جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات
قسم وقاية النبات

مبادئ الأحياء المجهرية
الدرس العملي
المحاضرة الاولى

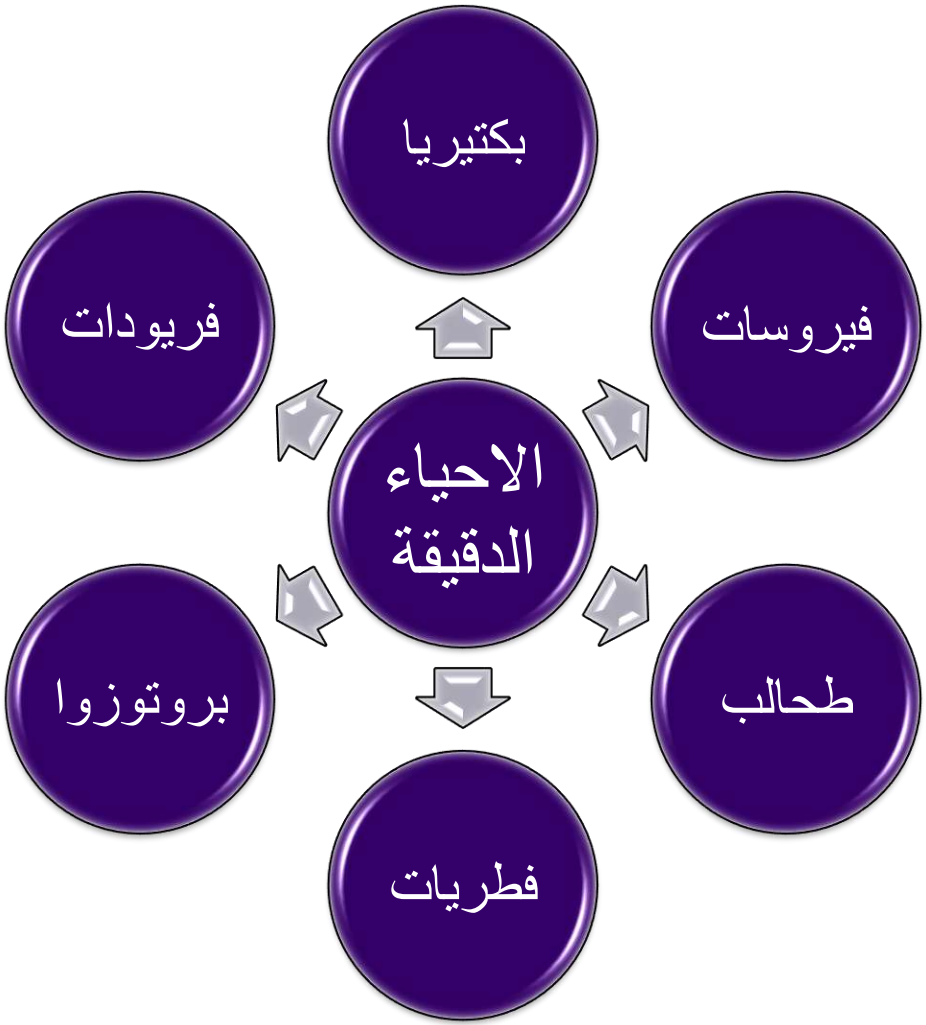
مدرس المادة
ريان سالم الحيالي

ما هو علم الأحياء المجهرية ؟

هو العلم الذي يبحث في الكائنات الحية المتناهية الصغر والتي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة وإنما لابد من تكبيرها مئات المرات بواسطة المجهر .

و ليست جميع الاحياء المجهرية ضارة ومؤذية بل يعتبر بعضها مفيدا جدا وضروريا لحياة الانسان ولا يستطيع الانسان الاستغناء عنها فبعضها يعمل على تحويل تركيب التربة فيقدم الغذاء اللازم للنباتات، وبعضها يفيد في الصناعة في عمليات التخمير واستخراج المضادات الحيوية التي تستعمل في مقاومة الجراثيم الضارة و الممرضة .

تقسيم الأحياء الدقيقة



أهمية الأحياء المجهرية

يرتبط ذكر الكائنات الدقيقة أو الميكروبات بالأمراض ، إلا أن دور الميكروبات في إحداث الأمراض للإنسان أو الحيوان والنبات بالرغم من أهميته لا يمثل إلا دورا ضئيلاً جداً لمجموعة محدودة من الميكروبات مقارنة بالعدد الضخم لأنواع الميكروبات المعروفة .

فوائد الأحياء المجهرية

1- دور الميكروبات في تحلل المواد العضوية فى التربة:

تلعب الميكروبات الدور رئيسى فى تحلل المواد العضوية من بقايا نباتية أو حيوانية فى التربة أو البحار والمحيطات وعملية التحلل هذه لاغنى عنها لاستمرار الحياة . مما يمنع من تراكم المواد العضوية بعد حصاد المحاصيل وبقايا الحيوانات وبعد فترة تغطي الأراضي الزراعية وتصبح الزراعة مستحيلة. كما أن تحلل هذه المواد العضوية يؤدي إلي تحول كثير من العناصر الموجودة فى هذه المواد إلي صورة صالحة لتغذية النباتات ويزيد من خصوبة التربة.

2- دور الميكروبات في توازن دورة الكربون في الطبيعة:

بدون هذا الدور لأنعدمت الحياة على الأرض من وقت طويل فمن المعروف أن نسبة ثانى أكسيد الكربون فى الهواء الجوى حوالى0.03% وبالرغم من أنها نسبة ضئيله إلا أنه لاغنى عنها لأن عملية ألتمثيل الضوئى Photosynthesis وبالتالي بناء أنسجة النبات تعتمد على وجود ثانى أكسيد الكربون فى الجو ، ويعتمد الإنسان والحيوان على النباتات فى غذائه وبقائه ولو تخيلنا أن دورة الكربون غير مستمرة فإن كميات ثانى أكسيد الكربون الموجودة فى الجو تستنفذ فى وقت ضئيل ولكن الواقع أن عمليات الاحتراق والتنفس للكائنات الحية تعيد بعض CO_2 الى الجو (حوالي 10%) أما الجزء الأكبر من CO_2 فانه يعود خلال عمليات تحلل المواد العضوية واكسدتها بواسطة الميكروبات وكميات CO_2 التي تعود الى الجو عن هذا الطريق ضخمة جدا تعادل النقص فى CO_2الذى يستهلك عن طريق التمثيل الضوئى للنباتات مما يعيد الاتزان لدورة الكربون فى الطبيعة .

3. **المعدنه Mineralization:** تقوم الميكروبات بتحويل كثير من العناصر الغذائية الموجودة فى الأرض من صورة غير صالحة (الصورة العضوية) الى صورة صالحة (صور معدنية) لإستفادة النباتات . كما أن كثيرا من العناصر المعدنية تكون فى صورة غير ذائبة فى الأرض ويلعب النشاط البيولوجى للميكروبات دورا فى تحولها الى صورة ذائبة .

4. **تثبيت النيتروجين الجوى:** تقوم بذلك بعض أنواع الميكروبات فى التربة مما يزيد من مستوى هذا العنصر الضرورى للنباتات ومن أمثلة هذه الميكروبات الـ *Azotobacter* كما أن بكتريا العقد الجذرية التابعة لجنس الـ *Rhizobium* تثبت النيتروجين فى العقد الجذرية للنباتات البقولية مما يجعلها لا تحتاج الى تسميد نيتروجينى كما يزيد من خصوبة التربة .

7. **إنتاج الغذاء فى العالم:** الأمل معقود على الميكروبات فى حل مشكلة الغذاء وخصوصا مشكلة نقص البروتين . وأهمية الميكروبات تأتي من أن الميكروبات سريعة النمو جدا بينما النباتات والحيوانات تحتاج الى شهور لمضاعفة حجمها أو وزنها ، وممكن لكثير من الميكروبات أن تبنى أجسامها من مواد بسيطة وقد أمكن بواسطة الميكروبات انتاج بروتين له قيمة غذائية عالية لتغذية الانسان والحيوان والبحوث فى هذا المجال لاتزال جارية

أضرار الأحياء المجهرية

1. تسبب بعض أنواع الميكروبات أمراضا كثيرة للإنسان كما تسبب تلوث الجروح مما يؤخر التآم الجروح.
2. تسبب أمراضا هامة للحيوانات والنباتات مما يسبب خسائر كبيرة .
3. تسبب فساد الأغذية والمشروبات المصنعة والطازجة مما يسبب خسائر كبيرة كما نحتاج الى احتياطات كبيرة لمنع نمو البكتريا أو التخلص منها فى الأغذية .
4. يسب نمو البكتريا فى الأغذية الى تكون سموم Toxins ويؤدي تعاطي الأغذية التي تحتوى على هذه السموم الى ظهور أعراض التسمم على من يتعاطى هذه الأغذية وبعض أنواع هذه التسممات مميت.

طرق دراسة الأحياء المجهرية

- يمكن دراسة الأحياء الدقيقة بطرق طبيعية وأخرى كيميائية:-

1. الطرق الطبيعية وتشمل:-

a) استعمال المجهر (microscope) وانواعه:- المجهر الضوئي العادي، المجهر فوق البنفسجي، المجهر ذو الحقل المظلم، المجهر الالكتروني، مجهر تباين الطور.

b) الطرد المركزي (centrifugation):- وهذا يستخدم لفصل الجراثيم المتعلقة بواسطة أجهزة خاصة.

c) الترشيح (filtration):- ويتم ذلك بواسطة مرشحات متعددة منها: مرشح بركفيلد مرشح تشمبرلاند، مرشح زايتس، مرشح الكلوديون، ثم المرشحات الزجاجية والسيللوزية.

2. الطرق الكيماوية:- وتعتمد على صباغة الجراثيم ونشرها على شريحة زجاجية نظيفة ومجففة، وأهم الصبغات المستعملة صبغة غرام وصبغة أزرق الميثلين، وبعد ذلك تدرس بواسطة المجهر، وتستعمل هذه الطرق لدراسة تكوين خلايا الأحياء الدقيقة.

عند التعامل مع الكائنات الحية الدقيقة يجب أخذ الاحتياطات التامة حيث أنها قادرة علي إحداث بعض الامراض ومن هذه الاحتياطات

1. أرتداء معطف المختبر دائماً داخل المختبر.
2. لبس قفازات خاصة باليدين لضمان عدم انتقال أي كائن حي دقيق أو التصاقة بجسم الانسان ثم التخلص منها بعد العمل
3. قراءة التعليمات الخاصة بكل تجربة بدقة قبل البدء في العمل والتأكد تماماً من معرفة طريقة العمل.
4. احمل المواد التالفة مثل القاذورات والأوراق المستعملة والأغطية القطنية والاواني الزجاجية وضعها في المكان المعد لها وتوضع الأوساط الغذائية الغير صالحة للأستعمال في المكان المخصص لها ولا تلقي في أحواض الغسيل ولا تترك علي المنضدة أو على أرض المختبر
5. لا تفتح صنبور الغاز إلا قبل البدء بالعمل مباشرة وبعد الأنتهاء من استعمال اللهب اطفئه مستعيناً بمفتاح الغاز.
6. عدم نقل او حمل مزارع بكتيرية او فطرية من أي نوع كان خارج المختبر.
7. يجب ملاحظة ان النظافة والدقة في العمل مهمان جداً في جميع التجارب لان التعامل سوف يكون مع كائنات حية دقيقة كما ان التلوث قد يحدث بسرعة ومن اقل الاسباب لذلك يجب الاهتمام بجميع المواد المستعملة في المختبر.

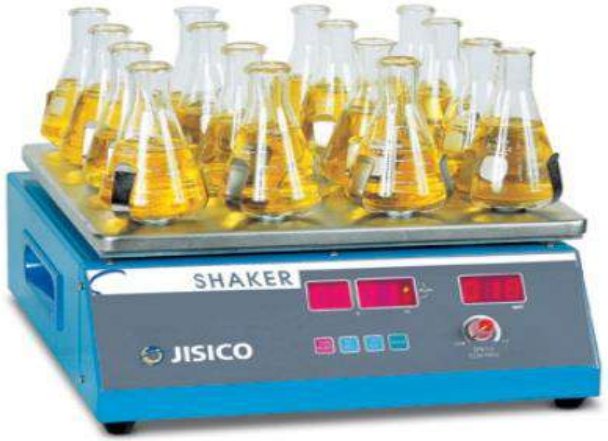
يجب علي الباحث معرفة الادوات المستخدمة في مختبرات علم الأحياء الدقيقة ,لذلك فإن اهم الاجهزة والادوات المستخدمة تشمل الآتي:

- الحاضنات Incubators تستخدم لحفظ الكائنات الحية الدقيقة وتزويدها بدرجة الحرارة الملائمة والمناسبة.

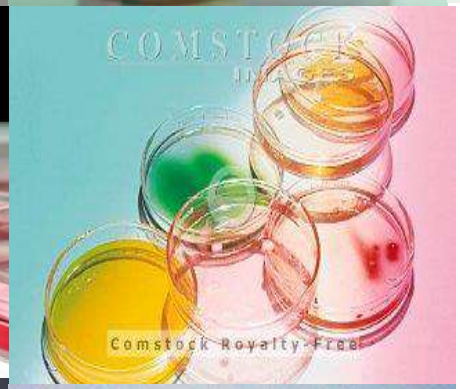
- الأوتوكلاف Autoclave تستخدم للتعقيم .

- ثلاجة Refrigerator لحفظ المواد الكيميائية وبعض الانواع الميكروبية .

- Balances الميزان
- Water baths الحمام المائي
- PH meter
- Spectrophotometer المطياف
- pound microscopes المجهر المركب
- Centrifuge
- Shaker

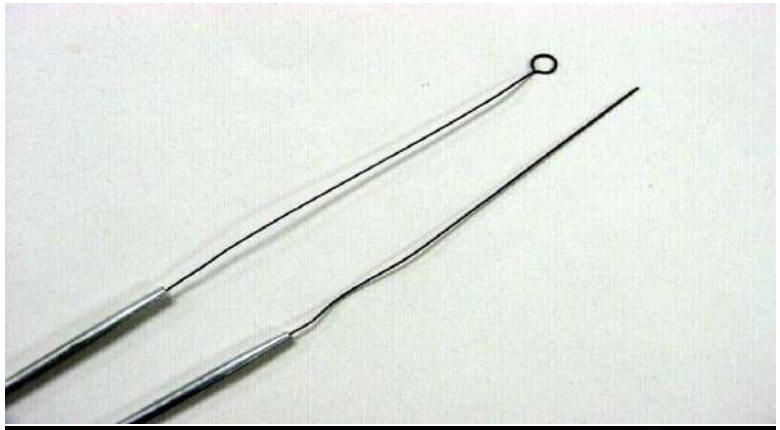


- اواني زجاجية

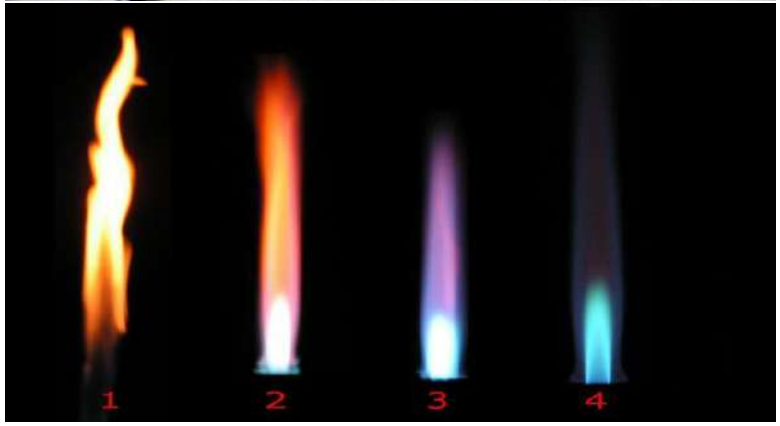


- اطباق بتري

- شرائح زجاجية واغطية شرائح



- ابر تلقيح



- مصباح بنزن

جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات
قسم وقاية النبات

مبادئ الأحياء المجهرية
الدرس العملي
المحاضرة الثانية

مدرس المادة
ريان سالم الحيالي

المجهر Microscope

هو جهاز لتكبير الأجسام الصغيرة التي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة أو لإظهار التفاصيل الدقيقة للأشياء من أجل اكتشاف تكوينها و دراستها. ، و العلم المهتم باستكشاف الأجسام الصغيرة أو التفاصيل الدقيقة للأشياء بواسطة هذه الأجهزة يسمي علم الاحياء المجهرية. و كلمة "مجهرية" أو "مجهري" تستخدم لوصف الشيء الذي لا يمكن رؤيته إلا بمساعدة المجهر. والمجهر أحد الأجهزة الأوسع استخداماً في علم الأحياء، يستخدمه علماء الأحياء لدراسة الكائنات الحية والخلايا وأجزائها الصغيرة التي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة.

- **تاريخ الاكتشاف :**

1- الحسن بن الهيثم: 965-1039

-اسهم في تقدم علم البصريات (Optics) وقدمه في كتاب(المناظر) .

- الضوء عند مروره يحدث له انعكاس Reflectionمن الأجسام الصلبه و انكسار Refraction من الاجسام الشفافه بدرجات مختلفه مما يؤثر في التكبير Magnification والإيضاح Resolution.

2- **جاليليو Galileo: 1564-1642**

- مخترع المجهر البسيط (عبارة عن عدسة واحدة) Simple Light Microscope

3- فان لوفينهوك :

- مخترع المجهر البسيط (بعدسة ثنائية التحدب)قوه 270 مرة للاشياء الدقيقة.

4- **فرانسيس و زكريا جانسينز:**

- مخترعا المجهر المركب (عبارة عن عدستين مكبرة لرؤية الكائنات الصغيرة مثل الحشرات).

5- **روبرت هوك Robert hooke**: مخترع المجهر المركب و مكتشف الخلية

6- **راسكا** : مخترع المجهر الالكتروني النافذ (رؤية داخل الخلية)

7- **فان اردن Van Ardenne**: مخترع المجهر الالكتروني الماسح (رؤية سطح الخلية و العضيات)

أنواع المجاهر

المجاهر الضوئية

المجاهر الالكترونية

المجهر الضوئي

هو عبارة عن جهاز مكبر يعتمد على الضوء والعدسات لتكبير المادة، ويتميز بأنه منخفض التكلفة، وأكثر انتشاراً في مجالات التعليم، والطب، ويتميز بتوفيره خاصية مراقبة أنشطة الخلايا الحية.

أنواع المجاهر الضوئية:

المجهر الضوئي البسيط: يعمل على تكبير الشيء بقوة تكبير بسيطة؛ لأنه يتكون من عدسة واحدة ذات وجهين.

المجهر التشريحي: يتكون هذا الجهاز من عدستين عينتين، وعدسات شيئية، وتتراوح قوة تكبيره للأجسام من 6 إلى 50 ميكرون.

المجهر الضوئي المركب: يتكون هذا الجهاز من عدسة تكبير في العدسة العينية، وأخرى في العدسة الشيئية، وتصل قوة تكبيره للجسم من 40 إلى 1000 مرة، ويعتبر من أهم الأجهزة في علم الأحياء.

المجهر الضوئي المقلوب: يختلف في تصميمه عن المجاهر الضوئية الأخرى من حيث العدسة الشيئية الموضوعة من الأسفل لتكبير العينة، ويتم التحكم بالضوء حسب الحاجة.

المجهر الرقمي: يتميز هذا النوع بوجود كاميرا تصوير مضافة إليه، ويتيح عرض الصورة المكبرة على شاشة الكمبيوتر، والداتاشو، والتلفاز، وتصل قوة تكبيره للصورة إلى 400 زوم.

مجهر الحقل المظلم: يتميز بأرضية الشريحة المعتمة، ويكون الضوء على شكل حلقة على الكائن الحي المراد مراقبة نشاطه، وهو خاص لفحص نوع من أنواع البكتيريا.

المجهر المستقطب: يعتمد على استقطاب الشعاع الضوئي للتمييز بين المواد ذات قوة انكسار مزدوجة، ومن أهم المجالات التي يستخدم فيها الجيولوجيا، والطب، وعلم الأحياء.

مجهر الطور المتباين: يضم هذا المجهر قرص به تجويف دائري على شكل حلقة، تسمى بحلقة الطور، وكذلك على صفيحة الطور، ويستخدم لدراسة الخلايا الحية غير المصبوغة.

المجهر الفلورسنتي أو المتألق: سمي بذلك لأنه يعتمد في تكبير الأشياء على صبغة الفلورسينية التي تمتص الضوء، وتعمل على إشعاعه بطول موجي أكبر.

مجهر الأشعة فوق البنفسجية: يتميز هذا النوع بأنه لا يحتوي على عدسات عينية، بل يعتمد على الأشعة فوق البنفسجية ذات الموجة القصيرة، وكذلك على كاميرات تقوم بتصوير الجسم ثم يتم تكبيره لاحقاً.

مما يتكون المجهر الضوئي ؟

يتركب المجهر الضوئي المركب من عدة أجزاء كما يلي:

أولا: الأجزاء الميكانيكية:

1- انبوبة جسم المجهر Body Tube

2- القرص الدوار

3- الذراع Arm

4- القاعدة Base

5- المسرح Stage

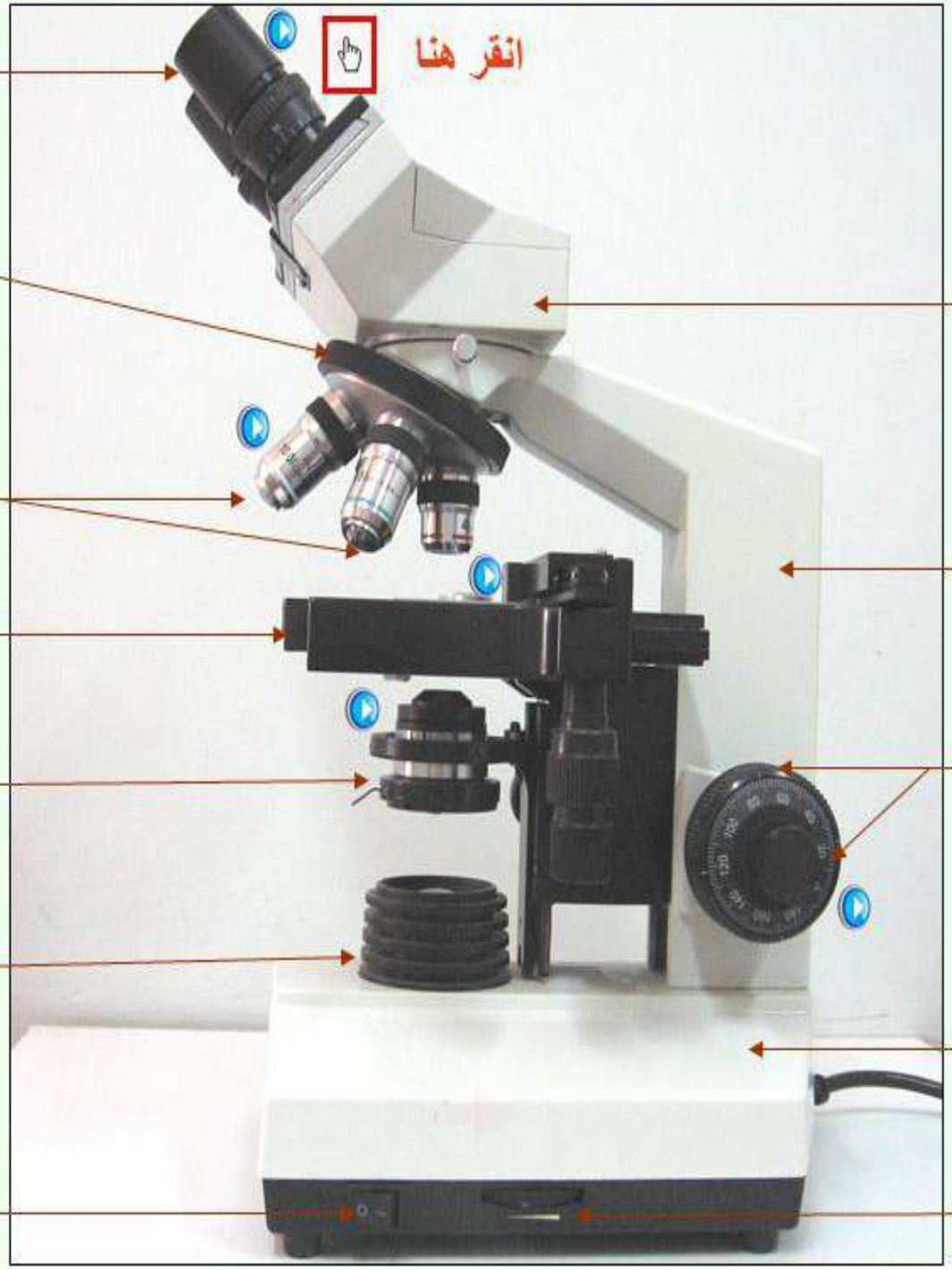
6- المنظم التقريبي والدقيق Coarse & Fine Adjustment

