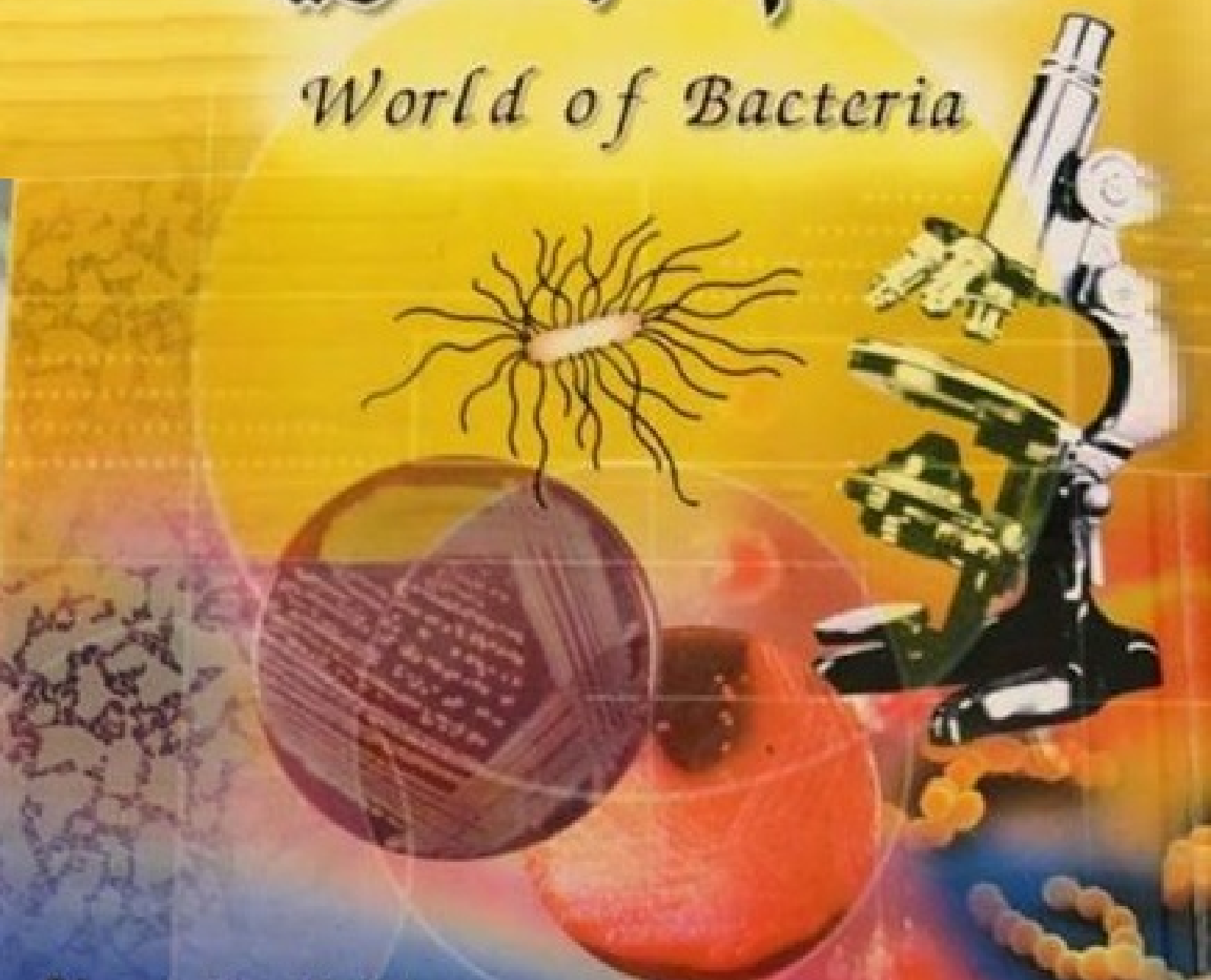
عالم البكتريا

World of Bacteria



د. محمد الصاوى محمد مبارك

د. عبد الوهاب محمد عبد الحافظ

د. راوية فتحى جمال

مكتبة اوزوريس

٥٠ شارع قصر النيل - القاهرة

٢٠٠٥

المحتويات الموجزة*

الموضوع	الصفحة
المحتويـــات	ت – خ
مقدمـــــة	ذ
الجزء الأول : عموميـــات	ز
الباب الأول : تاريـــخ الميكروبيولوجـــى	ش ، ١
مراجع الباب الأول	١٢
الباب الثانى : موقع الميكروبات بين الأحيـــاء	١٣
مراجع الباب الثانى	٣٢
الباب الثالث : طرق فحص ودراسة الميكروبات	٣٣
مراجع الباب الثالث	٧٠
الباب الرابع : العوامل المتحكمة فى نشاط الميكروبات	٧١
الفصـــل الأول : الأســس الخاصـــة بـــالتحكم فى الميكروبات	٧٣
الفصل الثانى : تأثير العوامل الطبيعية والبيئية	٩١
الفصل الثالث : تأثير المـــواد الكيميائيـــة	١٢٧
مراجع الباب الرابع	١٦٢
الجزء الثانى : البكتريـــــا	١٦٣
الباب الخامس : الخلية البكتيرية وتركيبها	١٦٥
الفصل الأول : البكتريا ومظهرها الخارجى	١٦٧
الفصل الثانى : تركيب الخلية البكتيرية ووظـــائف أجزائهـــــــا	١٨٩
الفصل الثالث : المادة النووية البكتيرية	٢٥١
الفصل الرابع : التجرثـم البكتيـــرى.....	٢٧٣
مراجع الباب الخامس	٢٩٤

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

المحتويات الموجزة*

الموضوع	الصفحة
الباب السادس : نمو وتكاثر البكتريا	٢٩٥
الفصل الأول : تكاثـــر البكتريـــا.....	٢٩٥
الفصل الثانى : تغذية وزراعة البكتريا	٣٢٥
مراجع الباب السادس	٣٥٠
الباب السابع : المجموعات البكتيرية (تقسيم البكتريا)	٣٥١
تمهيـــــــد	٣٥٢
الفصل الأول : تسمية البكتريا وتمييزها وتصنيفهـــا	٣٥٥
الفصل الثانى : المجموعات البكتيرية الهامة	٣٨٥
مراجع الباب السابع (فصل ١ ، ٢)	٥٣٠
الفصل الثالث : بكتريا الاندوفايت	٥٣١
مراجع الأندوفايت	٥٣٩
فهرس الأسماء العلمية الواردة بالباب السابع	٥٤١ – ٥٥٢
الباب الثامن : الوراثة البكتيرية	٥٥٣
الفصل الأول : الوراثة فى البكتريا	٥٥٣
الفصل الثانى : انتقال العوامل الوراثية فى البكتريـــا	٥٨١
الفصل الثالث : الهندســـة الوراثيـــة والتكنولوجيـــا الحيوية	٦١٣
مراجع الباب الثامن	٦٣٦
الباب التاسع : الانزيمات والتنظيم الانزيمى	٦٣٧
الفصـــل الأول : الانزيمـــــــات	٦٣٧
الفصـــل الثانـــى : تنظيم الأيض الغذائى	٦٨٣

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

المحتويات الموجزة*

الموضوع	الصفحة
الفصل الثالث : التخليق الحيوى للانزيمات واستخداماتها	٧٠٣
مراجع الباب التاسع	٧٢٢
الباب العاشر : الطاقة الحيوية والأيض الغذائى البكتيرى	٧٢٣
الفصل الأول : الطاقة الحيوية	٧٢٥
الفصل الثانى : انتاج الطاقة - تجزئة الكربوهيدرات	٧٦١
الفصل الثالث : انتقال الالكترونات تحت ظروف لاهوائية	٧٨٣
الفصل الرابع : مانحات الايدروجين غير العضوية- البكتريا الهوائية معدنية التغذية كيميائية الطاقة	٨٠١
الفصل الخامس : تثبيت ثانى أكسيد الكربون	٨١٥
الفصل السادس : التمثيل الضوئى البكتيرى	٨٢٥
الفصل السابع : تثبيت النتروجين الجوى	٨٤١
الفصل الثامن : التخليق الحيوى لوحدات البناء ذات الوزن الجزيئى الصغير	٨٥٣
مراجع الباب العاشر	٨٦١
الباب الحادى عشر : تخمرات ذات طابع خاص	٨٦٣
مراجع الباب الحادى عشر	٨٩٨
الباب الثانى عشر : الميكروبات والنظام البيئى	٨٩٩
الفصل الأول : الميكروبات والأوساط المختلفة (المياه والأراضى والأغذية والألبان)	٩٠٣
الفصل الثانى : الميكروبات وتحلل المواد الطبيعية	٩٢٩
الفصل الثالث : الميكروبات والصناعة	٩٧٥

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

المحتويات الموجزة*

الموضوع	الصفحة
الفصل الرابع : الميكروبات والمنتجات الحيوية	١٠٠٣
مراجع الباب الثانى عشر العربيـــة.....	١٠٢٤
مراجع الباب الثانى عشر الانجليزية	١٠٢٥
الباب الثالث عشر : الميكروبات وأمراض الإنسان	١٠٢٧
مراجع الباب الثالث عشر	١٠٦٢
الجزء الثالث : السيانوبكتريـــــا	١٠٦٢ أ
البـــاب الرابـــع عشـــر : تواجـــد الســـيانوبكتريا وأقســـامها والعوامل المتحكمة فى نشاطها	١٠٦٣
أولا : تواجد السيانوبكتريا	١٠٦٥
ثانياً : أقسام السيانوبكتريا	١٠٦٩
ثالثاً : العوامل المتحكمة فى نشاط السيانوبكتريا	١٠٧١
الباب الخامس عشر : خلية السيانوبكتريا	١٠٧٥
أولا : الحركة والشكل المورفولوجى للسيانوبكتريا .	١٠٧٧
ثانياً : التركيب البنائى لخلايا السيانوبكتريا	١٠٨١
ثالثاً : تكاثر السيانوبكتريا	١٠٩٣
الباب السادس عشر : النشاط الحيوى والجينى للسيانوبكتريا	١٠٩٧
أولا : التمثيل الضوئى بالسيانوبكتريا	١٠٩٩
ثانياً : تثبيت نتروجين الـــهواء الجـــوى بواســطة السيانوبكتريا	١١٠٣
ثالثاً : التجمع الجينى فى السيانوبكتريا	١١٠٩

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

المحتويات الموجزة

الموضوع	الصفحة
الباب السابع عشر : أهمية السيانوبكتريا	١١١٣
أ - النواحى المفيـــدة	١١١٥
ب - النواحى الضارة	١١١٨
جـ - التقنية الحيوية والسيانوبكتريا	١١٢٠
د - السيانوبكتريا وعصر الفضـــاء	١١٢٢
مراجع السيانوبكتريا	١١٢٤
فهرس الأسماء العلمية	١١٢٥-١١٤٢

الغـــلاف

بيان بالأشكال التى على غلاف الكتاب ، حسب ترتيب الأشكال من اليمين إلى اليسار ، ثم من أعلى إلى أسفل

مجهر مركب ، شكل تخطيطى لبكتريا ذات أسواط محيطية ، بكتريا كروية عنقودية
مستعمرات لبكتريا الكولاى نامية على بيئة أجار ماكونكى ، مستعمرات بكتريا *Alcaligenes faecalis*
فى أطبـــاق مخطوطـــة نامية على بيئة أجار الدم ، بكتريا كروية عنقودية
بكتريا كروية ، مستعمرات بكتريا برازية مخمرة لسكر اللاكتوز نامية على بيئة أجار ماكونكى
بكتريا استربتوكوكاس كروية فى سلاسل

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

(مقدمـــــة)

عالم البكتريا ، عالم واسع فسيح ، ملىء بالأسرار التى أخذت فى التكشف والايضـاح ، وهو يضم الآلاف من الكائنات الحية الدقيقة ، التى تمثل (بشقيها الممثلة للضوء وغـير الممثلـة للضوء) جزءاً أساسياً من علم الميكروبيولوجى Microbiology ، وتمتد جذور هذا العلـم إلـى علوم النبات والحيوان والكيمياء الحيوية والوراثة وعلـوم البيئـة ، بالإضافـة إلـى الفيزيـاء والرياضيات .

وتختلف البكتريا عن الكائنات الحية الأخرى الميكروبية والنباتيـة والحيوانيـة ، فـى تنوعها وفى خواصها الفريدة ، مما جعل للبكتريا مميزات خاصة بها ، وضعتـها فـى مملكـة تقسيمية مستقلة عن باقى الكائنات ، ألا وهى مملكة بدائيات النواة .

ولسهولة تداول البكتريا ، وسرعة نموها، وقدرتها الكبيرة على التأقلم ، بالإضافة إلـى صفـات أخرى عديدة ، فإنها أصبحت الأداة المفضلة فى بحوث الكيمياء الحيوية والوراثة وفـى تقنيـات الهندسة الوراثية ، وبذلك أسهمت فى حل كثير من المشاكل الأساسية الخاصة بعلوم الحياة .

وقد أصبحت البكتريا وأنشطتها المختلفة ، المفيدة ومأأكثرها ، والضارة ومأأقلها ، تمثل إهتماماً متزايداً من إهتمامات المجتمع ، سواء على المستوى المحلى أو العالمى ، وذلك بسـبب الأدوار التى تلعبها تلك الكائنات الدقيقة فى الأوساط البيئية المختلفة كالهواء والمياه والأراضـى والأغذية ، وفى علاج مشاكل البيئة ، وفى تدوير المصادر الطبيعية ، وانتاج نواتـج تخميريـة عديدة ، وفى قدرتها على المساهمة فى حل مشكلة نقص البروتين العالمى كغذاء ، وانتاج الطاقة الحيوية (غاز المثيان) ، إضافة إلى أهميتـها فـى النواحـى العلاجيـة ، وخطـورة بعضـها (حوالى ١٥% من أنواعها المختلفة) ، فى الأمراض التى تسببها للنبات والحيوان والإنسان .

وقد حاولنا فى هذا الكتاب ، تقديم رؤية شاملة ، ولكن متعمقة ومتخصصة ، خاصـة بالمعلومات الأساسية المتعلقة بالبكتريا ، من حيث موقعـها بيـن الأحيـاء وأهـم مجموعاتـها التصنيفية ، وتركيب خليتها وطرق تكاثرها ، والعوامل الفيزيائية والكيميائيـة المتحكمـة فـى أنشطتها ، ومايتعلق بصفاتها الفسيولوجية والوراثية ، ومانتتجه من مواد عديدة ، ومانقوم به من تغيرات مفيدة أو ضارة بالوسط المحيط بها ، ولزيادة الايضاح ، فقد قمنا بتزويد الكتاب بـالكثير من الجداول المُجمِّعة للمعلومات ، ووضع العديد من الصور والأشـكال ، وتذييـل كـل بـاب بالمراجع المناسبة ، للرجوع اليها لزيادة الفائدة .

وهدفنا من ذلك أن نوفر للقارىء المعلومات الأساسية المتعلقة بالبكتريا ، ليس فقط لمن يدرس علم البكتريا فى المعاهد العلمية المختلفة ، ولكن أيضا لكل مـن يعمـل أو يبحـث فـى المجالات الحيوية المتعددة الجوانب للبكتريا .

أننا ندين بالفضل كل الفضل لمن تعلمنا منهم ، وزودونـا بخبراتـهم ، ونذكـر بكـل الإجلال من رحل منهم عن عالمنا ، كما نعترف بالجميل لمن أخذنا عنهم ، ونقدم الشكر ، لكـل من عاوننا لإخراج هذا الكتاب ، خاصة السيدة ثريا حلمى محمود ، لما بذلته من جهد فى كتابـة أصول الكتاب على الحاسب الآلى .

وعلى الله توكلنا ، وبه نستعين

القاهرة فى ٢٠٠٥/٢/٢ المؤلفـون

I

Generalities

الجزء الأول
عموميـــــات

فاصل ١

بيان بالأشكال التى على ظهر هذه الصفحة

① مجهر مركب ، ② حافة سطح مستعمرة *Bacillus anthracis* كما تظهر تحت القوى الصغرى للمجهر الضوئى
③ بكتريا *Nocardia madurae* نامية فى أنابيب على بيئة أجار سابورود – جلوكوز
④ مستعمرات بكتريا *Klebsiella pneumoniae* فى أطباق مخطوطة نامية على بيئة أجار ماكونكى

﴿الباب الأول﴾

تاريخ الميكروبيولوجـــــى

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
تاريخ الميكروبيولوجى	١
أنتونى فان ليفنهوك	١
التوالد الذاتى	٢
لويس باستير	٤
روبرت كوخ	٦
الميكروبيولوجيا الطبية	٧
إكتشاف بعض الميكروبات المسببة للأمراض ..... [جدول ١-١]	٨
الترتيب الزمنى للأحداث الهامة فى تاريخ علم الميكروبيولوجـــــى ..... [جدول ١-٢]	٩
الميكروبيولوجيا الزراعية والصناعية	١٠
الميكروبيولوجيا والبيولوجيا الجزيئية	١١
الميكروبيولوجيا والمجتمع	١١
مراجع الباب الأول	١٢

﴿الباب الأول﴾

تاريخ الميكروبيولوجى History of Microbiology

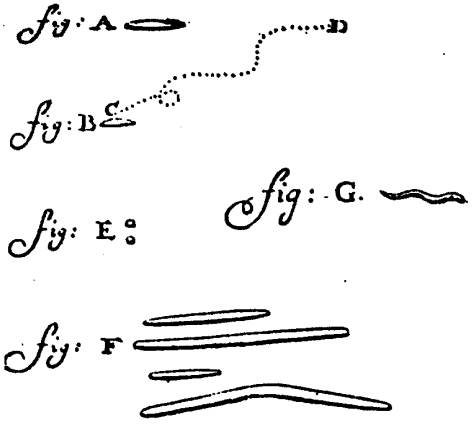
البكتريا والسيانوبكتريا كائنات حية دقيقة ، تُمثل جزءا أساسيا من علم الميكروبيولوجى أحد فروع علوم الحياة Biology ، وحتى عام ١٦٦٠ ميلادية ، كانت كل المعلومات الخاصة بشكل وتركيب الكائنات الحية من نبات وحيوان ، محددة بمقدار ماتراه عين الانسان المجردة . وبسبب قدرة التكبير المحدودة لعين الانسان المجردة ، التى لاتستطيع أن ترى أشياء أقطارها أقل من ٠,١ مم ، فقد حال ذلك دون رؤية الانسان لعالم الميكروبات المثير، ولذلك فقد بدأ علم الميكروبيولوجى فى منتصف القرن السابع عشر ، عندما بدأ الانسان يهتم بصناعة العدسات وتجميعها ، لاعطاء تكبير يسمح برؤية الأشياء الصغيرة . وعندئذ أصبح الانسان قادرا على رؤية ذلك العالم غير المرئى من الأشياء المتناهية فى الصغر ، حية أو غير حية ، والتى كان مجرد التفكير فى وجودها ضربا من الخيال .

وبصناعة المجاهر (الميكروسكوبات) وتطورها ، فقد تطور علم الميكروبيولوجى إلى تلك الآفاق الواسعة التى وصلنا إليها الآن . وقد كانت البداية ، بفضل رواد أفاضل ، أضافوا بعلمهم الكثير فى مجال الميكروبيولوجى ، من أبرزهم :

أنتونى فان ليفنهوك (١٦٣٢ – ١٧٢٣) : Antony van Leeuwenhoek

كان ليفنهوك ، تاجر أقمشة فى مدينة دلفت Delft بهولندا ، يهوى الاشتغال بالعلوم وصناعة العدسات ، وهو يعتبر أول من سجل ملاحظات مع رسومات وأوصاف دقيقة للميكروبات بواسطة مجهره البسيط ، وذلك أثناء فحصه للعديد من الأشياء التى تحيط به ، مثل قطرات الماء ، اللعاب ، الدم ، السائل المنوى ، البول ، الروث ، المادة البيضاء المغطية للأسنان ، الشعر ، الأوراق النباتية ، القماش ... وغيرها (شكل ١–١) ، وشكل (١–٢) .

شكل ١–١ : أنتونى فان ليفنهوك (١٦٣٢–١٧٢٣) وتبين الصورة حجم وشكل المجهر الذى كان يستعمله .



شكل ١–٢ : الأشكال التى رسمها ليفنهوك عن عالم البكتريا الجديد الذى اكتشفه . يرى الشكل الكروى والعصوى والحلزونى وحركة البكتريا .

وقد سجل ليفنهوك هذه المعلومات إبتداء من عام ١٦٧٤ ، فى خطابات أرسلها للجمعية البريطانية الملكية فى لندن British Royal Society, London ، وقد كان هذا أول تسجيل لما يعرف الآن بالأحياء الدقيقة .

وعلى الرغم من دقة المعلومات التى سجلها ليفنهوك ، إلا أن المجهر الذى استخدمه كان ذا امكانيات محدودة ، لاتزيد قوة تكبيره عن ٣٠٠ مرة . ولم يكن من الممكن إجراء دراسات أكثر دقة لهذه الكائنات المتناهية فى الصغر ، والتى سميت فى ذلك الوقت بالحيوانات الصغيرة Animalcules ، إلا بعد تطور المجهر البسيط المستخدم آنذاك ، وصناعة المجهر المركب وتطوره ، وقد أخذ ذلك قرنا كاملا من الزمان بعد وفاة ليفنهوك .

التوالد الذاتى : Spontaneous generation

أثار اكتشاف الميكروبات ، التفكير فى أصل ومنشأ هذه الكائنات الحية . وقد كان سائدا فى هذا الوقت ومن قرون عديدة ماضية ، الاعتقاد فى نظرية التوالد الذاتى ، التى تشير إلى أن هذه الكائنات تتكون ذاتيا ، أى بدون أصل حى ، وذلك فى الأغذية ، والأراضى الخصبة ، والجثث المتحللة ، والمياه الساخنة وغيرها من الأوساط . كما كان هناك رأى آخر ، يعتقد أصحابه ، بأن هذه الكائنات لكى تنمو ، لابد لها من أصل حى ، جراثيمGerms أو بذور Seeds توجد فى الهواء ، وسميت هذه النظرية بنظرية الجراثيم Germ theory .

سببت هذه الآراء جدلا كبيرا بين مؤيد ومعارض ، وكان أول من وضع شواهد أكيدة ضد نظرية التوالد الذاتى للميكروبات ، هو العالم الايطالى سبالانزانى (١٧٢٩ - ١٧٩٩) Lazaro Spallanzani ، الذى أثبت بالتجربة ، بأن غليان السوائل العضوية لمدة كافية ، مع إحكام قفل الأوعية لإبعاد الهواء والتراب ، يمنع نمو الكائنات الدقيقة بها ويمنع فسادها . غير أن عدم المعرفة فى ذلك الوقت ، بوجود جراثيم Spores شديدة المقاومة للحرارة ، لاتقتل بالغليان ، أدى إلى حدوث نمو للميكروبات فى سوائل غليت جيدا وأحكم قفلها ، مما دعم ثانية من نظرية التوالد الذاتى .

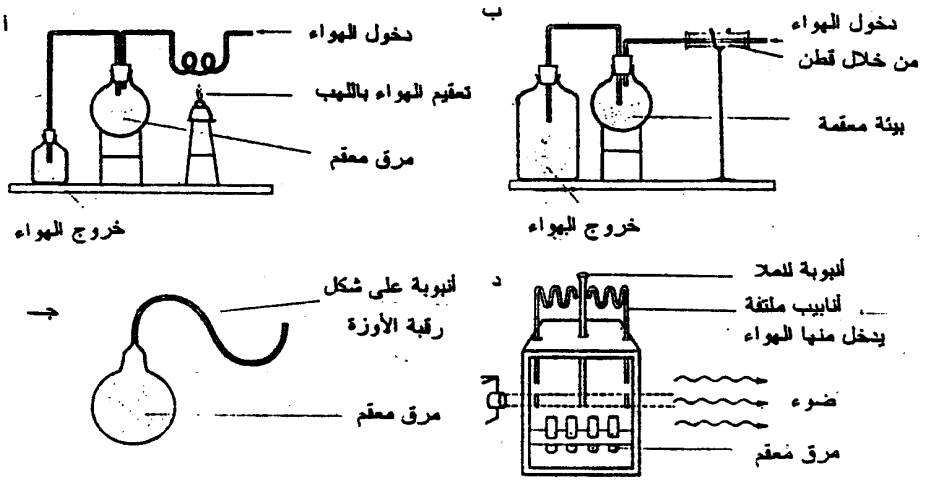
ولكن التجارب العديدة التى أجراها لويس باستير بعد ذلك ، ونشرها عام ١٨٦٤ ، هدمت نهائيا نظرية التوالد الذاتى . فقد أكدت هذه التجارب وجود الميكروبات فى الهواء وذرات التراب ، وأنه بإبعاد الميكروبات عن السوائل المعقمة فإنها لاتفسد ، مؤيدا بذلك ماسبقه من باحثين من أمثال Schulze & Schwann (١٨٣٦) ، وكذلك Schroder & von Dusch (١٨٥٠) .

ففى إحدى التجارب التى أجراها باستير ، استخدم دورقا يخرج من فوهته أنبوبة ضيقة طويلة منحنية ، على شكل رقبة الوزة Goose-necked flask ، تسمح بتبادل الهواء (غير المرشح ، أو غير المعامل ، أو غير المسخن) ، من وإلى المحلول المغذى (المرق) المعقم الموجود بالدورق ، فترسب الميكروبات والأتربة فى منحنى الأنبوبة دون أن تدخل إلى المحلول . بذلك منع تلوث المحلول بالميكروبات ، وأثبت أن السوائل العضوية (مثل المرق ، البول ...) يمكن أن تبقى معرضة للهواء أو الأتربة دون أن تنمو فيها الميكروبات ، طالما

أمكن منع وصول الميكروبات إليها . وفى تجارب أخرى أثبت باستير أن إمرار الهواء المسخن (أى الخالى من الميكروبات الحية) ، فى السوائل المغلية ، لم يؤد إلى نمو الميكروبات بها ، مما يؤكد أن الميكروبات مصدرها خارجى ، كما أثبت باستير أن إضافة سائل ملوث بالميكروبات إلى سائل آخر مغلى ، يؤدى إلى نمو الميكروبات بالسائل المعقم .

وبذلك وضعت دراسات باستير ، حداً لنظرية التوالد الذاتى ، وأثبت أن الميكروبات ، لابد لها من أصل حى ، حتى تنمو وتحدث تغيرات فى السوائل العضوية .

وأخيرا ، أثبت العالم الإنجليزى تندال (١٨٢٠ - ١٨٩٣) John Tyndall ، أن التراب يحمل الميكروبات . حيث أجرى مجموعة من التجارب ، فى أوعية صممها لهذا الغرض ، أكد فيها أن المرق المغذى المعقم الموجود بالوعاء ، يمكن أن يبقى خاليا من النمو الميكروبى ، طالما أن التراب لم يصل اليه شكل (١-٣) .



شكل ١-٣ : الأجهزة التى استخدمت لإثبات عدم صحة نظرية التوالد الذاتى ، وتعتمد كلها على منع دخول البكتريا المحمولة بالهواء

أ - التعقيم بالحرارة للهواء الداخل الى المزرعة (طريقة Schwann) .

ب - الترشيح بالقطن للهواء الداخل الى المزرعة (طريقة Schröder & von Dusch) .

جـ - استعمال دوارق متصلة بأنبوبة على شكل رقبة الأوزة (طريقة Pasteur) .

د - استخدام غرفة تحضين لاتدخلها أتربة (طريقة Tyndall) .

المرجع :

Pelczar M.J.Jr. and E.C.S. Chan, 1981.
Elements of Microbiology, Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

أدت بحوث العالم تندال ، إلى اكتشاف وجود الجراثيم Spores الشديدة المقاومة للحرارة ، وأثبت أن الغليان لايكفى للتخلص منها ، وأن النمو الميكروبى فى السوائل السغلية المغطاه ، يعود إلى وجود الجراثيم ، وبالتخلص منها ، فإنه يمكن حفظ السوائل لفترات غير محدودة بدون نمو الميكروبات . وقد أرسى هذا العالم أسس عملية التعقيم المتقطع لقتل الجراثيم، وقد سميت الطريقة باسمه Tyndallization ، تكريما له .

إن هدم نظرية التوالد الذاتى ، كان ضروريا لتطور علم الميكروبيولوجى ، فبهدم تلك النظرية عرف أن نمو الميكروبات لابد له من أصل حى ، وأنه يمكن حفظ السوائل من الفساد بمنع وصول الميكروبات إليها ، وأنه يمكن تجنب الأمراض بمنع وصول الميكروبات إلى الغذاء والأنسجة السليمة ، وقد مهد ذلك الطريق لمعرفة طرق حفظ الأغذية ، ودراسة طرق العدوى ، وطرق الوقاية من الميكروبات المرضية .

لويس باستير (١٨٢٢ - ١٨٩٥) : Louis Pasteur

لويس باستير (شكل ١-٤) ، عالم فرنسى بارز ، كان يعمل أستاذا للكيمياء فى جامعة ليل Lille بفرنسا ، وهى منطقة تشتهر بصناعة النبيذ والبيرة ، وكان الناتج من هذه الصناعة سريع الفساد مع حدوث تعكير فى اللون ومرارة فى الطعم ، مما سبب خسائر اقتصادية كبيرة لفرنسا . وقد دفعت تلك الظروف باستير ، إلى دراسة النواحى المختلفة المتعلقة بتلك الصناعة ، للمساعدة فى حل مشاكلها، للوصول الى انتاج جيد .

ومن دراسات باستير العديدة ، وصل إلى الاستنتاجات الآتية

١ - التغيرات الكيميائية التى تحدث عند تخمر الحبوب والفواكه لانتاج الكحول ، عملية تتم بواسطة الميكروبات . فالميكروبات هى العامل المؤثر لإحداث هذه التغيرات الكيميائية ، وبذلك فإن هناك علاقة وثيقة بين تلك التغيرات الكيميائية وبين الميكروبات المعنية .

٢ - لكل نوع من أنواع التخمرات التى درست (كحولى ، لاكتيكى ، بيوتريكى) ، الكائنات الدقيقة الخاصة به ، التى تعطى الناتج الخاص بالتخمر .

٣ - أثناء التخمر الجيد ، تسود أنواع معينة من الميكروبات ، تختلف عن تلك السائدة فى التخمرات الرديئة . وعلى ذلك فإنه بالانتخاب الجيد للميكروب المناسب للتخمير ، فإن الناتج سيمتاز بجودته وتجانسه وثبات صفاته .

٤ - تصل الميكروبات غير المرغوب فيها إلى البيرة أو النبيذ ، من الهواء ، أو من مكونات بيئة التخمير ، أو من الأجهزة المستخدمة ، وبذلك تفسد المشروبات وتتغير صفاتها . بمعنى أنه إذا لم تحتوى تلك المشروبات على هذه الميكروبات ، فإنها ستبقى دون حدوث تغير فى صفاتها .

شكل ١-٤ : لويس باستير Louis Pasteur (١٨٢٢-١٨٩٥) .

وقد وجد باستير ، أنه يمكن التخلص من هذه الميكروبات الغير مرغوب فيها ، دون الاضرار بخواص المشروبات أو العصائر ، وذلك بالتسخين على درجة ٦٢,٨°م لمدة ٣٠ دقيقة أى بالتسخين على درجة حرارة أقل من درجة الغليان ، وبذلك تمكن باستير بهذه الطريقة من منع فساد المشروبات . وهذه الطريقة ، تعرف الآن باسم البسترة Pasteurization نسبة الى مكتشفها باستير ، وقد أصبح استخدامها اليوم ، واسع الانتشار فى العمليات التخميرية ، ويعتبر عملاً روتينياً عند انتاج اللبن ، استخدام البسترة ، لقتل مابه من ميكروبات مرضية .

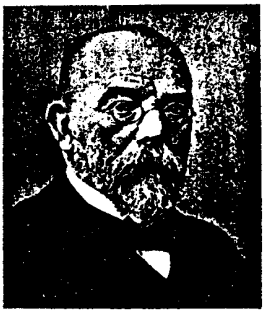
وأثناء بحوث باستير عن تخمر حمض البيوتريك ، كان هو أول من لاحظ أن بعض البكتريا تستطيع أن تنمو فى غياب أكسجين الهواء الجوى ، حيث وجد تأثيراً مثبطاً للهواء على نمو هذه البكتريا . وأدخل مصطلح هوائى Aerobic ، ولاهوائى Anaerobic ، للتمييز بين الكائنات التى تنمو فى وجود أو فى غياب أكسجين الهواء الجوى .

وبالاضافة إلى الانجازات الضخمة الناجحة التى حققها باستير ، والتى سبق ذكر بعضها ، مثل هدم نظرية التوالد الذاتى وبحوثه عن التخمرات ، فقد أضاف باستير الكثير لعلم الميكروبيولوجى . فقد عزل ميكروب الخميرة المسبب للتخمر الكحولى ، وأثبت أن الميكروبات هى مسببات لبعض الأمراض ، فعزل البروتوزوا المسببة لمرض Pebrine of silkworm الذى يصيب دودة الحرير ، وكاد أن يدمر صناعة الحرير فى فرنسا ، ونصح المزارعين بتربية اليرقات السليمة الخالية من المرض . ودرس أيضا مرض الجمرة الخبيثة (الحمى التفحمية) Anthrax ، الذى كان يقضى على قطعان كبيرة من الأغنام والماشية ويصيب الانسان أيضا ، وتمكن من معالجة المرض ، وفى الوقت نفسه ، تمكن العالم الألمانى كوخ من عزل البكتريا المسببة لهذا المرض .

كما قام باستير أيضا بعزل البكتريا المسببة لمرض كوليرا الدجاج ، ولاحظ أثناء تجاربه على هذا المرض ، أن بعض البكتريا شديدة الحدة المرضية Virulent ، فقدت قدرتها على إحداث المرض ، وأصبحت ضعيفة الحدة المرضية ، أى موهنة Attenuated ، وإن كانت لم تفقد قدرتها على انتاج أجسام مضادة Antibodies ، تحمى الدجاج من المرض عند إصابتها بالبكتريا الممرضة . وقد استغل باستير هذه الظاهرة ، لانتاج لقاح Vaccine الجمرة الخبيثة ، واستخدمه فى عمليات التحصين ، وكذلك فى انتاج لقاح لمرض الكلب Rabies, Hydrophobia الذى يسببه فيروس ينتقل للإنسان عن طريق عضة حيوان مصاب ، وبذلك قدم للإنسانية خدمة جليلة ، بحمايتها من هذا المرض المميت .

كل هذه البحوث وغيرها التى أجراها باستير ، أرست قواعد علم الميكروبيولوجى ، مما دعى الكثير من العلماء الى اعتبار لويس باستير، هو المؤسس الحقيقى لعلم الميكروبيولوجى Father of Microbiology .

روبرت كوخ (١٨٤٣ – ١٩١٠) : Robert Koch



شكل ١-٥ : روبرت كوخ (١٨٤٣-١٩١٠)

فى تلك الأثناء ، تمكن العالم الألمانى روبرت كوخ ، (شكل ١-٥) أستاذ الصحة بجامعة برلين ، من وضع أسس التحضيرات الميكروبيولوجية التى سهلت عمليات فحص ودراسة البكتريا . فقد تمكن كوخ من صبغ البكتريا على الشرائح الزجاجية ، وتحضير البيئات الغذائية , وتصليب البيئات السائلة باستخدام مواد مصلبة مثل الجيلاتين للحصول على مستعمرات Colonies نامية على وسط صلب ، وقد سهل ذلك عزل البكتريا وتنقيتها والحصول على مزارع نقية Pure culture . كما تم فى معمل كوخ أيضا ، بواسطة الباحثة Hesse, Fanny استخدام الآجار بدلا من الجيلاتين ، لتصليب البيئات .

ويعتبر اكتشاف طرق تصليب البيئة بالجيلاتين والآجار ، والحصول على المزارع النقية ، تطورا هاما فى طرق عزل وتنمية الميكروبات . فقد أمكن بهذه الطرق ، عزل وتعريف الكثير من الميكروبات المسببة للعدوى ، والمسئولة عن التخمرات ، والمثبتة للنتروجين الجوى بالتربة ، وكذلك تلك التى تقوم بكثير من الأنشطة الميكروبية الأخرى .

وباستعمال هذه الطرق المعملية ، تمكن كوخ من عزل البكتريا المسببة لمرض الجمرة الخبيثة (١٨٧٦) ، وبكتريا السل (١٨٨٢) ، وبكتريا الكوليرا (١٨٨٣) . كما تمكن من وضع أسس التعرف على الميكروب الحقيقى المسبب للمرض ، علم Etiology ، والمعروفة **بإفتراضات كوخ Koch's Postulates ، وهى**

١ - يجب أن يرتبط دائما الميكروب المعين بنفس المرض ، وتظهر فى جميع الحالات نفس الأعراض .

٢ -يمكن عزل الميكروب المسبب من المرضى ، ويمكن تنميته بحالة نقية فى المعمل ، لدراسة خواصه المختلفة .

٣-تظهر على حيوانات التجارب القابلة للإصابة ، نفس المرض ، عند تلقيحها بميكروبات المزرعة النقية .

٤- يمكن عزل الميكروب مرة ثانية وتنميته بحالة نقية ، من حيوانات التجارب التى أصيبت بالمرض .

ومن الواضح ، فان بعض اقتراحات كوخ السابقة ، لاتنطبق على الأمراض التى تسببها ميكروبات متطفلة إجبارا ، وهى التى لايمكن تنميتها فى بيئات معملية ، كالفيروسات . ولذلك فإن **ريفرز Rivers عام (١٩٣٧)** ، وضع أسس مشابهة لافتراضات كوخ ، يمكن تطبيقها فى حالة الفيروسات ، وهى

١ - يجب أن يوجد الفيروس المعين دائما فى خلايا العائل ، أثناء المرض ، معطيا نفس الأعراض فى جميع الحالات .
٢ - راشح الأنسجة المصابة (أى الخالى من البكتريا والكائنات الأخرى القابلة للزرع فى بيئة معملية) ، يسبب نفس المرض فى حيوانات التجارب .
٣ - الراشح المأخوذ من أنسجة حيوان التجارب المصاب ، ينقل نفس المرض لحيوان تجارب اخر .

الميكروبيولوجيا الطبية

خلال الفترة من أعوام (١٨٨٠ الى ١٩٢٠) ، والتى تعتبر العصر الذهبى للميكروبيولوجيا الطبية ، مكنت الأسس التى وضعها باستير وكوخ ، الكثير من معاصريهم وماتلاهم من علماء ، من التعرف على كثير من الميكروبات المسببة للأمراض (أنظر جدول ١-١) ، ومن معرفة المواد القاتلة للميكروبات (مثل حامض الكربوليك بواسطة **ليستر Lister عام ١٨٦٠**) ، وطرق منع التلوث وتعقيم الأدوات الجراحية ، والتشخيص السيرولوجى ، الذى يمتاز بدقته وسرعته ، لبعض الميكروبات المرضية (مثل اختبار فيدال للتيفود ، واختبار وازرمان للزهرى) ، ومن اكتشاف طرق التحصين باستخدام لقاحات الميكروبات الموهنة ، وبإنتاج مضادات التوكسين Antitoxin ضد السموم الميكروبية ، واستخدام المركبات الكيميائية والمضادات الحيوية فى العلاج ... كل ذلك فتح آفاقا عريضة أمام الميكروبيولوجيا الطبية ، للأجيال القادمة .

جدول ١-١ : اكتشاف بعض الميكروبات المسببة للأمراض .

التاريخ	المرض Disease	المسبب (*) Causative agent	المكتشف
١٨٧٦	الجمرة الخبيثة Anthrax	*Bacillus anthracis*	Koch
١٨٧٩	السيلان Genorrhea	*Neisseria gonorrhoeae*	Neisser
١٨٨٠	التيفود Typhoid fever	*Salmonella typhi*	Eberth
١٨٨٠	الملاريا Malaria	*Plasmodium malariae*	Laveran
١٨٨١	تلوث الجروح	*Staphylococcus aureus*	Ogston
١٨٨٢	السل Tuberculosis	*Mycobacterium tuberculosis*	Koch
١٨٨٣	الكوليرا Cholera	*Vibrio cholerae*	Koch
١٨٨٣	الدفتريا Diphtheria	*Corynebacterium diphtheriae*	Klebs & Loeffler
١٨٨٥	التيتانوس Tetanus	*Clostridium tetani*	Nicolaier
١٨٨٧	الالتهاب السحائى Meningitis	*Neisseria meningitidis*	Weichslbaum
١٨٨٧	الحمى المالطية Malta fever	*Brucella* spp.	Bruce
١٨٩٢	غرغرينا غازية Gas gangarene	*Clostridium perfringens*	Welch & Nuttall
١٨٩٤	الطاعون Plague	*Yersinia pestis*	Yersin & Kitasato
١٨٩٦	التسمم البوتشولينى Botulism	*Clostridium botulinum*	Van Ermengem
١٨٩٧	الإجهاض المعدى للأبقار Bovine abortion	*Brucella abortus*	Bang
١٨٩٨	الدوسنتاريا (الزحار) Dysentery	*Shigella dysenteriae*	Shiga
١٩٠٥	الزهرى Syphilis	*Treponema pallidum*	Schaudin & Hoffmann
١٩٠٦	السعال الديكى Whooping cough	*Bordetella pertussis*	Bordet & Gengou
١٩٠٩	حمى جبال روكى المبقعة Rocky mountain spotted fever	*Rickettsia rickettsii*	Ricketts

(*) الاسم الحالى للمسبب ، الذى فى كثير من الأحوال يختلف عن الاسم الأصلى الذى عرف به لأول مرة .

ويوضح الجدول التالى (١-٢) ، الأحداث التاريخية الهامة ، التى أدت الى تطور علم الميكروبيولوجى .

جدول ١-٢: الترتيب الزمنى للأحداث الهامة فى تاريخ علم الميكروبيولوجى .

الفترة الزمنية	الباحث	أهم الاضافات
١٦٠٠-١٧٠٠	Antony van Leeuwenhoek (1632-1723)	أول من لاحظ وسجل بدقة الكائنات الدقيقة .
١٧٠٠-١٨٠٠	Lazaro Spallanzani (1729-1799)	أجرى تجارب لاثبات عدم صحة نظرية التوالد الذاتى
١٨٠٠-١٩٠٠	Ignaz P. Semmelweis (1818 - 1865)	أدخل طرق منع التلوث
	John Tyndall (1820-1893)	اكتشف الجراثيم Spores ، وطريقة التعقيم المتقطع Tyndallization للتخلص منها
	Louis Pasteur (1822-1895)	أثبت نهائيا عدم صحة نظرية التوالد الذاتى ، وأثبت أن التغيرات الكيميائية بالتخمرات سببها ميكروبى واكتشف الكثير من الميكروبات المسببة للأمراض ، ووضع أسس علم التحصين ، واكتشف لقاحات بعض الأمراض .
	Joseph Lister (1827-1912)	طور من طرق منع التلوث وتعقيم الأدوات الجراحية
	Thomas J. Burrill (1839-1916)	اكتشف البكتريا الممرضة للنبات
	Robert Koch (1843-1910)	اكتشف طرق الحصـــول على مزارع نقيـــة ، والطرق المعملية لفحص البكتريا ، وافتراضات كوخ ، واكتشف مسبب السل والكوليرا والجمره الخبيثة
	Fanny Hesse (1850-1934)	أول من استعملت الأجار لتصليب البيئات
	Paul Ehrlich (1854-1915)	وضع أسس العلاج الكيميائى للأمراض
	Martinus W. Beijerinck (1851 – 1931)	وضع أسس مزارع الاكثار ، واكتشف بكتريا الأزوتوباكتر
	Hans Christian Gram (1853 – 1933)	وضع أسس الصبغ التفريقى بين الميكروبات (صبغة جرام)
	Sergei N. Winogradsky (1856 – 1953)	اكتشف البكتريا المثبتة للنتروجين بالتربة
	Dmitrii Iwanowski (1864 – 1920)	اكتشف الفيروسات النباتية
	August von Wassermann (1866 – 1925)	اكتشف اختبار المثبت المكمل لمرض الزهرى
	Frederick W. Twort (1877 – 1950) & Felix H. d'Herelle (1873 – 1949)	اكتشفا البكتريوفاج

الميكروبيولوجيا الزراعية والصناعية

أنفتح مجال الدراسة فى ميكروبيولوجيا الأراضى ، عندما أوضح العالم الروسى فينوجرادسكى (١٨٥٦ - ١٩٥٣) **Sergei Winogradsky** (شكل ١-٦) قدرة بكتريا التربة على تثبيت النتروجين من الجو ، ومدى أهمية ذلك للنبات . كما اكتشف فينوجرادسكى البكتريا الأوتوتروفية وماتلعبه من دور فى أكسدة الأمونيا إلى نترات ، والكبريت الى كبريتات .

وفى عام (١٨٨٨) ، بين العالمان **Hellriegel & Wilfarth** علاقة تبادل المنفعة التكافلية Symbiosis ، بين البكتريا المثبتة للنتروجين والنباتات البقولية مثل البرسيم . وفى عام (١٩٠١) اكتشف العالم الهولندى بيرينك (١٨٥١ - ١٩٣١) **Martinus Willem Beijernick** ، (شكل ١-٧) البكتريا المثبتة لنتروجين الهواء الجوى فى الحالة الحرة (الأزوتوباكتر) ، وأوضح أهميتها فى زيادة خصوبة الأراضى . ويرجع الفضل لفينوجرادسكى وبيرينك ، فى عمل مزارع الاكثار Enrichment cultures ، التى تسمح بنمو نوع معين من الميكروبات وسيادته على الأنواع الأخرى الموجودة بالمزرعة .

وفى أواخر القرن التاسع عشر ، فتح العالم الأمريكى باريل (١٨٣٩ - ١٩١٦) **Thomas J. Burrill** ، مجالا جديدا فى الميكروبيولوجى ، هو مجال علم الأمراض النباتية Plant Pathology ، وذلك إثر اكتشافه لبعض الأمراض فى أشجار الكمثرى تسببه البكتريا . كما إكتشف العالم الروسى ايفانوفسكى (١٨٦٤ - ١٩٢٠) **Dmitrii Iwanowski** ، دور الفيروسات فى الأمراض النباتية . وفى عام(١٩١٥) اكتشف العالمان **Twort & d'Herelle** فيروس البكتريا (البكتريوفاج) . وقد عزل **Stanley & Northrup** فيروس موزايك الدخان ، بحالة نقية عام (١٩٣٥) .

شكل ١-٦ : سيرجى فينوجرادسكى (١٨٥٦-١٩٥٣)

شكل ١-٧ : مارتينوس بيرينك (١٨٥١-١٩٣١)

الميكروبيولوجيا والبيولوجيا الجزيئية

أدى التطور المذهل فى السنوات الأخيرة ، للطرق المعملية والتجريبية ، إلى توفر معلومات غزيرة عن النشاط البيوكيميائى للميكروبات ، وبالتالى إلى زيادة كبيرة فيما نعرفه عن خصائص الميكروبات ومميزاتها . فلقد اتضح وجود الكثير من الخصائص المشتركة بين الكائنات الدقيقة ، كما اتضح أن الاختلافات بينها تعود أساسا إلى تباين فى بعض الدورات البيوكيميائية Biochemical pathways ، وفى نفس الوقت ، فقد أخذت معلوماتنا تزداد عن الأسس المشتركة التى تربط بين أساليب الحياة البيوكيميائية Biochemical life processes ، بين الكائنات الدقيقة والكائنات الأكثر رقيا بما فيها الانسان ، ومن ثم فقد أصبح من المغرى ، استخدام الميكروبات كوسيلة لاستطلاع الأسس المجهولة المتعلقة بالحياة .

وفى هذا النوع من الدراسات ، توفر الميكروبات مميزات عديدة ، فتركيبها الخلوى بسيط ، ومادتها الوراثية غير معقدة التركيب ، كما أنها سريعة التكاثر ، وتنموا بيسر وسهولة بكميات صغيرة أو كبيرة ، ويمكن التعامل مع النمو المتكون بوسائل فيزيائية أو كيميائية ، كما يمكن تكسير خلاياها وفصل مكوناتها الى أجزاء ذات أحجام مختلفة .

هذه المميزات العديدة ، تجعل من الميكروبات نماذج Models بحثيه مناسبة تماما ، لمعرفة كيف تتم دورات الحياة المختلفة Life processes ، بكل دقة ، على أساس من التفاعلات الكيميائية المحددة ، والتركيبات المعينة الداخلة فى هذه التفاعلات .

وعلى ذلك ، فلم يكن من المستغرب ، أن يتعاون المتخصصون فى الفيزياء ، والكيمياء ، والوراثة ، والبيولوجى مع الميكروبيولوجيين ، فى وضع أساس مانعرفه الآن بأسم علم البيولوجيا الجزيئية Molecular Biology ، وقد أدت نتائج الدراسة فى هذا المجال ، التى بدأها كل من **Beadle & Tatum** (١٩٤١) ، و **Delbruck & Luria** (١٩٤٣) ، و **McLead & Mc Carty** (١٩٤٤) ، إلى اسهامات عديدة ، تتعلق بإيضاح تركيب الإنزيمات وطريقة عملها ، ونظم التنظيم الخلوى ، والأيض الغذائى المنتج أو المستهلك للطاقة ، وبناء البروتين ، وتركيب الفيروسات ، وعمل الأغشية الخلوية ، وتركيب وعمل الأحماض النووية خاصة حامض الدنا DNA . وقد أمكن الحصول ، على معظم المعلومات الأساسية الخاصة بحامض الدنا ، وبالاساليب الوراثية Genetic processes ، من خلال الدراسات التى تمت على البكتريا والبكتريوفاج .

الميكروبيولوجيا والمجتمع

لاحظنا مما سبق ، أن علم الميكروبيولوجى نمى نموا سريعا ابتداء من منتصف القرن التاسع عشر ، وأن البدايات الأولى كانت مثيرة حقا . وبحلول القرن العشرين ، أصبح رجل الشارع على معرفة بالميكروبات ، وأصبح يعى تماما بما تستطيع أن تقوم به هذه الكائنات المجهرية ، وكيف يمكنه السيطرة عليها ، وبدخولنا الألفية الثالثة ، فقد احتل علم الميكروبيولوجى مكانا بارزا بين العلوم ، التى تلعب دورها المؤثر فى حياة المجتمع .

فالدور الذى تلعبه الميكروبيولوجيا فى حياتنا ، وفى المجتمع من حولنا ، أصبح فى تزايد مستمر ، إذ أخذ علم الميكروبيولوجى يسهم بالكثير فى علوم الحياة الأساسية ، وفى النواحى التطبيقية المختلفة ، سواء من الناحية الطبية ، أو الزراعية ، أو الصناعية ، أو من حيث العلوم البيئية .

ولعل التطور الخطير حاليا فى الميكروبيولوجيا التطبيقية ، هو القدرة على تغيير التركيب الوراثى لكائن ما ، وهو مايعرف بالهندسة الوراثية Genetic Engineering . فالمعلومات المتعمقة التى أصبحت متوفرة عن تركيب ووظيفة حامض الدنا النووى ، وعن إنزيمات قطع وإعادة بناء الجزىء ، جعلت من الممكن تغيير تركيب دنا الميكروب ، بإدخال جزء من دنا جديد إلى دنا الميكروب ، فيما يعرف باسم التجميع الوراثى Recombination ، وبهذه الطريقة يمكن إعادة هندسة الميكروب جينيا ، بإحداث تغييرات فى تركيب حامضه النووى الدنا ، لانتاج مواد جديدة تفيد الانسان ، مثل الأنسيولين ، والانترفيرون Interferon . وبذلك يمكن للميكروبات التى أجريت بها عملية الهندسة الوراثية ، أن تؤدى خدمات جليلة لانتاج عقاقير طبية ولقاحات ، وفى تحسين المحاصيل الزراعية .

مراجع الباب الأول References

Brock, T. (ed.) (1961). Milestones in Microbiology. Printice-Hall. Englewood Cliffs. N.J.

Bulloch, W. (1938). The History of Bacteriology, Oxford, London.

Dobell, C. (1960). Antony van Leeuwenhoek and His Little Animals. Dover. New York.

Dubos, R.J. (1950). Louis Pasteur, Free Lance of Science. Little Brown, Boston.

Lechevalier, H. and M. Solotorovsky (1965). Three Centuries of Microbiology. Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York.

National Academy of Sciences (1991). Microbial Processes, National Academy of Sciences, Washington D.C.

﴿الباب الثانى﴾

موقع الميكروبات بين الأحياء

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
الميكروبيولوجيـــا ومنشـأ الحيـــاة	١٥
التطور البيولوجى للكائنات بدائية النواة	١٥
مراحل افتراضية لتطور طرق الأيض الغذائى بالكائنات بدائية النواة ..... **[شكل ٢-١]**	١٨
المميـــزات العامـــة للأحيـــاء	١٩
مقياس الزمن الجيولوجى ..... **[شكل ٢-٢ أ]**	٢٠
نماذج لكائنات تبين تتابع التطور فى صور الحياة .... **[شكل ٢-٢ ب]**	٢١
الشكل العام لخلية نموذجية ..... **[شكل ٢-٣]**	٢٢
موقع الميكروبات بين الكائنات الحيـــة	٢٣
المجاميـــع الرئيسيـــة للميكروبـــات	٢٤
الفروق المميزة بين خلايا بدائية النواه وحقيقية النواه .. **[جدول ٢-٣]**	٢٥ ، ٢٦
الأشكال المورفولوجية للمجاميع الميكروبية ..... [شكل ٢-٤]	٢٧
المميزات الرئيسية لكل مجموعة ميكروبية	٢٨
انتشـــار الميكروبـــات فـــى الطبيعـــة	٣٠
المجالات التطبيقية لعلم الميكروبيولوجى	٣٠ ، ٣١
مراجع الباب الثانى	٣٢

﴿الباب الثانى﴾

موقع الميكروبات بين الأحياء
Place of Microorganisms in the Living World

الميكروبيولوجيا ومنشأ الحياة Microbiology and Origin of Life

منذ بداية عصور الحضارة منذ حوالى ٨٠٠٠ سنه ، اهتم الانسان باستطلاع ماحوله من مظاهر الطبيعة المختلفة ، وطبيعة ونشأة الحياة ، ثم بتوالى العصور ، وضعت تفسيرات عديدة توضح كيف بدأت الحياة على الأرض . أحد هذه التفسيرات المقبولة الآن ، تفترض بأن الحياة بدأت فى مياه البحر ، وذلك بعد ملايين السنين من عمليات التطور الكيميائى Chemical evolution .

وطبقا لهذه الفرضية ، فإن العناصر غير العضوية الموجودة فى الجو (ك ، ن ، يد٢ ، أ٢ ، فو ... الخ) ، تحت تأثير الأشعة فوق البنفسجية ، والشحنات الكهربائية ، والحرارة المرتفعة ، تفاعلت فيما بينها ، وكونت مركباتاً غير عضوية (ك أ ، ك أ٢ ، ن يد٣ ، يد٢ كب ، ...) ، ثم تداخلت هذه المركبات وكونت مركباتاً عضوية بسيطة (ثيوبوريا ، كحولات ، الدهيدات ...) ترسبت فى مياه البحر .

ثم بتوالى تأثير الظروف الفيزيائية ، فإن المركبات العضوية ، اتحدت لتكون سكريات خماسية ، وأحماض أمينية ، وقواعد نتروجينية ، ثم مركبات أخرى معقدة من السكريات والبروتينات والدهون والأحماض النووية والإنزيمات ، وبذلك تشكلت المواد الأساسية لتكوين البداية الأولى للمادة الحية ، التى بدأت – كما تدل الكثير من الشواهد – منذ أكثر من ثلاثة آلاف مليون سنه ، لتبدأ بعدها عمليات التطور البيولوجى للحياة Biological evolution .

ويوضح الجدول (٢–١) التطور الكيميائى والبيولوجى ، وبدء الحياة الميكروبية .

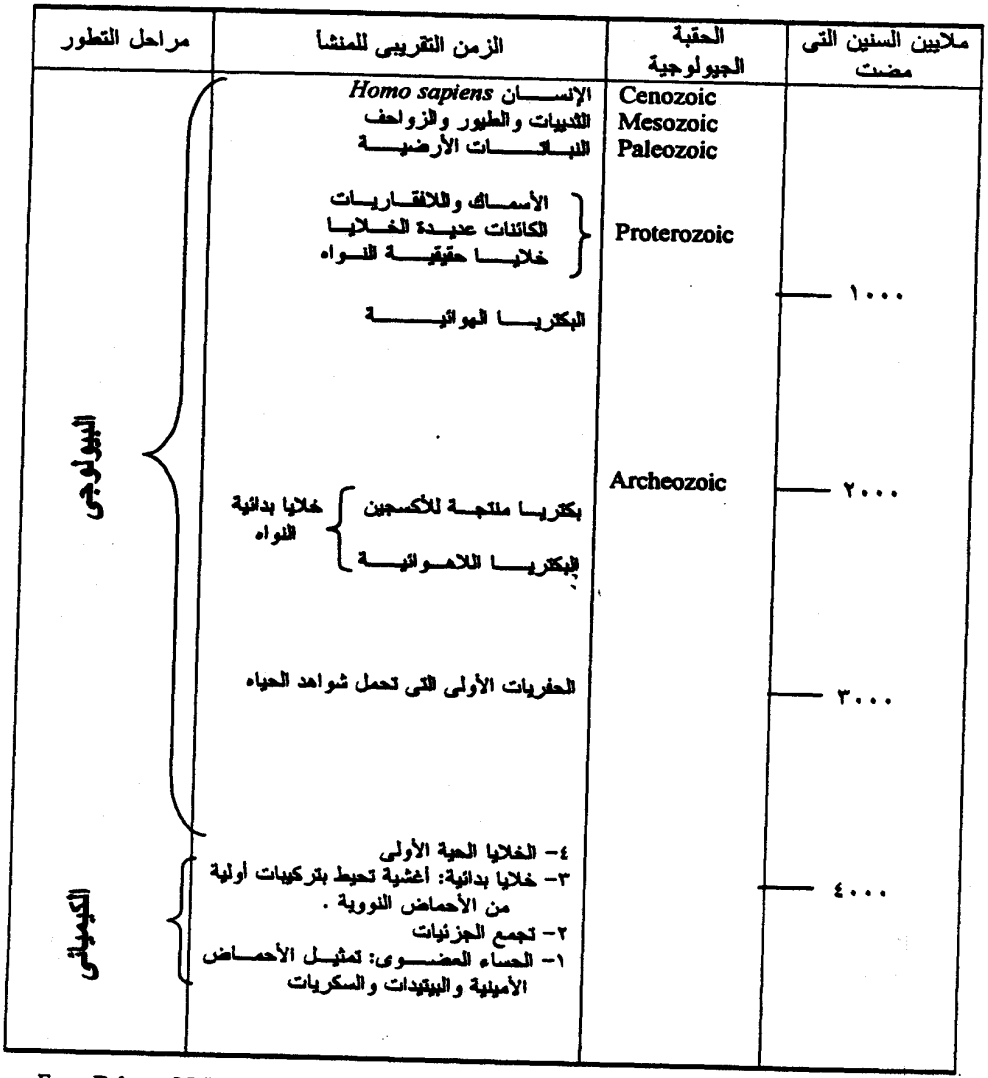
التطور البيولوجى للكائنات بدائية النواه

الآثار الحفرية الخاصة بالكائنات الدقيقة فى عصر ماقبل الكمبرى * ، نادره ، ويعود ذلك الى صغر حجم هذه الكائنات ، وعدم إحتوائها على مكونات صلبة . وعلى ذلك ، فإن الحفريات الدالة على أشكال الحياة البدائية الأولى ، لاتوجد إلا تحت ظروف خاصة . وقد أمكن العثور على أقدم آثار للحياة ، فى آثار حفرية تدل على وجود بكتريا ، وكائنات شبيهة

---

* عصر ماقبل الكمبرى Precambrian age ، هو أحد عصور حقبة الدهر العتيق Archeozoic era ، وقد استمر عصر ماقبل الكمبرى حوالى ٤ مليار سنة وانتهى قبل حوالى ٦٠٠ مليون سنة من الوقت الحاضر وتلاه عصر الكمبرى . وفى عصر ماقبل الكمبرى ظهرت بوادر الحياة المعروفة ، منذ حوالى ٣,٥ مليار سنة التى تطورت إلى صورة كائنات بسيطة ، وحيدة الخلية ، تسبح فى المياه .

