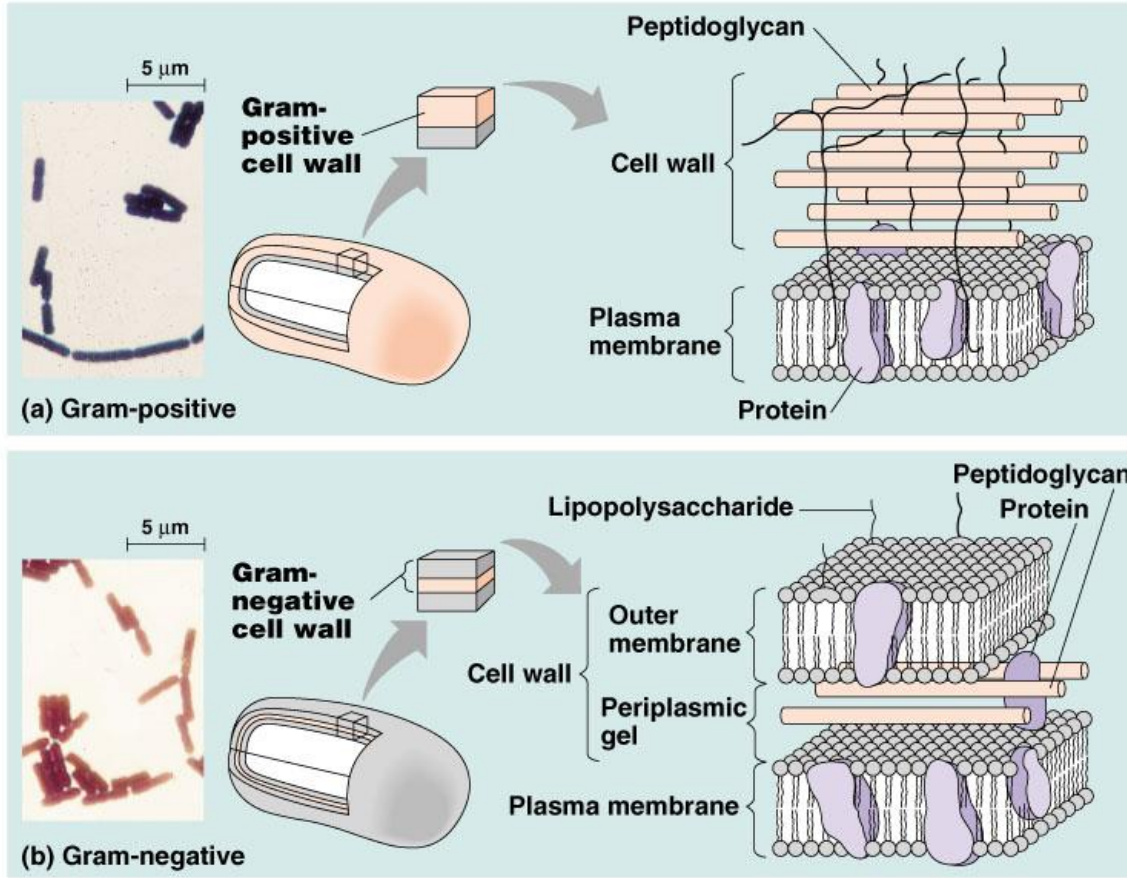
3- البروتوبلاست Protoplast

يوجد الجدار الخلوي في الاحياء البدائية النواة وبعض الخلايا الحقيقية النواة مثل الخمائر والاعفان وبعض النباتات يمكن ازالة جدران الخلايا دون ان تفقد هذه الخلايا حيويتها اذا ما حفظت في ضغط تنافذي مناسب . والخلية في هذه الحالة تدعى البروتوبلاست **Protoplast** والاخير عبارة عن جسم مكور دائما مهما كان شكل الخلية المشتق منها ، وذلك بسبب غياب الجدار الخلوي . ويبقى البروتوبلاست كما هو لبضعة ساعات في محلول ذات ضغط تنافذي عال نسبيا مثل ٥% كلوريد الصوديوم او ٢٠% سكر الكلوكوز او ٢٠% مصل الدم لكي يعادل الضغط التنافذي الذي يسלט على الغشاء السايوتوبلازمي من داخل السايوتوبلازم .

يمكن الحصول على **Protoplast** عن طريق تنمية الخلية في وسط غذائي يحتوي على البنسيلين ، اذا ان هذا المضاد الحيوي يعمل على منع التآصر العرضي في مادة **Peptidoglycan** ولا يتسم هذا التآصر الا ان الخلايا النامية او المنقسمة وبهذا فان الخلايا الفتية للبكتريا الموجبة لصبغة كرام تكون اكثر حساسة للبنسيلين من البكتريا السالبة لصبغة كرام . وبدون الجدار الخلوي فان البكتريا تكون على شكل بروتوبلاست . وينفجر **Protoplast** نتيجة حساسيته للضغط التنافذي مالم يكن محميا بسائل ذي ضغط تنافذي عال .

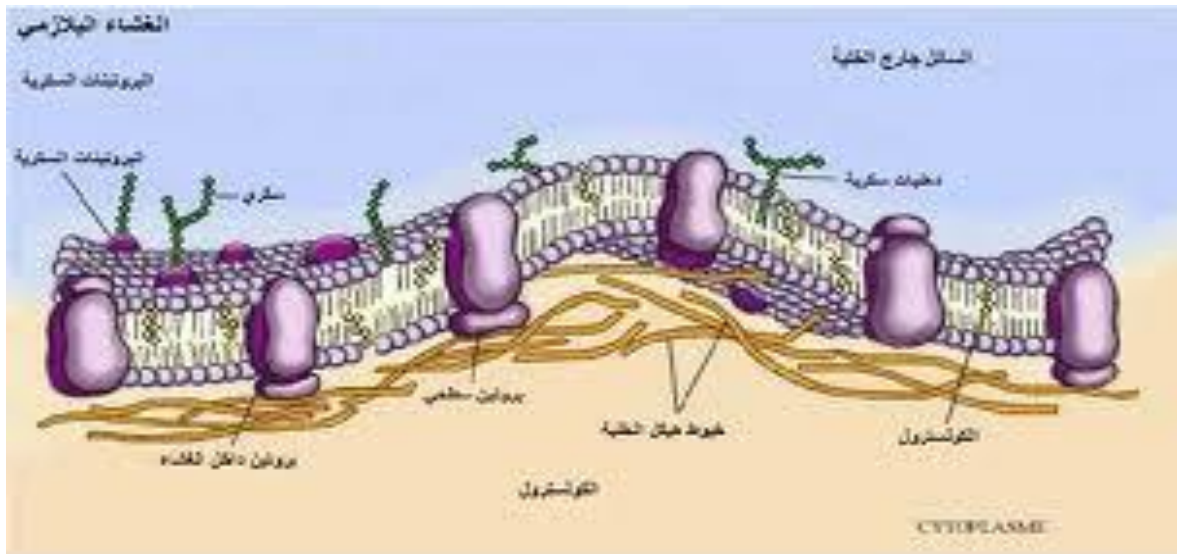
وبسبب ضالة كمية **Peptidoglycan** في البكتريا السالبة لصبغة كرام فان هذا النوع من البكتريا لا يتأثر بفعالية البنسيلين حيث ان هناك مواد اخرى في جدران هذه الخلايا تحميها من الانفجار حيث ان الخلايا الحيوانية وبضمنها الانسان لا تتأثر بفعالية البنسيلين