ثانيا: الأجزاء البصرية:

1- المكثف Condenser

2- العدسة العينية Ocular Lens

3- العدسات الشيئية Objective Lenses



العدسات العينية
Ocular lenses

القطعة الانفية
Nose piece

العدسات الشيئية
Objective lenses

Stage المسرح

Condenser المكثف

المصدر الضوئي
Light source

رز التشغيل
Light on / off switch

جسم الانبوب
Body tube

Arm الذراع

المنظم الكبير والدقيق
Coarse and fine Adjustment knobs

Base القاعدة

منظم شدة الضوء
Light volume

عدسات المجهر

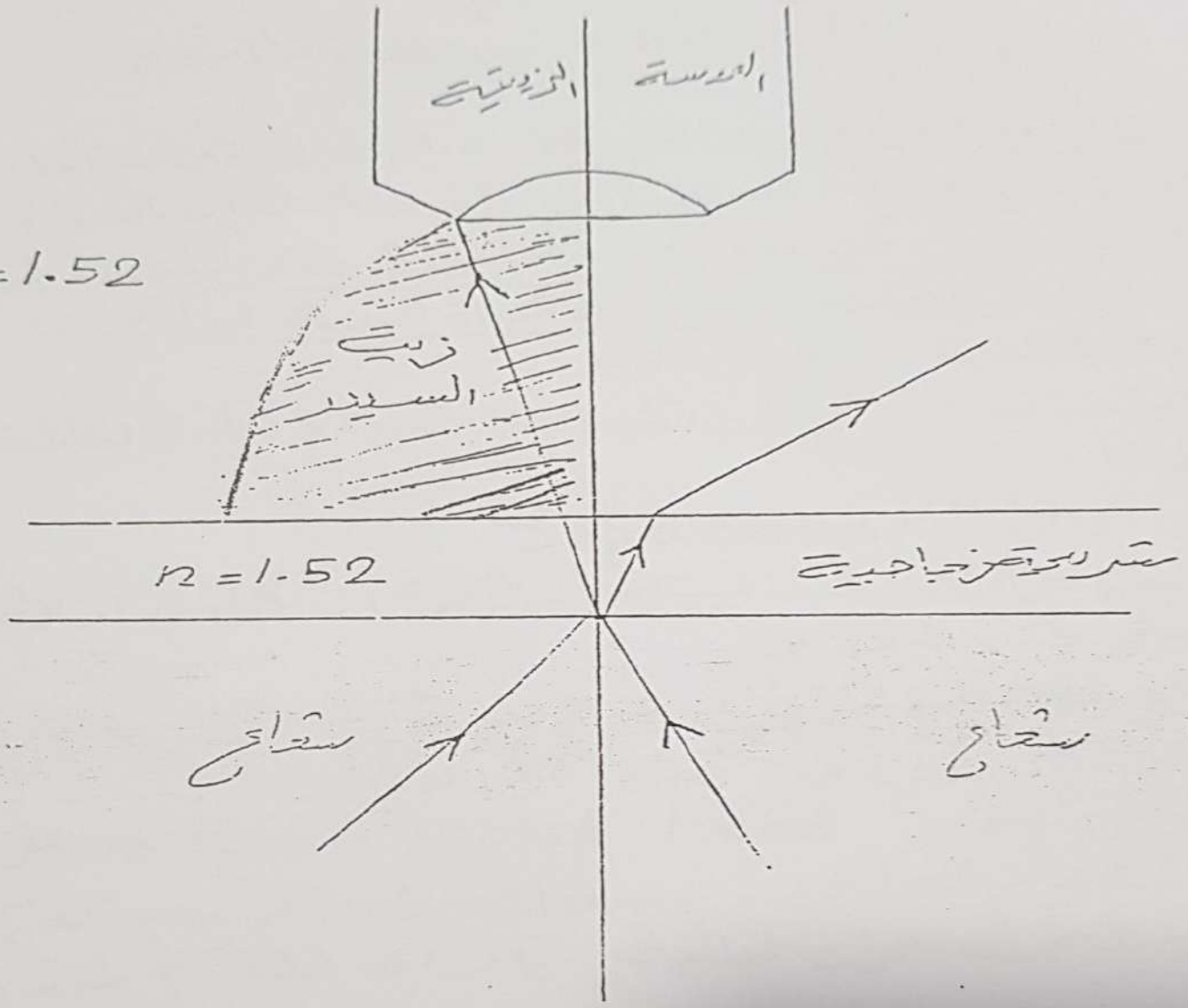
العدسة الزيتية

- يمكن تمييز العدسة الزيتية عن بقية العدسات الشيئية حيث يكتب عليها كلمة Oil أو في بعض الأنواع بوجود حلقة سوداء تحيط بها.
- إن العدسة الزيتية Oil immersion lens لا يمكن استعمالها إلا بوضع قطرة من زيت السيدر Ceddar oil على العينة فوق الشريحة لمنع انكسار الضوء عن مساره وتشتته ومنع انحرافه خارج العدسة العينية مما قد يتسبب في عدم رؤية العينة بصورة واضحة لأن مسافة عمل العدسة الزيتية تبلغ 0.13 ملليمتر وان فتحة هذه العدسة صغيرة جداً ويرجع سبب استخدام زيت السيدر تحديداً إلى إن معامل انكساره يبلغ 1.52 وهو مساو لمعامل انكسار الضوء للشريحة الزجاجية.
- تقدر قوة تكبير المجهر = قوة تكبير العدسة العينية X قوة تكبير العدسة الشيئية
  أما قوة تكبير لعدسات الشيئية فهي مدونة على العدسات نفسها.
- ينبغي تنظيف العدسة الزيتية بعد الانتهاء من استعمال المجهر بالزايلول أو الزايلين Xylene وورق النشاف Lens paper لإزالة الزيت من العدسة .

آلية عمل المجهر الضوئي

يكبر المجهر حجم الأجسام عن طريق آليةٍ معقدةٍ من تتالي العدسات، في البداية توجد عدستان رئيسيتان؛ **الأولى** هي العدسة المتواجدة من جهة العين وهي العدسة التي ننظر من خلالها أي العدسة العينية، **والثانية** هي العدسة المتواجدة من جهة العنصر الذي نريد رؤيته أي عدسة بداية وعدسة نهاية مع مصدرٍ للضوء إما مرآة أو مصباح كهربائي.

تقوم العدسة الخاصة بالعنصر بإنشاء صورة حقيقية مكبرة للعنصر، ثم مرةً أخرى يتم تكبير هذه الصورة عن طريق العدسة العينية لتنتج صورة افتراضية أكبر للعنصر، وهذه الصورة يمكن رؤيتها عن طريق العين المجردة عبر العدسة العينية بصورةٍ واضحةٍ مشرقةٍ بسبب وجود المنبع الضوئي.


العدسة
الزيتية
n = 1.52
زيت
السيدر
n = 1.52
مقر
شعاع
شعاع

المجهر الإلكتروني

هو نوع آخر من المجاهر التي لا تعتمد على الضوء، بل تستخدم الإلكترونات ذات الطول الموجي القصير في تكبير الأشياء، وتصل قوة تكبيرها العالية إلى 1000 ضعف قوة تكبير المجاهر الضوئية.

أنواع المجاهر الالكترونية:

المجهر الإلكتروني الماسح: يعمل هذا المجهر على تسليط تيار من الإلكترونات على السطح الخارجي للخلية، فهو يختص بدراسة الأجزاء الخارجية، لتتكون صورة ثلاثية الأبعاد تصل قوة تكبيرها إلى 50000 مرة.

المجهر الإلكتروني النافذ: يتم تسليط التيار الكهربائي أو الإلكتروني على كامل الخلية، حيث يختص هذا النوع بدراسة الجزء الداخلي للخلية.

جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات
قسم وقاية النبات

مبادئ الأحياء المجهرية
الدرس العملي
المحاضرة الثالثة

مدرس المادة
ريان سالم الحيالي

التعقيم Sterilization:-

وهو مصطلح يطلق هي عملية قتل أو إزالة الكائنات الحية المجهرية من الوسط المراد تعقيمه

وهي من اهم العمليات التي تجري في جميع مختبرات الاحياء المجهرية وذلك لاسباب عديدة منها:

1- منع الاصابة بالامراض

2- منع تلف الاوساط والمواد الغذائية

3- منع تداخل احياء مجهرية في بعض الصناعات التي تعتمد على وجود نوع معين منها

4- منع تلوث المواد والادوات المستعملة في المختبرات التي تتعامل مع نوع واحد نقي من الاحياء المجهرية .

يتطلب العمل في مختبرات الأحياء المجهرية أن يكون كل شي يتم التعامل معه أو يستخدمه العاملون في هذه المختبرات معقماً أي خالياً من كافة أشكال الحياة ونظراً لتنوع الأدوات التي تستخدم في مثل هذه المختبرات فقد تنوعت طراق التعقيم هي الاخرى

تقسم طرق التعقيم الى قسمين رئيسين هما:

- **الطرق الفيزيائية (Physical methods):** وتشمل كل من:

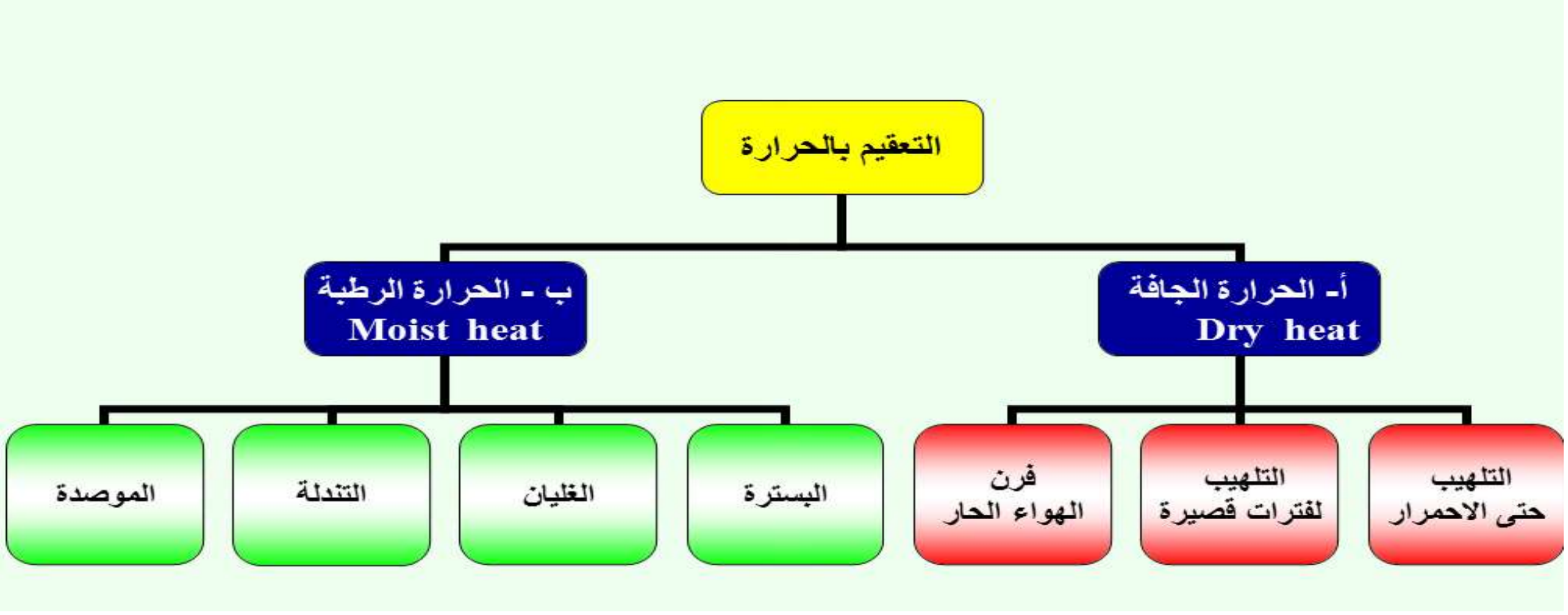
أ- الحرارة	**(Heat)**
أ- الترشيح	(Filtration)
ج- الاشعاع	(Radiation)

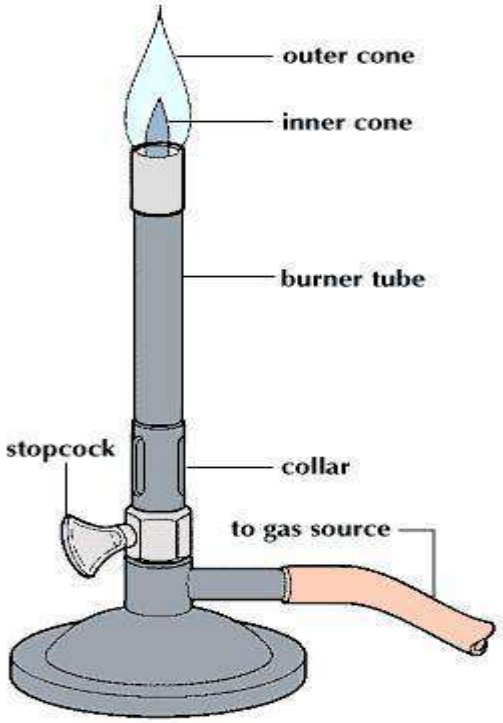
الطرق الكيميائية (Chemical methods): وتشمل كل من:

أ- الفينول	**(Phenol)**
أ- الكحولات	(Alcohols)
ج- الهالوجينات	(Halogens)
د- المعادن الثقيلة	(Heavy metals)
ه- الصوابين والمنظفات	(Soap and detergents)

أولا: الطرق الفيزيائية (physical methods):

1. التعقيم بالحرارة (Sterilization by Heat): يعتبر التعقيم بالحرارة من أكثر الطرق استخداما للسيطرة على الاحياء المجهرية ويمكن توضيح اقسام التعقيم بالحرارة بالمخطط الاتي:





إن المنطقة المحيطة باللهب وبمحيط قدره 25-30 سم يشكل اللهب عندها منطقة معقمة بحكم عاملين وهما حرارة اللهب وحزمة اللهب لذلك نجد أن العاملين في حقل الأحياء المجهرية غالباً ما يعملون حول لهب بنزن عند تلقيح الأحياء المجهرية أو زرع الأوساط أو غيرها أوفي كابينات مختبرية خاصة

أ- الحرارة الجافة (dry heat):

يتم القتل بالحرارة الجافة للأسباب التالية:
مسخ البروتين & تلف تأكسدي

1. التلهيب حتى الاحمرار (Flaming):

وفي هذه الطريقة تعرض المواد قيد التعقيم إلى لهب بنزن مباشرةوتستعمل مع الناقلة الجرثومية bacteriological loop، needle نهايات الملقط forceps والمقصات scissors والشفرة الجراحية blade حيث تمرر الأدوات السابقة الذكر خلال اللهب الى درجة الاحمرار ومن ثم تستخدم بعد تبريدها.

2 - التلهيب لفترات قصيرة (short time flaming):

تستخدم هذه الطريقة لتلهيب فتحات الانابيب والقناني المختبرية وكذلك الماصات لمنع التلوث الجرثومي عند فتحها، حيث يتم التلهيب لفترة قصيرة دون الوصول الى درجة الاحمرار.

3- فرن الهواء الحار (Hot air oven):

يستخدم فرن الهواء الحار لتعقيم المواد الزجاجية مثل أنابيب الاختبار وأطباق بتري والماصات...الخ(حيث توضع في علب خاصة بالماصات) ، بالإضافة الى المواد المعدنية التي لا تتأثر بالحرارة الجافة ويستخدم لهذا الغرض فرن يعتمد على تدوير الهواء الساخن من خلال مراوح خاصة حيث تتراوح درجة الحرارة المستخدمة من(160 – 180 ˚م) ولمدة ساعة واحدة.

ب- الحرارة الرطبة:

ويقصد به استغلال بخار الماء في إجراء التعقيم بدلا من الهواء الساخن. وتقسم تصاعدياً حسب درجة غليان الماء الى:

1-البسترة Pasteurization:

سميت نسبة الى العالم لويس باستور، وتجري البسترة بدرجة حرارة 62.9˚م لمدة 30 دقيقة وتدعى بطريقة المسك holding method او بدرجة 71.6˚م لمدة 15 ثانية وتدعى بطريقة الوميض flash methodوتستخدم البسترة للقضاء على أغلب الجراثيم الممرضة وخصوصاً عصبيات السل وبروسيلا الإجهاض وجراثيم السالمونيلا.

2-الغليان Boiling:

ان التسخين الى درجة غليان الماء 100˚م لمدة 5 – 10 دقائق كافية لقتل الجراثيم الخضرية وقسم من الجراثيم المكونة للابواغ حيث تستخدم الغلايات Boilers لهذا الغرض ومن عيوب هذه الطريقة ان هذه المواد تفقد بريقها وتتعرض للتآكل والصدأ بالإضافة الى سرعة تلوثها بسهولة.

3-التعقيم بالمؤصدة Autoclaving:

يعتمد التعقيم بالمؤصدة على مبدأ استخدام الحرارة الرطبة (البخار) مع الضغط حيث توضع المواد المرد تعقيمها داخل جهاز المؤصدة autoclaving (وهو عبارة عن قدر للضغط يتم التحكم فيه بالحرارة والضغط والزمن اللازم للتعقيم) وتضبط الحرارة على درجة 121˚م وضغط 15 باوند / انج^2 ولمدة 20 دقيقة وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم معظم أنواع الأوساط الزرعية والملابس والمواد المطاطية التي تتلف باستخدام الحرارة الجافة.

والجهاز المستخدم هو جهاز **AUTOCLAVE** وهو عبارة عن وعاء من الصلب السميك وله غطاء محكم ومزود بحوض للماء ومصدر حراري ومقياس للحرارة ومقياس للضغط وصمام تهوية وعند التعقيم يتم مراعاة الأتي

1. أن يكون مستوى لماء في الجهاز عند الحد المطلوب
2. يترك صمام التهوية مفتوح إلى حين خروج البخار من فتحة صمام التهوية
3. يتم حساب مدة التعقيم عندما تصل الحرارة إلى 120 والضغط 1,5

بعد انتهاء فترة التعقيم لا يفتح الجهاز الأبعد آن ينخفض الضغط داخل الجهاز إلى الضغط الجوي الاعتيادي حيث يفتح صمام التهوية أولا ثم يفتح غطاء الجهاز وذلك لتجنب الغليان المفاجئ للسوائل

الحرق
Incineration

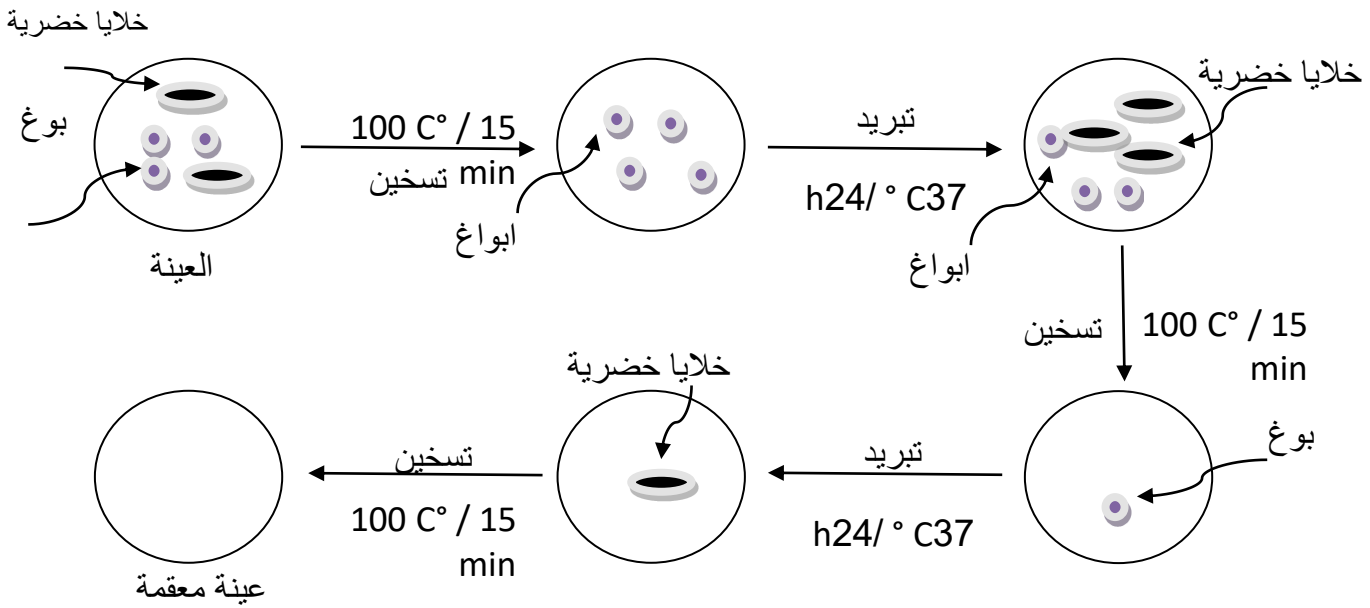
التلهيب الكحولي
Alcohol-flamed

الهواء الساخن
Hot air

4-معقم ارنولد : (التعقيم المتقطع) Arnold sterizer

وهي طريقة ابتكرها Tyndall لذلك تسمى أحيانا بالتندلة Tyndallization بعد أن أدرك هذا الباحث بأن بعض البكتريا تتواجد بشكلين هما : الخلايا الخضرية والابواغ (Spores) وان الأخيرة تتميز بمقاومتها للحرارة ، تتلخص طريقة التعقيم هذه بمعاملة المادة قيد التعقيم في 100 م° في جهاز ارنولد وبالحرارة الرطبة (بخار) ثم تبريد النموذج لمدة 24 ساعة في 37م° وتكرارهذه العملية بعدها مرتين بالتعاقب (كما في شكل).

عبارة عن إناء يوضع فيه ماء وبداخله أرفف لوضع البيئات والمحاليل المراد تعقيمها ويلحق بالجهاز ثيرمومتر ويستعمل في تعقيم البيئات التي تفسد عند استعمال الحرارة العالية (أكثر من 100م) مثل البيئات التي يدخل في تركيبها الجيلاتين أو اللبن أو السكريات والتي يخشى من تحللها بالحرارة العالية ويتم التعقيم في هذا النوع من الاجهزه على ثلاث فترات في ثلاثة أيام متتالية ويسمى ايضا بالتعقيم المتقطع.



شكل طريقة تعقيم ارنولد Arnold Method

عيوب استخدام هذا الاسلوب في التعقيم:

1. يستغرق وقت طويل وقد تحدث بعض التغيرات غير المرغوبة في االمواد المعقمة
2. تفشل هذه الطريقة في قتل الجراثيم الغير نابتة والمقاومة للحرارة
3. فشل هذه الطريقة في قتل الجراثيم اللاهوائية

الترشيح FILTERATION:

تستخدم هذه الطريقة في تعقيم المواد التي لا يمكن تعقيمها بالطرق الاعتيادية وخصوصا السوائل الحياتية (إنزيمات مضادات حيوية فيتامينات ...الخ) إضافة إلى الهواء ومن هذه المرشحات

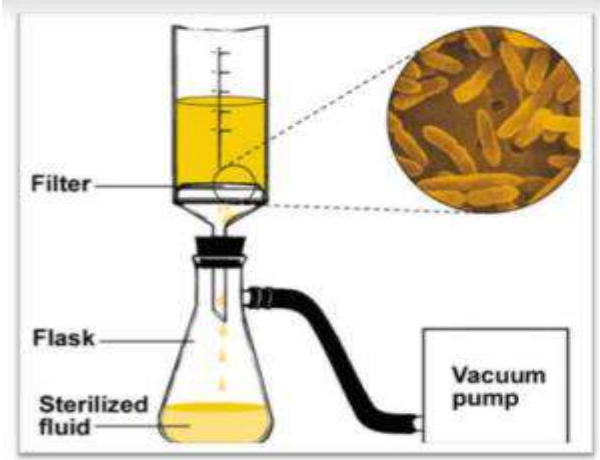
1-مرشحات الخزف الدياتومي ومنها مرشح بيركفياد

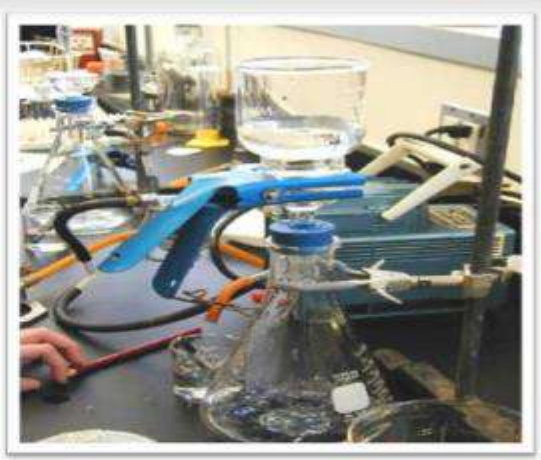
2-مرشحات الخزف غير المزجج ومنها مرشح تشامبرلاند

3-مرشحات الاسبست ومنها مرشح زايتس

4-المرشحات الغشائية ومنها مرشح استرات السيليلوز

إن عملية الترشيح لا تعتمد على أقطار ثقوب المرشح والتي تتراوح وبين مايكرون إلى عدة مايكرونات بل على حدوث نوع من التجاذب الكهروستاتيكي بين المرشح والكائن المجهري مما يودي إلى حجز الكائن المجهري ومعظم المرشحات تصنع بشكل أقراص مختلفة الأقطار ويجري تثبيتها على قمع والذي بدوره تثبت على دورق ويجب تعقيم المرشح قبل الاستعمال ومما يجدر بالذكر إن بعض المرشحات تستخدم مرة واحدة فقط





الاشعاع Radiation

ينقسم التعقيم بالإشعاع الى نوعين أساسيين هما:

أ- التعقيم بالأشعة المؤينة ionizing radiation:

وهي أشعة كهرومغناطيسية electromagnetic rays ذات أطوال متناهية في القصر (أقل من 10 – 40 أنكيستروم) مثل الاشعة السينية X- rays وأشعة كاما Gamma rays.