جدول ٢-١ : المقياس الزمنى للتطور الكيميائى والبيولوجى وتطور الحياة الميكروبية .



From **Pelczar M.J.Jr and E.C.S. Chan (1981). Elements of Microbiology.** McGraw-Hill Book Co. Inc., New York

بالبكتريا ، بولاية منيسوتا ، وبجنوب أفريقيا ، فى رواسب بصخور يرجع عمرها إلى حوالى ٣٠٠٠ مليون سنة مضت ، مما يبين أن الحياة ظهرت قبل هذا التاريخ . ويمكن إعتبار أن البكتريا اللاهوائية، والبكتريا الممثلة للضوء ، من الشواهد الحية الباقية ، التى تدل على التطورات المبكرة ، التى حدثت بالكائنات الحية .

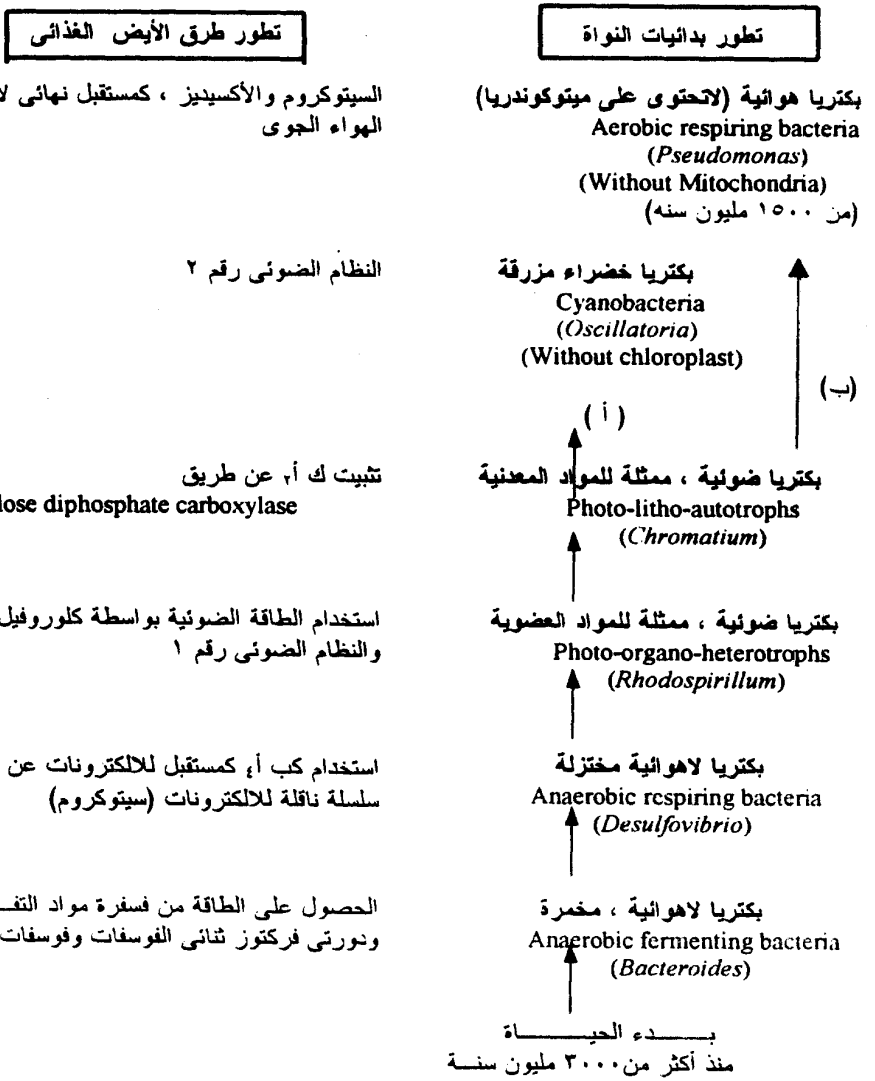
ويعود التطور الكبير فى الكائنات بدائية النواه ، وفى نظم أيضها الغذائى ، إلى تركيبها الخلوى البسيط ، وصغر حجم خلاياها ، وسرعة نموها ، وتنوع نظم التحكم فى إنزيماتها ، وتعدد طرق أنتقال الجينات بينها ، وصغر حجم الجينوم وتركيبه الهابلويد .

وفى بداية نشأة الحياة ، فى العصور السحيقة من عمر الأرض منذ أكثر من ٣٠٠٠ مليون سنه ، كان الجو المختزل هو السائد ، [(النتروجين فى صورة أمونيا ن يد ٣ ، والاكسجين فى صورة ماء (يد٢ ا) ، والكربون فى صورة غاز الميثان (ك يد٤)] ، فظهرت فى المياه البكتريا التى تملك نظم الايض اللاهوائى ، مثل البكتريا اللاهوائية المخمرة ، مثل *Bacteroides, Ruminococcus* ، ثم ظهرت البكتريا اللاهوائية المختزلة ، مثل *Methanobacterium, Desulfovibrio* ، التى تستطيع أن تستخدم موادا مثل ك أ٢ ، كب أ٤ لاستقبال الإلكترونات .

وبتطور عملية الفسفرة الضوئية منذ حوالى ٢٠٠٠ مليون سنه ، ظهرت البكتريا الممثلة للضوء ، المحتوية على الصبغات الضوئية وعلى النظام الضوئى رقم ١ ، الذى يمكنها من إستخدام الضوء كمصدر للطاقة ، واستخدام يد٢ كب كمانح للإلكترونات ، مثل بكتريا *Rhodospirillum* الممثلة للمواد العضوية ، وبكتريا *Chromatium* المثبته لـ ك أ٢ الجو .

وبتوالى التطور ، وتكون النظام الضوئى رقم ٢ ، ظهرت السيانوبكتريا ، التى تستطيع أن تثبت ك أ٢ الجو ، وتستخدم الماء بدلا من يد٢ كب كمانح للإلكترونات ، وينتج عن تمثيلها الاكسجين ، وبذلك ظهرت البكتريا الممثلة للضوء ، المنتجة للأكسجين .

وبتكون الأكسجين ، بدأ حدوث تحول تدريجى فى جو الأرض المختزل الى جو يحتوى على أكسجين ، وأصبحت موادا كالنتروجين والأكسجين توجد فى صورة عناصر غازية (ن٢ ، أ٢) ، والكربون فى صورة ك أ٢ ، ويعتبر ذلك التحول من أكثر العوامل تأثيرا على تطور الكائنات . فظهرت الكائنات الهوائية المحتوية على السيتوكروم والسيتوكروم أكسيديز ، الذى يمكنها من استعمال أكسجين الهواء الجوى كمستقبل للإلكترونات مثل *Pseudomonas* (شكل ٢-١) .



شكل ٢-١ : مراحل افتراضية لتطور طرق الأيض الغذائى بالكائنات بدائية النواه ، مع أسماء بكتريا ممثلة لكل مرحلة .

From : Frobisher M. (1974).
Fundamentals of Microbiology, 8th Ed., Saunders Co., London.

وبتكون كميات كافية من أكسجين الهواء الجوى (منذ حوالى ألف مليون سنه) ، بدأت تظهر ، وتتطور الكائنات حقيقية النواه ، وتطور جهاز التمثيل الكلوروفيللى ، وانتشرت النباتات الأرضية الخضراء الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين وإزدادت نسبة الاكسجين بالهواء الجوى ، إلى أن وصلت الى معدلها الطبيعى وهو حوالى ٢٠% .

نماذج تطور الكائنات

تحتوى الصخور الرسوبية التى رسبت فى قاع البحر ، عبر زمن سحيق بعد نشأة الحياة ، آثارا نادرة للحفريات Fossils ، وهو السجل الكامل المستمر لنشوء الحياة . ويوضح الشكل (٢ – ٢ أ ، ٢ب) بعض نماذج لتطور الحياة عبر الأحقاب والعصور الجيولوجية .

المميزات العامة للأحياء

الميكروبات (بكتريا ، فطر ، طحالب ، بروتوزوا) ، كائنات وحيدة الخلية Unicellular ، وفى هذه الخلية تتم كل عمليات الحياة المتعلقة بالكائن . وفى الكائنات الأكثر رقيا ، فإن الكائن يتكون من خلايا عديدة Multicellular ، مرتبة فى أنسجة وأعضاء متخصصة ، لتقوم بوظائف محددة . وعلى الرغم من تعقد تركيب الكائنات ، فإن الخلية ، هى الوحدة الأساسية المكونة للحياة . وفى هذا الأساس ، تتشابه جميع الكائنات الحية (شكل ٢-٣) .

وتتكون خلية أى كائن حى ، من البروتوبلازم Protoplasm ، الذى يمثل المادة الحية بالخلية ، وهو نظام غروى عضوى معقد ، يتكون أساسا من البروتين والدهون والفوسفوليبيدات والأحماض النووية ، ويحاط البروتوبلازم بأغشية أو جدار خلوى . وتقوم خلايا جميع الكائنات الحية ، بعمليات البناء والهدم وإنتاج الطاقة ، من خلال دورات الأيض الغذائى Metabolic pathways ، التى تتشابه فى أسسها ، وإن كانت تتباين فى بعض مساراتها من كائن لآخر .

عموما ، فان جميع الأنظمة الحية ، تجمعها الخصائص الأساسية التالية

١ – القدرة على النمو والتكاثر .
٢ – القدرة على تمثيل المواد الغذائية وانتاج الطاقة .
٣ – القدرة على إخراج المواد التالفة .
٤ – القدرة على التفاعل مع تغيرات الوسط ، وهى مايسمى بالتأثريه Irritability ، أى الاستجابة لتأثير منبهات الوسط .
٥ – القابلية لظاهرة التطفر Mutation .

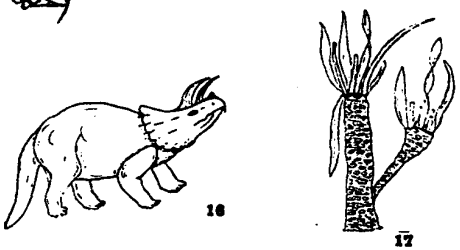
ويتضمن عالم الميكروبات ، مجموعة الفيروسات . وتقع الفيروسات على حدود الحياة، إذ تربط الفجوة بين الأحياء وغير الأحياء ، فالفيروس له صفاته الفريدة الخاصة به التى تجمع بين المادة غير الحية (خارج العائل) ، وبين الكائنات الحية (داخل العائل) .

فالفيروسات متطفلة إجبارا Obligate parasite ، وتركيبها غير خلوى Acellular ، يتكون من الأحماض النووية والبروتين ، وهذه مواد توجد أيضا فى كل صور الحياة الميكروبية والنباتية والحيوانية .

الحقبة والعصر الجيولوجي (مدة الحقبة بالسنة)	السنوات التي مرت منذ بدأ العصر الجيولوجي
حقبة الحياة الحديثة (عصر الثدييات)	
Cenozoic era	
(٧٠ مليون سنه)	
عصر الفضاء Space age	
الانسان الحديث *Homo sapiens*	
(٢٠ ألف سنه)	
العصر الحجرى – الانسان	٥٠٠ ألف سنه
عصر البليستوسين (الجليدى) Pleistocene epoch	١ مليون سنه
عصر البليوسين (الانسان الأول) Pliocene	١١ مليون سنة
عصر الميوسين Miocene	٢٥ مليون سنة
عصر الأوليجوسين Oligocene	٤٠ مليون سنة
عصر البليوسين Paleocene	٧٠ مليون سنة
حقبة الحياة الوسيطة (عصر الزواحف)	
Mesozoic era	
(١٥٥ مليون سنة)	مليون سنة
العصر الكريتاسى (الطباشيرى) Cretaceous	١٣٥
العصر الجوراسى Jurassic	١٨٠
العصر الترياسى Triassic	٢٢٥
حقبة الحياة القديمة	
Paleozoic era	
(٣٧٥ مليون سنة)	
العصر البرمى ..... Permian	٢٧٠
العصر الكربونى ... Carboniferous	٣١٠
العصر الديفونى..... Devonian	٣٧٥
العصر السيلورى..... Silurian	٤٢٥
العصر الأوردوفيشى .. Ordovician	٤٧٥
العصر الكمبرى ..... Cambrian	٦٠٠
عصر ماقبل الكمبرى (من الدهر العتيق)	٤٠٠٠
Precambrian of Archeozoic	
أقدم الصخور المسجله للحياة	٣٠٠٠ مليون سنه

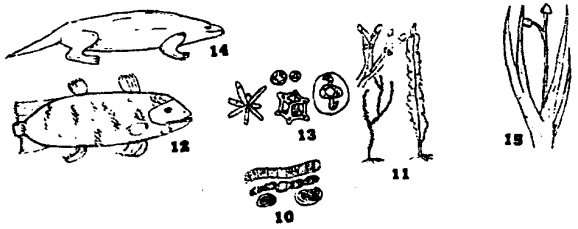
شكل ٢–١٢ : مقياس الزمن الجيولوجى ، الذى يبين (مع الشكل ٢–٢ ب) منشأ البكتريا القديم والميكروبات الأخرى ، عند قاعدة مقياس التطور (عصر ماقبل الكمبرى) .

حقبة الحياة الحديثة (عصر الثدييات)
20 – الانسان فى الفضاء
19 – نباتات (همين الألحوان) – (الفصيلة المركبة)
18 – حفريات القردة العليا

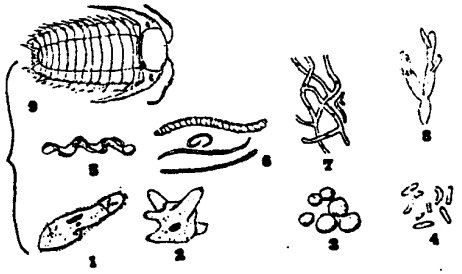


حقبة الحياة الوسيطة (عصر الزواحف)
17 – شجر السيكاد (العصر الجوراسى)
16 – ديناسور

حقبة الحياة القديمة
15– النباتات الوعائية الأرضية الأولى (العصر السيلورى)
14 – حفريات زواحف
12 – حفريات أسماك
11 – طحالب راقية
10, 13 – بكتريا شبيهة بالطحالب (سيانوبكتريا ، ديسميدات)



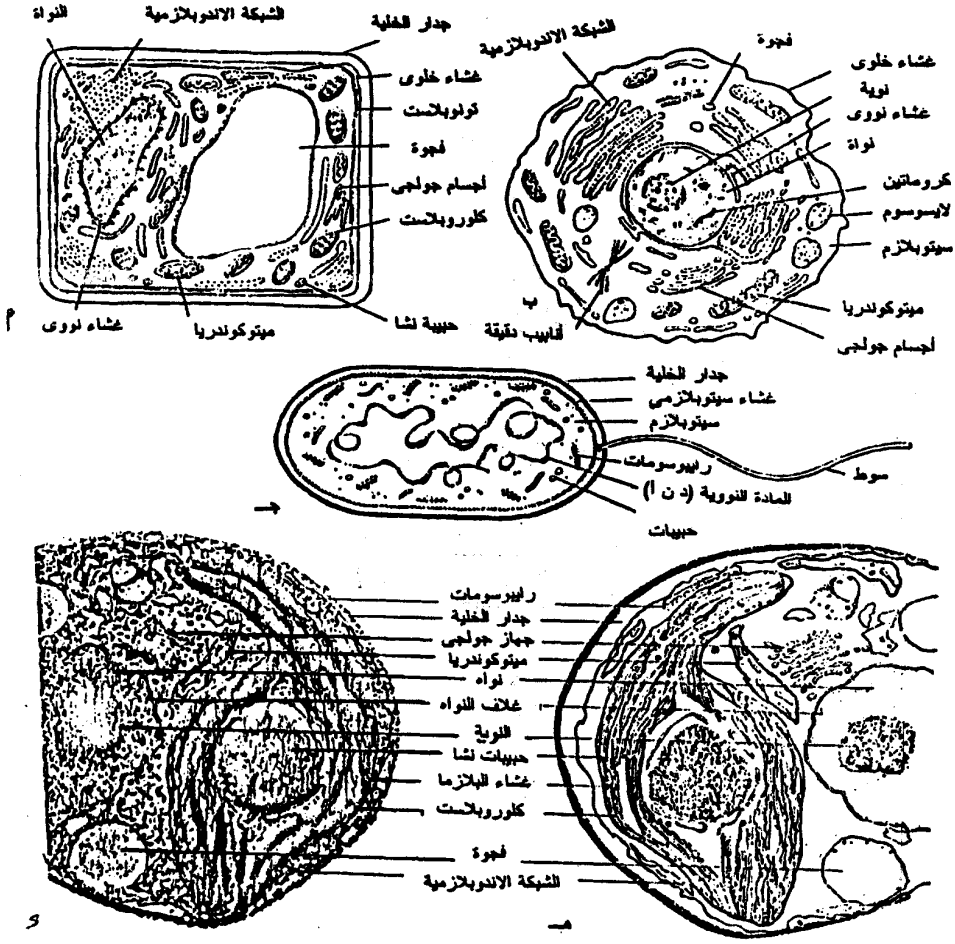
عصر الكمبرى إلى ماقبل الكمبرى
9 – Trilobite – حفريات لمفصليات بحرية ثلاثية الفصوص
8 – فطريات مائية (سابرولجنيا)
7 – بكتريا شبيهة بالفطريات
6 – ديدان بحرية
5 – سبيروكيتا – بكتريا شبيهة بالبروتوزوا
3,4 – بكتريا
1,2 – بروتوزوا



أقدم حفرية عمرها حوالى ٣ مليار سنة

شكل ٢–٢ب : نماذج لكائنات تبين تتابع التطور فى صور الحياة عبر الأحقاب والعصور الجيولوجية

خلايا أنواع من الكائنات الحية



شكل ٢-٣ : الشكل العام لخلية نموذجية

أ – خلية نباتية ب – خلية حيوانية

حـ – خلية بكتيرية

د – خلية طحلب *Chlamydomonas reinhardii* × ١٢٠٠٠

هـ – رسم تخطيطى لنفس خلية الطحلب

* موقع الميكروبات بين الكائنات الحية

حتى منتصف القرن التاسع عشر ، كانت كل الكائنات الحية ، تقسم إلى مملكتين : نباتية وحيوانية . وذلك على أساس الفروق الواضحة بين أفراد المملكتين ، من حيث الشكل والتركيب وطريقة التغذية . ومن حيث الصفة الأخيرة ، فان الحيوانات غير ذاتية التغذية ، تتغذى على المواد العضوية المعقدة ، بطريقة الابتلاع والهضم Phagotrophs . أما النباتات ، فهى ذاتية التغذية ، تتغذى على مواد بسيطة بطريقة الامتصاص Absorption ، وتأخذ الكربون اللازم لخلاياها من الجو ، وتستخدم الضوء كمصدر للطاقة بواسطة ماتحتويه من صبغات ممتصة للضوء .

ونظرا لأن الميكروبات متباينة الصفات ، منها مايتشابه مع النبات ، ومنها مايتشابه مع الحيوان ، ومنها مايجمع بين صفات النبات والحيوان ، ومنها مايختلف فى صفاته تماما عن النبات أو الحيوان ، فقد اقترح العالم الألمانى Haeckel (١٨٦٦) ، إنشاء مملكة ثالثة ، هى مملكة الكائنات الأولية البروتستا Protista ، تضم الكائنات وحيدة الخلايا . البكتريا ، الفطر ، الطحالب ، البروتوزوا ، حيث تمثل البكتريا البروتستا الدنيئة Lower protista ، بينما تمثل الفطريات والطحالب والبروتوزوا ، البروتستا الراقية Higher Protista . أما الفيروسات ، فلم توضع فى هذا التقسيم ، وذلك لتركيبها غير الخلوى ، ولعدم قدرتها على التكاثر خارج الخلايا الحية (جدول ٢-٢) .

جدول ٢-٢ : الأقسام الرئيسية للكائنات ذات التركيب الخلوى .

الصفة المميزة لأقسام الكائنات		نبات Plantae	حيوان Animalia
حقيقية النواة Eucaryotes	عديدة الخلايا تخصص الخلايا والانسجة	البذرية السرخسية الحزازية	فقاريات لافقاريات
	وحيدة الخلايا ، أو عديدة الخلايا بدون تخصص	كائنات بدائية راقية Higher Protista بروتوزوا طحالب فطريات	
بدائية النواة Procaryotes	وحيدة الخلايا	كائنات بدائية دنيئة Lower Protista البكتريا	

* أنظر موضع البكتريا بين عالم الأحياء والمجموعات الرئيسية لبدائيات النواة ، بالفصل الأول من الباب السابع ، ص ٣٥٢ ومابليها .

وبتجميع معلومات كافية ، عن التركيب الداخلى للخلية بواسطة المجهر الالكترونى ، ابتداء من عام ١٩٥٠ ، فقد لوحظ أن المادة النووية فى خلايا البكتريا ، لاتحاط بغشاء نووى ، وسميت بالكائنات بدائية النواه Procaryotes ، بينما فى الكائنات الأخرى ، كالفطريات والطحالب والبروتوزوا ، وكذلك الخلايا النباتية والحيوانية ، فإن نواة الخلية تحاط بغشاء نووى، وسميت بالكائنات حقيقية النواة Eucaryotes (جدول ٢-٢) . وقد أدى ذلك الاكتشاف ، الى معرفة فروق أخرى أساسية ، فى التركيب الداخلى بين نوعى الخلايا (جدول ٢-٣) .

وطبقا للمرجع العالمى ، الأساسى فى تقسيم البكتريا Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ، والذى صدر فى أربع مجلدات ابتداء من عام ١٩٨٤ حتى عام ١٩٨٩ ، فقد وضعت البكتريا فى مملكة بدائية النواة Kingdom Procaryota . وقسمت هذه المملكة إلى أربعة أقسام رئيسية هى :

١ - البكتريا العادية السالبة لصبغة جرام Ordinary Gram-negative bacteria
٢ - البكتريا العادية الموجبة لصبغة جرام Ordinary Gram-positive bacteria
٣ - بكتريا ذات صفات غير عادية Bacteria with unusual properties
٤ - بكتريا موجبة لصبغة جرام ، خيطية ، ذات تركيب مورفولوجى معقد Gram-positive filamentous bacteria of complex morphology

وستذكر التفاصيل الخاصة بأقسام وأوصاف المجموعات البكتيرية ، فى الفصل الثانى من الباب السابع بهذا الكتاب .

ويوجد نظم للتقسيم ، خاصة بكل مجموعة من مجاميع الكائنات المجهرية الأخرى ، من فطريات وطحالب وبروتوزوا ، كما يجرى حاليا وضع نظام عالمى لتسمية وتقسيم الفيروسات .

المجاميع الرئيسية للميكروبات

المجاميع الرئيسية للميكروبات ، التى يتناولها علم الميكروبيولوجى Microbiology هى الفيروسات ، البكتريا ، الفطر ، الطحالب ، البروتوزوا . ويدرس المتخصصون كل مجموعة ميكروبية فى علم مستقل ، هو علم الفيرولوجى Virology ، علم البكتريولوجى Bacteriology ، علم الفطر Mycology ، علم الطحالب Phycology ، علم البروتوزوا Protozoology .

ويبين شكل (٢-٤) الأشكال المورفولوجية للمجاميع الميكروبية .

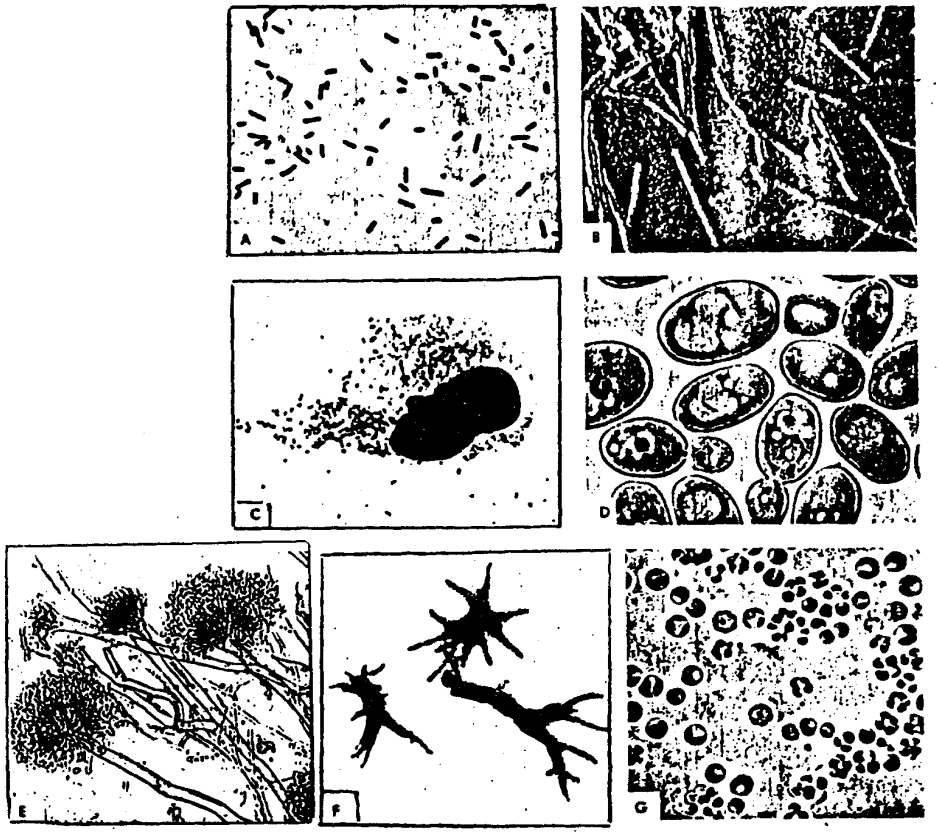
جدول ٢-٣ : الفروق المميزة بين خلايا بدائية النواة وحقيقية النواة .

الكائن	خلايا بدائية النواة	خلايا حقيقية النواة
	البكتريا	الطحالب ، الفطريات ، البروتوزوا ، النبات ، الحيوان
الحجم	١-٢ × ١-٤ µm أو أقل	القطر أكبر من ٥,٠ µm
أعضاء الحركة	لويفة بسيطة	ألياف عديدة ذات (٩ + ٢) من الانابيب الدقيقة
الأقدام الكاذبة	لايوجد	توجد فى البعض
١- التركيبات الخارجية للخلية		
جدار الخلية	به ببتيدوجلوكان	لايحتوى على ببتيدوجلوكان
الغشاء السيتوبلازمى	لايحتوى على استيرولات	به استيرولات
	يحتوى على انزيمات التنفس ، وصبغات ضوئية فى البعض	لايحتوى على انزيمات تنفس أو صبغات ضوئية
السيتوبلازم : طبيعته وتركيبه		
الحركة السيتوبلازمية	لايوجد	يوجد
الارتشاف Pinocytosis	لايوجد	يوجد
الميسوسوم	موجود	لايوجد
الرايبوسومات	موزعة فى السيتوبلازم من نوع S٧٠*	توجد فى الشبكة الاندوبلازمية من نوع S٨٠*
الميتوكوندريا	لايوجد	يوجد
الكلوروبلاست	لايوجد	قد يوجد
أجسام جولجى	لايوجد	يوجد
الشبكة الاندوبلازمية	لايوجد	يوجد
فجوات محاطة بأغشية حقيقية	لايوجد	يوجد
فجوات غازية	قد توجد	لايوجد

* S تشير الى وحدات سفدبرج Svedberg ، معامل ترسيب الحبيبات فى جهاز الطرد المركزى فائق السرعة وانظر الرايبوسومات ووحدة سفدبرج بالفصل الثانى من الباب الخامس ، ص ٢٥٠ .

تابع جدول ٢-٣ :

الكائن	خلايا بدائية النواة	خلايا حقيقية النواة
	البكتريا	الطحالب ، الفطريات ، البروتوزوا ، النبات ، الحيوان
نظم التمثيل الغذائى	- تختلف كثيرا خاصة فى دورات انتاج الطاقة اللاهوائية - البعض يثبت N_2 الغازى البعض يخزن مادة Poly-β hydroxy-butyrate كمادة غذائية	تستخدم دورة الانحلال الجليكولى ، لانتاج الطاقة بطريقة لاهوائية
الجهاز الوراثى		
مكان وجوده	النيوكلويد ، الأجسام الكروماتينية أو المادة النووية	النواه ، الميتوكوندريا ، الكلوروبلاست
تركيب النواه	- كروموسوم واحد دائرى - غير محاطه بغشاء نووى - لاتحتوى الكروموسومات على هيستونات - لايوجد أنقسام ميتوزى - لايوجد نوية - قد تتجمع الجينات العاملة فى شكل عنقود	- أكثر من كروموسوم - النواه محاطه بغشاء نووى - تحتوى الكروموسومات على هيستونات - يوجد انقسام ميتوزى للنواه - يوجد نوية - لاتتجمع الجينات العاملة
الانقسام الخلوى	بطريقة الانقسام الثنائى البسيط	ميتوزى
التزاوج الجنسى	الزيجوت Merozygotic أى يحتوى على أجزاء من الجزء الوراثى للخلايا المتحدة ، والزيجوت جزئيا ثنائى المجموعة الكروموسومية	الزيجوت ثنائى المجموعة الكروموسومية
نسبة القواعد النتروجينية فى الدنا ، مول % (جوانين + سيتوزين) (ج + س%)	٢٨ – ٧٣	حوالى ٤٠



شكل ٢-٤ : الأشكال المورفولوجية للمجاميع الميكروبية

A – بكتريا *Escherichia coli* × ١٠٠٠

B – فيروس TMV × ١٠٠,٠٠٠

C – ريكتسيا *Rickettsia tsutsugamushi* بسيتوبلازم خلية مصابة × ٩٤٠

D – خميرة *Candida utilis* × ٢٠٠٠

E – فطر *Aspergillus* sp.

F – بروتوزوا *Amoeba*

G – طحلب *Chlorella infusionum* × ١٠٠٠

وفيما يلى المميزات الرئيسية لكل مجموعة ميكروبية

١- الفيروسات : Viruses

تركيبها غير خلوى ، متناهية فى الصغر فلا ترى إلا بالمجهر الإلكترونى ، متطفلة إجبارا فلا تنمو إلا فى الخلايا الحية ، وهى متطفلة أو ممرضة للنبات والحيوان والإنسان والميكروبات .

٢- البكتريا : Bacteria

بدائية النواه (بروكاريوتا) ، وحيدة الخلية ، التكاثر عادة بالانقسام الثنائى البسيط .

٣- الفطر : Fungi

يتبعه الخمائر Yeasts والأعفان Molds .

حقيقية النواه (ايوكاريوتا) ، خالية من الكلوروفيل ، عادة عديدة الخلايا لكن غير مميزة إلى جذور وسوق وأوراق ، تتراوح فى الحجم والشكل من خمائر وحيدة الخلية مجهرية ، الى فطريات عديدة الخلايا كبيرة الحجم كما فى عيش الغراب Mushroom ، وتتكون الفطريات الحقيقية من خيوط وكتل من الخلايا مكونة للميسليوم Mycelium .

وتتكاثر الفطريات بالانقسام الثنائى ، أو بالتبرعم ، أو بالجراثيم المحمولة على تركيبات ثمرية مميزة لأنواع معينة .

٤ - الطحالب : Algae

حقيقية النواة ، تحتوى على كلوروفيل ، لها القدرة على التمثيل الضوئى ، تختلف فى الحجم والتركيب ، فمنها بسيط التركيب وحيد الخلية ، أو عديد الخلايا دون تخصص فى التركيب أو الوظيفة ، ومنها أنواع عملاقة لها تركيب معقد وخلايا متخصصة الوظائف مثل أعشاب البحر البنية Brown Kelp .

توجد الطحالب عادة فى الأوساط المائية والأراضى الغدقة ، وتتكاثر لاجنسيا وجنسيا .

٥ - البروتوزوا : Protozoa

حيوانات دنيئة ، حقيقية النواه ، وحيدة الخلية ، يميز بينها حسب خواصها المورفولوجية والفسيولوجية وطريقة تغذيتها ، وتتكاثر لاجنسيا وجنسيا .

ويبين جدول (٢-٤) بعض مميزات المجاميع الرئيسية الميكروبية .

جدول ٢-٤ : بعض مميزات المجاميع الميكروبية الرئيسية .

المجموعه الميكروبية	الحجم	المميزات الهامة	الاهمية العملية
الفيروسات	من ٠,٠١٥ الى ٠,٢ µm	- تركيبها غير خلوى - لاتنمو على البيئات المعملية الصناعية - تحتاج لخلايا حية لتتكاثر - كلها إجبارية التطفل - لاترى إلا بالمجهر الالكترونى	تسبب أمراضا للميكروبات والنبات والحيوان والانسان
البكتريا	٠,٢ إلى ١٠٠ µm النموذجية من ٠,٥ - ١,٥ × من ١,٠ - ٣,٠ µm	- بدائية النواة - وحيدة الخلايا - تركيبها الداخلى بسيط - تنمو على البيئات المعملية الصناعية - التكاثر لمعظمها لاجنسى بالانقسام الثنائى البسيط	- تلعب دورا هاما فى دورات العناصر التى تؤثر على خصوبة التربة - هامة صناعيا لانتاج بعض المركبات الهامة - بعضها ينتج الغذاء - بعضها يسبب أمراضا أو فسادا بالأغذية
الخمائر	من ٥ الى ١٠ µm	- حقيقية النواة - وحيدة الخلايا - تنمو على البيئات المعملية الصناعية كالبكتريا - تتكاثر لاجنسيا بانقسام الخلية أو التبرعم ، أو تتكاثر جنسيا	- انتاج الكحول - انتاج المشروبات الكحولية والبيرة - انتاج الغذاء - بعضها يسبب أمراضا أو فسادا بالأغذية
الفطريات	من ٢-١٠ µm إلى عدة ملليمترات	- حقيقية النواة - عديدة الخلايا مع وجود تركيبات مميزة - تنمو معمليا كالبكتريا - تتكاثر لاجنسيا وجنسيا	- انتاج بعض المواد الهامة صناعيا - انتاج البنسلين - تسبب تحللا لكثير من المواد أو فسادا بالأغذية - تسبب أمراضا للنبات والحيوان والانسان
الطحالب	من ١,٠ µm الى عدة أمتار	- حقيقية النواه - وحيدة أو عديدة الخلايا - أغلبها يعيش فى الأوساط المائية - تحتوى على صبغات ضوئية فهى ممثلة للضوء - تتكاثر لاجنسيا وجنسيا	- انتاج الغذاء فى الأوساط المائية - هامة فى التحضيرات الصيدلانيه - انتاج الاجار - بعضها ينتج موادا سامة
البروتوزوا	من ٢ الى ٢٠٠ µm	- حقيقية النواه - وحيدة الخلايا - بعضها يلمو معمليا كالبكتريا - بعضها متطفل داخل الخلايا - تتكاثر لاجنسيا وجنسيا	- غذاء للحيوانات البحرية - بعضها يسبب أمراضا

انتشار الميكروبات فى الطبيعة

تنتشر الميكروبات فى الطبيعة فى كل مكان تقريبا ، فهى توجد فى التربة ، وفى المياه العذبه والمالحة ، وفى أعماق البحار ، ومياه الينابيع الساخنة ، وفى الثلوج القطبية ، كما يحملها الهواء الى طبقات الجو العليا .

وهى أكثر إنتشارا فى الأماكن التى يتوفر فيها الغذاء والرطوبة والحرارة المناسبة لنموها وتكاثرها . ونظرا لأن هذه الظروف ، هى نفسها الظروف التى يعيش تحتها الانسان ، لذلك فاننا نتواجد بين أعداد ضخمة من الميكروبات . فهى توجد فى الهواء الذى نتنفسه ، والغذاء الذى نأكله ، وعلى سطح جسم الانسان والحيوان ، وفى قناته الهضمية . ومن حسن الحظ ، فإن أغلب هذه الميكروبات غير ضارة لنا ، ولدينا الوسائل لمقاومة غزو الأنواع الضارة منهـا .

أما الأماكن التى لاتتواجد فيها الميكروبات ، فإنها محدودة وهى : الأدوات والأوانى المعقمة ، والأنسجة السليمة ، والمواد القاتلة للميكروبات كالأحماض والقلويات ، وفوهات البراكين النشطه .

المجالات التطبيقية لعلم الميكروبيولوجى

نظرا لوجود الميكروبات بأعداد كبيرة ، فى معظم الأوساط الطبيعة ، فإنها تحدث فى تلك الأوساط الكثير من التغيرات ، كثيرها نافع ، وقليلها ضار . فالنشاط الميكروبى المتسع والمتعدد ، يتراوح من التأثير على خصوبة التربة ، إلى انتاج مواد نافعة ، إلى إحداث أمراض للنبات والحيوان والانسان . لذلك فإننا نجد أن المجالات التطبيقية لعلم الميكروبيولوجى عديدة ، ويوضحها (جدول ٢-٥) .

جدول ٢-٥ : المجالات الرئيسية للميكروبيولوجيا التطبيقية .

المجـــال	التأثير والأهميـــة
- ميكروبيولوجيا الهواء Aeromicrobiology	التلوث - الأمراض المنقوله
- ميكروبيولوجيا الأوساط المائية Aquatic microbiology	توزيع الميكروبات - تحلل المخلفات - دورات العناصر
- ميكروبيولوجيا مياه الشرب ومياه المخلفات Domestic water and waste water microbiology	تنقية المياه - تقدير الصلاحية للشرب - التلوث - الأمراض المنقولة. طرق معالجة مياه المخلفات - انتاج أسمدة وغاز حيوى
- ميكروبيولوجيا الاراضى Soil microbiology	تحلل المخلفات - تثبيت النتروجين - دورات العناصر - التسميد الحيوى - تحلل المبيدات
- ميكروبيولوجيا الأغذية Food microbiology	التلوث - الفساد - الحفظ - انتاج أغذية - التسمم - الأمراض المنقولة .
- ميكروبيولوجيا الألبان Dairy microbiology	المحتوى الميكروبى - التلوث - الفحص الميكروبيولوجى - طرق الحفظ - المنتجات اللبنية - الأمراض المنقولة
- ميكروبيولوجيا صناعية Industrial microbiology	انتاج كحولات ، أحماض عضوية ، مذيبات ، مشروبات ، مضادات حيوية ، ولقاحات
- ميكروبيولوجيا صيدلية Pharmaceutical microbiology	تلوث المنتجات الصيدلية - الفساد - الحفظ - انتاج مواد صيدلية كالمضادات
- امراض النبات Plant Pathology	طرق الانتشار - الأمراض التى تصيب النبات - طرق المقاومة
- أمراض الحيوان الميكروبية Microbial animal diseases	مسببات الأمراض - الأمراض - طرق الوقاية
- ميكروبيولوجيا طبية Medical microbiology	الميكروبات المسببة للأمراض - طرق التشخيص البيولوجى - الأمراض - الوقاية
- ميكروبيولوجيا الفضاء Exo microbiology	استكشاف الحياة فى الفضاء الخارجى

References

مراجع الباب الثانى

Alcamo, I.E. (2001) Fundamentals of Microbiology. Jones & Bartlett, London.

Delauney, A. and H. Erni (eds.) (1965). The World of Microbes, Doubleday, Garden City, New York.

Edmonds, P. (1978). Microbiology, An Environmental Prospective. Macmillan, New York.

Jennings, R.K. and R.F. Acker (1970). The Protistan Kingdom. Van Nostrand Reinhold, New York.

Pelczar, M.J.Jr.; E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1999). Microbiology,. Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

Postgate, J. (1975). Microbes and Man. Penguin, Baltimore, USA.

﴿الباب الثالث﴾

طرق فحص ودراسة الميكروبات

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
المجاهر (الميكروسكوبات)	٣٥
مجهـــر المجـــال المضـــيء	٣٦
التكبيـــــــر	٣٧
القدرة التوضيحية	٣٧
العدسة الزيتيـــة	٣٩
الإضـــــاءة	٤٠
مجهـــر المجـــال المظلـــم	٤١
المجهر متباين الأطوار الضوئى	٤٣
المجهـــــر الفلوروسنتـــى	٤٥
مجهر الأشعـــة فوق البنفسجيـــة	٤٦
المجهـــــر الالكترونـــى	٤٧
تجهيز العينات للفحـــص	٤٨
محددات الاستعمـــال	٤٩
إعداد العينات للفحص بالمجهر الضوئى	٥٠
الطريقة المبتلة وطريقة الأغشية المثبته المصبوغة	٥٠ ، ٥٢
مقارنة بين أنواع المجاهر المختلفة ..... **[جدول ٣-١]**	٥١
الصبغات الميكروبيولوجية	٥٢
الصبغـــة	٥٢
تقسيم الصبغات حسب تفاعلها	٥٢
تفاعل الصبغة	٥٣
الصبغ البسيط	٥٤

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

الصبغ التفريقى ٥٤
١- صبغة جرام ٥٤
سبب الاختلاف فى الصبغ ٥٥
الارتباط بين تفاعل جرام وخواص البكتريا ٥٦
٢- الصبغة الصامدة للأحماض ٥٦
بعض الفروق الهامة بين البكتريا الموجبة والبكتريا السالبة لصبغة جرام ..... **[جدول ٣-٢]** ٥٧
صبغات أخرى ٥٨
الصبغ السالب (غير المباشر) ٥٨

التعقيم ٥٩
باستعمال الحرارة ٥٩
التعقيم باللهب ٥٩
التعقيم بالحرارة الجافة ٦٠
التعقيم بالحرارة الرطبة ٦٠
١- التعقيم بالبخار المضغوط ٦٠
٢- التعقيم المتقطـــــــع ٦٢
بالترشيـــــــح ٦٢
المرشحات الطينية والورقية ٦٣
المرشحات الغشائيـــــــة ٦٤
بالكيماويـــــات ٦٥
غاز الاثيلين ٦٥
بالإشعـــــــاع ٦٦
الأشعة فوق البنفسجية ٦٧
التعقيم بأشعة جاما وأشعة الكاثود ٦٧

مقارنة بين الطرق المستخدمة فى التعقيم ..... **[جدول ٣-٤]** ٦٨ ، ٦٩

مراجع الباب الثالث ٧٠

﴿الباب الثالث﴾

طرق فحص ودراسة الميكروبات
Microbial Studying Methods

الميكروبات كائنات دقيقة ، لاترى بالعين المجردة ، وحتى نتمكن من رؤيتها وفحص تركيباتها الداخلية ، فإننا نستخدم المجهر (الميكروسكوب) Microscope الذى يعطى التكبير الكافى لتسهيل الرؤية وإجراء عمليات الفحص ، وقد يستلزم ذلك أيضا ، صبغ الأغشية الميكروبية Staining of smears ، كما تنمى الميكروبات فى بيئات مناسبة Media ، لدراستها تحت الظروف المعملية ، مع إجراء عمليات التعقيم المناسبة .

وسنقوم فى هذا الباب ، بشرح الأسس العامة لطرق فحص ودراسة الميكروبات ، دون الدخول فى تفاصيل الخطوات العملية ، التى يمكن الرجوع إليها فى الكتب الخاصة بالطرق العملية .

المجاهر (الميكروسكوبات)

المجهر ، هو الأداة المميزة لأى معمل ميكروبيولوجى ، فالمجهر بما يعطيه من تكبير للمرئى ، يمكننا من رؤية وفحص الميكروبات . والمجاهر ، من حيث الأساس فى عملية التكبير نوعان : ضوئية Light, Optical ، والكترونية Electron.

وفى حالة المجاهر الضوئية Light microscopes ، فإننا نحصل على التكبير ، بواسطة مجموعة من العدسات Lenses ، التى تستخدم الموجات الضوئية Light waves . وتتضمن المجاهر الضوئية

١ - مجهر المجال المضىء (الفاتح) Bright-field
٢ - مجهر المجال المظلم (الداكن) Dark-field
٣- المجهر الفلوروسنتى Fluorescent
٤- مجهر متباين الأطوار الضوئى Phase-contrast

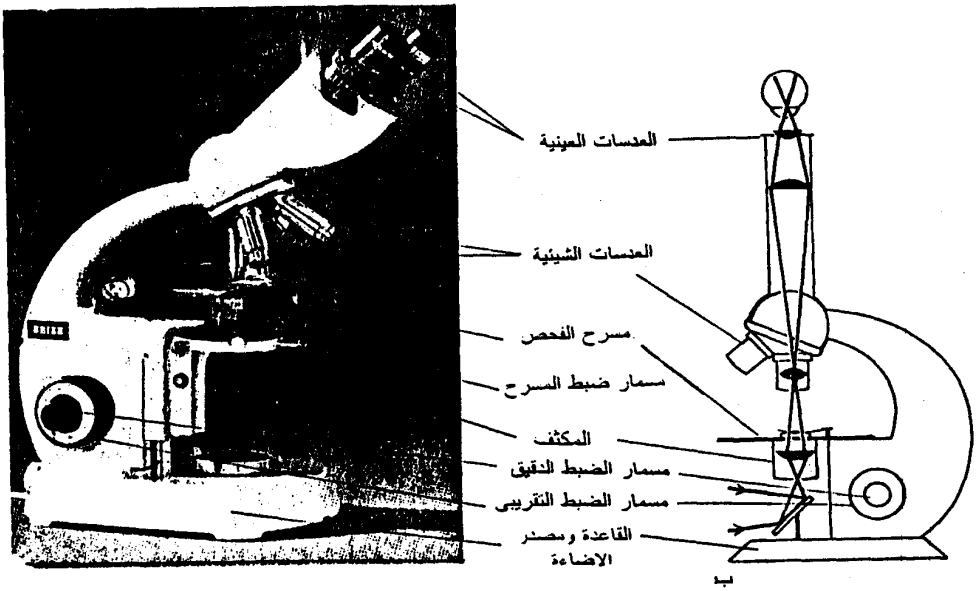
أما فى حالة المجهر الإلكترونى Electron microscope ، فإننا نستعمل شعاعا من الالكترونات Beam of electrons ، بدلا من الموجات الضوئية ، لاظهار الصورة . ويكون الفحص من خلال استعمال المجهر النافذ Transmission ، أو المجهر الماسح Scanning .

وتتم أغلب الدراسات العادية ، بواسطة مجهر المجال المضىء ، فهو أكثر الأنواع استعمالا فى العمل الروتينى . وتستعمل أنواع المجاهر الأخرى ، فى الدراسات البحثية ، ولأهداف محددة .

مجهر المجال المضيء : Bright-field microscope

يكون مجال الفحص بهذا المجهر مضيئا لامعا ، أما الميكروبات فإنها تظهر داكنة ، لأنها تمتص جزءاً من الضوء المار . وبصبغ الميكروبات فإن امتصاصها للضوء يزيد ، كما يزداد درجة تباينها مع الوسط . ويوضح الشكل (٣-١) الأجزاء البصرية لمجهر المجال المضيء ، ومسار الأشعة الخاصة بتكبير المرئى (الشيء المفحوص) Object .

وغالباً فإن هذا النوع من المجاهر ، يعطى تكبيراً يتراوح مابين ١٠٠٠ الى ٢٠٠٠ ، وعند زيادة التكبير عن ذلك ، فان تفاصيل الصورة تصبح غير واضحة .



شكل ٣-١ : مجهر المجال المضيء (المجهر المركب) ، مجهر الطالب

أ – الأجزاء المختلفة للمجهر

ب – مسار الضوء بالمجهر

التكبير : Magnification

تزود المجاهر المعملية عادة ، بثلاث عدسات شيئية Objectives ، ذات قوة تكبير وأبعاد بؤرية مختلفة ، وهى الصغرى Low-power ، والكبرى High-power ، والزيتية Oil-immersion . وقوة تكبير كل عدسة شيئية ، محفورة على حاملها المعدنى ، وهى عادة ×١٠ للصغرى ، ×٤٠ للكبرى ، ×١٠٠ للزيتية ، وأبعادها البؤرية على الترتيب هى ١٦ ، ٤ ، ٢ مم تقريبا . وعادة مايستعمل بالمجهر ، عدسة عينية Eye-piece lens ذات قوة تكبير ×١٠ ، وإن كان يوجد عدسات عينية ، ذات قوة تكبير أصغر أو أكبر من ذلك .

وقوة التكبير النهائية للمجهر ، هى عبارة عن حاصل ضرب قوة تكبير الشيئية المستعملة أثناء الفحص × قوة تكبير العينية المستعملة معها .

القدرة التوضيحية : Resolving power

إن مجرد زيادة حجم الصورة (زيادة التكبير) ، دون توفر القدرة على تمييز التفاصيل الدقيقة للصورة (زيادة الايضاح) . يجعل الفحص غير مجديا ، لأن تفاصيل الصورة المتكونة ستكون غير واضحة . وعلى ذلك ، يحد من زيادة قوة التكبير بالمجهر ، قدرته على الايضاح أى قدرته التوضيحية .

والقدرة التوضيحية هى عبارة عن القدرة على توضيح تفاصيل نقطتين شديدتى القرب ، وذلك بشكل واضح ومفصل ، وليس كجسم واحد غير واضح التفاصيل .

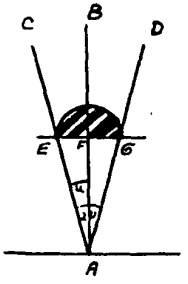
وتعتمد القدرة التوضيحية للمجهر (d) ، على طول موجة الضوء المستعمل فى الفحص (λ) ، وقيمة الفتحة الرقمية Numerical aperture (NA) للعدسة الشيئية المستعملة، وذلك حسب المعادلة

$$\text{القدرة التوضيحية ، } d = \frac{\text{نصف طول الموجه } (\lambda)}{\text{الفتحة الرقمية } (NA)} = \frac{0.5\,\lambda}{n \sin \alpha} \quad \text{حيث}$$

n = معامل انكسار الوسط بين المرئى والسطح الأمامى للعدسة الشيئية ، فقد يكون الوسط هواءا أو ماءا أو زيت غمس ... الخ .

α = نصف زاوية العدسة الشيئية ، أى نصف الزاوية المحصورة بين الشعاعين الضوئيين الطرفيين ، مبتدئين من منتصف المرئى ، الممتدين الى عين الفاحص أى الزاوية α (أنظر شكل ٣-٢) .

شكل ٣-٢ : الفتحة الرقمية



A-C,B,D : الأشعة الضوئية الماره من العينة الى العدسة الشيئية ، الى عين الفاحص

EFG : قطر العدسة الشيئية

EF أو FG : نصف قطر العدسة

Û : نصف زاوية العدسة الشيئية

FA : البعد البؤرى للعدسة الشيئية

وحيث أن الفتحة الرقمية (NA) للعدسة = n X sin α

$$\text{أى أن NA} = \text{جا} \frac{\text{نصف قطر العدسة الشيئية EF} \times \text{معامل انكسار الوسط}}{\text{البعد البؤرى للعدسة الشيئية FA}}$$

∴ NA تعبر عن خواص العدسة الشيئية المستعملة ، لأن NA هى محصلة العلاقة بين قطر العدسة ، وبعدها البؤرى ، ومعامل انكسار الوسط ، وهذه العلاقة هى التى تؤدى الى وضوح الصورة ، والتفرقة بين أجزائها المختلفة .

فى حالة العدسات الشيئية الجافة ، فإن معامل انكسار الوسط (n) ، وهو الهواء = ١ . وعند استعمال العدسات الزيتية فإن (n) = ١.٥ ، وهو معامل إنكسار زيت السيدر Cedar oil. ونظريا ، عندما تكون العدسة الشيئية ملامسة للمرئى ، فان α أى الزاوية μ = ٩٠° ، وتصبح جا α = ١ .

وبالتعويض فى المعادلة $n \sin \alpha = NA$ ، فإن أكبر قيمة لـ NA فى حالة العدسة الجافة = ١ × ١ = ١ ، وعمليا فإنها تساوى ٠,٩٥ ، وفى حالة العدسة الزيتية ، فإن NA = ١ × ١,٥ = ١,٥ ، وعمليا فإنها تساوى حوالى ١,٣ .

كلما صغر حجم التركيب المطلوب رؤية تفاصيله ، تطلب ذلك توفير قدرة توضيحية أكبر للمجهر ، وتزداد القدرة التوضيحية (d) للمجهر ، كلما قصر طول الموجه المستعملة فى الفحص ، وكلما زادت الفتحة الرقمية للعدسة الشيئية للمجهر ، وذلك حسب المعادلة

$$d = 0.5\lambda \div N.A$$

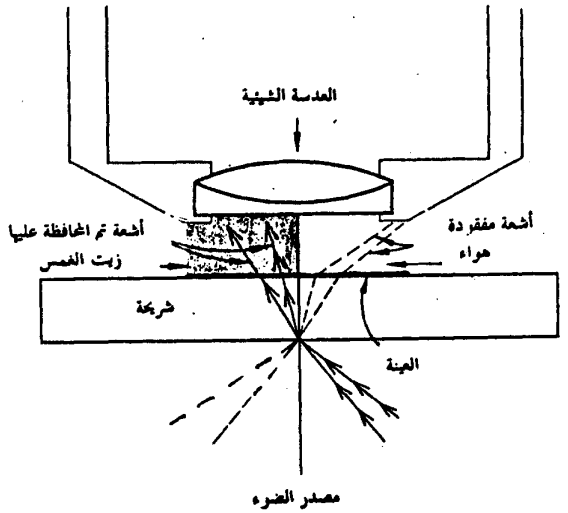
وطول الموجه الضوئية المستخدمة فى المجهر الضوئى ، محدودة ، وهى تتراوح مابين ٤٠٠٠ انجستروم (الضوء الأزرق) ، إلى ٨٠٠٠ انجستروم (الضوء الأحمر) .

وحيث أن أقصر طول موجى مرئى يمكن استعماله هو حوالى ٤٢٦ nm ، وأكبر فتحة رقمية يمكن الحصول عليها هى حوالى ١,٣ ، فإن أقصى قدرة توضيحيـــة للمجـــهر ســتكون محدودة بهذين العاملين ، وتحت أحسن الظروف ، فإن أصغر تركيب مرئى يمكن رؤية تفاصيله بوضوح = ٢١٣nm ÷ ١,٣ = حوالى ٢٠٠ µm أى ٠,٢ µm . وفـــى عبـــارة أخـــرى ، إذا اقتربت نقطتين من بعضهما ، لمسافة أقل من ٢٠٠ nm ، فإنـــه لايمكـــن رؤيتـــهما بوضـــوح كنقطتين منفصلتين .

العدسة الزيتية : Oil-immersion lens

وجد أن توسط نقطة زيت السيدر ، بين العدسة الشيئية والشريحة الزجاجية التى عليـــها المرئى ، يزيد من كمية الضوء النافذ من المكثف الى الشيئية ، وذلك يزيد من وضوح الرؤيـــة (شكل ٣-٣) .

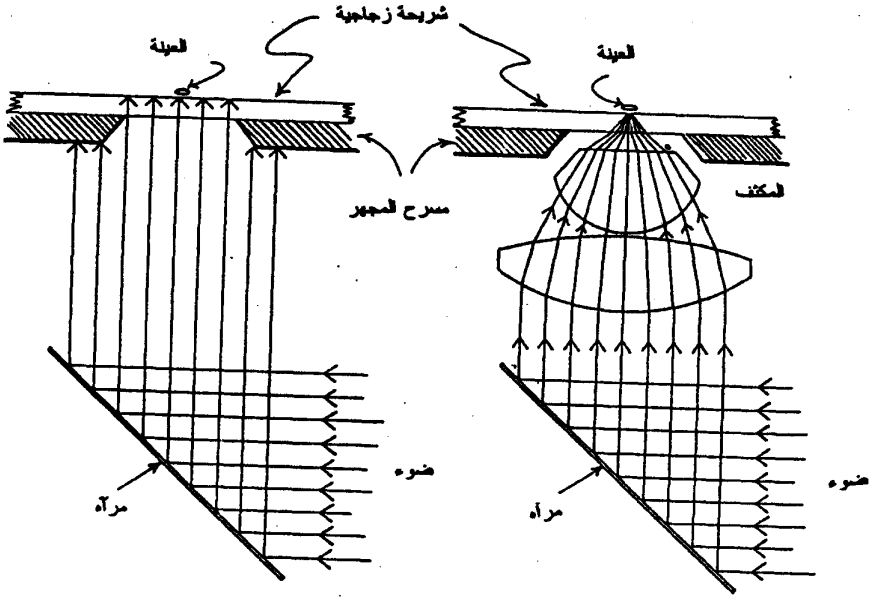
فالكثير من الأشعة التى تنكسر من المرئى على الشريحة الزجاجية ، لاتصل للعدســـة الزيتية ، لأن معامل انكسار الوسط بين الشريحة والعدسة ، وهو الهواء (=١) ، أقل من معـــامل انكسار زجاج الشريحة (١,٥) . ولكن بوضع زيت الغمس Immersion oil وهو له نفس معامل إنكسار الزجاج بين الشريحة والعدسة الشيئية الزيتية ، فإننا نقلل كثيرا من إنكســـار الأشـــعة ، وبذلك فإن نسبة أكبر من الأشعة المارة من المرئى ، ستصل مباشرة الى الشيئية ، مما يزيد مـــن كمية الضوء النافذ ، فيؤدى الى زيادة وضوح الصورة .



شكل ٣-٣ : كيف تزيد العدسة المغمسة فى الزيت كمية الإضاءة المارة من العينة الى العدسة الشيئية.