ان مادة اخرى نستطيع استخدامها في عملية تحضير **Protoplast** وهي مادة **Lysozyme** وهي انزيم يوجد في زلال البيض وافرازات البشرة والاعشوية المخاطية اضافة الى وجوده في السائل الدمعي ويهاجم **Lysozyme** بصورة خاصة الاواصر الكلايكوسيدية **Glycosidal Linkage** التي تربط السكريات المتعددة ضمن تركيب البيتييدوكلايكان وبذلك يذوب الجدار الخلوي . نجد ان البكتريا الموجبة لصبغة كرام حساسة جدا لهذا الانزيم بحيث تتحول الخلية بسرعة بروتوبلاست عند تعرضها **Lysozyme** على عكس البكتريا السالبة لصبغة كرام التي تحتوي على كميات بسيطة جدا من البيتييدوكلايكان ، وتكون عادة مغطاة بطبقة دهنية معقدة ويمكن ان نزيل هذه الطبقات الدهنية من الخلية اولا ، وذلك باضافة مواد مذيية للدهون مثل محلول هيدروكسيد الصوديوم ومن ثم تعامل الخلايا بالانزيم وان الجدار لا يزاح تماما من الخلية او ان الخلية نفسها تبدأ بتصنيع قسم بسيط منه بعد هذه المعاملات والخلايا في هذه الحالة تدعى **spheroplast** .



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

شكل (٣) تركيب الجدار الخلوي Cell Wall للخلية البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام



شكل (٤) تركيب الغشاء الساييتوبلازمي Cytoplasmic membrane

٤- الجسم الوسطى Mesosome

يكون على شكل انبعاثات معقدة متصلة بالغشاء السائتوبلازمي ولو انه يظهر في المقاطع الخلوية الرقيقة وكانه تركيب مستقل ومنفصل من الغشاء السائتوبلازمي الا ان المجهر الالكتروني اثبتت عكس ذلك كما انه يختفي عند ازالة الجدار الخلوي وتحضير البروتويلاست وهذا يعني ان الغشاء السائتوبلازمي يتمدد ليحيط بالسائتوبلازم وبذلك يأخذ معه الجسم الوسطى اثناء عملية التمدد .

وظائف Mesosome :-

- ١- مركز لتنفس الخلية .
- ٢- يشترك في تكوين الجدار العرضي اثناء الانشطار الخلوي لاتصال الكروموسوم به .
- ٣- يعمل على توزيع المادة النووية على شطري الخلية المنقسمة

٥- الاسواط Flagella وفردھا سوط Flagellum

ان افراد العديد من المجاميع البكتيرية لا تستطيع الحركة تماما كما في جميع انواع المكورات البكتيرية تقريبا وعن اعداد كبيرة من انواع العصيات . وعندما يتحرك قسم من الانواع البكتيرية فان حركته تقترب مباشرة بوجود الاسواط البكتيرية. والاسواط عبارة عن خيوط رفيعة جدا تنشأ من السائتوبلازم ، وتبرز الى الخارج من خلال الجدار الخلوي . ويبلغ طول السوط اضعاف طول الخلية البكتيرية في حين ان قطره لا يعادل الا جزءا من قطر الخلية البكتيرية فهو قد لا يتعدى ١٤٠ انكستروم . ولهذا لا نستطيع رؤية هذه التراكيب باستخدام المجهر الاعتيادي خصوصا اذا كانت البكتريا تحمل سوطا واحدا ، الا اننا على اي حال نستطيع مشاهدة الاسواط على الخلايا الحية وهي تتحرك وبهذا تلتف الاوساط بعضها على البعض الاخر لتشكل حزمة يمكن ملاحظتها .

لا يمكن رؤية السوط تحت المجهر الاعتيادي بدون تصبغ ولكن يمكن رؤية حركة البكتريا للخلايا الحية وهي تتحرك. تعتمد طرق التصبغ على اساس واحد وهي معاملة الخلايا المثبتة بمادة مثبتة للالوان **Mordant** (Tannic acid salts) وهي محلول غروي غير مستقر يترسب على شكل طبقة سميكة من مادة قابلة للصبغ على سطح الخلية وعلى امتداد سطح السوط او الاسواط وعند اضافة الصبغة نستطيع مشاهدة هذه المادة المترسبة عند استعمالنا المجهر الضوئي حيث يظهر السوط على شكل خيط رفيع جدا

يختلف ترتيب الاسواط على البكتريا باختلاف الانواع اما ان يكون

- سوط قطبي واحد **Monotrichous** .
- مجموعة اسواط في قطب واحد **Lophotrichous** .
- سوط في قطب واحد **Amphitrichous** .

- عدد من الاسواط حول الخلية Peritrichous

ويعتمد موقع السوط وعدده كصفة تصنيفية للرتبة مثال على ذلك

١- اسواط قطبية مثل رتبة Pseudomonales

٢- اسواط محيطية مثل رتبة Eubacterials

ان التحليل الكيماوي للاسواط يكشف عن ان هذه التراكيب تتكون من وحدات بروتينية تسمى
Flagellin

وبسبب مسؤولية الاسواط عن حركة البكتريا فضلا عن انه ليس جميع الانواع البكتيرية تحتوي
على اسواط . تقسم البكتريا الى نوعين نوع متحرك ونوع غير متحرك وان الطريقة التي تحرك
الاسواط بها البكتريا غير معروفة بالضبط. فهناك فرضيتان :-

١- تقول بان الوحدات البروتينية التي تكون الاسواط تتقلص وتنسبط منتجة بذلك ما يشبه
التموجات فهي قد تسحب او تدفع الخلية.