ان آلية عمل أشعة كاما غير معروفة بشكل كامل ولكن يعتقد بأنها تسبب الضرر الدائم للحامض النووي DNA بالإضافة الى تأين ماء الخلية وتكوين جذور الهيدروكسيل الحر (H_2O_2, HO_2, HO) الذي يعتبر عامل مؤكسد قوي والتي تؤثر بدورها على الحامض النووي DNA وتستخدم أشعة كاما في تعقيم المواد التي تستخدم لمرة واحدة disposable medical supplies مثل الحقن البلاستيكية plastic syringes وكذلك الكفوف الجراحية والمواد الصيدلانية التي تتأثر بالحرارة.

ب - التعقيم بالأشعة(غيرالمؤينة) فوق البنفسجية U.V light:

وهي الأشعة ذات الطول الموجي (2400 – 2800 انكيستروم).

سلبيات هذه الإشعاعات:

احتمال تأثيرها في العين، وطول التعرض لها يؤدي إلى إحداث حروق بالجلد، والإصابة بسرطان الجلد. كما أن عدم قدرتها على الاختراق يحتم تعريض الميكروبات لها بطريقة مباشرة إذا أريد الحصول على نتائج فعالة من استخدامها، ذلك أن وجود أي حاجز مثل الأوراق والأقمشة،... إلخ، يمنع وصولها إلى الميكروبات.

ثانيا: الطرق الكيمياوية Chemical methods:

ان تأثير العوامل الكيمياوية chemical agents اما ان يكون قاتلاً للجراثيم bactericidal حيث يؤدي الى قتل الجراثيم أو ان يكون مثبطاً لنموها bacteriostatic حيث يعمل فقط على إيقاف نمو الجراثيم ومنع تكاثرها, ان تركيز المطهر والفترة الزمنية التي تتعرض فيها الجراثيم للمعقم ودرجة الحرارة وكمية التلوث كلها عوامل لها تأثير مباشر على كفاءة عمل العوامل الكيمياوية

وهناك عدة صفات يجب توفرها في المادة الكيميائية المستخدمة وهي

1-لها القابلية على القتل أو التثبيط في تراكيز واطئة

2-لها القابلية على الذوبان في الماء أو المذيبات الأخرى

3-لها قابلية اختراق الأغشية والنفاذ منها

4-أن تكون متوفرة بأسعار مقبولة

ويمكن تقسيم أهم العوامل الكيمياوية الى المجاميع التالية:

أ- الفينول Phenol:

ان الفينول النقي لا يستعمل حالياً وذلك بسبب تأثيره المخدش ورائحته الغير مقبولة إلا انه الأساس لتطوير العديد من المطهرات التي تدعى بالمطهرات الفينولية والتي تضم الكريسولات cresols والديتول Dettolحيث ان الفينولات تعمل على الاغشية السايتوبلازمية للجراثيم وتسبب تسرب محتويات الخلية في التراكيز الواطئة وتسبب تخثر البروتين في التراكيز العالية.

أ- الكحولات Alcohols:

يعتبر الكحول الاثيلي والكحول الايزوبروبيلي ذا فعالية سريعة في قتل الجراثيم الخضرية والفطريات وان طبيعة عمل الكحولات هي تغيير طبيعة البروتين داخل الخلية الجرثومية كما يعمل مذيباً جيداً للمواد الدهنية في الغشاء الخلوي حيث ان استخدام تركيز 70% من الكحولات هو أكثر فعالية من التراكيز النقية 99,9% وذلك يعود الى ان إضافة الماء الى الكحول يزيد من فعاليته ويمكن جعل الكحول قاتلاً للابواغ بإضافة 1% من حامض الكبريتيك او هيدروكسيد الصوديوم الى محلول الكحول 70%.

ج- الهالوجينات Halogens:

تضم الهالوجينات عدة عناصر ولكن الكلور واليود فقط هي التي لها تأثير مطهر وتعتبر عناصر مؤكسدة ويستخدم الهايبوكلورات hypochlorite في صناعة المواد القاصرة bleaching agents المستخدمة في تعقيم أدوات صناعة الألبان وحمامات السباحة ويستخدم اليود كصبغة بتركيز 1% ومن مساوئ اليود هي الحساسية واصطباغ الجلد وقد تم التغلب على هذه المشاكل من خلال إضافة بعض المواد المنظفة والتي تدعى بحاملات اليود, ان آلية عمل الهالوجينات تتمثل بأكسدة البروتينات الخلية الجرثومية وبالتالي موتها.

د- المعادن الثقيلة Heavy metals:

ان معظم المعادن الثقيلة تحتوي على الزئبق والفضة وتشمل المركبات العضوية وغير العضوية لهذه المعادن والمثال الشائع هو المركب التجاري الميركروكروم mercurochrome المستخدم في تطهير الجروح وتستخدم مركبات الزئبق في الوقت الحاضر كمواد حافظة تبيد الجراثيم وتمنع نمو الفطريات. ان آلية عمل المعادن الثقيلة هي تثبيط الخمائر حيث يعمل الزئبق مثلاً على الارتباط عكسياً بمجاميع السلفادريل SH في البروتينات الجرثومية مما يؤدي الى تثبيط عمل هذه البروتينات وموت الخلية الجرثومية.

جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات
قسم وقاية النبات

مبادئ الأحياء المجهرية
الدرس العملي
المحاضرة الرابعة

مدرس المادة
ريان سالم الحيالي

الأوساط الزرعية Culture Media

إن غالبية الدراسات والبحوث البكتيريولوجيه تتطلب استعمال بيئات زرع مختلفة تحضر بالمختبر , وهذه البيئات وإن لم تكن متماثلة تماما مع البيئات التي تعيش فيها أو عليها هذه الكائنات في الطبيعة إلا أنها قريبة الشبه منها قرباً قد يوفر الاحتياجات والمتطلبات الغذائية اللازمة لتنميتها. لذا يمكن تعريف البيئة بأنها أوساط زراعية مناسبة لنمو الأحياء المجهرية تتوفر فيها متطلبات النمو والتكاثر الأساسية, أو أي مادة يمكن أن تنمو عليها الكائنات الدقيقة.

والأوساط الزرعية لا توفر للأحياء المجهرية احتياجاتها من العناصر الغذائية فحسب وإنما توفر لها أيضا الظروف الفيزياوية أو العوامل الفيزياوية من النشاط المائي والضغط الازموزي والرقم الهيدروجيني الملائم وكمية الأوكسجين ودرجة الحرارة والعامل الأخير يتم التحكم به خارجياً من خلال حضن الأوساط الملحقة أو المزروعة في الحاضنة Incubator.

أهمية الأوساط الزرعية :

1) لغرض عزل وتنمية وتنقية الاحياء المجهرية كالفطريات والبكتريا.

2) تستعمل أحيانا أوساط اختباريه ونقصد بها (أوساط تستعمل لاختبار صفات معينة للبكتريا) مثل الصفات البايوكيميائية (الحياتية) للبكتريا .

3) تستعمل كأوساط اختيارية وهي الأوساط التي تعمل على تنمية أنواع من البكتريا على حساب أنواع أخرى .

4) تستعمل كأوساط لفحص واختبار الحساسية (حساسية البكتريا) للمضادات الحياتية (Antibiotics) .

ولا يمكن تنمية جميع الأحياء المجهرية على الوسط الزرعي Culture Media لأن هنالك أحياء يطلق عليها Organisms Obligate Micro أحياء مجهرية إجبارية وهي تحتاج إلى خلايا حية لغرض المعيشة والقيام بالفعاليات الحيوية الايضية مثل الفيروسات Virusesالتي تعيش على الخلايا الحية للإنسان والحيوان والنبات ومثل الفطر *Pythium* و *Phytophthora* التي تعيش على الخلايا الحية للنبات ولايمكن تنميتها على الاوساط الزرعية .

تقسيم الاوساط الزرعية

أولاً : الحالة الفيزيائية / حسب القوام وتشمل ما يلي :

1-الأوساط السائلة Liquid Media : وهي االاوساط التي تبقى سائلة بعد تحضيرها وتعقيمها وتنتهي تسمية الأوساط الجاهزة من هذا النوع إما بكلمة Medium Broth مثال: Nutrient Broth و Mac Conky Broth او Litmus Milk Medium .

2-الأوساط الصلبة Solid Media : وهي نوع من الأنواع الثلاثة السابقة مضافاً اليها مادة الأكار (Agar) والاكار مادة عضوية معقدة التراكيب تستخرج من بعض الطحالب البحرية ويوجد منها عدة انواع تجارية تمتاز فيما بينها بدرجة نقاوتها يضاف الى الأوساط الغذائية لكي يساعد على تصلبها عند درجة حرارة اقل من 45°م ويصبح سائلاً عند الدرجات الحرارية العالية يضاف الى الوسط بنسبة 20 -15% من الوسط اي 20 – 15 غم لكل لتر من الوسط الغذائي. تمتاز الأوساط الصلبة بسهولة الأستعمال والنقل واكتشاف التلوث كما تستخدم بنجاح في عزل وتنقية الفطريات كذلك في حفظ مزارع الفطريات المختلفة كأصول في الثلاجة لفترات طويلة وتحضر هذه الاوساط اما في انابيب اختبار مائلة او عميقة او يصلبها في اطباق بتري .

3-الأوساط شبه الصلبة Semi – Solid Media : وهي أوساط ذات قوام جيلاتيني وتحتوي على كميه قليلة من الأكار أو بعض العوامل المصلبه الاخرى كالجيلاتين وتستخدم هذه الاوساط لأغراض خاصه منها دراسة التراكيب التكاثريه المتحركه للفطريات او البكتريا .

ثانياً : التقسيم حسب طبيعة المكونات الكيميائية وتشمل ما يلي :

1-الأوساط التصنيعية Synthetic Media

وهي الأوساط التي تتألف من مركبات كيمياوية معروفة التركيب كماً ونوعاً

2-الأوساط شبه المصنعة Semi – Synthetic Media

وهي الأوساط التي تكون جميع مكوناتها معروفة كماً ونوعاً عدا مادة واحدة مثل (Blood Nutrient Agar) .

3-الأوساط الطبيعية Natural Media

وهذه تتكون من مواد طبيعية أو مشتقاتها أو أجزاء منها كالحليب واللحم والبيض وبعض الأنسجة النباتية والتي تحتوي على الاحتياجات الغذائية المطلوبة للأحياء المراد تنميتها على شكل مركبات عضوية متعددة ومن الأمثلة عليها Nutrient Broth

4-الأوساط شبه الطبيعية Semi-Natural Media

وهي الأوساط التي تكون جميع مكوناتها مجهولة كماً ونوعاً عدا مادة واحدة مثل الدم + 5غم كلوريد الصوديوم (Blood + 5 gm NaCl)

ثالثا :: حسب التركيب والغرض من الاستخدام

1-الأوساط الغنية:Enriched media

أوساط بسيطة مضافاً إليها مواد غذائية غنية مثل الدم ,المصل ,مستخلصات النباتات أو الحيوانات لمواجهة متطلبات النمو الصعب الإرضاء مثل Serum agar – Milk agar – Blood agar .

2-الأوساط الاختيارية: Selective media

مثل إضافة بعض المواد بتركيز معين كالصبغات ,أملاح الصفراء ,المضادات الحيوية ,الأحماض للسماح بنمو مجموعة من البكتيريا دون غيرها كإضافة صبغة الايوسين الكريستال البنفسجي بتركيز معين يؤدي إلى نمو مختلف أنواع البكتيريا السالبة لصبغة جرام ويمنع نمو البكتيريا الموجبة

3-الأوساط التفريقية: Deferential media

الأوساط التي تسمح بنمو نوعين من البكتيريا يمكن التمييز بينهما ,مثل بيئة آجار الدم فبإضافة الدم إلى الوسط الزراعي يسمح بتمييز البكتيريا المحللة للدم وغير المحللة , حيث تظهر حلقة فارغة حول المستعمرة المحللة ,وبذا تلعب الأوساط المحتوية على الدم دور الوسيط الغني المفرق في الوقت ذاته.

4الاوساط الزرعية الحيةLiving culture media

يتكون الوسط الغذائي الحي من خلايا او انسجة حيوانية او نباتية حية موجودة في وسط غذائي ملائم ، ومن الاحياء المجهرية التي تنمو اجباريا على هذه الاوساط هي الفيروسات والركتيسيا.

–5الاوساط الزرعية الحافظةMaintenance media

تستعمل هذه الاوساط للحفاظ على حيوية الاحياء المجهرية وخواصها الفسلجية لمدة معينة . وتستعمل اوساط معينة لهذا الغرض غير الاوساط التي تستخدم للنمو الافضل اذ ان النمو السريع يصاحبه موت سريع للخلايا وهذا غيرمرغوب في الاوساط الحافظة ولهذا يفضل عدم استخدام الكلوكوز في هذه الاوساط ، كما ان كل نوع من الاحياء المجهرية له وسط زرعي خاص به بحيث يمكن حفظه لمدة اطول.

- 6الاوساط الزرعية التحليليةAssay media

وهي اوساط معرفة كيمياويا (صناعية) تستخدم لتقييم بعض المواد مثل الفيتامينات والحوامض الامينية والمضادات.

المكونات الأساسية للأوساط الزراعية:

تشترك معظم الأوساط الزراعية في احتوائها على المواد التالية:

1 - الببتون Peptone

يعتبر مصدراً هاماً للنتروجين العضوي في البيئات المعدة لتنمية البكتيريا غير ذاتية التغذية ، يحضر من اللحم الخالي من الدهون بعد تحلله بإنزيم الببسين.

2 - خلاصة اللحم Beef extract

تحضر من اللحم البقري الخالي من الدهون بعد غليه وترشيح الخلاصة وتركيزها, يحتوي المستخلص على بعض الأحماض غير العضوية وبعض المواد العضوية مثل الأحماض الأمينية ، الجلوكوز، اليوريا ، حامض اللكتيك، الفيتامينات ، عوامل النمو الأخرى.

3 - خلاصة الخمير Yeast extract

تحتوي على بعض الأحماض الأمينية ، وبعض العوامل المساعدة للنمو ، وأملاح معدنية.

4- الماء Water

تحتاج الخلايا الحية إلى الماء لنموها ولإتمام عملياتها الأيضية ، وعلاوة على استخدامه كمادة مذيبة للمواد الغذائية ، ويفضل استخدام الماء المقطر لخلوها من الأملاح المعدنية.

5 - المواد التصليبية : Solidifying agents

تضاف إلى بيئة الزرع السائلة بعض المواد لتساعدها على تحولها إلى بيئة صلبة تساعد على تكوين مستعمرات فرديه. وفيما يلي بعض المواد التصليبية التي تضاف إلى بيئات الزرع :

أ - الجيلاتين Gelatin

أول ما استعمل كمادة تصليبية في بيئات الزرع, وهو عبارة عن مادة بروتينية تحضر بمعاملة عظام الحيوانات, ويندر حالياً استعمال الجيلاتين كمادة تصليبية في البيئة نظراً لأن كثير من البكتيريا يمكنها تحليله مائياً, ولأنه ينصهر عند درجات التحضين.

ب - الآجار آجار Agar agar

مادة كربوهيدراتيه تستخلص من بعض الطحالب البحرية الحمراء, والتي تنمو بوفرة على سواحل بعض الدول مثل اليابان, وهو يتصلب عند درجة حرارة من 45 -42 م, ويمكن إسالته مرة ثانية عند درجة حرارة 89 م, ويتميز عن الجيلاتين كونه لا يمكن تحليله بيولوجيا لأن عدد الكائنات المحللة له قليلة جداً.

ج - السليكا Silica

تعتبر مادة غيرغذائية فهي عادة تستعمل في تحضير البيئات اللازمة لتنمية الكائنات الذاتية التغذية، وذلك لمنع نمو البكتيريا غير ذاتية التغذية معها .

هناك شركات متخصصة بتحضر أوساط الزراعية أو الغذائية مثل شركة Oxoid ، شركة Difco ، شركة Fluca وغيرها ، يتم تجهيز هذه الأوساط من قبل الشركات على صورة مسحوق في عبوات تكون معلمة تتضمن المعلومات التالية:

- أسم الوسط
- نوع الوسط
- الأغراض التي يستخدم من اجلها :

I. عـــزل Isolation

II. عـــــد Enumeration

III.تشخيص Identification

IV.تمـــييز Differentiation

- مكونات الوسط
- طريقة تحضير الوسط.

تحضر 500 مل من وسط Nutrient Agar ويتم التحضير بأتباع الخطوات الآتية :

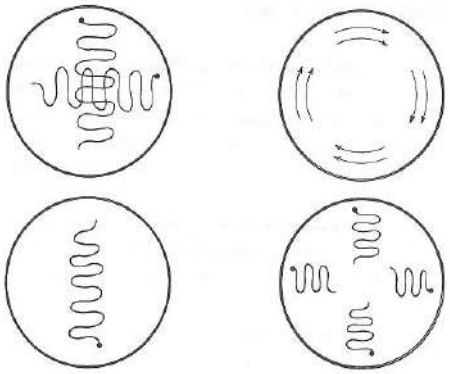
- يتم وزن كمية من الوسط حسب تعليمات الشركة المثبتة على علبة الوسط ،فاذا كانت تعليمات الشركة تشير مثلا:28 غرام من الوسط في لتر واحد(لتحضير لتر من الوسط)يتم عندئذ وزن 28غرام منه اذا كان المطلوب تحضير لتر منه.اما اذا كان المطلوب تحضير 500 مل من الوسط فيتم عندئذ وزن 14 منه. وبواسطة الميزان الحساس ويذاب في500 مل ماء مقطر في دورق زجاجي مخروطي الشكل (Flask) ذات حجم 1 لتر ، ويحرك لذوبان وتجانس الوسط مع الماء المقطر.
- ينقل الدورق المخروطي بعد تغطيته (إما بغطائه البلاستيكي أو بالقطن) إلى جهاز التعقيم البخاري Autoclave لتعقيم الوسط في 121 م° وضغط 1.5 كغم/سم^2 لمدة 15 دقيقة وقد تعتمد طريقة أخرى للتعقيم اعتماداً على توجيهات المجهز أيضا أو طبيعة الوسط .
- يعقم سطح الطاولة التي يتم عملية صب الاطباق عليها بالكحول 70% ويهياً مصباح بنزن أو في حالة صب الاطباق داخل كابينة العزل Flow laminar فيتم حينها تعقيم ارضية وجدران الكابينة بالكحول او يعقم بالاشعة فوق البنفسجية UV light .
- يبرد الوسط بعد تعقيمه إلى 50-55م° تقريباً ثم يصب في أطباق بتري Petridish معقمة سابقاً قرب اللهب وتترك الأطباق لحين تصلب الوسط وبهذا يصبح الوسط جاهزاً للاستخدام .

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

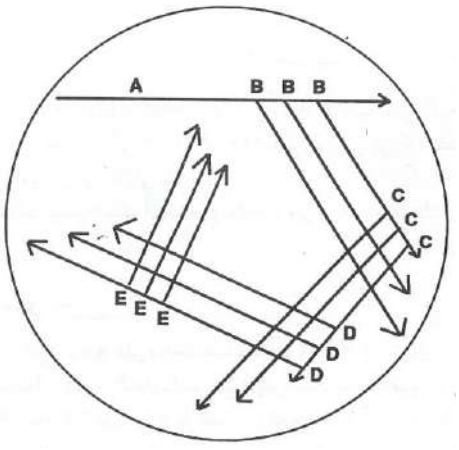
- الهدف من التخطيط هو الحصول من معلق البكتيريا على مستعمرات منفصلة تماما
- تخطط العينة على سطح بيئة الاجار المغذي بطريقة التخطيط البسيط أو التخطيط البسيط المتكرر أو التخطيط المتعامد



أ) التخطيط البسيط

طريقة العمل:

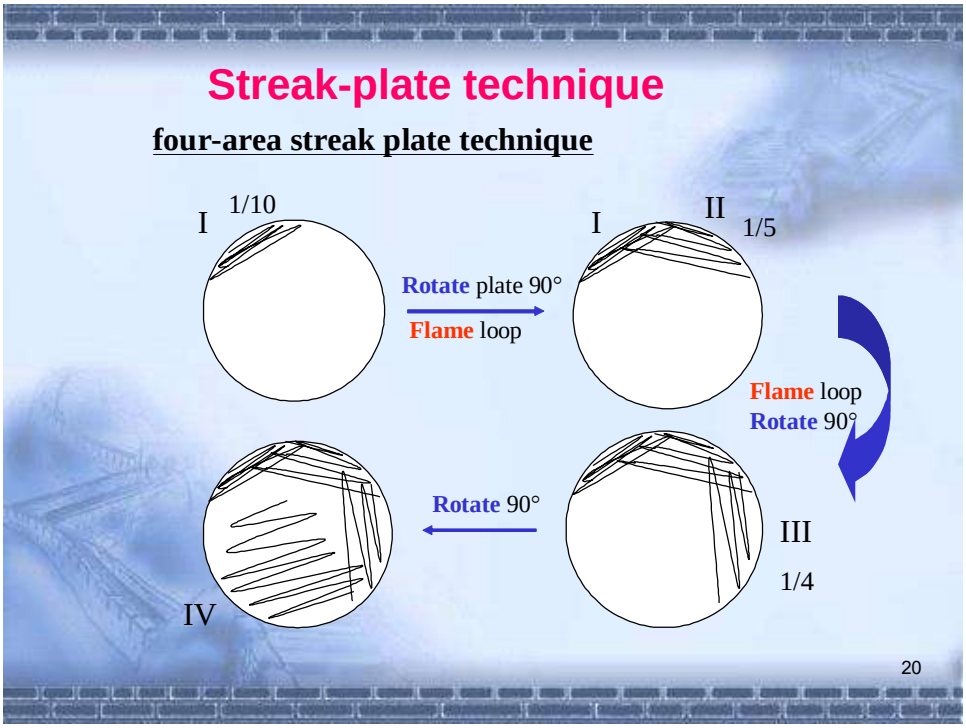
1- تحت ظروف التعقيم, تعقم ابرة التلقيح باللهب ثم تبرد بلمس حافة الاجار
2- تؤخذ ملء عقدة Loopfull من المزرعة المختلطة ويخطط على سطح البيئة الصلبة
3- تكتب البيانات اللازمة أسفل الطبق
4- تحضن الأطباق مقلوبة عند 37م لمدة 24 ساعة
5- لاحظي ظهور مستعمرات فردية في الجزء الأخير من التخطيط



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 اسفل الطبق ثم تحضن الأطباق مقلوبة عند37م لمدة 24ساعة
4- لاحظي النمو الكثيف في منطقة الخطوط الاولى يقل تدريجيا حتى تظهر مستعمرات فردية في اخر التخطيط.