الاضاءة : Illumination

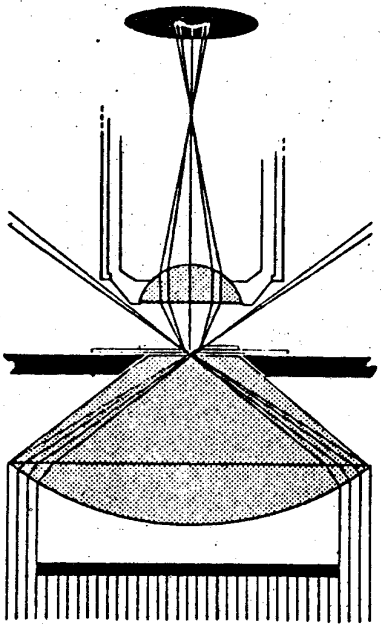
تعتبر الإضاءة المناسبة ضرورية ، للانتفاع الأمثل بقوة التكبير والتوضيح للمجـــهر . إن أيسر مصدر للاضاءة هو ضوء النهار ، ولكن نظرا لأن شدة ضوء النهار تختلف كثـــيرا ، فإنه عادة ماتستعمل مصادر الضوء الصناعى (غالبا لمبة تنجستين) . وتمتاز مثل هذه المصادر، بأنه يمكن التحكم فى لونها ، وشدتها ، وحجم الحزم الضوئية الصادرة منـــها . وبعـــد خـــروج الضوء من مصدره ، ينعكس على مرآه Mirror ، ثم يمر إلى المكثـــف Condenser ، الـــذى يركز الأشعة على المرئى (شكل ٣-٤) .



شكل (٣-٤) : إضاءة العينة المفحوصة بالمجهر ، فى وجود وعدم وجود مكثف . المكثف يوجه جميع الضوء المنعكس من المرآة ، إلى العينة

مجهر المجال المظلم : Dark-field microscope

فى هذا المجهر ، فإن مجال الفحص يكون مظلما ، بينما تبدو الأشياء المفحوصة مضيئة لامعة . ويتم ذلك بتزويد المجهر الضوئى ، بمكثفات خاصة ، تعطى إضاءة حلقية Annular ، وتكوّن مخروطا أجوفا Hollow cone of light من الضوء الصادر من مصدر الاضاءة ، (شكل ٣-٥) .



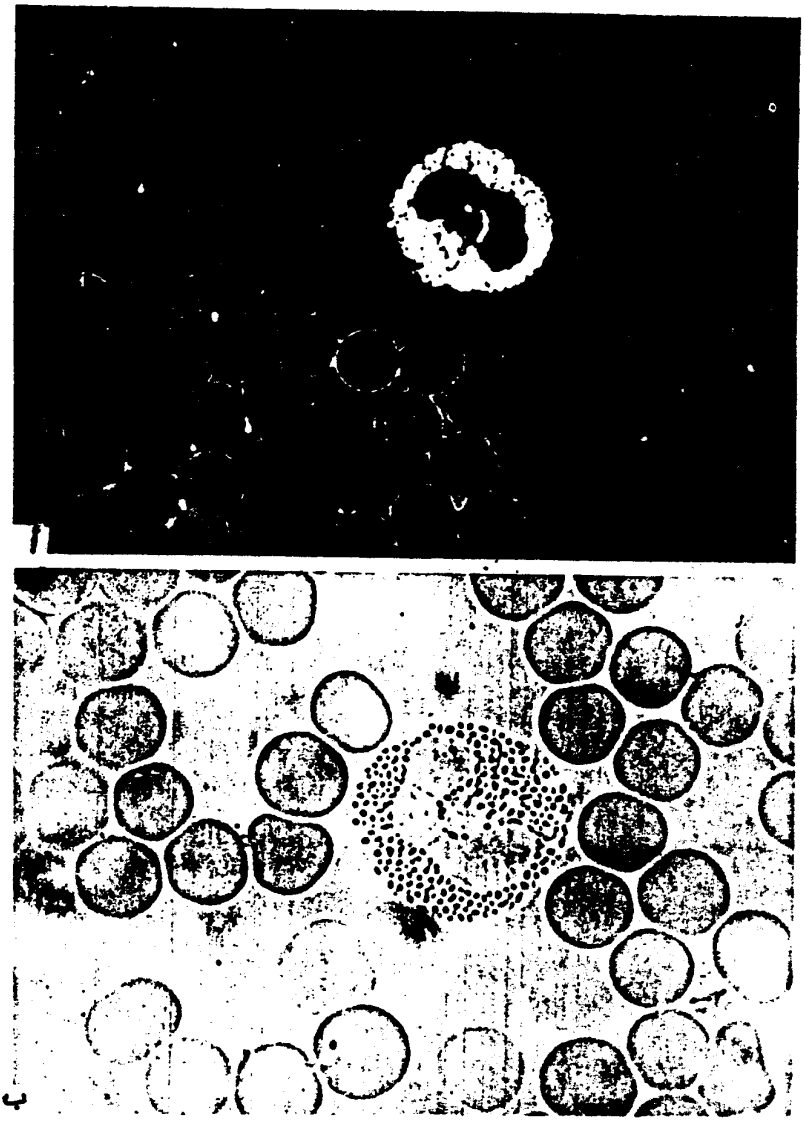
شكل (٣-٥) : مسار الضوء فى مجهر المجال المظلم

لاحظ أن الموجات الضوئية التى تصطدم بالعينة ، هى التى تنحنى فقط تجاه عين الفاحص

معظم الضوء المار من خلال المكثف ، سيتشتت Diffracted ، ولايدخل العدسة الشيئية ، فيبدو مجال الفحص مظلما . فإذا احتوى الوسط المنفذ على خلايا ميكروبية ، فإن بعض الأشعة المشتتة ، ستصطدم بالخلايا ، وتنعكس منها إلى الشيئية ، وتصل الى عين الفاحص . وبذلك يبدو الشىء المفحوص مضيئا لامعا ، بينما يبقى المجال مظلما (شكل ٣-٦) .

يصلح هذا المجهر أساسا ، فى فحص الخلايا غير المصبوغة بالتحضيرات المبتلة ، وفى فحص الحركة بالنقطة المعلقة ، وفى بعض النواحى الطبية ، كما فى تشخيص مسبب مرض الزهرى ، الذى تصعب رؤيته بالمجهر العادى .

مظهر كرات الدم البيضاء بالمجهر



شكل ٣-٦ : مظهر كرات الدم البيضاء محاطة بكرات دم حمراء ، عند الرؤية فى :
أ - مجهر المجال المظلم
ب - مجهر المجال المضىء

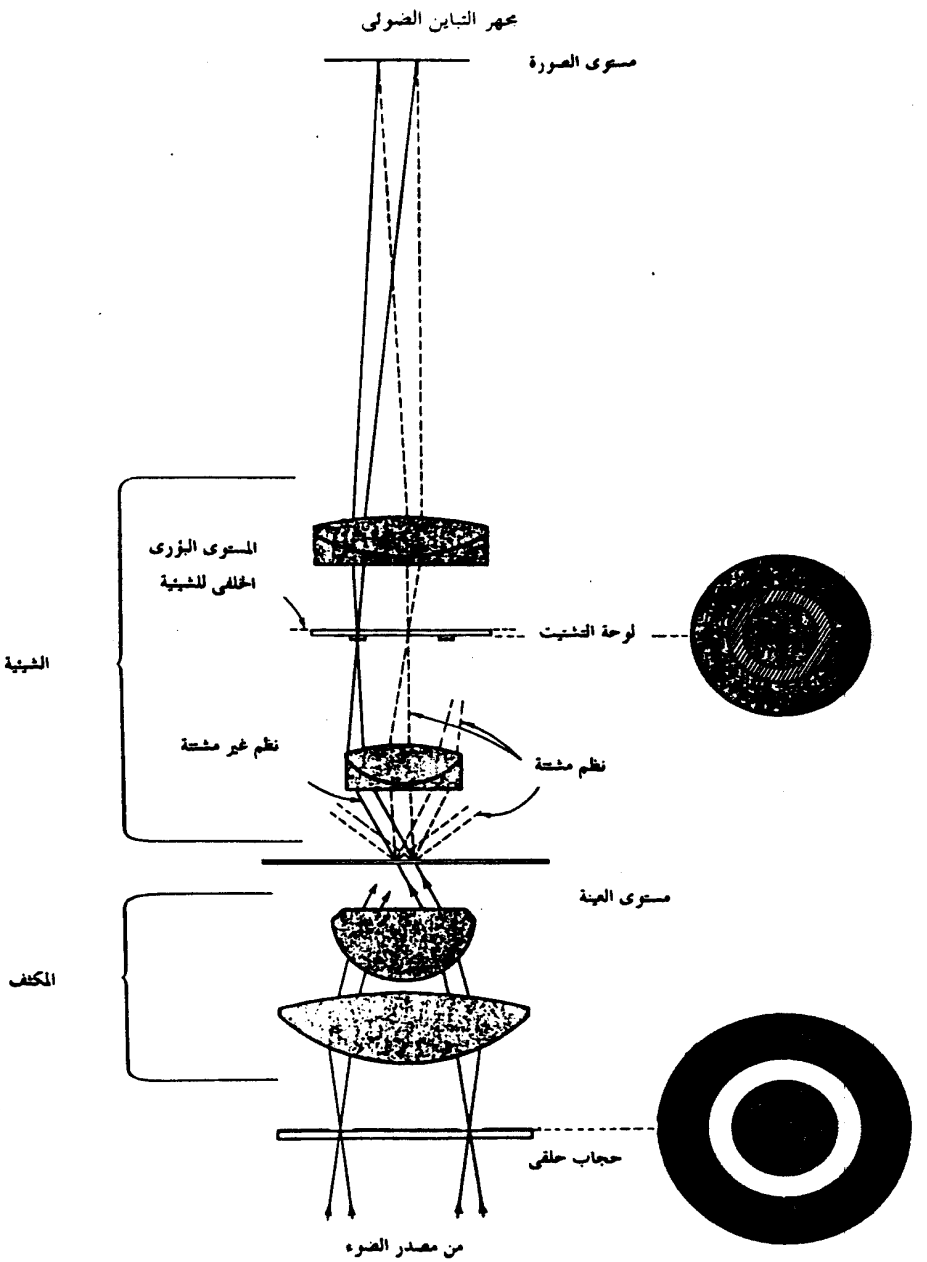
المجهر متباين الأطوار الضوئى : Phase-contrast microscope

الأساس الذى يعتمد عليه هذا المجهر ، هو وجود فروق- ولو طفيفة - فى معامل إنكسار الضوء ، تحدث نتيجة مروره فى مكونات الخلية الميكروبية ومحتوياتها والوسط المحيط بها . هذه الفروق ، تؤدى الى تأخير موجات الضوء ، أو تغير من اتجاهها ، مسببة تباينا فى أطوار Contrast of phases الموجات الضوئية المارة . ويعمل مجهر متباين الأطوار الضوئى على تقوية هذه الاختلافات ، وتحويلها إلى اختلافات فى شدة الإضاءة ، مما يزيد التباين بين مكونات الخلية ، ومحتوياتها ، والوسط المحيط ، فيسهل دراستها بحالتها الحية .

يوجد فى هذا المجهر الضوئى ، مكثفات خاصة ذات حجاب حلقى Annular diaphragm ، وله أيضا لوحة تشتيت Diffraction plate . وللمجهر نظامين للتباين :

التباين الفاتح Bright contrast ، وفى هذا النظام تظهر الصورة فاتحة على خلفية داكنة ، **والتباين الداكن Dark contrast** ، حيث تظهر الصورة داكنة عن الوسط المحيط بها .

والذى يحدد نوع ودرجة التباين ، هو نوع وتركيب لوحة التشتيت المستعملة ، من حيث المواد التى تمتص ، أو التى تؤخر الضوء المار من العينة المفحوصة (شكل ٣-٧) .



شكل ٣-٧ : تكون الصورة بالتباين الضوئى .

يستعمل هذا المجهر ، لدراسة الخلايا الحية غير المصبوغة ، فبواسطته يسهل دراسة التركيبات الخلوية ، وملاحظة الاختلافات بين الخلايا المختلفة (شكل ٣-٨) .

شكل ٣-٨ : مظهر خلايا حية غير مصبوغة عصوية لبكتريا *Pseudomonas fluorescens* عند رؤيتها بواسطة :

i - مجهر المجال المضيء (تظهر الخلايالكن غير مميزة)
ii - المجهر المتباين الأطوار الضوئى (تظهر الخلايا بوضوح)
iii - مجهر المجال المظلم (تظهر الخلايا بوضوح)

المجهر الفلوروسنتى : Fluorescent microscope

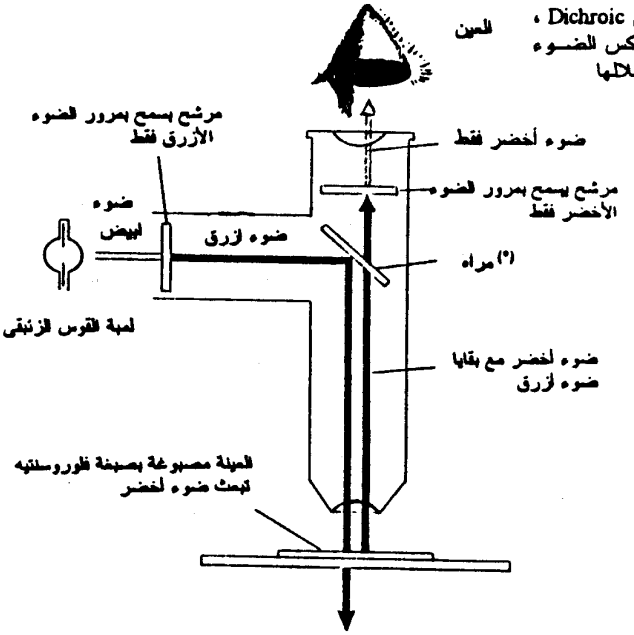
الأساس فى هذا المجهر (شكل ٣-٩) ، هو استعمال الصبغات الفلوروسنتيه Fluorescent dyes ، وهى مواد كيميائية ، لها القدرة على امتصاص ضوء قصير الطول الموجى ، ثم بثه فى صورة موجات أطول يمكن رؤيتها . وفى التطبيق العملى ، تصبغ الميكروبات بصبغة فلوروسنتيه ، وتضاء بالضوء الأزرق ، فتمتص الصبغة هذا الضوء الأزرق وتبثه فى صورة ضوء أخضر مرئى ، وعلى ذلك فإن عين الفاحص ، ترى الجزء المصبوغ من الغشاء ، بلون أخضر متوهج على خلفية سوداء ، أما الأجزاء غير المصبوغة من الغشاء ، فإنها تكون غير مرئية .

يستعمل هذا المجهر ، فى الدراسات المناعية الفلوروسنتيه Immunofluorescence ، فيما يعرف بتفاعلات الأنتجين والأجسام المضادة ، باستعمال طريقة الأجسام المضادة المفسفرة Fluorescent antibody technique . كما يستعمل هذا المجهر فى طرق التشخيص Diagnostic procedures ، وذلك لتعريف نوع معين من البكتريا - موجود فى مزرعة خليطة - بعد المعاملة بأنتيسيروم فلوروسنتى . كما يستعمل هذا المجهر فى التمييز بين سلالات الرايزوبيا، وفى دراسة طبيعة نمو جدار الخلية البكتيرية .

شكل ٣-٩ : الملامح العامة للمجهر الفلوروسنتى

(تظهر الأجزاء المصبوغة من العينة ، عند الفحص بلون أخضر على خلفية سوداء)

(*) المراه لها خاصية ثنائية اللون Dichroic ، أى تمتاز بأنها قادرة على أن تعكس الضوء بلون مختلف ، عن لونه المار خلالها



مجهر الأشعة فوق البنفسجية : Ultraviolet microscope

يستخدم فى هذا المجهر ، الأشعة فوق البنفسجية كمصدر للضوء . وفى هذه الحالة يستعمل بالمجهر عدسات من الكوارتز بدلا من الزجاج الذى يمنع مرور هذه الأشعة . كما أن الصورة لاترى بالعين ، بل تؤخذ على لوحات حساسة بواسطة آلة تصوير .

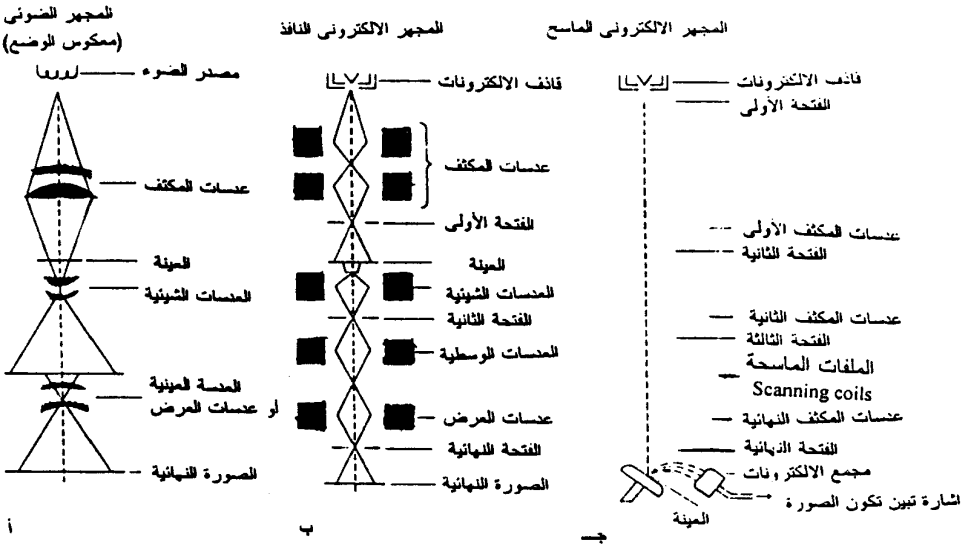
استعمال الأشعة فوق البنفسجية ، يزيد من القدرة التوضيحية بحوالى الضعف عن المجهر الضوئى . ويستعمل مجهر الأشعة فوق البنفسجية ، فى فحص التركيبات الخلوية ، والتمييز بينها ، وذلك بسبب اختلاف قدرة تلك التركيبات فيما بينها ، على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية بدرجات متفاوتة .

عموما ، فإن استعمال هذا المجهر ، أصبح محدودا ، بسبب صعوبة طريقة الفحص به ، التى تم تطويرها إلى طريقة المجهر الفلوروسنتى .

المجهر الإلكترونى : **Electron microscope**

يستعمل فى هذا المجهر (شكل ٣-١٠) ، شعاع من الإلكترونات ، ومجالات مغناطيسية حلقية ، للحصول على صورة للعينة ، وذلك بدلا من الموجات الضوئية والعدسات الزجاجية المستعملة فى حالة المجهر الضوئى .

وبما أن الطول الموجى للشعاع الإلكترونى متناهى فى الصغر ، لذلك فإن استعمال الإشعاع الإلكترونى ، يوفر قدرة توضيحية عالية للمجهر ، وهذا يمكننا من الوصول إلى قوة تكبير ضخمة .



شكل ٣-١٠ : رسم تخطيطى للمقارنة بين نظم تكوين الصورة فى
أ – المجهر الضوئى
ب – المجهر الالكترونى النافذ Transmission
جـ – المجهر الالكترونى الماسح Scanning

يستعمل عادة شريط تنجستين عند جهد ٣-١٥٠ كيلو فولت ، كمصدر للإلكترونات بالمجهر الإلكتروني وبواسطة مجهر الكتروني ، يستخدم الكترونات ذات جهد ٦٠-٨٠ كيلو فولت ، فأن طول الموجه يساوى ٠,٠٥ A° (انجستروم) فقط ، بما يسمح بقدرة توضيحية لأجسام قطرها ١٠ A° ، أى بزيادة أكثر من ١٠٠٠ مرة عن القدرة التوضيحية للمجهر الضوئى ، ويعطى قوة تكبير حتى ٤٠٠ ألف .

وبسبب مايوفره المجهر الالكترونى من قدرة توضيحية وقوة تكبير عالية ، فانه يستخدم فى فحص الأجسام الدقيقة كالفيروسات والبكتريا ، وفى دراسة سطوح الميكروبات وماعليها من زوائد ، وكذلك الأغشية الخلوية الميكروبية ، وفى فحص التركيبات الداخلية الدقيقة للخلايا الميكروبية ، وتحديد مواقعها بالخلية .

تجهيز العينات للفحص

نظرا لأن استخدام إشعاع الإلكترونات ، يحتاج إلى تفريغ كبير فى الحيز الداخلى لأنبوبة المجهر للمحافظة عليها، لذلك فإن طرقا خاصة يجب أن تتبع لتجهيز العينة , كما أن العينة يجب أن تكون ذات سمك مناسب ، لتستطيع الإلكترونات من أن تمر خلالها .

تجرى للعينة عملية تثبيت Fixation للمحافظة على تركيبها ، وتجفيف Dehydration لإزالة المثبتات الزائدة ، وطمر Embedding فى البلاستيك لمنع تشوه العينة عند عمل القطاعات . ولفحص التركيبات الداخلية للخلايا ، تعمل قطاعات رقيقة جدا Ulrathin بسمك يتراوح مابين ٣٠-٦٠ نانومتر ، وذلك للعينه المطمورة فى البلاستيك بواسطة جهاز الترامكروتوم Ultramicrotome ، ذو قاطع خاص من الزجاج أو الماس .

توضع الأغشية الرقيقة المجففة على شبكة صغيرة ، ثم توضع الشبكة بما عليها من غشاء فى نقطة بين المكثف المغناطيسى والشيئية المغناطيسية . هذه النقطة تعادل المسرح بالمجهر الضوئى .

يمر الإشعاع الإلكترونى ، من خلال سلسلة من المجالات المغناطيسية ، التى توجه الإلكترونات بطريقة تماثل نظام عمل العدسات فى المجهر الضوئى ، وبذلك فإن الإلكترونات التى تفقد ، أو التى تنعكس من الشيء المفحوص ، توجه لتكون صورة مكبرة . الصورة المتكونة يمكن رؤيتها على شاشة عرض مفسفرة Phosphorescent screen ، تسمح برؤية الصورة لامعة ، أو يمكن تصويرها على لوحات حساسة بآلة تصوير مثبتة بالمجهر . ويمكن تكبير الصورة المتكونة على اللوحة إلى ٦ مرات ، بواسطة جهاز مناسب ، دون أن تفقد الصورة تفاصيلها ، وبذلك نستطيع أن نكبر العينة الأصلية لعدة ملايين .

عند استخدام المجهر الإلكترونى النافذ ، فإننا نستعمل صبغات مناسبة لزيادة تباين العينة ، مثل الفوسفوتنجستات Phosphotungstate التى لاتنفذ إلى داخل العينة ، وتسمى الطريقة بطريقة الصبغ السالب Negative staining ، وتستعمل لفحص الفيروسات والأسواط البكتيرية ، كما نستعمل صبغة خلات اليورانيل Uranyl acetate ، التى تنفذ إلى داخل العينة ، وتسمى الطريقة بطريقة الصبغ الموجب Positive staining ، وتستعمل لفحص التركيبات الداخلية الدقيقة بالخلية الميكروبية .

ومن الطرق المستعملة فى الفحص : طريقة التظليل بالمعدن Metal shadowing ، والتحزيز بالتجميد Freeze-etching .

فى عملية التظليل بالمعدن ، تطمر العينة فى فيلم رقيق من أبخرة معدن كثيف الإلكترونات مثل البلاتين أو الذهب . حيث تغلف ذرات المعدن معالم سطح العينة بزوايا معينة لتعطى ظلالا بالمستوى السفلى للغشاء ، مما يزيد من وضوح العينة وإبراز معالم سطحها .

فى طريقة التحزيز بالتجميد ، فإن معلق الخلايا يجمد بسرعة فى قالب ، ثم تعمل قطاعات من العينة ، ويعرض السطح المستوى الناتج لتفريغ كبير ، فيتسامى الثلج ، تاركا التركيبات الدقيقة للخلية بحالتها In relief . تعمل طبعات من السطوح بالكربون Carbon replica ، ويقوى التباين بالتظليل المعدنى .

وقد أفادت طريقة التحزيز بالتجميد ، فى إعداد قطاعات للعينة ، دون حدوث التشوهات التى تحدث عند تحضير العينة ، نتيجة عملية التثبيت الكيميائى ، وبذلك أمكن فحص تركيبات الأغشية وسطوحها ، والتركيبات الخلوية الداخلية ، كما كانت عليه فى الحالة الحية .

الأنواع المستعملة فى الفحص

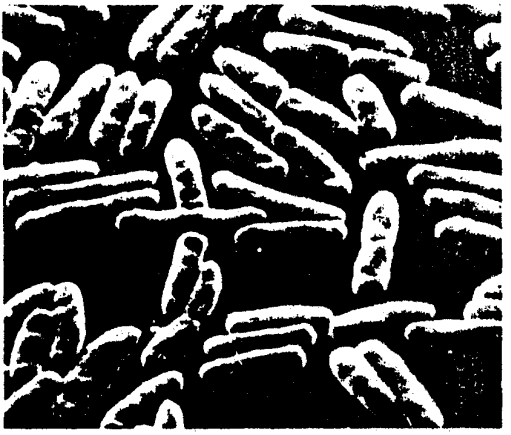
يوجد نوعان رئيسيان من المجهر الإلكترونى : المجهر الإلكترونى النافذ Transmission (TEM) ، والمجهر الإلكترونى الماسح Scanning (SEM) .

فى حالة المجهر النافذ ، تتعرض العينة كلية للإشعاع الإلكترونى ، الذى ينفذ من العينة ، ليكون الصورة على شاشة العرض . ويأتى التباين فى الصورة من الإختلافات فى الكثافة الإلكترونية للعينة ، أى من كمية الالكترونات التى تستطيع المرور من أجزاء العينة المختلفة .

أما فى المجهر الماسح ، فإن كمية قليلة من الإشعاع الإلكترونى هى التى تمسح العينة . وتتجمع الإلكترونات المنبعثة من العينة ، لتكون الصورة على أنبوبة أشعة المهبط Cathode tube . ورغم أن المجهر الماسح ، لايعطى القدرة التوضيحية العالية ، الناتجة من المجهر النافذ ، إلا أنه يعطى صورة للعينة ذات أبعاد ثلاثية Three-dimensional structure ، أى صورة مجسمة ، مما يجعله عظيم الفائدة فى دراسة الخواص المورفولوجية ومميزات السطوح ، للخلايا الميكروبية (شكل ٣-١١) .

محددات الاستعمال

رغم القدرة التوضيحية العالية ، وقوة التكبير الكبيرة ، التى يوفرها المجهر الإلكترونى ، إلا أن هناك عوامل تحدد استعماله . فالعينة يجب أن تفحص فى جو مفرغ ، لذلك فإن الخلايا لايمكن فحصها وهى حية . كما أن عملية تثبيت الغشاء وتجفيفه ، قد تحدث بعض التشوهات بالعينة ، وتغير من الخواص المورفولوجية للغشاء . ولدراسة التركيبات الداخلية بالخلية ، فإن الأمر يتطلب عمل قطاعات رقيقة جدا ، حتى تستطيع الإلكترونات أن تمر خلالها، وعلاوة على ذلك ، فإن استخلاص النتائج ، خاصة تلك المتعلقة بتعريف التركيبات الداخلية للخلية ، يتطلب خبرة كبيرة من الفاحص .



شكل ٣-١١ : صورة بالمجهر الالكترونى الماسح لخلايا بكتريا
Pseudomonas aeruginosa

متوسط أبعاد هذه البكتريا :
٠,٥ – ١,٠ × ١,٥ – ٤,٠ µm .

وجدول ٣-١ التالى ، يوضح بعض المعالم الرئيسية للمجاهر المستعملة فى الفحص البيولوجى .

إعداد العينات للفحص بالمجهر الضوئى

تستعمل طريقتان أساسيتان ؛ لاعداد العينات للفحص بالمجهر الضوئى . إحداهما فحص الميكروبات المعلقة فى السائل (الطريقة المبتله وطريقة النقطة المعلقة) ، والثانية لفحص الغشاء الميكروبى بعد تجفيفة وتثبيته وصبغه .

الطريقة المبتلة : Wet-mount technique

تسمح الطريقة المبتلة بفحص الميكروبات ، فى حالتها الحية الطبيعية ، وهى عالقة فى نقطة من البيئة النامية عليها . توضع نقطة من المزرعة السائلة ، أو من السائل المحتوى على الميكروبات ، على شريحة زجاجية ، ثم تغطى النقطة بغطاء الشريحة . قد تحاط النقطة ، أو تجويف الشريحة ، بفازلين أو مادة مشابهة ، لاحكام التصاق الغطاء بالشريحة ، وذلك لتجنب تأثير تيارات الهواء ، وتقليل البخر .

قد يستعمل فى التحضيرات المبتلة ، شريحة خاصة ذات تجويف ، حيث توضع نقطة معلق الميكروبات فى وسط غطاء الشريحة ، ثم يقلب الغطاء ويوضع على تجويف الشريحة لعمل نقطة معلقة Hanging drop .

يفضل استعمال طريقة الفحص بالطريقة المبتلة ، عند دراسة الشكل المورفولوجى للبكتريا الحلزونية ، مثل بكتريا الزهرى ، الذى يتعرض للتلف عند فحصه مصبوغا ، وفى دراسة حركة البكتريا ، والتغيرات السيتولوجية التى تحدث أثناء انقسام الخلية ، وتكون الجراثيم وإنباتها ، وكذلك فى دراسة بعض المواد المخزنة بالخلية مثل اللبيدات والفجوات .

جدول ٣-١ : مقارنة بين أنواع المجاهر المختلفة .

نوع المجهر	أقصى قوة تكبير مستخدمة	مظهر العينة	الاستخدامات الهامة
المجال المضيء Bright-field	١٠٠٠ – ٢٠٠٠	الغشاء يصبغ أو لا يصبغ وعادة تصبغ البكتريا ، وتظهر لون الصبغة	الدراسات المورفولوجية الخاصة بالبكتريا ، الخمائر ، الفطريات ، الطحالب ، البروتوزوا
المجال المظلم Dark-field	١٠٠٠ – ٢٠٠٠	الخلايا عادة لاتصبغ تظهر الخلايا مضيئة لامعة بينما المجال يكون مظلما	دراسة الميكروبات التى لها خواص مورفولوجية معينة وهى حية أو فى السوائل ، مثل السبيروكيتا
متباين الأطوار الضوئى Phase contrast	١٠٠٠ – ٢٠٠٠	درجات مختلفة من التباين فى الاضاءة	دراسة التركيبات الخلوية ، فى الخلايا الحية كبيرة الحجم مثل الخمائر ، الفطريات ، البروتوزوا ، وبعض البكتريا
الفلوروسنتى Fluorescent	١٠٠٠ – ٢٠٠٠	يظهر الغشاء لامعا وملونا بلون الصبغة الفلوروسنتية	الدراسات التشخيصية لتعريف الميكروب تفاعلات الأنتجين والأجسام المضادة
الالكترونى Electron	٢٠٠ ألف – ٤٠٠ ألف	ترى العينة على شاشة مفسفرة	فحص الفيروسات ، والتركيبات الدقيقة بالخلايا الميكروبية

References :

Bradbury, S. (1968). The Microscope, Past and Present. Pergamon, New York.
Ohnsorge, J. & R. Holme (1973). Scanning Electron Microscopy Publishing Science Group. Acton Mass . U.S.A.
Weakley, Brenda, S. (1972). A Beginner's Handbook in Biological Electron Microscopy. Williams & Wilkins. Baltimore, USA.

طريقة الأغشية المثبتة المصبوغة Fixed stained smears

البكتريا عديمة اللون تقريبا ، شبه شفافة ، لذلك فإن صبغ خلاياها ، يزيد من وضـــوح رؤيتها ، وسهولة تمييزها عن الوسط الموجودة به . من أجل ذلـــك ، فـــإن طريقـــة الأغشـــية المصبوغة شائعة الإستعمال فى فحص خلايا البكتريا ، لدراسة شكلها الظاهرى ، وتركيباتـــــها الخارجية والداخلية ، والتمييز بين أنواعها ، باستعمال طريقة الصبغ المناسبة .

وتتضمن الخطوات الأساسية ، فى تحضير غشاء مثبت مصبوغ ، الخطوات الآتية

١- تحضير الغشاء Preparation of film, smear

٢- تثبيت الغشاء ..... Fixation

٣- الصبغ Staining بنوع واحد أو أكثر من الصبغات

الصبغات الميكروبيولوجية

الصبغة Dye ، عبارة عن أملاح مركبات عضوية ملونة ، غالبا ماتكون نواتج قطـوان الفحم Coal tar ، وعندما تتأين الصبغة ، فان أحد أيوناتها يحمل اللون ، وتصبح له القدرة على الإتحاد مع بعض المواد الأخرى ، وإكسابها لونا معينا .

تنتمى الصبغات الى مجموعات كيميائية عديدة منها

- **مجموعـــة Triphenyl methane dyes** : ويتبـــع هـــذه المجموعـــة أغلـــب الصبغـــات اليكتريولوجية الهامة مثل : المالاكيت الأخضر ، الفوكسين الحامضى والقاعدى ، الكريســـتال البنفسجى ، الروزانيلين .
- **مجموعة Xanthine dyes** : ويتبعـــها الأيوســـين ، الإريزروســـــين ، الفلوروســـــين ، الروزبنجال ، وبعض الأدلة .
- **مجموعة Azo dyes** : ويتبعها كونجو رد ، سودان بلاك B .
- **مجموعة Thiazine dyes** : ويتبعها المثيلين الأزرق ، تولويدين بلو .
- **مجموعة Oxazine dyes** : ويتبعها الريزازورين .
- **مجموعة Azine dyes** : ويتبعها النيجروسين .

وتقسم الصبغات حسب تفاعلها ، إلى صبغات حامضية ، وقاعدية ، ومتعادلة .

الصبغات الحامضية Acidic, anionic dyes ، عبارة عن أملاح (غالبـــا الصوديـــوم) لأحماض ملونة . وعندما تتأين الصبغة الحامضية ، فإن الأنيون ذو الشحنة السالبة ، هو الـــذى يحمل اللون من جزىء الصبغة .

من أمثلة هذه الصبغات : الفوكسين الحامضى ، النيجروسين ، والأيوسين . وعلى سبيل المثال فعندما تتاين صبغة الأيوسين (وهى عبارة عن ملح أيوسينات صوديوم) ، فإنها تعطى (صوديوم)$^{+}$ و(أيوسينات)$^{-}$ ، وهذا الأنيون السالب الشحنة (الايوسينات)$^{-}$ ، هو حامل لون الصبغة Chromophore .

الصبغات القاعدية Basic, cationic dyes ، عبارة عن أملاح (غالبا الكلوريد) لقواعد ملونة . وعندما تتاين الصبغة القاعدية ، فإن الكاتيون ذو الشحنة الموجبة ، هو الذى يحمل اللون من جزىء الصبغة .

من أمثلة هذه الصبغات : المثيلين الأزرق ، المالاكيت الأخضر ، الكريستال البنفسجى. وعلى سبيل المثال ، فعندما تتاين صبغة المثيلين الأزرق (وهى عبارة عن كلوريد المثيلين) ، فإنها تعطى (كل)$^{-}$ و(مثيلين أزرق)$^{+}$ ، وهذا الكاتيون الموجب الشحنة (المثيلين الأزرق)$^{+}$ ، هو حامل لون الصبغة .

الصبغات المتعادلة Neutral dyes عبارة عن ملح مركب من صبغة حامضية مع صبغة قاعدية ، مثل صبغة أيوسينات المثيلين الأزرق Eosinate of methylene blue .

تستعمل كل من الصبغات الحامضية والقاعدية فى الأعمال البكتريولوجية ، وتصبغ الصبغات الحامضية عادة ، الأجزاء القاعدية من الخلية ، بينما تصبغ الصبغات القاعدية ، الأجزاء الحامضية من الخلية مثل النواه . وعموما ، فإن الصبغات القاعدية شائعة الاستعمال فى صبغ البكتريا .

تفاعل الصبغة

تحمل خلايا البكتريا ، شحنة سالبة ، عندما يكون الرقم الايدروجينى للوسط قريبا من التعادل ، وهو الوسط المعتاد غالبا لنمو البكتريا . وعند استعمال صبغة قاعدية مثل المثيلين الأزرق ، تتحد خلايا البكتريا ذات الشحنه السالبة ، مع أيون المثيلين الأزرق ذو الشحنه الموجبة ، مما يؤدى الى صبغ الخلية . وعلى ذلك فإن الاختلاف فى الشحنة ، هو الذى يكون حالة قابلية الإرتباط **Affinity** بين الصبغة وبين خلية البكتريا .

تتم عملية الصبغ نتيجة تفاعلات تبادل أيونى Ion-exchange reactions ، تحدث بين الصبغة والجزء القابل للصبغ بسطح أو بداخل الخلية . وقد تتفاعل الصبغة مع بعض المجاميع الكيميائية المكونة لبروتين الخلية أو الأحماض النووية ، مع تكوين ملح أو مركب كيميائى . وفى حالات أخرى ، يحدث الصبغ نتيجة تغليف الصبغة لسطح الخلية بالإدمصاص ، أو نتيجة الإذابة والترسيب فى المادة المحيطة بالخلايا .

ويمكن تمثيل تفاعلات التبادل الأيونى ، التى تتم عند الصبغ ، بالمعادلة العامة التالية ، حيث يحل كاتيون المثيلين الأزرق الموجب الشحنة بالصبغة ، محل كاتيون الصوديوم الموجب الشحنة بالخلية ، وبذلك يتحد كاتيون المثيلين بخلية البكتريا السالبة الشحنة .

(خلية بكتريا $^-$) (ص$^+$) + (كلوريد $^-$) (المثيلين الأزرق $^+$) ←

(خلية بكتريا $^-$) (المثيلين الأزرق $^+$) + (ص$^+$ كل $^-$)

عموما ، فقد لوحظ أن الكثير من التفاعلات التى تتم بين الصبغة ومكونات الخلية ، ليست كلها فيزيائية أو كلها كيميائية ، ولكنها غالبا ماتجمع بين النوعين من التفاعلات .

قد يضاف **لمحلول الصبغة Stain** ، بعض المواد التى تزيد من قدرتها على الصبغ ، مثل الفينول الذى يزيد من قدرة الصبغة على النفاذ بالخلية ، كما أن استعمال الحرارة أثناء الصبغ يزيد من قوة اتحاد الصبغة بالخلية ، وهناك مواد أخرى تسمى مرسخات **Mordants** ، لها القدرة على أن تكون مع الصبغة مركبات غير ذائبة ، ترسب على الخلايا ، وتثبت الصبغة بها ، وبذلك تعمل المرسخات على ترسيب الصبغة وتثبيتها بالخلايا ، فتزيد من القدرة على الصبغ .

ومن أمثلة المرسخات : حامض التانيك المستعمل فى صبغ جدار الخلية ، واليود المستعمل فى صبغة جرام ، وكذلك بعض القواعد وأملاح المعادن .

الصبغ البسيط Simple staining

فى هذه الطريقة ، تستعمل صبغة واحدة لتلوين البكتريا المثبتة بالغشاء ، ويأخذ الميكروب لون الصبغة المستعملة ، مثل الصبغ بالصفرانين ، أو كربول الفوكسين أو المثيلين الأزرق .

وتستعمل هذه الطريقة من الصبغ ، لتمييز البكتريا عن الوسط المحيط بها ، ولبيان شكلها ، وحجمها ، ونظام تجمعها . وفى بعض الحالات خاصة عند الصبغ بالمثيلين الأزرق ، فان بعض الحبيبات الموجودة بداخل الخلية ، تصبغ بدرجة أكبر عن باقى الخلية ، مما يشير الى إحتوائها على تركيبات كيميائية مختلفة .

الصبغ التفريقى (التمييزى) Differential staining

فى هذه الطرق ، تستعمل أكثر من صبغة واحدة ، فى عدة خطوات متتالية ، أو فى خطوة واحدة . وتستعمل هذه الطرق للتمييز بين أنواع البكتريا المختلفة ، أو لتمييز أجزاء الخلية البكتيرية ، وبعض تركيباتها المختلفة .

ومن الصبغات التفريقية المستعملة فى الفحص البكتريولوجى

١-صبغة جرام : Gram stain

تعتبر طريقة الصبغ بجرام ، من أهم الطرق المستعملة فى دراسة البكتريا ، والتمييز بين أنواعها ، وإن كانت لاتستعمل عادة مع الميكروبات الأخرى كالبروتوزوا والفطر ، أما الخمائر ، فإنها تظهر دائما موجبة لصبغة جرام .

أدخلت هذه الطريقة عام ١٨٨٤ ، بواسطة العالم الدانمركى جـرام Christian Gram. وفى هذه الطريقة ، يعرض الغشاء المثبت لصبغة الكريستال البنفسجى (كصبغة أساسية Basic stain) ، ثم محلول اليود (كمرسخ Mordant) ، ثم كحول الإيثانول (كعامل لإزالة اللون Decolorizing agent) ، ثم الصفرانين أو الفوكسين المخفف (كصبغة مضادة Counter-stain) .

الخلايا التى تحتفظ بلون الصبغة الأساسية (اللون البنفسجى) عقب استعمال مزيل اللون ، تسمى موجبة لصبغة جرام Gram-positive ، أما الخلايا التى زالت منها الصبغة الأساسية ، وأخذت لون الصبغة المضادة (اللون المحمر) ، فتسمى سالبة لصبغة جرام Gram-negative . وعلى ذلك ، فإنه باستعمال طريقة الصبغ بجرام ، يمكن تقسيم البكتريا الى مجموعتين : مجموعة موجبة لصبغة جرام وأخرى سالبة لصبغة لجرام .

سبب الاختلاف فى الصبغ

يعتقد أن سبب الإختلاف فى الصبغ ، بين هاتين المجموعتين من خلايا البكتريا ، الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، يعود إلى الإختلافات الموجودة بين جدر الخلايا البكتيرية ، من حيث طبيعة بناء تلك الجدر ، والتركيب الكيميائى لتلك الطبقات السطحية من الخلايا البكتيرية .

فبينما نجد أن جدار البكتريا الموجبة لصبغة جرام سميك وبه نسبة قليلة من اللبيدات ، إذ يتكون أساسا من طبقة سميكة من الببتيدوجلوكان Peptidoglucan ، نجد أن جدار البكتريا السالبة لصبغة جرام رقيق وبه نسبة مرتفعة من اللبيدات ، حيث يتكون من عدة طبقات Multilayered : طبقة رقيقة من الببتيدوجلوكان ، محاطة بطبقات خارجية من البروتين واللبيدات وعديدات التسكر .

هذه الاختلافات فى التركيب بين نوعى البكتريا ، وفى درجة نفاذية تلك التركيبات السطحية للمحاليل المستعملة فى صبغة جرام ، تسبب التفرقة فى الصبغ بين نوعى البكتريا .

فعند صبغ الخلايا السالبة لصبغة لجرام ، وهى ذات جدار خلوى رقيق وبه نسبة مرتفعة من اللبيدات ، فان الكحول يزيل اللبيدات ، فتزداد سعة الثقوب spores الموجودة بالجدار وبالتالى يمكن إزالة معقد الكريستال البنفسجى واليود Crystal violet iodine complex ، الذى تكون نتيجة الصبغ ، بواسطة مزيل اللون ، وبذلك تفقد الخلايا لون الصبغة البنفسجى ، وتأخذ لون الصفرانين المحمر .

بينما فى الخلايا الموجبة لصبغة جرام ، وهى ذات جدار خلوى سميك وبه نسبة قليلة من اللبيدات ، فان الكحول يسبب تجفيفا للجدار ، فتقل سعة ثقوبه وتقل نفاذيته ، فلا يزول معقد الكريستال البنفسجى واليود ، المترابط مع طبقة الببتيدوجلوكان السميكة ، وبذلك تحتفظ الخلايا باللون البنفسجى ، بعد استعمال مزيل اللون .

ومما يؤيد أن جدار الخلية ، هو المكان الذى يحتفظ بلون الصبغة الأساسية (البنفسجى) ، فإنه عند معاملة البكتريا الموجبة لصبغة جرام بإنزيم الليسوزيم (وهو انزيم يحلل جدار الخلية ، ويحولها الى بروتوبلاست ، أى خلية بدون جدار) ، فإن الخلية تفقد خاصية الاحتفاظ بلون صبغة الكريستال البنفسجى .

وعلى الرغم من أن البكتريا السالبة لصبغة جرام ، ثابته دائما فى تفاعلها مع صبغة جرام ، أى لاتحتفظ بلون صبغة الكريستال البنفسجى ، فإن البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، تحت ظروف خاصة ، تكون متباينة Gram variable فى تفاعلها مع هذه الصبغة ، فتفقد إيجابيتها على الاصطباغ بها ، وتظهر سالبة . ويحدث ذلك نتيجة لقدم المزرعة ، أو لحدوث اختلافات فى الظروف البيئية ، كزيادة حموضة البيئة ، أو معاملة الخلايا بإنزيم الرايبونيوكليز أو أملاح الصفراء ، أو سحق الخلايا ، أو حدوث إختلافات فى طريقة الصبغ مثل عدم إعطاء الوقت الكافى لكل خطوة ، أو إستعمال أصباغ قديمة ، أو استعمال الكحول أثناء الصبغ بدون احتراس .

ونجد داخل أفراد بعض المجاميع البكتيرية ، مثل مجموعة الأركى باكتريا Archaebacteria، نجد أن بعضها يكون موجبا لصبغة جرام ، والبعض الآخر يكون سالبا لصبغة جرام ، وهذا يدل على أن التركيب البنائى والكيميائى لجدر خلايا بكتريا الأركى ، يختلف كثيراً عن تركيب الجدر فى البكتريا العادية (الحقيقية) سواء الموجبة أو السالبة لصبغة جرام .

الإرتباط بين تفاعل جرام وخواص البكتريا

تختلف البكتريا الموجبة لصبغة جرام فى بعض الخواص عن البكتريا السالبة لصبغة جرام . ويوضح الجدول (٣-٢) بعض المميزات الهامة لكل مجموعة .

٢- الصبغة الصامدة للأحماض : Acid-fast stain

يصعب بالطرق العادية ، صبغ بعض خلايا البكتريا ، مثل الميكوبكتريا والأكتينوميسيتات ، وذلك لإحتوائها على نسبة مرتفعة من مواد شمعية ولبيدات ، لاتسمح للصبغة العادية بتخلل الخلية ، لذلك نلجأ الى صبغ هذه الخلايا بطريقة الصبغ الصامد للأحماض .

فى هذه الطريقة ، تعرض الأغشية المثبتة ، إلى صبغة كربول الفوكسين (وهى صبغة ذات قابلية كبيرة لصبغ هذه الخلايا) ، مع التسخين (لتمكين الصبغة من النفاذ إلى الخلايا) ، ثم الغسيل بكحول ايثانول حامضى (كحول ايثانول مضاف له حامض ايدروكلوريك) ، ثم الصبغ بالمثيلين الأزرق كصبغة مضادة .

خلايا البكتريا التى تحتفظ باللون الأحمر لصبغة كربول الفوكسين ، تسمى صامدة (مقاومة) للأحماض ، حيث أن الصبغة تثبت فيها ، ويتعذر إزالتها حتى باستعمال الكحول المضاف له الحامض ، وبسبب هذه الخاصية ، أطلق على هذه الطريقة من الصبغ ، مصطلح الصبغ الصامد (المقاوم) للأحماض ، أما الخلايا غير المقاومة للأحماض Non-acid fast ، فإن

جدول ٣-٢ : بعض الفروق الهامة بين البكتريا الموجبة والبكتريا السالبة لصبغة جرام .

الخاصية	بكتريا موجبة لجرام	بكتريا سالبة لجرام
تأثير الصبغات القاعدية (كالكريستال البنفسجى)	حساسة	أقل حساسية
تأثير مركبات السلفا	حساسة	أقل حساسية
تأثير المضادات الحيوية	حساسة للبنسلين	حساسة للإستربتومايسين
تأثير الجذب السطحي المنخفض	حساسة	أقل حساسية
تحلل جدار الخلية بانزيم الليسوزيم	يتحلل	تحتاج الى معاملات خاصة ، لكي تتأثر بالانزيم
تحلل الخلايا (الميته) بانزيمى الببسين والتربسين	مقاومة	حساسة
تأثير أزيد الصوديوم	مقاومة	حساسة
الإذابة فى ١% NaOH	مقاومة	تذوب
نسبة الرنا إلى الدنا ، بالخلية (تقريبا)	١:٨	١:١
وجود الأحماض الأمينية والكبريتية فى جدار الخلية	لايوجد	يوجد
وجود اللبيدات فى جدار الخلية	قليل	كثير
نقطة التعادل الكهربائية (pH)	٢,٥ - ٤,٠	٤,٥ - ٥,٥
الأنواع التابعة	العصويات المتجرثمة وأغلب الكرويات	أغلب العصويات غير المتجرثمة وبعض الكرويات

الكحول الحامضى يزيل منها لون صبغة كربول الفوكسين الأحمر ، وبذلك تأخذ الخلايا اللون الأزرق للصبغة المضادة ، صبغة المثيلين الأزرق .

تحتوى أغلفة الخلايا الصامدة للأحماض ، على نسبة مرتفعة من اللبيدات (خاصة من حامض المايكوليك)* ، وعند الصبغ ، ومع التسخين ، فإن محلول الصبغة (كربول الفوكسين والفينول) ينفذ إلى الخلية ، وتمنع أغلفة الخلية ، اللون الأحمر لكربول الفوكسين ، من الخروج من الخلية ، حتى ولو عوملت الخلية بكحول حامضى ، ولكن إذا ماأزيلت أغلفة الخلية ، فإن اللبيدات تخرج مع أغلفة الخلية ، وبذلك تفقد الخلية قدرتها على الصبغ المقاوم للأحماض .

* حامض المايكوليك Mycolic acid ، حامض دهنى ، إيدروكسيلى ، طويل السلسلة الكربونية ، متفرع ، وهو المسئول أساساً عن خاصية الصبغ الحامضى . أنظر تقسيم المايكوبكتريوم ، الباب السابع ، الفصل الثانى ، ص ٤١٢.

تستعمل طريقة الصبغ الصامد للأحماض ، فى تشخيص ودراســـة مســـببات بعـــض الأمراض ، مثل مرض السل والجذام ، التى تسببها أنواع من البكتريا الصامدة للأحماض تابعـة لجنس *Mycobacterium* ، كما أن هذه الصبغة تستعمل كصبغة تفريقية لعدد كبير من البكتريا المترممة ، غير الضارة ، الصامدة للأحماض .

ومما يذكر ، فإن الكائنات الصامدة للأحماض ، موجبة لصبغة جرام ، غير أن صبغـة جرام فى هذه الحالات ، لاتعطى المعلومات الكافية عن هذه الخلايا ، مثل تلك التـــى توفرهـا الصبغة الصامدة للأحماض .

صبغات أخرى :

بالإضافة إلى ماسبق ، فإنه توجد صبغات وطرق أخرى من الصبغ ، تستعمل لفحـص وتمييز التركيبات المختلفة بالخلية . **ومن أمثلة هذه الصبغات**

١- صبغة الجراثيم الداخلية ..... Endospore stain
٢- صبغة الكابسول (العلبة) ..... Capsule stain
٣- صبغة جدار الخلية ..... Cell-wall stain
٤- صبغة الأسواط (الفلاجلات) ..... Flagella stain
٥- صبغة فولجين (لصبغ المادة النووية) ..... Feulgen stain
٦- صبغة جيمسا (لصبغ الريكتسيا وبعض البروتوزوا) Giemsa stain
٧- صبغات المواد المخزنة بالسيتوبلازم Cytoplasmic inclusion stains

مثل صبغ حبيبات النشا ، الجليكوجين ، عديد الفوسفات ، حامض هيدروكسى بيوتـــيريك ، وغيرها من المواد المخزنة .

الصبغ السالب (غير المباشر) : Negative (indirect) staining

يستعمل فى هذه الطريقة ، الصبغات الحامضية ، مثـــل الأيوســـين أو النيجروســـين . وتعود قدرة هذه الصبغات على التلوين الى أيونها السالب . هذه الأيونات السالبة للصبغة لاتتحـد مع خلايا البكتريا السالبة الشحنة ، وبالتالى لاتصبغها ، ولكن ترسب على الشريحة حول خلايـــا البكتريا ، ويظهر الميكروب شفافا غير مصبوغ ، على شريحة مصبوغة ملونة ، لذلك فإن هـــذا النوع من الصبغ ، يسمى بالصبغ السالب أو غير المباشر .

الصبغ السالب ، غير شائع الإستعمال فى الأعمال البكتريولوجيـــة . إلا أن لـــه فـــائدة واحدة عن الصبغ المباشر ، إذ أنه يعطى صورة أكثر وضوحا ودقة للخلية البكتيريـــة ، ولذلـــك فإنه يستعمل أساسا فى فحص السبيروكيتا التى يصعب صبغها بالطرق العادية . على أن يراعـى فى طريقة الصبغ السالب ، أن يكون غشاء الصبغة على الشريحة رقيقا ، حتى لايحدث تشوهات للخلايا وتشققات بالغشاء الخلوى ، أثناء عملية التجفيف .

التعقيم Sterilization

التعقيم ، من وجهة النظر الميكروبيولوجية ، هو الإبادة الكاملة ، أو الازالة التامة ، لجميع الكائنات الحية الموجودة فى مادة ما . ويتم ذلك بوسائل عديدة منها الحرارة أو الترشيح ، أو استعمال طرق أخرى فيزيائية أو كيميائية ، ولكل طريقة مميزاتها ، والعوامل التى تحدد استعمالها .

يلجأ الى قتل الميكروبات ، أو إزالتها ، أو تثبيطها لعدة أغراض ، منها

١- منع عدوى الانسان أو الحيوان أو النبات .
٢- منع فساد الأغذية .
٣- منع التلوث فى الصناعات التخميرية ، التى تعتمد على مزارع نقية .
٤- منع تلوث الأدوات ، والمزارع ، المستعملة فى المعامل الميكروبيولوجية .

ومن الناحية العملية ، فإن الميكروبات المطلوب التخلص منها بالتعقيم ، هى مجتمع ميكروبى خليط ، لأنواع عديدة ، تختلف كثيرا فيما بينها ، وفى درجة مقاومتها للقتل . لذلك فعند إجراء التعقيم ، فإنه بالاضافة الى معرفة ظروف البيئة الموجودة بها الميكروبات ، فإنه يجب أن يوضع فى الاعتبار حجم المجتمع الميكروبى الموجود Initial population size ، ومعدل موت Death rate أكثر الأنواع مقاومة فى هذا المجتمع الخليط ، ألا وهى الجراثيم الداخلية للبكتريا . فالتخلص من الجراثيم البكتيرية ، هو الدليل على كفاءة طريقة التعقيم المستخدمة . فبينما تقتل البكتريا الخضرية والخمائر والفطريات على درجة ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق ، نجد أن الجراثيم البكتيرية تحتاج الى ١٥ دقيقة على درجة ١٢٠ م .

وسنناقش فى هذا الباب ، الأسس والطرق العامة ، الخاصة بقتل أو ازالة الميكروبات، دون الدخول فى تفصيلات الخطوات العملية ، التى يمكن الرجوع اليها فى كتب العملى المتخصصة .

التعقيم بأستعمال الحرارة : Sterilization by heat

تعتبر الحرارة ، من أكثر الطرق استعمالا فى التعقيم ، وفى ذلك ، قد يستخدم اللهب المباشر ، أو الحرارة الجافة ، أو الحرارة الرطبة .

التعقيم باللهب : Sterilization by flame

يستعمل اللهب المباشر ، من موقد بنزن Bunsen burner لقتل الميكروبات ، وذلك كعمل روتينى بالمعامل للمواد التى تتحمل اللهب المباشر ، مثل ابر التلقيح ، والشرائح الزجاجية ، ، وفوهات الأنابيب والدوارق .

كما تستعمل عملية الترميد (الحريق حتى الرماد Incineration) ، للتخلص من الجثث، وحيوانات التجارب ، والمواد الملوثة المطلوب التخلص منها . وفى عملية الترميد ، يجب اتخاذ الاحتياطات المناسبة ، للتأكد من أن الدخان المتصاعد أثناء الحريق ، لايحمل موادا بها

ميكروبات حية ، ومن أن المواد المطلوب التخلص منها ، قد احترقت تمامـــا ، ومـــع مراعـــاة المحافظة على منع تلوث البيئة ، وقد يستعمل فى هذه العملية أفران خاصة .

التعقيم بالحرارة الجافة : Sterilization by dry-heat

يستعمل فى ذلك معقم الهواء الساخن Hot-air sterilizer ، وهو فـــرن كـــهربائى أو غازى ، يمر به تيار من الهواء الساخن الجاف ، ويتم التعقيم على درجة حـــرارة ١٦٠ أو ١٧٠ أو ١٨٠°م لمدة ٢ أو ١ أو نصف ساعة على التوالى ، وإذا ماأرتفعت الحـــرارة عـــن ١٨٠°م ، تتفحم السدادات القطنية .

تستخدم الحرارة الجافة لتعقيم الأدوات الزجاجية مثل أنابيب الاختبـــار ، الماصـــات ، أطباق بترى ، الدوارق ، المساحيق ، المواد الصلبة ، وغيرها من المواد التى تتحمـــل درجـــة الحرارة العالية . ولمنع إعادة التلوث بعد التعقيم ، تلف المواد المطلوب تعقيمها فـــى ورق ، أو توضع فى أوعية مناسبة .

ولاتصلح هذه الطريقة ، لتعقيم السوائل ، أو البيئات المزرعية ، حيث أنـــها ســـتتلف بتعرضها للغليان حتى الجفاف .

فى عملية التعقيم بالحرارة الجافة ، فإن قتل الميكروبات يحدث نتيجة لأكســـدة وتغـــير طبيعة مكوناتها الكيميائية . وتحتاج هذه الطريقة من التعقيم إلى وقت أطول ودرجة حرارة أعلى لقتل الميكروبات ، إذا ماقورنت بطريقة الحرارة الرطبة . فالقتل الحرارى أبطـــأ فـــى الـــهواء منه فى وجود البخار ، كما أن معدل موت الخلايا الجافة ، أقل بكثير من معدل مـــوت الخلايـــا الرطبة .