٢- فتفترض حركة دائرية يقوم بها السوط بما يشبه حركة المروحة مما يؤدي الى حركة
الخلية .

٦-الشعيرات او الاهلاب Fimbriae or pili

وهي زوائد خيطية رفيعة جدا تمتد الى خارج الخلية وتوجد في بعض الخلايا البكتيرية العصوية
السالبة لصبغة كرام وليس لهذه التراكيب اي علاقة بالاسواط فقد نجد ايا منهما دون الاخر.
والاهلاب اصغر من الاسواط بكثير واقصر منها واكثر عددا حيث يبلغ قطر الواحد منها ما بين (٢٥-٣
nm) وطوله بحدود (٠,٥-٢٠ mm) المايكروميتر يساوي ١٠^{-٦} متر اعتمادا على نوع
هذه الاهلاب .

وبسبب صغر حجم هذه التراكيب فلا يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي وبذلك لا نستطيع رؤيتها الا
بالمجهر الاليكتروني حيث التكبير الفائق تكون مستقيمة تقريبا وصلبة وغير متحركة وتشارك مع
الاسواط او المحفظة في كون هذه التراكيب لا تؤثر في حيوية الخلية في حالة ازالتها من الخلية
الياً .

تتكون الاهلاب من مادة بروتينية بصورة كلية ويدعى هذا البروتين بالبايلين Pilin وهو يتكون
من وحدات ثانوية مترتبة حلزونية بعضها مع البعض الاخر لتشكل خيطا قويا ذا لب فارغ وما دام
البروتين هو المادة الرئيسية في تركيب الاهلاب وتعطي للخلية مستضدات نوعية Specific
antigens شأنها في ذلك شأن الاسواط .

انواع الاهلاب :-

١- الهلب الجنسي sex pili :- يساعد على انتقال المادة الوراثية بين الخلايا البكتيرية

بعملية تدعى الاقتران Conjugation

٢- الاهلاب اللاصقة **adhesion pili** :- التي تستخدمها بعض السلالات البكتيرية لكي تلتصق بالخلايا الحيوانية والنباتية اضافة الى السطوح الخاملة مثل الزجاج والسيليلوز حيث تستطيع البكتريا من خلالها ان تثبت نفسها في بيئتها الطبيعية ليتسنى لها توفير المواد المغذية .

٣- الهلب المستقبل **receptor pili** : - وهو معد لتسلم فايروسات البكتريا العاثيات **bacteriophage** اي الانواع التي تمتلك هذا النوع من الهلب يمكن اصابتها بالفايروس او العاثية

٧-المحفظة او الكبسول Capsule

تحاط بعض الخلايا البكتيرية بطبقة مخاطية صمغية تدعى المحفظة وتنشا المحفظة وتصنع في الغشاء الساييتوبلازمي ثم تفرز الى خارج الخلية من خلال ثقب الجدار الخلوي ، وتختلف المحفظة فيما بينها من ناحية التركيب الكيماوي حتى ضمن خلايا النوع البكتيري الواحد هناك العديد من الانواع البكتيرية لا تمتلك هذا التركيب في حين ان الانواع التي تحتوي على المحفظة تستطيع ان تفقدها دون ان يؤثر ذلك في حيوية الخلية ومعدل نموها وفي احيان اخرى نجد ان تكوين المحفظة يرتبط ارتباطا مباشرا بالظروف البيئية المتاحة . ان تركيب المحفظة هو متعدد السكريات **Polysaccharide** والقليل يتركب من **Glutamic acid** حيث يشكل **Dextran** او الليفان **Levan** التركيب الكيماوي الاساس للمحفظة ان هاتين المادتين تصنعان من مصدر واحد وهو سكر القصب **Sucrose** ثنائي السكريات وليس من اي سكر اخر فان الخلايا من هذا النوع تفرز بغزارة المادة المخاطية او المحفظة ان هي نمت في وسط يحتوي على سكر القصب اما اذا استبدل هذا السكر بسكر اخر فان هذه البكتريا تعجز عن تصنيع المحفظة .

ان قيام الخلية البكتيرية بتخليق المحفظة يعد عملية وراثية يسيطر عليها جين معين ضمن الحقيبة الوراثية للخلية وعند تعريض هذا الجين لطفرة وراثية بحيث يمكننا الحصول على خلية بمحفظة او خلية عارية بدون محفظة ولنفس النوع البكتيري فالطفرات ذات المحفظة تعطي مستعمرات ناعمة لماعة **S- smooth colonies** في حين ان الطفرات العديمة المحفظة تعطي مستعمرات خشنة **R rough –colonies** وعندما تحدث مثل هذه الطفرات في بكتريا مرضية ذات محفظة مثل **Streptococcus pneumonia** فانها تفقد قابليتها على اصابة المضيف نتيجة هذا الفقدان

وظيفتها :- ١- ان المحفظة تحمي الخلايا البكتيرية من عملية الالتهام او البلعمة **Phagocytosis** بوساطة خلايا البلعمة **phagocytes** وبهذا تصبح البكتريا قادرة على احداث المرض .

٢-يمكن ان تساعد البكتريا على الالتصاق بالسطوح الملساء.

٣-تقي الخلية البكتيرية من الجفاف

ان التمييز بين الجدار الخلوي والمحفظة البكتيرية ليست عملية سهلة حيث يتداخل احدهما مع الاخر بالرغم من ان التركيبين يختلفان تماما ، توضيح المحفظة باستخدام المجهر الاعتيادي وصبغات بسيطة مثل الحبر الهندي ان الحدود الخارجية للمحفظة في معظم الانواع البكتيرية تكون واضحة وفي بعض انواع اخرى غير واضحة ومضبية بسبب ذوبان الطبقات الخارجية للمحفظة في الوسط المحيط بها ولهذا السبب تعزى الزيادة الحاصلة في قوام الوسط الذي تنمو فيه البكتريا المحتوية على المحفظة .