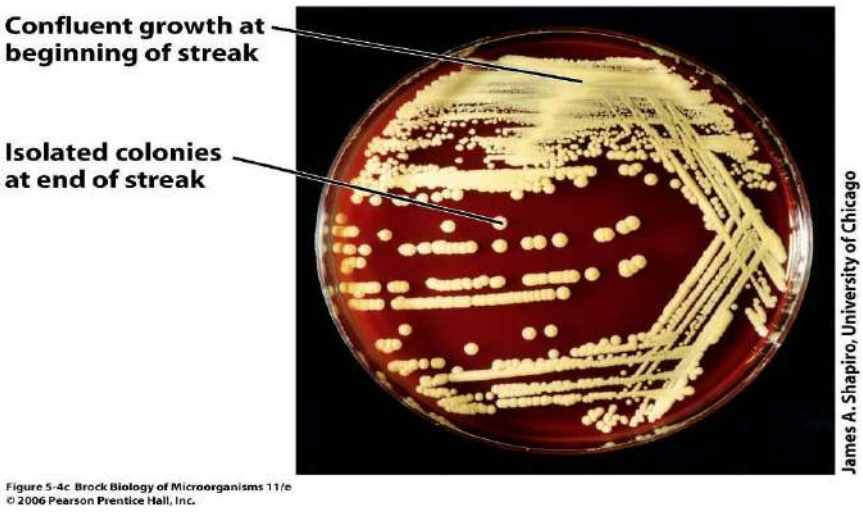
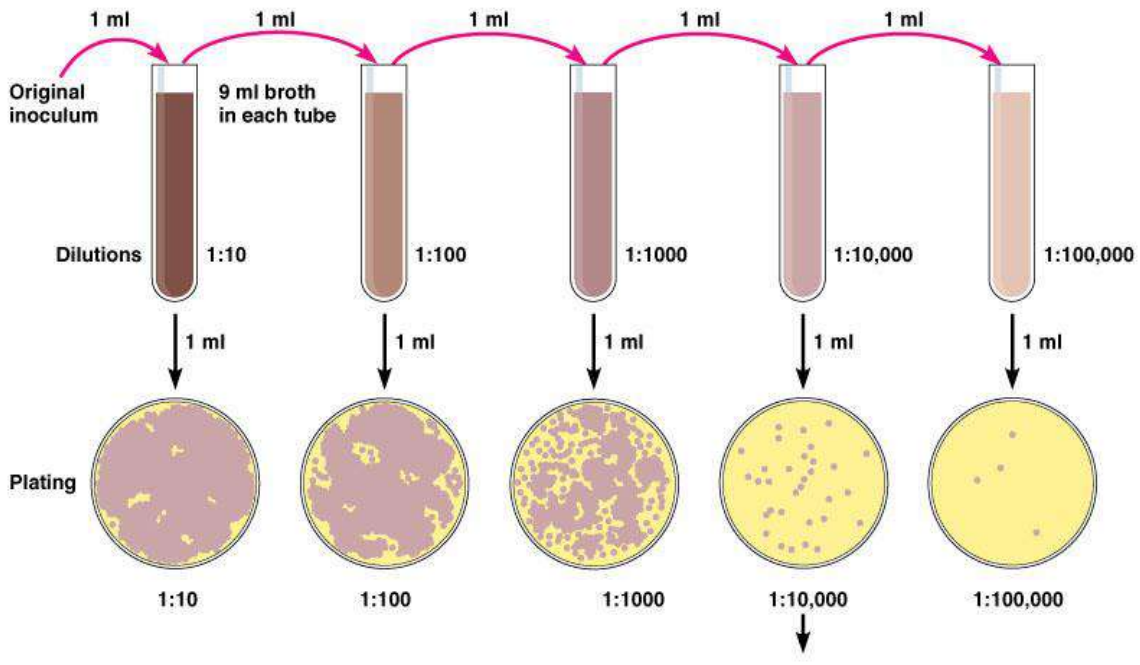


Figure 5-4c Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

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 بابرة 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 عند45م
7- تترك الاطباق في جو المعمل حتى تتصلب البيئة
8- تحضن الأطباق مقلوبة عند درجة حرارة مناسبة من 30-37م لمدة 24ساعة
9- حددي الأطباق التي ظهر فيها مستعمرات فردية واضحة



Calculation: Number of colonies on plate × 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 × 10,000 = 320,000/ml in sample.)

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

حفظ المزارع البكتيرية

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

1- الحفظ بالنقل الدوري Preservation by Periodic Transfer
2الحفظ في الزيت المعدني Preservation under Minerial 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

Slant inoculation طريقة تخطيط انبوبة الاجار المائل (لحفظ البكتيريا)

العزل والتشخيص DIAGNOSIS & ISOLATION

العزل ISOLATION: وهو خطوة تسبق عملية التشخيص، يتم فيها أخذ عينات من المسبب المرضي، بطريقة تتلاءم مع خصائص كل مسبب مرضي ومع طرق الإصابة ومع الأجزاء النباتية التي ينمو عليها. وتختلف طرق العزل باختلاف نوع المسبب المرضي وكالاتي:

عزل الفطريات Isolation of Fungi

1. العزل من الأجزاء النباتية : وهو عزل المسبب المرضي من الأجزاء النباتية المصابة (الاوراق ،السيقان،الثمار،الجذور، الدرنات) وتتم بأخذ أجزاء صغيرة منها وتعقيمها سطحيا بمادة الكلوراكس (القاصر) 10% ، لمدة 1-2 دقيقة ثم تغسل بماء مقطر معقم وتنشف بورق نشاف لازالة آثار الكلوراكس ثم تزرع في أطباق بتري تحوي على الوسط الغذائي PDA بعدها توضع في الحاضنة بدرجة حرارة 25 مO لمدة 5 أيام لغرض نمو الفطريات.

2. العزل من التربة Isolation from Soil :وتتم بطريقتين :-

أ- العزل المباشر : تؤخذ أجزاء صغيرة من التربة الزراعية عشوائيا وتوزع على أطباق بتري تحوي على الوسط الغذائي PDA ثم توضع في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 مO لمدة 5 أيام .
ب- العزل بطريقة التخافيف (الاطباق المصبوبة): تنخل (تغربل) كمية من تربة الحقل بمنخل دقيق للتخلص من الشوائب العالقة بها. تؤخذ عينة بوزن 25 غرام من التربة اعلاه وتوضع في وعاء بسعة لتر ثم يضاف اليها 225 مل من الماء المعقم ، وتخلط التربة بالماء جيدا ، وبذلك نكون قد اجرينا تخفيفا بنسبة 10/1 .
- ينقل 1 مليلتر من المعلق بواسطة ماصة الى انبوبة تحوي على 9 مليلتر من الماء المعقم لنحصل على محلول مخفف بنسبة 100/1 .- يؤخذ 1 مليلتر من المعلق الاخير ويضاف الى 9 مليلتر من الماء المعقم للحصول على محلول مخفف بنسبة 1000/1 ، وباستمرار هذا العمل نستطيع الحصول على تخفيف بنسبة 10000/1 .
- ينقل مل من المحلول المعلق بتركيز 100/1 الى طبق زجاجي يحوي على بيئة اكار الدكستروز والبطاطا PDA ثم يحرك الطبق حركة دائرية حتى يوزع المعلق على سطح البيئة ويكرر نفس العمل بالنسبة للتخافيف الأخرى.- توضع الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 مO ولمدة 5 ايام يمكن بعدها ملاحظة نمو المستعمرات للتعرف على الفطريات النامية.

ج – العزل بطريقة المصائد النباتية : تؤخذ كمية من التربة المذكورة في (ب) وتخفف بالماء كما ذكر في أعلاه ، بعد وضعها في دورق زجاجي سعة 1 لتر ، ثم توضع مقاطع من أوراق نباتية سليمة في الدورق بعد تعقيمها سطحيا بالكلوراكس لمدة 1-2 دقيقة، بعدها يوضع الدورق في رجاج كهربائي لفترة 2-3 ساعة أو اكثر حسب الحالة المرضية ، فتعمل مقاطع الأوراق النباتية باصطياد الفطريات ، ثم يفرغ محتوى الدورق بمنخل لغرض اخذ مقاطع الأوراق النباتية فقط والتي تنشف بورق نشاف ، بعدها تزرع في أطباق بتري تحتوي على وسط زرعي ثم توضع في الحاضنة لغرض نمو الفطريات.

3. العزل من الهواء Isolation from Air :تعرض أطباق بتري تحوي على وسط غذائي ، للهواء مباشرة لمدة دقيقتين ثم توضع في الحاضنة بدرجة 25 مO ، وتفحص هذه الأطباق بعد مرور 5 – 7 أيام ثم تشخص الفطريات.

عزل البكتيريا Bacteria

1. العزل من الاجزاء النباتية : ونعني بها عزل البكتيريا من الاجزاء النباتية المصابة بطريقة التخافيف:
   i. أ- حيث تؤخذ اجزاء صغيرة من نباتات مصابة ، وتعقم سطحيا بواسطة القاصر (الكلوراكس) لمدة 1-2 دقيقة ثم تغسل بماء مقطر معقم.
   ii. ب- توضع الاجزاء اعلاه في انبوبة اختبار تحتوي على 10 مليلتر من الماء المقطر المعقم وتترك لمدة كافية من اجل خروج البكتيريا الى الماء.
   iii. ت- يؤخذ 1 مليلتر من المحلول البكتيري بواسطة ماصة معقمة ليضاف على 9 مليلتر من الماء المقطر والمعقم في انبوبة اختبار ، وتتكرر هذه العملية لغرض تحضير عدة تراكيز من المحلول البكتيري المخفف .
   iv. ث- تصب هذه التراكيز في اطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي الأكار المغذي Nutrient Agar وتوضع في الحاضنة (بصورة مقلوبة لكي لا تسقط قطرات البخار المتكثفة على غطاء الطبق على الوسط الزرعي وبالتالي انتشار وتخفيف المستعمرات البكتيرية) على درجة 30-35 درجة مئوية لمدة 1-3ايام .
   v. ج- بعد نمو المستعمرات البكتيرية في الاطباق يتم فحصها وتشخيصها .

2. العزل من التربة :

أ- العزل المباشر: وهي نفس طريقة عزل الفطريات من التربة التي سبق شرحها حيث تؤخذ كمية صغيرة من التربة الزراعية من حقل ،عشوائيا ، بواسطة مشرط لتوزع على عدد من الاطباق الحاوية على الوسط الزرعي الاكار المغذي NA ثم توضع الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 30-35 درجة مئوية لمدة 1-3 ايام ، ثم تفحص بعد ذلك لغرض تشخيص انواع البكتيريا النامية.

3. العزل من الهواء: وهي نفس طريقة عزل الفطريات من الهواء التي سبق شرحها.

جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات
قسم وقاية النبات

مبادئ الأحياء المجهرية
الدرس العملي
المحاضرة السابعة

مدرس المادة
ريان سالم الحيالي

طريقة تحضير شريحة بكتيرية

- تؤخذ شريحة زجاجية نظيفة وتوضع فوقها قطرة ماء بواسطة Loop.
- تسحب مسحة من النمو البكتيري من مزرعة البكتريا ويمزج جيداً مع قطرة الماء على الشريحة مع نشرها بواسطة Loop على مساحة 1 سم^2 دائري واحد .
- يجفف مزيج البكتريا وقطرة الماء على الشريحة تجفيفاً هوائياً ثم تثبت بإمرار الشريحة على اللهب وبذلك يتحقق التصاق الخلايا بالشريحة .
- يضاف لها بضع قطرات من صبغة Crystal violet البنفسجية او صبغة Safranin الحمراء وتترك دقيقة ثم تغسل تحت تيار خفيف من ماء الحنفية وتترك لتجف .
- توضع قطرة من زيت السيدر في وسط الشريحة وتفحص بالمجهر الضوئي عند قوة التكبير X100 .

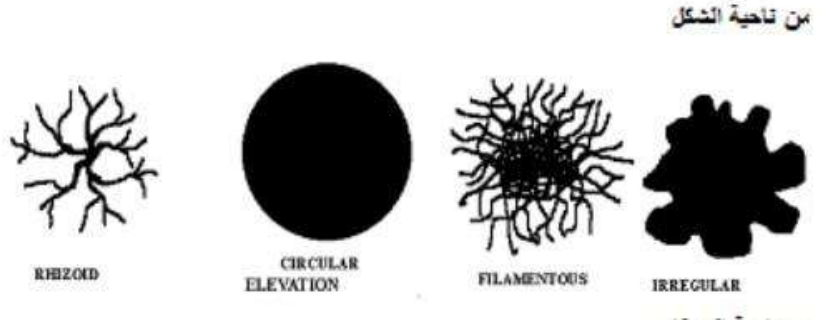
دراسة الصفات المزرعية للبكتيريا Bacterial cultural characteristics

- ❖ دراسة أشكال ومظاهر النمو المختلفة للبكتيريا على مختلف الاوساط الغذائية
- ❖ تعتبر من أهم الدراسات لتعريف وتصنيف البكتيريا
- ❖ تعطي وصف دقيق للبكتيريا أثناء نموها على الأوساط الصلبة والسائلة

أولا: وصف النمو البكتيري على البيئات الصلبة في أطباق بتري Solid media

1. شكل المستعمرة Colony form: ومن أهم الأشكال

- ❑ نقطية
- ❑ دائرية
- ❑ خيطية
- ❑ جذرية
- ❑ غير منتظمة
- ❑ مغزلية

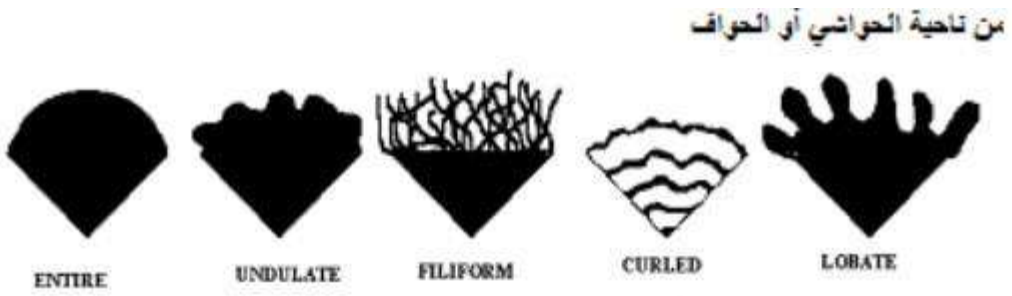


2. ارتفاع المستعمرة Colony elevation :

- ❑ مسطحة مرتفعة
- ❑ محدبة
- ❑ كثيرة التحدب
- ❑ مرتفعة المركز

3. شكل حافة المستعمرة Colony margin :

- ❑ كاملة- مموجة
- ❑ مفصصة
- ❑ مسننة
- ❑ خيطية
- ❑ مجعدة



4 - **سطح المستعمرة Colony surface**

ناعم- خشن

5- الصفات الضوئية للمستعمرة Colony optics

معتمة- شبه شفافة- شفافة

6- **حجم المستعمرة Colony size**

7- **لون المستعمرة (انتاج الصبغات) Pigmentation**

ملونة- غير ملونة

8- **الرائحة Odor**

متعفنة- عطرية- بدون رائحة

9- قوام المستعمرة Colony consistency

غشائي- لزج (مخاطي)- زبدي- هش

10- **التأثير في الدم Hemolytic activity**

تحلل الدم تحليل كامل Beta hemolysis– تحلل الدم جزئيا Alpha hemolysis

لاتحلل الدم Gamma hemolysis or non hemolysis

ثانيا: مظاهر النمو البكتيري على انبوبة الاجار المائل Nutrient agar slant

1. كمية النمو Growth amount

لايوجد نمو- قليل- متوسط- غزير

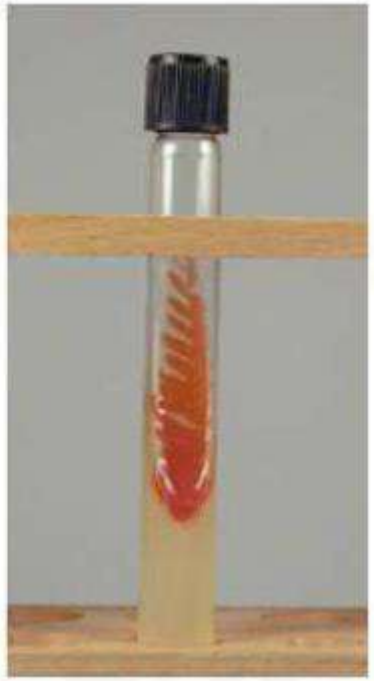
2. اللون

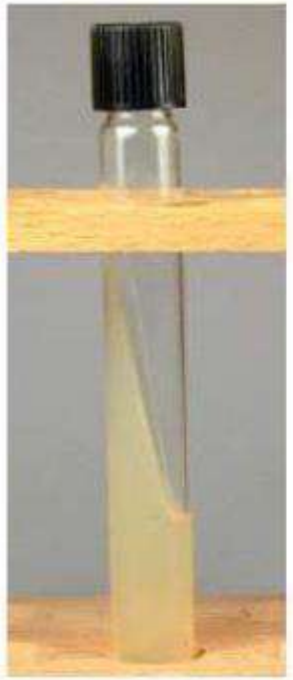
على النمو نفسه- منتشر في البيئة

3. الصفات الضوئية والشفافية

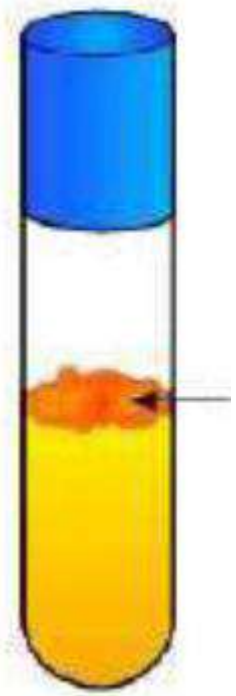
4. شكل النمو

خيطي- منتظم- مسنن- سبحي- منتشر- متفرع





ثالثا: وصف النمو البكتيري في البيئات السائلة Liquid media



1- كمية النمو Growth amount

ضئيل- متوسط- غزير

2- شكل النمو Growth form

خيطي- مسنن- خرزي- منتشر- جذري- شجري-

3- النمو على السطح

لايوجد- حلقي- رقيق- غشائي- صوفاني

4 - النمو تحت السطح

لايوجد- عكر- حبيبي- صوفاني- قشاري

5 - النمو المترسب

لايوجد- حبيبي- صوفاني- قشاري- لزج- جليدي

صبغة جرام Gram stain

تعتبر صبغة جرام من أهم أنواع الصبغات المستخدمة في المستشفيات للتعرف على البكتيريا. ويعود الفضل في اكتشافها إلى الطبيب ذو الأصل الدانماركي هانس كريستيان جرام الذي كان يعمل في مختبر التشريح التابع لمستشفى Berlin في العام 1880 للميلاد. حيث قام بتطوير هذه الطريقة لتساعده على تفرقة أنواع البكتيريا المسببة لذات الرئة (Pneumonia)، حيث كانت أحد أنواع البكتيريا تصبغ بلون أحمر وأطلق عليها (بكتيريا سالبة جرام) والأخرى باللون الأزرق (بكتيريا موجبة جرام). و يعتمد لون البكتيريا في صبغة جرام على التركيب الكيميائي لجدار الخلية.

- **التفاعلات عند إضافة الصبغة**

عند إضافة Crystal violet إلى الشريحة تدخل هذه الصبغة إلى داخل جدار الخلية ، و عند إضافة محلول اليود Iodine Solution يتفاعل مع Crystal violet ليكون مركب يسمى Crystal violet – Iodine complex فعند إضافة الكحول Alcohol يدخل إلى جدار الخلية فإذا كان المركب الأول قابلاً لذوبان في الكحول فإنه سوف يذوب ويخرج خارج جدار الخلية وبذلك يفرغ جدار الخلية من أي صبغة فعند إضافة Safranin ذات اللون الأحمر فإنها ستدخل إلى جدار الخلية وتلونها وبذلك تكون البكتيريا سالبة لصبغة جرام أما إذا كان المركب الأول غير قابل للذوبان في الكحول فإن الـ Crystal violet سوف يثبت في جدار الخلية فعند إضافة Safranin فإنها لن تجد لها مكان داخل الخلية لتثبت فيه وبذلك تكون البكتيريا موجبة لصبغة جرام .

- **الفرق بين البكتريا الموجبة لصبغة جرام والسالبة**

هو تركيب جدار الخلية الكيميائي حيث الموجبة لصبغة جرام تحتوي على أحماض أمينية أقل من السالبة لصبغة جرام و تحتوي مواد دهنية في البكتيريا السالبة لجرام أعلى من الموجبة لجرام ، و الجدار الخلوي في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام أقل تعقيداً من البكتيريا السالبة حيث إن الجدار الخلوي في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام تتكون من طبقتين وهما طبقة الموكوبيبتيد mucopeptide وتعرف بـ peptidoglycan و الطبقة الثانية مكون من teicoic acid ، أما جدار الخلوي للبكتيريا السالبة لصبغة الجرام تتكون من ثلاث طبقات هي طبقة الموكوبيبتيد mucopeptide وتعرف بـ peptidoglycan و طبقة دهنية سكرية lipo polysaccharides و طبقة دهنية بروتينية lipo protein .

ويوجد تفسيرين لذلك:

1. تفسير فيزيائي:

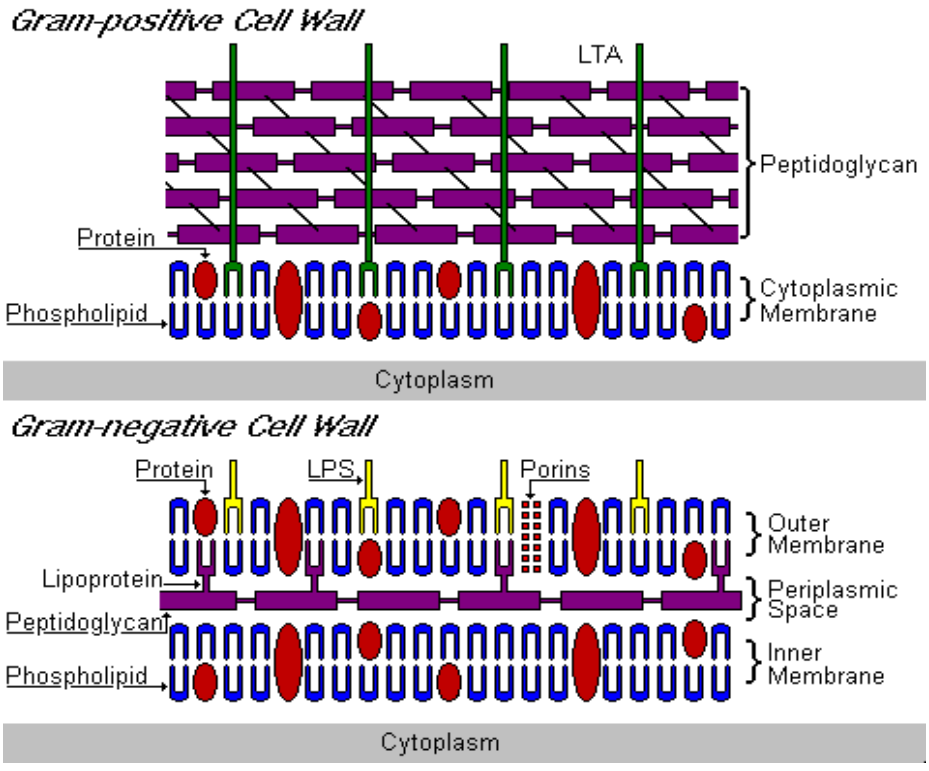
تحتوي الخلايا البكتيرية السالبة لجرام على طبقة رقيقة من مادة الببتيدوجليكان الشبكية التركيب والتي تسمح بنفاذ هذا المركب المعقد الذائب إلى خارج الخلية عند الغسيل بالكحول فتصبح الخلايا السالبة لصبغة جرام شفافة في نهاية الغسيل بالكحول.

أما الخلايا الموجبة لصبغة لجرام والتي تحتوي على طبقة سميكة من مادة الببتيدوجليكان والتي تضيق ثقوبها عند المعاملة بالكحول فإن الغسيل بالكحول لايسمح بخروج المركب المعقد من تلك الثقوب الضيقة، وبالتالي لاتؤدي عملية الغسيل بالكحول إلى إزالة المركب المعقد البنفسجي اللون.

2. تفسير كيميائي:

البكتيريا الموجبة لجرام تحتوي بالقرب من جدار خلاياها على ملح ماغنيسيوم وحامض نووي ريبوزي فإذا عوملت بصبغة الكريستال البنفسجي القاعدية واليود فإنه يتكون داخل الخلية مركب معقد كبير الحجم (هذا المركب لا يمكن استخلاصه بالكحول فتحتفظ البكتيريا بلون صبغة الكريستال البنفسجية).

أما البكتيريا السالبة لجرام فلا تحوي بجدرانها على هذا الملح وبذلك لا يتكون معقد فيسهل استخلاص الصبغة بالكحول، حينئذ تكون البكتيريا شفافة غير ملونة ولكي نراها تحت الميكروسكوب نصبغها بصبغة الصفرانين الحمراء



الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة و السالبة لجرام

طريقة العمل

1. تحضير الغشاء البكتيري:

(حتى نتمكن من صبغ الخلايا البكتيرية ودراسة أشكالها لابد من تحضير الغشاء البكتيري bacterial smear ثم تتبعها عملية الصبغ والفحص تحت الميكروسكوب.
وعند تحضير أي غشاء بكتيري تتبع الطرق التالية:
1- عقم إبرة loop بتمريره على لهب موقد بنزن حتى الاحمرار ثم تركه حتى تبرد.
2-بواسطة loop ضع قطرة من الماء المعقم في مركز شريحة زجاجية نظيفة ثم عقم الإبرة مرة أخرى واتركها حتى تبرد.
3- انقل قليلا من النمو البكتيري بواسطة loop المعقم إلى الشريحة ثم اخلطها مع الماء حتى تتكون عكارة خفيفة ثم انشرها حتى يتكون غشاء رقيق منتظم ثم اتركه يجف في الهواء (أو جففيه على ارتفاع 15 سم فوق اللهب).
4- ثبت الغشاء البكتيري بتمرير الشريحة على اللهب من 3 إلى 4 مرات وبعد هذه المرحلة يكون الغشاء البكتيري جاهزا للصبغ.)

2. نضيف صبغة الكرستال البنفسجي Crystal violet لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

3. نضيف اليود Iodine Solution لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف

4. نضيف الكحول Alcohol لمدة 20ثانية ثم تغسل بالماء (تيار خفيف) .