التعقيم بالحرارة الرطبة : Sterilization by moist – heat

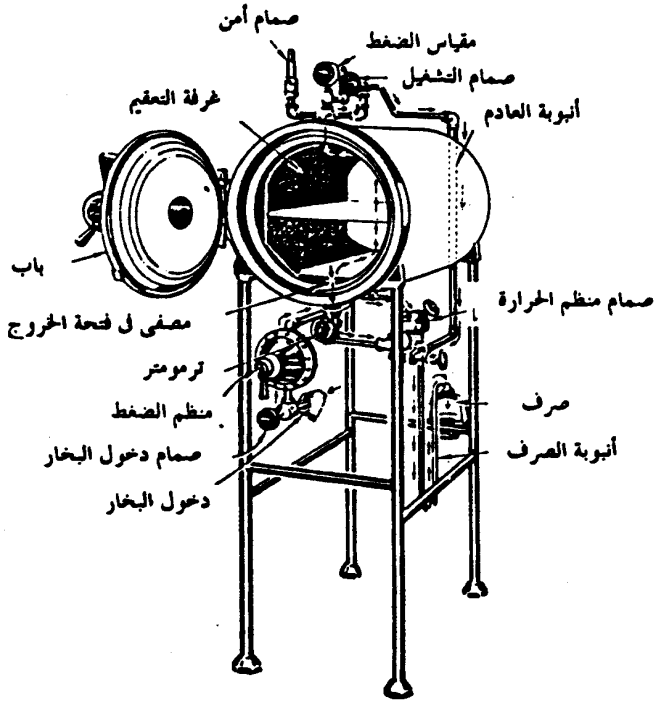
أولا : التعقيم بالبخار المضغوط : Steam under pressure

يستعمل فى هذه الطريقة ، جهاز المعقم بالبخار المضغوط ، المســـمى بـــالأوتوكلاف Autoclave ، وهو وعاء معدنى مزود بمقياس للضغط والحرارة وصمام الأمان ، والصمامـــات والوصلات الأخرى المناسبة (شكل ٣-١٢) .

يتم التعقيم فى الأوتوكلاف ، بالبخار المضغوط عند درجة أكبر مـــن ضغـــط الـــهواء الجوى ، وكلما ارتفع الضغط بالجهاز ، كلما إرتفعت درجة حرارة غليان المـــاء ، لذلـــك فـــان التعقيم يتم على درجة حرارة أعلى من درجة غليان الماء ، وعادة مايتم التعقيم بالجهاز ، عنـــد ضغط بخارى قدره ١٥ رطل/بوصة ^{٢} ، حيث تعادل درجة حـــرارة البخـــار حوالـــى ١٢١°م ، وهى درجة كافية للقضاء على جراثيم البكتريا. ولكى نصل الى هذه الدرجة من الحرارة ، يجـــب أن يحل البخار المضغوط عند ضغط ١٥ رطل/بوصة^{٢} (حرارته حوالى ١٢١°م) ، محل الـــهواء الموجود بغرفة الأوتوكلاف ، لأن قتل الميكروبات لايعود إلى الضغط ، بل يعود الـــى درجـــة حرارة البخـــار ، وإذا لم يتـــم الإحلال الكامـــل للبخار مكان الهواء ، وبقـــى بعـــض الهـــواء

بالمعقم ، فإن الضغط الجزئى للبخار بغرفة المعقم ، سيكون أقل مما هو مبين على مقياس الضغط بالجهاز ، وبالتالى ستكون درجة الحرارة بالأوتوكلاف أقل من الدرجة المطلوبة . على سبيل المثال ، فإن درجة الحرارة ستكون ١٢١°م، إذا كانت غرفة الأوتوكلاف مملوءة تماما ببخار ضغطه ١٥ رطل/بوصة^{٢} ، بينما ستكون درجة الحرارة ١١٢°م فقط ، إذا كانت غرفة الأوتوكلاف بها غاز مخلوط ، بكمية مساوية من هواء ، له نفس ضغط البخار (١٥ رطل/بوصة^{٢}) ، لذلك فان متابعة مقياس الضغط فقط يعتبر غير كافيا ، بل يجب متابعة قراءة ترمومتر الجهاز أيضا .

ملاحظة أخرى يجب أن توضع فى الاعتبار ، هى ضرورة تخلل البخار للمواد المطلوب تعقيمها ، وإلا فان كفاءة التعقيم ستقل ، وستعادل فى هذه الحالة ، عملية التعقيم بالحرارة الجافة ، التى تحتاج لحرارة أعلى ووقت أطول .



شكل ٣-١٢ : التركيب الأساسى للأوتوكلاف (المعقم بالبخار المضغوط) .

يستعمل الأوتوكلاف ، فى تعقيم البيئات ، والمحاليل والمواد الملوِّثة ، والمزارع المطلوب التخلص منها ، والقفازات ، وأنابيب الكاوتش ، والملابس . وعادة ماتعقم هذه المواد ، على درجة ١٢١م (بخار ضغطه ١٥ رطل/بوصة^2) . أما الوقت اللازم للتعقيم ، فيتوقف على طبيعة المادة المراد تعقيمها ، وحجمها ، ونوع الوعاء . على سبيل المثال ، فان تعقيم ١٠٠٠ أنبوبة ، يحتوى كل منها على ١٠ مل بيئة سائلة ، يتم خلال ١٥ دقيقة على درجة ١٢١ م ، بينما تعقيم ١٠ لتر من نفس البيئة فى وعاء واحد ، يحتاج إلى ساعة على نفس درجة الحرارة .

الزيوت المعدنية ، والبترول ، والمواد الجافة كالرمل ، الموجودة فى أوعية محكمة القفل ، لاتسمح بنفاذ الرطوبة بداخلها ، وعليه فإنه لايتم تعقيمها بكفاءة فى الأوتوكلاف ، ولذلك فإن هذه المواد تعقم بكفاءة بالحرارة الجافة .

فى التعقيم بالحرارة الرطبة ، فإن قتل الميكروبات ، يحدث نتيجة تخثر Coagulation بروتين الخلايا . والتعقيم بالحرارة الرطبة أسرع ، وأكثر كفاءة من التعقيم بالحرارة الجافة . فالرطوبة تسهل عملية تخثر البروتين ، والتى بدونها لايتخثر . بالاضافة الى أن البخار المضغوط ، يساعد على التسخين السريع ، وزيادة اختراق الحرارة للخلايا .

ثانيا : التعقيم المتقطع : Intermittent sterilization, Tyndallization

بعض المواد البيولوجية ، والمحاليل الكيميائية ، والبيئات : كالجيلاتين واللبن وبيئات الكربوهيدرات ، تتلف عند تعرضها لدرجات حرارة أعلى من ١٠٠°م ، لذلك فإن هذه المواد تعقم فى جهاز أرنولد Arnold ، ويعرف أيضا باسم جهاز المعقم بالبخار غير المضغوط ، Steam sterilizer . وفى هذا الجهاز ، تعقم المادة بالحرارة الرطبة ، بتعريضها للبخار غير المضغوط (١٠٠°م) لمدة ٣٠ دقيقة لفترة ثلاثة أو أربعة أيام متعاقبة ، مع ترك فترة تحضين مدتها ٢٤ ساعة بين كل تعقيمين .

ومن المعروف ، أن التعقيم فى اليوم الأول بجهاز أرنولد ، لايكفى للقضاء على كل الجراثيم البكتيرية ، لذلك ، فان ترك فترة ٢٤ ساعة حضانه بعد كل تعقيم ، ستسمح للجراثيم الناجية بالنمو ، وتكوين خلايا خضرية ، وفى التعقيمين أو الثلاثة التالية ، يتم القضاء عليها .

وإذا لم تنمو الجراثيم البكتيرية ، فى فترات التحضين بين كل تعقيمين ، فإن عملية التعقيم تكون غير كاملة . ويحدث ذلك ، إذا كانت الحرارة أثناء فترة التحضين ، أو ظروف البيئة أو المادة الجارى تعقيمها ، غير مناسبة لنمو الجراثيم ، وذلك كما فى حالة الماء المقطر ، وهو وسط غير مناسب للنمو ، وكما فى حالة جراثيم البكتريا اللاهوائية ، التى لاتنمو فى بيئة معرضة لأكسجين الهواء الجوى ، كما فى جهاز أرنولد . ونظرا لطول الفترة اللازمة للتعقيم بهذه الطريقة ، فإنها لاتعتبر مناسبة لمعظم الأغراض .

التعقيم بالترشيح : Sterilization by filteration

بعض المحاليل حساسة للحرارة ، فاذا عقمت بالحرارة ، تتغير صفاتها الطبيعية والكيميائية ، مثل بعض السكريات ، والسيروم ، والانزيمات ، والتوكسينات . ولتعقيم هذه

المواد ، إذا كانت سوائل أو موادا ذائبة فى محلول ، يستعمل الترشيح من خلال مرشحات ، قادرة على حجز الميكروبات .

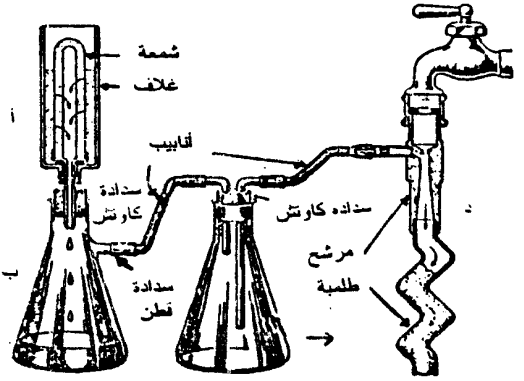
تحجز المرشحات ، الميكروبات من السائل ، ليس فقط بالتأثير الميكانيكى المماثل لعمل الغربال ، الناتج من حجز ثقوب المرشح الدقيقة للميكروبات ، ولكن أيضا ، وهذا هو الأغلب ، بإدمصاص المرشح للميكروبات ، لاختلاف الشحنات الكهربائية بين المرشح وخلايا الميكروبات .

يتصل المرشح بزجاجة مرتبطة بمضخة تفريغ (فتصبح الزجاجة زجاجة تفريغ) ، فتمر السوائل من المرشح الى الزجاجة بتأثير خلخلة الضغط ، تاركة خلفها على المرشح كل الميكروبات الملوثة . ويجب أن تعقم المرشحات بالحرارة (أو بوسائل مناسبة) قبل الاستعمال ، حتى لايتلوث الراشح، مع الاحتياط من إعادة التلوث عند نقل المرشح الى إناء آخر .

المرشحات البكتريولوجية أنواع منها : الطينية ، والورقية ، والغشائية .

المرشحات الطينية والورقية : Clay and paper filters

المرشحات المصنوعة من الطين المنقى Purified clay ، **مثل مرشح سيلاس** Selas ، أو من الخزف الدقيق غير المصقول Unglazed porcelain ، **مثل مرشح تشامبرلاند** Chamberland ، أو من الطين الدياتومى Diatomaceous earth ، **مثل مرشح بركفلد** Berkefeld ، **ومرشح ماندلر** Mandler ، شائعة الاستعمال . وتصنع المرشحات فى شكل شمعة Candle ، مجوفة من الداخل ، ومقفولة من طرف واحد ، وتوضع على زجاجة تفريغ (شكل ٣-١٣) .



شكل ٣-١٣ : جهاز ترشيح ميكروبيولوجى

أ – شمعة مجوفة من طين مناسب ، محاطه بالسائل المطلوب ترشيحه ، داخل غلاف .

ب ، جـ – دوارق لاستقبال السائل المرشح ، بتأثير طلمبة السحب " د " .

المرشحات الورقية عبارة عن سليلوز ، وتصنع كأقراص من ورق مضغوط ، أما باقى المرشـــحات (الطينيـــة ، الخزفيـــة ، ذات الزجـــاج المصنفـــر Sintered-glass filters ، أو الأسبستوس) فهى من مواد سليكونية ، والزجاج المصنفر ، هو زجـــاج مصـــهور ، ومصنـــع بطريقة مسامية ، كأقراص . ويصنـــع مرشـــح ســـايتس Seitz مـــن الأسبســـتوس Asbestos المضغوط، ويستعمل لمرة واحدة .

والثقوب Spores الموجودة بالمرشحات، ذات درجات مختلفة من السعة ، تتراوح مـــن واحـــد ميكرومتر إلى عدة ميكرومترات ، وذلك حسب درجة المرشح المســـتعمل . وهـــذه الســـعة ، بالإضافة الى شحنة الادمصاص التى على المرشح ، تسمح بحجز البكتريا ، ولكنـــها لاتســـمح بحجز الفيروسات .

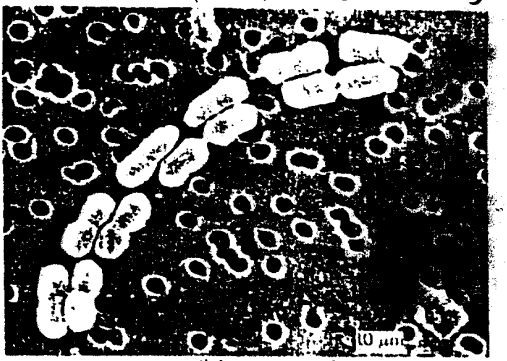
المرشحات الغشائية : Membrane filters

أمكن فى السنوات الأخيرة ، عمل مرشحات غشائية من الكلوديـــون Collodion ، أو من خلات السليلوز فى صورة أقراص (حوالى ٥٠ مم قطر و ٠,١ مم سمك) ، ومتوسط ســـعة ثقوبها حوالى ٠,٤٥ ميكرومتر ، وهى تكفى لحجز وإزالة البكتريا من المحلول .

ويوجد أيضا من هذه المرشحات الغشائية ، أنواع ذات ثقوب أصغر ، ســـعة ثقوبـــها تصل الى أقل من ٠,٠٠٥ ميكرومتر ، وهى تزيل بكفاءة الفيروسات ، والجزيئات الدقيقة جـــدا من السائل ، عند مروره من المرشح الغشائى .

تستعمل المرشحات الغشائية لمرة واحدة ، وهى تعتمد فى حجزها للميكروبات ، أساســا على سعة ثقوبها ، أى على التأثير الميكانيكى الماثل لعمل الغربال ، وذلك بخلاف المرشـــحات السليلوزية والسليكونية التى تعتمد فى حجزها للميكروبات ، أساسا على الادمصاص .

وتستعمل المرشحات الغشائية بكثرة الآن فى الأعمال الميكروبيولوجية ، كما فى عـــد وتعريف الميكروبات الموجودة فى مياه الشرب (شكل ٣-١٤) ، كما توجد مرشـــحات غشـــائية قادرة على ترشيح آلاف اللترات ، تستعمل صناعيا لتعقيم المضادات الحيوية والسوائل .



شكل ٣-١٤ : بكتريا مياه بحر ، محجوزه على مرشح غشائى .

وقد أمكن باكتشاف المرشحات الهوائية عالية الكفاءة High-efficiency particulate air (HEPA) filters ، المصنعة من ألياف زجاجية Fiber glass ، الحصول على هواء نظيف.

وتستعمل هذه المرشحات الآن بكثرة ، مع أجهزة الهواء المتدفق فى مستويات متوازية المسماة Laminar air-flow ، لتوفير هواء خالى من الميكروبات والتراب ، داخل حيز مقفول ، وذلك لتأدية الأعمال الميكروبيولوجية ، التى تتطلب العمل فى جو معقم .

التعقيم بالكيماويات : Sterilization by chemicals

بعض المواد الطبية والمعملية ، التى تباع فى عبوات ، لايصلح الأوتوكلاف لتعقيمها، لأنها حساسة للحرارة والرطوبة ، من أمثلة هذه المواد : أجهزة نقل الدم ، الحقن والماصات وأطباق بترى البلاستيكية . وتعقم هذه المواد المعبأة ، بواسطة الكيماويات ، التى يشترط أن تكون كيماويات طيارة Volatile ، ليمكن التخلص منها بسهولة ، بعد التعقيم .

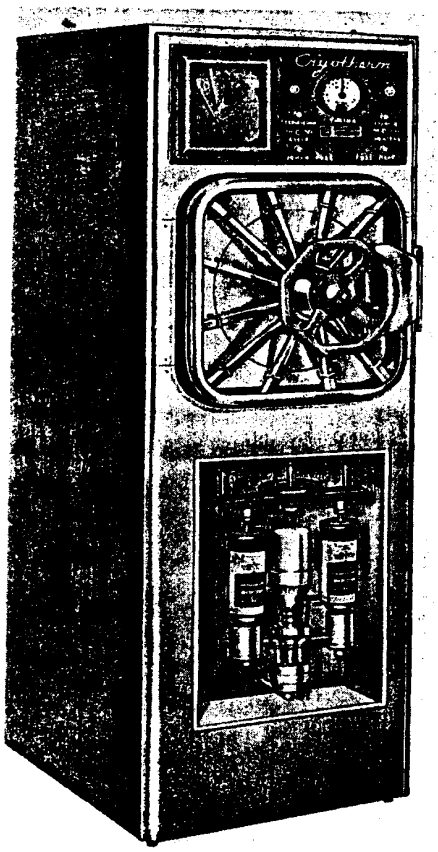
من الكيماويات المستعملة بيتا – بروبيولاكتون β-propiolactone ، والفورمالدهيد ، **وغاز الأثيلين** ، والأخير هو الأكثر استعمالا .

وقد أصبح استعمال أبخرة أكسيد الاثيلين المضغوط ، من طرق التعقيم الغازى ، الشائعة الاستعمال الآن ، فى المستشفيات والمصانع والمعامل . وأكسيد الاثيلين $CH_2 __ CH_2$ يكون على صورة سائلة عند درجة حرارة أقل من ١٠,٨°م (درجة غليانه) ، ويتحول الى أبخرة قابلة للأشتعال عند درجة حرارة أعلى من ذلك ، لذا يخلط أكسيد الاثيلين بنسبة ١٠% مع ٩٠% ثانى أكسيد الكربون ، أو يخلط مع غاز الفريون Dichloro difluoro methane, Freon ، ويباع فى أنابيب أو اسطوانات معدنية ككل الغازات المضغوطة .

غاز أكسيد الاثيلين غاز سام للإنسان ، وهو يستعمل مع الاحتياط ، فى أجهزة تشبه الأوتوكلاف ، معدله لتسمح بملأ غرفة التعقيم بالغاز ، وتسمح بالتحكم فى الضغط والحرارة والرطوبة وتركيز الغاز (شكل ٣-١٥) ، وهى العوامل التى تؤثر على المدة اللازمة للتعقيم . وعادة مايستعمل الغاز ، بنسبة ٥٠٠ ملليجم غاز نقى لكل لتر من فراغ المعقم ، على درجة ٥٨°م ، و٤٠% رطوبة نسبية لمدة ٤ ساعات، وإذا تغير عامل من هذه العوامل فإن العوامل الأخرى تتغير ، مثلا ، إذا ضوعف تركيز الغاز ، فإن زمن التعقيم يقل الى النصف .

ويمكن إضافة أكسيد الإثيلين كمحلول لتعقيم السوائل ، بتركيز ١% على درجة ٥ -١٠°م ، وبعد عدة ساعات ، يمكن التخلص من الغاز ، بتسخين السائل على درجة ٣٧°م لمدة مناسبة .

أكسيد الاثيلين ، عامل قتل قوى ، فهو شديد السمية للفيروسات والبكتريا والفطر والجراثيم البكتيرية الشديدة المقاومة للحرارة ، بشرط أن لاتقل نسبة الرطوبة بالوسط عن ٥%. ويعود تأثيره القاتل إلى قدرته على إحلال مجموعات كيميائية ، محل ذرة الإيدروجين ، فى كل تركيبات بروتوبلازم الخلية ، خاصة الأحماض الأمينية ، والانزيمات المحتوية على مجموعة السلفهيدريل (SH) . والغاز عامل مؤكسد قوى ، وبالإضافة إلى ذلك ، فإن قدرة إختراقه للمواد عاليه .



شكل (٣-١٥) : جهاز التعقيم بغاز أكسيد الاثيلين

يوجد بأسفل الباب ، أوعية بها الغاز المضغوط ومدخل الماء ، مرتبة لتختلط ، ويخرج منها الغاز المرطب ببخار الماء ، ويدخل غرفة التعقيم .

وبأعلى الباب أجهزة التحكم فى الحرارة ، والوقت ، ودخول الغاز والرطوبة ، وطلمبة التفريغ .

والغاز سهل التداول بالأجهزة المناسبة ، ويسهل التخلص من الكميات المتبقية من الغاز بعد التعقيم بالتهوية ، أو بترك المادة المعقمة لفترة بعد التعقيم . وعلى عكس الكثير من الكيميائيات الأخرى القاتلة للميكروبات ، فإن الغاز لايسبب تآكلا ، ولايحدث ضررا للمواد المعقمة. غير أن من مساوئه ، أن استعماله فى التعقيم ، يحتاج إلى فترات تعريض طويلة ، تصل لعدة ساعات .

التعقيم بالإشعاع : Sterilization by radiation

يستعمل الآن الإشعاع فى عمليات التعقيم ، خاصة للمواد البيولوجية . وتعرف طريقة التعقيم بالإشعاع ، باسم التعقيم البارد Cold sterilization ، لأن درجة حرارة المواد المعرضة للإشعاع ، لاترتفع إلا قليلا . لذلك فإن التعقيم بالإشعاع ، يستعمل لتعقيم المواد الحساسة للحرارة ، كما فى الأغذية والمواد الصيدلانية .

ويستعمل فى التعقيم الأشعة فوق البنفسجية ، وأشعة جاما ، وأشعة الكاثود (راجع موضوع الضوء والإشعاع بالباب الرابع ، الفصل الثانى) .

الأشعة فوق البنفسجية : Ultraviolet rays

الأشعة فوق البنفسجية ، هى أحد مكونات أشعة الشمس ، ويتراوح طولها الموجى بين ١٣٦ - ٤٠٠٠ A° ، غير أن الطول الموجى المستعمل عمليا ، كعامل قتل للميكروبات هو ٢٦٥٠ A° ، وهو الطول الموجى الذى يحدث عنده أقصى إمتصاص للأشعة بواسطة الأحماض النووية بالخلية ، ويسبب تلفها .

هذه الأشعة غير مؤينة ، أى ليس لها الطاقة الكافية ، على تأيين جزيئات المادة . ويعود تأثيرها القاتل ، إلى أنها تمتص بواسطة الخلية ، وتحدث تغيرات كيموضوئية Photochemical changes فى بروتوبلازم الخلية ، إذا تعرضت لها لمدة كافية ، فتسبب موتها. والأشعة قاتلة للخلايا الخضرية والجراثيم .

قدرة الأشعة فوق البنفسجية على الاختراق ضعيفة ، لذلك فإن تأثيرها التعقيمى سطحى ، فالميكروبات التى تقتل ، هى تلك الموجودة على أسطح المواد المعرضة ، التى تقع مباشرة تحت تأثير الأشعة ، بكمية ووقت كافيين ، ويراعى عند استعمال هذه الأشعة ، حماية العين والجلد من تأثيرها الضار .

وتستعمل لمبات خاصة لأنتاج هذه الأشعة ، مثل لمبات بخار الزئبق المصنوعة من الكوارتز . وتستخدم فى المستشفيات لتعقيم غرف العمليات (الهواء والحوائط والأرضيات) ، وفى تعقيم الأغذية والمنتجات الصيدلانية .

التعقيم بأشعة جاما وأشعة الكاثود

اشعة جاما Gamma rays ، ذات موجات قصيرة يتراوح طولها بين ٠,٠١ الى ١,٤ A° ، مصدرها النظائر ذات النشاط الاشعاعى ، مثل كوبالت ٦٠ ، وسيزيوم ١٣٩ . وهى أشعة ذات طاقة عالية ، مؤينه أى تستطيع أن تؤين جزيئات المادة ، أو الخلايا ، التى تتعرض لها ، مسببة تلفها . وقدرة الأشعة على النفاذية كبير ، وهى قاتلة لجميع الميكروبات ، وتستعمل فى تعقيم الأغذية المعباة ، والمواد الصيدلانية المغلفة على درجة حرارة الغرفة ، مع حفظ المواد بحالتها بدون وضعها فى ثلاجة .

تستخدم أيضا أشعة الكاثود Cathode rays (أشعة المهبط) ، فى عملية التعقيم . وتنتج هذه الأشعة ، عندما يقع تيار ذو جهد عالى بين الكاثود والأنود فى أنبوبة مفرغة ، فإن الكاثود يبعث شعاعا من الالكترونات تسمى أشعة الكاثود ، أو الاشعاع الإلكترونى Electron beams . وتوجد أجهزة خاصة تسمى المعجلات Accelerators ، لتوليد الكترونات ذات قوة عالية (عدة ملايين فولت) ، وهذه الالكترونات تعجل الى سرعات عالية ، لتستخدم فى تعقيم الأدوات الجراحية ، والأدوية . وباستخدام أشعة الكاثود ، يمكن أن تعقم المواد بعد تعبئتها ، بتعريضها للأشعة لفترات قصيرة على درجة حرارة الغرفة . ويعاب على استعمال أشعة الكاثود ، أنها مكلفة ، وقد تحدث تغيرات غير مرغوب فيها بالأغذية المعاملة .

وجدول (٣-٣) يبين الجرعة القاتلة Lethal dose للإشعاعات المختلفة .

جدول ٣-٣ : الجرعة (بالمليون راد Rad) القاتلة للإشعاعات المختلفة .

نوع الميكروب	أشعة كاثود	أشعة جاما من كوبالت ٦٠	أشعة X من مصدر ٣ ميجا فولت
خلايا خضرية	٠,١ – ٠,٢٥	٠,١٥ – ٠,٢٥	٠,١ – ٠,٥
جراثيم بكتيرية	٠,٢ – ٠,٤	١,٥	٠,٥ – ٢,٠
فطريات	٠,٣ – ٠,٤	٠,٢ – ٠,٣	٠,٢٥ – ١,٠
خمائر	٠,٣	٠,٣	٠,٢٥ – ١,٥

From : Pelczar M.J.Jr.; E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1986). Microbiology, 5th Ed. Mc Graw-Hill, New York.

ويمكن تلخيص الاستخدامات المفضلة ومحددات الاستعمال والطرق المتبعة فى التعقيم أو إزالة الميكروبات فى جدول (٣-٤) التالى

جدول ٣-٤ : مقارنة بين الطرق المستخدمة فى التعقيم أو إزالة الميكروبات .

الطريقة	الاستخدامات المفضلة	محددات الاستعمال
الغسيل	الأيدى ، الجلد ، الملابس	لايحدث تعقيم ، بل تقليل لأعداد الميكروبات
اللهب	تعقيم ابر التلقيح ، الشرائح ، فوهات الأنابيب	يصلح فقط للمواد التى تتحمل اللهب حتى الإحمرار
الحريق حتى الرماد (الترميد)	التخلص نهائيا من المواد الملوثة	عدم وجود أفران مناسبة ، حدوث تلوث بالهواء
الحرارة الجافة (معقم الهواء الساخن)	تعقيم المواد غير المنفذه للرطوبة ، أو التى تتلف بالرطوبة ، مثل المواد الصلبة، الزجاج ، المعادن ،الزيوت	تلف المواد التى لاتتحمل الحرارة العالية لفترة طويلة
الحرارة الرطبة غليان	قتل الميكروبات غير المتجرثمة	بقاء الجراثيم البكتيرية
بخار بدون ضغط (جهاز أرنولد)	تعقيم البيئات ، الأطباق ، الملابس	عدم ضمان تحقيق التعقيم من أول تعرض للحرارة ، تحتاج لفترة طويلة تصل لعدة أيام (تعقيم متقطع)
بخار مضغوط (الأوتوكلاف)	تعقيم السوائل ، البيئات ، الأدوات ، الملابس	لاتصلح للمواد الحساسة للحرارة أو غير المنفذة للبخار

تابع جدول ٣-٤ :

الطريقـــة	الاستخدامات المفضلة	محددات الاستعمال
الترشيح المرشحات الطينية والورقية	إزالة البكتريا من السوائل البيولوجية الحساسة للحرارة	لاتحجز الفيروسات
المرشحات الغشائية	تعقيم السوائل البيولوجية الحساسة للحرارة	يجب خلو السوائل من المواد المعلقة
الألياف الزجاجية (HEPA)	تعقيم الهواء	غالية الثمن
الغازات/أكسيد الإثيلين	تعقيم المو ـ الحساسة للحرارة والرطوبة	الغاز قابل للاشتعال وسام للإنسان يحتاج لفترة تعرض طويلة
الاشعاع الأشعة فوق البنفسجية	تعقيم سطوح المواد وغرف العمليات	يجب أن تمتص لتكون مؤثرة ، لاتنفذ من الزجاج ، ضارة للعين والجلد
أشعة جاما والكاثود	تعقيم الأدوات الجراحية ، والمواد الطبية الحساسة للحرارة	مكلفة ، وتحتاج تجهيزات خاصة

Referecnes

مراجع الباب الثالث

Block, S.S. (ed.) (1983). Disinfection, Sterilization and Preservation 3rd Ed. Lea & Fabiger, Philadelphia.

Casartelli, J.D. (1992). Microscopy for Students. Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

Clark, G. (1973). Scanning Procedures. 3rd Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.

Difco Manual (1992). Dehydrated Cultures, Media and Reagents. Difco Laboratories, Detroit, USA.

Gerhardt, P.; R.G.E. Murray; R.N. Costilow; E.W. Nester; W.A. Wood; N.R. Krieg and G.B. Phillips (eds.), 1981. Manual and Methods for General Bacteriology. Amer. Soc. Microbiol, Washington, D.C.

Harrigan, W.F. and Margaret E. Mc Cance (1976). Laboratory Methods in Microbiology. Academic Press, New York.

Hugo, W.B. (ed.) (1971). Inhibition and Destruction of the Microbial Cell. Academic Press, New York.

Salle, A.J. (1961). Fundamental Principles of Bacteriology. 5th Ed. Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York.

Seeley, H.W. Jr. and P.V. Van Demark (1981). Microbes in Action. A Laboratory Manual of Microbiology. 3rd Ed. Freeman & Co., New York.

الكائنات الدقيقة .. عمليا . تأليف سيلى وفان ديمارك ، ترجمة سعد على زكى محمود ، عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبارك (١٩٨٩) – الدار العربية للنشر والتوزيع – مدينة نصر – القاهرة .

﴿الباب الرابع﴾

العوامل المتحكمة فى نشاط الميكروبات

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
مقدمـــــة	٧٢
الفصل الأول : الأسس الخاصة بالتحكم فى الميكروبات	من ٧٣ الى ٩٠
الفصل الثانى : تأثير العوامل الطبيعيـــة والبيئيـــــة	من ٩١ الى ١٢٦
الفصل الثالث : تأثيـــــر المـــــــواد الكيميائيـــة	من ١٢٧ الى ١٦٢
مراجع الباب الرابع	١٦٢

«الباب الرابع»

العوامل المتحكمة فى نشاط الميكروبات
Factors Controlling Microbial Activities

مقدمـــــة

يؤثر فى نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ، ويتحكم فيها ، العوامل الطبيعيـــــة والكيميائيـــة والبيولوجية المحيطة بها ، مثلها فى ذلك مثل أى كائن حى اخر . وعلى ذلك ، فإن حدوث تغـير ملحوظ فى هذه العوامل ، يسبب تغيرا فى خواص ونشاط الكائنات الدقيقة . وبمعرفـــة الأســس والعوامل التى تتحكم فى نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ، فإننا نستطيع أن نتحكم فى تلك الكائنـات ، بزيادة نشاط الكائنات المفيدة ، أو بمنع أو بتأخير نمو الكائنات غير المرغوب فيـــها ، أو حتـــى التخلص منها نهائيا .

ويجب أن نضع فى اعتبارنا أن الكائنات الدقيقة ، حتـــى وهـــى فـــى حالـــة الخلايـــا الخضرية ، تتميز بقدرتها الكبيرة على مقاومة التغيرات التى تحدث بالوسط ، وبسرعة مواءمتها مع الظروف الجديدة ، وفى هذا المجال ، فإن الميكروبات تختلف كثيرا عن الأحيـــاء الأخـــرى عديدة الخلايا النباتية والحيوانية . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن بعض الكائنات الدقيقة قـــادرة علـــى تكوين الجراثيم ، التى تمتاز بمقاومتها للظروف السيئة ، حتى عن الخلايا الخضرية التى نتجـــت منها .

وسنتكلم فيما يلى عن الأسس الخاصة بالتحكم فى الميكروبات ، وأهم العوامل الطبيعيـة ، والكيميائية ، والكيميائيات العلاجية ، والمضادات الحيوية ، التى تؤثـــر علـــى نمـــو ونشـــاط الكائنات الدقيقة ، وعلى التحكم فيها ، علما بأن تقسيم هذه العوامل الى تلـــك المســـميات ، هـــو تقسيم افتراضى ، فقد يتداخل مع العامل الأصلى عامل أو أكثر من العوامـــل الأخـــرى ، فـــى احداث التأثير على الكائن الحى .

﴿الباب الرابع – الفصل الأول﴾

الأسس الخاصة بالتحكم فى الميكروبات

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
أهمية التحكم فى الميكروبات	٧٥
تعريف بعض المصطلحـــات	٧٦
الظروف المؤثرة على دور العوامل المضادة للميكروبات	٧٧
١- العامل المضاد للميكروبات	٧٨
٢- الميكروب	٧٩
٣- الوسط الموجود به الميكروب	٨٠
طرق تأثير العوامل المضادة للميكروبات	٨١
أنواع التفاعلات التى تحدث بتأثير العامل المضاد	٨١
١- تخثر البروتين وتغير طبيعته	٨٢
٢- تكوين أملاح بروتينيـــــة	٨٢
٣- الأكســدة	٨٢
٤- عدم تكون استرات الفوسفات	٨٣
٥- حدوث تفاعلات ألكله	٨٣
٦- تفاعلات أخرى	٨٤
إعادة تنشيط الميكروبات التى تعرضت لعامل مضاد	٨٤
المواقع الحيوية بالخلية التى تتأثر بالعوامل المضادة للميكروبات	٨٤
نظام موت الخلايا بتأثير العوامل المضادة للميكروبات	٨٦
إختيـــــار العامـــل المضـــاد المناسب	٨٩
القوة القاتلة للمواد المضادة للميكروبات	٩٠

«الباب الرابع - الفصل الأول»

الأسس الخاصة بالتحكم فى الميكروبات

Fundamentals of Microbial Control

التحكم فى الميكروبات ، للإستفادة منها أو لتجنب اثارها ، عملية هامة من الناحية التطبيقية . ويقصد بكلمة التحكم Control ، إزالة الميكروبات ، أو إيقاف نموها ، أو قتلها والتخلص منها نهائيا .

أهمية التحكم فى الميكروبات

يمكن تلخيص الأسباب الرئيسية ، التى تتطلب التحكم فى الميكروبات ، لتجنب أضرارها ، فيما يلى

- منع إنتقال الميكروبات المرضية وحدوث العدوى .
- التخلص من الميكروبات الموجودة بالعائل المصاب ، سواء أكان نباتا أو حيوانا أو إنسانا .
- منع الفساد الميكروبى للمواد المختلفة ، لتجنب تلفها .
- منع تلوث المزارع النقية والمواد المستخدمة فى البحوث ، أو التشخيص ، أو الصناعة .

يمكن إزالة الميكروبات ، أو إيقاف نموها ، أو قتلها ، بعوامل طبيعية أو كيميائية . ويستعمل لذلك طرقا متنوعة ، وموادا عديدة ، والتى لكل منها تأثيره الخاص ، والحدود التطبيقية الخاصة به التى تحدد استعماله .

والعوامل الطبيعية Physical agents ، هى عوامل قادرة بخواصها الطبيعية ، على إحداث تغيير فى الوسط ، ومن أمثلة ذلك الحرارة ، والحرارة تحت ضغط ، والاشعاع ، التى تسبب التعقيم أو التطهير ، أما العوامل الكيميائية Chemical agents ، فهى مواد ، صلبة أو سائلة أو غازية ، لها تركيب جزيئى محدد ، وتحدث تفاعلات ، ومن أمثلتها ، مركبات الفينول، الكحول ، الكلور ، أكسيد الاثيلين ، التى تسبب قتل الميكروبات ، أو إيقاف نموها .

والعوامل التى تتحكم فى الميكروبات ، سواء أكانت طبيعية أو كيميائية ، قد تؤثر على الخلايا بأكثر من طريقة . فقد تكون مهلكة للميكروبات إذا استعملت بتركيز عالى أو لفترات طويلة ، وقد تكون موقفة للنمو فقط ، إذا استعملت بتركيز منخفض ، أو لفترات قصيرة ، أو قد تحدث أكثر من تفاعل كيميائى ، فتسبب تغيرا فى طبيعة البروتين الميكروبى ، أو تخثره فى بعض الأحوال ، أو تحدث أكسدة لبعض مكونات الخلية ، أو تسبب أكثر من تأثير فى حالات أخرى . لذلك ، فليس هناك حد فاصل بين طرق التأثير المختلفة .

تعريف بعض المصطلحات : Definition of terms

عند التعرض لموضوع التحكم فى الميكروبات ، تستعمل بعض المصطلحات ، لوصف تأثير العوامل الطبيعية أو الكيميائية على الميكروبات . ولهذه المصطلحات أهميتها ، خصوصا عند وصف المواد العلاجية والكيميائيات المستعملة ضد الميكروبات . وهنا ، فإنه يجب على كل من المنتج والمستهلك ، الفهم الدقيق لكل مصطلح منعا من التداخل .

التعقيم : Sterilization

التعقيم هو عملية الإبادة الكاملة لجميع الكائنات الحية ، فالتعقيم يؤدى إلى القضاء على كل صور الحياة الموجودة فى مادة ما . والشىء المعقم ، بالمفهوم الميكروبيولوجى ، هو الشىء الخالى تماما من الكائنات الحية الدقيقة ، فالشىء إما أن يكون معقما Sterile ، أو غير معقما Non-sterile ، ولايمكن لهذا الشىء أن يكون نصف معقم ، أو معقما بالتقريب .

ومن أمثلة العوامل المستخدمة فى التعقيم ، البخار تحت ضغط .

عامل مهلك للميكروبات الخضرية : Disinfectant

هذا العامل ، غالبا عامل كيميائى ، وهو يقتل الخلايا الخضرية ، وليس من الضرورى أن يكون قاتلا للجراثيم . ويستعمل هذا المصطلح عادة ، للمواد المستعملة فى تطهير الأشياء غير الحية مما بها من ميكروبات مرضية .

وبنفس المعنى ، فإنه عند الكلام عن الميكروبات بصفة عامة ، وليست المرضية فقط ، فغالبا ما يستعمل تعبير Microbicide or Germicide بدلا من Disinfectant . وعلى نفس المستوى ، يُستعمل Bactericide للتعبير عن العامل المسبب لقتل البكتريا الخضرية ، وكذلك يستعمل تعبير Algicide ، Fungicide ، Viricide ، Sporicide ... للتعبير على التوالى ، عن العوامل القاتلة للطحالب ، والفطريات ، والفيروسات ، والجراثيم .

من أمثلة المواد المهلكة للميكروبات : الحرارة المرتفعة ، أشعة إكس ، الفينول ، كلوريد الزئبقيك .

عامل موقف للنمو الميكروبى : Microbistatic

هذا العامل ، هو مادة توقف نمو الميكروبات ، دون أن تقتلها ، وبنفس المعنى تستعمل كلمات Bacteriostatic ، Fungistatic ، Algistatic ، Viristatic ، للتعبير على التوالى عن العوامل الموقفة لنمو البكتريا ، والفطريات ، والطحالب ، والفيروسات .

والعوامل التى لها القدرة على إيقاف نمو الأنواع المختلفة من الكائنات الدقيقة ، تسمى مجتمعة عوامل موقفة للنمو الميكروبى Microbistatic agents .

ومن أمثلة هذه المواد الموقفة للنمو : الحرارة المنخفضة ، التجفيف ، الأسموزية العالية ، الصبغات ، مركبات السلفا .

مطهـر : Antiseptic

المطهر هو مادة تمنع التلوث ، والمطهر يمنع نمو الميكربات الملوثة ، أما بقتلـها ، أو بايقاف نموها ، ومنع نشاطها . وعادة ما يستعمل هذا المصطلح للمواد المستخدمة فـى تطـهير الأجسام الحية .

ومن أمثلة هذه المواد الكحول ، والبرمنجنات .

عامل صحى ، عامل منظف : Sanitizer

هذا العامل غالبا مادة كيميائية ، وهو عامل يقلل من عدد الميكروبات الموجـودة فـى مادة ما ، إلى العدد الذى تسمح به القوانين الصحية . وغالبا ماتصل نسبة الخلايـا المقتولـة أو المزالة بالعامل الصحى ، إلى ٩٩,٩% من البكتريا النامية .

ويستعمل هذا المصطلح عادة ، للتعبير عن المواد المستعملة فى تنظيف الأشياء غـير الحية ، المستخدمة فى المأكل والمشرب ، مثل أدوات ومعـدات مصـانع الأغذيـة والألبـان والمطاعم ، مما بها من ميكروبات .

ومن أمثلة هذه المواد مركبات الأمونيوم الرباعية ، والمنظفات .

عامل مضاد للميكروبات : Antimicrobial agent

يشير هذا التعبير بصفة عامة ، إلى العامل الذى يتداخل مع النمو والنشـاط الأيضـى للميكروب . وفى الإستعمال الدارج ، فإن هذا التعبير يستعمل عادة للإشارة إلى العـامل الـذى يوقف نمو الميكروب . وعند الإشارة إلى عوامل موقفة لنمو مجموعة معينة من الميكروبـات ، فاننا نستعمل الاصطلاح المناسب فى كل حالة ، مثل Antibacterial agent للإشارة إلى العامل الموقف لنمو البكتريا ، و Antifungal agent للعامل الموقف لنمو الفطر ، وهكذا .

يستعمل بتخصص بعض المواد المضادة للميكروبات ، لعلاج الأمـراض المعديـة ، وتسمى فى هذه الحالة ، بالمواد العلاجية Therapeutic agents ، وهذه المواد تقتل المسـببات المرضية وهى داخل أنسجة العائل .

وفى الصفحات التالية ، فإنه لتبسيط العرض ، سنسـتعمل تعبـير ، **عـامل مضـاد للميكروبات** ، كبديل لأى مصطلح من المصطلحات السابقة ، وذلك عند الإشارة إلى أى عـامل طبيعى أو كيميائى يزيل ، أو يوقف نمو ، أو يقتل الميكروب .

الظروف المؤثرة على دور العوامل المضادة للميكروبات

Conditions influencing antimicrobial action

يتأثر معدل إيقاف نمو الميكروبات أو قتلها ، نتيجة استعمال العوامل المضـادة لـها ، بعوامل عديدة . وهذه العوامل يجب أن توضع فى الإعتبار ، عند التطبيق العملى للتحكـم فـى الميكروبات .

من هذه العوامل

١- العامل المضاد للميكروبات

يختلف المضاد الميكروبى المستخدم ، سواء أكان عاملا طبيعيا أو كيميائيا ، فى تأثيره على الميكروبات بإختلاف نوع العامل ، ودرجة تركيزه ، وزمن التعرض له .

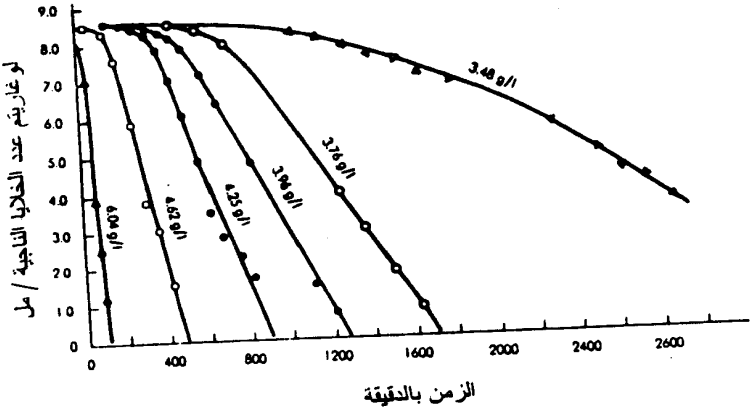
فمن العوامل ماهو شديد التأثير ، ومنها ماهو موقف للنمو فقط . ومنها ماقد يكون على درجة عالية من التخصص ، بحيث يوقف خطوة معينة من خطوات أحد التفاعلات الحيوية داخل الخلية ، كما يحدث عندما يوقف الكلور عمل إنزيم Triose phosphate dehydrogenase . أو أن يكون العامل أقل تخصصا ، عندما يمكنه إحباط عدد من التفاعلات فى وقت واحد ، كما يحدث عند تخثر البروتين الخلوى بتأثير المعادن الثقيلة .

ولكى يكون العامل المستخدم فعالا على مكونات الخلية الداخلية ، من سيتوبلازم وإنزيمات ومادة نووية ، فإنه يجب أن يكون قادرا على النفاذ إلى داخل الخلية ، حتى يستطيع أن يحدث تأثيره على مكوناتها الداخلية .

ومن حيث التركيز ، فلكل مضاد ميكروبى ، طبيعى أو كيميائى ، نطاق من التركيزات ، يتراوح بين التركيز غير الفعال Ineffective (أى التأثير غير الضار عند التركيزات المنخفضة جدا) ، والتركيز المميت Lethal ، ويقع بين هذين التركيزين ، التركيز الموقف للنمو . وفى هذا النطاق الواقع مابين التركيز غير الفعال ، الى التركيز المميت ، فإنه كلما زاد التركيز ، كلما زادت سرعة قتل الميكروبات . ويقع أيضا بين التركيز غير الفعال والتركيز الموقف للنمو ، تأثير منشط فى حدود ضيقة بالنسبة لبعض لمواد .

يوضح شكل [٤ (١) -١] العلاقة بين زيادة تركيز الفينول وعدد خلايا البكتريا الناجية ، وزمن القتل . وعلى سبيل المثال ، فعند تركيز ٤,٢٥ فينول جم/لتر ، تموت الخلايا بعد ١٣ ساعة ، بينما يتم الموت عند تركيز ٦,٠٤ جم/لتر ، بعد ١,٥ ساعة ، وهذا يؤيد ماذكر سابقا بأن زيادة تركيز العامل المضاد ، يزيد من سرعة قتل الميكروبات .

ويختلف تأثير العامل المضاد بالنسبة لأنواع الميكروبات ، فالمادة الواحدة بتركيز معين ، قد تكون مهلكة لنوع ما من البكتريا مثلاً ، بينما نفس تركيز هذه المادة ، قد يكون مادة غذائية لنوع اخر من البكتريا . فمثلاً كبريتور الايدروجين وأول أكسيد الكربون ، من المواد الكيميائية السامة للبكتريا الهوائية ، لتثبيطهما لإنزيمات التنفس ، بينما بكتريا أخرى تستعمل نفس المادتين السابقتين كمصدر للطاقة . لذلك ، فإنه عند التحدث عن تأثير العامل المضاد ، يجب تحديد الميكروب المتأثر .



شكل ٤ (١) -١ : تأثير تركيزات مختلفة من الفينول على سرعة قتل *E. coli* عند درجة ٣٥°م . لاحظ أن زيادة تركيز العامل المضاد تزيد من سرعة قتل البكتريا

From, Pelczar and Chan, 1981

يعتبر زمن التعرض للعامل المضاد أيضا ، من العوامل الهامة المؤثرة . فالعامل المضاد لايؤثر على الميكروبات الموجودة بالوسط بمجرد الإضافة ، بل يحتاج إلى فترة كافية من الزمن ، حتى يلتصق أو ينفذ بالميكروبات ، ويحدث التفاعل الطبيعى أو الكيميائى المطلوب. ويعتمد الوقت الكافى لإحداث الأثر المطلوب ، على عوامل عديدة منها طبيعة العامل المضاد وتركيزه ، وظروف الوسط من رطوبة وحرارة وحموضة ، وطبيعة الميكروب وكثافته العددية.

٢- الميكروب

كلما زاد عدد الميكروبات بالوسط ، كلما إحتاج ذلك إلى تركيز أكبر من العامل المضاد ، ومدة أطول للتعرض له ، لإيقاف نشاط هذه الميكروبات ، أو قتلها .

وبالنسبة لنوع الميكروب ، فإنها تختلف فى مدى حساسيتها للعامل المضاد ، فبعضها حساس سريع التأثر مثل بكتريا السيلان ، والبعض الآخر مقاوم مثل بكتريا السل ، ونجد عادة أن البكتريا الموجبة لجرام حساسة للبنسلين ، بينما السالبة مقاومة له .

ولعمر الميكروب ، وظروف نموه التى تسبق المعاملة ، تأثير على عمل العامل المضاد للميكروب . فالخلايا حديثة العمر ، أى التى فى بداية الطور اللوغاريتمى للنمو ، غالبا ماتكون أسهل فى القتل ، من مثيلتها التى وصلت إلى حد الثبات الأقصى للنمو . كما أن الميكروبات التى تنمو فى بيئة ، تحت ظروف نمو مثلى ، تكون أكثر مقاومة للعامل المضاد عن غيرها .

كما أن طبيعة الميكروب عامل مؤثر . فالخلايا ذات العلبة (الكابسول) أكثر مقاومة للعامل المضاد من مثيلتها عديمة العلبة . وكذلك ، فإن الجراثيم أكثر مقاومة من خلاياها الخضرية . وفى هذا الخصوص ، فإن جراثيم البكتريا ، تعتبر أكثر الأحياء مقاومة ، للظروف

البيئة ، الطبيعية والكيميائية ، ويوضح جدول [٤ (١) -١] مقاومة بعض الميكروبات لبعض العوامل الطبيعية والكيميائية .

جدول ٤ (١)-١* : مقاومة بعض الجراثيم الميكروبية والفيروسات للعوامل المضادة للميكروبات، بالمقارنة ببكتريا القولون المأخوذة كوحدة قياس * .

عامل التعقيم	*E. coli* متخذة كوحدة قياس	جراثيم بكتريا	جراثيم فطر	فيروسات وبكتريوفاج
فينول	١	١٠٠ مليون	١-٢	٣٠
حرارة جافة	١	ألف	٢-١٠	١
حرارة رطبة	١	٣ مليون	٢-١٠	١-٥
أشعة فوق بنفسجية	١	٢-٥	٥-١٠٠	٥-١٠

* From, **Pelczar and Chan, 1981.**

٣ - الوسط الموجود به الميكروب

مكونات الوسط عامل مؤثر أيضا على العامل المضاد للميكروبات . فبعض هذه العوامل ، مثل الفينول ، والهالوجينات والأحماض .... تتأثر بوجود المواد العضوية . لذلك ، فإن وجود كميات كبيرة من المواد العضوية ، بالوسط الموجود به الميكروب ، يقلل من تأثير العامل الكيميائى المستعمل كمضاد ، وذلك بالإتحاد بالعامل المضاد ، أو بترسيبه ، أو بتغليف الميكروب وحمايته من تأثير العامل المضاد . على سبيل المثال ، فإن وجود الدم أو السيروم فى المادة المعاملة بالعامل المضاد ، يقلل من تأثيرالعامل المضاد على الميكروبات ، كما أن وجود المواد العضوية فى المياه المعاملة بالكلور ، يقلل من تأثير الكلور على قتل الميكروبات الموجودة بالمياه .

كما تتأثر كفاءة العامل المضاد المستخدم ، بالعوامل البيئية المتعلقة بالوسط الموجود به الميكروب من رطوبة ، وحرارة ، وحموضة ... الخ . فزيادة الرطوبة ، وزيادة الحرارة ، وزيادة الحموضة أو القلوية ، وانخفاض الجذب السطحى ، يزيد من كفاءة العامل المضاد للميكروبات ، بينما زيادة اللزوجة يقلل من كفاءته والعكس صحيح . ونلاحظ على سبيل المثال ، بأنه فى حالة التعليب المنزلى ، تعامل الأغذية الحامضية المعلبة ، مثل صلصة الطماطم ، على درجة حرارة أقل ولفترة أقصر (١٠٠°م لمدة ١٥ ق) ، عن الأغذية غير الحامضية ، مثل الفاصوليا (١١٥°م لمدة ٢٥ ق فى حلة ضغط) ، لأن الحموضة فى الحالة الأولى تزيد من كفاءة المعاملة الحرارية فى التعقيم . وسنستعرض هذه العوامل البيئية تفصيلاً فى صفحات قادمة ، بالفصل الثانى والثالث من الباب الرابع .

طرق تأثير العوامل المضادة للميكروبات : Mode of action of antimicrobial agents

العوامل المضادة للميكروبات متعددة ، وهى تؤثر على الميكروبات بطرق مختلفة . ومعرفة الطريقة ، التى يوقف بها العامل المضاد نمو الميكروب ، أو التى بها يقتله ، مفيد فى التطبيقات العملية ، لمعرفة الظروف المناسبة للإستعمال ، وأنواع الميكروبات التى تتأثر ، والتخطيط لانتاج مضادات ميكروبية جديدة ، أشد تأثيرا .

ويحدث التأثير المضاد للميكروبات ، بطرق متعددة ، منها

١- التأثير الميكانيكى

ويتم ذلك عندما يستعمل الصابون والمنظفات فى غسيل الأيدى والملابس والأدوات ، فهذه المواد المنظفة تقلل من الجذب السطحى للماء ، فتعمل على إزالة الميكروبات بطريقة ميكانيكية .

كما أن تهوية الحجرات ، وترشيح السوائل بالطرق المناسبة ، يؤدى إلى الإزالة الميكانيكية للميكروبات .

٢ - التأثير الطبيعى

ويحدث ذلك عند استعمال الحرارة الجافة ، والحرارة الرطبة تحت ضغط ، والإشعاع ... الخ . وهذه العوامل ، قادرة بخواصها الطبيعية ، على إحداث تغيير بالميكروب أو بأحد مكوناته ، مما يؤدى إلى إيقاف نموه أو إلى قتله .

٣ - التأثير الكيميائى

ويحدث ذلك عند استعمال بعض المواد الكيميائية كالصودا الكاوية ، والفينول ، وغاز الاثيلين ... الخ . وهذه المواد قادرة على إحداث تفاعلات بمكونات الخلية الميكروبية ، تسبب لها الضرر .

٤- التأثير الحيوى

ويحدث ذلك فى حالة التضاد ، عندما يقوم كائن حى بإفراز مضاد ، يوقف نمو أو يقتل ، كائنا آخر ، مثل مضاد البنسلين الذى يفرزه فطر *Penicillium chrysogenum* ، ويضاد البكتريا العنقودية *Staphylococcus aureus* .

أنواع التفاعلات التى تحدث بتأثير العامل المضاد

يؤثر العامل المضاد على الميكروبات ، كما سبق القول ، بعدة طرق ، منها الميكانيكية ، والطبيعية ، والكيميائية ، والحيوية . ونتيجة لأى من هذه التأثيرات يحدث لمكونات الخلية الميكروبية ، تفاعلا أو أكثر ، من التفاعلات الطبيعية أو الكيميائية ، التى تؤثر على نمو ونشاط الميكروب .

ومن هذه التفاعلات

١ - تخثر البروتين وتغير طبيعته : Coagulation and denaturation of protein

تسبب الحرارة المرتفعة ، أو إضافة الأحماض أو بعض الكيميائيات (مثل الفينول والكحول ، أو المعادن الثقيلة) ، تلف البروتين الخلوى والانزيمى ، إما بتخثره Coagulation ، أى بتحول البروتين من الحالة السائلة إلى الحالة الصلبة ، أو بإحداث تغير فى طبيعه البروتين Denaturation ، حيث تتفكك روابط الإيدروجين وروابط الكبريتيد الموجودة بالبروتين والأحماض النووية ، فيفقد جزىء البروتين طبيعته الأصلية ، دون حدوث تغير فى تركيبه الكيميائى ، ولكن يتوقف عن القيام بوظائفه .

ونتيجة لتلف البروتين والإنزيمات والقواعد النتروجينية ، بالتخثر أو بالتغير فى طبيعة البروتين ، فإن الخلية الميكروبية تموت .

قد يحدث الارتباط بين العامل الكيميائى المضاد ، وبين مجاميع السلفا هيدريل الموجودة على جزيئات البروتين الإنزيمى ، كما يحدث عند استخدام مركبات الزئبق والزرنيخ .

وقد يحدث الارتباط بالمجاميع المتعادلة القاعدية بالبروتين ، مثل مجاميع الأمين ومجاميع الهيدروكسيل ومجاميع الإيميدازول Imidazole ، كما يحدث عند استخدام الصابون الأنيونى والفورمالدهيد والصبغات الحامضية .

وقد يتم الارتباط بالمجاميع المتعادلة الحامضية ، مثل مجاميع الكربوكسيل وبقايا حامض الفوسفوريك ، كما يحدث عند استخدام الصابون الكاتيونى والصبغات القاعدية .

٢- تكون أملاح بروتينية

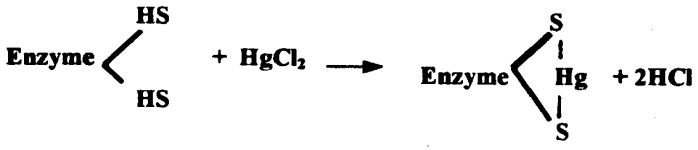
عند إضافة بعض المعادن الثقيلة ، مثل كلوريد الزئبقيك أو نترات الفضة أو كبريتات النحاس ، أو الرصاص والكادميوم والزرنيخ ... الخ ، إلى مزرعة ميكروبية تتكون أملاح البروتين (بروتينات المعدن) ، نتيجة إتحاد المعدن مع البروتوبلازم الخلوى . وبذلك يتوقف نشاط البروتين الخلوى ، ويموت الميكروب .

قد تكون الروابط الملحية المتكونة مع البروتين الإنزيمى روابط ضعيفة ، كما يحدث عند إضافة الصبغات . وهذه الروابط الضعيفة ، تتأين فيما بعد ، تاركة البروتين الإنزيمى كما كان . ولذلك ، فإن هذه المواد وأمثالها ، لاتميت الميكروبات ، بل توقف نموها .

٣- الأكسدة

قد تتعرض محتويات الخلية ، خاصة البروتينات والإنزيمات ، للأكسدة نتيجة التعرض لعامل مضاد ، مثل الأشعة أو البيروكسيدات أو أيونات الإيدروكسيل الحرة ... ، فيحدث على سبيل المثال ، أكسدة المجموعة النشطة بالإنزيم (مثل مجموعة السلفاهيدريل SH-) ، وتتحول إلى مجموعة غير نشطة (داى سلفيد – S – S –) ، وبذلك يفقد الإنزيم فعاليته ، وتتوقف الخلية عن نشاطها .

والتخطيط التالى يوضح ، التغير الذى يحدث فى طبيعة بروتين إنزيمى ، يحتوى على مجموعة سلفاهيدريل ، حدث استبدال لذرة الإيدروجين النشطة بها ، بتأثير كلوريد الزئبقيك .



ومن الإنزيمات التى تحتوى على مجموعة السلفاهيدريل ، وتتعرض للأكسدة ، أو للتفاعل مع المعادن ، وفقد نشاطها ، انزيمات هامة فى تحليل الكربوهيدرات ، مثل :

Alcoholic dehydrogenase, Phospho - glyceraldehyde dehydrogenase, Succinic dehydrogenase

وكذلك بعض مرافقات الإنزيم مثل CoA ، وكذلك انزيم اليورييز Urease ، الذى تفرزه البكتريا المحللة لليوريا ، ويفقد نشاطه بالأكسدة ، أو بإضافة أيونات النحاس أو الزئبق .