٨- السايوبلازم او المادة الخلوية **Cytoplasm**

يضم جميع المواد والتراكيب المختلفة الموجودة داخل الغشاء السايوبلازمي ويمكن ملاحظة ثلاث مناطق مختلفة - فالمنطقة الحبيبية المظهر وتكون غنية بمادة الحامض النووي الرايبوزي RNA .

- المنطقة الصبغية الغنية بالحامض النووي الذي اوكسي رايبوزي DNA .

- اما المنطقة الثالثة فهي المحيط السائل الذي يحيط بالمنطقتين

ان جميع التراكيب السايوبلازمية نجدها عائمة في المحلول المائي وهو يكون عادة خليطا معقدا من ايونات عديدة مثل ايون الهيدروجين H^+ والصوديوم Na^+ والكلور Cl^- والفوسفات PO_4^{3-} ومواد ذائبة اخرى مثل الحوامض الامينية وبعض البروتينات والقواعد النايتروجينية مثل البيورينات والبريميدينات وهناك المعقدات الدهنية والفيتامينات وسكر الرايبوز والكلوكوز والانزيمات ومواد ايصية مختلفة. ولكل مادة من هذه المواد وظيفة محددة تستفيد منها الخلية بالاضافة الى وجود حبيبات غير ذائبة او فقاعات خازنة للمواد الغذائية لكي لا تؤثر في الضغط التنافذي داخل الخلية ، يعتمد نوع هذه المواد على نوع الخلية البكتيرية ونوع الوسط الغذائي المحيط بها . ففي غياب النايتروجين يتحول المصدر الكربوني في بعض انواع البكتريا الى مادة الاسترات المضاعفة **Poly-B-hydroxybutric acid** او مواد كربوهيدراتية مثل السكريات المضاعفة النشا **starch** او الكلايوجين **glycogen** . وتستخدم الخلية هذه الحبيبات مصدرا كربونيا من جديد عندما تبدأ عمليات تخليق البروتين والحوامض النووية . وهناك حبيبات تتكون من عنصر الكبريت ففي بعض البكتريا المؤكسدة للكبريت حيث تقوم باكسدة ما يفيد عن حاجتها من كبريتيد الهيدروجين H_2S التي تحصل عليه من بيناتها لكي تخزنه على شكل حبيبات داخل السايوبلازم . قسم من البكتريا تجمع مجموعة الفوسفات غير العضوية مثل مادة **Metaphosphate** وتدعى **Volutin** او تدعى بالحبيبات المختلفة اللون **metachromatic granules** لانها تصطبغ بلون يختلف عن لون الصبغة المضافة عليها . وهي خاصة تتميز بها بكتريا الخناق **Corynebacteria (diphtheria bacillus)** فمثلا عند اضافة صبغة ازرق المثيلين الزرقاء تصطبغ هذه الحبيبات باللون الاحمر .

ان المظهر الحبيبي للسايوبلازم يعزى الى وجود اعداد هائلة من دقائق صغيرة جدا تنتشر في كافة انحاء السايوبلازم وتدعى الرايبوزومات **Ribosomes** وتتكون من الحامض النووي

الرايبوزي الرايبوزومي RNA Ribosomal (rRNA) مع بعض البروتينات الرايبونووية Ribonucleoprotein

وبهذا فان للرايبوزومات اهمية كبيرة في عمليات تخليق البروتينات بضمنها جميع الانزيمات الخلوية .

٩-المادة النووية Genetic (Nuclear) Material :-

ان المنطقة النووية في الخلايا البدائية النواة مثل البكتريا لا تحاط بغشاء نووي لا تعاني من الانقسامات خيطية واختزالية وهذا ما يميزها من النواة الحقيقية الموجودة في الكائنات الحية الراقية . تحتل المادة النووية نصف حجم الساييتوبلازم او ثلثيه وهي خالية من الهستونات histones التي توجد عادة في نواة الكائنات الراقية .

والهستونات هي بروتينات قاعدية التفاعل وتظهر في الخلايا البدائية النواة على غرار الطور البيني Interphase في الخلايا الحقيقية النواة

يتألف شريط DNA من عدد من النيوكلويتيدات ويتألف كل منهما من

أ- قاعدة نتروجينية purines (adenine , guanine) و pyrimidines)
(. Cytosine , thymine

ب- سكر خماسي Deoxyribose منقوص الاوكسجين .

ت - Phosphoric acid حامض الفوسفوريك

ترتبط القواعد النتروجينية مع بعضها باواصر هيدروجينية وذلك بارتباط الادنين والثايمين باصرة مزدوجة A = T والساييتوسين والكوانين باصرة ثلاثية C ≡ G

يظهر قسم من DNA احيانا في البكتريا الاجسام الكروموسومية الاضافية DNA extrachromosomal على شكل حلقات . وهي تستنسخ ذاتيا بعيدا عن الكروموسوم وبمعزل عنه . وهي تدعى بالبلازميدات plasmids او احيانا تسمى الديبوسومات Episomes

المحاضرة الرابعة

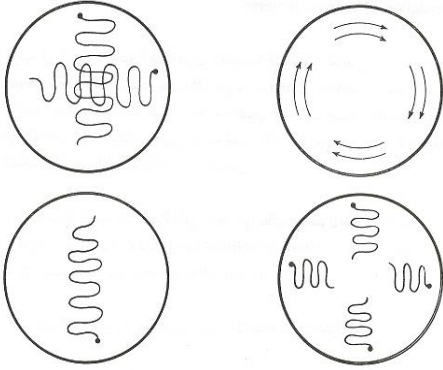
(سبحان الله وبحمده عدد خلقه ورضا نفسه وزنة عرشه ومداد كلماته)

تنقية المزارع البكتيرية Purification of bacterial cultures

- للحصول على مزارع نقية من البكتيريا لابد من الحصول على مستعمرات فردية Single Colonies منفصلة عن بعضها على بيئات صلبة
- توجد طريقتان أساسيتان لتنقية المزارع البكتيرية
- 1- طريقة تخطيط الأطباق (بسيط- متعامد) Streak Plate Method
- 2- طريقة الأطباق المصبوبة Pour Plate Method

أولا : طريقة تخطيط الاطباق: Streak Plate Method

- الهدف من التخطيط هو الحصول من معلق البكتيريا على مستعمرات منفصلة تماما
- تخطط العينة على سطح بيئة الاجار المغذي بطريقة التخطيط البسيط أو التخطيط البسيط المتكرر أو التخطيط المتعامد