5. نضيف صبغة Safranin لمدة 30 ثانية ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

6. تجفف الشريحة ثم تفحص باستعمال العدسة الزيتية.

فحص حركة البكتيريا Motility of Bacteria

طريقة القطرة المعلقة Hanging Drop Method

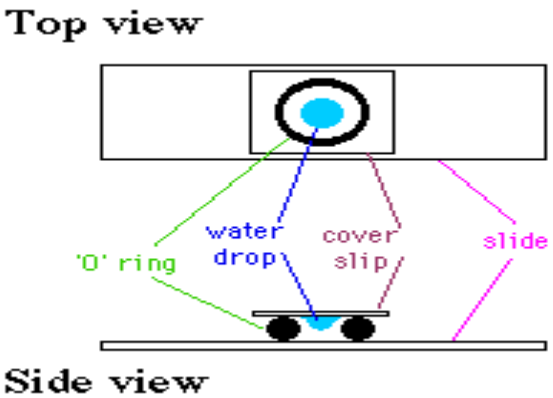
بعض البكتيريا تتحرك حركة حيوية حقيقية Vital movement في حين أن البعض الآخر لا يتحرك والحركة الحيوية تعزى لوجود الأسواط Flagella ويمكن دراسة حركة البكتيريا بالفحص المجهري لخلايا البكتيريا الحية غير المصبوغة بواسطة طريقة القطرة المعلقة Hanging Drop Methodويجب التمييز بين الحركة الحقيقية التقدمية وبين الحركة البراونية. Brownian movement

الادوات المستعملة في التجربة

- مزرعه نقية حديثة
- شمع البارافين وعود خشبي معقم
- شريحة مقعرة - depression slide
- غطاء الشريحه
- ابره ذات عقدة
- ادوات التعقيم
- مجهر ضوئي
- زيت السيدر

طريقة العمل:

1. ينقل بابرة التلقيح ذات العقدة نقطة صغيرة من المزرعة البكتيرية حديثة العمر نشطة النمو الى مركز غطاء شريحة نظيف.
2. يوضع في اركان الغطاء نقط صغيرة من الفازلين.
3. توضع الشريحة المقعرة فوق الغطاء ثم تقلب الشريحة باحتراس بحيث تكون النقطة المعلقة في منتصف التقعير بدون ملامسة قاع الشريحة.
4. توضع الشريحة على المجهر ويتم الفحص عند حافة القطرة مع مراعاة تقليل الاضاءة.



جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات
قسم وقاية النبات

المحاضرة التاسعة

مبادئ الأحياء المجهرية
الدرس العملي
البكتريا وأمراض النبات

مدرس المادة
ريان سالم الحيالي

نبذة تاريخية عن أمراض النبات البكتيرية

- اكتشفت البكتيريا كمسببات لأمراض النبات عام 1878 على يد العالم توماس بريل Thomas Burrill أستاذ النبات فى جامعة الينوى Illinois بالولايات المتحدة الأمريكية وهو أحد طلاب لويس باستير. فبينما كان يخدم فى سلك الإرشاد الزراعى لحل المشاكل المرضية انتشرت أعراض لفحة على أشجار الكمثرى سببت هلاك الاف الأشجار المنزرعة . وبمحاولاته المستمرة لمعرفة المسبب وتطبيق فروض كوخ أمكنة عزل بكتيريا من هذه الأشجار المصابة وبتنميتها فى مزرعة نقية مستخدماً نفس الأسلوب المتبع فى دراسة البكتيريا الممرضة للإنسان والحيوان والتى تعلمها على يد أستاذه لويس باستير أمكنه إثبات ان المسبب المرضى هو نفس البكتيريا المعزولة .

1- البكتيريا وأمراض النبات

- يهاجم النباتات حوالى مائتى نوعاً من البكتيريا مسببة أمراضاً نباتية. والبكتيريا كائنات اختيارية التطفل أى أنها تعيش معيشة رمية فى العادة ، وعند وجود العائل النباتى المناسب فإنها تصيبه وتعيش عليه معيشة طفيلية .
- ومن الناحية الوراثية فهى كائنات دقيقة تحتوى على نواة بدائية غير مميزة تتبع مملكة الكائنات ذات النواه البدائية ProKaryotae حيث تحتوى الخلية البكتيرية على كروموسم حلقى ، ولا يوجد غشاء نووى أو أجسام داخلية تقابل الميتوكوندريا أو الكلوروبلاست .
- تنقسم الخلية البكتيرية انقساما ثنائياً بسيطاً لتنتج فى فترة وجيزة عدداً هائلاً من الخلايا . وتنتشر الأمراض البكتيرية أينما توفرت الرطوبة المعتدلة والجو الدافئ . وغالباً ما تصيب معظم أنواع النباتات ، وتحت ظروف بيئية مناسبة لها قد تدمر المحصول كلية .

صفات البكتيريا المسببة لأمراض النبات

- تأخذ معظم البكتيريا المسببة لأمراض النبات الشكل العصوى ، ويشذ عن ذلك الجنس *Streptomyces* الخيطى الشكل. يتراوح حجم البكتيريا العصوية فى المزارع الحديثة بين 0.6–3.5 ميكروميتر طولاً ، 0.5 . 1 ميكروميتر قطراً . وفى المزارع القديمة أو عند درجات الحرارة العالية قد تظهر بعض أنواع البكتيريا العصوية أكثر طولاً ، وأحياناً تظهر فى شكل خيطى ، تنقسم بعض البكتيريا العصوية منتجة أشكالاً X أو Y أو أشكالاً متشعبة . كذلك قد توجد البكتيريا فى أزواج أو فى سلاسل قصيرة .

  يحاط الجدار الخلوى للبكتيريا فى معظم الأجناس بطبقة هلامية قد يكون رقيقاً ويسمى Slime Layer أو سميكاً ويسمى بالغلاف . Capsule

- تحتوى معظم البكتيريا الممرضة للنبات على واحد أو أكثر من أنواع أخرى من الـ Plasmids ليس لها صفات وراثية مميزة يطلق عليا اسم Cryptic Plasmids وهذه الأنواع عادة ما تكون أكثر استقرارا من الأنواع الأخرى حيث أن البكتيريا الممرضة للنبات لا تعيش فقط على الأنسجة النباتية بل تعيش أيضاً فى التربة وفى جسم الحشرات الناقلة وفى المياه وربما يكون لهذا النوع من البلازميدات قيمة فى حياة البكتيريا .

- ومن صفات هذه الوحدات الوراثية أنه يمكن التخلص منها دون أن تموت الخلايا البكتيرية وذلك بتنميتها على مضادات حيوية مثل Mitomycine أو بعض الصبغات المطفرة مثل Acridine Orange أو بتنميتها على درجة حرارة مرتفعة (35 - 40°م) أو بتنميتها على مركبات أخرى كمصدر وحيد للكربون كما فى تنمية سلالات البكتريا *Agrobaoterium tumefaciens* على أحماض أمينية غير عادية مثل Octopine & Nopaline .

- كما يلاحظ أن الـ Plasmids عندما يكون قادراً على الالتحام فى الكرموسوم والتناسخ معه يطلق عليه أسم Episome .

- تحتوى معظم البكتيريا المسببة لأمراض النبات على أسواط منتشرة على أجسامها وعادة ما تكون هذه الأسواط أطول من الخلية نفسها. تحتوى الخلية البكتيرية لبعض الأنواع على سوط واحد بينما يحتوى البعض الأخر على خصلة من الأسواط فى طرف من الخلية ، أو قد تحتوى على سوط واحد أو خصلة أسواط عند كل طرف وقد تتوزع الأسواط على كل السطح الخلوى

- تتكون خلايا أنواع الجنس Streptomyces من خيوط متفرعة غير مقسمة قد تأخذ فى مجموعها شكلاً لولبياً وتنتج الجراثيم الكونيدية فى سلاسل محمولة على هيفات هوائية .

- يمثل الغلاف Envelope أهمية كبيرة فى إحداث القدرة المرضية حيث تتعرف البكتيريا على العائل المناسب لها عن طريق التفاعل بين الجدار الخلوى له وعديدات التسكر Polysaccharides ، الليبوبولى سكريدز Lipopolysaccharides للبكتيريا ومن ناحية أخرى فإن كل من التركيب الخارجى والداخلى للبكتيريا يلعبوا دوراً أساسياً فى عملية تقسيم البكتيريا .

- وتحتوى الخلايا البكتيرية على وحدات وراثية صغيرة قادرة على التناسخ التلقائى وتوريث صفاتها تسمى Plasmids تتركب من وحدات DNA حلقية فى وضع متكافئ Covalent ذات وزن 200 kb - وهذه تحمل صفات وراثية محدده مثل Sex Factors . إنتاج البكتريوسين . استخدام مواد غذائية غير عادية . المكافحة للعقاقير . المكافحة للفاج . المكافحة للأشعة فوق البنفسجية UV . القدرة المرضية إلا أن هذه الوحدات لا تحمل العناصر الرئيسية اللازمة لحياه البكتيريا .

- تظهر البكتيريا عند فحصها ميكروسكوبياً شفافة ذات لون أبيض يميل للاصفرار وعادة ما يصعب مشاهدة التفاصيل الداخلية للخلايا بالمجهر العادى .

أين تتواجد البكتيريا الممرضة للنبات وكيف تنتشر ؟

تعيش معظم البكتيريا الممرضة للنبات فى أنسجة النبات المصابة ، وأحيانا كمترممات فى التربة . تتباين الأنواع المختلفة من البكتيريا فى درجة انتشارها تحت الظروف البيئية المتماثلة فمثلاً بعض البكتيريات مثل *Erwinia amylovora* التى تسبب مرض اللفحة النارية فى الكمثرى تتكاثر فى أنسجة العائل بينما يقل تعدادها فى التربة بسرعة كبيرة . وبذلك فلا تساهم التربة فى انتشار المرض من موسم لآخر، وتعتمد فى انتشارها على الحشرات غالباً، فربما أن طبيعة تواجد البكتيريا الدائم فى أنسجة النبات وفى الأجزاء الخضرية وفى الجذور قد أفقدها القدرة على المعيشة فى التربة . وفى بعض البكتيريات الأخرى مثل البكتيرة *Agrobacterium tumefaciens* التى تسبب مرض التدرن التاجى فإنها تتكاثر فى أنسجة العائل ولكن تعدادها يقل عندما تتحرر فى التربة ، فإذا نما عائل قابل للإصابة فى مثل هذه التربة فإن تعداد البكتيرة يزداد فيها نتيجة العدوى . وفى بعض البكتيريا الأخرى من اجناس *Erwinia* و *Pseudomonas* يتزايد تعدادها فى التربة .

عندما تتواجد البكتيريا فى التربة فغالباً ما تعيش على الأنسجة النباتية ، وقليلاً ما تعيش مترممة أو على إفرازاتها التى تحميها من العوامل الغير ملائمة لها . ويمكن للبكتيريا ايضاً ان تعيش فى أو على البذور أو فى أجزاء نباتية أخرى أو فى الحشرات .... الخ .

قد تعيش البكتيريا سطحياً فى البراعم والجروح Epiphytically أو داخل الأنسجة النباتية دون احداث ضرراً لها . تنتشر البكتيريا المسببة للأمراض النباتية من نبات لآخر أو من جزء على نفس النبات بواسطة المياه ـ الحشرات ـ الحيوان ـ الإنسان .

لا تلعب الأسواط الموجودة على أجسام بعض الأنواع البكتيرية دوراً هاماً فى انتقالها من مكان لآخر حيث انها لا تساعد إلا على الحركة لمسافات قصيرة جداً عندما تعتمد على نفسها فى الانتشار .

الطرق الرئيسية لانتشار أمراض النبات البكتيرية

تعمل مياه الأمطار على نشر البكتيريا من نبات لآخر على نفس النبات أو من التربة إلى الجزء السفلى من النبات كما تعمل مياه الرى على حمل البكتيريا إلى مناطق أخرى بعيدة حيث العوائل المناسبة ، أما عن الحشرات فلا يقتصر فعلها على حمل البكتيريا إلى النباتات ولكنها تعمل أيضاً اثناء تلقيح النباتات على نشر البكتيريا. وفى بعض الأحوال تعتمد البكتيريا الممرضة للنبات كلياً فى حياتها وانتشارها على الحشرات. وفى أحوال أخرى فأن الحشرات يكون لها دوراً هاماً ولكن غير أساسى فى عملية الانتشار . تعمل الطيور والقوارض التى تزور النباتات على حمل البكتيريا على أجسامها ، بينما يعمل الإنسان على نقلها من نبات لآخر اثناء تنقله وتعامله فى الحقل ، وكذلك يعمل على نقلها لمسافات بعيدة عن طريق نقل النباتات المصابة أو أجزاء منها أو بجلب مثل هذه النباتات المصابة إلى منطقته . وفى الأحوال التى تصاب فيها البذور فإن البكتيريا تكون محمولة على أو فى البذور حيث تنتقل إلى مسافات قصيرة أو بعيدة بإحدى وسائل النقل المختلفة .

كيف يمكن التعرف على البكتيريا الممرضة للنبات

يمكن عن طريق زراعة البكتيريا على بيئات خاصة التمييز بيم الأجناس المختلفة علماً بأن جنس Streptomyces يمكن تميزه بسهولة عن بقية الأجناس بتكوينة الميسيليوم المتفرع وكذلك الجراثيم الكونيدية التى يكونها . أما فيما يختص بالتمييز بين أجناس البكتيريا العصوية فهى عملية صعبة ومعقدة حيث لا تعتمد فقط على الصفات المرئية كالحجم والشكل والتركيب واللون ، بل تحتاج إلى دراسة صفاتها الكيماوية والأنتي جيينية ونشاطها الإنزيمى وطرق تغذيتها وقدرتها المرضية ودرجة اصابتها بالفيروسات البكتيرية ونموها على البيئات الاختيارية . فمن ناحية حجم وشكل البكتيريا . فأن هذه الصفة تختلف باختلاف عمر المزرعة وتركيبها ودرجة pH للبيئة ودرجة الحرارة وطريقة الصبغ، فتحت ظروف معينة يمكن الاعتماد إلى حد ما على شكل الخلايا وترتيبها فى التعرف على بعض الصفات . ويمكن الاستعانة أيضاً بوجود أو عدم وجود الأسواط وترتيبها على سطح الخلية وذلك بصبغ الأسواط بصبغة خاصة أو بواسطة الميكروسكوب الألكترونى .

- يمكن الكشف عن التركيب الكيميائى لبعض المركبات فى خلايا البكتيريا بواسطة بعض طرق الصبغ المتخصصة حيث تفيد هذه المعلومات فى المساعدة على التعرف على البكتيريا .

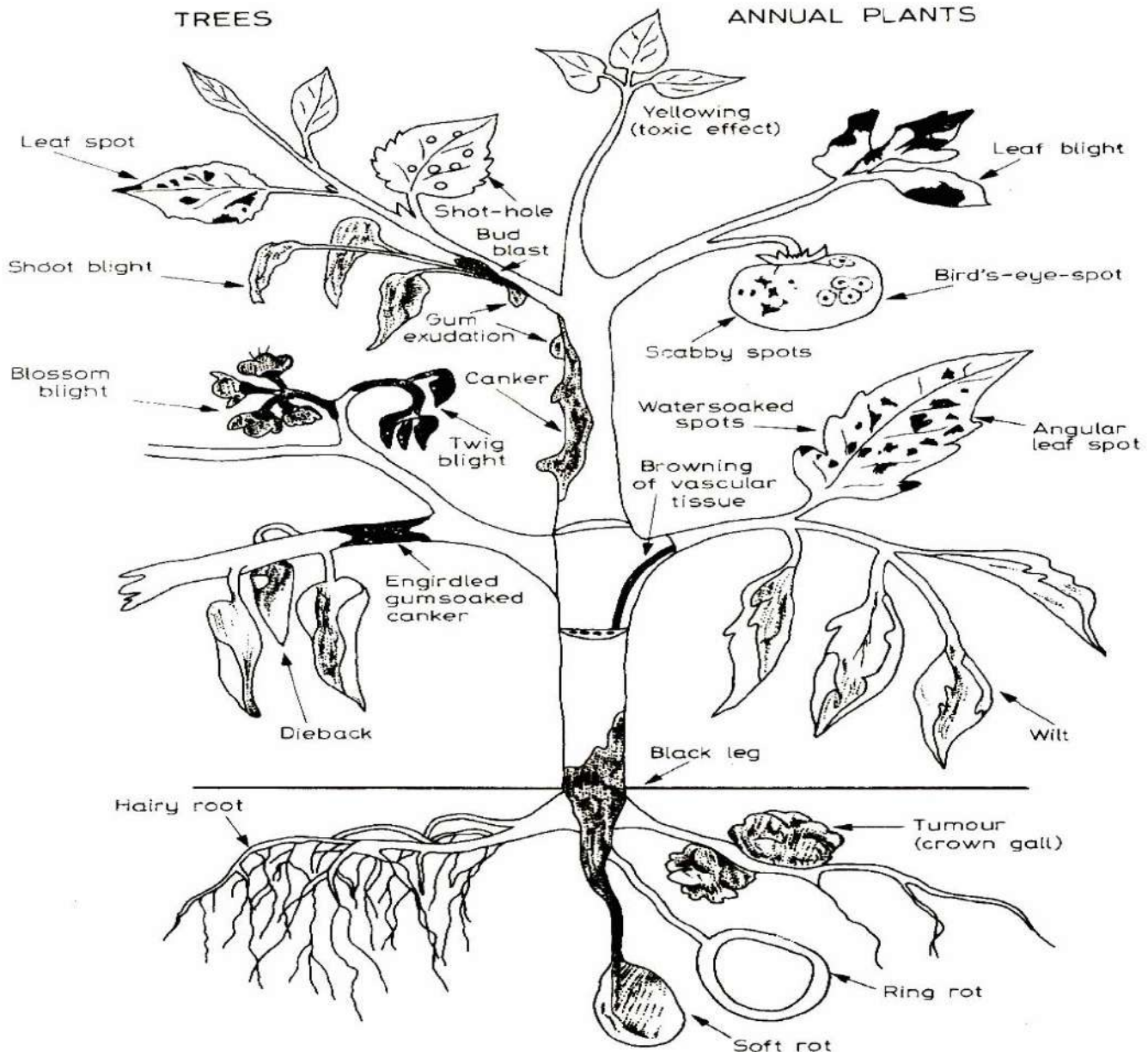
تساهم استجابة أو عدم استجابة الخلايا البكتيرية لصبغة الجرام فى التمييز بين البكتيريا ولتضعها فى مجموعتين موجبة أو سالبة لصبغة جرام .

أما بالنسبة لتغذية البكتيريا فيمكن منها الاستدلال على قدرة البكتيريا على استخدام أو عدم استخدام مركب معين كمادة غذائية. فالإنزيمات التى تفرزها البكتيريا خارجياً فى البيئة لتحليلها والتغذية عليها يمكن أن تتخذ كأحد الوسائل فى التعرف على البكتيريا .

الاعراض التى تسببها البكتيريا الممرضة للنبات

العرض	المسبب المرضى
1 - عفن طرى Soft rots	*Erwinia spp.* *Pseudomonas spp.* (فى بعض الاحيان)
ذبول (ذبول وعائى) : (Wilts(Vascular Diseases	*Xanthomonas spp.* *Corynebacterium spp.* *Erwinia spp.* *Pseudomonas spp.*
لـــفحات: Blights	*Erwinia spp.* *Pseudomonas spp.* *Xanthomonas spp.*
تـدرنات: Galls	*Agrobacterium spp.* *Pseudomonas spp.* *Corynebacterium spp.*
تبقعات (موت موضعى للأنسجة): (lesions Local)	*Pseudomonas spp.* *Xanthomonas spp.*
جـرب : Scabs	*Streptomyces spp.* *Pseudomonas spp.*

رسم تخطيطى يوضح الأعراض التى تسببها البكتيريا الممرضة للنبات

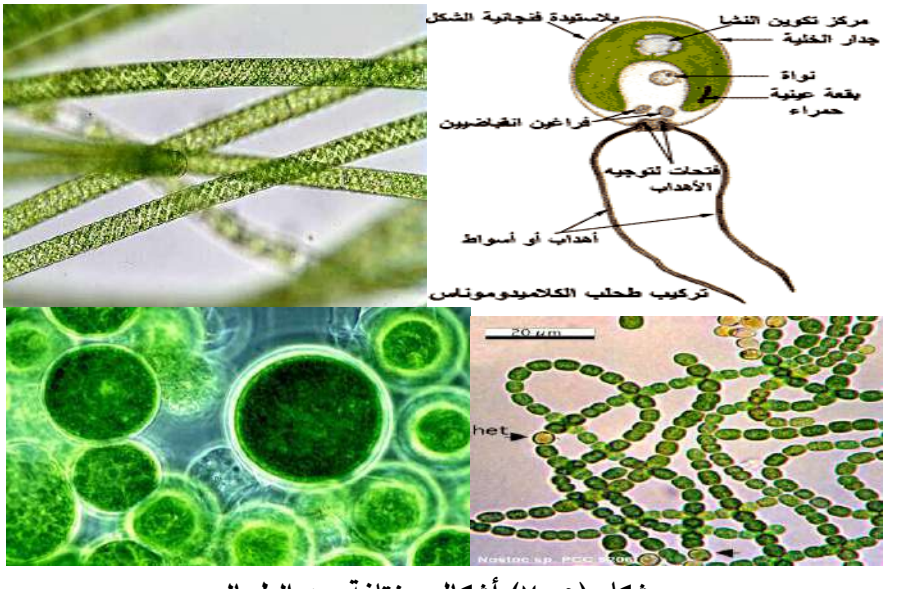


الطحالب Algae

الطحالب كما هو معروف كائنات تتميز باحتوائها على الكلوروفيل لذلك فهى تقوم بالتمثيل الضوئى وتشبه فى ذلك النباتات الراقية ونتيجة لقيامها بالتمثيل فإنها لا تحتاج فى غذائها إلى مصادر خارجية للكربون والطاقة ما دامت فى مناطق يتوفر فيها الضوء . وتختلف أحجام الطحالب اختلافا كبيراً فمنها ما هو وحيد الخلية ميكروسكوبى يماثل فى حجمه أحجام خلايا البكتريا بحيث لا يزيد أحجامها عن بضعة ميكروميترات ومنها ما هو كبير يصل طوله إلى عدة أقدام .والطحالب كائنات محبة للماء لذلك فهى تكثر فى الأوساط المائية والرطبة فهى توجد فى المياه العذبة والبحار والبحيرات والمستنقعات والبرك كما توجد على سطح التربة الرطبة وعلى الصخور الملامسة للمياه وعلى جذوع الأشجار فى المناطق الرطبة وعلى الحوائط الرطبة .

وأهم أقسام الطحالب ما يلى :

١-الطحالب الخضراء المزرقه Cyano – phyta وهذه الطحالب تتميز بأن تركيب خلاياها اقرب إلى البكتريا عن الطحالب الأخرى حيث أن خلاياها بدائية النواه لذلك فهى توضع مع البكتريا فى مملكة الـ Procaryotae وذلك فى التقسيمات الحديثة ويرجع اللون الأخضر المزرق إلى إحتواء هذه الطحالب على صبغات أخرى علاوة على الكلوروفيل وهذه الطحالب تتميز عن بقية الطحالب بعدم وجود بلاستيدات خضراء ولذلك فإن الكلوروفيل موزع فى السيتوبلازم .



شكل (٥-٧):أشكال مختلفة من الطحالب

٢-الطحالب الخضراء Chloro- phyta وهذا القسم يمثل أكبر أقسام الطحالب وأكثرها انتشارا وتضم أنواعا وحيدة الخلية وأنواعاً عديدة الخلايا خيطية .

٣- الطحالب الخضراء المصفرة (الذهبية) والدياتومات Chryso –phyta

ويرجع لونها إلى وجود صبغات أخرى علاوة على الكلوروفيل ، كما يضم هذا القسم الدياتومات وهى كائنات وحيده الخلية ولها هيكل خارجى مقوى بالسليكا النقية.

٤-الطحالب البنية Phaeo-phyta وتتميز هذه الطحالب بكبر حجمها ووضوح أنسجتها وقد يصل بعضها إلى ٢٠٠ متر ويرجع اللون البنى إلى وجود صبغات علاوة على الكلوروفيل وهى أحياء بحرية .

٥-الطحالب الحمراء Rhodo-phyta وهذه الطحالب تتميز أيضاً بكبر حجمها وإن كانت لا يصل إلى طول الطحالب البنية ، ويرجع لون الطحالب إلى صبغات أخرى علاوة على الكلوروفيل وأغلب الأنواع تعيش فى البحار.

أهمية الطحالب Importance of algae

١- نمو الطحالب على سطح التربة يزيد من نسبة المادة العضوية فيها .

٢- يساعد نمو الطحالب على سطح الصخور فى عملية التجوية Weathering .

٣- نمو الطحالب السريع فى البحار والمياه عموماً يعتبر الغذاء الأساسى للأسماك والأحياء البحرية وهناك ارتباط وثيق بين محتوى المياه من الطحالب وصلاحيتها كمصايد للأسماك .