٤ – عدم تكون استرات للفوسفات

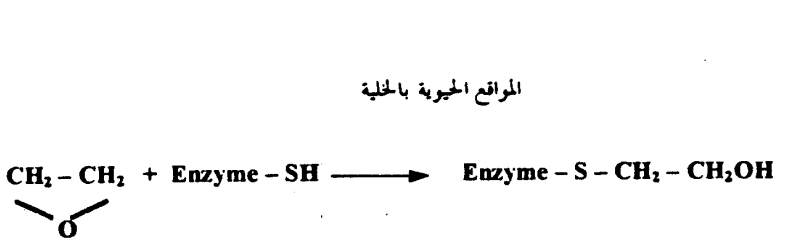
قد يحدث أثناء عمليات الأيض الغذائى للميكروب ، عدم تكوين استرات للفوسفات غير العضوية ، نتيجة لوجود عامل مضاد مثل مركب الأزيد Azide ، وبذلك تتوقف تكوين المركبات ذات روابط الطاقة الغنية بالفوسفات ، ويموت الميكروب ، وذلك كما يحدث عندما يتحد الأزيد مع مجموعة فوسفات الأسيل Acyl phosphate ، ويتكون أزيد الأسيل Acyl azide ، فيتوقف تكون الاسترات .

٥ – حدوث تفاعلات ألكله : Alkylation

قد يحدث لبعض مكونات الخلية ، تفاعلات ألكلة ، عند التعرض لعامل مثل أكسيد الاثيلين .

وعملية الألكلة ، هى إحلال مجموعة الكايل Alkyl ، محل ذرة ايدروجين نشطة فى مركب عضوى ، وذلك كما يحدث عند إستبدال ذرة الإيدروجين فى مجموعة كربوكسيل حرة ، أو أمين ، أو سلفاهيدريل ، بتأثير غاز أكسيد الاثيلين . ففى هذا التفاعل تتكسر حلقة جزىء أكسيد الاثيلين ، ويحل الجزىء محل ذرة الإيدروجين النشطة بالبروتين الخلوى أو الإنزيمى ، فيفقد البروتين طبيعته ، ويتوقف عن نشاطه .

والتخطيط التالى ، يوضح عملية الكلة لإنزيم بواسطة أكسيد الاثيلين ، حيث يحل جزىء أكسيد الاثيلين ، محل ذرة ايدروجين فى مجموعة سلفاهيدريل الانزيم ، ويحدث تثبيط للإنزيم



٦ – تفاعلات أخرى

قد تحدث تفاعلات أخرى ، تضر بالخلية الميكروبية ، نتيجة للتعرض للعامل المضاد . ومن أمثلة ذلك ، حدوث تحلل مائى لبعض جزيئات الخلية عند تعرضها للبخار ، أو لتأثير بعض المواد الكيميائية ، أو حدوث تسرب لمحتويات الخلية أو ذوبانها ، نتيجة لوجودها فى بيئة ذات قوة جذب سطحى منخفض .

إعادة تنشيط الميكروبات التى تعرضت لعامل مضاد : Reactivation

العوامل الموقفة للنمو ، كما ذكر سابقا ، توقف نمو الميكروب دون أن تقتله . ويمكن إعادة تنشيط الميكروبات Reactivation ، التى تعرضت لهذه العوامل بتفاعلات عكسية التأثير Reversible reactions ، إذا لم يكن التعرض للعامل المضاد قد أستمر لفترة طويلة ترتب عليها موت الميكروب .

وأمثلة على ذلك ، عملية التنشيط الضوئى ، بإستخدام الضوء المرئى* ، وذلك بتعريض الميكروبات التى تعرضت للأشعة فوق البنفسجية للضوء ، وإضافة الجلوتاثيون لمعادلة التأثير السام لكلوريد الزئبقيك على الميكروبات ، أو إضافة الأحماض الأمينية ، التى توقفت الميكروبات عن تكوينها لوجود مركبات السلفا ، مثل المثيونين والسيرين ، وتنشيط الخلايا المجففة ، أو المجمدة ، باستخدام المعاملة المناسبة .

المواقع الحيوية بالخلية التى تتأثر بالعوامل المضادة للميكروبات

من المعروف ، أن الخلية الحية تحتوى على العديد من التركيبات والمواقع الحيوية ، التى لكل منها تأثيره الخاص ، على نشاط الخلية ونموها . من هذه المواقع الحيوية ، الجدار الخلوى ، المسئول عن شكل وحماية الخلية ، والغشاء السيتوبلازمى بما يحويه من إنزيمات هامة ، وبما يؤديه من دور أساسى فى النفاذية ، والبروتينات الخلوية ، ودورها فى عمليات البناء والأيض ، والإنزيمات المسئولة عما يتم بالخلية من تفاعلات حيوية ، والأحماض النووية بما تحمله من عوامل تسيطر على نشاط الخلية وعلى صفاتها الوراثية .

تتأثر هذه المكونات والمواقع الحيوية Sites of action بالخلية ، بتأثير العامل المضاد ، فقد يثبط النشاط الخلوى ، أو يوقف النمو ، أو يحدث تغيرات بالخلية تؤدى إلى موتها. ويوضح هذه التغيرات جدول [٤ (١) – ٢] .

---

* أنظر التنشيط الضوئى ، ص ١٢٥ .

جدول ٤ (١) - ٢ : تأثير بعض العوامل المختلفة المضادة للميكروبات على خلية البكتريا

الموقع الحيوى بالخلية	بعض العوامل المضادة وتأثيرها
جدار الخلية	البنسلين - يمنع تكوين جدار الخلية البكتيرية
الغشاء السيتوبلازمى	البوليمكسين - يتلف الغشاء السيتوبلازمى
السيتوبلازم	• الحرارة المرتفعة - تتلف بروتينات السيتوبلازم • الفورمالدهيد - يتفاعل مع مجموعة الأمين بالأحماض الأمينية أو التى بالبروتينات الموجودة بالسيتوبلازم . • اليود ، H_2O_2 ، الهيبوكلوريت - تتفاعل مع مجموعة (SH -) الموجودة بالسيتوبلازم
الرايبوسومات	الارثرومايسين - يوقف عمل الرايبوسومات
المادة النووية	• الحرارة المرتفعة ، بعض الكيميائيات مثل الفينول وأملاح الزئبق - تسبب تغير فى طبيعة البروتين والمادة النووية . • الإشعاع - يحدث خللا فى مكونات المادة الوراثية

ومن هذه التغيرات ، التى تحدث بالخلية الميكروبية ، ومواقعها النشطة ، نتيجة التعرض للعامل المضاد ، مايلى

١ - تلف الجدار الخلوى

يتعرض الجدار الخلوى للتلف ، بتوقف التفاعلات المؤدية لتكوينه ، أو بحدوث تغيرات به بعد تكونه ، مما يؤثر على الخلية الميكروبية .

وقد يحدث نتيجة لفقد الجدار الخلوى ، أو أجزاء منه ، بتأثير العامل المضاد ، نموا غير طبيعيا للخلايا الجديدة المتكونة ، كما يظهر فى بكتريا *E. coli & Proteus vulgaris* ، التى تنمو فى شكل خيوط طويلة كالمكرونة Spaghetti – like ، إذا مانمت البكتريا فى بيئة تحتوى على مضاد حيوى كالبنسلين بتركيزات أقل من تلك المميتة .

٢ – تغير نفاذية الخلية

يفقد االغشاء السيتوبلازمى ، قدرته على التنظيم والتحكم فى عملية النفاذية ، نتيجة تأثره بالعامل المضاد ، وبذلك يحدث تغير فى نفاذية الخلية ، وفى تكامل المكونات الخلوية ، مما يسبب إيقاف نمو الخلية الميكروبية ، أو موتها .

ويمكن إفساد نفاذية الغشاء السيتوبلازمى الاختيارية بأكثر من طريقة ، منها

- استخلاص محتويات الغشاء الدهنية بالمواد المذيبة للدهون ، مثل الكلوروفورم ، والأسيتون والاثير .
- إضافة المواد ذات القدرة على خفض قوة الجذب السطحى للسوائل الملاصقة للغشاء ، مثل المنظفات ، وأملاح الصفراء .
- معاملة الخلايا ببعض الانزيمات مثل الليسوزيم أو ببعض المضادات الحيوية مثل البوليمكسين المضاد للبكتريا ، أو النستاتين المضاد للفطر .

٣ – تثبيط الإنزيمات الخلوية :

يحدث تثبيط للإنزيمات الخلوية ، لما تقوم به من تفاعلات حيوية وأيض غذائى ، وقد تتلف الإنزيمات فتتوقف عن العمل نهائيا ، نتيجة لتأثرها بالعامل المضاد , وبذلك تقف الخلية الميكروبية عن النمو ، أو تموت .

٤ – تغير طبيعة البروتين الخلوى والأحماض النووية

حدوث تخثر أو تغير فى طبيعة البروتين ، أو الأحماض النووية ، أو غيرها من مكونات الخلية الحيوية ، نتيجة لتأثير العامل المضاد ، يضر بالخلية الميكروبية . فالحرارة العالية مثلا ، أو التركيزات العالية من المعادن ، تؤدى إلى تخثر البروتين ، أو حدوث تغير فى طبيعته ، كما يسبب الإشعاع خللا فى تنظيم المكونات التى تتحكم فى الصفات الوائية بالخلية ، مما يؤدى إلى تلف الخلية الميكروبية وموتها .

نظام موت الخلايا بتأثير العوامل المضادة للميكروبات

يزداد معدل موت الميكروبات ، نظريا ، كمحصلة لعامل الزمن ، وذلك ، على إعتبار أن جميع الظروف الأخرى ، البيئية والفسيولوجية ، الخاصة بنمو ونشاط الكائن الدقيق النامى بمزرعة نقية ، مناسبة وموحدة ، طوال فترة التعرض لمعاملة ما، مثل الحرارة المرتفعة أو الحموضة أو مادة كيميائية ... أو غيرها .

فالخلايا الميكروبية الموجودة بالمزرعة النقية ، لاتموت فى لحظة واحدة ، عند تعرضها لعامل مضاد ، بل تموت خلال فترة من الزمن [جدول ٤ (١) -٣] ، بمعدل لوغاريتمى ثابت ، هو عكس مايحدث فى طور النمو اللوغاريتمى بمنحنى نمو ميكروب فى مزرعة نقية .

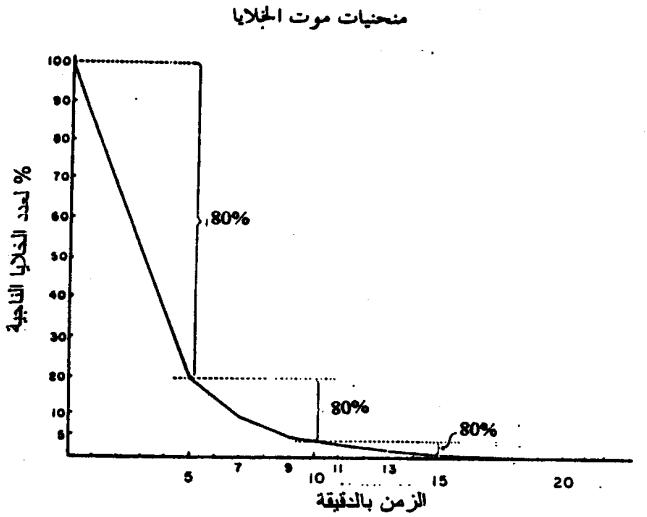
جدول ٤ (١)-٣ * : النظام النموذجى لموت الخلايا الميكروبية ، بتأثير العامل المضاد (الحرارة المرتفعة) ، عندما يؤثر العامل المضاد بمعدل ثابت وتحت ظروف موحدة ، على البكتريا * .
لاحظ العلاقة بين عدد الخلايا الناجية والميتة ، بسبب المعاملة ، ونسبة الموت ، ومدة التعرض للمعاملة .

المدة بالدقيقة	عدد الخلايا الناجية/مل	عدد الخلايا الميته فى وحدة الزمن		العدد الكلى للخلايا الميتة	
		العدد	%	العدد	%
صفر	واحد مليون	صفر	صفر	صفر	صفر
١	مائة ألف	٩٠٠ ألف	%٩٠	٩٠٠,٠٠٠	٩٠
٢	عشرة آلاف	٩٠ ألف	%٩٠	٩٩٠,٠٠٠	٩٩
٣	ألف	٩ آلاف	%٩٠	٩٩٩,٠٠٠	٩٩,٩
٤	مائة	٩٠٠	%٩٠	٩٩٩,٩٠٠	٩٩.٩٩
٥	عشرة	٩٠	%٩٠	٩٩٩,٩٩٠	٩٩,٩٩٩
٦	واحد	٩	%٩٠	٩٩٩.٩٩٩	٩٩,٩٩٩

*** From, Pelczar and Chan, 1981.**

ويتضح من جدول [٤ (١) -٣] ، أن عدد خلايا البكتريا الموجودة بالمعلق ، قبل المعاملة ، هو واحد مليون/مل . وبتعرض هذه الخلايا لعامل القتل وهو الحرارة ، حدث القتل بنسبة ٩٠% فى الدقيقة ، أى بمعدل ثابت ، وخلال ٦ دقائق من المعاملة ، أصبح عدد الخلايا الناجية ، بعد كل دقيقة من المعاملة ، هو ١ × ١٠^{٥} - ١ × ١٠^{٤} - ١ × ١٠^{٣} - ١ × ١٠^{٢} - ١ × ١٠^{١} - ١ وآخر رقم ، يدل على أن خلية حية واحدة كانت موجودة ، فى واحد مل معلق ، بعد ٦ دقائق من المعاملة .

نلاحظ من ذلك ، أنه عند تعرض الميكروبات الموجودة بمزرعة نقية ، لعامل مضاد ، فإن موت الخلايا يتم طبقا لنظام لوغاريتمى . فموت الخلايا لايتم فى لحظة واحدة ، بل بشكل مضطرد ، حيث يكون عدد الخلايا المقتولة فى وحدة الزمن ، كبيرا فى البداية ، ويقل بنظام لوغاريتمى باستمرار المعاملة ، كلما طال الزمن ، بمعنى أن نسبة الخلايا المقتولة يظل ثابتا فى وحدة الزمن . وعلى ذلك ، فإنه إذا أقيمت علاقة بيانية ، تربط بين عدد الخلايا الناجية بالقيم اللوغاريتمية ، وبين وحدة الزمن ، فإن الناتج يعطى خطا مستقيما مائلا Straight slant line [شكل ٤ (١) - ٢ ، ٣] .



شكل ٤ (١)-٢ : منحنى الموت الحسابى الذى يوضح العلاقة بين الزمن والنسبة المئوية لخلايا بكتريا *B. anthracis* الناجية من المعاملة بفينول ٥% ، عند درجة حرارة وحموضة ثابتة .
لاحظ أن نسبة الخلايا الميتة ثابت فى وحدة الزمن

From, Frobisher, 1974

شكل ٤ (١)-٣ : منحنى الموت اللوغاريتمى الذى يوضح العلاقة بين لوغاريتم أعداد خلايا *B. anthracis* الناجية وزمن التعرض للتعامل بفينول ٥% عند درجة حرارة وحموضة ثابتة
لاحظ أن المنحنى الذى يربط لوغاريتم العدد بوحدة الزمن ، يظهر كخط مستقيم

From, Frobisher, 1974

وهذا النظام اللوغاريتمى للموت ، بفعل العامل المضاد ، يمكن التعبير عنه رياضيـــا ، بالمعادلة التالية :

$$ك = \frac{لو\ أ - لو\ ب}{ت}$$ حيث

ك = ثابت معدل الموت ، للعامل المضاد المستخدم فى القتل .
أ = عدد الخلايا الحية الموجودة بوحدة الحجم فى بداية التجربة ، أو وقت التلقيح .
ب = عدد الخلايا الناجية بوحدة الحجم فى نهاية التجربة ، أى بعد مرور الفترة الزمنية ت
ت = الزمن الذى أستغرقته التجربة من بدايتها لنهايتها ، أو بين التلقيح وأخذ العينة

ومن هذه المعادلة ، يمكن حساب معدل موت خلايا أى كائن دقيـــق ، عنـــد تعرضـــه لعامل مضاد قاتل

وماذكر سابقا ، عن موت الخلايا الميكروبية ، بتأثير الحرارة ، ينطبق بشـــكل عـــام ، على مايتعلق بتأثير العوامل المضادة الأخرى على الكائنات وحيـــدة الخليـــة ، واضعيـــن فـــى الإعتبار ، أن الميكروب نامى فى مزرعة نقية تحت ظروف مناسبة ، وأن التأثير يعود فقط إلـــى العامل المضاد الجارى دراسة تأثيره القاتل .

اختيار العامل المضاد المناسب : Selection of antimicrobial agent

نظرا لتعدد الظروف التى تؤثر على استعمال العامل المضاد للميكروبات ، لذلك ، فإنـــه لاتوجد مادة واحدة ، يمكن إعتبارها مهلكا أو مبيدا نموذجيـــا ، Ideal disinfictant ، يمكـــن استعمالها فى جميع الأغراض ، وتحت كل الظروف .

على سبيل المثال ، فإن العامل المضاد للفطريات ، قد لايصلح للبكتريـــا ، ومـــايصلح للبكتريا الموجبة لصبغة جرام ، قد لايناسب السالبة لجرام ، والمناسب لتعقيم سطح مـــادة غـــير حية ، مثل سطح منضدة أو معدات جراحية ، قد لايصلح لتطهير جلد كائن حى ، وبالمثل فـــإن العامل المضاد المستخدم لمعاملة مادة غذائية ، قد لايصلح لمعاملة مادة حيوية تحقن فى مريض. فكل حالة من الحالات ، يجب أن تختبر تحت ظروفها الخاصة ، على أساس ماتم التوصل إليـــه مـــن نتائج خاصة بها ، والعامل المضاد المناسب الذى يحقق النتيجة المستهدفة .

عموما ، فإن اختيار العامل المضاد المناسب ، يتوقف على نوع الميكروب ، وطبيعة المادة التـــى ستعامل ، والظروف البيئية الخاصة بالوسط من رطوبة وحـــرارة وحموضـــة ووجـــود مـــواد عضوية ... الخ .

القوة القاتلة للمواد المضادة للميكروبات : Potency of disinfectants

تُقيَّم المواد المضادة للميكروبات ، بتقدير قوتها القاتلة ، وذلك حتى يمكن تقدير قيمتها ، والمقارنة بينها وبين المواد الأخرى .

وتوجد عدة طرق لتقدير القوة القاتلة للمواد المستعملة فى قتل الميكروبات . وتتوقف الطريقة المستخدمة على نوع المادة التى سيقدر قوتها ، ومكان وظروف استعمالها .

من الطرق المستخدمة : تقدير معامل الفينول Phenol coefficient ، وهو يستعمل لتقييم المواد التى تستعمل خارج الجسم . وتستعمل طرق التخفيف والانتشار ، كطرق أقراص ورق الترشيح ، وطريقة الأسطوانات ، وطرق تقدير الوحدات Unit assay ، لتقييم المضادات الحيوية ، ، وتقدر القوة القاتلة لمركبات السلفا ، فى عينات دم أو بول المريض الذى يعالج بهذه المركبات ، كما يقدر مدى التأثير الضار لمادة كيميائية على النسيج الإنسانى أو الحيوانى ، بتحديد معامل سمية هذه المادة Toxicity index .

وهكذا ، فإن طرق التقدير تختلف بإختلاف الظروف ، ويمكن الرجوع الى التفصيلات الخاصة بهذه الطرق ، وغيرها من الطرق ، فى كتب العملى المتخصصة .

﴿الباب الرابع – الفصل الثانى﴾

تأثير العوامل الطبيعية والبيئية

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
الحرارة	٩٣
تأثير التغير فى درجات الحرارة على الكائن	٩٣
النطاق الحرارى للنمو	٩٣
أقسام الميكروبات بالنسبة لدرجة حرارة النمو المثلى	٩٤
تقسيم البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة	٩٦
نطاق النمو الحرارى لأنواع مختلفة من البكتريا[شكل ٤ (٢) – ١]	٩٦
بعض درجات الحرارة ذات الأهمية فى مجـــالى الميكروبيولوجـــى ..... [شكل ٤ (٢) – ٢]	٩٧
تحمل الحرارة والنمو	٩٨
تأثير الحرارة المنخفضة	٩٨
التجفيـــد	٩٩
تأثير الحرارة المرتفعة	٩٩
المقاومة الحرارية للجراثيم والبكتريا المحبة للحرارة المرتفعة	١٠٠
مصطلحات مستخدمة للتعبير عن مقاومة البكتريا للحرارة	١٠٠
الرطوبة	١٠١
الجفـــاف	١٠٢
أكسجين الهواء الجوى	١٠٣
١– ميكروبات هوائية إجبارا	١٠٣
٢– ميكروبات لاهوائية إجبارا	١٠٤
٣– ميكروبات إختيارية للهواء	١٠٥
٤– ميكروبات محبة للهواء بكميات قليلة	١٠٥
الميكروبات المتحملة للهواء	١٠٥
التسمم الأكسجينى	١٠٦
جهد الأكسدة والاختزال	١٠٧
ثانى أكسيد الكربون	١٠٨

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
الرقم الايدروجينى ق يد ، pH	١٠٨
بعض أرقـــام ق يـــد الهامـــة فـــى مجـــال الميكروبيولوجـــى ..... **[شكل ٤ (٢) - ٣]**	١٠٩
نطاق الرقم الايدروجينى المناسب لنمو أغلب أنـــواع البكتريـــا والفطريات ..... **[شكل ٤ (٢) - ٤]**	١١٠
البيئة والرقم الايدروجينى	١١١
المواد المنظمـــة	١١١
الضغط الأسموزى	١١٢
الأسموزيـــة	١١٢
الضغط الأسموزى للبيئة	١١٣
تحمل الميكروبات للضغوط الأسموزية	١١٤
الجذب (التوتر السطحى)	١١٥
تأثير الجذب السطحى	١١٥
الضغط	١١٦
التأثير الديناميكى للمعادن الثقيلة	١١٧
الـــــرج	١١٧
تحطيم الخلايا	١١٨
الموجات الصوتية	١١٨
الضوء والإشعـــاع	١١٩
الطيف الكهرومغناطيسى	١١٩
ضوء الشمس	١٢١
الاستفادة العملية من الأشعة فوق البنفسجية	١٢١
مقاومة الميكروبات	١٢٢
تأثير الأشعة الأخرى	١٢٢
تأثير الأشعة على الميكروبات	١٢٤
التنشيط الضوئى	١٢٥
الكهـــــرباء	١٢٥
الأنتقال (التفريد) الكهربائى	١٢٥

﴿الباب الرابع – الفصل الثانى﴾

تأثير العوامل الطبيعية والبيئية
Effect of Physical and Environmental Factors

تؤثر العوامل الطبيعية والبيئية على نمو ونشاط الميكروبات ، ويتوقف مدى هذا التأثير على ظروف عديدة ، وسنناقش فى هذا الفصل ، أهم هذه العوامل ، والظروف المؤثرة على كفاءتها .

الحرارة : Temperature

تعتبر الحرارة ، أحد العوامل الهامة المؤثرة ، على كل أنواع الحياة ، فالخلية الحية ، كما هو معروف ، تتكون من بروتوبلازم غروى ، يحتوى على مواد عديدة فى حالة إتزان دقيق ، وهذا البروتوبلازم قابل للتأثر بالحرارة ، كما أنه من المعروف ، أن كل عمليات النمو تعتمد على تفاعلات كيميائية ، تتم بواسطة الإنزيمات الخلوية . وتتأثر الإنزيمات بالحرارة ، لذلك ، يتأثر معدل مايتم من تفاعلات بالخلية ، بدرجة حرارة التفاعل .

لكل هذه الأسباب ، فإننا نجد أن الحرارة تُحدِّد جزئيا معدل نمو الميكروب ، وكمية نموه النهائية ، كما أنهاتؤثر على عمليات الأيض الغذائى ، وعلى الشكل المورفولوجى للخلايا . ومن الأمثلة الواضحة للتغير فى طبيعة الميكروب ، نتيجة التغير فى درجة حرارة الوسط ، مايحدث فى حالة بكتريا *B. anthracis* ، وهى بكتريا متجرثمة ، تسبب مرض الجمرة الخبيثة. ودرجة حرارة نموها المثلى ٣٧°م ، فإذا مانميت هذه البكتريا وتم نقلها على بيئات غذائية عدة مرات على درجة ٤٢°م ، فإنها تفقد قدرتها على تكوين الجراثيم ، وعلى إحداث العدوى .

تأثير التغير فى درجات الحرارة على الكائن

يسبب إنخفاض الحرارة عن الدرجة المثلى لنمو الميكروب ، تقليل معدل سرعة التفاعلات الكيميائية التى تتم بخلية الكائن ، وزيادة لزوجة سوائل الخلية ،وتصلب مابها من لبيدات ، فيقل النشاط الخلوى ، وبزيادة الانخفاض فى درجة الحرارة عن الدرجة الصغرى للنمو ، يتوقف النشاط الخلوى نهائيا .

ويسبب ارتفاع الحرارة عن الدرجة العظمى للنمو ، تلف البروتين الخلوى والإنزيمى والقواعد النتروجينية ، بالتخثر Coagulation ، أو بحدوث تغير فى طبيعة الجزىء Denaturation ، ونتيجة لذلك تموت الخلية الميكروبية .

النطاق الحرارى للنمو : Temperature range of growth

لكل نوع من الميكروبات ، وأحيانا لكل سلالة ، ثلاث درجات حرارة للنمو ، هى العظمى والمثلى والصغرى ، وتختلف هذه الدرجات بتغير ظروف الوسط ، ولكنها ثابتة عند توحد الظروف .

درجة الحرارة العظمى (القصوى) للنمو: Maximum growth temperature

تعرف هذه الدرجة ، بأنها أعلى درجة حرارة يمكن أن ينمو عندها الميكروب ، بحيث لو إرتفعت درجة الحرارة عن القصوى فإن الميكروب يتوقف عن النمو ، وإذا مازاد إرتفاع الحرارة ، فإن الميكروب يموت .

درجة الحرارة المثلى للنمو : Optimum growth temperature

هذه الدرجة ، هى أنسب درجة حرارة ينمو عندها الميكروب ، وعند هذه الدرجة يكون النمو سريعا ، وكميتة كبيرة .

درجة الحرارة الصغرى (الدنيا) : Minimum growth temperature

درجة حرارة النمو الصغرى ، هى أقل درجة حرارة يمكن أن ينمو عندها الميكروب ، بحيث إذا إنخفضت درجة حرارة الوسط عنها ، فإن الميكروب يتوقف عن النمو ، ويصبح فى حالة سكون Dormancy .

ويعرف **النطاق الحرارى للنمو** Temperature range of growth ، بأنه درجات الحرارة ، التى يستطيع أن ينمو عندها الميكروب ، ويقع هذا النطاق مابين درجة حرارة النمو الصغرى والعظمى .

وتستطيع البكتريا ، عموما ، أن تنمو فى نطاق متسع من الحرارة ، يتراوح مابين صفر إلى ٨٠°م ،وتختلف هذه القدرة من نوع لآخر ، فمن الأنواع ذات القدرة الكبيرة *B. subtilis* ، الذى يمكنه أن ينمو مابين درجة ٦ إلى درجة ٥٥°م ، وكذلك بكتريا القولون *E. coli* ، التى تنمو مابين درجة ١٠ إلى ٤٥°م . وهناك أنواع أخرى لها نطاق ضيق للنمو ، كالميكروبات المرضية ، مثل ميكروب المل (من ٢٠ إلى ٤٠°م) ، وميكروب السيلان الذى لاينمو إلا بالقرب من درجة ٣٧°م .

أقسام الميكروبات بالنسبة لدرجة حرارة النمو المثلى

تعتبر درجة حرارة النمو المثلى Optimum growth temperature للكائن ، هى درجة حرارة التحضين ، التى تعطى أغزر نمو لهذا الكائن بسرعة Most rapid growth ، أى خلال فترة قصيرة من الزمن (١٢-٢٤ ساعة عادة) .

وعلى أساس درجة حرارة النمو المثلى ، فإن البكتريا تقسم للأقسام الثلاثة التالية

١- بكتريا محبة للحرارة المنخفضة (البرودة) : Psychrophiles, Cold-loving bacteria

هذه البكتريا ، هى التى درجة حرارة نموها المثلى أقل من ١٥°م ، ويتراوح نطاق نموها الحرارى ، مابين صفر إلى ٣٠°م [جدول ٤ (٢) -١] .

بعض أنواع البكتريا البحرية ، التى تأقلمت على الحياة عند درجة ٤°م ، وهى حرارة مياه الأعماق ، وتموت بعد بضعة دقائق إذا ماتعرضت لدرجة ٣٠°م ، تسمى بكتريا محبة للبرودة إجبارا Obligate psychrophiles . أما تلك الأنواع من البكتريا ، التى تستطيع أن تنمو

عند درجات حرارة تقرب من الحدود الصغرى الخاصة بنمو البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة، فإنها تسمى بكتريا محبة للبرودة اختيارا Facultative psychrophiles .

يكثر وجود البكتريا المحبة للحرارة المنخفضة فى أراضى المناطق الباردة وفى المياه، حيث تلعب دورا هاما فى التحلل المستمر للكميات الضخمة من المواد العضوية التى بالمحيطات والأراضى ، كما أنها توجد بكثرة فى المبردات ، حيث تسبب البكتريا بالإضافة إلى الخمائر والفطريات المحبة للحرارة المنخفضة ، فساد الأغذية وغيرها من المواد المحفوظة بالثلاجات .

جدول ٤ (٢) – ١ : نطاق النمو الحرارى لبعض مجاميع البكتريا .

المجموعة الفسيولوجية	درجة الحرارة °م		
	الصغرى	المثلى	العظمى
بكتريا محبة للحرارة المخفضة	صفر	أقل من ١٥°م	٣٠
بكتريا محبة للحرارة المتوسطة	٥ – ٢٥	١٥ – ٤٥	٣٠ – ٥٠
بكتريا محبة للحرارة المرتفعة	٢٥ – ٤٥	أعلى من ٤٥	٦٠ – ٨٠
بكتريا محبة للحرارة المرتفعة اختيارا	أقل من ٤٠	أعلى من ٤٥	٦٠
بكتريا محبة للحرارة المرتفعة إجبارا	أكثر من ٤٠	أعلى من ٤٥	٨٠

٢- بكتريا محبة للحرارة المتوسطة : Mesophiles

هذه البكتريا ، هى التى يتراوح درجة حرارة نموها المثلى بين ١٥ الى ٤٥°م ، ويتراوح نطاق نموها الحرارى بين ٥ الى ٥٠°م [جدول ٤ (٢) – ١] ، وينتمى الى هذا القسم أغلب أنواع البكتريا مثل بكتريا المياه والأراضى والأنواع الممرضة

وتعرف البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة ، التى تستطيع خلاياها الخضرية أن تتحمل درجات حرارة البسترة العادية فى اللبن ، تعرف باسم بكتريا مقاومة للحرارة Thermoduric bacteria ، مثل بعض الأنواع التابعة لأجناس *Microbacterium, Micrococcus* .

٣- بكتريا محبة للحرارةالمرتفعة : Thermophiles, Heat-loving bacteria

هذه البكتريا هى التى لها درجة حرارة نمو مثلى أعلى من ٤٥°م ، ويتراوح نطاق نموها الحرارى بين ٢٥ الى ٨٠°م .

تقسم البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة إلى

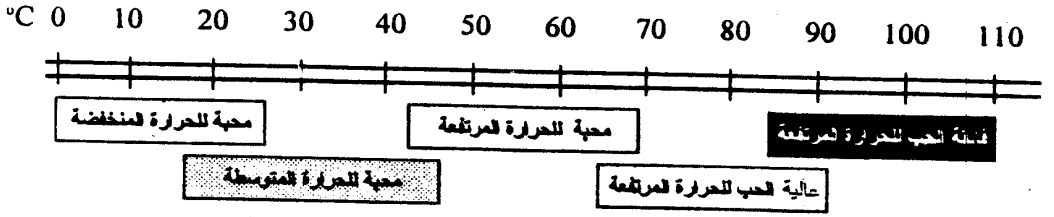
أ - بكتريا محبة لدرجات الحرارة المرتفعة إجبارا Obligate thermophiles ، وهى لاتستطيع النمو عند درجة حرارة أقل من ٤٠°م .

ب- بكتريا محبة لدرجات الحرارة المرتفعة إختيارا Facultative thermophiles ، وهى تستطيع النمو عند درجات الحرارة المتوسطة ، مثل ٢٥°م .

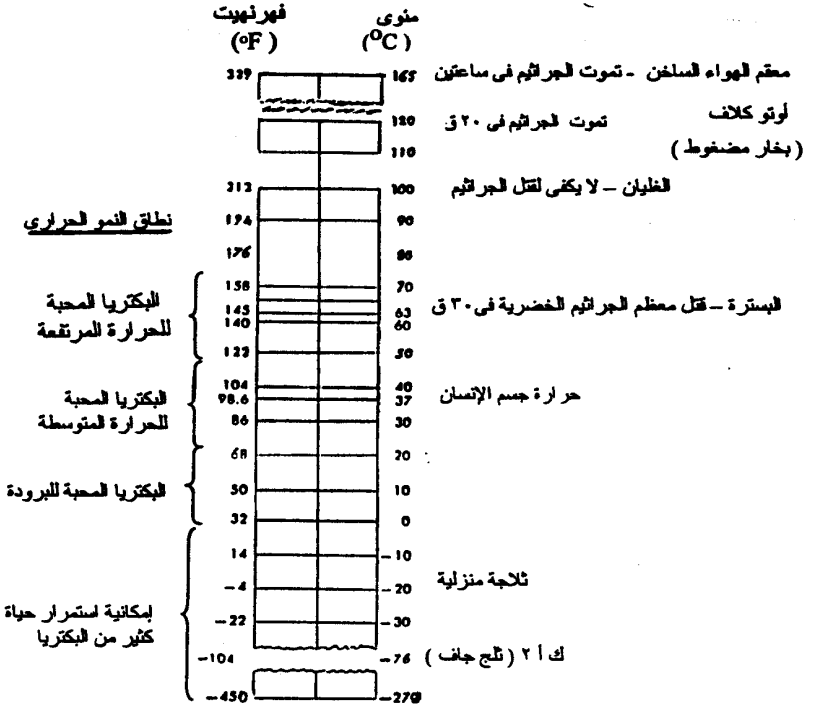
توجد البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة طبيعيا ، فى النافورات الساخنة ، وفى السماد العضوى وسماد الاسطبل ، وفى الأراضى ، كما أنها توجد فى الأغذية المعلبة المحفوظة بالحرارة ، حيث تسبب فسادها ، مالم تبرد الأغذية بسرعة بعد المعاملة الحرارية مع الحفظ فى اماكن مناسبة .

ويوضح الشكل [٤ (٢) - ١] التالى ، النطاق الحرارى لنمو أنواع متعددة من البكتريا.

From : **Schlegel H.G. (1995). General Microbiology,** Cambridge Univ. Press, New York.



كما يبين الشكل[٤ (٢) – ٢] درجات الحرارة الهامة بالنسبة للأحياء الدقيقة



شكل ٤ (٢) – ٢ :
بعض درجات الحرارة ذات الأهمية فى مجال الميكرو بيولوجى

شكل ٤ (٢)– ٢ : بعض درجات الحرارة ذات الأهمية فى مجال الميكروبيولوجى

From : **Frobisher, 1974.**

وبالنسبة للبكتريا المحبة للحرارة المرتفعة إجباراً ، فمنها

- مايتوقف نموه الخضرى عند حوالى ٧٠°م مثل *B. stearothermophilus* .
- ومنها مايقع نموه الأمثل عند درجة أعلى من ٦٥°م مثل *Thermus aquaticus* .
- ومنها مايستطيع النمو حتى درجة ٨٠°م مثل *Sulfolobus acidocaldarius* ، أو حتى عند درجة ١٠٥°م مثل بعض أنواع من البكتريا اللاهوائية حتماً المختزلة للكبريت .

وتسمى البكتريا التى تنمو بين درجة ٨٠ الى ١٠٠°م ببكتريا فائقة الحب للحرارة المرتفعة Hyper-thermophiles .

تحمل الحرارة والنمو : Endurance and growth

يجب أن نفرق تماما ، بين قدرة الميكروب على تحمل Endure درجة حرارة معينة ، وقدرته على النمو عند هذه الدرجة ، فكثير من الكائنات ، بما فى ذلك الفيروسات والبكتريا والفطريات وخلايا الثدييات ، يمكن أن تبقى حية ، دون القدرة على النمو بتاتا ، لعدة أشهر أو سنين ، مجمدة فى الثلج الجاف (ثلج ك أ، عند درجة -٧٦°م) ، أو النتروجين السائل (-١٩٥°م) ، كما أن الكائنات المقاومة لدرجات الحرارة المرتفعة Thermoduric ، تستطيع أن تبقى حية ، عند درجات حرارة أعلى من ٥٥°م ، دون أن تكون قادرة على النمو عند هذه الدرجات .

تأثير الحرارة المنخفضة

الميكروبات أقل تأثرا بإنخفاض الحرارة ، عنها من إرتفاع الحرارة ، فعندما تنخفض درجة حرارة الوسط عن الدرجة المثلى ، يقل النشاط الأيضى للخلايا ، وينخفض معدل تمثيل الميكروبات ككل الكائنات الحية ، بمقدار النصف تقريبا ، لكل عشرة درجات إنخفاض فى درجات الحرارة . فإذا ماوصل إنخفاض الحرارة الى الدرجة الصغرى ، يقف النشاط الأيضى ، وتصبح الخلايا الميكروبية فى حالة سكون Dormancy ، ويستفاد من هذه الخاصية فى عمليات حفظ الأغذية ، وحفظ المزارع الميكروبية .

إذا ماوصل الإنخفاض فى درجة حرارة الوسط إلى التجمد Freezing ، فإن الكثير من الخلايا يبقى ، متحملا التجمد لمدة طويلة ، وإن كانت بعض الخلايا تموت بطريقة ميكانيكية ، بسبب تمزيق بللورات الثلج المتكونة لخلايا الميكروب . وهنا يلاحظ ، أن تأثير التجميد على الخلايا ، يتوقف على السرعة التى يتجمد بها الماء داخل الخلية ، وعلى ذلك فإننا نجد أن التجميد السريع Quick freezing ، أقل ضررا على الخلايا من التجميد البطىء Slow freezing ، حيث أنه فى الحالة الأخيرة ، تتكون البللورات الثلجية ببطء ، وتصبح كبيرة حادة تمزق الخلية ، بينما فى حالة التجميد السريع ، تتكون البللورات الثلجية بسرعة ، وتصبح ذات شكل وملمس قطنى .

ولذلك فإن التجميد لايعتبر من طرق التعقيم ، وقد وجد أن بعض أنواع الباسلس ، تبقى حية لمدة ثلاثة أيام ، على درجة حرارة الإيدروجين المسال (-٢٥٣°م) .

التجفيد ، التجفيف مع التجميد : Lyophilization, Freeze-drying

تحفظ المزارع البكتيرية ، لعدة شهور على درجة حرارة منخفضة بوضعها فى الثلاجة ، ويمكن الآن حفظ هذه المزارع لمدد طويلة جدا ، تصل لعدة سنوات ، بإستعمال طريقة التجفيد ، وهى طريقة تجمع مابين التجميد والتجفيف ، وذلك بتجميد المزرعة ، وهى فى الوعاء (عادة أمبول Ampule) الذى يحتويها ، تجميدا سريعا بواسطة الثلج الجاف (ك أ٢ الصلب) ، ثم تجفيف المزرعة المتجمدة بالتسامى تحت تفريغ ، مع قفل الوعاء تحت التفريغ قفلا محكما .

وتحفظ الميكروبات المجفدة ، فى مكان بارد مظلم ، وبهذا تبقى حية لسنين طويلة . وتستخدم هذه الطريقة الآن بكثرة فى المصانع والطب والمعامل الميكروبيولوجية .

تأثير الحرارة المرتفعة

معدل الموت

إذا إرتفعت درجة حرارة الوسط ، عن الدرجة العظمى لنمو الميكروب ، يتلف البروتين الخلوى والإنزيمى والقواعد النتروجينية بالأحماض النووية ، فيموت الميكروب ، ويتأثر معدل موت الخلايا Rate of death بعوامل عديدة ، منها ظروف المزرعة الميكروبية من حيث تركيب البيئة ، ونوع وعدد وعمر الخلايا ، وحموضة المزرعة ، ودرجة الحرارة المستعملة فى القتل ، ونسبة الرطوبة الموجودة .

وعلى اعتبار أن جميع الظروف البيئية مناسبة وموحده ، فقد وجد أن موت الخلايا نتيجة لإرتفاع درجات الحرارة ، يتم طبقاً لنظام لوغاريتمى [شكل ٤ (١)- ٣ بالفصل السابق] .

الخلايا الميكروبية الناضجة ، أكثر مقاومة للقتل من الخلايا الحديثة ، كما أن الخلايا المغلفة بمواد مخاطية أكثر مقاومة من الخلايا العارية ، لبطء وصول تأثير الحرارة لمراكز المواد المتجمعة .

الرطوبة والحرارة

وجد أن الحرارة الرطبة Moist heat (أى حرارة مصحوبة برطوبة) ، أشد تأثيرا على الخلايا الميكروبية من الحرارة الجافة Dry heat ، حيث تساعد الرطوبة على تخلل الحرارة للخلية ، وبالتالى على سرعة تخثر البروتين الخلوى وتلفه ، وعلى سبيل المثال ، فإن جراثيم البكتريا المسببة للتسمم البوتشولينى *Cl. botulinum* ، تموت بعد ٢٠ دقيقة من تعرضها للحرارة الرطبة عند درجة ١٢٠°م ، بينما لاتموت إلا بعد ساعتين من تعرضها للحرارة الجافة عند نفس درجة الحرارة .

وكلما زادت نسبة الرطوبة ، كلما قلت درجة الحرارة اللازمة لتخثر بروتين الخلية الميكروبية ، ويوضح ذلك دراسة تأثير كمية رطوبة البيومين البيض ، على درجات الحرارة اللازمة لتخثره [جدول ٤ (٢) - ٢] .

جدول ٤ (٢) - ٢ : العلاقة بين المحتوى الرطوبى لألبيومين البيض ودرجة الحرارة اللازمة لتخثره .

كمية الرطوبة %	درجة حرارة التخثر°م
٥٠	٥٦
٢٥	٨٠
صفر	١٧٠

المقاومة الحرارية للجراثيم والبكتريا المحبة للحرارة المرتفعة : Thermal resistance

يرجع مقاومة البكتريا الثرموفيلية لفعل الحرارة ، إلى تركيب الإنزيمات الموجودة بها، حيث وجد أن لهذه الإنزيمات ، القدرة على مقاومة التثبيط الحرارى ، ويعود ذلك الى طبيعة تركيب هذه الإنزيمات ، الذى يساعد على مقاومة الحرارة بدرجة أكبر ، من مثيلتها الميزوفيلية.

وجراثيم البكتريا أكثر مقاومة للحرارة من الخلايا الخضرية الناتجة منها ، فبينما يمكن قتل الخلايا الخضرية لنوع من البكتريا على درجة حرارة أقل من الغليان ، فإن بعض الجراثيم تقاوم درجة الغليان لمدة ١٦ ساعة ، لذلك فإنه لايكتفى بالغليان لقتل الجراثيم ، بل يلزم استعمال درجة حرارة أعلى من ١٠٠°م ، بإستخدام أجهزة التعقيم المناسبة كالأوتوكلاف .

ونظرا لأن الخلايا الخضرية تهلك بتعرضها لدرجة ٨٠°م لعدة دقائق ، أو درجة ٦٠°م لمدة نصف ساعة ، فإن هذه الخاصية تستخدم فى تحضير اللقاح Vaccine ، حيث تعرض البكتريا لدرجة ٦٠°م لمدة ٣٠-٦٠ ق ، فتقتل الخلايا البكتيرية ، دون الإضرار بمركبات الخلية اللازمة لإحداث المناعة .

مصطلحات مستخدمة للتعبير عن مقاومة البكتريا للحرارة

درجة الحرارة القاتلة : Thermal death point

إذا إرتفعت درجة حرارة الوسط عن الدرجة العظمى لنمو الميكروب ، فإننا نصل الى درجة الحرارة القاتلة ، وتعرف هذه الدرجة بأنها أقل درجة حرارة بعد العظمى ، يقتل عندها الميكروب ، إذا ماتعرض لها لمدة عشرة دقائق ، على أن يكون الميكروب ناميا فى مزرعة عمرها ٢٤ ساعة .

الوقت المميت : Death time

يعرف الوقت المميت ، بأنه الوقت بالدقيقة ، اللازم لقتل كل الميكروبات التابعة لنوع ما ، الموجودة فى حجم معين عند درجة حرارة معينة .

ويختلف الوقت المميت لنوع ما ، باختلاف درجات الحرارة المستخدمة ، فعلى سبيل المثال ، فإن بكتريا السل تموت بعد ٣٠ دقيقة من التعرض لدرجة ٥٨°م ، وبعد ٢٠ دقيقة من التعرض لدرجة ٥٩°م ، وبعد ١٥ دقيقة على درجة ٦٠°م ، وبعد ١٠ دقائق على درجة ٦١°م وبعد ٢ دقيقة على درجة ٦٥°م .

النتائج المتحصل عليها من الدراسات الخاصة بالوقت المميت ودرجة الحرارة القاتلة ، تعتبر ذات أهمية كبيرة فى الميكروبيولوجيا التطبيقية ، خاصة فى صناعة المعلبات ، حيث يمكن على أساس النتائج المتحصل عليها ، تحديد المعاملة الحرارية (أى درجة الحرارة والوقت) اللازمة لمعاملة الأغذية المعلبة ، لحفظ محتوياتها من عوامل الفساد الميكروبى .

التعقيم بالحرارة : Sterilization by heat

تستخدم الحرارة المرتفعة ، فى التخلص من الميكروبات ، ومن أكثر أنواع الحرارة إستعمالا فى التعقيم ، استخدام الحرارة الرطبة بجهاز الأوتوكلاف أى البخار تحت ضغط ، حيث يمكن بهذه الطريقة ، استخدام درجة حرارة أعلى من ١٠٠°م فى وجود الرطوبة ، وعموما ، يعتبر استعمال ضغط ١٥ رطل على البوصة المربعة (أى مايعادل ١٢١,٥°م) لمدة ١٥ دقيقة ، معاملة كافية للتخلص من الخلايا البكتيرية الخضرية والمتجرثمة .

الرطوبة : Moisture

تؤثر رطوبة الوسط على نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ، ويُكوِّن الماء من ٧٠ الى ٩٠% من مكونات الخلية . وتعتبر البكتريا من الكائنات المائية Aquatic ، وحيث أنها تتغذى بالإنتشار الغشائى ، فإن الماء ضرورى لحياتها ، ليذيب المواد الغذائية اللازمة للخلية ، وليحمل المواد التالفة إلى خارجها ، وكذلك للمحافظة على رطوبة السيتوبلازم ، وتوفير نسبة الرطوبة الكافية لإجراء التفاعلات الحيوية التى تتم بداخل الخلية .

ليست الرطوبة الكلية Total moisture التى تحتويها البيئة ، هى التى تحدد نمو الميكروب ونشاطه ، فقد يكون محتوى البيئة من الرطوبة عاليا ، ولكنها موجودة بالبيئة فى صورة غير حرة، كأن تكون مرتبطة بالبروتينات ، والمواد الغروية ، بحيث لايستطيع الميكروب الاستفادة منها ، فيقف نموه . وعلى ذلك ، فإن الذى يحدد نشاط الكائن الدقيق ، هو كمية الرطوبة الحرة (الميسرة) Available moisture الموجودة بالبيئة النامى بها الكائن ، أى كمية الماء الموجودة بحالة حرة ، فى البيئة ، أو المادة الغذائية .

ويمكن معرفة الرطوبة الحرة ، بتقدير النشاط المائى للوسط نم a_w ، Water activity ، وهو عبارة عن النسبة بين الضغط البخارى للمحلول ، وبين الضغط البخارى للمذيب (الماء) ، علما بأن نم الماء النقى = ١ .

الحد الأدنى من نم ، اللازم لنمو بعض مجاميع الكائنات الدقيقة ، موضح بجدول [٤ (٢) - ٣] ، علما بأن هذا الحد الأدنى ، يحدده عوامل عديدة ، متعلقة بنوع الميكروب ، والظروف البيئية النامى فيها .

جدول ٤ (٢)-٣ : الحد الأدنى من نم اللازم لنمو بعض الكائنات الدقيقة .

أنواع الكائنات	الحد الأدنى من نم اللازم للنمو
غير أوزموفيلية	
بكتريـــا	٠,٩١
خميـــرة	٠,٨٨
فطريـــات	٠,٨١
أوزموفيلية	
بكتريا محبة للملوحة Halophiles	٠,٧٥
فطريات محبة للجفاف Xerophiles	٠,٦٥
خمائر محبة للضغط الأسموزى المرتفع Osmophiles	٠,٦٠

ويتضح من الجدول السابق ، أن الفطريات (غير الأزموفيلية) ، تتحمل حدا أدنى مـن الرطوبة الحرة أقل مما تتحمله الخمائر والبكتريا ، بمعنى آخر ، فإن البكتريا تحتـاج لرطوبـة حرة أكثر مما تحتاجه الخمائر، وتحتاج الخمائر لرطوبة حرة أكثر من الفطريات .

وبصفة عامة ، فإن معظم الكائنات الدقيقة العادية أى غير الأزموفيلية ، تقف عن النمـو ، إذا قل النشاط المائى (نم) عن ٠,٧ ، ومن حيث المحتوى الكلى للرطوبة ، فإن نمـو الكائنـات الدقيقة ، يُحَد إلى درجة كبيرة ، إذا قلت نسبة الرطوبة الكلية بالوسط عن ١٠-١٥% .

الجفـاف : Desiccation

يؤثر الجفاف على نشاط الكائنات الدقيقـة ، فتجفيـف الوسـط ، أو تجفيـف الخليـة الميكروبية ، يقلل أو قد يوقف نشاطها ، وقد يعقب ذلك الموت فى بعض الحالات . وعموما فإن المدة التى تستطيع أن تتحملها الميكروبات وتبقى خلالها حية ، بعد إجراء التجفيف ، تعتمد علـى نوع الميكروب ، وظروف وتركيب الوسط الموجود به الميكروب ، ودرجة التجفيف .

تتأثر الخلايا الخضرية للبكتريا بالجفاف ، وقد تهلك نتيجة لذلـك ، وعمومـا تتميـز جراثيم الميكروبات ، مثل الجراثيم الكونيدية ، والكلاميديـة ، والأرثوسـبور ، وحويصـلات البروتوزوا ، بتحمل الجفاف لفترات طويلة ، عن خلاياها الخضرية ، وإن كانت تتميز جراثيـم البكتريا بشدة مقاومتها للجفاف ، فجراثيم بكتريا الحمى التفحمية ، على سبيل المثال ، يمكـن أن تنبت وتعاود نشاطها ، بعد عشرة سنوات أو أكثر من الحفظ هوائيا بحالة جافة .

يختلف تأثر البكتريا بالجفاف بإختلاف النوع ، وعلى سبيل المثال ، فإن بكتريا السـل تعتبر من الأنواع الشديدة المقاومة للجفاف ، حيث تتحمل الجفاف لمدة ٩٠ يوما ، بينما نجـد أن بكتريا الكوليرا لاتتحمل الجفاف لأكثر من يومين ، فهى حساسة له ، وبكتـريا السيـلان شديدة

الحساسية حيث تموت بعد عدة ساعات من تعرضها للجفاف ، كما وجد أن البكتريا ذات العلبة ، أكثر مقاومة للجفاف من مثيلتها التى بدون علبة .

ولو أن بعض خلايا البكتريا الخضرية ، وأغلب أنواع البكتريا المتجرثمة ، تحتفظ بحيوتها لمدة طويلة فى حالة جفاف ، إلا أن نموها ونشاطها يكون متوقفا ، لعدم وجود الرطوبة الكافية التى تمكن الميكروب ، من الحصول على غذائه ، والقيام بنشاطه الحيوى . وتستغل هذه الخاصية ، فى حفظ كثير من الأغذية لمدد طويلة بالتجفيف ، كما فى حالة الفواكه ، واللبن ، والأسماك ، وبعض الأغذية الأخرى ، على أنه إذا ماوصلت الرطوبة الى هذه المواد الغذائية المجففة ، فإن الميكروبات تعاود نشاطها ، وتسبب فساد هذه الأغذية .

أكسجين الهواء الجوى : Aerobic oxygen

يُكوِّن الأكسجين حوالى ٢٠% من الهواء الجوى ، وهو يعتبر من أهم الغازات المكونة له ، وللأكسجين ولغاز ثانى أكسيد الكربون ، تأثير كبير على نمو الكائنات وتكاثرها وتأقلمها ، فبواسطة الأكسجين الجوى تتم عمليات الأكسدة والإختزال ، وانتاج الطاقة ، والأيض الغذائى لجميع الكائنات الهوائية ، وقد وضح أن الأكسجين الحر (الهواء الجوى) لازم للحياة ، منذ أن عزل الأكسجين بواسطة بريستلى Priestley عام ١٧٧٤ ، وملاحظات لافوازييه Lavoisier عام ١٧٧٥ ، ورغم ذلك ، فقد أثبت باستير Pasteur عام ١٨٨١ ، أن بعض أنواع الخمائر والبكتريا ، يمكنها أن تنمو وتتكاثر فى عدم وجود الهواء ، ومن هنا أدخل باستير مصطلح Anaerobiosis ، (المعيشة اللاهوائية) ، ليعبر عن الحياة والتكاثر بدون أكسجين الهواء الجوى وقد كان ذلك إكتشافا مثيرا فى مجال العلوم البيولوجية ، وتحتاج التنمية اللاهوائية للميكروبات إلى طرق خاصة مناسبة .

وعلى ذلك ، فقد تحتاج الكائنات الدقيقة ، أو لاتحتاج ، لأكسجين الهواء الجوى ، وتتضمن تلك الكائنات ، أنواع عديدة من البكتريا [جدول ٤ (٢) – ٤] .

وتبعا لحاجة الكائنات الدقيقة للأكسجين الجوى ، فإنها تقسم الى الأقسام الأربعة التالية

١ – ميكروبات هوائية إجبارا : Strict aerobic microorganisms, Oxybiontic

يلزم لنمو وتكاثر هذه الميكروبات ، توفر أكسجين الهواء الجوى فى الوسط الذى تعيش به ، وإلا توقفت عن النمو ، وهى تستخدم الأكسجين كمستقبل نهائى للإيدروجين والإلكترونات ، إذ أن النظام الإنزيمى بهذه الميكروبات ، بما يحويه من سيتوكروم ، له القدرة على نقل الإيدروجين والألكترونات الى الأكسجين الحر ، وبذلك تتمكن هذه الكائنات بإستخدامها للأكسجين الحر ، من أكسدة المادة العضوية ، أو غير العضوية ، للحصول على الطاقة ، وعادة ماتتأكسد مادة التفاعل أكسدة كاملة إلى : ك أ، CO_2 ، يد،أ H_2O ، وقد ينتج يد،أ، H_2O_2 .

ويرجع أيضا ضرورة إحتياج كائنات هذا القسم للأكسجين ، إلى أنها لاتحتوى على إنزيمات التنفس اللاهوائى ، كما أن نواتج التنفس اللاهوائى تعتبر سامة لها .

جدول ٤ (٢) - ٤ : علاقة بعض أنواع البكتريا بأكسجين الهواء الجوى .

المجموعة الفسيولوجية	بعض الأجناس أو العائلات الممثلة
هوائية إجبارا تنمو فقط فى وجود الأكسجين الحر	*Bacillus* *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Brucella*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, Myxobacteriales, Nitrobacteraceae, *Nocardia* , *Pseudomonas*, Streptomycetaceae, *Thiobacillus*, *Xanthomonas*
لاهوائية إجبارا تنمو فقط فى غياب الأكسجين الحر	*Clostridium* *Actinomyces*, Bacteroidaceae, Chlorobacteriaceae, *Desulfovibrio*, Thiorhodaceae
اختيارية للهواء تنمو فى وجود أو فى غياب الأكسجين الحر	*Alcaligenes*, Enterobacteriaceae, *Neisseria*, *Spirillum*, *Staphylococcus*
محبة للهواء بكمية قليلة تنمو في وجود كميات قليلة من الأكسجين الحر	*Lactobacillus*, *Leptospira*

٢ - ميكروبات لاهوائية إجبارا : Strict anaerobic organisms, Anoxybiontic

هذه الميكروبات تنمو فقط فى غياب أكسجين الهواء الجوى حيث أن وجوده يميتـــها ، وتحصل هذه المجموعة على الطاقة ، من تحويل المواد ذات الطاقة العالية ، إلى مواد ذات طاقة أقل . أو تستخدم موادا تحتوى على أكسجين مرتبط (مثل النترات) ، لأكسدة المواد العضويـــة ، وهذه الكائنات لاتؤكسد المواد أكسدة كاملة ، كما فى حالة الميكروبات الهوائية ، بل تؤكســـدها أكسدة جزئية إلى مركبات وسطية .

وقد فُسِّر نمو ميكروبات هذه المجموعة فى غياب الأكسجين الحر الى مايلى :

أ - يعتبر الأكسجين سام لها ، إذ أن بعض إنزيماتها تثبط فى وجود الأكسجين الحر ، كما أن إنزيماتها تكون نشطة وهى فى الحالة المختزلة .

ب -لايستطيع نظامها الإنزيمى ، نقل الإيدروجين والالكترونات إلى الأكسجين الحر ، وعليها أن تستعمل موادا أخرى ، كمستقبل نهائى للإيدروجين والالكترونات .

ج- عدم إحتوائها على إنزيم الكاتاليز الذى يحمى الخلية من H_2O_2 ، (راجع التسمم الأكسجينى بالصفحة التالية) .

٣- ميكروبات إختيارية للهواء: Facultative organisms

هذه المجموعة من الميكروبات ، تستطيع النمو فى وجود ، أو فى غياب أكسجين الهواء الجوى ، فنظامها الإنزيمى يمكنها من ذلك ، وحسب درجة تفضيلها للأكسجين الحر Free oxygen ، أو الأكسجين المرتبط Combined oxygen ، تقسم إلى اختيارية هوائية ، أو إختيارية لاهوائية .

تستطيع أفراد هذه المجموعة ، أن تنمو هوائيا ، ولكنها لاتنتج H_2O_2 ، ولاتحتوى على كاتاليز ، وتتشابه أيضا مع الميكروبات اللاهوائية ، فى أنها لاتحتوى عادة ، على نظام السيتوكروم الذى يمكنها من استخدام الأكسجين الحر كمستقبل للإيدروجين والالكترونات .

إذا استعملت نفس المادة الغذائية فى التنمية الهوائية واللاهوائية للميكروب ، فإن النمو تحت الظروف الهوائية ، يقدر بحوالى ٢٠-٣٠ مرة قدر كمية النمو تحت الظروف اللاهوائية ، وسبب ذلك أن الطاقة الناتجة من تحليل وحدة مادة غذائية هوائيا ، يساوى ٢٠-٣٠ مرة قدر الطاقة المتولدة من نفس المادة لاهوائيا .