(أ) التخطيط البسيط

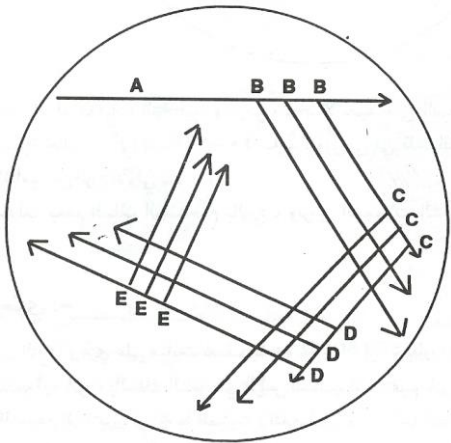
طريقة العمل:

- 1- تحت ظروف التعقيم, تعقم ابرة التلقيح باللهب ثم تبرد بلمس حافة الاجار
- 2- تؤخذ ملء عقدة Loopfull من المزرعة المختلطة ويخطط على سطح البيئة الصلبة
- 3- تكتب البيانات اللازمة أسفل الطبق
- 4- تحضن الأطباق مقلوبة عند 37م لمدة 24 ساعة
- 5- لاحظي ظهور مستعمرات فردية في الجزء الأخير من التخطيط

(ب) التخطيط المتعامد

طريقة العمل:

- 1- تحت ظروف التعقيم, تعقم ابرة التلقيح كما سبق
- 2- بملء العقدة من المزرعة المختلطة يخطط خطوط متعامدة على سطح البيئة الصلبة كما بالرسم
- 3- تكتب البيانات أسفل الطبق ثم تحضن الأطباق مقلوبة عند 37م لمدة 24 ساعة
- 4- لاحظي النمو الكثيف في منطقة الخطوط الاولى يقل تدريجيا حتى تظهر مستعمرات فردية في اخر التخطيط.



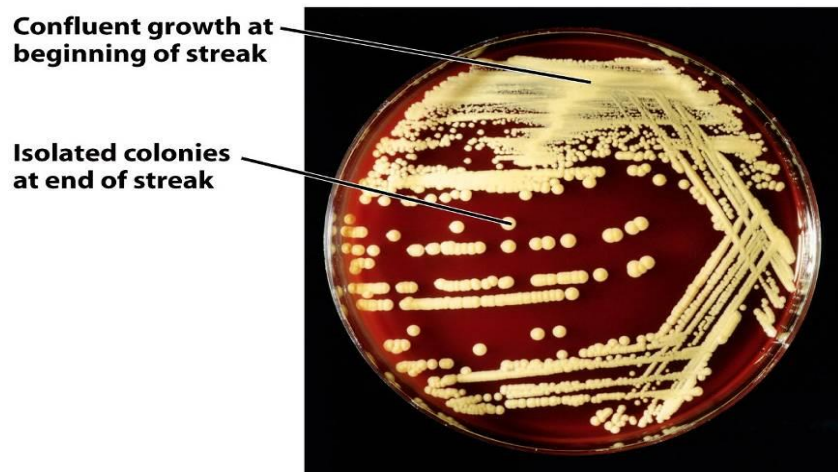
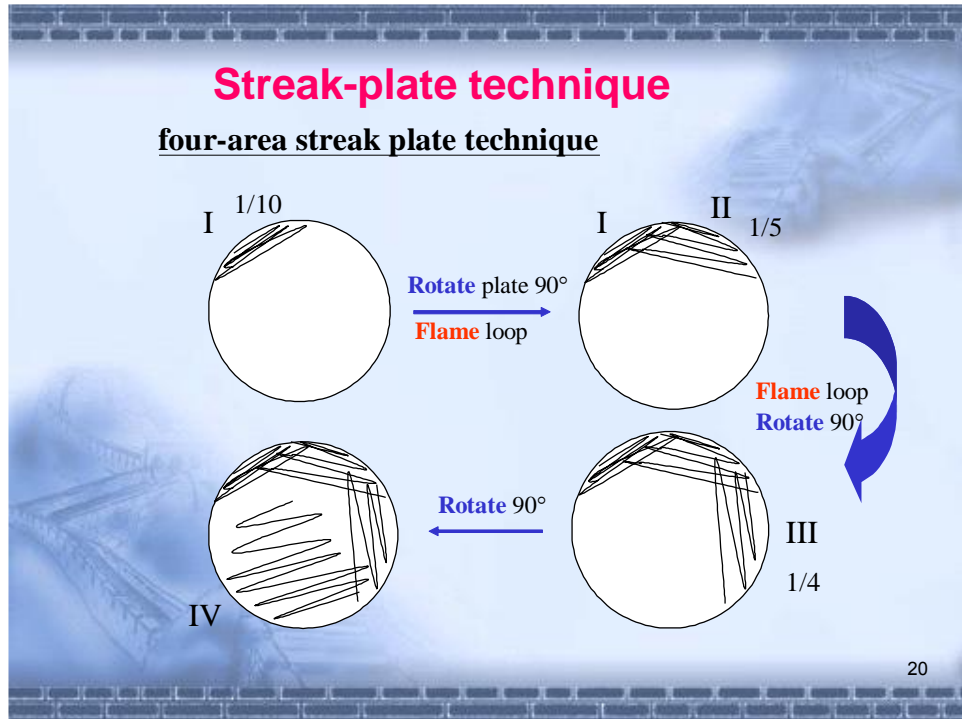
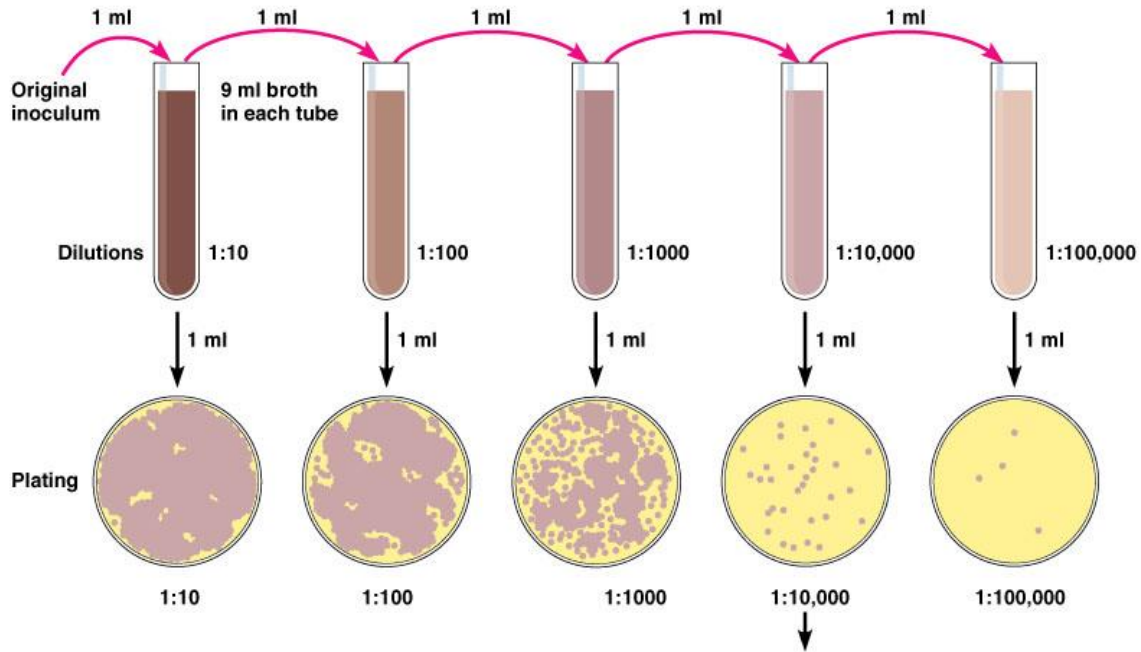