٤- الطحالب الخضراء المزرقة تتضمن أنواعا عديدة قادرة على تثبيت النتروجين الجوى مما يزيد من محتوى التربة من النتروجين ولهذا أهمية خاصة فى المناطق الرطبة مثل المزروعة بمحصول الأرز وفى السنوات الأخيرة أجريت دراسات كثيرة على تلقيح أراضى الأرز بأنواع من هذه الطحالب ووجد أن التلقيح يزيد من المحصول ويوفر فى كميات السماد النيتروجينى.

٥- يؤدى موت الدياتومات بأعداد هائلة إلى تكوين ترسيبات من الطين الدياتومى وهو عبارة عن الهياكل السليكاتية لهذه الدياتومات بعد موتها وتستخدم هذه الرواسب فى صناعات كثيرة مثل صناعة مرشحات المياه كما يستخدم كمواد عازلة للحرارة المرتفعة فى أفران المعادن وتستخدم أيضا فى صناعة ألواح الصنفرة وغيرها .

٦- يستخرج اليود من بعض أنواع الطحالب البحرية وخصوصاً الطحالب البنية مثل اللامينارياا.

٧- بعض أنواع الطحالب البحرية الحمراء مثل *Gellidium* يستخرج منها مادة أجار أجار Agar agar التى تستخدم فى المزارع البكتيرية وفى الصناعات الغذائية .

٨- تستخدم الطحالب التى تلفظها البحار كسماد بعد غسلها من الأملاح .

٩- تستخدم الطحالب الحمراء كغذاء فى بعض مناطق جنوب شرق أسيا.

١٠ - نمو الطحالب الخضراء بكثرة فى أراضى الأرز غير مرغوب فيه وهو ما يطلق عليه اسم الريم وعادة ما يقاوم باستخدام كبريتات النحاس .

١١- نمو الطحالب فى خزانات المياه تسبب تغييرات فى لونها وطعمها ورائحتها مما يجعلها غير مرغوبة للاستخدام الأدمى .

١٢- تنمو الطحالب على غاطس السفن مما يزيد من تكلفة التشغيل حيث تقلل من سرعة السفينة لذلك يلزم إزالة هذا النمو دورياً ويعاد طلاء السفن بطلاء يحتوى على مركبات النحاس لتقليل نمو الطحالب وطبعاً هذه العمليات مكلفة.

الفصل الثانى

نمو وتكاثر البكتريا Growth and reproduction

جرى العرف على استعمال كلمة نمو Growth للدلالة على الزيادة فى الكتلة الخلوية Cell mass سواء أكان ذلك لخلية واحدة أو لمجموعة من الخلايا كالمستعمرة بينما تدل كلمة Reproduction على الزيادة فى عدد الخلايا Cell number نتيجة الانقسام إلا أنه فى الكائنات الدقيقة الوحيدة الخلية كالبكتريا فإن كلمة النمو تستعمل مرادفة لكلمة تكاثر ويقصد بها زيادة فى عدد الكائنات الحية الدقيقة.

يتأثر النمو البكتيرى بالظروف المحيطة به تأثراً كبيراً ومن أمثلة هذه الظروف العوامل الطبيعية مثل الحرارة والرطوبة والضوء والعوامل الكيماوية مثل توافر الغذاء القابل للتمثيل ووجود مواد سامة وكذلك العوامل البيولوجية مثل التنافس بين الكائنات التطفل المعيشة التعاونية مثل هذه العوامل التى تؤثر على درجة نمو وتأقلم الكائنات الحية يجب معرفتها ودراستها بكل دقة حتى يمكن التحكم فى معدل النمو لهذه الكائنات الحية الدقيقة بالزيادة أو النقصان حسب الحاجة.

التكاثر اللاجنسى للبكتريا Asexual reproduction

تتكاثر البكتريا الحقيقة لاجنسياً أى بطريقة لاتزاوجية تسمى طريقة الانقسام الثنائى البسيط Binary fission or Simple transverse fission.

وتتلخص عملية الانقسام هذه فى حدوث:

١- زيادة فى المحتويات البروتوبلازمية، نتيجة تكون مواد جديدة ويحدث زيادة فى طول الخلية.

٢- يتم انقسام المحتويات النووية (أو الكروموسوم البكتيرى) وتلعب انحناءات الغشاء السيتوبلازمى دوراً هاماً فى انفصال القسمين المنفصلين بطريقة معقدة كما أن الإنزيمات اللازمة لتخليق الأحماض النووية اللازمة لتكوين الكروموزوم الجديد تكون موجودة فى الغشاء السيتوبلازمى.

٣- يعقب ذلك تكون غشاء سيتوبلازمى عرضى Transverse septum ، بظهور بروزان جانبيان فى منطقتين متقابلتين يخرجان من السطح الداخلى للغشاء السيتوبلازمى

وينموان متقابلين فى اتجاه مركز الخلية على طول المحور العرضى ثم يلتحم هذان البروزان.

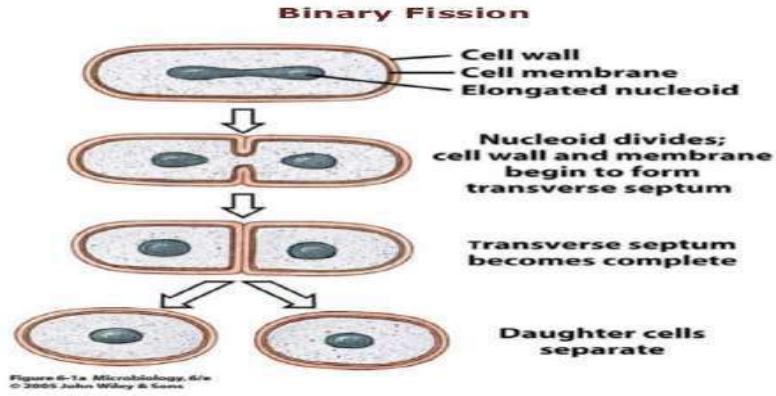
٤- ينشق الغشاء السيتوبلازمى إلى غشائين منفصلين نتيجة لتكوين جدار خلوى بينهما ويتكون هذا الجدار من الخارج إلى الداخل أيضاً.

٥- يعقب ذلك انشقاق الجدار الخلوى العرضى المتكون بدوره طولياً إلى قسمين.

٦- بذلك تصبح الخلية خليتين، والخليتان الجديدتان إما أن ينفصلا عن بعضهما مباشرة أو يحدث الانفصال بعد مدة، أو يظلا ملتصقين ليكونا سلسلة من الخلايا أو التجمعات حسب النوع.

الخلية الجديدة الناتجة تحمل الصفات الأصلية للخلية الأم ، كما أن النظام الوراثى للخلية هو الذى يتحكم فى عملية الانقسام.

وتتكاثر البكتريا غير الحقيقية بطرق أخرى بالإضافة إلى طريقة الانقسام الثنائى مثل التبرعم كما فى رتبة Hyphomicrobiales وتجزء الخيوط وتكون الكونيديا كما فى رتبة Actinomycetales.

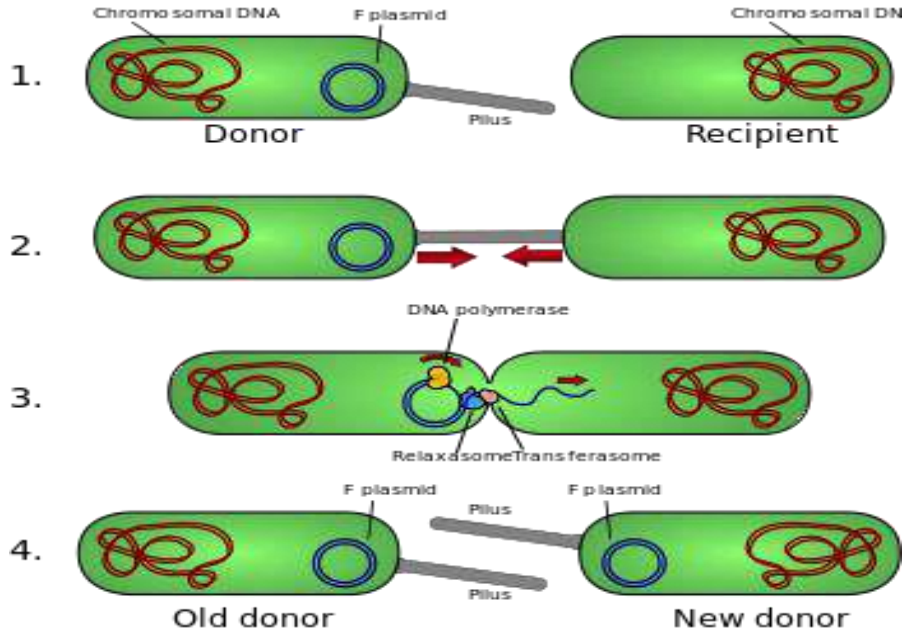


شكل (٢-١): خطوات الانقسام الثنائي فى البكتريا

التكاثر الجنسى Sexual reproduction

التكاثر اللاجنسى بطريقة الانقسام الثنائى البسيط هو الطريقة الشائعة لتكاثر البكتريا الحقيقية، ولقد أمكن حديثاً إثبات حدوث تكاثر جنسى فى البكتريا وذلك عن طريق مشاهدة انتقال صفات الأباء إلى الأجيال المتعاقبة، ويشترط لإظهار هذا الانتقال فى الصفات الوراثية استعمال آباء مختلفة فى واحد أو أكثر من الصفات الوراثية، وعند

زراعة اثنين من الطفرات المختلفة فى مزرعة واحدة معاً أمكن بعد فترة عزل بعض الخلايا الناتجة عن التكاثر الجنسى والتى تجمع بين صفات الأبوين المستعملين.



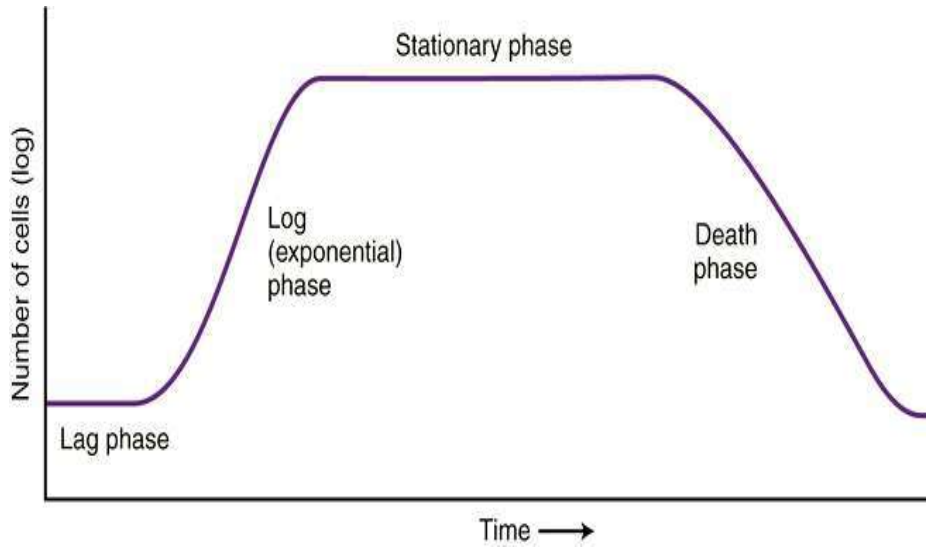
شكل(٢-٢):التكاثر الجنسي في البكتريا

وبذلك فقد أمكن وراثياً إثبات حدوث نوع من الالتحام أو التزاوج **conjugation** بين الخلايا والذى يعرف الأن بالتكاثر الجنسى ويمكن اعتبار أحد الخلايا الملتحمة موجبة والأخرى سالبة وعلى ذلك فإنه يمكن أن ينشأ عن طريق التكاثر الجنسى هجن جديده أما طبيعية أو نتيجة لتزاوج متحكم فيه مما يعطى أجيالاً لها خواص ذات أهمية.

منحنى النمو البكتيري Bacterial growth curve

إذا وضعت خلية واحدة من ميكروب *E. coli* فى بيئة غذائية ملائمة فإنها تنقسم لتصبح خليتين بعد ٢٠ دقيقة وتستمر الخلايا الناتجة فى الانقسام المتكرر وإذا استمر هذا المعدل فى التكاثر ثابتاً فإن الخلية الواحدة سوف تعطى مليار ميكروب بعد ١٠ ساعات.

وفى المزارع البكتيرية لا يحدث التكاثر بهذا الشكل السريع إلا فى فترة قصيرة فإذا ما لقحت بيئة معقمة كالبويون المغذى بميكروب ما وكانت الظروف مناسبة للنمو فإن معدل التكاثر Growth rate لا يكون ثابتاً ويحدث للميكروب تطورات مختلفة على مراحل ولو عمل منحنى يمثل معدل الزيادة فى عدد البكتريا مع الوقت فتظهر فيه الأطوار المختلفة من سرعة النمو والزيادة فى المعدل، ويسمى المنحنى الناتج منحنى النمو التالى:



الطور اللاجى(طور الركود)	Lag phase
طور النمو اللوغاريتمى	Exponential (Log) phase
الطور الثابت	Stationary phase
طور الهبوط	Decline phase

شكل (٢-٣): مراحل منحنى النمو فى البكتريا

الطور اللاجى Lag phase

عقب تلقيح البيئة الغذائية بالكائنات الحية الدقيقة فإنها تتوقف عن الانقسام لفترة ثم تبدأ فى الانقسام ولكن ببطء شديد ثم يسرع معدل الانقسام حتى يصل إلى درجة يثبت عليها.

وتعرف هذه الفترة من بدء التلقيح والتى تكون الخلايا متوقفة عن الانقسام أو بطيئة الانقسام جداً حتى تصل سرعة الانقسام إلى درجة ثابتة سريعة باسم الطور اللاجى أو طور التمهيدى، ورغم أن الخلايا لاتنقسم فى هذا الطور أو تنقسم ببطء شديد إلا أن عملية التخليق البروتوبلازمى بداخلها تكون مستمرة فتزداد البكتريا فى الحجم حتى تصل إلى ضعف أو ٣ أضعاف حجمها الأصلى ويزداد تنفسها وتمثيلها الغذائى ويظهر البروتوبلازم متجانساً حتى تختفى الحبيبات المخزنة منه، ومدة هذا الطور تطول أو تقصر تبعاً لعوامل كثيرة فتقصر مدة هذا الطور إذا كانت كمية اللقاح كبيرة وإذا كان اللقاح من خلايا صغيرة العمر نشطه وإذا كان الوسط الجديد مناسباً للنمو وإذا كان الوسط الجديد مشابهاً للوسط السابق التى كانت البكتريا الملقحة نامية فيه.

وعلى العكس تطول المدة اذا كانت كمية اللقاح قليلة أو من خلايا مسنه أو متجرثمة أو إذا كانت البيئة الجديدة تختلف عن تلك التى كان اللقاح نامياً بها ومن الأهمية بمكان معرفة العوامل التى تؤثر على طول أو قصر هذا الطور لأهمية ذلك فى الصناعات الغذائية والصناعات التخميرية وقد وضعت عدة تفسيرات لتفسير حدوث هذا الطور عند وضع الميكروب فى البيئة الجديدة منها:

١-أن الميكروب يلزمه بعض الوقت للتعود على البيئة الجديدة قبل أن يبدأ فى التكاثر السريع.

٢-يلزم الميكروب بعض الوقت لإحداث تغيرات معينه بالبيئة الجديدة بما يناسبه قبل أن يبدأ فى التكاثر، ومن أمثلة الاستفادة من إطالة الطور التمهيدي في الحياة العملية تبريد اللحوم فور ذبحها لحين استهلاكها و بذلك تبقي البكتريا الملوثة للحوم أطول فترة ممكنة في هذا الطور.

٢- الطور اللوغاريتمى Logarithmic phase

يسمى هذا الطور بهذا الاسم لأن معدل التكاثر فيه يكون لوغاريتمى، بمعنى أن رسم لوغاريتم العدد مع الزمن يكون خطاً مستقيماً وهذا الطور هو طور التكاثر السريع للميكروب، حيث تكون سرعة التكاثر أقصاها، ويكون عمر الجيل ثابتاً وهذا يحدده العوامل الوراثية والظروف البيئية السائدة.

فعند الظروف المناسبة يكون عمر الجيل ٢٠ دقيقة لبكتريا *E. coli* بينما يصل إلى عدة ساعات فى البكتريا التابعة لجنس *Mycobacterium* وفى هذا الطور تظهر الخلايا صغيرة الحجم، ويبقى البروتوبلازم متجانساً وقرب نهاية هذا الطور تظهر الحبيبات فى البروتوبلازم.

وطول مدة هذا الطور تتوقف على الظروف التى تؤثر على البكتريا فيصل لأقصاه عند توفر الغذاء وفى الصورة الملائمة وعند درجة الحرارة المثلى المناسبة وعدم حدوث تراكم كبير فى نواتج التمثيل الغذائى ويمكن إطالة هذا الطور بإضافة مواد غذائية جديدة إلى المزرعة ومعادلة المواد السامة الناتجة عن التمثيل الغذائى، وفى هذا الطور يمكن تقدير عدد الأجيال ويقدر طول عمر الأجيال عملياً بتلقيح البيئة بعدد من الخلايا ثم التحضين فى درجة حرارة مناسبة ثم يقدر عدد البكتريا وبمعرفة العدد فى البداية والعدد فى النهاية والمدة ما بين التقديرين يمكن معرفة عمر الجيل وعدد الأجيال.

ويستفاد عمليا من إطالة الطور اللوغاريتمي في أغراض كثيرة مثل إنتاج الخميرة وإنتاج البادئات مثل باديء بكتريا حامض اللاكتيك وكذلك في إنتاج اللقاحات البكتيرية التي تستخدم كمخصبات حيوية مثل لقاحات الريزوبيا والأزوتوباكتر والأزوسبيريللام والبكتريا المذيبة للفوسفات.

٣- الطور الثابت Stationary phase

عند نهاية الطور اللوغاريتمى يبطئ معدل التكاثر حتى يصبح عدد البكتريا فى المزرعة ثابت تقريباً، وبذلك تكون الخلايا الجديدة مساوية لعدد الخلايا الميتة، أى أن الخلايا تستمر فى نشاطها ولكن تكاثرها يكون بطيئاً هذا وتكون بعض الأنواع البكتيرية تركيبات مقاومة للظروف السيئة مثل الجراثيم الداخلية Endospores والتي يمكن أن تظل حية لمدة طويلة من الزمن وهذا يؤدي إلي طول فترة طور الثبات إلي وقت غير

محدد، ولكن هناك بعض الأنواع البكتيرية تموت فور وصولها إلي قمة النمو (نهاية الطور اللوغاريتمي) ومثال ذلك بكتريا *Neisseria meningitidis* التي تسبب الحمي الشوكية الوبائية بينما تمتاز أنواع أخري مثل ميكروب *E. coli* ببقائها في طور الثبات فترة طويلة إذا وجدت ظروف ملائمة، وفى هذا الطور تظهر الخلايا متجانسة الحجم والشكل، وتبدأ المواد المخزنة فى الظهور بوضوح فى الخلايا، كما تظهر الجراثيم فى الأنواع المتجرثمة، وحدوث هذا الطور وبالتالى عدم استمرار الطور اللوغاريتمى ينتج من نفاذ المواد المغذية وتراكم نواتج التمثيل الغذائى بدرجة تضر بالكائنات الحية الدقيقة وبزيادة أثر هذه العوامل الضارة يمكن أن ينتهى هذا الطور ويبدأ ما يسمى بطور الهبوط وبالتالى فإنه يمكن إطالة هذا الطور بإضافة مواد مغذية جديدة أو بمعادلة المواد التالفة أو جفاف المزرعة أو بالتخزين على درجة حرارة منخفضة لأن خفض درجة الحرارة يقلل سرعة التمثيل الغذائى، وكلما زادت الخلايا وكلما كانت الظروف غير ملائمة كلما قصرت فترة الطور الثابت.

ويستفاد من خاصية تخزين الكائنات الحية الدقيقة فى الطور الثابت على درجة حرارة منخفضة عملياً لفائدة منتجى وموزعى مزارع البكتريا العقدية، ومزارع البكتريا المستعملة كبادئات فى المنتجات اللبنية، وفى الخميرة المضغوطة وغيرها، إذ يجب الاحتفاظ بهذه الكائنات الحية الدقيقة فى الطور الثابت لأطول مدة ممكنة لحين استعمالها، وفى بداية هذا الطور تجرى الاختبارات البكتريولوجية على الميكروب بالفحص الميكروسكوبى مثلاً.

٤- طور الهبوط Decline phase

بعد الطور الثابت يزيد معدل موت الخلايا عن معدل تكاثرها، فيحدث تناقص مستمر فى عدد الخلايا، ويزداد معدل التناقص تدريجياً ويصبح معدل الموت لوغاريتمياً وهو عكس معدل النمو اللوغاريتمى المميز للطور اللوغاريتمى، وبعد طور الهبوط تموت كل الخلايا فى فترة تتراوح من عدة أيام إلى عدة سنوات حسب نوع البكتريا وبموت الخلايا فإنها تتحلل ذاتياً نتيجة لنشاط الإنزيمات الموجودة بها عقب موتها، فمثلا تموت مزارع *Diplococcus pneumoniae* المسبب للالتهاب الرئوي بسرعة فائقة وقد لا تحتوي المزرعة علي أية خلايا علي الإطلاق بمجرد مرور بضعة أيام علي دخول المزرعة طور

الممات في حين أن بكتريا *Mycobacterium tuberculosis* المسببة لمرض السل تموت ببطيء شديد خلال فترة تستمر لعدة شهور. وفى هذا الطور تظهر الخلايا بأشكال غريبة، غير منتظمة، غير متجانسة فى الحجم أو الشكل، ويرى التحبب فى البروتوبلازم واضحاً ، وتنفرد الجراثيم من الخلايا وتتحلل باقى الخلايا وإذا ما لقحت بيئة مناسبة للنمو بهذه الخلايا غير المتجانسة، فإنها تعيد دورة حياة الميكروب من جديد، وتظهر الصفات الثابتة للميكروب فى أوائل الطور الثابت.

تأثير الظروف البيئية على نمو البكتريا

نمو ونشاط الخلايا البكتيرية يتأثر بدرجة كبيرة بالظروف المحيطة بها، فإذا حدث أى تغير ملحوظ فى الظروف البيئية المحيطة بالبكتريا فسوف يؤدى إلى تغير مماثل فى الصفات المورفولوجية والفسيولوجية للخلايا البكتيرية، ومع ذلك فإن الخلايا البكتيرية تستطيع أن تتحمل بعض التغيرات وأن تتكيف معها إلى حد معين وفيما يلى بعض العوامل التى تؤثر على نمو ونشاط البكتريا.

أولاً: تأثير العوامل الطبيعية على البكتريا

١-الحرارة Temperature

تستطيع البكتريا أن تنمو فى نطاق محدد من درجات الحرارة يختلف من نوع إلى أخر، فمثلا *B . subtilis* تنمو بين٦ -٥٠ °م وبكتريا القولون *E. coli* من ١٠ - ٤٥ ° م، بينما هناك أنواع أخرى لها نطاق ضيق للنمو مثل ميكروب السل (٢٠ - ٤٠ °م). وبناء على ذلك فإن لكل نوع من البكتريا وأحياناً لكل سلالة ثلاث درجات حرارة تقع داخل هذا النطاق الحرارى وهى :

-درجة الحرارة الدنيا Minimum growth temperature وهى أقل درجة حرارة يمكن للميكروب أن ينمو عندها بحيث لو انخفضت عنها فإنه لا يستطيع النمو.

- درجة الحرارة المثلى Optimum growth temperature وهى أنسب درجة حرارة للنمو وعند هذه الدرجة يكون النمو سريعاً وكميته كبيرة، وعند هذه الدرجة تعمل الإنزيمات البكتيرية بأقصى طاقتها حيث أن تلك الدرجة تماثل درجة حرارة بيئتها الطبيعية التى تعيش فيها.

-درجة الحرارة القصوى Maximum growth temperature وهى أعلى درجة حرارة يمكن للميكروب أن ينمو عندها بحيث لو ارتفعت عنها لا ينمو الميكروب.