٤- ميكروبات محبة للهواء بكمية قليلة : Microaerophilic organisms

تنمو هذه الميكروبات فى وجود كمية ضئيلة من أكسجين الهواء الجوى بالوسط الذى تعيش فيه ، ويرجع ذلك إلى أن بعض الإنزيمات الموجودة بهذه الميكروبات ، تثبط فى وجود الأكسجين الحر ، كما فى حالة الميكروبات اللاهوائية ، ولكن بدرجة أقل .

الميكروبات المتحملة للهواء : Aerotolerant organisms

أغلب الميكروبات ليست هوائية إجبارا ، أو لاهوائية إجبارا ، ولكنها تقع فى حالة وسطية ، بحيث تتدرج الميكروبات المختلفة فى إحتياجها للأكسجين .

والبكتريا المتحملة للهواء Aerotolerant ، هى تلك البكتريا اللاهوائية التى تتحمل ، وتستطيع النمو فى وجود نسبة من الأكسجين ، أقل من تلك الموجودة فى الجو العادى .

التسمم الأكسجيني : Oxygen toxicity

الأكسجين عنصر هام فى تنمية البكتريا الهوائية ، وتعود أهميته إلى قدرته التأكسدية العالية ، حيث يعمل بكفاءة كمستقبل نهائى للإلكترونات ، فى عمليات الأيض الحيوية المنتجة للطاقة بالخلية ، المعروفة بالتنفس . ورغم تلك الأهمية ، فقد يكون للأكسجين تأثيرات ضارة على مكونات الخلية ، خاصة بالنسبة للبكتريا اللاهوائية المحبة للنمو فى وسط خالى من الأكسجين ، أو بالنسبة للبكتريا المحبة لكمية قليلة من الأكسجين ، خاصة وأن هذه الأنواع من البكتريا ، تفتقر الى الوسائل التى تحميها من تأثيرات الأكسجين التأكسدية الضارة ، كإنزيم الكاتاليز الموجود بالبكتريا الهوائية .

تعرف الاثار الضارة للأكسجين على الخلايا ، باسم التسمم الأكسجينى ، ومن هذه الاثار الضارة :

١ - تثبيط الانزيمات الخلوية

يؤكسد الأكسجين الجوى الانزيم نفسه ، أو يؤكسد بعض المجموعات المختزلة الموجوده به ، مثل مجموعة SH- ، وبذلك يفقد الانزيم نشاطه .

ومثالا لذلك انزيم النتروجينيز المثبت لنتروجين الهواء الجوى ، إذ يفقد هذا الانزيم نشاطه ويتوقف عن التثبيت ، حتى فى وجود كميات قليلة من الأكسجين بالوسط .

٢ - ضرر الخلية من نواتج الأكسجين السامة

تؤدى بعض التفاعلات الحيوية بالخلية ، المتضمنة الأكسجين الجزيئى ، الى إضافة الكترون إلى جزىء الأكسجين ، وتكون ($O_2^{\cdot -}$) ، وهو مايعرف بالأكسجين الثلاثى Triplet oxygen ، أو بشق فوق الأكسيد Superoxide radical

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot -}$$

شق فوق الأكسيد المتكون ، عامل مؤكسد نشط ، وهو قادر على إحداث تفاعلات أكسدة ، لايستطيع الأكسجين الجزيئى القيام بها ، مما يؤدى إلى تثبيط أنشطة الخلية ، وتلف مكوناتها ، وذلك نتيجة تكون مواد سامة للخلية مثل فوق أكسيد الإيدروجين H_2O_2 ، وشقوق إيدروكسيلية Hydroxyl radicals (OH.) ، حسب التفاعلات الأتية :

$$1)\ 2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

$$2)\ O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \longrightarrow O_2 + OH^- + OH.$$

البكتريا الهوائية والإختيارية ، بعكس البكتريا اللاهوائية ، تمتلك الوسائل التى تحمى بها نفسها من تلك التسممات الأكسجينية ، وذلك بإحتوائها على إنزيمات مثل Superoxide dismutase ، الذى يحول $O_2^{\cdot -}$ الى H_2O_2 معادلة (١) ، وإنزيم الكتاليز الذى يحول H_2O_2 إلى H_2O وأكسجين (معادلة ٢) ، وانزيم البيروكسيديز الذى يحول H_2O_2 الى ماء ومواد مؤكسدة (معادلة ٣) .

$$2\,O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{\text{Dismutase}} O_2 + H_2O_2 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots \quad (1)$$

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalas}} 2H_2O + O_2 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots \quad (2)$$

$$H_2O_2 + \text{reduced substrate} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} 2H_2O + \text{Oxidized substrate} \quad (3)$$

مواد مختزلة — مواد مؤكسدة

جهد الأكسدة والإختزال : Oxidation-Reduction potential (O/R potential)

تحصل الخلية على الطاقة اللازمة لها من المواد الغذائية ، عن طريق سلسلة من التفاعلات الكيميائية (أكسدة واختزال) ، التى تتم بداخل الخلية أو على سطحها .

وفى تفاعلات الأكسدة والإختزال ، فإن مادة تؤكسد ، وأخرى تختزل ، فتتحول المادة من مادة مؤكسدة إلى مادة مختزلة ، لإكتسابها الإلكترونات أو الإيدروجين (مثل الحديديك والحديدوز ، أو حامض الفيوماريك والسكسنيك) ، نتيجة لانتقال الإلكترونات من مادة لأخرى ، أو من نظام لآخر .

بسبب فرق جهد الدفع الكهربائى Electromotive potential ، ينشأ فرق فى جهد الأكسدة والإختزال بين المواد المتفاعلة ، رمزه Eh ، ويمكن أن يقاس هذا الفرق فى الجهد كهربائيا بطرق فرق الجهد الكهربائى Potentiometerically ، ويعبر عنه بالفولت Eh in volts أو يقاس بطريقة لونية Colorimetrically ، أو بإضافة أدلة إلى البيئة ، مثل دليل عباد الشمس أو أزرق المثيلين ، وعادة فإن الأدلة المستعملة ، تكون ملونة فى الحالة المؤكسدة ، وعديمة اللون فى الحالة المختزلة ، وكلما زاد رقم الـ Eh بالنسبة لنظام ما ، دل ذلك على قدرة هذا النظام على استقبال الإلكترونات من نظام آخر ، ذو Eh أقل .

يلعب جهد الأكسدة والإختزال دورا هاما فى التفاعلات البيولوجية ، ويوضح رقم الـ Eh ، حالة البيئة من حيث جهد الأكسدة والإختزال ، وهذا يؤثر على نمو ونشاط الميكروبات ، فوجود مواد مؤكسدة بالبيئة مثل نترات البوتاسيوم KNO_3 ، تجعل البيئة مؤكسدة . فيرتفع رقم الـ Eh ، للبيئة ، فإذا وجدت هذه المواد المؤكسدة ، مع مواد أخرى قابلة للأكسدة ، فإن بعض الميكروبات الهوائية يمكنها أن تنمو فى وجود كمية قليلة من الأكسجين .

وبالعكس ، فإنه إذا وضعت مواد مختزلة فى البيئة ، كالكبريتوز ، الثيوجليكولات ، السستين Cysteine ، الجلوتاثيون Glutathione ، فإنها تجعل البيئة مختزلة ، فينخفض رقم الـ Eh ، وبذلك يصبح مناسبا لنمو الميكروبات اللاهوائية ، دون الحاجة لإبعاد الأكسجين الجوى ، أو قفل الوعاء .

تحتاج البكتريا اللاهوائية فى نموها ، إلى وسط خالى من الهواء ، أو ذو Eh منخفض (أى وسط مختزل) ، وأغلب البكتريا اللاهوائية تحتاج الى وسط ذو Eh = -٠,٢ فولت مثل أنواع من جنس *Clostridium* ، غير أن بعض أنواع البكتريا اللاهوائية شديدة الحساسية للأكسجين الجوى ، مثل أفراد جنس *Bacteroides* تحتاج إلى Eh = -٠,٤ فولت أو أقل ، علما بأن Eh لنظام $NAD^+/NADH + H^+$ عند pH ٧ ودرجة حرارة ٢٥°م = - ٠,٣٢ فولت .

ثانى أكسيد الكربون

يلعب غاز ثانى أكسيد الكربون ، دورا هاما فى عمليات الأيض الغذائى الخاصة بالميكروب ، لذلك ، يتأثر نمو الميكروب بنسبة ك أ٢ الموجودة بالجو المحيط . فهذا الغاز لازم لمعظم أنواع البكتريا، خليطة أو ذاتية التغذية ، وعادة مايتوقف نمو البكتريا إذا ماوصل تركيز ك أ٢ فى الجو المحيط إلى ١٠% أو أكثر . ويمكن للبكتريا ذاتية التغذية أن تعيش فى جو به كمية كبيرة من ك أ٢ (حوالى ٥% - ١٠%) ، بينما كمية صغيرة منه (٠,٠١ - ٠,٠٢%) ضرورية لنمو كثير من البكتريا خليطة التغذية ، ويشذ عن ذلك *Brucella & Neisseria* التى تحتاج إلى ك أ٢ بتركيز حوالى ٥-١٠% ، للنمو الجيد . ويستعمل عند تنمية هذه البكتريا ، محاليل منظمة خاصة ، أو حضانات خاصة ، تسمح بتوفير جو غنى بثانى أكسيد الكربون ، يحيط بالميكروب .

الرقم الإيدروجينى ق يد : pH

الرقم الإيدروجينى ، ويرمز له بالرمز ق يد أو pH ، هو اللوغاريتم السالب لتركيز أيون الإيدروجين بالمحلول ، وهو ناتج لوغاريتمى يحدد بالمعادلة

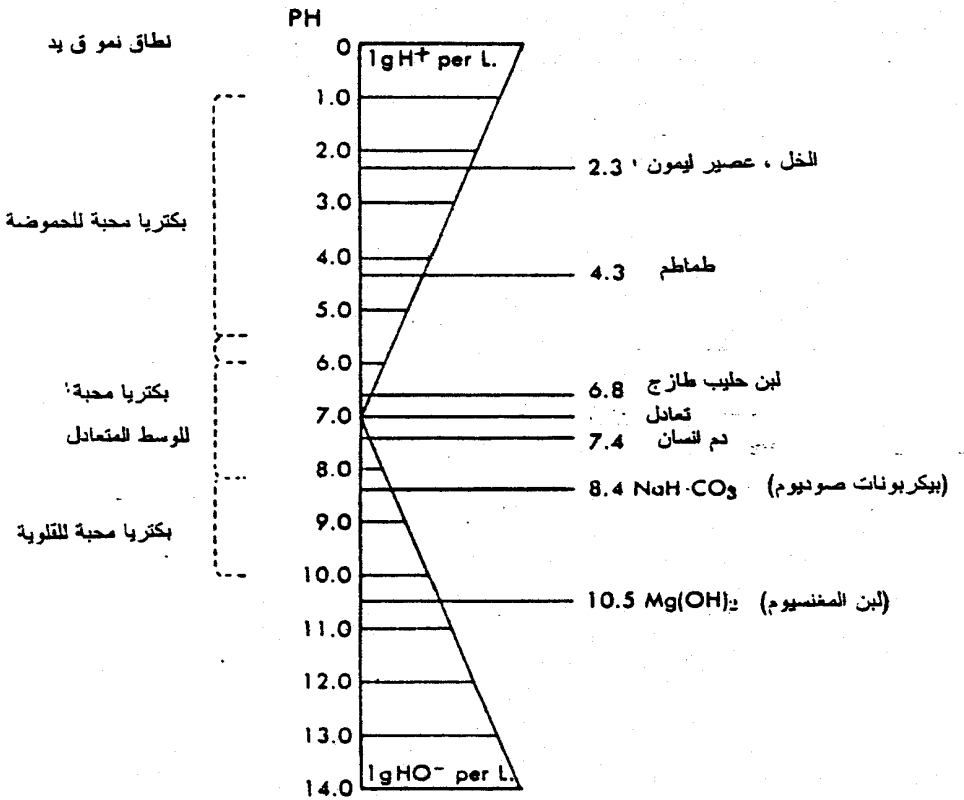
$$\text{ق يد} = \text{لو} \frac{1}{\text{تركيز يد}^+} = - \text{لو (يد}^+)$$

يدل الرقم على حموضة أو قلوية المحلول ، وتقع وحداته على تدريج يتراوح بين ١ إلى ١٤ ، ويعنى الرقم ٧,٠ لمحلول ما ، أن أيون الإيدروجين يد$^+$ ، يوجد فى المحلول بتركيز قدره ١ × ١٠$^{-٧}$ جرام أيونات إيدروجين فى اللتر (أى ١ × ١٠$^{-٧}$ مول أيونات ايدروجين/لتر) ، وهذا الرقم هو تركيز أيون الأيدروجين بالماء النقى عند درجة ٢٥°م ، وهو يمثل حالة التعادل على تدريج الرقم الإيدروجينى ، وهذا يعنى أن المحلول ذو الرقم الإيدروجينى ٧,٠ ، هو محلول متعادل ، وأن المحاليل التى أرقامها أقل من ٧,٠ هى محاليل حامضية ، والتى أرقامها أكبر من ٧,٠ محاليل قلوية ، وكلما ابتعد الرقم عن ٧,٠ بالزيادة أو النقص ، كلما زادت قلوية أو حموضة المحلول .

تأثير الرقم الإيدروجينى

يؤثر الرقم الإيدروجينى للبيئة النامى بها الكائن الدقيق ، تأثيرا كبيرا على نموه ونشاطه ، فالبيئات الشديدة الحامضية ، أو الشديدة القلوية ، توقف نمو الخلايا الميكروبية . وقد

تميتها ، نتيجة لتخثر البروتين الإنزيمى بالخليـــة ، وتوقفـــه عـــن العمـــل ، ويوضـــح شـــكل [٤ (٢) – ٣] بعض أرقام الإيدروجين ذات الأهمية فى مجال الميكروبيولوجى .

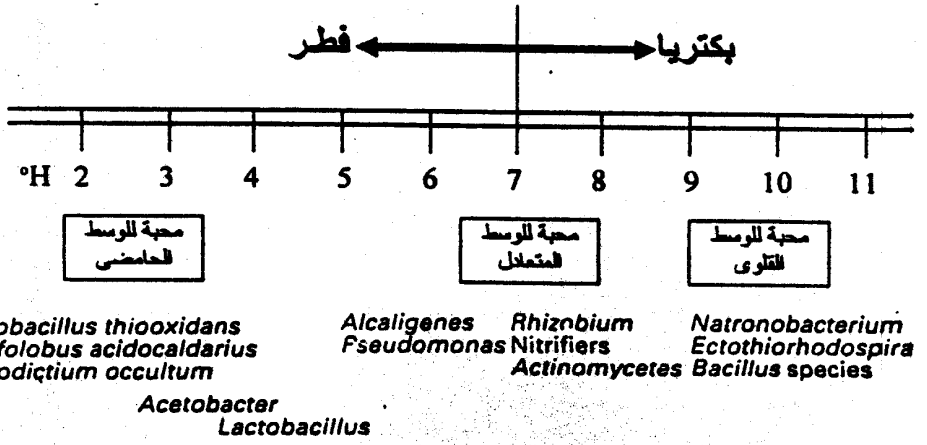


شكل ٤ (٢) – ٣ : بعض أرقام ق يد pH الهامة فى مجال الميكروبيولوجى ، الخطوط المائلـــة البادئة من رقم ٧,٠ ، تعبر عن الزيادة فى تركيز أيون (يد$^{+}$) أو (أيـــد)$^{-}$ ، حتـــى يصل لأقصاه ، وهو ١ جم فى اللتر .

From: **Frobisher, 1974**

وكقاعدة عامة ، فإن إرتفاع درجة الحرارة ، يؤدى إلى زيادة تأين الأحماض ، وعلى ذلك ، فإن المحلول المتعادل المناسب لنمو معظم الكائنات الدقيقة عند درجة حرارة الغرفة (٢٥°م) ، سيصبح حامضيا وضارا بالنمو ، عند التحضين على درجة معتادة مثل ٣٧°م . وبالإضافة الى ذلك فإن التأثيرات الضارة بالنمو ، تزداد بزيادة حموضة المحلول ، على سبيل المثال ، فإن تختر البروتين بالحرارة ، يزداد فى المحاليل الحامضية عن المتعادلة ، وعلى ذلك ، فإننا نجد أن اللبن ذو الحموضة البسيطة (حموضة أقل من أن تحس بالتذوق أو بالرائحة)، يتجبن بمجرد التدفئة ، وهذا يعنى أيضا ، أنه كلما زادت درجة حموضة الوسط ، كلما قلت درجة الحرارة اللازمة لقتل الميكروب .

والإنزيمات أيضا ، شديدة الحساسية للتغير فى الحموضة ، كما فى حالة الحرارة ، ونجد أن للإنزيمات أرقام إيدروجينية صغرى ومثلى وعظمى ، وماينطبق على الإنزيمات ، ينطبق على الخلايا الحية ، وعلى ذلك ، فإننا نجد أن لكل ميكروب ، ثلاث درجات حموضة – كما فى حالة الحرارة – صغرى (لايحدث عند أقل منها ، نمو) ، ومثلى (يحدث عندها أقصى نمو) ، وعظمى (لايحدث عند أعلى منها ، نمو) . ويتراوح نطاق النمو للميكروب مابين الصغرى والعظمى ، هذا على إعتبار أن جميع الخواص البيئية الأخرى مناسبة [شكل ٤ (٢) – ٤] .



شكل ٤ (٢) – ٤ : نطاق الرقم الإيدروجينى المناسب لنمو أغلب أنواع البكتريا والفطريات

From : **Schlegel H.G. (1995). General Microbiology.** Cambridge Univ. Press, New York.

البيئة والرقم الإيدروجيني

نظرا لتأثر الميكروب النامى برقم ق يد البيئة ، فإنه يجب العناية بضبط الرقم الإيدروجينى للبيئة التى سينمو بها الميكروب ، ويتوقف هذا الرقم على نوع الميكروب الجارى تنميته ، وهو عادة حوالى ٧,٠ لمعظم الميكروبات ، وقد يتراوح فى بعض الحالات بين ٤,٥ الى ٨,٠ ، وفى بعض الأنواع الميكروبية ، قد يزيد أو يقل عن ذلك كثيرا .

فمعظم الخلايا البكتيرية ، تفضل النمو فى وسط متعادل ، ذو رقم إيدروجينى يتراوح بين ٦ الى ٨ ، وهناك أنواع مقاومة للحموضة المرتفعة Aciduric مثل *Lactobacillus*, و *Streptococcus lactis* ، التى تنمو وتتحمل حموضة وسط ذو رقم إيدروجينى ٤,٠ أو أقل ، وهناك الأنواع المحبة للحموضة العالية Acidophiles ، وهى تنموا جيدا فى وسط عالى الحموضة ، مثل بكتريا *Thiobacillus thiooxidans* ، التى يصل حموضة الوسط المثلى لنموها إلى ق يد ٢,٠ ، وهناك بكتريا محبة للوسط القلوى Alkalophiles ، مثل بكتريا اليوريا وبكتريا الكوليرا الأسيوية ، التى تفضل النمو فى وسط قلوى ، رقمه الإيدروجينى ٩,٠ .

يفضل كثير من الخمائر والفطريات ، النمو فى الوسط الحامضى ، فمعظم أنواع الخمائر تنمو جيدا ، فى وسط رقمه الإيدروجينى يتراح من ٣ الى ٥ ، كما أن الفطر يتحمل درجة حموضة أقل ، لتصل الى ١,٦ ، وإن كان له القدرة على النمو فى نطاق متسع من درجات الرقم الإيدروجينى .

المواد المنظمة : Buffers

عندما ينمو الميكروب فى بيئة متعادلة ، فإن نواتج النمو الحامضية أو القلوية ، تغير من الرقم الإيدروجينى للبيئة ، فالأنواع البكتيرية ، مثلاً ، التى تحلل الكربوهيدرات ، تنتج عادة أحماضا عضوية تخفض من الرقم الإيدروجينى للوسط ، بينما تلك التى تحلل البروتينات ، تنتج موادا قاعدية ترفع الرقم الإيدروجينى للوسط . وتراكم هذه النواتج للأيض الغذائى فى البيئة ، يُحد من النمو ، وقد يوقفه نهائيا .

لذلك ، يضاف للبيئة ، بعض المواد المنظمة للحموضة ، وهى عبارة عن مركبات ، أو خليط من مركبات ، لها القدرة على معادلة التغيير الذى يحدث بالرقم الإيدروجينى للبيئة ، وبذلك ، يظل الرقم الإيدروجينى للبيئة ثابتا حول حد معين ، ومناسبا لنمو الكائن الجارى تنميته . ويتوقف المدى الممكن تنظيمه للبيئة باستعمال المنظمات ، على الهدف من البيئة المستعملة ، وعلى قدرة المواد المنظمة المستعملة .

ويمكن تحضير المخاليط المنظمة لأى رقم إيدروجينى مطلوب بالبيئة ، باستعمال المواد المناسبة ، فمثلاً يمكن حفظ الرقم الإيدروجينى للبيئة عند رقم ٧,٢ بإضافة خليط مكون من

0.1 M NaCl, 0.001 ethylene diamine tetra acetate (EDTA) and 0.5 M tris (hydroxy methyl) amino methane

ويشار إلى هذا الخليط عادة باسم Tris .

ومن المواد المنظمة للرقم الإيدروجينى ، والتى تستعمل بكثرة مع البيئات البكتريولوجية ، منظم الفوسفات Phosphate buffer ، وهو خليط من HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^{1-}$ ويعمل عند ق يد ٦,٨ ، ومن المواد المنظمة للرقم الإيدروجينى أيضا ، وتدخل عادة فى تركيب مكونات البيئة الغذائية ، المواد الأمفوتيرية مثل الأحماض الأمينية وبلمراتها كالبروتيوز والببتون وغيرها . فهذه المواد يدخل فى تركيبها كل من مجموعة الحامض الأمينى ومجموعة الكربوكسيل ، والتى لها القدرة على الإتحاد بالحامض أو بالقلوى ، كما فى حالة الحامض الأمينى Glycine ، الذى له القدرة على الإتحاد بحامض HCl أو بالقلوى NaOH .

فى مزارع البكتريا التى تنتج أحماضا ، يضاف للبيئة موادا قلوية غير قابلة للذوبان ، مثل كربونات الكالسيوم أو كربونات المغنسيوم . أما فى مزارع البكتريا التى تنتج موادا قلوية (مثل تلك التى تختزل النترات والكبريتات) ، فليس من السهل التخلص من تأثيرها القلوى بالمزرعة ، إلا أنه من المعتاد إضافة فوسفات أحادى البوتاسيوم ، أو فوسفات ثنائى البوتاسيوم ، كل بمفرده ، أو الإثنين معا كخليط ، إلى البيئة البكتيرية ، بغرض تنظيم الرقم الإيدروجينى .

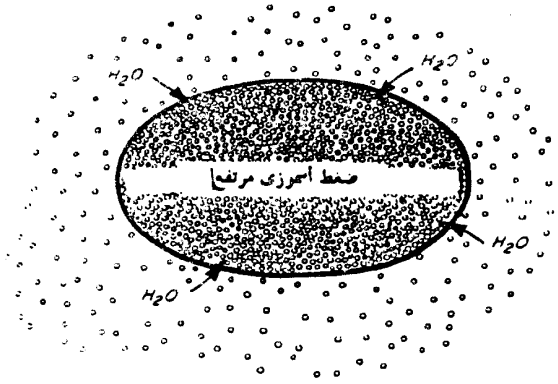
الضغط الأسموزى : Osmotic pressures

الأسموزية

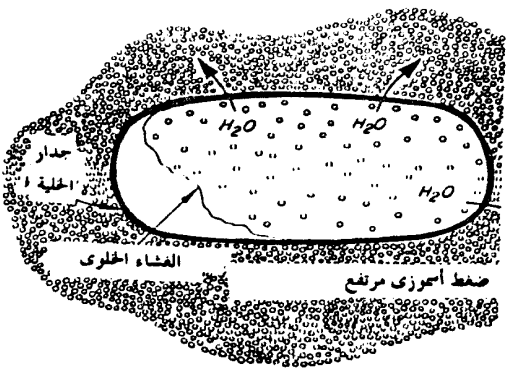
الأسموزية Osmosis ، هى عبارة عن إنتشار المواد (عادة المذيب) ، بين محلولين مختلفى التركيز ، خلال غشاء شبه منفذ ، نتيجة لإختلاف الضغط الإنتشارى لهذه المواد على جانبى الغشاء ، وبذلك تعمل هذه الظاهرة على معادلة تركيز المواد المذابة على الجانب الاخر من الغشاء ، حيث ينتقل المذيب وهو الماء من المحلول الأقل تركيز إلى المحلول الأعلى تركيز ، وفى نفس الوقت يحدث العكس بالنسبة للمواد المذابة . وهذا هو مايحدث فى حالة الخلايا ، فالخلايا لها غشاء سيتوبلازمى شبه منفذ، ونتيجة لإختلاف الضغط الانتشارى للمواد على جانبى الغشاء (أى داخل وخارج الخلية) ، تحدث حالة الانتشار والأسموزية ، ويتكون الضغط الاسموزى ، وهو الضغط اللازم لمنع زيادة تغير تركيز محلول ما ، نتيجة دخول الماء إليه ، عبر غشاء شبه منفذ .

يؤثر الضغط الأسموزى ، تأثيرا مباشرا ، على سرعة وإتجاه تيار الماء ، من البيئة إلى الميكروب أو بالعكس ، وبذلك يؤثر على مقدار استفادة الميكروب من الرطوبة [شكل ٤ (٢) - ٥)] .

كما يتحكم فى دخول وخروج المحاليل للخلية الميكروبية ، الغشاء السيتوبلازمى شبه المنفذ والجدار الخلوى للخلية ، وفى هذا الخصوص ، فإن درجة تأثر البكتريا بالضغط الأسموزى ، أقل من درجة تأثر الخلايا الميكروبية الأخرى ، والخلايا النباتية والحيوانية ، بسبب تركيب الجدار الخلوى الصلب للبكتريا ، الذى يعمل إلى حد كبير ، كواق من الضغوط الأسموزية Osmotic barrier ، كما أن البكتريا المسنة أقل تأثرا من الخلايا حديثة العمر .



محلول منخفض الأسموزية



محلول عالى الأسموزية

شكل ٤(٢) – ٥ : العلاقة بين الضغط الأسموزى للبيئة وحركة الماء الى داخل وإلى خارج الخلية .

الضغط الأسموزى للبيئة

إذا وضعت الخلية الميكروبية فى بيئة ، وكان الضغط الأسموزى لمحلول البيئة ، مماثلاً للضغط الأسموزى بداخل الخلية ، سمى محلول البيئة سوى الأسموزية Isotonic ، وفى هذه الحالة ، لايحدث إنكماش أو انتفاخ للخلية .

أما إذا كان الضغط الأسموزى لمحلول البيئة ، أعلى من الضغط الأسموزى بداخل الخلية ، سمى المحلول عالى أو مرتفع الأسموزية Hypertonic ، وفى هذه الحالة فإن الماء يخرج من الخلية ، ليتعادل التركيز فى الداخل والخارج ، وتدخل الأملاح إلى الداخل لحفظ التوازن ، ولكن معدل خروج الماء من الخلية يكون أكبر من معدل دخوله إليها ، فينكمش البروتوبلازم ويحدث بلزمة للخلية (إنكماش أسموزى Plasmolysis) ، ويؤدى هذا إلى جفاف الخلية ، وتوقفها عن النمو ، وقد يسبب موتها .

أما إذا كان الضغط الأسموزى لمحلول البيئة ، أقل من الضغط الأسموزى بداخل الخلية ، سمى المحلول ناقص أو منخفض الأسموزية Hypotonic ، وفى هذه الحالة ، يدخل الماء إلى الخلية ، وفى نفس الوقت تخرج منها الأملاح ، ولكن الماء يندفع إلى داخل الخلية ، بنسبة أكبر من معدل خروجه منها ، مما يؤدى إلى انتفاخها (انتفاخ أسموزى Plasmoptysis) . ومثل هذا المحلول ، غير مناسب لنمو الميكروب ، وقد يؤدى إلى هلاكه بإنفجار الخلية ، إذا مازاد الانتفاخ عن حد معين .

تحمل الميكروبات للضغوط الأسموزية :

تحتاج معظم خلايا البكتريا أثناء نموها ، إلى محاليل سوية الضغط الأسموزى . وعموما ، تختلف البكتريا فى درجة تحملها للتركيزات الزائدة من الأملاح المختلفة ، كما يختلف التركيز المحدد للنمو ، بإختلاف نوع الكائن ، ونوع الملح المستعمل . ويعتبر تركيز أكثر من ١,٠% ملح بالبيئة ، تركيزا ضارا بمعظم أنواع البكتريا ، ولاينطبق هذا على بكتريا البحار والمحيطات Marine bacteria ، حيث تصل نسبة الملوحة بمياه البحر إلى ٣,٥ - ٤,٠% .

وتعتبر بكتريا البحار ، من البكتريا المحبة للملوحة Halophiles ، فهى تمتاز عن بكتريا المياه العذبة ، فى قدرتها العالية على تحمل تركيزات مرتفعة من الأملاح (تتراوح بين ٢ إلى ٥١%) ، ويلزم إضافة نسبة عالية من الملح إلى بيئتها ، لكى تنمو جيدا . وقد وجد أن البكتريا الموجودة بالبحيرات الملحية العظمى بأمريكا ، وفى البحر الميت بالأردن ، تتحمل تركيز ٢٨% ملح ، وتنمو البكتريا المحبة للملوحة على الجلود المملحة ، وفى الأغذية المملحة ، كاللحوم والأسماك والمخللات ، ويمكن عزلها من هذه المواد أو من غيرها من المواد ذات التركيز المرتفع من ملح الطعام . وبعض هذه البكتريا يسبب فساد هذه المواد .

تستطيع بعض أنواع الخمائر والفطريات النمو فى محاليل بها نسبة عالية من السكر ، كالعسل الأبيض والمربى ، وقد تسبب فسادها ، وهى كائنات محبة للضغط الأسموزى المرتفع Osmophiles ، حيث تفضل النمو فى الوسط العالى الأسموزية ، عن الوسط ذو التركيزات العادية ، فمن الفطريات مثل : *Aspergillus niger, Alternaria humicola* ، مايعطى أحسن نمو بالبيئة عند تركيز ٦٠% سكروز ، وتسمى هذه الفطريات محبة للضغط الأسموزى المرتفع Highly osmophiles ، ومنها مثل *Aspergillus flavus, A. nidulans* ، التى تعطى أحسن نمو عند تركيز ٢٠-٤٠% سكروز ، وتسمى هذه الفطريات متحملة للأسموزية بقلة Weak osmotolerant .

يلاحظ أن الكائنات الدقيقة ، التى تتحمل ضغطا أسموزيا مرتفعا ، تستطيع أن تنمو فى بيئة ذات نشاط مائى منخفض (أنظر جدول ٤ (٢) - ٣] ، مثل البكتريا المحبة للملوحة ، والخمائر المحبة للضغط الأسموزى المرتفع ، والفطريات المحبة للجفاف ، ورغم أنها تسميات مختلفة ، إلا أن هذه الكائنات جميعها أوزموفيلية Osmophiles ، بمعنى أنها محبة للضغط الأسموزى المرتفع .

الاستفادة العملية

يثبط نمو أغلب الميكروبات ، فى وجود نسبة عالية من الملوحة (١٠-١٥% ملح طعام) ، أومن السكر (٥٠-٧٠% سكروز) ، ويعتبر هذا التأثير التثبيطى للضغط الأسموزى المرتفع ، الأساس فى حفظ الأغذية بالتمليح ، أو بإضافة السكر ، مثل إضافة الملح إلى اللحوم والأسماك والمخللات ، وإضافة السكر إلى المربات والجيلى والألبان المكثفة ، وغيرها من الأغذية ، فباستعمال محاليل ذات ضغط أسموزى مرتفع ، يحدث تجفيف للخلايا الميكروبية ، وتتوقف عن النمو والنشاط ، فتبقى ساكنة ، أو تموت فى بعض الحالات .

الجذب (التوتر) السطحى : Surface tension

الجذب السطحى ، هو قوة الجذب التى تعمل على تماسك الجزيئات عند سطح السائل ، وتقاس هذه القوة بواسطة جهاز Tensiometer ، ووحدتها الداين Dyne للسنتيمتر المربع . وبتأثير قوة الجذب السطحى ، يعمل سطح المحلول كغشاء مرن .

يبلغ الجذب السطحى للماء النقى عند درجة الحرارة العادية (حرارة الغرفة) ، حوالى ٧٣ ، وللكحول حوالى ٢٨ داين/سم^{٢} ، ووجود المواد الغذائية فى الماء ، أو إضافتها إليه ، يسبب إنخفاض الجذب السطحى ، حيث تتراوح هذه القوة ، فى أغلب البيئات المزرعية المائية ، مابين ٤٥ الى ٦٥ داين/سم^{٢} ، وهو يعتبر مرتفع نسبيا ، غير أنه فى هذا النطاق ، يمكن لمعظم أنواع الكائنات الدقيقة النمو والحياة ، إذ أنها تفضل النمو فى بيئات ذات قوة جذب سطحى مرتفع نسبيا .

هناك بعض المواد ، إذا ماأضيفت للبيئة ، فإنها تزيد من قوة الجذب السطحى ، مثل الفحم Charcoal ، وكلوريد الكالسيوم . كما أن هناك الكثير من المواد ، التى تقلل من قوة الجذب السطحى للبيئة إذا أضيفت إليها ، وتسمى مخفضات الجذب السطحى Surface tension reducers, Surfactants ، مثل الصابون والمنظفات الصناعية ، والإيثانول والجلسرول ، وأملاح الصفراء ، والأصباغ ، والأحماض العضوية ، والسيروم والببتونات وبعض المضادات الحيوية ، كما أن التسخين يقلل من قوة الجذب السطحى .

تأثير الجذب السطحى

يؤثر الجذب السطحى للبيئة ، على نمو الميكروبات ، خاصة تلك التى تنمو على سطح البيئة السائلة فى شكل غشاء Pellicle ، حيث أن الجذب السطحى ، هو الذى يعمل على حفظ الغشاء الميكروبى المتكون على سطح البيئة .

وقد لوحظ أنه عند إنخفاض الجذب السطحى للبيئة عن ٤٠ داين/سم^{٢} ، فإن بكتريا مثل *B. subtilis* ، أو بعض الخمائر المكونة للغشاء على السطح لاتكون هذا الغشاء ، ويكون نموها منتشرا بالبيئة السائلة . وقد يتأثر أيضا مظهر الميكروب بسبب الجذب السطحى المنخفض للبيئة ، فيزداد الميكروب فى الحجم ، أو الطول ، وقد يتوقف عن التجرثم ، ويبطؤ فى عملية الانقسام والتكاثر .

ويرتبط الجذب السطحى أيضا بالإبتلال Wetting ، حيث لوحظ أن المنظفات ، تقلل من قوة الجذب السطحى للسائل ، فتساعد بذلك على زيادة الإبتلال ، وإزالة القاذورات والميكروبات .

وهناك بعض المضادات الحيوية مثل Polymyxin & Subtilin ، تتكون من عديد الببتيدات ، وهذه المضادات تقلل من قوة الجذب السطحى ، مما يؤدى إلى تلف جدار الخلية الميكربية ، لذلك تستعمل فى العلاج ، خاصة ضد البكتريا الموجبة لصبغة لجرام .

تختلف الميكروبات بعضها عن بعض ، فى مدى التأثر بقوة الجذب السطحى ، وتستخدم هذه الخاصية فى تحضير بعض البيئات الإنتقائية . فالأنواع البكتيرية ، التى تستطيع

أن تنمو فى بيئات ذات قوة جذب سطحى منخفض ، مثل بكتريـــا القولـــون وبكتريـــا حـــامض اللاكتيك ، يضاف إلى بيئتها المواد المناسبة ، التى تقلل من قوة الجذب السطحى ، مثل أمـــلاح الصفراء (عند تنمية بكتريا القولون) ، ومادة Tween 80 أى Sorbitan mono-oleate (عنـد تنمية اللاكتوباسلس) ، وبذلك تتوقف عن النمو البكتريا الأخرى التى لاتستطيع تحمل الإنخفـاض فى قوة الجذب السطحى ، والتى قد تتحلل خلاياها نتيجة رشح محتوياتها الداخلية إلـــى خـــارج الخلية ، مثل بكتريا الإلتهاب الرئوى ، التى لاتتحمل قوة جذب ســـطحى للبيئـــة أقـــل مـــن ٥٠ داين/سم^{2} .

الضغـــــط : Pressure

تعيش معظم الكائنات الدقيقة ، وتقوم بنشاطها ، عند الضغط الجوى العادى (١٥ رطـل / بوصة^{2} أى عند واحد ضغط جوى) ، ولاتؤثر عليها تغيرات الضغوط التى تحدث يوميا فـــى الضغط الجوى العادى .

تتحمل البكتريا الأرضية مثل *Ps. fluorescens* و *B. subtilis* ، ضغطاجويا يصـــل إلى ٤٠٠ ضغط جوى (حوالى ٦٠٠٠ رطل/بوصة^{2}) على درجة ٣٠°م ، وتتحمـــل الضغـــوط العالية ، االبكتريا التى تعيش فى أبار البترول ، والبكتريا البحرية التى تعيش فى أعماق البحـــار مثل *Ps. submarinus, Ps. xanthochrus* ، فهى تنمو طبيعيا تحت ضغط جوى يتراوح مـــابين ٣٠٠ الى ٥٠٠ . ومن أنواع البكتريا البحرية ، مايحتاج فى نموه إلى ضغط جوى يتراوح مابين ٧٠٠ الى ١٠٠٠ ضغط جوى ، وتســـمى هـــذه الأنـــواع محبـــة للضغـــط المرتفـــع إجبـــاراً Obligate barophiles .

قد تغير البكتريا من بعض صفاتها ، عند تغير الضغط الواقع عليها ، فتتحول مثلاً مـــن الشكل العصوى عند النمو تحت الضغط الجوى العادى ، إلى خيوط طويلة عند نموهـــا تحـــت الضغط الجوى المرتفع . ويعود ذلك ، إلى أن الضغط العالى ، يعيـــق عمليـــات التحـــول فـــى البروتوبلازم (سول ⟷ جل) ، فيمنع عملية زيادة لزوجة الـــبروتوبلازم ، اللازمـــة لتكوين الأغشية السيتوبلازمية أثناء الإنقسام الخلوى ، على أنه عندما يعاد الخيط البكتيرى إلـــى ظروف الضغط العادية ، فإنه يتجزأ ، ليعطى المظهر العصوى .

الضغوط الجوية المرتفعة جدا (ألف ضغط جوى وأكثر) ، قد توقـــف نمـــو البكتريـــا الاعتيادية وتميتها ، كما يحدث عند تعرض *E. coli* إلى ألف ضغط جوى . ويعود ذلك إلى تلف بعض البروتينات والإنزيمات الخلوية ، وعدم قدرة البكتريا على انتاج بعض الانزيمـــات مثـــل Dehydrogenases تحت الضغط الجوى المرتفع جدا .

التأثير الديناميكى للمعادن الثقيلة : Oligodynamic action of heavy metals (*)

لوحظ أن المحاليل المخففة جدا لبعض المعادن الثقيلة، لها تأثير قاتل على الميكروبات. على سبيل المثال ، فقد وجد أن الطحلب الأخضر *Spirogyra* يموت عندما يوضع فى ماء يحتوى على فضة بتركيز ١ جزء فى ١٠٠ مليون جزء ماء ، كما أن النحاس بتركيز ١ جزء فى ٧٧ مليون جزء ماء ، قاتل لبعض أنواع الطحالب .

فى هذه التخفيفات العالية من المعادن ، لاينتظر حدوث تفاعل كيميائى بين المعدن وبروتين الكائن الدقيق ، وبذلك فإن التأثير القاتل الذى لوحظ ، لايعود إلى تأثير المعدن الكيميائى السام ، بل إلى التأثير الديناميكى للمعدن ، وعلى ذلك ، يمكن تعريف التأثير الديناميكى للمعادن ، بأنه التأثير السام الناتج على الخلايا الحية ، من المحاليل المخففة جدا لبعض المعادن الثقيلة .

وبسبب التأثير الديناميكى للمعادن ، فإن الأوعية المصنوعة من سبائك النحاس، الزنك، الصفيح ، النيكل ... الخ ، تعتبر غير صالحة لجمع عينات مياه ، أو حفظ مياه بها ، لغرض التحليل الميكروبيولوجى ، لما لهذه المعادن من تأثير ديناميكى قاتل على الميكروبات .

ملاحظة التأثير الديناميكى للمعادن

يمكن ملاحظة هذا التأثير ، بوضع قطعة من العملة (فضية أو نحاسية) ، فى وسط طبق معقم ، ثم تغطية العملة وقاع الطبق ، بطبقة من الأجار المغذى ، الملقح بكثافة ببكتريا *E. coli* ، ثم تحضين الطبق على درجة ٣٧°م لمدة ٤٨ ساعة .

ينتشر بالطبق ، كميات قليلة من أيونات معدن العملة ، بتركيز أجزاء فى المليون ، ويقل التركيز تدريجيا كلما إبتعدنا عن العملة . وسنلاحظ بعد التحضين ، أن البكتريا غير نامية فى المنطقة المحيطة بقطعة المعدن مباشرة ، وتسمى هذه المنطقة ، بمنطقة التأثير الديناميكى للمعدن Oligodynamic zone ، ويلى هذه المنطقة الخالية من النمو ، منطقة أخرى تنمو فيها البكتريا الملقحة بغزارة ، وتسمى بمنطقة التأثير المنبه للمعدن Stimulating zone ، بينما يظهر فى الأجزاء الباقية من الطبق ، نموا عاديا من البكتريا .

من هذه التجربة ، نلاحظ أن بعض المواد ، كالمعادن الثقيلة ، تكون سامة للميكروب إذا وجدت بتركيزات مخففة ، بسبب التأثير الديناميكى ، ولكنها تكن منشطة للنمو ، فى التركيزات المخففة جدا ، وينطبق ذلك أيضا على بعض المضادات الميكروبية .

الرج : Shaking

يتسبب الرج العنيف فى قتل الكائنات الدقيقة ، خاصة إذا ماحدث الرج فى وجود مواد خادشة Abrasive بالبيئة ، مثل كريات الزجاج Glass beads ، والرمل ، والكاربوراندوم Carborundum . ويعود القتل ، إلى تمزق وتحطم الخلايا ، الذى يحدث كنتيجة للرج .

(*) الكلمة مشتقة من أصل يونان ، Oligo بمعنى صغير ، أما Dynamic فإنها تعنى قوة أو نشاط .

تحطيم الخلايا : Cell disintergation

فى الدراسات الميكروبيولوجية ، يلجأ الباحث إلى تحطيم الخلايا الميكروبية ، وفصل جدر الخلايا ، والحصول على مكونات الخلية الداخلية ، والإنزيمات الخلوية ، وذلك لدراسة هذه المكونات .

ويتم تحطيم الخلايا بطرق طبيعية ، لاتؤثر على طبيعة المكونات ، باستخدام أكثر من طريقة ، منها

١- تجفيف الخلايا الميكروبية ، بواسطة الأسيتون أو بالتجميد ، والطحن مع الألومينا (أكسيد الألومنيوم) .

٢- الرج بقوة فى أجهزة مناسبة ، مثل جهاز Mickle disintegrator ، مع استخدام الكريات الزجاجية .

٣ -التعريض لتغيرات فجائية فى الضغط فى حدود ٥٠٠ ضغط جوى (حوالى ٧٥٠٠ رطل/بوصة^{٢}) .

٤- استخدام الموجات الصوتية (١٠ كيلو سيكل/ثانية ، لعدة دقائق) ، أو عالية التردد (من ٣٠ الى ١٠٠ كيلو سيكل/ثانية ، لفترات أقل) .

٥- التعريض لصدمات أسموزية Osmotic shocks ، بوضع الخلايا فى محاليل ذات ضغط أسموزى منخفض ، فتنفجر الخلايا فى الحال .

الموجات الصوتية : Sonic waves

تقسم الموجات الصوتية إلى

١- موجات صوتية Sonic, Sound ، مسموعة لأذن الإنسان Audible sound ، ذبذبتها أقل من ٢٠ ألف سيكل/ثانية Cycle second ، (تسمى الوحدة هرتز Hertz, Hz) .

٢- موجات فوق صوتية Supersonic ، وتتراوح ذبذبتها مابين ٢٠ الى ١٠٠ ألف سيكل/ ثانية وهى موجات غير مسموعة للإنسان ، ولكن تسمعها بعض الحيوانات كالخفاش .

٣- موجات صوتية فائقة التردد (عالية التردد جدا) Ultrasonic ، وهى التى تزيد ذبذبتها عن ١٠٠ ألف سيكل/ثانية ، وتصل لعدة ملايين .

الموجات الصوتية ذات الذبذبات العادية ، ليس لها تأثير على الميكروبات ، ولكن الموجات فوق الصوتية ، والموجات ذات الذبذبات العالية (أكثر من ١٠٠ ألف إلى ١,٥ مليون سيكل/ثانية) ، لها تأثير ضار على الميكروبات ، عدا الفيروسات خاصة الصغيرة الحجم فإنها شديدة المقاومة . ويعود التأثير الضار إلى حدوث تأثير ميكانيكى على الخلية الميكروبية ، ورج شديد لمحتوياتها ، مما يؤدى الى حدوث إضطرابات بالخلية ، وتمزق لجدرها .

عموما ، فإن استخدام الموجات الصوتية فى التعقيم ، أو حفظ الأغذية ، مازال محدودا ، غير أن استعمال الموجات الصوتية شائع ، فى الحصول على مستخلص الخلايا ومابها من إنزيمات ، لغرض القيام بالدراسات الكيميائية والفسيولوجية المختلفة ، حيث أنه باستخدام الموجات الصوتية ، يمكن الحصول على مستخلص الخلايا والإنزيمات ، دون تغير فى صفاتها الطبيعية . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن استخدام الموجات الصوتية عالية التردد ، أصبح شائعا فى أغراض أخرى ، كما يحدث لمعرفة أعماق البحار ، أو مابها من مخلفات ، بطريقة صدى الصوت Echo-sounding ، وفى بعض الأعمال الطبية للكشف عن الأورام ، ومعرفة نوع الجنين .

الضوء والإشعاع : Light and radiation

يعد الضوء ، بوجه عام ، من العوامل الضارة بالكائنات الدقيقة التى تخلو من الصبغات الممثلة للضوء . ففى البكتريا مثلاً ، فإن مجموعة قليلة منها مثل ، السيانوبكتريا (البكتريا الخضراء المزرقة) ، وبكتريا الكبريت الخضراء والأرجوانية ، تتطلب وجود الضوء المرئى ، لكى تنمو وتتكاثر . وتتميز هذه المجموعة من البكتريا ، بإحتوائها على مواد ملونة تشبه الكلوروفيل النباتى ، تيسر لها امتصاص الضوء ، وتحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية ، وبذلك تستغل الطاقة الإشعاعية فى عملية البناء الضوئى .

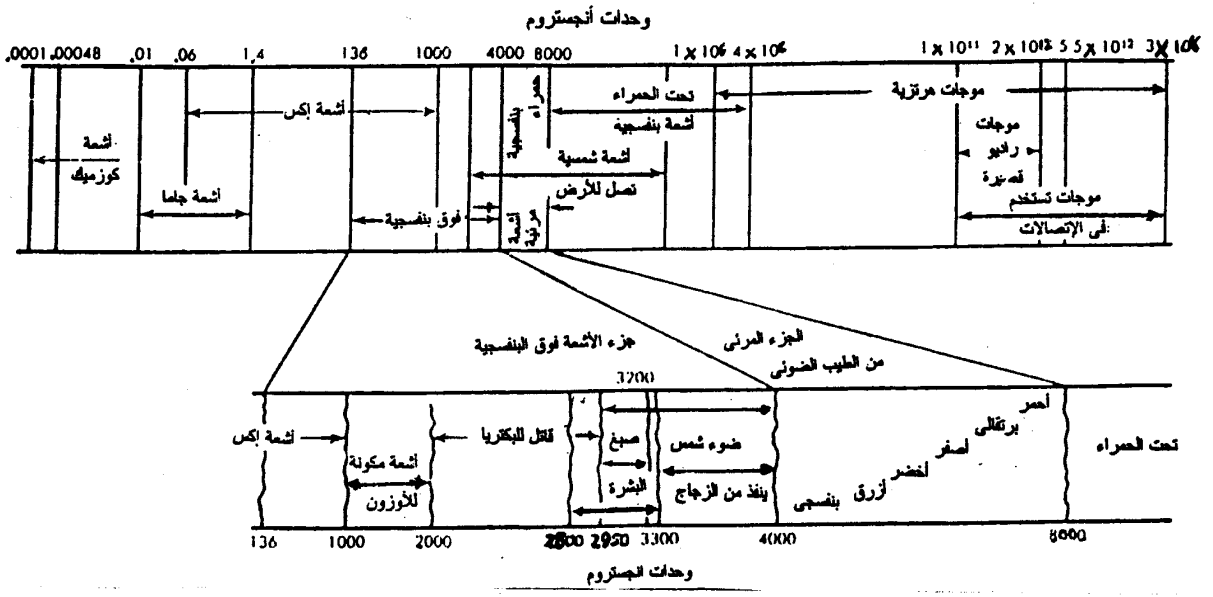
لكن أغلب أنواع الميكروبات ، لاتحتوى على تلك المواد الملونة الممثلة للضوء ، وبالتالى ، فإنه ليس لها القدرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة ، ولذلك ، فإن الأشعة ، المرئية وغير المرئية ، تعتبر عديمة الفائدة لها ، أو تكون ذات تأثير ضار عليها .

الطيف الكهرومغناطيسى : Electromagnetic spectrum

يوضح الشكل [٤ (٢) – ١] مجال الطيف الكهرومغناطيسى . ويعبر عن وحدة القياس المستخدمة فى طول موجة الأشعة ، بالنانومتر nm (١×١٠^{-٩} من المتر) ، أو بالانجستروم أ° ، A° (١×١٠^{-١} من النانومتر) .

يتناسب نفاذ الأشعة داخل الخلية ، عكسيا مع طول الموجه ، فكلما قصر طول الموجه كلما كانت الأشعة أكثر نفاذية ، وأشد قتلا . وعلى ذلك ، فإننا نجد أن الأشعة المؤينه Ionizing radiations ، (مثل أشعة إكس ، وجاما ، وكوزميك ، وطول موجاتها أقل من ١٠٠٠ أ°) ، ذات طول موجى قصير جدا ، ولذا فذبذباتها عالية ، والطاقة المنبعثة منها كبيرة جدا ، لدرجة أن الجزيئات التى تتعرض لها تتأين ، ولذا سميت بالأشعة المؤينة .

والأشعة التى طول موجاتها من ٢٠٠٠ الى ٤٠٠٠ أ° ، ومنها الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet UV ، ذات طول موجى قصير ، ولكنها أطول من المجموعة المؤينة السابقة ، وطاقتها أقل ، فالطاقة المنبعثة منها تكفى لإحداث تفاعل كيميائى ، دون إحداث تأين ، ولذلك فهى أشعة غير مؤينة .



شكل ٤ (٢) – ٦ : لوحة تبين الطيف الضوئى

From : **Frobisher, 1974**

أما الأشعة المرئية (من البنفسجى الى الأحمر) ، فهى تقع فى المنطقة ذات الطول الموجى من ٤٠٠٠ الى ٨٠٠٠ أ° ، يلى ذلك ، الأشعة تحت الحمراء Infrared-IR ، التى طولها الموجى أكبر من ٨٠٠٠ أ° ، وهى أشعة ذات موجات طويلة ، وذبذباتها منخفضة ، ولذا فطاقتها قليلة ، غير قادرة على إحداث تفاعل كيميائى . وهى تنعكس من الأسطح الملساء ، ولكنها عندما تمتص بواسطة المواد غير العاكسة Non-reflecting materials ، فإن طاقتها البسيطة ، تتحول سريعا الى حرارة ، Heating rays ، وهذا يفسر استخدام الأشعة تحت الحمراء (من ١٠ الى ١٢ ألف أ°) كمصدر للحرارة ، واستعمالها أحيانا فى الطبخ السريع .

يلى الأشعة تحت الحمراء ، أشعة هرتز Hertz waves ، وموجاتها أطول من الأشعة السابقة ، وتستخدم فى الرادار والتليفزيون والراديو ، والإتصالات اللاسلكية .

تعتبر الأشعة فوق البنفسجية ، وأشعة إكس ، وأشعة جاما ، من بين أنواع الأشعة المختلفة ، التى تستخدم أحيانا فى أغراض التعقيم الكلى أو الجزئى ، وأكثرها استخداما خاصة فى المعامل للدراسات الفسيولوجية وفى المستشفيات هى الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجى ٢٦٥٠ أ°، وقد بدأ تزايد استعمال أشعة جاما فى عمليات حفظ الأغذية .

ضوء الشمس : Sun light

تبث الشمس جميع موجات الطيف الكهرومغناطيسى من الضوء والأشعة ، غير أن أغلبها بما فى ذلك الأشعة المؤينة ، تمتص أو تحجز فى طبقات الجو العليا المحتوية على الأوزون ، وكذلك فى الضباب الأرضى والسحب والدخان والزجاج ، ولايصل إلينا من الأشعة إلا حوالى ١/١٠٠٠ من المليون من أشعة الشمس ، ومايصلنا يقع فى منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، والضوء المرئى ، والأشعة تحت الحمراء . وماتحويه هذه الأشعة التى تصل إلينا ، من أشعة مهلكة للميكروبات ، ذو تركيز منخفض ، يقل عادة عن واحد فى الألف من كمية ضوء الشمس .

يرجع التأثير القاتل لضوء الشمس على الميكروبات ، إلى مايحتويه من الأشعة فوق البنفسجية ، ذات الطول الموجى الأقل من ٣٥٠٠ أ° ، وأكثر أجزاء الخلية الميكروبية تأثرا بالأشعة فوق البنفسجية ، هى الأحماض النووية ، وذلك لقدرتها العالية على إمتصاص هذه الأشعة ، خاصة ذات الطول الموجى ٢٦٥٠ أ° ، وبالتالى تتلف الخلية وتموت .

الاستفادة العملية من الأشعة فوق البنفسجية

الأشعة فوق البنفسجية ، أشعة غير مؤينة ، ويتراوح طولها الموجى من ١٣٦ إلى ٤٠٠٠ أ° ، وأشدها قتلا هو الطول الموجى ٢٦٥٠ أ° ، حيث أنه عند هذا الطول الموجى ، يحدث أقصى امتصاص لهذه الأشعة بواسطة حامض الدنا النووى الموجود بالخلية ، وبالتالى تتلف الخلية وتموت .

وقدرة الأشعة فوق البنفسجية على إختراق المواد قليل ، ولذلك ، فإن تأثيرها المهلك ، يصل لأقصاه على سطوح المواد المشعة ، وفى الأغشية الرقيقة .

وأصبح من السهل الآن ، الحصول على الأشعة فوق البنفسجية ذات الطول الموجى ٢٦٠٠ الى ٢٧٠٠ أ° ، وهو المدى الموجى الأكثر تأثيرا ، من المصادر الصناعية ، وبذلك أمكن استعمالها فى عدة أغراض عملية .

تنتج هذه الأشعة باستخدام لمبات خاصة ، مثل لمبات بخار الزئبق المصنوعة من الكوارتز ، Quartz mercury vapor lamps ، وتصنع هذه اللمبات من الكوارتز ، بدلاً من الزجاج الذى يمنع مرور الأشعة فوق البنفسجية ، ويحتوى الكوارتز على قليل من الزئبق ، الذى عندما يتبخر بفعل التيار الكهربائى ، ينتج وهجا غنيا بالأشعة فوق البنفسجية ، كما يستخدم القوس الكربونى Carbon arc ، المستعمل فى إضاءة استوديوهات السينما والتليفزيون ، وهو ينتج عند إضاءته ، تركيزات مرتفعة من الأشعة فوق البنفسجية .

ويستفاد عمليا من تأثير الأشعة فوق البنفسجية القاتل للميكروبات ، فى تعقيم هواء بعض الأماكن مما بها من ميكروبات سابحة ، كحجرات التلقيح بالميكروبات فى المعامل والمصانع ، والمستشفيات ، وعنابر تحضير وتعبئة الأدوية ، وفى تعقيم سطوح الأدوات الجراحية ، وأدوات ومصانع الألبان كالزجاجات والصفائح والأوعية ، وفى قتل الميكروبات السطحية التى تُفسد المخللات ، وفى التعقيم الجزئى لبعض الأغذية كاللحوم والفطائر .

الأشعة فوق البنفسجية ، تساعد الجسم على إنتاج فيتامين د ، والجلد البشرى حساس لتلك الأشعة ، والتعرض البسيط لها يكسب الجلد لونا أسمرا ، غير أن الإفراط فى التعرض لها ضار ، إذ تقتل خلايا البشرة البيضاء ، وتسبب حروقا بالجلد تسمى حرقة شمس Sun burn ، كما أن لها تأثير مطفر ومسرطن على الخلايا . لذلك يجب الحذر عند استخدام هذه الأشعة ، عند محاولة قتل الميكروبات الموجودة فوق سطح الجلد ، أو تحته مباشرة ، حتى نتجنب ما قد ينشأ عن ذلك من حروق وأضرار .

مقاومة الميكروبات

تعتبر جراثيم البكتريا والفطر ، أكثر مقاومة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية من الخلايا الخضرية ، فقد لوحظ أنه يلزم لقتل الجراثيم ، ضعف كمية الأشعة على الأقل التى تلزم لقتل الخلايا الخضرية . وأيضا ، فإن البكتريا الموجبة لصبغة لجرام ، أكثر مقاومة لتأثير التشعيع من البكتريا السالبة ، كما أن البكتريا المسنة أكثر مقاومة لتأثير التشعيع من البكتريا الحديثة العمر ، كما تتميز بعض الفيروسات ، بشدة مقاومتها للأشعة فوق البنفسجية وأشعة إكس وأشعة جاما ، عن الجراثيم البكتيرية .

تأثير الأنواع الأخرى من الأشعة

أشعة إكس : X-rays

يتراوح الطول الموجى لأشعة إكس ، وقد تسمى أشعة رونتجن Roentgen ، مابين ٠,٠٦ إلى ١٠٠٠ أ° . وتمتاز أشعة إكس ، عكس الأشعة ذات الموجات الأطول ، بقدرتها العالية على إختراق المواد . وتسبب هذه الأشعة تغيرا فى طبيعة البروتين . وكسر

الروابط الإيدروجينية بالأحماض النووية ، وهى قاتلة للميكروبات والخلايا الأكثر رقيا إجدول ٤(٢)- ٥] ، واستعمالها فى التعقيم مكلف ومحفوف بالمخاطر ، ولكنها تستعمل بكثرة فى الدراسات المعملية ، لانتاج طفرات ميكروبية .