Figure 5-4c. Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

ثانيا: طريقة الأطباق المصبوبة Pour Plate Method

طريقة العمل:

- 1- تحت ظروف التعقيم, كل مجموعة لديها 6 أطباق بتري فارغة معقمة تدون عليها المعلومات.
- 2- كل مجموعة لديها مزرعة بكتيرية مختلطة وأنبوبة اختبار بها 9 مل ماء مقطر معقم
- 3- ينقل لكل طبق مقدار 4 قطرات من الماء المعقم باستخدام ماصة معقمة
- 4- باستخدام ابرة التلقيح المعقمة باللهب والمبردة ينقل للطبق الاول ملء 4 عقد من المعلق البكتيري ويتم خلط قطرات المعلق مع الماء بآبرة التلقيح
- 5- ينقل من الطبق الاول الى الطبق الثاني ملء 4 عقد وتخلط مع الماء وهكذا.....
- 6- لكل طبق يصب كمية مناسبة من بيئة الاجار المغذي السائلة والمبردة عند 45م
- 7- تترك الاطباق في جو المعمل حتى تتصلب البيئة
- 8- تحضن الأطباق مقلوبة عند درجة حرارة مناسبة من 30-37م لمدة 24 ساعة
- 9- حددي الأطباق التي ظهر فيها مستعمرات فردية واضحة



Calculation: Number of colonies on plate \times reciprocal of dilution of sample = number of bacteria/ml
(For example, if 32 colonies are on a plate of $1/10,000$ dilution, then the count is $32 \times 10,000 = 320,000/\text{ml}$ in sample.)

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

مالمقصود من التنقية؟
هل يمكن تعريف الميكروب في بيئته الطبيعية؟
اقترحي طريقة معملية سهلة وسريعة لتنقية مزرعة بكتيرية؟
كيف تثبتين أن المزرعة المستقلة نقية؟

* ملاحظة: تدون نتائج المعمل السابق ويكتب التقرير

حفظ المزارع البكتيرية

بعد عزل البكتيريا في مزرعة نقية Pure Culture يمكن حفظها لفترة زمنية حسب نوع الميكروب المعزول والهدف من الحفظ
- لا توجد طريقة عامة لحفظ الميكروبات, لكن هناك عدة طرق للحفظ منها

- 1- الحفظ بالنقل الدوري Preservation by Periodic Transfer
- 2 الحفظ في الزيت المعدني Preservation under Mineral Oil
- 3- الحفظ في الماء Preservation in Water
- 4- الحفظ في السيليكا جيل Preservation in Silica Gel
- 5- الحفظ بالتجميد Preservation by Deep Freezing
- 6- الحفظ بالتجفيد Preservation by Lypholyzation
- 7- الحفظ في النيتروجين السائل Preservation in Liquid Nitrogen

طريقة تخطيط انبوبة الاجار المائل (لحفظ البكتيريا) Slant inoculation



المحاضرة الخامسة

مبادئ الأحياء المجهرية - النظري

إعداد

د. رغد نايف مهدي الخشاب

البقاء والبقاء Survival and Death

تتباين الأحياء الدقيقة الى حد كبير بمقاومتها للظروف الفيزيائية والكيميائية غير الملائمة ، إذ بينما يفشل بعضها في البقاء حياً عند حصول تغيرات طفيفة في محيطها يصعب قتل البعض الآخر وخاصة المنتجة للسبورات حيث أن أغلبها مقاومة للظروف الصعبة ففي الأبواغ حماية للكائن الحي لسمك أغلفتها وضآلة احتياجاتها الأيضية ولعدم انقسامها وبذلك تبتعد عن الخلايا المنقسمة عند التعرض المتزايد لمختلف العوامل الضارة منها :

أ- العوامل الفيزيائية :

١- التجفيف Drying

تموت البكتيريا عند تعرضها للظروف الجوية الاعتيادية وخاصة البكتيريا الغير مكونة للسبورات حيث تكون خلاياها الخضرية حساسة جداً لفقدانها الماء.

٢- التجميد Freezing

يقتل بعض البكتيريا إذا كانت مرياة في وسط سائل يتجمد ببطء غير ان بعضها يتحمل درجة (- ٢٠ و - ٧٠)°م إذا ما جمدت بسرعة. وقد يرافق عملية التجفيف عملية تجميد فتدعى العملية التجفيف بالانجماد وهو من أهم الطرق كفاءة في حفظ البكتيريا لفترات طويلة.

ان لضوء الشمس تأثير مضاد للجراثيم لاحتوائه على الأشعة فوق البنفسجية -Ultra Vioelt light ويستعمل الضوء فوق البنفسجي الاصطناعي لتعقيم الهواء وبعض الأجهزة والمواد كالبلازما التي تتأثر بالحرارة او بالمعالجة الكيماوية وهي قليلة الضرر على المواد المراد تعقيمها وصعبة النفاذ الى داخلها ولذلك فهي تعقم الأسطح او الطبقات الرقيقة فقط من المادة. وتضعف كفاءتها الى حد كبير حتى ان كان هنالك قدر ضئيل من الغبار بين المصدر الضوئي. كذلك يمكن للأشعة السينية X-Rays أو أشعة كاما Gamma-Rays كما يمكن لأنواع أخرى من الأشعة ان لنفذ لتقتل الأحياء الدقيقة كذلك تفعل الاهتزازات Vibrations والصوتية Sonic وفوق الصوتية Ultra-Sonic.