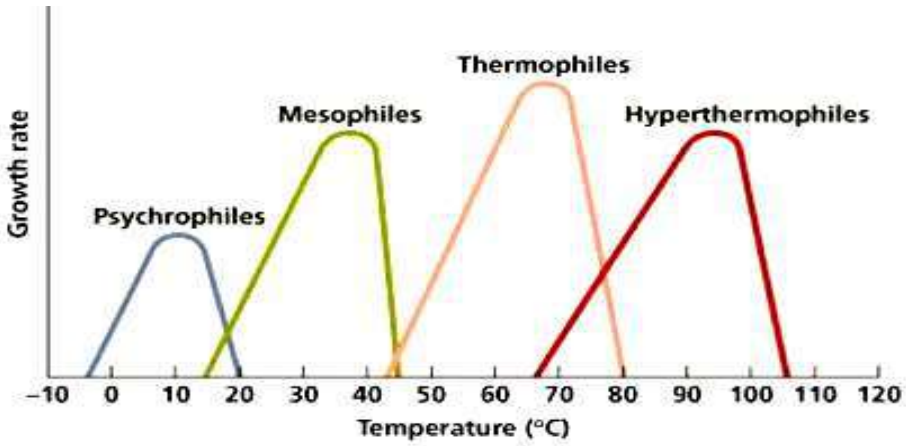
وعلى أساس درجة الحرارة المثلى تقسم البكتريا إلى ثلاثة أقسام :

أ-بكتريا محبه للحرارة المنخفضة Psychrophiles حيث يتراوح نطاقها الحرارى من صفر إلى مايقرب من ٣٠ ° م ودرجة حرارتها المثلى أقل من ١٥° م وتسمى محبة للبرودة إجبارا، ويجب أن نلاحظ أن هناك بعض البكتريا تستطيع النمو فى النطاق الحرارى للبكتريا المحبة لدرجات الحرارة المنخفضة إلا أن الدرجة المثلى لها تقع فى نطاق المحبة للحرارة

المتوسطة وفى هذه الحالة يطلق عليها محبة للبرودة اختيارا Facultative psychrophiles.

ب-بكتريا محبة للحرارة المتوسطة Mesophiles وهى التى لها نطاق من درجة الحرارة يتراوح ما بين ١٥ – ٤٥ ° م وينتمى إلى هذا القسم أغلب أنواع البكتريا مثل بكتريا التربة والماء والبكتريا المرضية ، وتعرف البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة والتى تستطيع خلاياها الخضرية أن تتحمل درجة حرارة البسترة العادية باسم البكتريا المقاومة للحرارة Thermoduric .

ج-بكتريا محبة للحرارة المرتفعة Thermophiles نطاق درجة حرارتها من ٤٥-٨٠ °م وتوجد طبيعياً فى النافورات الساخنة وفى السماد الصناعى وسماد الإسطبل وفى التربة أيضاً وفى الأغذية المعلبة المحفوظة بالحرارة حيث تؤدى هذه البكتريا إلى فساد هذه الأغذية مالم تبرد بسرعة بعد المعاملة الحرارية ، كما توجد بعض انواع من البكتريا يمكنها النمو على درجات حرارة عالية جدا ويتراوح نطاقها الحرارى من ٦٥ إلى أعلى من ١٠٠ درجة، يطلق عليها Hyperthermphiles.



شكل (٢-٤): معدلات نمو البكتريا تبعا لنطاقها الحرارى

تأثير الحرارة المنخفضة

عند انخفاض درجة الحرارة فإن التمثيل الغذائى للخلايا يقل بسرعة حتى يصل إلى حالة سكون عندما تنخفض درجة حرارة عن الدرجة الدنيا لنمو الميكروب، ويستفاد من ذلك فى حفظ المزارع البكتيرية، فإذا وصلت درجة الحرارة إلى التجمد فإن بعض الخلايا تموت

بطريقة ميكانيكية بسبب تمزيق بللورات الثلج المتكونة للخلية البكتيرية ولكن الكثير من الخلايا قد يتحمل التجميد لمدة طويلة ، ولذلك فإن التجميد لا يعتبر طريقه من طرق التعقيم ، ويتوقف تأثير التجميد على الخلايا البكتيرية على السرعة التى يتجمد بها الماء داخل الخلية وعلى ذلك فإن التجميد السريع أقل ضرراً من التجميد البطئ لأن الأخير يسبب تكون بللورات ثلجية كبيرة حادة تمزق الخلية بينما حالة التجميد السريع تؤدى إلى تكوين بللورات ثلجية صغيرة ذات شكل قطنى.

تأثير الحرارة المرتفعة

إذا ارتفعت درجة الحرارة عن الدرجة القصوى فإنه يحدث إتلاف للبروتين الإنزيمى والبروتين الخلوى مما يؤدى إلى موت الخلية البكتيرية ، وقد وجد أن معدل الموت يزداد لوغاريتميا بارتفاع درجة الحرارة ، والحرارة الرطبة أشد تأثيراً على الخلايا البكتيرية من الحرارة الجافة حيث أن الرطوبة تساعد على نفاذية الحرارة وبالتالى إلى سرعة إتلاف البروتينات وتجمعها Coagulation .

المقاومة الحرارية للجراثيم Thermal spore resistance

جراثيم البكتريا أكثر مقاومة للحرارة من الخلايا الخضرية ، ولذلك فإنه لايكتفى بالغليان لقتل الجراثيم بل يلزم استعمال درجة أعلى من ١٠٠ °م باستعمال أجهزة التعقيم المختلفة وتعود مقاومة الجراثيم البكتيرية لفعل الحرارة إلى أن درجات الجفاف العالية التي تتميز بها الجراثيم البكتيرية تجعلها أكثر مقاومة للحرارة المرتفعة كما أن الماء الموجود بالجراثيم وهو عادة قليل جدا يكون على حالة مرتبطة مع البروتينات مما يساعد على زيادة مقاومتها لفعل الحرارة .

التجفيد أو التجفيف بالتجميد Lyophilization

تحفظ المزارع البكتيرية لعدة شهور على درجة حرارة منخفضة بوضعها فى الثلاجة وحديثاً أمكن حفظها لمدد طويلة جداً تصل إلى عدة سنوات باستعمال طريقة التجفيد وهى طريقة تجمع ما بين التجميد والتجفيف وذلك بتجميد المزرعة تجميداً سريعاً بواسطة الثلج الجاف (CO_2 الصلب) ثم تجفيف المزرعة المتجمدة بالتسامى تحت تفريغ .

درجة الحرارة القاتلة Thermal death point

إذا ارتفعت درجة الحرارة عن الدرجة القصوى فإننا نصل إلى درجة الحرارة القاتلة وتعرف بأنها أقل درجة حرارة يقتل عندها الميكروب إذا عرض لها ١٠ دقائق ، على أن يكون الميكروب نامى فى مزرعة عمرها ٢٤ ساعة .

الوقت المميت Death time

وهو الوقت بالدقيقة اللازم لقتل الميكروبات الموجودة فى حجم معين عند درجة حرارة معينة ومعرفة درجات الحرارة القاتلة والوقت المميت للميكروبات له أهمية تطبيقية فى معاملة الأغذية المعلبة حرارياً بقصد حفظها من الفساد الميكروبى.

٢- الرطـــوبة Moisture

لما كانت البكتريا تتغذى بالانتشار الغشائى فإن الماء ضرورى لحياتها ليذيب المواد الغذائية اللازمة للخلية وليحمل المواد التالفة خارج الخلية وللمحافظة على رطوبة البروتوبلازم ، وكمية الرطوبة الحرة الموجودة بالبيئة هى التى تحدد مدى نشاطه وليست كمية الرطوبة الكلية التى تحتويها البيئة ، وذلك لأن البيئة قد يكون محتواها من الرطوبة عالى ولكنها توجد فى صورة غير حرة أو يكون الضغط الأسموزي مرتفع فى البيئة وحينئذ لا يستطيع الميكروب الاستفادة من هذه الرطوبة ويقف نموه ، ويمكن التعبير عن الرطوبة الحرة باستعمال تعبير النشاط المائى (ن م) Water activity وهو عبارة عن النسبة ما بين الضغط البخارى لمحلول بيئة البكتريا الغذائية وبين الضغط البخارى للمذيب (الماء) وبالنسبة للماء النقى فإن (ن م) = ١ والحد الأدنى من النشاط المائى (ن م) اللازم لنمو الكائنات الدقيقة يحدده عوامل عديدة متعلقة بالظروف البيئية النامى فيها الميكروب ونوع الميكروب النامى وعموماً فإن :

-الحد الأدنى من (ن م) اللازم لنمو البكتريا العادية هو ٠,٩١

-الحد الأدنى من (ن م) اللازم لنمو الخميرة العادية هو٠,٨٨

-الحد الأدنى من (ن م) اللازم لنمو الفطريات العادية هو ٠,٨١

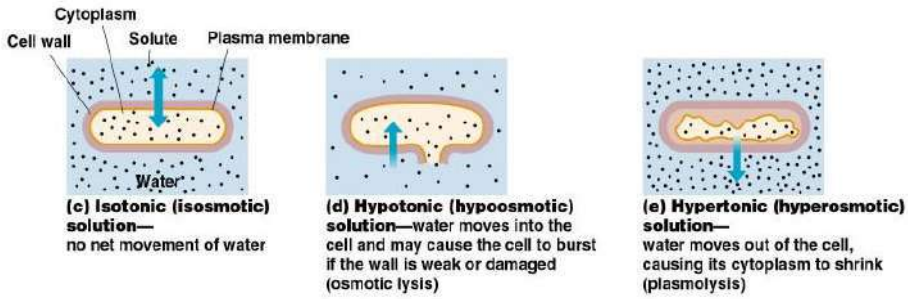
ومن هذه الأرقام يتضح أن البكتريا تحتاج إلى رطوبة حرة أكثر من الخميرة وتحتاج الخميرة إلى رطوبة حرة أكثر من الفطر ، وبصفة عامة فإنه يمكن اعتبار أنه إذا قل (ن م) عن ٠,٧ فإن معظم الكائنات الدقيقة تقف عن النمو ، وإذا قل مستوى الرطوبة

عن ١٠ – ١٥٪ فإن نمو الكائنات الدقيقة يحد إلى درجة كبيرة، لذلك يستعمل التجفيف فى حفظ كثير من الأغذية كما فى حالة الفواكه واللبن وبعض الأغذية الأخرى حيث تحفظ من الفساد لمدة طويلة لأنها جافة .

٣- الضغط الأسموزي Osmotic pressure

يؤثر الضغط الأسموزي تأثيرا مباشراً على سرعة واتجاه تيار الماء من البيئة إلى الميكروب وبالعكس وبذا يؤثر على مقدار استفادته من الرطوبة ، ويلاحظ أن درجة تأثر البكتريا بالضغط الأسموزي أقل من درجة تأثر الخلايا النباتية والحيوانية .

وتحتاج معظم الخلايا البكتيرية أثناء نموها إلى بيئات سوية الضغط الأسموزي Isotonic حيث أن المحاليل ناقصة الأسموزية Hypotonic تسبب انتفاخ الخلية Plasmoptysis نظرا لدخول الماء إليها بدرجة كبيرة ، أما المحاليل عالية الأسموزية Hypertonic تؤدى إلى توقف النمو نتيجة لحدوث تجفيف لبروتوبلازم الخلية نتيجة خروج الماء منها بدرجة كبيرة فينكمش البروتوبلازم مبتعدا عن جدار الخلية مسبباً حدوث بلزمة الخلية Plasmolysis، وتختلف البكتريا فى درجة تحملها للتركيزات الزائدة من الأملاح المختلفة على حسب نوع البكتريا ونوع الملح وتركيزه فى الوسط ، وقد وجد أن بعض البكتريا تتحمل تركيز ٢٥٪ ملح كما أن البكتريا المحبة للملوحة Halophiles تنمو على الجلود المملحة ويمكن عزلها من الأسماك المملحة ومن غيرها من المواد ذات التركيز المرتفع من ملح الطعام، وتستخدم خاصية الضغط الأسموزي فى حفظ الأغذية باستعمال محاليل ذات ضغط أسموزي مرتفع تعيق نمو البكتريا والخمائر والفطريات عن النمو مثل إضافة السكر إلى المربات وإضافة الملح إلى اللحوم والأسماك والمخللات وغيرها من الأغذية.



شكل (٢-٥): تأثير الضغط الأسموزي على الخلية البكتيرية

٤- الجفـــاف Desiccation

تختلـف مقاومــة البكتريـا الخضـرية للجفـاف فمـثلا ميكـروب السـل يعتبـر مـن الميكروبـات شـديدة المقاومـة للجفـاف وقد وجـد أنـه يتحمـل الجفـاف لمـدة ٩٠ يومـاً بينمـا ميكروب الكوليرا شديد الحساسية للجفاف حيث يتحمل الجفاف لمدة يومين فقط ، وقد وجد أن البكتريـا ذات العلبـة أكثـر مقاومـة للجفـاف عن مثيلاتهـا التـى ليس لهـا علبـة ، كمـا أن الجراثـيم البكتيريـة شـديدة المقاومــة للجفـاف ، فجراثيم ميكـروب الحمـى الفحميـة . *B anthraces* يمكـن أن تنبـت بعد حفظهـا علـى حالـة جافـة لمـدة عشرة سـنوات أو أكثـر، ويستعمل التجفيف فى حفظ كثير من الأغذية كما فـى حالـة الفواكـه واللبن وبعض الأغذيـة الأخرى حيث تحفظ من الفساد لمدة طويلة لأنها جافة.

٥- الاحتياجات الأكسجينية Oxygen requirements

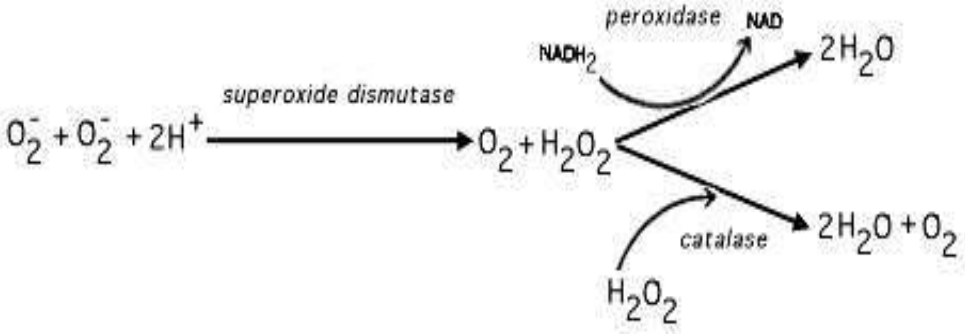
البكتريا قد تحتاج أو لاتحتـاج إلـى أكسـجين الهواء الجوى لمواصلة حياتها، وأثنـاء عمليـة التـنفس والتمثيـل الغذائى فـإن الأكسـجين يختـزل الـى شـقوق حـرة مؤكسـدة يمكنهـا تـدمير الخلية، ومن هذه الشقوق:

$O_2 + e^- = O_2^-$ (superoxide radical)

$O_2^- + e^- + 2H^+ = H_2O_2$ (hydrogen peroxide)

$H_2O_2 + e^- + H^+ = H_2O + OH^-$ (Hydroxyl radical)

لذلك إذا كانت البكتريا تستطيع النمو فـى وجود الأكسـجين فإنهـا لابد أن تمتلك الإنزيمـات التـى تحمى بها نفسـها مـن فعل تلك الشقوق ومـن هذه الانزيمـات الكتـاليز والبيروكسيديز وإنزيم Superoxide dismutase لأنها تتعامل مع الشقوق الحرة كالتالى:



وعلى هذا الأساس تقسم البكتريا تبعاً لحاجتها إلى الأكسجين وقدرتها على تحمله إلى أربعة أقسام:

أ-بكتريا هوائية إجبارية Obligate aerobes وهذه يلزم لنموها وتكاثرها توفر الأكسجين اللازم لأكسدة المادة العضوية وغير العضوية للحصول على الطاقة وإلا توقفت عن النمو ومن أمثلتها بعض الأنواع التابعة لأجناس*Bacillus , Pseudomonas* ، وهذا النوع يمتلك إنزيمات الكتاليز و Superoxide dismutase .

ب-بكتريا لا هوائية إجبارية Obligate anaerobes وهذه تنمو فقط فى غياب الأكسجين الجوى وتحصل على الطاقة اللازمة لها بتحويل المواد ذات الطاقة العالية إلى مواد ذات طاقة أقل أو باستخدام مواد محتوية على الأكسجين المرتبط (مثل النترات) لأكسدة المواد العضوية ، ومن أمثلتها جنس *Clostridium* وقد فسر الأثر الضار للأكسجين على نموها بما يلى :

- الأكسجين سام لها حيث يثبط النشاط الإنزيمى لها.
- عدم احتوائها على أي من الإنزيمات التى تحميها من فعل H2O2 .
- أن إنزيماتها تكون نشطة وهى فى الحالة المختزلة .

ج- بكتريا لاهوائية اختياريا Facultative anaerobes وهذه المجموعة من البكتريا تستطيع النمو فى وجود أو فى غياب الأكسجين الجوى ولكنها تفضل النمو فى وجود الأكسجين، وهى تستطيع تحمل الأكسجين لأنها تمتلك إنزيمات الكتاليز و Superoxide dismutase. ومن أمثلتها بكتريا القولون Coliform bacteria .

د-بكتريا متحملة للهواء Aerotolerant وهى تنمو فى وجود الاكسجين ولكنها تنمو أفضل فى عدم وجود الاكسجين، وتستطيع تحمل الأكسجين لأنها تمتلك إنزيمات البيروكسيديز و Superoxide dismutase.

هـ-بكتريا محبة للهواء بكمية قليلة Microaerophilic وهذه تنمو فى وجود كمية ضئيلة من الأكسجين ومن أمثلتها بعض الأنواع التابعة لجنس *Lactobacillus*.

The Effect of Oxygen on the Growth of Various Types of Bacteria					
	a. Obligate Aerobes	b. Facultative Anaerobes	c. Obligate Anaerobes	d. Aerotolerant Anaerobes	e. Micro-aerophiles
Effect of Oxygen on Growth	Only aerobic growth; oxygen required.	Both aerobic and anaerobic growth; greater growth in presence of oxygen.	Only anaerobic growth; ceases in presence of oxygen.	Only anaerobic growth; but continues in presence of oxygen.	Only aerobic growth; oxygen required in low concentration.
Bacterial Growth in Tube of Solid Growth Medium					
Explanation of Growth Patterns	Growth occurs only where high concentrations of oxygen have diffused into the medium.	Growth is best where most oxygen is present, but occurs throughout tube.	Growth occurs only where there is no oxygen.	Growth occurs evenly; oxygen has no effect.	Growth occurs only where a low concentration of oxygen has diffused into medium.
Explanation of Oxygen's Effects	Presence of enzymes catalase and superoxide dismutase (SOD) allows toxic forms of oxygen to be neutralized; can use oxygen.	Presence of enzymes catalase and SOD allows toxic forms of oxygen to be neutralized; can use oxygen.	Lacks enzymes to neutralize harmful forms of oxygen; cannot tolerate oxygen.	Presence of one enzyme, SOD, allows harmful forms of oxygen to be partially neutralized; tolerates oxygen.	Produce lethal amounts of toxic forms of oxygen if exposed to normal atmospheric oxygen.

شكل (٢-٦): الاحتياجات الأكسجينية للبكتريا

٦- تركيز أيون الأيدروجين pH

درجة تركيز أيون الأيدروجين بالبيئة يؤثر على نمو ونشاط البكتريا ، فالبيئات الشديدة الحموضة أو الشديدة القلوية توقف نمو الخلايا البكتيرية وقد تحدث تأثيرا ساما للخلايا نتيجة تجميع البروتين الإنزيمى بالخلية ، ومعظم الخلايا البكتيرية تفضل النمو فى وسط يقترب من التعادل (pH من ٦ - ٨) وهناك أنواع تفضل النمو فى وسط حامضى مثل بكتريا حامض اللاكتيك وهناك أنواع تتحمل الحموضة العالية Aciduric مثل بكتريا *Acidithiobacillus thiooxidans* التى تستطيع تحمل حموضة تصل إلى(pH ٢) وهناك بعض الأنواع التى تفضل النمو فى وسط قلوى (pH ٨,٥) مثل بكتريا اليوريا.

ولكل نوع من أنواع البكتريا ثلاث درجات حموضة :

- **درجة الحموضة الدنيا Minimum pH : وهى أقل درجة حموضة يحدث عندها نمو.**
- **درجة الحموضة المثلى Optimum pH: وهى أنسب درجة حموضة للنمو .**
- **درجة الحموضة القصوى Maximum pH: وهى أعلى درجة حموضة يحدث عندها نمو.**

٧- تأثير الضوء والأشعة على البكتريا

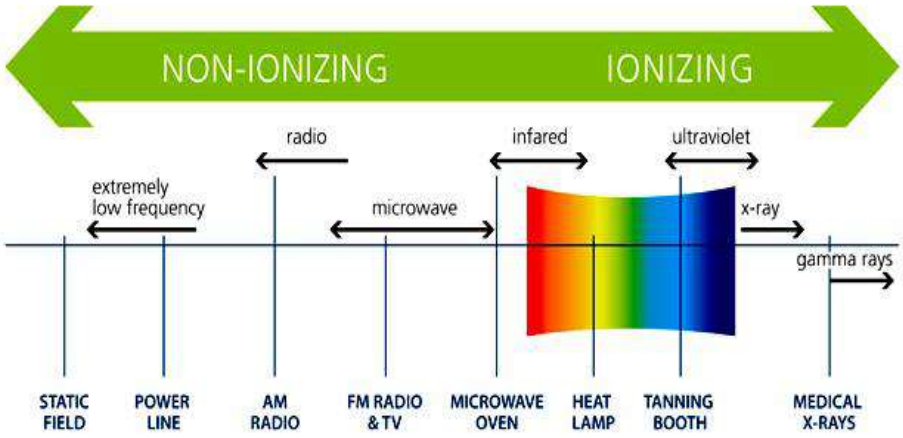
السيانوبكتريا وكذلك بكتريا الكبريت الخضراء والأرجوانية تتطلب وجود الضوء لكى تنمو بسبب وجود الكلوروفيل البكتيرى الذى يمتص الضوء وبذلك تحول الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية عن طريق التمثيل الضوئى ، أما أغلب البكتريا فلا تحتوى على هذه المادة وبالتالى ليس لها القدرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة وبذلك يكون الضوء أو الأشعة عديمة الفائدة لها أو يكون لها تأثير ضار .

ونفاذ الأشعة داخل الخلية يتناسب عكسياً مع طول الموجة حيث أنه كلما قصر طول الموجة كلما أصبحت أكثر نفاذية وأشد قتلا .

- **فالأشعة الحرارية كالأشعة تحت الحمراء Infrared طول موجتها ١٢٠٠٠انجستروم ذات موجات طويلة ولها طاقة غير قادرة على أحداث تفاعل كيميائى ولذا فإنها تتحول سريعا إلى حرارة ، وتأثيرها المباشر على البكتريا قليل.**
- **أما الأشعة التى طول موجتها من ١٣٨ أنجستروم إلى ٩٠ أنجستروم هى الأشعة فوق البنفسجية Ultra violet وهى أشعة غير مؤينة فإنها ذات موجات أقصر وذبذبة أعلى تحتوى على طاقة تكفى لإحداث تفاعل كيميائى .**
- **أما الأشعة المؤينة ذات الموجة الأقل من ١٣٨انجستروم ومنها أشعة إكس ،وأشعة جاما فإنها ذات موجات قصيرة والطاقة المنبعثة منها كبيرة جدا لدرجة أن الجزيئات التى تتعرض لها تتأين ولذا سميت مؤينة .**

والتعقيم باستخدام الأشعة يسمى التعقيم البارد Cold sterilization لأنه يحدث بدون رفع درجة الحرارة ، ويرجع التأثير القاتل للأشعة على الميكروبات إلى أن الطاقة الإشعاعية الممتصة تحدث تغيير فى التركيب الجزيئى لمكونات الخلية خاصة الإنزيمات والمحتويات النووية ويسمى هذا التأثير المباشر وقد يرجع التأثير إلى أحداث تفاعلات كيميائية تكون نواتج تسبب إفساد جزيئات السيتوبلازم والأجسام النووية بالخلية ويسمى هذا التأثير بالتأثير غير المباشر .

ويستفاد عملياً من تأثير الأشعة فوق البنفسجية القاتل على الكائنات الدقيقة فى تعقيم الأماكن كالمستشفيات والتعقيم الجزئى لبعض الأطعمة كاللحوم والفطائر وفى مصانع الألبان كالزجاجات والأوعية وذلك باستخدام لمبات خاصة.



شكل(٢-٧): أنواع الأشعة

ثانياً : تأثير العوامل الكيميائية على نمو البكتريا

لا يمكن إيجاد مبيد كيميائى واحد يستخدم لجميع الأغراض وعموماً فإنه يمكن تقسيم المواد الكيميائية من حيث أثرها على الميكروبات إلى :

-Microbicide وهى مواد قاتلة للميكروبات.

-Microbistatic وهى مواد موقفة للنمو.

-Antiseptic (مطهرة) وهى توقف نمو بعض أنواع الميكروبات وتقتل البعض الأخر

وليس هناك حد فاصل بين هذه التأثيرات الثلاثة للمواد الكيميائية ، فالمادة الكيميائية قد يكون لها فى تركيز معين تأثير موقف للنمو وفى تركيز أخر تأثير قاتل للميكروبات. ومن أمثلة هذه المجاميع التى تستعمل خارجياً فى التطهير أو الإبادة ما يلى :

١- الصابون والمنظفات الأخرى Soap and other detergents

الصابون عبارة عن أملاح الصوديوم أو البوتاسيوم للأحماض الدهنية وهو يعتبر من المطهرات متوسطة القوة ، ويعتمد تأثير الصابون على الإزالة الميكانيكية للكائنات الدقيقة من على السطوح التى تغسل به مثل الأيدى والملابس والأرضيات ، كما أنه يقلل من التوتر السطحى للماء ويجعله أقدر على التغلغل فى الأشياء المغسولة وبذا يستطيع الماء أن يبلل الأشياء بسهولة ويصبح أكثر قدرة على التنظيف، هذا علاوة على قدرة الصابون على إزالة الزيوت والمواد الملوثة الأخرى وإحداثه لتفاعل قلوى.