جدول ٤ (٢)-٥ : *متوسط الجرعة القاتلة من أشعة إكس لبعض الكائنات .

الكائن		متوسط الجرعة القاتلة راد (*)
فيروس	فيروس موزاييك الدخان	٢٠٠ ٠٠٠
بكتريا	*E. coli*	٥٠٠٠
	B. mesentericus	١٣٠ ٠٠٠
طحلب أخضر	*Pandorina*	٤٠٠٠
بروتوزوا	*Parameciium*	٣٠٠ ٠٠٠
فقاريات	فأر أبيض	٦٠٠
	قرد	٤٥٠
	انسان	٤٠٠

*** From: Pelczar and Chan, 1981.**

أشعة جاما : Gamma rays

أشعة جاما أقصر من أشعة إكس ، فهى ذات طول موجى يتراوح مابين ٠,٠١ إلى ١,٤أ° ، وبالتالى فهى أشد قتلا من أشعة إكس ، وأكثر إختراقا للخلايا ، وتأثيرها قاتل لكل الخلايا الحية، بما فى ذلك الميكروبات . وتنتج أشعة جاما من مصدر مختلف عن مصدر أشعة إكس ، فبينما تنتج أشعة إكس من التفريغ الكهربائى ، فإن أشعة جاما تنتج طبيعيا من إنحلال المواد الإشعاعية مثل الراديوم والكوبالت ٦٠ والنظائر المشعة ، أو صناعياً من المفاعلات الذرية . وهى طاقة زائدة تخرج من الذرة ، فى صورة موجات الكترومغناطيسية قصيرة جدا .

(*) الراد **Rad** ، جرعة الأشعة الممتصة ، وهى كمية الإشعاع التى تكافىء إمتصاص ١٠٠ وحدة طاقة ، أى ١٠٠ ارج Erg لكل جرام من المادة المشعة ، وهى تساوى ٦ × ١٠^{١٣} الكترون فولت eV .

ونظرا لتأثير أشعة جاما ، الأشد قتلا للميكروبات والأكثر إختراقا للمواد ، من أشـــعة إكس ، فإن استعمال أشعة جاما فى التشعيع أخذ يتزايد ، لتعقيم المواد السميكة ، أو ذات الأحجام الكبيرة ، كما فى الأغذية بعد تغليفها ، والمعدات الطبية ، ويتم التعقيـــم علـــى درجـــة حـــرارة الغرفة .

أشعة ألفا وبيتا ، وأشعة الكاثود

أشعة ألفا وبيتا α and β rays ، عبارة عن جسيمات مادية ، مشحونة كهربائيا ، تخرج من نواة الذرة ، وهى أشعة مؤينة ، وأقصر من أشعة جاما .

ويمكن استعمال الاشعاعات الالكترونية Electron beam radiation المســـماه باشـــعة الكاثود Cathode rays فى أغراض التعقيم ، لما لها من فعل مبيد للميكروبات عندما تكون فـــى كثافة عالية (أكثر من مليون فولت) ، وتنتج هذه الأشـــعة باســـتخدام أجـــهزة مناســـبة تســـمى المعجلات Accelerators ، ويمكن أن تستخدم فـــى تعقيـــم الأدوات الجراحيـــة ، والأدويـــة ، والعبوات المغلفه بدون رفع درجة الحرارة ، وبدون حفظ للمواد المعاملة فى الثلاجة .

ولكن يعاب على استعمال هذه الاشعاعات ، أنها مكلفة ، وقد تحـــدث تغـــيرات غـــير مرغوب فيها بالأغذية المعاملة ، من حيث الطعم والرائحة والقوام وتلف لبعض الفيتامينات .

تأثير الأشعة على الميكروبات

عندما يستخدم الإشعاع فى تعقيم مادة ما ، فإن ذلك يتم بدون رفع درجـــة الحـــرارة ، ولذا ، فإن التعقيم فى هذه الحالة ، يعرف بالتعقيم البارد Cold sterilization .

والأشعة المهلكة للميكروبات ، هى التى تنفذ بالخلايا الميكروبية ، وينتج عنها طاقـــة ، ويحدث التأثير الضار للأشعة على الميكروبات بطريق مباشر أو غير مباشر . فعندمـــا تمتـــص الأشعة بواسطة الخلايا الميكروبية ، تسبب طاقة الأشعة الممتصة ، تغييرا فى التركيب الجزيئـــى لمكونات الخلية ، خاصة فى المناطق الحساسة منها ، كالإنزيمات والأحماض النووية ، ويســـمى هذا بالتأثير المباشر Direct-hit . أو قد تُحدث الطاقة الأشعاعية الممتصة ، تفاعلات كيميائيـــة ضوئية Photochemical ، تؤدى إلى أكسدة جزيئات السيتوبلازم والأجسام النوويـــة بالخليـــة ، ويعرف هذا بالتأثير غير المباشر على الخلية .

ونتيجة للتأثير الضار للأشعة على الميكروبات ، تموت الخلايا طبقا لنظام لوغـــاريتمى، أو قد يحدث بها طفرات ، نتيجة تغيير حدث فى التركيب الوراثى للخلايا الناجية من الموت .

ويمكن التقليل من التأثير الضار للأشعة فوق البنفسجية على الميكروبـــات ، بإضافـــة بعض المواد الغنية فى مجموعة السلفاهيدريل (-SH) مثـــل مركـــب الجلوتـــاثيون ، أو إزالـــة الأكسجين من الجو المحيط بالخلايا ، أو بإضافة بعض المواد العضوية للبيئة القادرة على إزالـــة الأكسجين من الوسط ، مثل حامض البيروفيك والإندواستيك ، وذلك لمقاومة عملية التثبيط التـــى تحدث بالخلايا ، نتيجة لأكسدة الإنزيمات وبعض المكونات الأخرى بالخلية .

التنشيط الضوئى : Photoreactivation

يبدو فى بعض الحالات ، أن موت الخلايا نتيجة للتعرض للإشعاع ، ليس موتا نهائيا . فكثير من البكتريا والخمائر ، التى تعرض للأشعة فوق البنفسجية (٢٠٠٠ الى ٣٠٠٠ أ°) ، يمكنها أن تستعيد حيويتها ، إذا عرضت لأشعة ذات موجات أطول ، كموجات الضوء المرئى (٤٢٠٠ - ٥٤٠٠ أ°) ، وذلك فى خلال ٣٠ دقيقة (على الأكثر) ، من التعرض للأشعة فوق البنفسجية . ويعنى ذلك ، فى هذه الحالة ، أن عدد الخلايا الناجية من التعرض للأشعة فوق البنفسجية ثم الضوء المرئى ، يزداد عن العدد الناتج من معاملات المقارنة التى عرضت فيها الخلايا للأشعة فوق البنفسجية فقط . وتعرف هذه الظاهرة ، التى يتم فيها إعادة تنشيط الخلايا بتعريضها للضوء ، باسم التنشيط الضوئى . ويعود السبب فى عملية التنشيط ، إلى أن تعرض الخلايا الميكروبية للضوء المرئى ، يسبب تنشيطا لبعض إنزيمات الخلية التى تقوم بالدمج أو الكسر ، يؤدى إلى معادلة التأثير الضار للمواد التى تكونت ، وكذلك المواد المؤكسدة السامة التى نتجت ، عند التعرض للأشعة فوق البنفسجية .

ظاهرة التنشيط الضوئى ، تنجح فقط فى حالة الخلايا التى تعرضت للأشعة فوق البنفسجية ، ولاتنجح فى حالة الخلايا التى عوملت بالأشعة السينية والأشعة الأخرى المؤينة . وهذا يدل على الإختلاف فى الطريقة التى تؤثر بها كل من الأشعة فوق البنفسجية والأشعة المؤينة ، على الخلايا .

وتبين ظاهرة التنشيط الضوئى ، أن هناك تدرجا فى العمليات الحيوية ، التى تحدث بين الحياه والموت ، طالما كان التأثير الذى يحدث عكسيا . أما إذا كان التأثير الذى يحدثه الإشعاع غير عكسى ، فإن الموت يكون محققا ، ودائما .

الكهرباء : Electricity

إمرار تيار كهربائى ، مستمر أو متردد ، فى معلق يحتوى على كائنات دقيقة ، ليس له تأثير مباشر عليها . وإذا حدث تأثير قاتل ، فإن هذا يعود الى إرتفاع الحرارة الذى يتولد بالمحلول ، نتيجة مرور التيار الكهربائى ، كما يعود التأثير أيضا ، إلى ماتسببه الكهرباء من تحليل إلكتروليتى للأملاح الموجودة بالمحلول ، فيحدث تأين للمواد ، قد ينتج عنها أيونات ذات تأثير قاتل على الميكروبات ، مثل تأين NaCl إلى Cl^-, Na^+ .

وقد جُرب استعمال الكهرباء للتخلص من الميكروبات ، كما فى معاملة مياه الشرب ومياه المجارى ، وبسترة اللبن وعصير الفواكه ، وذلك بإمرار تيار كهربائى متردد ، تبلغ شدته ١١٠ أو ٢٢٠ فولت ، وتردد ٦٠ سيكل ، خلال تلك السوائل أثناء تدفقها بين قطبين من الكربون . ولكن عمليا ، فإن استعمال الكهرباء بغرض التعقيم ، مازال محدودا .

الانتقال (التفريد) الكهربائى : Electrophoresis

تحمل الميكروبات على سطحها شحنات كهربائية ، تنتج كمحصلة للمواد الأمفوتيرية الداخلة فى تركيب سطح الخلايا . وفى المحاليل المتعادلة ، فإن الميكروبات السابحة بالمحلول ،

تكون شحنه سطوحها سالبة ، ولها نقطة تعادل كـهربى Isoelectric point ، يـتراوح رقمـها الايدروجينى بين ٣ الى ٤ .

ويمكن إثبات وجود تلك الشحنة الكهربائية السالبة ، بإمرار تيار كهربائى ، فى محلـول متعادل من معلق بكتيرى ، فيلاحظ هجرة Migration البكتريا الى القطب الموجـب ، الأنـود Anode . وتسمى هذه الحركة ، للجزيئات الدقيقة كالبروتينـات والميكروبـات فـى المجـال الكهربائى ، بالإنتقال أو التفريد الكهربائى ، وهى عملية كهروكيميائية .

يستفاد عمليا من طريقة الانتقال الكهربائى ومن طريقة التحليل الكروماتوجرافى ، فـى فصل المكونات الدقيقة لمحتويات الخلية الميكروبية ، كما تستعمل طريقة الانتقال الكهربائى فـى دراسة الفيروسات ، وفى فصل البروتينات المختلفة من السيروم ، والتعرف عليها . مع ملاحظة أن طريقة الانتقال الكهربائى تعتمد على الاختلاف فى سرعة تحرك الخلايا أو مكوناتها ، عنـد وضعها فى مجال كهربائى ، بسبب الإختلاف فى مقدار ماتحمله من شحنات كهربائيـة ، بينمـا تعتمد طريقة التحليل الكروماتوجرافى ، على الاختلاف فى سرعة تحرك مكونات المادة ، عندما تتحرك على ورق خاص (وليس مجال كهربائى) ، بسبب الأختلاف فى درجة الأدمصاص .

﴿الباب الرابع – الفصل الثالث﴾

تأثير المواد الكيميائية

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
الكيميائيات غير العضوية	١٢٩
١- الأحماض	١٢٩
٢- القلويـــات	١٣٠
٣- الأملاح والمعادن الثقيلة ومركباتها العضوية	١٣٠
٤- بعض مركبات المعادن المستعملة كمطهرات	١٣١
٥- المواد المؤكسدة	١٣٣
٥-١ : الكلور ومركباته	١٣٣
الهيبوكلوريتات	١٣٤
الكلورأمينات	١٣٥
٥-٢ : اليود ومركباته	١٣٥
٥-٣ : الفلـــور	١٣٦
٥-٤ : فوق أكسيد الايدروجين	١٣٦
٥-٥ : برمنجنات البوتاسيوم	١٣٦
٥-٦ : الأوزون	١٣٦
الكيميائيات العضوية	١٣٦
١- الصابون والمنظفات	١٣٧
٢- مركبات الأمونيوم الرباعية	١٣٨
٣- الأحماض العضوية	١٣٩
٤- الكحولات	١٣٩
٥- الفينولات	١٣٩
٦- الكريزول	١٤١
٧- الألدهيدات والمواد المختزلة	١٤١
٧-١- الفورمالدهيـــد	١٤١
٧-٢- الجلوتارالدهيـــد	١٤٢
٧-٣- بعض المواد المختزلة الأخرى	١٤٢
٨- الصبغات	١٤٢
٩- الايروسولات	١٤٣

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
١٠- المعقمات الكيميائية الغازية	١٤٣
أكسيد الاثيلين	١٤٤
تقييم بعض الكيميائيات المضادة للميكروبات ... [جدول ٤ (٣)- ١]	١٤٥
المجـاميع الرئيسـية للمـواد الكيميائيـة المضـادة للميكروبـات ..... [جدول ٤ (٣)- ٢]	١٤٦
المواد العلاجية الكيميائية والمضادات الحيوية	١٤٧
١- مركبات السلفا	١٤٧
٢- المضادات الحيوية	١٥٠
المضادات الحيوية كمواد علاجية كيميائية	١٥١
خواص واستعمالات بعض المضـادات المنتجـة بواسـطة الميكروبات ..... [جدول ٤ (٣)- ٣]	١٥٢ ، ١٥٣
٢-١ : البنسلين - مجموعة بيتا لاكتام	١٥٤
٢-٢ : الاستربتومايسين - مجموعة الأمينوجليكوزيدات	١٥٧
٢-٣ : التتراسايكلينات - مجموعة التتراسايكلين	١٥٨
٢-٤ : البوليمكسين - مجموعة عديد الببتيدات	١٥٩
المضادات الحيوية المضادة للفطريات	١٦٠
مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية	١٦٠
انتقال صفـة المقاومـة للمـواد العلاجيـة الكيميائيـة الـى الميكروبات	١٦١
مراجع الباب الرابع	١٦٢

﴿الباب الرابع – الفصل الثالث﴾

تأثير المواد الكيميائية Effect of Chemicals

المواد الكيميائية التى تؤثر على نمو ونشاط الميكروبات متعددة . وهى تتراوح من أيونات المعادن ... إلى المواد العضوية المعقدة . وبعض المواد الكيميائية غير متخصصة فى تأثيرها السام على الميكروبات ، بمعنى أنها تؤثر على أكثر من موقع حيوى ، أو أكثر من إنزيم بالخلية . وأمثال هذه المواد ، قد تتحد أيضا مع بروتينات خلايا العائل ، وتسبب له الضرر ، لذلك لايمكن استعمالها داخل الجسم الحى لعلاج الأمراض الميكروبية . إلا أنه يمكن استعمال بعضها خارجيا على سطح العائل ، مثل تلك المذكورة فى الجزء الأول من هذا الفصل ، بشرط أن لاتصل الى أنسجة العائل الداخلية . وهناك بعضا من المواد الكيميائية ، التى تستعمل داخليا فى علاج الأمراض ، وتسمى مواد علاجية كيميائية Chemotherapeutic agents ، مثل مركبات السلفا والمضادات الحيوية وهذه ستناقش فى النصف الثانى من هذا الفصل .

وننصح عند قراءة هذا الفصل ، بالرجوع إلى الفصل الأول من الباب الرابع ، الخاص بأسس التحكم فى الميكروبات ، والظروف المؤثرة على عمل وكفاءة العوامل المضادة للميكروبات .

الكيميائيات غير العضوية

بعض المواد غير العضوية ، لها تأثير ضار على الميكروبات ، بسبب التأثير السام الناتج من تأينها ، أو لأنها عوامل مؤكسدة ، أو لأنها تؤثر على بعض مكونات الخلية الحيوية .

من هذه المواد

١- الأحماض : Acids

يرجع التأثير القاتل للأحماض المعدنية ، الى أ يون H^+ ، الذى ينفرد عند تأين هذه الأحماض فى المحاليل المائية . ولذلك فإن قوة هذه الأحماض القاتلة ، يتناسب تناسبا طرديا مع درجة تركيز ايون الأيدروجين بالمحلول ، فكمية قليلة من هذا التركيز تعتبر مطهرة ، بينما الكميات الكبيرة من هذا التركيز تعتبر قاتلة .

الأحماض المعدنية أشد قتلا للميكروبات ، من الأحماض العضوية ، كما أنه عند مقارنة كميات متساوية من كل من OH^-, H^+ ، فسنجد أن لأيون H^+ حدة سمية أكبر .

وعلى الرغم من أن للأحماض المعدنية ، مثل HCl ، H_2SO_4 ، HNO_3 ، قوة قتل عالية جدا ، إلا أن استعمالها فى قتل الميكروبات محدود ، وذلك بسبب تأثيرها الضار على الجلد والأنسجة الحية ، وعلى المنسوجات والأدوات والمعادن والمواد المختلفة .
وقد ذكر بالفصل الثانى من هذا الباب ، تأثير حموضة البيئة والرقم الإيدروجينى ، على نمو ونشاط الميكروبات ، وكما ذكر سابقا ، فإن زيادة الحموضة أو القلوية بالوسط ، يزيد من كفاءة

العوامل الأخرى المستعملة فى قتل الميكروبات (أنظر ص ١١٠) ، كما يحدث عند استعمال الحرارة ، لقتل الميكروبات الموجودة بوسط عالى الحموضة .

٢- القلويات : Alkalies

يرجع التأثير الضار للقلويات على الميكروبات ، إلى أيون OH^- ، الذى ينفرد عند تأين القلويات فى المحاليل المائية ، حيث يصبح المحلول قلوياً ، غير مناسب لنمو الميكروب . وتؤدى المحاليل شديدة القلوية ، إلى إذابة الخلية الميكروبية ، وقتلها .

وكلما كان القلوى أكثر تأينا ، كلما كان أشد تأثيراً على الميكروبات ، فمثلاً KOH أكثر تأثيراً من NH_4OH ، حيث أن الأول يتأين بدرجة أكبر من الثانى . ويشذ عن ذلك $Ba(OH)_2$ ، فبالرغم من أنه أقل تأينا من KOH ، إلا أنه أكثر إهلاكاً للميكروبات ، ويعود ذلك إلى التأثير الإضافى المهلك لأيون الباريوم Ba^{++} ، فالتأثير فى حالة إيدروكسيد الباريوم ، لايعو - فقط إلى أيون OH^- ، بل يرجع أيضا إلى تأثير أيون الفلز .

وكما ذكر سابقا ، فإن زيادة القلوية بالوسط ، تزيد من كفاءة العوامل الأخرى المستعملة فى قتل الميكروبات . كما أن أيون H^+ ، أكثر سمية للميكروبات من أيون OH^- ، وذلك عند تساوى كميات كل منهما .

يستعمل NaOH كثيراً كمادة منظفة فى مصانع الألبان ، لتطهير الأجزاء المطاطية لآلة الحليب الميكانيكية ، والتركيز المستعمل هو ٠,٣ - ٠,٥% ، ويسمى المحلول الناتج فى هذه الحالة ، باسم Lye . كما يستعمل NaOH بنسبة ٥% فى تطهير الاسطبلات والمخازن .

وهناك بعض المواد الأخرى ، مثل الجير الحى (CaO) ، وفوسفات ثلاثى الصوديوم، وميتا سليكات الصوديوم ، التى تعطى محاليلا عالية القلوية ، عند إذابتها فى الماء ، وتستعمل فى تنظيف أدوات مصانع الألبان .

٣- الأملاح والمعادن الثقيلة ومركباتها العضوية

تحتاج بعض الكائنات الدقيقة فى نموها ، إلى كميات ضئيلة جداً من بعض المعادن الثقيلة . لذلك ، فإن وجود هذه المعادن فى المحلول المائى للمزارع الميكروبية ، بكميات ضئيلة جداً ، يكون له تأثير منشط . وإذا زاد تركيز هذه المعادن عن ذلك ، كان لها تأثير مطهر ، وإذا زاد التركيز عن ذلك كان لها تأثير قاتل .

ويعود التأثير القاتل لأيونات المعادن الثقيلة ، إلى تفاعلها مع البروتين الخلوى والإنزيمى ، وترسيبها ، أو إتلافها له . وفى حالة التركيزات المخففة للمعادن ، فإن التأثير الضار ، يعود إلى التأثير الديناميكى للمعادن .

ويمكن معادلة التأثير السام للكاتيونات على الميكروبات ، بإضافة كاتيونات أو أملاح معادن أخرى مناسبة ، ذات تأثير تثبيطى مضاد ، وتعرف هذه الظاهرة باسم التأثير المضاد للأملاح Antagonistic effect of salts ، ويستفاد من هذه الظاهرة ، فى انتاج محاليل فسيولوجية متزنة ، مثل محلول رنجر Ringer's solution .

وعموما ، فإنه بالنسبة لتأثير المعادن الثقيلة ، فإننا نلاحظ أن

- معظم المعادن الثقيلة ومركباتها ، لها تأثير سام على الكائنات الدقيقة ، وأكثر هذه المعادن تأثيرا هو الزئبق يليه الفضه ، ثم النحاس .
- كلما زاد تركيز المعدن بالوسط ، كلما كان تأثيره السام أكبر .
- التأثير السام لكاتيونات المعادن الثقيلة ، أكبر من تأثير كاتيونات المعادن الخفيفة . فالتأثير السام لكلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ ، أكبر من تأثير كلوريد المغنسيوم $MgCl_2$.
- الكاتيونات ثنائية التكافؤ مثل المغنسيوم أكبر تأثيرا من الكاتيونات أحادية التكافؤ ، مثل الصوديوم والبوتاسيوم .
- يقل التأثير السام للمعادن ، عند وجود بروتينات فى المحلول ، لأنه غالبا ماتتحد المعادن مع تلك البروتينات ، فيقل تأثيرها على الميكروبات .
- البكتريا الموجبة لصبغة جرام أكثر حساسية لأيونات المعادن ، من البكتريا السالبة لصبغة جرام .

٤- بعض مركبات المعادن المستعملة كمطهرات

هناك بعضا من مركبات المعادن الثقيلة ، التى يمكن استعمالها كمطهرات أو معقمات .

ومن أمثلة هذه المركبات

٤-١- مركبات الزئبق

من مركبات الزئبق غير العضوية ، التى تستعمل بكثرة فى التعقيم ، كلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ ، وأكسيد الزئبق الأصفر HgO ، والأخير يضاف للمراهم كمادة مطهرة .

يستعمل كثيرا محلول كلوريد الزئبقيك بنسبة ١ فى الألف (ويعرف بأسم السليمانى) ، فى تعقيم العقد الجذرية ، حتى لاتتلوث الرايزوبيا الجارى فحصها مما حولها ، وفى تعقيم الأوانى المستخدمة فى تجارب المخمرات . ويجب بعد التعقيم بالسليمانى ، الغسيل جيدا بالماء ، حتى لايميت الزئبق الكائنات الأخرى المطلوب دراستها .

استعمال الزئبق ، أو أملاحه المعدنية ، فى إبادة الميكروبات ، محدود جدا ، وذلك بسبب السمية الشديدة التى يتميز بها الزئبق ، وإتلافه للمعادن ، وقد أمكن التغلب على ذلك ، بإنتاج مركبات عضوية معدنية Metal-organocompounds ، مشتقة من الزئبق ، تمتاز بسميتها الضعيفة ، وبتأينها البطىء ، مع إحتفاظها بقدرتها فى التطهير والإبادة . ومن أمثلة هذه المواد المركروكروم

Mercurochrome (sodium salt of dibromohydroxy mercuri fluorescein)

وهو يستعمل كمطهر للجروح والجلد بنسبة ٢% ، وهو يعتبر أفضل مركبات الزئبق العضوية ، وإن كان أقل تأثيرا من اليود .

٤-٢- مركبات الفضة

تستعمل أملاح الفضة بكثرة فى التطهير ، ومن أمثلة المركبات المستعملة ، نترات الفضة $AgNO_3$ بتركيز ١% كقطرة للعين .

يعاب على مركبات الفضة المعدنية ، غلو ثمنها ، وتأثيرها المهيج للأنسجة . وقد أمكن إشتقاق مركبات عضوية للفضة ، تمتاز بأن تأثيرها المهيج ضعيف ، مع إحتفاظها بقدرتها فى التطهير ولذلك ، تستعمل بكثرة كمطهرات . ومن أمثلة مركبات الفضة العضوية المستعملة ، الأرجيرول Argyrol ، والبروتارجول Protargol ، وهذه المواد عبارة عن بروتينات فضة .

٤-٣- مركبات النحاس

تستعمل كبريتات النحاس بكثرة ، لقتل الميكروبات ، خاصة الطحالب والميكروبات المحتوية على الكلوروفيل (اليخضور) . وهى تضاف بنسبة ١ جزء فى المليون ، إلى مياه الشرب والخزانات والبحيرات ، للتخلص مما بها من طحالب . ويراعى عند مقاومة الطحالب فى البحيرات التى بها أحياء بحرية ، استعمال كميات قليلة من كبريتات النحاس ، حتى لاتموت تلك الأحياء .

من مركبات النحاس المستعملة فى مقاومة أمراض النبات الفطرية ، مخلوط بوردو Bordeaux mixture ، وهو خليط من كبريتات النحاس والجير .

٤-٤- مركبات الزنك

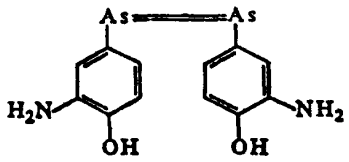
تستعمل أملاح الزنك ، مثل أكسيد الزنك **ZnO** ، كمطهر ، فى تحضير المراهم وقطرات العيون .

٤-٥- مركبات الزرنيخ

تستعمل مركبات الزرنيخ ، لعلاج الأمراض التى تسببها السبيروكيتا ، والتريبانوسوما، والبروتوزوا .

من مركبات الزرنيخ المعروفة ، مركب السلفرسان ٦٠٦ Salvarsan 606 . ويعنى هذا التعبير ، المركب رقم ٦٠٦ فى سلسلة التجارب التى أجراها الكيميائى الألمانى Ehrlich عام ١٩٠٧ ، والسلفرسان مركب عضوى زرنيخى ، يحتوى على ٣٠% زرنيخ . ويتميز هذا المركب بفاعليته الشديدة ضد بكتريا *Treponema pallidum* المسببة لمرض الزهرى .

والرمز الكيميائى للسلفرسان ٦٠٦



Salvarsan 606, Dihydroxy diamino arseno benzene

٥- المواد المؤكسدة : Oxidizing agents

يعود التأثير القاتل للمواد المؤكسدة ، إلى عملية الأكسدة التى تسببها لمكونات الخلية . فهذه المواد تستطيع هى ، أن تنتج أكسجينا حديث التولد ، أو تستطيع أن تنتجه من مواد أخرى والأكسجين الذائب المتكون ، يستطيع أن يتحد بمكونات الخلية ويؤكسدها ، فيقف نشاطها .

وقد رتبت بعض المواد المؤكسدة ، تبعا لتأثيرها القاتل ، بالترتيب التنازلى التالى ، حيث أن أولها ، هو الأقدر مما يليه ، على قتل الميكروبات :

حامض النتريك HNO_3 ، حامض الدايكروميك $H_2Cr_2O_7$ ، الكلور Cl_2 ، حامض البرمنجنيك $HMnO_4$. ورتبت الهالوجينات تنازليا كالاتى : الفلور F_2 ، الكلور Cl_2 ، البروم Br_2 ، اليود I_2 ، أى أن الفلور أقوى الهالوجينات ، واليود أضعفها ، ومع ذلك فيعتبر الكلور واليود ، من أكثر الهالوجينات استعمالا فى التطهير .

من المواد المؤكسدة العضوية التركيب ، غاز أكسيد الاثيلين ، وقد بدأ استعماله يتزايد فى أغراض التعقيم المختلفة . وسنتكلم عنه تحت موضوع المعقمات الكيميائية الغازية (ص ١٤٣) .

٥-١- الكلور ومركباته

يعتبر الكلور الغازى ومركباته ، من أكثر المواد إستعمالا فى قتل الميكروبات . وعند إضافة الكلور إلى الماء ، يحدث التفاعل الاتى

$$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HOCl$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O$$

فالكلور يكون مع الماء حامض الهيبوكلوريت Hypochlorous acid (HOCl) ، وهذا ينتج أكسجينا حديث التولد Nascent oxygoen (O) .

وبذلك ، فإن غاز الكلور ، يؤثر على الميكروبات بطريقتين

- بأكسدة مكونات الخلية بواسطة الأكسجين حديث التولد ، والذى ينتج عند تفاعل غاز الكلور مع الماء .
- بكلورة Chlorination مكونات الخلية ، وذلك بتفاعل الكلور المباشر مع بروتينات الخلية .

يستعمل غاز الكلور المسال ، أى المضغوط إلى سائل ، فى تطهير مياه الشرب ، ويضاف للماء بأجهزة خاصة ، بكميات تتراوح بين ٠,٢٥ الى ٢ جزء فى المليون ، وقد يحتاج الأمر إلى زيادة الكمية المضافة إلى ٦ جزء فى المليون ، فى حالات تلوث المياه بالميكروبات المرضية ، أو وجود أعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة بالمياه ، أو إحتوائها على مواد عضوية .

ويستخدم الكثير من مركبات الكلور فى الأغراض الطبية والبيطرية ، لإنخفاض الآثار الضارة للكلور على الأنسجة الحية ، حتى إذا ماستعمل فى تركيزات تصل الى ٢٠٠ جزء فى المليون . كما تضاف مركبات الكلور للثلج المستعمل فى حفظ الأسماك ، وأيضا تستعمل مركبات الكلور بكثرة فى تطهير المياه المستعملة فى غسيل الخضروات ، وفى تطهير أدوات وأجهزة معامل الألبان .

ويلاحظ أن تأثير الكلور ومركباته ، يقل كثيرا فى وجود مواد عضوية خاصة البروتينات ، لأن جزءا من الكلور يتحد بها ، فتقل نسبته وتأثيره على الميكروبات ، ولذلك يشترط أن يكون الماء خاليا من الشوائب العضوية قبل معاملته بالكلور ، كما يشترط تنظيف الأدوات قبل تطهيرها بالكلور .

ويراعى عند استعمال الكلور ومركباته ، أن الغاز يميل إلى البخر من محاليله ، وهو غاز سام ، ورائحته مثيرة . ومن مركبات الكلور المستعملة بكثرة فى التطهير ، الهيبوكلوريتات والكلور أمينات .

الهيبوكلوريتات : Hypochlorites

يستعمل من هذه المواد بكثرة فى الأغراض المنزلية والصناعية ، هيبوكلوريت الصوديوم **Na OCl** ، المعروف تجاريا باسم كلوروكس Chlorox ، وهيبوكلوريت الكالسيوم **$Ca(OCl)_2$** ، المعروف باسم مسحوق قصر الألوان Bleaching powder ، وقد يعرف أحيانا باسم الجير المعامل بالكلور Chlorinated lime . وهذه المواد متوفرة بالأسواق ، بتركيزات مختلفة ، فى صورة سائل أو مسحوق .

عندما تضاف الهيبوكلوريتات إلى الماء ، يتكون حامض الهيبوكلوريت **HOCl** ، الذى يكون أكسجينا حديث ، نشط فى عملية الأكسدة . ويتضح ذلك من المثال التالى الخاص بمسحوق قصر الألوان ، **$Ca(OCl)_2$** .

يحضر مسحوق قصر الألوان ، بإمرار غاز الكلور على الجير الحى (أكسيد الكالسيوم، **CaO**)، فيتكون كالسيوم أكسى كلوريد ، **$Ca\ OCl_2$** ، Ca-oxychloride ، وهذا يكون هيبوكلوريت الكالسيوم **$Ca(OCl)_2$** ، يتفاعل مع الماء ويكون حامض هيبوكلوريت **HOCl** ، ثم اكسجين حديث التولد ، حسب المعادلات

$$CaO + Cl_2 \longrightarrow CaOCl_2 \longrightarrow Ca(OCl)_2$$

$$Ca(OCl)_2 + 2H_2O \longrightarrow Ca(OH)_2 + 2HOCl$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O\ (nascent)$$

ويستعمل محلول ١,٠% من هيبوكلوريت الكالسيوم فى التطهيرات المنزلية

ويستعمل محلول ٥-١٢% من هيبوكلوريت الكالسيوم كمطهر ، وكمزيل للألوان

ويستعمل محلول ١٠-٧٠% من هيبوكلوريت الكالسيوم فى تطهير أدوات وأجهزة معامل الألبان ومصانع الأغذية

ويستعمل ٥% من هيبوكلوريت الصوديوم Chlorox ، فى كثير من الإستعمالات المنزلية

الكلورأمينات : Chloramines

يوجد مواد عديدة من الكلورأمينات تستعمل فى التطهير ، وفى التعقيم الجزئى لمياه الشرب ، وأبسط هذه المواد فى التركيب ، هى مادة الكلور أحادى الأمين ، NH_2Cl ، Monochloramine .

تحضر الكلورأمينات ، بإحلال ذرة أو ذرتين من الكلور ، مكان ذرة أو أثنتين من ذرات الإيدروجين الموجودة فى مجاميع الأمين أو الأميد بالمركبات العضوية

$$R\text{-}NH_2 \xrightarrow{Cl_2} R\text{-}NHCl \quad (or) \quad R\text{-}N = Cl_2$$

تتحلل الكلور أمينات مائيا ، وتكون HOCl ، وهذا يعطى اكسجينا حديث التولد ، وهو عامل مؤكسد قوى

$$R\text{-}NCl_2 + H_2O \longrightarrow R\text{-}NHCl + HOCl$$

$$R\text{-}NHCl + H_2O \longrightarrow R\text{-}NH_2 + HOCl$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O$$

من مميزات مركبات الكلورأمينات ، أنها أكثر ثباتا من الهيبوكلوريتات ، إذ أنها تنتج غاز الكلور ببطء ، فتطول بذلك فترة التطهير .

٥-٢- اليود ومركباته

اليود عامل مؤكسد ، ويؤدى فعله السام ، بإتحاده مع البروتين الخلوى والإنزيمى بالخلية الميكروبية . وله تأثير قاتل على عدد كبير من أنواع الفيروسات والبكتريا والفطريات .

ورغم أن اليود ، غير ثابت ، ويتحد بالمواد العضوية ، ومهيج للأنسجة الحية الرقيقة ، وسام إذا ابتلع ، إلا أنه من أوسع المواد إنتشارا كمطهر للجلد ، ويستعمل فى تعقيم التسلخات ، وتطهير الملوثات السطحية بجسم الإنسان والحيوان ، وفى تطهير موضع العمليات الجراحية قبل إجرائها .

ويستخدم اليود عادة ، فى صورة صبغة يود Iodine tincture بتركيز ٢% ، وهذه تحضر بإذابة ٢٠ جم يود فى ٥٠٠ مل ماء ، سبق أن أذيب فيها ٥٠ جم يوديد صوديوم ، ثم يكمل الحجم إلى لتر ، بإضافة كحول ٩٥% .

توجد مواد عضوية ، يدخل فى تركيبها اليود وتسمى Iodophors ، أى مواد حاملة لليود ، وهذه المواد تملك صفات اليود التطهيرية ، ولكنها تمتاز بأنها أكثر ثباتا ، أى ينساب منها اليود ببطء ، ولاتصبغ الجلد أو الأنسجة ، وعديمة الرائحة ، وغير مهيجة . وهذه المواد متوفرة تجاريا ، ومن أمثلتها Ioclide & Betadine ، وتستعمل فى التطهير ، كمحاليل بتركيز ٢٠٠ جزء فى المليون .

٥-٣- الفلور

يعتبر الفلور من أشد الهالوجينات فتكا بالميكروبات ، ولكن يحد من استعماله كمبيد للميكروبات الضارة ، تدخله فى نظم الأكسدة الحيوية بخلايا الكائن الذى سيعالج به .

يضاف الفلور إلى ماء الشرب ، بنسبة ١ جزء فى المليون ، للتقليل من نسبة تسوس الأسنان ، ويضاف أيضا الفلور الى معاجين الأسنان ، فى صورة فلوريد صوديوم أو فلوريد قصديروز ، للوقاية من التسوس .

٥-٤- فوق أكسيد الإيدروجين

يحتوى المحلول التجارى من فوق أكسيد الايدروجين على ٣% تقريبا H_2O_2 ، وهو يستعمل فى تطهير خدوش الجلد السطحية ، لأنه يتحلل بسهولة ويعطى أكسجين حديث .

ورغم أن فوق أكسيد الايدروجين غير سام للأنسجة ، وغير مهيج لها ، إلا أنه غير ثابت ، وقوته التطهيرية بسيطة ، وإذا استعمل فى وجود الدم أو أنسجة حية ، فإن إنزيم الكاتاليز الموجود بهذه الأنسجة ، يحلله إلى ماء وأكسجين ، فيضعف تأثيره .

٥-٥- برمنجنات البوتاسيوم

استعمال برمنجنات البوتاسيوم ، $KMnO_4$ ، محدود فى عمليات التطهير ، لأن هذه المادة إذا استعملت بتركيز أكبر من ٠,٠١% ، تصبغ الأنسجة ، وتسبب تآكلها ، كما أنها تتفاعل مع المادة العضوية ، وتتحول إلى ثانى أكسيد المنجنيز MnO_2 ، غير الفعال فى التطهير .

٥-٦- الأوزون

غاز الأوزون ، O_3 ، شديد التأثير على الخلايا الخضرية ، ولكن نظرا لغلو ثمنه ، وقدرته الضعيفة على الإختراق ، فإن استعماله محدود ، إلا فى بعض الحالات ، كما فى تنقية المياه .

الكيميائيات العضوية

مجموعة كبيرة من المواد العضوية ، لها تأثير مضاد على الميكروبات ، ومنها مايستعمل كمطهرات ومعقمات . ومن أهم هذه المواد ، الصابون والمنظفات ، والفينولات ، وبعض الكحولات ، والألدهيدات ، والغازات ، وكذلك بعض المواد العضوية المعدنية ، مثل مركبات الزئبق والفضة العضوية ، وقد سبق ذكرها .

من المواد الكيميائية العضوية

١- الصابون والمنظفات : Soaps and detergents

الصابون هو عبارة عن أملاح الصوديوم أو البوتاسيوم ، للأحماض الدهنية العالية كالإستياريك ، ويعتبر الصابون من المطهرات الأنيونية متوسطة القوة .

يعتمد تأثير الصابون والمنظفات فى التطهير ، على الإزالة الميكانيكية للكائنات الدقيقة من السطوح التى تغسل بها ، مثل الأيدى والملابس والأرضيات ... الخ ، كما أن الصابون والمنظفات ، من المواد التى تقلل من قوة الجذب السطحى للماء ، وتجعله أكثر قدرة على التغلغل فى الأشياء المغسولة ، وبذلك يستطيع الماء أن يبلل الأشياء وينتشر بسهولة بين جزيئات الأوساخ ، ويصبح أكثر قدرة على التنظيف . ويضاف إلى ذلك قدرة الصابون ، على إزالة الزيوت والمواد الملوثة الأخرى ، وإحداثه لتفاعل قلوى ضار بالميكروبات .

ويزداد أثر الصابون ، اذ إستعمل مع الماء الساخن ، وقد لوحظ أن إضافة بعض المواد المطهرة إليه ، تزيد من قدرته التطهيرية ، مثل إضافة مادة Hexachlorophene (واسمها التجارى جـ ١١) بنسبة ١% إلى صابون حـ ١١ ، أو إضافة الفينول أو الكريزول ، أو يوديد الزئبقيك .

وقد أدت الرغبة ، فى الحصول على أنواع محسنة من المنظفات ، ذات كفاءة عالية فى التطهير ، إلى انتاج منظفات تركيبية Synthetic detergents ، تستعمل فى غسيل الشعر ، كالشامبوهات Shampos ، وفى غسيل الملابس ، والأدوات المنزلية ، والغسالات الكهربائية .

تقسم المنظفات ، من الناحية الكيميائية ، إلى مجموعتين ، هما

- منظفات أنيونية Anionic detergents

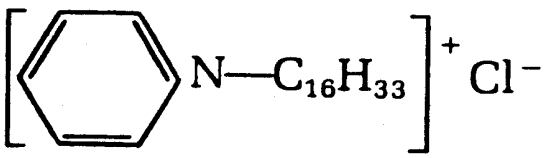
تعتمد قوة تنظيف المركبات الأنيونية ، عندما تتأين ، ، على الجزء الأنيونى بالمركب ، الذى يتحد بالمجاميع القاعدية الفعالة ببروتين الخلية مثل مجموعة الأمين . ومن أمثلة هذه المركبات الصابون ، وكبريتات الألكايل Alkyl sulfates مثل كبريتات لورايل الصوديوم Sodium lauryl sulfate

الصابون $\left[C_9 H_{19} COO\right]^- \quad Na^+$

كبريتات لورايل الصوديوم $\left[C_{12} H_{25} O SO_3\right]^- \quad N^+$

- منظفات كاتيونية : Cationic detergents

تعتمد قوة تنظيف المركبات الكاتيونية ، عندما تتأين ، على الجزء الكاتيونى بالمركب، الذى يتحد بالمجاميع الحامضية الفعالة ، بيروتين الخلية ، مثل مجاميع الكربوكسيل ، ومن أمثلة هذه المركبات ، مركبات الأمونيوم الرباعية ، التى من مركباتها ، السيبرين Ceepryn . والمنظفات الكاتيونية ، أشد تأثيرا فى قتل الميكروبات ، من المنظفات الأنيونية ، والرمز الكيميائى لمركب السيبرين ، هو



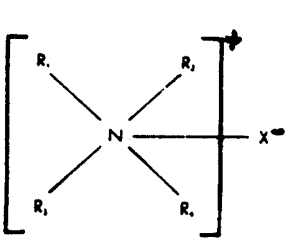
Cetylpyridinium chloride (Ceepryn)

وبالإضافة إلى المجموعتين السابقتين (الأنيونية والكاتيونية) ، فإنه ، توجد مجموعة ثالثة من المنظفات ، وهى منظفات غير متاينة ، وقدرتها التطهيرية والتنظيفية ضعيفة .

٢- مركبات الأمونيوم الرباعية : Quaternary ammonium compounds

تُدرج هذه المركبات ، تحت مجموعة المنظفات الكاتيونية ، لأن فعلها المبيد يظهر فى الكاتيونات$^{(+)}$ الناتجة من تاينها . وهذه الكاتيونات ، تتحد ببروتين الخلية الميكروبية ، فيتوقف نشاطها . كما يعود تأثير هذه المركبات ، إلى تخفيضها لقوة الجذب السطحى وإتلافها لغشاء الخلية السيتوبلازمى ، مما يؤدى إلى خروج محتويات الخلية وموتها .

تشتق هذه المركبات ، من أملاح هاليدات الأمونيوم ، مثل NH_4Cl ، باستبدال ذرات الإيدروجين الأربع ، بمجموعات الكايل مختلفة ، وعلى ذلك ، فيمكن أن يرمز للتركيب الكيميائيى لهذه المركبات ، بالرمز العام التالى



الرمز العام لمركبات الأمونيوم الرباعية

$R_{1,2,3,4}$: المجموعات المحتوية على الكربون

X^- : الأيون السالب الشحنه مثل Cl^- & Br^-

ويوجد من هذه المركبات ، العديد من المواد ، مثل مادة السيبرين Ceepryn .

ونظرا لأن هذه المركبات ، تتميز بصفاتها المبيدة للميكروبات ، وتأثيرها المنظف ، وثبات فعاليتها لمدد طويلة نسبيا ، وعدم تأثيرها على سطوح المعادن ، وأنها غير مهيجة حتى فى التركيزات العالية ، لذلك ، فإنها الآن تستعمل بكثرة فى أغراض التطهير بالنسبة للأدوات والأوانى بالمطاعم ، وفى مصانع الأغذية ومعامل الألبان ، والمستشفيات .

تؤثر هذه المركبات على البكتريا ، خاصة الموجبة لصبغة جرام ، كما تؤثر على الفطريات والبروتوزوا ، ويتراوح تأثيرها ، من قاتل عند استعمال التركيزات العالية (مثل ١ فى الألف إلى ١ فى العشرة آلاف) ، إلى تأثير موقف للنمو ، عند استعمال التركيزات المنخفضة مثل ١ فى المائة ألف .

يقل تأثير مركبات الأمونيوم الرباعية ، فى وجود المواد العضوية ، والمواد التى تعادل تأثيرها مثل الصابون والمنظفات الأنيونية ، كما أن مركبات الأمونيوم الرباعية ضعيفة التأثير على الفيروسات ، والجراثيم البكتيرية والفطرية .

٣- الأحماض العضوية : Organic acids

يرجع التأثير القاتل للأحماض العضوية جزئيا إلى أيونات الإيدروجين الحرة ، ولكن التأثير الأكبر يعود إلى جزيئات الحامض غير المتأينة .

تستعمل الأحماض العضوية فى التطهير ، لأن تأثيرها الضار على الجلد والأنسجة والأدوات محدود . ويختلف تأثير هذه الأحماض ، بإختلاف تركيب جزيئاتها غير المتأينة ، فحامض الخليك والبروبيونيك أشد تأثيرا على الفطر ، بينما نجد أن حامض البنزويك والسالسيليك أشد تأثيرا على البكتريا ، ويستعمل محلول مركز من حامض البوريك فى تطهير العين ، لقلة ضرره على الجلد والأغشية .

أما حامض اللاكتيك ، فإنه يعتبر المادة الحافظة الأساسية فى المخللات ، والجبن والألبان المتخمرة ، والسيلاج . ويتكون حامض اللاكتيك فى هذه المواد أثناء عملية التخمر ، وهو يتميز بقوته التطهيرية ضد كثير من البكتريا ، خاصة تلك المحللة للبروتين .

٤- الكحولات : Alcohols

الكحولات مطهرات متوسطة القوة ، وتأثيرها ضعيف على الخلايا المتجرثمة . ويعتبر الإيثانول C_2H_5OH ، من أهم الكحولات إستعمالا كمطهر للجلد . وهو ذو تأثير قاتل على الميكروبات ، إذا استعمل بتركيز من ٥٠ إلى ٧٠% ، حيث يؤدى الكحول فى هذا التركيز ، إلى تخثر البروتين الخلوى الميكروبى . ونظرا لأن هذا التخثر ، يتم فى وجود تركيز معين من الكحول والماء (٥٠-٧٠% كحول) ، فإن استعمال تركيزات متدرجة أعلى من ذلك أو أقل ، يقلل تدريجيا من القوة القاتلة للكحول ، حتى تنعدم . ويعمل الكحول أيضا على إذابة المواد الدهنية المفرزة أو الموجودة على سطح الجلد ، وبذلك ، يعمل الإيثانول كمنظف ، ويساعد على الإزالة الميكانيكية للميكروبات .

وقدرة الإيثانول المطهرة ، أعلى من الميثانول CH_3OH . والكحول الأخير شديد السمية ومؤذى للعين ، لذلك يندر استعماله كمطهر . أما الكحولات الأخرى ، مثل البروبانول والبيوتانول وغيرها ، فإن استعمالها كمطهر محدود ، لصعوبة أو لعدم امتزاجها بالماء كلما زاد وزنها الجزيئى ، رغم أن تأثيرها الإبادى أكبر من الإيثانول ، لزيادة وزنها الجزيئى .

وللجلسرول فاعلية كبيرة كمطهر ، إذا استعمل فى صورة مركزة ، ويعود ذلك إلى قدرته على انتزاع الماء من الخلايا الميكروبية وتجفيفها ، أى أن له تأثير مجفف Dehydrating effect .

٥- الفينولات : Phenols

ينتج الفينول C_2H_5OH (وقد يسمى الفينيك أو حامض الكربوليك Carbolic acid)، من التقطير الإتلافى للخشب والفحم والغاز ، ويعود تأثير الفينول القاتل ، إلى تفاعل مجموعة OH الفينول مع مجاميع الأمين الحرة لبروتين الخلية ، وتكوين بروتينات غير ذائبة ، ترسب ، فتموت الخلية الميكروبية . كما أن الفينولات الثنائية مثل هكساكلوروفين ، تثبط بقوة انزيمات مثل Succinoxidase, Cytochrome oxidase and Lactic dehydrogenase ، وبالإضافة

الى ذلك ، فإن الفينول ، يخفض من قوة الجذب السطحى عند سطح خلية الميكـــروب ، فتتلـف نفاذية الخلية .

يعتبر الفينول المبيد الأساسى ، الذى تقارن به المبيدات الأخـــرى ، لتقييمـــها وتقدير ثمنها . ويسمى هذا القياس "معامل الفينول Phenol coefficient" ، ويجرى الإختبـــار بـــالمعمل *in vitro* ، أى خارج الجسم الحى .

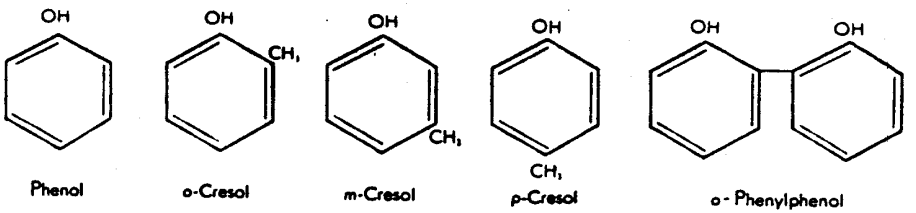
ويعرف معامل الفينول ، بأنه خارج قسمه أكبر تخفيف للمادة المختبرة ، التـــى تميـت بكتريا التيفود *Salmonella typhi* فى عشر دقائق (وليس فى خمس دقائق) ، مقسوما على أكبر تخفيف من مادة الفينول ، الذى يعطى نفس النتيجة .

وعلى ذلك ، فالمادة المختبرة التى لها معامل فينول = ١ ، تعتبر مساوية للفينول فـــى تأثيرهـــا القاتل ، والمادة التى لها معامل فينول أكبر من ١ ، تعتبر أشد فتكا من الفينول ، أما المادة التـــى لها معامل فينول أقل من ١ ، فإنها تعتبر أقل تأثيرا على الميكروبات من الفينول .

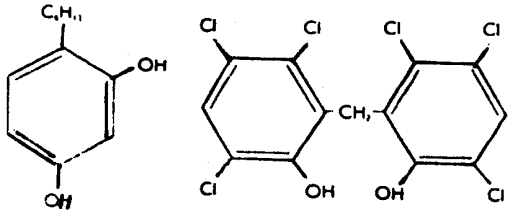
يستخدم الفينول كمادة قاتلة للميكروبات ، التى على أسطح المواد غير الحية ، كمحلـول مائى بتركيز ٥% . وهو مركب ثابت ، له تأثير كبير على الخلايا الخضرية للبكتريا والفطـــر ، غير أنه قليل التأثير على الخلايا المتجرثمة والفيروسات . ويضعف تأثيره فـــى وجـــود المـــواد العضوية ، لأنه يتحد معها ، وكذلك يضعف تأثيره فى وجود الصابون والزيوت .

وفى الماضى ، كان الفينول شائع الاستعمال كمطهر ، خاصة فى المستشفيات (رائحـــة المستشفى) ، ولكن استعماله الآن أصبح محدودا ، بسبب غلو ثمنه ، ورائحته النفـــاذه ، وآثـــاره السامه . وقد تم التغلب على ذلك ، بعمل مشتقات للفينول تستعمل بأمـــان كمطـــهرات للجلـــد ، وتضاف للصابون لزيادة قوته التطهيرية ، كما تمتاز هذه المشتقات بأنها أشد فتكا بالميكروبـــات من الفينول نفسه .

والرموز التالية توضح تركيب الفينول وبعض مشتقاته المستخدمة كمطهرات



Phenol — o-Cresol — m-Cresol — p-Cresol — o-Phenylphenol



Hexylresorcinol — Hexachlorophene

٦- الكريـــزول : Cresol

الكريزول $CH_3 - C_6H_4OH$ ، من مشتقات الفينول ، إلا أن الكريزول يتمـــيز عـــن الفينول بشدة فاعليته ، وبقوته الإبادية الأكبر ، وبإحتفاظه بقوته فى وجود المواد العضوية ، وقد يضاف الكريزول للصابون ، لزيادة قوة الصابون التطهيرية .

ويؤثر الكريزول على نفس الأنواع الميكروبية ، التى يؤثر عليها الفينول ، وهو مثـــل الفينول فى أنه ضعيف التأثير على الجراثيم والفيروسات .

الكريزول المستعمل تجاريا فى التطهير ، عبارة عن خليـــط مـــن ثـــلاث مشـــابهات Tri-cresol ، هى أورثو (التى توجد فيها بدائل ذرتى الإيدروجين فـــى الوضـــع المتعـــامد) ، والميتا (البدائل فى الوضع المتباعد) ، والبارا (البدائل فى الوضـــع المقـــابل) . ويطلـــق اســـم الليزول Lysol ، على أحد مستحضرات اللـــيزول التجاريـــة (Ortho hydroxy diphenyl, Cresylic acid) ، ويستعمل كمطهر بتركيز ١% .

٧- الألدهيدات والمواد المختزلة : Aldehydes and Reducing agents

يعتبر الفورمالدهيد والجلوتارالدهيد ، من أهم مركبـــات الألدهيـــدات المســـتعملة فـــى التطهير . وتأثير الألدهيدات القاتل ، يعود إلى قدرتها الإختزالية ، حيث تتحد مع مجاميع الأمين الحرة ($-NH_2$) التى ببروتين الخلية ، كما يعود تأثيرها إلـــى كســـرها لروابـــط الإيدروجيـــن بالبروتين ، فيتوقف نشاط الخلية الميكروبية ، وتموت .

٧-١- الفورمالدهيد : Formaldehyde

الفورمالدهيد ، HCHO ، مادة عديمة اللون ، صلبة فى درجـــة حـــرارة الغرفـــة ، وبارتفاع الحرارة ، تتحول إلى أبخرة غازية .

وتأثير الفورمالدهيد على الفطر ، أشد من تأثيره على البكتريا ، كما أن تـــأثيره علـــى الخلايا الخضرية أكبر من تأثيره على الخلايا المتجرثمة . ورغم أن الفورمالدهيد ، من المـــواد الفعالة فى الإبادة والتطهير ، إلا أن استعماله كمطهر أصبح محدودا ، لرائحة أبخرته النفاذه غير المقبولة ، ولتأثيره السام .

استعمالات الفورمالدهيد

محلول الفورمالدهيد العادى ، يسمى فورمالين Formalin ، وهو عبارة عن محلـــول مائى يحتوى على حوالى ٣٧-٤٠% فورمالدهيد بالإضافة إلى قليل من الكحول .

ويستعمل الفورمالين كمطهر قوى ، وفى حفظ العينات والنماذج النباتية والأنسجة الحيوانيـــة ، بالمتاحف لمدد طويلة . كما أن محلول ٥-١٠% فورمالدهيد ، له قوة قاتلة حتى فى وجود مـــواد عضوية . ومحلول ٠,١ - ٠,٥% يوقف نمـــو معظـــم الميكروبـــات . وقـــد تســـتعل أبخـــرة الفورمالدهيد فى تعقيم الأماكن المغلقة .

وبالإضافة إلى ذلك ، فإن من الاستعمالات الهامة للفورمالدهيد ، اســـتخدامه لتحويـــل التوكسين السام Toxin إلى توكسويد غير سام Toxoid . وهذا الأخير ، يستعمل كعلاج وقـــائى بحقنه فى جسم الانسان أو الحيوان ، لتكوين مضادات التوكسين Anti-toxins ، وهى أجســـام

مضادة تحمى الجسم من السموم الميكروبية . ومن السموم الميكروبية الهامة ، التى تقاوم بـــهذه الطريقة ، تلك السموم التى تفرزها بكتريا الدفتريا ، والتتانوس .

٧-٢- الجلوتارالدهيد : Glutaraldehyde

الجلوتارالدهيد عبارة عن محلول مشبع من الدهيـــد ثنـــائى Dialdehyde ، ورمـــزه الكيميائى $CHO - CH_2 - CH_2 - CH_2 - CHO$. ويســـتعمل الجلوتـــارالدهيد كمحلـــول ، بتركيز ٢% ، ومجاله الإبادى متسع ، فهو يؤثر على البكتريا الخضرية والمتجرثمة ، والفطـــر والفيروسات ، وهو يستعمل لتعقيم الأدوات الطبية ، على أن يكون التعرض له لمدة كافية ليتـــم التعقيم .

٧-٣- بعض المواد الأخرى المختزلة

بالإضافة إلى الألدهيدات ، فإن لبعض المواد الأخـــرى المختزلـــة ، مثـــل حـــامض الكبريتوز ، وأملاح الكبريتيت SO_3^{2-} ، تأثير قاتل على الميكروبات . فعند حـــرق الكـــبريت ، ينتج غاز ثانى أكسيد الكبريت SO_2 ، الذى يستعمل فى تبخـــير (كبرتـــة) Sulfuring براميـــل النبيذ ، وتبخير الفواكه المعدة للتجفيف ، لقتل الميكروبات ، وللمحافظة على لون الفاكهة .

٧-٨- الصبغـــات : Dyes

تستعمل الصبغات بكثرة فى المعامل الكيميائية والميكروبيولوجية كدلائل أو كصبغات ، وقد لوحظ أن لبعض هذه الصبغات تأثير موقف لنمو الميكروبات .

ويرجع تأثير الصبغات على الميكروبات ، إلى إتحادها ببروتين الخليـــة الميكروبيـــة ، بروابط ضعيفة غالبا ، فتوقف نشاطها ونموها ، دون أن تقتلها . فالصبغـــات القاعديـــة، مثـــل أخضر المالاكيت وأزرق المثيلين والجنسيان البنفسجى والفوكسين القاعدى ، تتحـــد بالمكونـــات الحامضية للبروتين الخلوى ، مثل مجاميع الكربوكسيل ، أو بقايا حامض الفوسفوريك . بينمـــا ، تتحد الصبغات الحامضية مثل الأيوسين والفوكســـين الحـــامضى والنيجروســـين ، بالمكونـــات القاعدية للخلية ، مثل مجاميع الأمين ، والإيدروكسيل ، ومجاميع الإيميدازول .

ويتوقف تأثير الصبغات ، على الوسط الموجودة بـــه الميكروبـــات . فـــيزداد تـــأثير الصبغات القاعدية بازدياد قلوية الوسط ، ويزداد تأثير الصبغات الحامضيـــة بزيـــادة حموضـــة الوسط .

وبوجه عام ، فإن البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، أكثر حساسية للصبغات ، من السالبة لجرام ، وتحتاج الأخيرة لايقاف نموها ، إلى حوالـــى مـــن ١٠٠ - ٢٠٠ ضعـــف التركـــيز ، المستعمل لإيقاف نمو البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، فمثلا ، نجد أن صبغة أخضر المالاكيت ، توقف نمو البكتريا العنقودية *Staphylococcus aureus* ، إذا وجدت الصبغة فى البيئة بتركـــيز 10^{-6} ، بينما لاتوقف الصبغة نمو بكتريا القولون *E. coli* ، إلا إذا زاد تركيزهـــا عـــن ١:٣٠ ألف ، ويستثنى من ذلك ، مجموعة البكتريا الصامدة للأحماض فهى مقاومة للصبغات ، رغـــم أنها موجبة لصبغة جرام .