٤- المطهرات Antiseptics

يقصد بها المصطلح المواد ذات النشاط المفيد والمضاد للجراثيم والمواد التي ليس لها بشكل عام تأثيرات تخريبية خطيرة كذلك للأحماض والقلويات القوية.

ب- عوامل العالجة الكيمائية :

وهي مواد كيمياوية صناعية فعالة ضد الأحياء الدقيقة وذات سمية منخفضة الى درجة يمكن معها إدخالها الجسم بأمان. مثل مركبات البارامينوزوثيك أو السلفوناميد - ترايميثوبريم وغيرها.

ج- المضادات (المضادات الحيوية) Antibiotics

أول من صاغ هذا الاصطلاح واكسمن Waksman ١٩٤٢ ليصف فيه الصنف المكتشف من العوامل المضادة للجراثيم التي أصبحت اليوم كلمة اعتيادية. وعرفها بأنها مادة تكونها الأحياء الدقيقة بإمكانها تثبيط نمو الأحياء الدقيقة الأخرى أو حتى تحطيمها.

تكاثر البكتريا

تتكاثر البكتريا بالانقسام الثنائي البسيط Simple Binary Fission والذي ينشأ عنه كائنات متماثلان وان هذا التكاثر ضرورياً لاستمرار بقائها وتضاعف معلوماتها الوراثية.

ان طريقة التكاثر بالانشطار الثنائي البسيط هي طريقة تكاثر لا جنسي وتعد من اكثر الطرق شيوعاً في البكتريا ، كذلك التبرعم Budding حيث أنه يخرج برعم صغير من أحد أطراف الخلية الأم ثم يبدأ البرعم الصغير بزيادة حجمه حتى يصبح مماثلاً للخلية الأم ثم ينفصل عنها. كما قد يتكاثر عدد قليل من البكتريا بواسطة تكوين الكونيدات ، حيث تبدأ الخلية بتكوين جدار للخلايا الجديدة في أحد الأطراف ثم يكتمل تكوين هذه الخلايا بمرور الوقت. كما يتكاثر بعضها الآخر بتجزئة البكتيرية الخيطية وفي حالات نادرة ومحدودة يمكن أن ينتج اقتران خليتين وهذا ما يطلق عليه بالتكاثر الجنسي في البكتريا.

ان زيادة عدد البكتريا المتكاثرة بطريقة الانشطار الثنائي يتبع نظام أسّي فإذا بدأنا بخلية بكتيرية واحدة فان الزيادة تكون أسية كما يأتي :

1 ← 2 ← 2² ← 2³ ← 2⁴ ← ... 2ⁿ وان ن تمثل عدد الأجيال المتكونة ، كما أن

الفترة اللازمة لزيادة عدد البكتريا الى الضعف تسمى وقت الجيل Generation Time G.T

العوامل اللازمة لتنمية البكتريا

أ- الاحتياجات الغذائية:

تشارك البكتريا مع كل الكائنات الحية والإنسان في احتياجات غذائية ضرورية للنمو والفعاليات الحيوية ومنها :

١- الكربون : هو عنصر ضروري لجميع الأحياء وذلك لتصنيع مركبات الخلية ومصدره من ثاني أكسيد الكربون أو كربون عضوي.

٢- الطاقة : تحتاج جميع الأحياء المجهرية الى مصدر الطاقة وتحصل عليها من الضوء فتدعى ضوئية التغذية Phototrophs او من مركبات كيميائية فيطلق عليها اصطلاح كيميائية التغذية Chemotrophs.

٣- النايروجين : بعض الأنواع من البكتريا تستخدم النتروجين الجوي ، أما بعضها الآخر فيستخدم مركبات النتروجين غير العضوية مثل النتريت NO_2 والنترات NO_3 وأملاح الأمونيا NH_4 أو من الأحماض الأمينية أو نواتج التحلل المائي للبروتين.

٤- الكبريت والفسفور : تحتاج البكتريا الى الكبريت لتصنيع الأحماض الأمينية التي يدخل الكبريت في تكوينها مثل أحماض سستين Cystein و Methionin أو من مصادر لا عضوية أي يمكنها استخدام الكبريت المعدني. أما الفسفور فانه يجهز بصورة فوسفات وهو ضروري لتخليق الأحماض النووية والنيوكليوتيدات وتركيب الليبيدات المفسفرة Phospholipids.

٥- العناصر المعدنية : تعتبر الأيونات المعدنية ضرورية لجميع الكائنات الحية ومنها الحديد والمغنيسيوم والكالسيوم والبوتاسيوم ، في حين تحتاج إلى كميات قليلة من الخارصين والنحاس والمنغنيز والمولبدنيوم والنيكل واليورون والكوبلت ، حيث تكون عوامل مساعدة لمختلف الإنزيمات وتختلف كل بكتريا حسب الوسط الذي تعيش فيه في حاجتها إلى هذه العناصر.

٦- الماء : ان الماء ضروري لجميع الأحياء المجهرية للنمو حيث تحتاج إلى جميع المواد الغذائية المذابة بالماء لكي تتمكن من دخول الخلية البكتيرية وتستفاد منها. والماء مركب عالي القطبية له القابلية على إذابة وتفكيك المركبات المختلفة لتهيئة وسط مناسب لمختلف الفعاليات الحيوية ، كما أنه عامل كيميائي تحتاج إليه البكتريا في جميع التفاعلات وخاصة تفاعلات التحلل التي تقوم بها الخلية. كما أن ارتفاع الحرارة النوعية للماء يتيح

للكائن المجهرى القابلية على مقاومة التغيرات المفاجئة في درجات حرارة المحيط البيئي في الخلايا.

٧- الفيتامينات : تحتاج الكائنات الحية إلى فيتامينات ، إما كمرافقات إنزيمية Coenzymes أو كوحدات بناء للإنزيمات نفسها. ولبعض أنواع البكتريا القدرة على تخليق جميع الفيتامينات التي تحتاج إليها من مكونات الوسط الغذائي ولكن البعض الآخر لا يمكنه تخليقها لذا يجب أن تجهز الأوساط الغذائية بهذه الفيتامينات.