٢- القلـــويات Alkalines

يرجع تأثير هذه المواد إلى أيون OH^- الناتج من تأينها فى المحلول ، وبذلك يصبح المحلول قلوى غير مناسب لنمو الميكروب ، والمحاليل شديدة القلوية تؤدى إلى إذابة الخلية البكتيرية وقتلها ، ومن الملاحظ أنه كلما كان القلوى أكثر تأينا كلما كان أشد تأثيرا على الميكروبات فمثلا KOH أكثر تأثيراً من NH_4 OH حيث أن الأول يتأين بدرجة أكبر من الثانى ويشذ عن ذلك $Ba(OH)_2$ فرغم أنه أقل تأيناً من KOH إلا أنه أكثر إهلاكاً للميكروبات ، ويعود ذلك التأثير الإضافى المهلك لأيون الباريوم ،ويستعمل كثيراً NaOH كمادة منظفة فى مصانع الألبان فى تطهير الأجزاء المطاطية من ألة الحليب الميكانيكية بنسبة ٠,٣ – ٠,٥٪.

٣- الأحمـــاض Acids

يرجع التأثير القاتل للأحماض المعدنية إلى انفراد أيون H^+ عند تأينها فى المحاليل المائية وتتناسب قوة الأحماض القاتلة تناسباً طردياً مع درجة تركيز أيون الأيدروجين حيث أن كمية قليلة منه تعتبر مطهرة بينما الكميات الكبيرة فإنها تعتبر قاتلة، والأحماض المعدنية أشد قتلا للميكروبات من الأحماض العضوية وبالرغم من قدرتها القاتلة العالية جدا إلا أن استعمالها محدود وذلك لتأثيرها الضار على الجلد والأنسجة والمعادن والمنسوجات والأدوات المختلفة .

٤- الكحولات Alcohols

الكحولات من المطهرات متوسطة القوة، أهمها كحول الإيثانول (C_2H_5OH) وله تأثير قاتل إذا أستعمل بتركيز ٥٠-٧٠٪ حيث يؤدى إلى تجمع البروتين المكون لبروتوبلازم الخلية ، وهذا التفاعل يتم فى وجود تركيز معين من الماء والكحول، وهذا يفسر بأنه باستعمال تركيزات أقل أو أعلى من النسب السابقة فإن القوة القاتلة للكحول تقل بالتدريج حتى تنعدم والإيثانول شائع الاستعمال فى تطهير الجلد، وقدرة الإيثانول المطهرة أعلى من الميثانول علاوة على أن الأخير يندر استعماله كمطهر لأنه سام ومهيج للعين ، ومن المعروف أن للجلسرين فاعلية كبيرة كعامل مطهر إذا أستعمل فى صورة مركزة ويعود ذلك إلى قدرته على انتزاع الماء من الخلايا الميكروبية أى أن له تأثير تجفيفى Dehydrating effect .

٥- المواد المؤكسدة Oxidizing agents

يعود التأثير القاتل لهذه المواد إلى عملية الأكسدة التى تحدثها حيث أنها تستطيع أن تنتج أكسجين حديث التولد والأكسجين الحديث الناتج يستطيع أن يتحد بالمكونات العضوية للخلية فيوقف نشاطها وقد رتبت بعض المواد المؤكسدة تبعاً لتأثيرها القاتل:

$HNO_3 > HCr_2O_7$ (حمض الديكروميك) $> HMnO_4$ (حمض البرمنجنيك) $> Cl_2$ أما الهالوجينات فترتب كالأتي : الفلور > الكلور > البروم > اليود أى أن اليود أضعفها.

أ- الكلور ومركباته : الكلور ومركباته من أكثر المواد استعمالاً فى قتل الميكروبات، وعند إضافة الكلور إلى الماء يحدث التفاعل الأتى :

$$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HOCl \quad \text{Hypochlorous acid}$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O \quad \text{Nascent Oxygen}$$

وعلى ذلك يؤثر غاز الكلور على الميكروبات بطريقتين :

١- بالأكسدة بالأكسجين حديث التولد الذى يتكون عند تفاعل غاز الكلور مع الماء.

٢- بالتفاعل المباشر حيث يتفاعل الكلور مباشرة مع بروتين الخلية ويتحد معها بعملية تسمى Chlorination وبذلك يوقف نشاط الخلية .

ويستعمل غاز الكلور المضغوط إلى سائل ، فى تعقيم مياه الشرب ، وهو يضاف بكميات تتراوح مابين ٢- ٣ جزء فى المليون ويحتاج الأمر إلى زيادة التركيز فى حالة وجود عدد كبير من الكائنات الدقيقة أو الممرضة أو مواد عضوية، لأن تأثير الكلور ومركباته يقل كثيراً فى وجود المواد العضوية خاصة البروتينات حيث أن الكلور يتحد بها فيقل تأثيره.

ب- اليود ومركباته Iodine and its compounds

يؤدى اليود فعله السام باتحاده مع البروتين الإنزيمى فى الخلية ، إذ أنه عامل مؤكسد وبالرغم من أن لليود أثر سام إذا ابتلع ومهيجاً للأنسجة الحية الرقيقة إلا أنه من أوسع المواد انتشارا كمطهر للجلد ويستعمل فى تطهير التسلخات وفى تطهير مواضع العمليات الجراحية قبل إجرائها ، والتلوثات السطحية فى جسم الإنسان والحيوان، ويستخدم اليود عادة فى صورة صبغة يود بتركيز ٢٪ وهذه تحضر بإذابة ٢٠ جم يود فى ٥٠٠ سم٣

ماء سبق أن أذيب فيها ٥٠ جم من يوديد الصوديوم ثم يخفف الحجم إلى لتر بإضافة كحول ٩٥٪.

جـ – الفلـور : أشد الهالوجينات فتكاً بالميكروبات وتضيف بعض الدول الفلوريد إلى ماء الشرب بنسبة ١ جزء فى المليون لتقليل تسوس الأسنان كما يضاف فلوريد الصوديوم إلى بعض معاجين الأسنان للوقاية من التسوس .

٦– المعادن الثقيلة وأملاحها Heavy metals and their salts

تحتاج بعض الكائنات الدقيقة إلى كميات ضئيلة جداً من المعادن الثقيلة لنموها لذلك فإن وجود هذه المعادن فى المحلول المائى للمزارع البكتيرية بكميات ضئيلة يكون له تأثير منشط ، أما إذا زاد تركيزها عن ذلك فيكون لها تأثير مطهر وإذا زادت النسبة كان لها تأثير قاتل ، والتأثير القاتل لأيونات المعادن الثقيلة راجع إلى تفاعلها مع بروتين الخلية وترسيبها له ، وعموماً فإنه بالنسبة لتأثير المعادن الثقيلة فإننا نلاحظ الأتى :

–المعادن الثقيلة أو مركباتها ذات تأثير سام على الكائنات الدقيقة وأكثر المعادن تأثيرا الزئبق ، الفضة ، النحاس .

– كلما كان تركيز المعدن أكبر كلما كان تأثيره السام أكبر .

– كاتيونات المعادن الثقيلة تأثيرها السام أكبر من تأثير كاتيونات المعادن الخفيفة فمثلا $AgCl_2$ تأثيره أكبر من $MgCl_2$.

– وجود البروتينات فى المحلول يقلل من التأثير السام لهذه المعادن نظراً لأنها غالباً ما تتحد مع البروتينات ، ومن أمثلة مركبات المعادن الثقيلة :

أ–مركبات الزئبق.

محلول كلوريد الزئبقيك ١/١٠٠٠ (السليمانى) كان يستعمل كثيراً فى تعقيم العقد الجذرية عند عزل بكتريا العقد الجذرية منها ، ونظراً لأن كلوريد الزئبقيك سام جداً للإنسان فإن استعماله فى التطهير أصبح محدود جدا غير أنه أمكن إنتاج مشتقات عضوية من الزئبق تمتاز بسميتها الضعيفة مع الاحتفاظ بمقدرتها فى التطهير والإبادة ، وذلك عن طريق خلط الزئبق بمركبات عضوية معقدة تتأين ببطء شديد جداً ومن أمثلة هذه المواد الميكروكروم Mercurochrome وهو يستعمل كمطهر للجلد والجروح بنسبة ٢٪ .

ب – مركبات الفضة

تستعمل أملاح الفضة بكثرة فى التطهير ، ومن أمثلة مركباتها المعدنية نترات الفضة التى تستعمل كقطرة للعيون (واحد فى الألف) وإن كان يعاب عليها غلو ثمنها وتأثيرها المهيج للأنسجة ، ومن مركبات الفضة العضوية الغروية الأرجيرول ، البروتاجول وهى عبارة عن بروتينات فضة وتمتاز بأن تأثيرها المهيج ضعيف ولذلك تستعمل بكثرة كمطهرات.

جـ – مركبات النحاس

تستخدم كبريتات النحاس بكثرة لقتل الميكروبات خاصة الطحالب ولذلك تضاف إلى مياه الشرب فى الخزانات والبحيرات وحمامات السباحة بنسبة ١ جزء فى المليون للتخلص من الطحالب كما يستعمل محلول بوردو (وهو يحتوى على كبريتات النحاس) لمقاومة الكثير من أمراض النبات الفطرية .

د– مركبات الزنك

تستعمل أملاح الزنك مثل أكسيد الزنك فى تحضير المراهم وقطرات العيون

٧– الفورمالدهيد Formaldehyde HCHO

هو مادة عديمة اللون صلبة وتتحول إلى أبخرة غازية بارتفاع درجة الحرارة، وتؤثر على الفطر أكثر من البكتريا كما أن تأثيرها على الخلايا الخضرية أكثر من تأثيرها على الجراثيم، ويستعمل محلول الفورمالين(٣٧–٤٠ ٪ فورمالدهيد) بالإضافة إلى قليل من الكحول) فى التطهير وهو مطهر قوى حتى فى وجود المادة العضوية، ويعتبر محلول ٠,١–٠,٥ ٪ فورمالدهيد موقف لنمو البكتريا، كما يستخدم محلول ٥–١٠٪ فى حفظ العينات النباتية والحيوانية، كذلك فإن الفورمالدهيد يستخدم فى تحويل التوكسين السام Toxin إلى توكسيد غير سام Toxoid الذى يحقن فى جسم الإنسان أو الحيوان لتكوين مضادات التوكسين.

٨–الفينـول Phenol C_6H_5OH

ينتج الفينول من نواتج التقطير الإتلافين للخشب والقار والفحم ، ويعتبر الفينول (حامض الكربوليك) المبيد الأساسى الذى تقارن به المبيدات الأخرى ، ويعود تأثيره القاتل إلى أنه يتفاعل مع بروتين الخلية .

ويستخدم الفينول كمادة قاتلة لتأثيره على الخلايا البكتيرية الخضرية والفطر ، غير أنه قليل التأثير بالنسبة للخلايا المتجرثمة والفيروسات ويضعف تأثيره فى وجود المواد العضوية لأنه يتحد معها كيميائياً وذلك فى وجود الدهون والزيوت .

والفينول كان شائع الاستعمال ولكن بسبب غلو ثمنه ورائحته النفاذة فضلا عن أثاره السامة ، فإن استعماله أصبح محدودا وإن كان ما زال شائع الاستعمال فى المستشفيات (رائحة المستشفى).

٩- الكريزول $CH_3 - C_6H_4OH$

الكريزول من مشتقات الفينول إلا أنه يتميز بشدة فاعليته وأن قوتة الإبادية كبيرة وهو يؤثر على نفس الأنواع من الكائنات الدقيقة التى يؤثر عليها الفينول ، والكريزولات تحتفظ بقوتها فى وجود المواد العضوية غير أنها مثل الفينول حيث أنها ضعيفة التأثير بالنسبة للجراثيم البكتيرية والفيروسات ، ويلاحظ أن الكريزول المستعمل هو عبارة عن أرثوروميتا وبارا كريزول ويطلق اسم الليزول Lysol على أحد مستحضرات الكريزول التجارية ونظراً لأن الكريزولات تتميز بقلة ذوبانها فى الماء فإنها تضاف إلى الصابون بالإضافة إلى كمية بسيطة من أحد القلويات التى تقوم بعملية التصبن.

١٠- المجاميع الكيميائية التى تستعمل داخلياً

من المجاميع الكيميائية التى تستعمل داخليا فى علاج الأمراض البكتيرية فى جسم العائل مركبات السلفانيلاميد والمضادات الحيوية ، ويشترط فى المواد التى تستعمل داخلياً كمواد علاجية Chemotherapeutic drugs ما يلى من المواصفات:

١- أن تكون قادرة على إبادة الطفيل أو إيقاف نشاطه دون الإضرار بخلايا العائل أو ما يسمى بالسمية الانتقائية.

٢- أن تكون على درجة عالية من الثبات بحيث لا تفسد من تأثير سوائل الجسم.

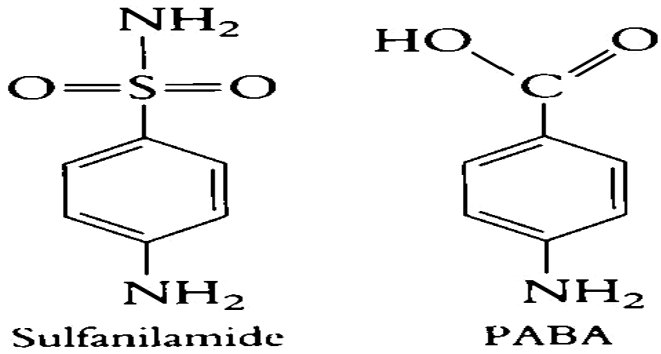
٣- أن لا تتداخل أو تؤثر على طرق جسم العائل الدفاعية مثل كرات الدم البيضاء.

ومن أهم هذه المواد ما يلى:

(أ) مركبات السلفا Sulfa drugs

وهى تعتبر من أول المركبات العضوية التركيبية التى استعملت داخليا فى علاج الأمراض البكتيرية بجسم العائل ومن أول المركبات التى اكتشفت

P-aminobenzenesulfonamide المعروف باسم السلفانيلاميد Sulfanilamide ومركبات السلفانيلاميد توقف نمو البكتريا دون أن تقتلها ، وبذلك تسهل لأجهزة المقاومة بالجسم مثل كرات الدم البيضاء والأجسام المضادة التخلص من الميكروب . وتأثير مركبات السلفانيلاميد على الميكروبات يعود إلى أنها تعتبر مواد تنافسية لحمض الباراأمينوبنزويك P-aminobenzoic acid الذى يدخل فى تركيب حمض الفوليك، حيث يتشابه تركيب هذا الحمض مع مركب السلفانيلاميد فتتحد السلفانيلاميد بانزيمات التمثيل الغذائى بدلا من الحمض المذكور وتسمى هذه الظاهرة التثبيط التنافسى Competitive inhibition .



شكل(٢- ٨):التركيب الكيميائي لمركبات السلفا

والتأثير التثبيطى لتلك المركبات تأثير عكسى أى أنه بإضافة المزيد من حمض الفوليك فإنه يمكن أن يقل أو يختفى التأثير الضار لمركبات السلفا.

(ب) المضادات الحيوية Antibiotics

هى عبارة عن مواد كيميائية عضوية تفرزها بعض الأحياء الدقيقة مثل البكتريا والفطريات كنواتج ثانوية لعملية التمثيل الغذائى التى تقوم بها وهذه المواد تستطيع بتركيزات ضئيلة قتل أو وقف نمو كائنات أخرى دقيقة.

ويرجع الفضل فى اكتشاف هذه المواد إلى العالم البريطانى Alexander Fleming سنة ١٩٢٩م الذى أكتشف البنسلين من الفطريات ثم توالت بعد ذلك الاكتشافات التى كان من أهمها ما قام به Selman Waksman ومساعدوه سنة ١٩٤٠ م من اكتشاف الإستربتوميسين من الأكتينوميستات ، ولقد أمكن بعد ذلك تحضير

الكثير من المضادات الحيوية بواسطة الميكروبات بحالة نقية كما أمكن تحضير بعضها بطرق تخليقية.

ونظراً للأهمية الكبيرة للمضادات الحيوية من حيث قيمتها العلاجية فقد ظهر العديد منها نتيجة للبحوث التى أجريت والتى مازالت مستمرة فى موضوع التضاد بين الميكروبات ، ويتجه البحث دائماً إلى اكتشاف مضادات جديدة ذات فاعلية عالية ضد الميكروبات خصوصاً تلك التى أصبحت لا تتأثر بالمضادات التى كانت شائعة الاستعمال ، نتيجة تكون طفرات جديدة مقاومة لها.

ويجب أن نعلم أن لجميع المضادات أثاراً سامة محدودة على الإنسان والحيوان ، علاوة على أن بعضها يسبب مشاكل من حيث حساسية بعض الأفراد لها كما أنها تسبب قتل الميكروفلورا النافعة الموجودة طبيعياً بالقناة الهضمية التى تقوم بتجهيز الفيتامينات اللازمة للجسم (مما يلزم إعطاء المريض كميات كافية من الفيتامينات خاصة التابعة لمجموعة B) كل هذا يؤكد ضرورة استعمال المضادات بحرص وتحت إشراف طبى .

وعموماً فإنه كلما كان المضاد المستعمل ذو مجال ميكروبى متسع Wide spectrum أى يؤثر على عدد كبير من الميكروبات مثل البكتريا الموجبة والسالبة لجرام والفيروسات والبكتريا الصامدة للأحماض كلما كانت له قيمة علاجية كبيرة وجارى الأن دراسة تأثير المضادات الحيوية فى حفظ الأغذية خاصة اللحوم والأسماك والدواجن.

ميكانيكية تأثير المضادات الحيوية علي الميكروبات

Mode of action of antibiotics

١-تفقد الغشاء السيتوبلازمي خاصية النفاذية الاختيارية وتجعله منفذ لكل شيء.

٢-تتفاعل مع بروتين الخلية الميكروبية و تحدث له تجمع Coagulation .

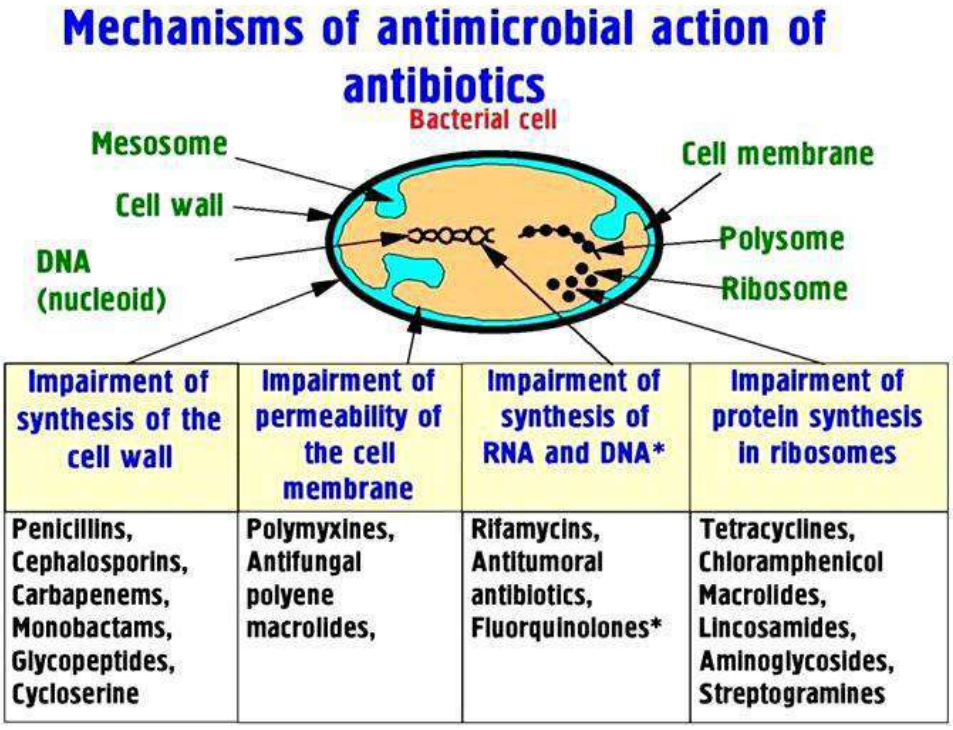
٣-تثبط بعض التفاعلات الأيضية للخلية الميكروبية مثل:

أ- تثبيط تخليق الجدار الخلوي مثل ما يحدث عند استخدام البنسلين.

ب- تثبيط عملية تخليق البروتين مثلما يحدث عند استخدام الإستربتوميسين.

ج- تثبيط عملية التنفس مثل ما يحدث عند استخدام الكلورامفينيكول.

د- تثبيط عملية تخليق الأحماض النووية مثلما يحدث عند استخدام التتراسيكلينات.



شكل (٢-٩):ميكانيكيات تأثير المضادات الحيوية

ومن الملاحظ أن كثيراً من البكتريا والإستربتوميسيتس والفطريات التى تنتج المضادات الحيوية تعيش جميعها بالتربة ويمكن عزلها منها للأغراض المختلفة .

وعموماً فإنه كلما كان المضاد المستعمل ذو مجال ميكروبى متسع Wide spectrum أى يؤثر على عدد كبير من الميكروبات مثل البكتريا الموجبة والسالبة لجرام والفيروسات والبكتريا الصامدة للأحماض كلما كانت له قيمة علاجية كبيرة وجارى الأن دراسة تأثير المضادات الحيوية فى حفظ الأغذية خاصة اللحوم والأسماك والدواجن.

مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية

تعود مقاومة الميكروب للمضاد الحيوى إلى عامل المقاومة الوراثى الموجود بالميكروب طبيعياً وتعرف بالمقاومة الطبيعية مثل إنتاج البكتريا لإنزيم البنسيلينيز الذى يحلل البنسلين، أو يكتسب الميكروب تلك المقاومة وتصبح مقاومة مكتسبة حيث يحدث للميكروب طفرة وينتج إنزيم البنسيلينيز وتسود تلك الطفرة وتتأقلم البكتريا وراثياً، ويصبح الميكروب مقاوم للمضاد الحيوى.

الفصل الثالث

التغذية في البكتريا Nutrition of bacteria

تختلف البكتريا فى احتياجاتها الغذائية، فمنها ما يحصل على الطاقة من عملية التمثيل الضوئى أو من أكسدة المواد الكيميائية البسيطة وتحصل على العناصر الغذائية من مواد بسيطة مشابهه فى ذلك للنبات، ولكن أغلبها يحصل على المواد الغذائية اللازمة لبناء أجسامها والحصول على الطاقة من مواد معقدة مثل الحيوان.

والبكتريا تحصل على المواد الغذائية بالانتشار الغشائى لذلك فلابد من أن تكون هذه المواد فى صورة ذائبة حتى تمر خلال الغشاء السيتوبلازمى ، لذلك فانه فى حالة البكتريا التى تتغذى على مواد عضوية معقدة مثل السليولوز أو النشا أو الدهون أو البروتين ، فلا بد لها أن تفرز عليها إنزيمات خارجية أى يفرزها الميكروب خارج الخلية فى الوسط ليستطيع تحويلها إلى الحالة الذائبة .

ولا تختلف الاحتياجات الغذائية للبكتريا عن الكائنات الراقية وأهم هذه الاحتياجات:

أ- الأكسجين : وقد سبق الحديث عنه فى تأثير التهوية.

ب- الأيدروجين: وتحصل البكتريا عليه من الماء والمواد العضوية.

جـ - الكربون والطاقة : تختلف البكتريا بالنسبة لمصدر الكربون المستعمل لبناء أجسامها من كربوهيدرات ومواد عضوية، وتحصل البكتريا على الكربون إما من CO_2 أو من مواد عضوية.

وبناء على ذلك تقسم البكتريا بالنسبة لمصدر الكربون والطاقة إلى:

أولا: بكتريا ذاتية التغذية Autotrophs

وهى البكتريا التى تحصل على الكربون من مصدر وحيد هو CO_2 لبناء كربونها الخلوى، وتنقسم تلك البكتريا بالنسبة لمصدر حصولها على الطاقة إلى نوعان هما:

١- البكتريا الممثلة للضوء Phototrophic bacteria

هذه البكتريا قادرة على القيام بعملية التمثيل الضوئى وتشابه النباتات فى هذه الخاصية، وهذه البكتريا تحتوى على كلوروفيل ولكنه موزع بانتظام فى السيتوبلازم وليس فى بلاستيدات خضراء، وهذه البكتريا يندرج تحتها قسمان:

- بكتريا ممثلة للضوء غير أكسجينية: وهى بكتريا لاهوائية غير منتجة للأكسجين مثل البكتريا الأرجوانية وبكتريا الكبريت الخضراء حيث تقوم بالتفاعل الأتي :