ب- الاحتياجات الفيزيائية للنمو

إضافة الى الاحتياجات الغذائية فان لنمو البكتريا احتياجات فيزيائية تتمثل بدرجات الحرارة وتركيز أيون الهيدروجين pH في الوسط وتركيز الغازات. وتختلف كل بكتريا حسب نوعها وقدرة تحملها وكما يلي :

١- درجة الحرارة :

يتأثر نمو البكتريا كثيراً بدرجة الحرارة وذلك لأن الحرارة تتحكم بمعدل التفاعلات الكيميائية التي تحدث داخل الخلية وان درجة الحرارة التي يحصل فيها أسرع نمو خلال فترة قصيرة تعرف بدرجة حرارة النمو المثلى Optimum Growth Temperature ، وفي ضوء ذلك يمكن تقسيم البكتريا الى المجاميع التالية :

(١) البكتريا المحبة للبرودة Psychrophiles

هذه البكتريا لها القابلية على النمو في درجة حرارة الصفر المئوي أو أقل لكنها تنمو بشكل أفضل بدرجة حرارة أعلى ولها درجة حرارة نمو مثالية تقدر 15°C ، أما درجة الحرارة العظمى لنموها هي 20°C .

(٢) البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles

وهي البكتريا التي تنمو في مدى بين $20-40^{\circ}\text{C}$ وتتضمن العديد من الأنواع والأجناس أكثر من مجموعة البكتريا المحبة للبرودة والحرارة العالية. كذلك فإن غالبية البكتريا الممرضة للإنسان والحيوان تقع ضمن هذه المجموعة حيث أنها تنمو جيداً في درجة حرارة الجسم وهي (37°C).

(٣) البكتريا المحبة لدرجة الحرارة العالية Thermophiles

وتتضمن هذه المجموعة الأنواع البكتيرية التي يمكنها النمو في درجة حرارة مثالية هي $40-65^{\circ}\text{C}$ وبمدى حراري بين $40-65^{\circ}\text{C}$. ومن الضروري أن نتذكر أن أنواع البكتريا لا تبدي نفس الصفات الظاهرية عندما تنمو على درجات حرارة مختلفة ، فمثلاً البكتريا

Serratia Marcescens تنتج بقعاً حمراء إلى برتقالية عندما تنمو على حرارة ٢٥°م في حين لا تكون مثل هذه الصبغات عندما تنمو على حرارة ٣٧°م.

٢- تركيز أيون الهيدروجين (pH)

تنمو معظم أنواع البكتريا عند أرقام هيدروجينية مثالية تتراوح بين ٦,٥-٧,٥ ولكن عموماً يكون المدى أوسع وذلك بحدود رقم هيدروجيني ٥-٩ وبعضها يتحمل ٢-٣,٥ وحتى يمكن أن تنمو بمدى أوسع بين ٠,٥-٦ مثل بكتريا *Thiobacillus thiooxidans*. وبعض أنواع البكتريا المعزولة من الينابيع القاعدية وجد أنها تنمو جيداً عند رقم هيدروجيني بين ٩-٩,٥ ويمكنها النمو بمدى أوسع بين ٨-١١,٤.

٣- الغازات

يعد الأوكسجين وثنائي أوكسيد الكربون من الغازات المهمة التي لها تأثير كبير في نمو البكتريا ، وتختلف البكتريا تبعاً لنموها في الأوكسجين المتاح إلى :

(١) البكتريا الهوائية **Aerobic Bacteria** : وهي بكتريا تحتاج إلى الأوكسجين في نموها ويمكنها حتى النسبة الطبيعية للأوكسجين الموجودة في الجو.

(٢) البكتريا اللاهوائية : حيث يعد الأوكسجين ساماً لهذه المجموعة من البكتريا ولا تستطيع النمو بوجود الأوكسجين.

(٣) البكتريا اللاهوائية الاختيارية : حيث تتم أفراد هذه المجموعة بعدم وجود الأوكسجين وكذلك بوجوده وهي لا تثبط بوجود الأوكسجين.

(٤) البكتريا المحبة لقليل من الأوكسجين : حيث تحتاج أفراد هذه المجموعة إلى كميات قليلة من الأوكسجين للنمو ولكنها لا تستطيع أن تتحمل المستوى الطبيعي للأوكسجين في الهواء.

ج- الأوساط الغذائية للبكتريا

وهي بيئات حاوية على عناصر غذائية ضرورية للنمو والتكاثر ، والأوساط التي تكون معروفة المكونات الغذائية بالأوساط الغذائية التركيبية Synthetic Media ، أما إذا كانت المكونات الغذائية للوسط غير معروف فتسمى بالأوساط المعقدة Complex Media . والأوساط الغذائية تكون على نوعين : إما أوساط سائلة أو صلبة وعادة تصلب الأوساط الغذائية بإضافة مادة الأكار بنسبة ١,٥-٢% التي تعد مادة صلبة وليس مادة غذائية. أما الأوساط الغذائية فيمكن أن تقسم للغرض الذي تستخدم لأجله إلى :

(١) الأوساط الانتقائية (الانتخابية) Selective Media

وهي أوساط مجهزة بعناصر غذائية تشجع نمو وسيادة نوع معين من البكتريا وتثبط الأنواع الأخرى مثل الأوساط التي تستخدم لتنمية البكتريا المحللة للسيليلوز حيث يضاف السيليلوز عنصراً أساسياً كمصدر للكربون ولهذا فان البكتريا التي لا تحلل السيليلوز لا تنمو في هذا الوسط.

(٢) الأوساط التفرقية Differential Media

تحتوي هذه الأوساط على مركبات يمكن بواسطتها التمييز بين الأنواع المختلفة من البكتريا مثل وسط اكار الدم Blood Agar حيث ان بعض أنواع البكتريا لها القابلية على تحليل كريات الدم وبذلك تكون مناطق رائحة حول مستعمراتها في حين نجد البكتريا التي لا يمكنها تحليل كريات الدم الحمراء لا تكون مثل هذه المناطق الرائحة.

(٣) أوساط لعد البكتريا

وهي أوساط غذائية عامة تستخدم لعد جميع أنواع البكتريا مثل الاكار المغذي Nutrient Agar.