ونظرا لأن الصبغات ، توقف نمو بعض المجاميع الميكروبية دون الأخرى ، أى أن تأثيرها انتقائى ، فقد استغلت هذه الظاهرة ، فى عمل بيئات إنتقائية ، لتنمية بعض المجاميع البكتيرية دون الأخرى ، كما فى حالة تنمية مجموعة بكتريا القولون .

يفضل فى بعض الأحيان ، استعمال الصبغات كمطهرات ، لأنها غير سامة ، ولاتسبب التهاباتا للأنسجة ، فتستعمل فى تطهير الجروح ، والأغشية المخاطية ، وتستعمل صبغة الجنسيان ، لتطهير التهابات الفم وجروح الجلد ، من البكتريا الموجبة لصبغة جرام ومن بعض الفطريات .

٩- الغرويات السائلة الهوائية ، الإيروسولات : Aerosols

تسمي السحب المتكونة من دقائق سائلة صغيرة جدا ، بالغرويات السائلة الهوائية ، أو الإيروسولات Aerosols . ويستخدم البروبيلين جليكول ، والجليكول ثلاثى الاثيلين ، فى انتاج الإيروسولات

$CH_2OH - CH_2 - CH_3$ **Propylene glycol**

$CH_2OH - CH_2 - O - CH_2 - CH_2 - O - CH_2 - CH_2OH$ **Triethylene glycol**

عند استعمال الإيروسولات ، تتكثف أبخرتها على الميكروبات الهوائية ، وتسبب موتها . وتأثير الجليكولات القاتل ، أقل من تأثير الفينولات والهالوجينات ، ولذلك ، يجب أن تستعمل الإيروسولات فى محاليل بتركيزات عالية (من ٥٠ الى ٩٠%) ، فكلما زاد تركيز الجليكول كلما زاد تأثيره القاتل .

تستعمل الإيروسولات ، فى قتل كثير من الميكروبات التى يحملها الهواء . ونظرا لأن أبخرة الإيروسولات تمتاز بأنها عديمة الطعم والرائحة ، وغير مهيجة ، وقليلة السمية للإنسان والحيوان ، وغير قابلة للانفجار ، ولاتسبب تآكلا بالمعادن ، لذلك فإنها تستعمل بكثرة فى الأماكن المغلقة لمقاومة البكتريا المرضية المحمولة بالهواء مثل *Streptococcus* ، والمسببة للإلتهابات الرئوية مثل *Diplococcus* ، وفيروسات الأنفلونزا .

والإتجاه الآن ، هو الحد من استعمال الإيروسولات والمواد الشبيهة ، لتأثير غازاتها المتصاعدة على ثقب غاز الأوزون ، بطبقات الجو العليا .

١٠- المعقمات الكيميائية الغازية : Gaseous chemo-sterilizers

يوجد الآن الكثير من المواد ، التى لايصلح لتعقيمها استعمال الحرارة العالية ، أو المعقمات الكيميائية السائلة . من أمثلة هذه المواد ، المواد البلاستيكية كالمحاقن ، وأنابيب الاختبار ، وأطباق بترى ، والماصات ، والمساحات والحجرات المقفولة (تبخير الحجرات) . وفى حالة هذه المواد ، فإن التعقيم بالغازات ، يعتبر هو الشىء العملى والفعال .

وفى هذه الطريقة من التعقيم ، تعرض المواد إلى الغازات ، وهى موضوعة فى حيز محدد مغلق ، على حرارة الغرفة . وبعد المعاملة ، يتم التخلص من الغازات .

من الغازات المستعملة أمين الاثيلين Ethylene amine ، وبروميد الميثايل Methyl bromide ، وبيتا بروبيولاكتون Beta propiolactone ، وأكسيد الاثيلين Ethylene oxide (راجع الباب الثالث – موضوع التعقيم بالكيماويات ، ص ص ٦٥ ، ٦٦) . وأهم هذه الغازات المستعملة الآن ، هو غاز أكسيد الإثيلين .

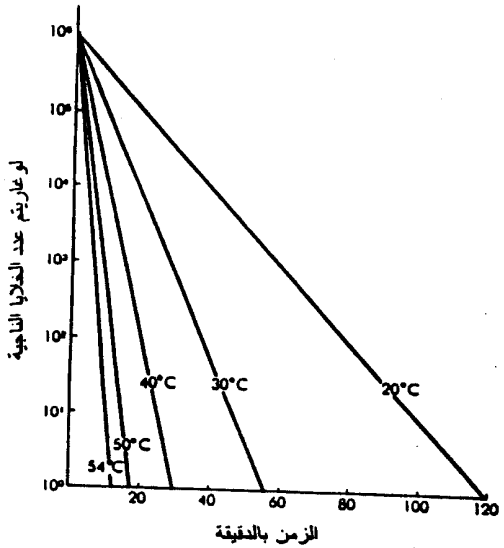
أكسيد الاثيلين

غاز أكسيد الاثيلين ، من المواد العضوية البسيطة التركيب ، ورمزه

وهو سائل تحت درجة ١٠,٨°م (وهى درجة غليان الغاز) ، وفوق درجة ١٠,٨°م يتبخر بسرعة . وأبخرة غاز أكسيد الاثيلين ، سريعة الاشتعال بالهواء حتى تحت التركيزات المنخفضة وقد تم التغلب على تلك العقبة ، بخلطه مع غاز ثانى أكسيد الكربون بنسبة ١٠ أكسيد اثيلين إلى ٩٠ CO_2 ، أو بخلطه مع غاز الفريون Dichloro difluoro methane, Freon . وتستعمل هذه المخاليط الآن بشكل تجارى .

يعود تأثير غاز أكسيد الاثيلين ، إلى مايقوم به من عمليات ألكله للمواد العضوية ، بما فى ذلك الإنزيمات والبروتينات (راجع ص ٨٣) ، كما أن الغاز عامل مؤكسد قوى ، وهو قاتل لكل الميكروبات ، وله قدرة عالية على إختراق المواد ، لذلك يستعمل فى تعقيم العبوات الكبيرة بما تحويه داخلها من مواد ، كما يستعمل بكثرة لتعقيم المواد الحساسة للرطوبة والحرارة ، فى المعامل الميكروبيولوجية ، والمستشفيات ، والمصانع .

وشكل [٤ (٣)-١] ، يوضح التأثير القاتل لفوق أكسيد الاثيلين على الجراثيم البكتيرية ، تحت درجات حرارة مختلفة .



شكل ٤ (٣)-١ : الإنخفاض فى عدد جراثيم بكتريا *B. subtilis* الموجودة على شرائط ورق ، تحت درجات حرارة مختلفة ، بتأثير غاز أكسيد الاثيلين عند تركيز ١٢٠٠ مجم/لتر ورطوبة نسبية ٤٠% .

From: **Pelczar and Chan, 1981**

ويوضح جدول [٤ (٣)- ١] ، وجدول [٤ (٣)- ٢] التقييم الخاص لبعض المـــواد الكيميائيـــة المضادة للميكروبات

جدول ٤ (٣) -١ : *تقييم بعض الكيميائيات المضادة للميكروبات .

المادة	التركيز المستعمل	الميكروبات المتأثرة					مستوى النشاط
		بكتريا		فطريات	فيروسات		
		خضرية	متجرثمة		كبيرة	صغيرة	
أكسيد الاثيلين غاز (في أوتوكلاف على درجة ٦٠°م)	٤٥٠-٨٠٠ مجم/لتر	+	+	+	+	+	عالى
جلوتارالدهيد محلول	٢%	+	+	+	+	+	عالى
فورمالدهيد + كحول	٨% + ٧٠%	+	+	+	+	+	عالى
فورمالدهيد محلول	٣-٨%	+	-	+	+	+	متوسط
يود + كحول	٠,٥% + ٧٠%	+	-	+	+	+	متوسط
كحول ايثانول	٧٠-٩٥%	+	-	+	+	+	متوسط
مركبات كلور	٤-٥%	+	-	+	+	+	متوسط
مركبات فينول	٠,٥ - ٣%	+	-	+	+	-	قليل
مركبات أمونيوم رباعية	١ : ٧٥٠	+	-	+	+	-	قليل
مركبات زئبق	١ : ١٠٠٠	+	-	+	+	-	قليل

* From : **Pelczar and Chan, 1981.**

جدول ٤ (٣)-٢ : المجاميع الرئيسية للمواد الكيميائية المضادة للميكروبات .

المجموعة	طريقة التأثير	مركبات هامة للمجموعة	الاستعمال المفضل	محددات الاستعمال
الكلور ومركباته	الاتحاد بالبروتين الخلوى والإنزيمى	- الكلور الغازى المسال - الهيبوكلوريت	- تطهير المياه ومياه الشرب - تطهير الأدوات والأجهزة	- يحتاج لأجهزة خاصة - رائحة الغاز غير مقبولة - تقل كفاءته فى وجود مواد عضوية
اليـــود	تثبيط الانزيمات والبروتينات	صبغة اليود ٢%	مطهر للجلد	مهيج للأغشية المخاطية
مركبات الأمونيوم الرباعية	- إتلاف البروتين الخلوى - إتلاف أغشية الخلية	- سيبرين - شديد التأثير على البكتريا الموجبة لجرام ، والفطريات	- منظف للجلد - مطهر للأدوات والأوانى	- لايؤثر على الجراثيم - تقل كفاءته فى وجود مواد عضوية
الكحـولات	- مبلل - عامل تجفيف - اتلاف البروتين - اتلاف أغشية الخلية	الايثانول بتركيز ٥٠-٧٠%	مطهر للجلد	مطهر فقط
الفينولات ومركباتها	- إتلاف البروتين - إتلاف أغشية الخلية	الكريزولات أشد تأثيراً من الفينولات	مطهر عام	- مهيج - آكل للمعادن
الألدهيدات	- إتلاف البروتين - كسر روابط ايدروجين البروتين	الفورمالدهيد ٤٠% الجلوتارالدهيد ٢%	- حفظ النماذج - تطهير الأدوات	- غير ثابت - الفورمالدهيد لايؤثر على الجراثيم
المعقمات الغازية	- تثبيط الإنزيمات - إضافة مجموعة الكايل للمواد العضوية	أكسيد الاثيلين قاتل لكل الأحياء	تعقيم الأدوات والأجهزة الحساسة للحرارة والرطوبة	- سام للانسان - قابل للاشتعال والانفجار - تأثيره بطىء - يحتاج لأجهزة مناسبة

المواد العلاجية الكيميائية والمضادات الحيوية :

Chemotherapeutic agents and Antibiotics

المواد العلاجية الكيميائية عبارة عن مواد كيميائية ، تستعمل داخل الجسم لعلاج الأمراض المعدية ، وهو مايسمى بالعلاج الكيميائى Chemotherapy ، أو تستعمل لمنع انتشار الأمراض ، وهو مايسمى بالعلاج الكيميائى الوقائى Chemoprophylaxis . ونحصل على هذه المواد إما بالتخليق الكيميائى بالمعامل، كما فى حالة مركبات السلفا ، أو من نواتج الكائنات الحية الميكروبية والنباتية ، كما فى حالة المضادات الحيوية .

ولكى تكون المادة الكيميائية مفيدة فى العلاج ، فإنه يجب أن تتميز بسميتها الإنتقائية Selective toxicity ، بمعنى أن يكون للمادة ، القدرة على تثبيط أو قتل الطفيل ، دون أن تسبب ضررا لخلايا العائل ، كما يكون لتلك المادة القدرة ، على اختراق خلايا العائل ، دون أن تضرها ، ودون أن تؤثر على الجهاز الدفاعى المناعى للعائل مثل كرات الدم البيضاء والأجسام المضادة ، وأن تتميز المادة أيضا بثباتها ، بحيث لاتفسد من تأثير سوائل الجسم ، الغنية بالبروتينات .

وسنستعرض فيما يلى بعض المواد الكيميائية المستعملة للعلاج ، داخل الجسم

١- مركبات السلفا : Sulfonamides

تحتوى جزيئات جميع مركبات السلفا ، على ذرة كبريت ، فى الوضع بارا (الوضع المقابل) لمجموعة الأمين . وتعتبر مركبات السلفا ، من أوائل المركبات العضوية التركيبية ، التى استعملت بداخل جسم العائل ، لعلاج الأمراض البكتيرية . ويشير تعبير مركبات السلفا Sulfonamides ، إلى كل المركبات التابعة لهذه المجموعة .

وقد بدأ اكتشاف هذه المركبات عام ١٩٣٥ ، بواسطة العالم الألمانى دوماك Domagk ومساعديه ، الذين اكتشفوا المركب Paraaminobenzene sulfonamide ، ورمزه $NH_2 - C_6H_4 - SO_2 NH_2$ ، وهو مركب معروف باسم السلفانيلاميد Sulfanilamide ، وقد تعرفوا على أحد مشتقات هذه المجموعة ، وهو مركب البرونتوسيل Prontosil ، وهو 2,4 diamine-azobenzene – 4`sulfonamide ، وتركيبه

$(NH_2)_2 - C_6H_3 - N = N - C_6H_4 - SO_2 NH_2$

ووجد أن لهذا المركب تأثير مثبط على البكتريا المحللة لكرات الدم الحمراء β-hemolytic streptococci ، المسببة لالتهابات الزور ، والحمى القرمزية للإنسان .

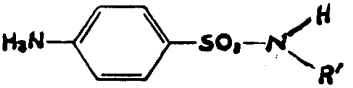
مركبات السلفا ، من المواد الكيميائية ، المسماه Antimetabolites أو Metabolite antagonist ، أى أنها مواد مضادة لتكوين بعض نواتج الأيض الغذائى الهامة ، وذلك نتيجة لما تسببه من تثبيط تنافسى Competitive inhibition لإنزيمات الأيض الغذائى ، الخاصة بتكوين الأحماض الأمينية ، ومن ثم البروتينات .

فمركبات السلفا ، ذات تركيب كيميائى مشابه إلى حد ما ، لتركيب حامض البارا أمينوبنزويك الداخل فى تركيب حامض الفوليك . وبسبب هذا التشابه ، تعتبر مركبات السلفا ، موادا تنافسية مع حامض البارا أمينوبنزويك ، وتحل مكانه ، فيتكون بذلك مركب آخر غير حامض الفوليك ،

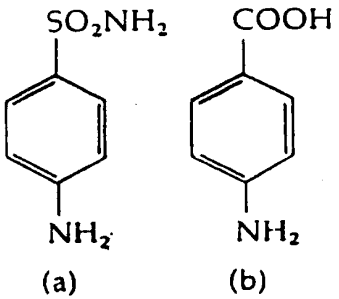
وهذا الحامض هو المجموعة النشطة فى تركيب بعض الانزيمات ومرافق الانزيم CoA ، وبتغير تركيب المجموعة النشطة لهذه الإنزيمات ، بسبب التنافس بين المواد الكيميائية الداخلة فى تركيبها ، يحدث تثبيط لهذه الانزيمات ، وتتوقف عمليات الايض الغذائى التى تقوم بها ، ويقف نمو ونشاط الميكروبات .

وعلى ذلك ، فإن مركبات السلفا تستطيع أن توقف نمو الميكروبات ، التى تمثل لنفسها حامض الفوليك ، وإلى هذا السبب ، يعود التأثير الإنتقائى لمركبات السلفا .

التأثير التثبيطى التنافسى لمركبات السلفا ، تأثير عكسى ، بمعنى أنه يمكن معادلته ، بإضافة المزيد من حامض البارا أمينوبنزويك . ولذلك ، فإنه يمكن تقليل ، أو الغاء الأثر الضار لمركبات السلفا على الميكروبات ، إذ أضيف للبيئة حامض البارا أمينوبنزويك ، أو حامض الفوليك ، أو أضيفت نواتج الأيض الغذائى ، التى أوقفت مركبات السلفا تكوينها ، مثل المثيونين، والسيرين ، والبيورين ، والبريمادين، لأن ذلك سيسمح باستمرار تفاعلات الأيض بشكل طبيعى. والرموز الكيميائية التالية توضح تركيب السلفوناميد ، والسلفانيلاميد ، وبارا أمينوبنزويك .



(أ) التركيب العام لمركبات السلفا (السلفوناميد) ويحل مكان R` المجاميع الموضحة بالصفحة التالية



a : مركب بارا أمينو بنزين سلفوناميد ، المعروف باسم السلفانيلاميد

b : مركب بارا أمينوبنزويك ، وهو يدخل فى تركيب حامض الفوليك

مركبات السلفا ، كما ذكر ، تثبط عمليات الأيض الغذائى ، وهى توقف نمو البكتريا دون ان تقتلها ، وهى تستعمل كبودرة توضع على الجروح لتطهيرها ، أو تستعمل داخليا لعلاج بعض الأمراض الناتجة عن البكتريا ، مثل التهابات الزور ، والالتهاب الرئوى ، والتهابات المجارى البولية والسيلان ، والإرتباكات المعوية ، وعند تناولها للعلاج ، فإنها توقف نمو البكتريا الممرضة ، فيسهل بذلك على أجهزة المقاومة بجسم العائل مثل كرات الدم البيضاءوالأجسام المضادة ، التخلص من الميكروبات .

ومن البكتريا التى تتأثر بمركبات السلفا:

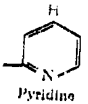
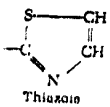
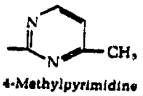
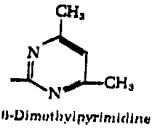
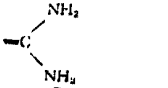
Neisseria, Pneumococci, Staphylococci, *Streptococcus and Shigella*

ومن البكتريا التى لاتتأثر *Rickettsia* and *Salmonella* .

ونظرا لأن مركبات السلفا لها قيمة علاجية كبيرة ، فقد حضر منها عدد كبير من المركبات يزيد عن ستة آلاف ، ويستعمل بعضها داخليا للعلاج ، وتتميز المركبات المستعملة عن المركب الأصلى السلفانيلاميد ، بشدة تأثيرها على الميكروبات ، وقلة ضررها على خلايا العائل ، وإن كانت تختلف فيما بينها فى مجال تأثيرها الميكروبى ، ودرجة ذوبانها ، وامتصاصها بالجسم ، وإفرازها مع بول العائل .

ويرجع التركيب الأساسى لهذه المركبات إلى مركب السلفانيلاميد ، بإستبدال ذرات الايدروجين التى فى مجموعة الأمين ، بمجموعات كيميائية أخرى مناسبة .

ومن أمثلة هذه المركبات الشائعة

الاسم التجارى متبوعا بالاسم التصنيفى	المجموعة الكيميائية الداخلة فى تركيب مركب السلفوناميد (-R`)
Sulfapyridine (*N'*-2-Pyridylsulfanilamide)	مجموعة بايريدين  Pyridine
Sulfathiazole (*N'*-2-Thiazolysulfanilamide)	مجموعة ثيازول  Thiazole
Sulfadiazine (*N'*-2-Sulfanilamidopyrimidine)	مجموعة بريمادين Pyrimidine
Sulfamerazine [*N'*-(4-Methyl-2-pyrimidyl)-sulfanilamide]	 4-Methylpyrimidine
Sulfamethazine [*N'*-(4,6-Dimethyl-2-pyrimidyl)-sulfanilamide]	 4,6-Dimethylpyrimidine
Sulfaguanidine (*N'*-Guanylsulfanilamide)	مجموعة جوانيديل  Guanidyl

ورغم أن مركبات السلفا أرخص ثمنا من المضادات الحيوية ، وليس لها تأثيرات ضارة على فلورا الجسم الطبيعية مثل المضادات ، إلا أنها أبطأ من المضادات فى التأثير على الميكروبات . وقد قل حاليا استخدام مركبات السلفا فى العلاج ، بسبب توفر الأنواع المتعددة من المضادات الحيوية ، ذات المجالات الابادية المختلفة ، والتى تتميز أيضا بسرعة تأثيرها .

٢- المضادات الحيوية : Antibiotics

كلمة مضاد حيوى ، تعنى ناتج أيض غذائى لأحد الكائنات ، له تأثير قاتل أو موقف لنمو كائن آخر ، بكميات صغيرة جدا . وبمعنى أشمل ، فإن المضادات الحيوية ، عبارة عن مواد كيميائية عضوية ، تفرزها بعض الكائنات الحية ، كنواتج ثانوية لعمليات الأيض الغذائى ، تستطيع بتركيزات ضئيلة ، قتل أو إيقاف نمو كائنات أخرى .

وأول من أستعمل تعبير مضاد حيوى Antibiotic بمعناه الحالى ، هو واكسمان عام ١٩٤٥ .

ويرجع الفضل فى إكتشاف المضادات ، إلى العالم البريطانى Alexander Fleming عام ١٩٢٨ بجامعة لندن ، عندما لاحظ التضاد ، فى أحد تجاربه ، بين الفطر *Penicillium notatum* والبكتريا العنقودية *Staphylococcus aureus* ، ثم تمكن من التعرف على المادة المضادة التى أوقفت نمو البكتريا ، وهى البنسلين ، وهى كلمة إشتقها فلمنج من اسم الفطر المنتج للمادة المضادة .

ولم تتضح أهمية هذا الإكتشاف الخطير ، إلا أثناء الحرب العالمية الثانية ، عندما استعمل البنسلين بنجاح ، بدلا من مركبات السلفا ، فى علاج جرحى الحرب من تلوثات الجروح والأمراض الميكروبية القاتلة ، وتم إنقاذ أرواح الآلاف من الجنود المصابين ، وبذلك ، بدأ عصر المضادات الحيوية ، بإنتاج البنسلين تجاريا عام ١٩٤٢ .

بعد إكتشاف البنسلين ، تمكن Dubos ومساعدوه عام ١٩٣٩ من عزل بكتريا عصوية متجرثمة من التربة هى *Bacillus brevis* ، قادرة على انتاج بعض المضادات الحيوية ، سماها Gramicidin ، تؤثر على البكتريا الموجبة لصبغة جرام . وعقب ذلك ، اكتشف Selman Waksman ومساعدوه عام ١٩٤٠ ، الاستربتومايسين من الأكتينومايسيتات . وتوالت بعد ذلك الإكتشافات ، وأمكن انتاج الكثير من المضادات الحيوية ، باستخدام الميكروبات ، أو بطرق تخليقية ، وأمكن تحضير الكثير منها بحالة نقية .

وباستعمال المضادات فى العلاج ، فقد أصبح من السهل الآن ، علاج أمراض عديدة خطيرة ، كان لها آثار قاتلة فى الماضى ، مثل-السل والدفتريا والالتهابات الرئوية ، والأمراض المعوية كالتيفود والكوليرا والدوسنتاريا ، والأمراض الجنسية كالزهرى والسيلان ... وغيرها من الأمراض .

ومن حسن الحظ ، فإن الكثير من الأنواع الميكروبية التى تنتج المضادات الحيوية ، توجد طبيعيا فى التربة ، ويمكن عزلها من التربة بسهولة . وقد وجد أن حوالى ٦٠% من المضادات التى تم التعرف عليها ، تنتج من الأكتينومايسيتات و١٠% من البكتريا و١٥% من الفطريات ، وكلها ميكروبات تعيش فى التربة . أما الباقى (حوالى ١٥%) ، فإنه ينتج من كائنات أخرى كالطحالب وبعض النباتات والحيوانات .

ولبعض الكائنات القدرة على انتاج أكثر من مضاد ، مثل بكتريا *Bacillus brevis* التى تنتج Gramicidin & Tyrocidin ، وفطر *Aspergillus fumigatus* الذى ينتج Fumigatin, Fumigacin & Gliotoxin ، كما لوحظ أن المضاد الواحد قد ينتجه أكثر من ميكروب ، مثل البنسلين الذى ينتجه كل من : *Penicillium notatum, P. chrysogenum & Aspergillus flavus*

المضادات الحيوية كمواد علاجية كيميائية : Antibiotics as chemotherapeutic agents

نظرا لأهمية المضادات العلاجية ، ونتيجة للبحوث المستمرة ، فقد ظهر العديد منها ، وأمكن التعرف على مايزيد عن ٣٠٠٠ مضاد ، حوالى ٢٥٠٠ منها تنتجه الميكروبات . وأغلب هذه المضادات شديد السمية للإنسان ، أو ضعيف التأثير على الميكروبات ، ولذلك فهى لاتصلح للعلاج ، ولكن قد تصلح لأغراض أخرى . والصالح للعلاج من تلك المضادات المكتشفة محدود ، لايزيد عن ٦٠ نوعا .

والمضادات إما أن يكون تأثيرها على الميكروبات قاتل ، مثل البنسلينات والإستربتومايسين ، خاصة فى التركيزات العالية ، أو يكون تأثيرها موقف لنمو ونشاط الميكروبات مثل التتراسايكلينات . وفى الحالة الأخيرة ، فإن أجهزة الجسم الدفاعية ، تتولى التخلص من الميكروبات التى توقف نشاطها .

ويتجه البحث دائما ، للكشف عن مضادات جديدة ، ذات فعالية كبيرة ضد الميكروبات، خاصة ضد تلك الميكروبات التى أصبحت لاتتأثر بالمضادات الجارى استعمالها ، نتيجة تكون طفرات ميكروبية مقاومة .

عموما ، فإنه يجب أن تتوفر فى المضادات الحيوية المستعملة كمواد علاجية ، بعض الشروط التى منها

* أن يكون للمضاد ، القدرة على قتل أو تثبيط الميكروب الممرض ، دون أن يضر بخلايا العائل .
* كلما كان للمضاد مجال ميكروبى متسع Broad-spectrum ، أى يؤثر على أنواع متعددة من الميكروبات ، (كالبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، والخمائر ، والفطريات ، والريكتسيا... وغيرها) ، كلما كان مضادا أفضلاً ، وكانت له قيمة علاجية أكبر .
* أن لايتسبب المضاد المستعمل ، فى تكوين طفرات ميكروبية مقاومة للمضادات ، وأن لايؤثر على الإتزان الميكروبي الموجود طبيعيا بالجسم ، وأن لايسبب حساسية للعائل .
* أن لايُثبِّط المضاد بأحماض المعدة عند تناوله عن طريق الفم ، وأن لايتحد ببروتينات الدم عند تناوله حقنا ، وأن يكون له درجة ذوبان عالية فى سوائل الجسم .

ويراعى دائما ، استعمال المضاد بحرص وتحت إشراف طبى ، وبالجرعات المناسبة . فلبعض المضادات آثار جانبية خطيرة ، كما يسبب بعضها مشاكل حساسية لبعض الأفراد ، وقد تتسبب فى قتل الميكروفلورا النافعة الموجودة طبيعيا بالقناة الهضمية ، من بكتريا وفطر وبروتوزوا ... ، التى يقوم بعضها بتجهيز الفيتامينات اللازمة للجسم ، ولذلك ، فإنه يلزم إعطاء المريض الذى يعالج بالمضادات ، كمية كافية من الفيتامينات ، خاصة التابعة لمجموعة فيتامين ب .

ويوضح جدول [٤ (٣) - ٣] خواص واستعمالات بعض المضادات المنتجة بواسطة الميكروبات ، والتى يستعمل بعضها فى العلاج .

جدول ٤ (٣)-٣ : خواص واستعمالات بعض المضادات المنتجة بواسطة الميكروبات .

المجموعة الكيميائية	اسم المضاد الشائع (والتجارى)	الميكروب المنتج	الميكروبات المتأثرة	طريقة التأثير
Aminoglycosides	Streptomycin	*Streptomyces griseus*	بكتريا جرام موجب ، جرام سالب ، والصامدة للأحماض	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S (أى تثبيط تكوين البروتين)
	Neomycin (Flavomycin)	*S. fradiae* (1)	مثل الإستربتومايسين	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
	Kanamycin (Kantrex)	*S. kanamyceticus*	مثل الإستربتومايسين	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
B-Lactams	Penicillins*	*P. chrysogenum*(2)	البكتريا الموجبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية
	Ampicillin*	*P. chrysogenum*	البكتريا السالبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية
Benzene derivative	Chloramphenicol** (Chloromycetin)	*S. venezuelae*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة ، وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط عمل الرايبوسوم
Cyclohexane	Cycloheximide (Actidione)	*S. griseus*	الفطريات المترممة	تثبيط تكوين الدنا DNA
Heterocyclic-oxygen compounds	Griseofulvin (Grifulvin)	*P. griseofulvin*	الفطريات الممرضة لسطح الجلد	إتلاف الغشاء السيتوبلازمى
Macrolides	Erythromycin (Erythrocin)	*S. erythraeus*	البكتريا الموجبة لجرام	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
	Carbomycin* (Magnamycin)	*S. halstedii*	البكتريا الموجبة لجرام	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
Phenazine	Pyocyanin	*Ps. aeruginosa*(3)	أنواع عديدة	تثبيط عملية التنفس (لايستعمل طبيا)

(1) S = *Streptomyces*
(2) P = *Penicillium*
(3) Ps = *Pseudomonas*

تابع جدول ٤ (٢)-٣ : خواص واستعمالات بعض المضادات المنتجة بواسطة الميكروبات .

المجموعة الكيميائية	اسم المضاد الشائع (والتجارى)	الميكروب المنتج	الميكروبات المتأثرة	طريقة التأثير
Polyenes	Amphotericin (Fungizone)	*S. nodosus*(١)	الكانديدا	تثبيط عمل استرولات الغشاء السيتوبلازمى
	Nystatin	*S. noursei*	الفطريات الممرضة والكانديدا	تثبيط عمل استرولات الغشاء السيتوبلازمى
	Fumagillin	*Aspergillus fumigatus*	بروتوزوا الدوسنتاريا	تثبيط نفاذية الغشاء السيتوبلازمى
Polypeptides	Polymyxin G* (Aerosporin)	*B. polymyxa*(١)	البكتريا السالبة لجرام	إتلاف الغشاء السيتوبلازمى
	Bacitracin*, P	*B. subtilis*	البتريا السالبة لجـرام	منع تكوين جدار الخلية
	Subtilin P	*B. subtilis*	البكتريا الموجبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية
	Gramicidin*	*B. brevis*	البكتريا الموجبة لجرام	تثبيط النسفرة التأكسدية
Tetracyclines	Tetracycline** (Achromycin)	*S. aureofaciens*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة لجرام وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين
	Oxytetracycline (Terramycin)	*S. rimosus*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة لجرام وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين
	Chlortetracycline** (Aureomycin)	*S. aureofaciens*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة لجرام وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين

* : كثير من هذه المضادات عبارة عن خليط لعدة أنواع ، مثل بنسلين D, C, B, A وبوليمكسين λ, V, K, G, F

** : تصنع هذه المضادات الآن بالتخليق الكيميائى

P : يستعمل هذا المضاد خارج الجسم ، لأن تأثيره الداخلى سام

١ - S : *Streptomyces*

٢ - B : *Bacillus*

وفيما يلى ، وصف لبعض المضادات ، الممثلة للمجموعات الكيميائية المختلفة ، الشائعة الإستعمال فى العلاج

٢-١- البنسلين (مجموعة بيتا لاكتام) Penicillin

أكتشف البنسلين عام ١٩٢٨ بواسطة العالم البريطانى فلمنج ، وهو بذلك يعتبر من أوائل المضادات التى اكتشفت ، ومازال أكثرها استعمالا . والبنسلينات Penicillins ، هى مجموعة من المركبات ذات تركيب متشابه ، وإن كانت ذات أنشطة مختلفة . ومن الناحية الكيميائية ، فإن البنسلينات تتبع مجموعة البيتا لاكتام β-lactam antibiotics . ولجميع البنسلينات ، نواة مشتركة Common core ، وهى حلقة a fused β-lactam thiazolidine ring ولها سلاسل جانبية مختلفة ، تعطى لكل نوع من أنواع البنسلين ، خواصه ومميزاته .

البنسلينات الطبيعية : Natural penicillins

تنتج البنسلينات الطبيعية ، أثناء نمو ونشاط الفطر *Penicillium chrysogenum* أو *P. notatum* . وينتج بالمزرعة الفطرية ، حوالى ٦ أنواع من البنسلينات ذات الأساس الكيميائى المتشابه . ومن أهم هذه البنسلينات المنتجة :

Penicillin G (Benzyl penicillin), Penicillin F, K, V & X.

ويعتبر بنسلين ج ، أكثرها إنتشارا واستعمالا [أنظر شكل ٤ (٣)-٢] .

ويمكن تحضير البنسلينات الطبيعية ، كأملاح صوديوم أو بوتاسيوم . وكان تحضير البنسلينات فى البداية ، يتم فى صورة غير نقية . ولكن بتقدم تقنيات الانتاج ، أصبح من الممكن الحصول على البنسلينات بصورة نقية ، كما تم معرفة رمزها الكيميائى ، وبذلك استعملت الوحدة الوزنية ، بدلا من وحدة اكسفورد لتقدير قوة البنسلين .

ووحدة اكسفورد Oxford unit ، هى كمية البنسلين الموجودة فى واحد مل ، التى توقف فى دائرة قطرها ٢٤ مم ، نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* ، النامية على بيئة الأجار المغذى بعد ٢٤ ساعة من التحضين على درجة ٣٧°م .

وتساوى وحدة أكسفورد فى نشاطها ، التأثير الناتج من استعمال ٠,٦ ميكروجرام بنسلين نقى (بنسلين ج ، Benzyl penicillin) ، وتسمى هذه الوحدة الوزنية ، بالوحدة الدولية International Unit, IU ، وهى تماثل تماما وحدة أكسفورد فى جميع الاستعمالات ، ولذلك تستخدم الآن الوحدات الدولية ، بدلا من وحدة اكسفورد .

تؤثر البنسلينات الطبيعية بصفة عامة على البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، خاصة

Pneumococci , Staphylococci, Beta-hemolytic Streptococci and Clostridia

وتؤثر البنسلينات أيضا على بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة جرام ، مثل *Neisseria* المسببة للسيلان والالتهاب السحائى ، والسبيروكيتا المسببه للزهرى .

ولايؤثر البنسلين عادة على البكتريا السالبة لصبغة جرام ، والريكتسيا ، والخمائر والفطريات ، والبروتوزوا ، لأن مجال تأثيره الأساسى ، هو طبقة الميورين الموجودة فى جدار البكتريا فقط .

وتثبط البنسلينات الطبيعية بواسطة الحرارة ، والأحماض الأمينية الكبريتية ، وإيدروكسيد الصوديوم ، وحامض الإيدروكلوريك (وهو موجود بالمعدة) ، وإنزيم البنسلينيز Penicillinase ، الذى تفرزه بعض الميكروبات كالبكتريا والفطر .

والبنسلينيز إنزيم مستحث Induced ، يفرز خارج الخلية الميكروبية Exoenzyme ، وهو من الإنزيمات المحللة مائيا . فإنزيم البنسلينيز البكتيرى ، يحلل البنسلين ج ، بكسر رابطة البيتا لاكتام ، لذلك يسمى بيتا لاكتاميز β-lactamase ، أما انزيم البنسلينيز الفطرى ، فإنه يحلل بنسلين V بكسره لرابطة الببتيد ، ولذلك يسمى بنسلين أميديز Penicillin amidase [أنظر شكل ٤ (٣)-٢] .

البنسلينات نصف المخلقة : Semi-synthetic penicillins

أمكن بتفاعلات كيميائية مناسبة ، إضافة سلاسل جانبية مخلقة كيميائيا ، لنواة البنسلين المنتجة طبيعيا من الفطر . وتسمى المواد الناتجة ، بالبنسلينات نصف المخلقة . ومن أهم هذه البنسلينات ، الأمبيسلين Ampicillin ، وهو يستعمل بكفاءة ضد مجموعة كبيرة من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، وإن كان يعاب عليه تأثره بالحموضة ، وبإنزيم البنسلينيز ، كما أنه يسبب حساسية شديدة لبعض الأفراد ، قد تصل للموت .

طريقة عمل وتأثير البنسلينات : Mode of action

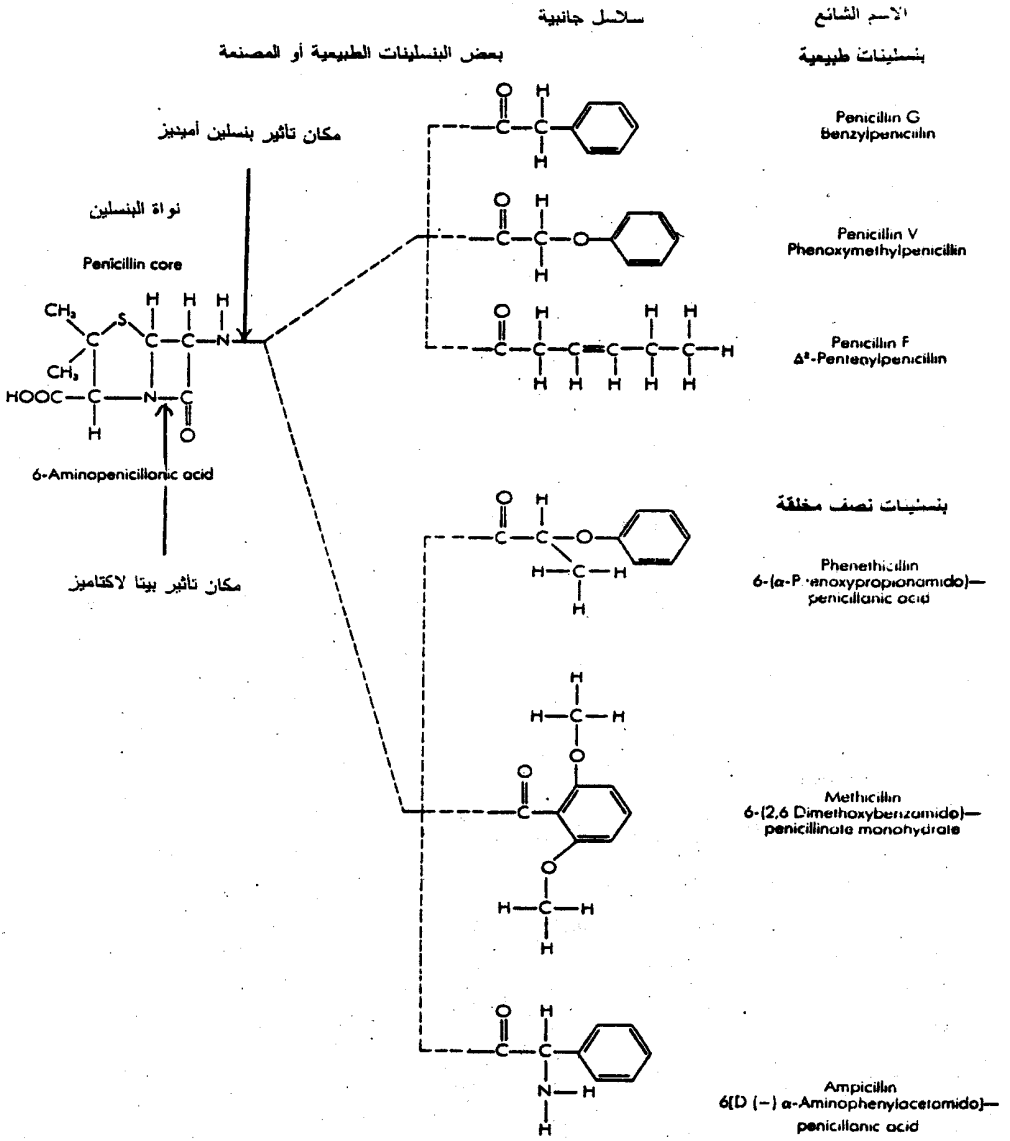
يمنع البنسلين تكون الجدار الخلوى الصلب للبكتريا ، التى فى طور النمو والتكوين ، بإيقاف إرتباط حامض الاستايل ميراميك مع استايل جلوكوز أمين ، وهى المكونات الأساسية الداخلة فى تكوين طبقة ميورين جدار خلية البكتريا . ولايوجد هذا التركيب إلا فى الكائنات بدائية النواة ، كالبكتريا ، ويعنى هذا أن البنسلين يؤثر فقط على خلايا البكتريا .

ونتيجة لفقد البكتريا لجدارها الخلوى وهى فى طور التكوين ، فإن الخلايا البكتيرية تأخذ أشكالا غير طبيعية ، ويحدث بها استطالة وتكوين أشكال من نوع L-form* ، ويتوقف الانقسام الخلوى ، وتتأثر نفاذية الخلية ، وأخيرا تتحلل الخلايا وتموت..

ويتوقف مقاومة البكتريا للبنسلين ، على انتاجها لإنزيم البنسلينيز ، الذى يحلل البنسلين .

---

* أنظر تذييل ص ٤٨٥



شكل ٤ (٣) –٢ : نواة البنسلين والتركيب الكيميائى للسلاسل الجانبية لبعض البنسلينات الطبيعية ونصف المخلقة ، ومكان تأثير إنزيم البنسلينيز .

استعمالات أخرى للبنسلين

بالإضافة إلى استعمال البنسلين فى الأغراض العلاجية ، فقد يستخدم أيضا فى المعامل الميكروبيولوجية ، لعزل الأنواع البكتيرية المقاومة للبنسلين ، مثل البكتريا السالبة لصبغة جرام ، والبكتريا المسببة للسعال الديكى والأنفلونزا ، كما يستعمل البنسلين لإيقاف نمو البكتريا فى الأنسجة الحيوانية ، المستعملة لدراسة الفيروسات ، لأنه من المعروف أن الفيروسات والخلايا الحيوانية مقاومة لأغلب المضادات .

٢-٢- الاستربتومايسين (مجموعة الأمينوجليكوزيدات) : Streptomycin

ينتج الاستربتومايسين من الأكتينومايسيتات ، *Streptomyces griseus* ، وهى من بكتريا التربة ، ومن الناحية الكيميائية ، ينتمى الاستربتومايسين ، لمجموعة الأمينوجليكوزيدات Aminoglycoside antibiotics ، وهى مركبات تحتوى على سكريات أمينية ، فى روابط جليكوزيدية ، وينتمى إلى هذه المجموعة [جدول ٤ (٣)-٣] بعض المضادات مثل Kanamycin, Neomycin, Streptomycin .

يؤثر الاستربتومايسين على كثير من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، وإن كان قد قل استعماله فى علاج بكتريا السل ، لسرعة تكوين بكتريا السل لسلالات مقاومة للأستربتومايسين .

طريقة التأثير

يؤثر الاستربتومايسين ، ومجموعة مضادات الأمينوجليكوزيدات ، على تمثيل الأحماض الأمينية ، ومن ثم يثبط تكوين البروتينات . ويتم ذلك بإتحاد المضاد بوحدات الرايبوسوم التى بالخلية ، فيتوقف انتقال الأحماض الأمينية من الرنا الناقل Amino acyl transfer RNA ، الى وحدات البروتين الجارى تكوينه بالرايبوسوم .

كما أن هذه المجموعة من المضادات ، تؤثر على دورة كربس ، بتأثيرها على الإنزيمات الخاصة بربط حامض البيروفيك مع حامض الأكسال أستيك ، فيتوقف تكشف هذه المواد الداخلة فى تكوين الدورة .

وقد أمكن تحضير الإستربتومايسين بحالة نقية ، والوحدة الدولية IU للإستربتومايسين، هى الوحدة التى تساوى فى نشاطها ، التأثير الناتج من استعمال ١,٠ ميكروجرام استربتومايسين نقى .

٢-٣-التتراسايكلينات (مجموعة التتراسايكلين) : Tetracyclines

ينتمى إلى مجموعة التتراسايكلينات بعض المضادات مثل :

Tetracycline (Achromycin), Chlortetracycline (Aureomycin) and Oxytetracycline (Terramycin)

وهذه المضادات ، وإن كانت ذات صفات بيولوجية متشابهة ، إلا أنها تختلف عن بعضها فى مدى ثباتها ، وسميتها ، وفى تفاعلها مع بروتينات الجسم .

وتنتج التتراسايكلينات ، من بكتريا تابعة لجنس *Streptomyces* [جدول ٤ (٣)-٣] . وتمتاز هذه المجموعة من المضادات ، بأنها ذات مجال ميكروبى متسع ، فهى تؤثر على كثير من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام .

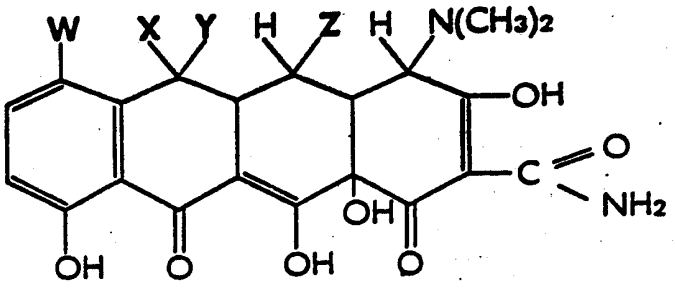
طريقة التأثير

تؤثر التتراسايكلينات على تمثيل الأحماض الأمينية والبروتينات ، بايقافها إرتباط الرنا الناقل بالرايبوسوم ، أثناء تكوين واستطالة السلسلة الببتيدية .

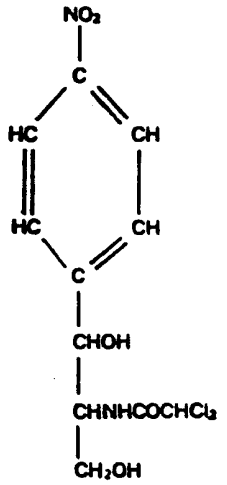
والوحدة الدولية للتراسايكلين ، هى الوحدة التى تساوى فى نشاطها ، التأثير الناتج من استعمال ١,٠ ميكروجرام كلوريد التتراسيكلين النقى المتبلور .

يحضر التتراسايكلين الآن بطرق كيميائية ، مثله فى ذلك مثل الكلورامفنيكول . وإن كان الكلورامفنيكول يتبع مجموعة كيميائية أخرى غير مجموعة التتراسايكلين ، إلا أن كلا المركبين ، يمتازان بأنهما من الأنواع ذات المجال الميكروبى المتسع [جدول ٤(٣)-٣] .

والرموز الكيميائية التالية ، توضح تركيب التتراسايكلينات والكورامفنيكول .



التركيب العام للسايكلينات ، ومواقع الاستبدال W, X, Y, Z على جزىء السايكلين



تركيب الكلورامفنيكول Chloramphenicol

ويبين جدول [٤ (٣)- ٤] أنواع بعض التتراسايكلينات

جدول ٤ (٣)-٤ : أنواع من التتراسايكلينات المشتقة من التركيب العام للسايكلين

المضاد الحيوى		مواقع الاستبدال بالجزىء			
		W	X	Y	Z
Tetracycline	تتراسايكلين	-H	$-CH_3$	-OH	-H
Oxytetracycline	أوكسى تتراسايكلين	-H	$-CH_3$	-OH	-OH
Chlortetracycline	كلورتتراسايكلين	-Cl	$-CH_3$	-OH	-H
Minocycline	مينوسايكلين	$-N(CH_3)_2$	-CH	-H	-H
Doxycycline	دوكسي سايكلي	-H	$-CH_3$	-H	-OH

* W, X, Y, Z : مواقع الاستبدال على جزىء السايكلين

٤-٢- البوليمكسين (مجموعة عديد الببتيدات) : Polymyxin

تنتج البكتريا التابعة لجنس *Bacillus* ، مجموعة متعددة من المضادات ، ذات خصائص عامة متشابهة ، وتنتمى كيميائيا لمجموعة عديد الببتيدات Polypeptide antibiotics فينتج البوليمكسين من *B. polymyxa* ، وينتج الباسيتراسين والسابتيلين من *B. subtilis* ، والجراميسيدين من *B. brevis* [أنظر جدول ٤(٣)-٣] .

يؤثر البوليمكسين على كثيرا من البكتريا السالبة لصبغة جرام ، بما فى ذلك بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* التى كثيرا ماتسبب التهابات المجارى البولية . أما الباسيتراسين ، فإنه يؤثر على البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، ولايؤثر على السالبة لجرام ، وهو شديد السمية، ويجب أن يستعمل بإحتراس .

طريقة التأثيـــر

توقف هذه المضادات عمليات الأيض الخاصة بتكوين جدار الخلية ، كما أنـــها تتحـد بالغشاء السيتوبلازمى ، فتفسد عملية النفاذية ، وبعضها مثل الـــ Gramicidin يثبـط عمليـة الفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation الخاصة بانتاج الطاقة .

المضادات الحيوية المضادة للفطريات : Antifungal antibiotics

من أمثلة هذه المضادات Nystatin, Griseofulvin and Amphotericin [أنظر جدول ٤ (٣) -٣]

وينتج النستاتين بواسطة بكتريا *Streptomyces noursei* ، وهو يفيد فى علاج الأمراض التـــى تسببها الخمائر والفطريات ، خاصة أمراض الجلد والأظافر ، والتهابات المـــهبل التـــى يســـببها *Candida utilis* .

أما مضاد جريزيوفلفين ، فينتجه فطر *Penicillium griseofulvin* ، وهو يستعمل فـــى علاج كثير من الأمراض الفطرية السطحية ، أى التى تصيب سطح الجلد ، ولكنه لايؤثر علـــى الكانديدا أو البكتريا .

طريقة التأثيـــر

يؤثر النستاتين على خلايا الخمـــيرة والفطـــر ، بإتحـــاده مـــع اســـتيرولات الغشـــاء السيتوبلازمى ، فتتأثر النفاذية الخلوية ، ويموت الفطر . ونظرا لأن الاستيرولات لاتوجـــد فـــى الأغشية الخلوية للبكتريا ، لذلك ، فإن هذه المضادات الفطرية ، لاتؤثر على البكتريا .

مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية : Resistance to antibiotics

تعود مقاومة الميكروبات للمضادات ، إلى عـــامل المقاومـــة الوراثـــى Resistance, R-factor الذى كان موجودا أصلا بالميكروب ، وهو مايعرف بالمقاومـــة الطبيعيـــة Natural resistance ، أو تعود المقاومة إلى اكتساب الميكروب لعامل المقاومة ، وهو مايعرف بالمقاومة المكتسبة Acquired resistance . على سبيل المثال ، فإن مقاومة البكتريا للبنسلين ، قد تكـــون بسبب المقاومة الطبيعية ، وذلك نتيجة لإنتاج البكتريا لإنزيم البنســـلينيز الـــذى يوقـــف نشـــاط البنسلين ، أو تأتى المقاومة بسبب المناعة المكتسبة ، وذلك نتيجة لإكتساب ســـلالات البكتريـــا الحساسة للبنسلين ، صفة المقاومة للبنسلين ، بإنتاجها لإنزيم البنســـلينيز . وهـــذا يحـــدث فـــى سلالات البكتريا ، التى تأقلمت وراثيا ، وكونت طفراتـــا مقاومـــة للبنســـلين ، وبذلـــك تتكـــاثر وتسود ، فى وجود المضاد الحيوى ، على البكتريا الأخرى الحساسة للبنسلين .

قد تكتسب بعض أنواع البكتريا ، صفة المقاومـــة للبنســـلين ، دون أن تنتـــج إنزيـــم البنسلينيز ، وهذا يدل على أن هذه الأنواع ، سلكت طرقا أخرى بديلة فـــى الأيـــض الغذائـــى ، لاتتأثر بوجود البنسلين ، أو بغيره من المضادات ، إذ أن تأثير أغلب المضادات ، يعود كما ذكر سابقا ، إلى تثبيط بعض نظم الأيض الغذائى بالخلية الميكروبية .

إنتقال صفة المقاومة للمواد العلاجية الكيميائية الى الميكروبات

Transmission of chemotherapeutic resistance to microbes

عندما بدأ استعمال الكيميائيات فى العلاج ، مثل مركبات السلفا والمضادات الحيوية ، كانت مقاومة البكتريا لهذه المواد نادرة . وبإنتشار استعمال هذه الكيميائيات ، اختفت الميكروبات الحساسة ، وزاد تدريجيا الأفراد الميكروبية المقاومة ، إلى أن سادت الأنواع المقاومة فى المزارع الميكروبية ، وأصبحت مقاومة الميكروبات للكيميائيات العلاجية ، تمثل الان مشكلة طبية وبحثية .

وقد كان الإعتقاد ، فى بداية ظهور أفراد بكتيرية مقاومة للمضادات أو الكيميائيات ، أن سبب ذلك ، هو حدوث تغير فى أحد الجينات بالخلية ، أدى إلى حدوث تلك المقاومة . ولكن بتطور الدراسات الخاصة بالمقاومة ، وجد أن سبب المقاومة فى بعض أنواع البكتريا ، يعود إلى أنها تحتوى فعلا على جين وظيفته حماية البكتريا ، والمثل على ذلك ، وجود الجين المسئول عن إنتاج إنزيم البنسلينيز بالأنواع البكتيرية العنقودية ، الموجبة لصبغة جرام ، المقاومة للبنسلين ، Penicillin-resistant Staphylococci .

الأفراد البكتيرية التى تملك عامل المقاومة ،تنمو وتسود فى وجود المادة الكيميائية المضادة ، بينما تموت وتختفى الأفراد الأخرى الحساسة . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن عامل المقاومة ، قد ينتقل أثناء العلاج بالكيميائيات ، من ميكروب مقاوم Resistant organism ، إلى ميكروب أخر حساس للعقار Drug sensitive organism . ويتم هذا الإنتقال بين فردين تابعين لنفس النوع ، أو بين نوعين مختلفين تابعين لنفس الجنس ، أو بين جنسين مختلفين ، كما حدث عند انتقال عامل المقاومة من *Escherichia coli* إلى *Shigella dysenteriae* أو إلى أنواع تابعة لأجناس *Klebsiella & Salmonella* .

وكما هو معروف ، فإن هذا الانتقال يتم بواسطة التزاوج Conjugation ، وهو أكثر الطرق إنتشارا ، وقد ينتقل بواسطة التحول الوراثى Transformation ، أوبالاستقطاع Transduction.

وقد وجد بتطور الدراسات الوراثية ، أن عامل المقاومة R-factor ، يوجد فى البلازميد ، وهذه أجزاء صغيرة من حامض د ن أ ، توجد خارج الكروموسوم ، وخارج النواه ، وتتناسخ ذاتيا Self-replicating (راجع انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا بالفصل الثانى من الباب الثامن) .

مقاومة الميكروبات للكيميائيات العلاجية ، موضوع له أهميته العلمية والتطبيقية . وتُجرى دراسات متعددة لمعرفة الطرق التى تسلكها الميكروبات لمقاومة تلك الكيميائيات ، وكيف تتغلب عليها ، مع محاولات بحثية مستمرة لإنتاج كيميائيات علاجية ذات فعالية كبيرة ضد الميكروبات ، ومثالا على ذلك ، محاولة انتاج بنسلينات مخلقة معمليا ، لاتتأثر بإنزيم البنسلينيز .

ويمكن التقليل من ظهور سلالات ميكروبية مقاومة للمضادات ، بعدم الإسراف فى استعمال المضادات ، واستعمال الجرعة الكافية للقضاء على العدوى ، والامتناع عن استخدام المضادات الشائعة الاستعمال فى المنطقة لعلاج الأمراض المعدية المحلية ، واستعمال مخاليط المضادات الحيوية التى ثبتت كفاءتها العلاجية .

اختبارات حساسية الميكروبات للكيميائيات العلاجية : Susceptibility tests

تختلف حساسية الميكروبات للكيميائيات العلاجية ، من نوع لآخر ، ومن سلالة لأخرى داخل نفس النوع , وبالإضافة إلى ذلك ، فإن حساسية الميكروب لمضاد ما ، قد تتغير ، خاصة أثناء العلاج . وكل ذلك يوضح أهمية معرفة سلوك الميكروب ، ومعرفة نوع المضاد الذى يؤثر عليه بكفاءة أثناء العلاج ، وهذا يستلزم إجراء إختبارات حساسية للميكروبات نحو الكيميائيات المستعملة ، ويفضل أيضا ، إجراء إختبارات الحساسية ، من وقت لآخر أثناء العلاج ، لمعرفة التغيرات التى تحدث فى حساسية الميكروبات بالنسبة للكيميائيات المستخدمة .

تجرى اختبارات الحساسية فى المعامل الميكروبيولوجية ، باستعمال طريقة أنابيب التخفيف Tube dilution technique ، أو بطريقة الأطباق والأقراص الورقية Paper-disk plate technique ، وتستعمل طريقة أنابيب التخفيف ، لتقدير أقل كمية (أقل تركيز) من المادة الكيميائية ، التى تكفى لإيقاف نمو الميكروب المختبر ، وتعرف هذه الكمية باسم أقل تركيز موقف للنمو Minimum inhibitory concentration, MIC .

وتستعمل طريقة الأطباق لتقدير حساسية الميكروبات للكيميائيات . وهى أكثر الطرق المستعملة فى هذا الغرض ، وفى هذه الطريقة ، توضع الأقراص الورقية ، (وهى ذات مساحة وسمك موحد) ، المشبعة بتركيزات مختلفة من الكيميائيات المختبرة ، على سطح طبق بيئة إختبار صلبة ، ملقحة بالميكروب . وبعد التحضين ، يلاحظ مناطق التضاد Zone of inhibition ، وهى المناطق الرائقة الخالية من النمو الميكروبى ، التى تكونت حول الأقراص. ووجود منطقة تضاد ، حول قرص ما ، يدل على أن نمو الميكروب فى هذه المنطقة قد توقف ، بسبب المضاد الذى إنساب من القرص ، وانتشر خلال الآجار . ويدل قطر منطقة التضاد ، بشكل تقريبى ، على مدى حساسية الميكروب للكيميائيات المختبرة .

ويمكن الربط بين قطر منطقة التضاد (مم) ، ونوع المضاد المؤثر ، وتقدير MIC ، للميكروب المختبر ، وذلك عند استعمال ظروف موحدة من حيث كمية المضاد بالقرص ، والبيئة المستعملة ، وحجم اللقاح ، وظروف التحضين ... الخ .

مراجع الباب الرابع References

Block, S.S. (ed.) 1983. Disinfiction Sterilization and Preservation. 3rd Ed. Lea & Febiger, Philadelphia. USA.

Egorov, N.S. (1985). Antibiotics, A Scientific Approach. Mir. Pub., Moscow

Frobisher, M. 1974. Fundamentals of Microbiology, Saunders Co., London.

Hugo, W.B. and A.D. Russell (eds.) 1977. Pharmaceutical Microbiology. Blackwell Scientific Publications, London.

Lannette, E.H.; E.H. Spaulding and J.P. Truant (eds.) 1994. Mannual of Clinical Microbiology, 2nd Ed. American Society for Microbiology, Washington D.C.

Pelczar, M.J.Jr. and E.C.S. Chan (1981). Elements of Microbiology. Mc Graw-Hill, Book Co. Inc., New York.

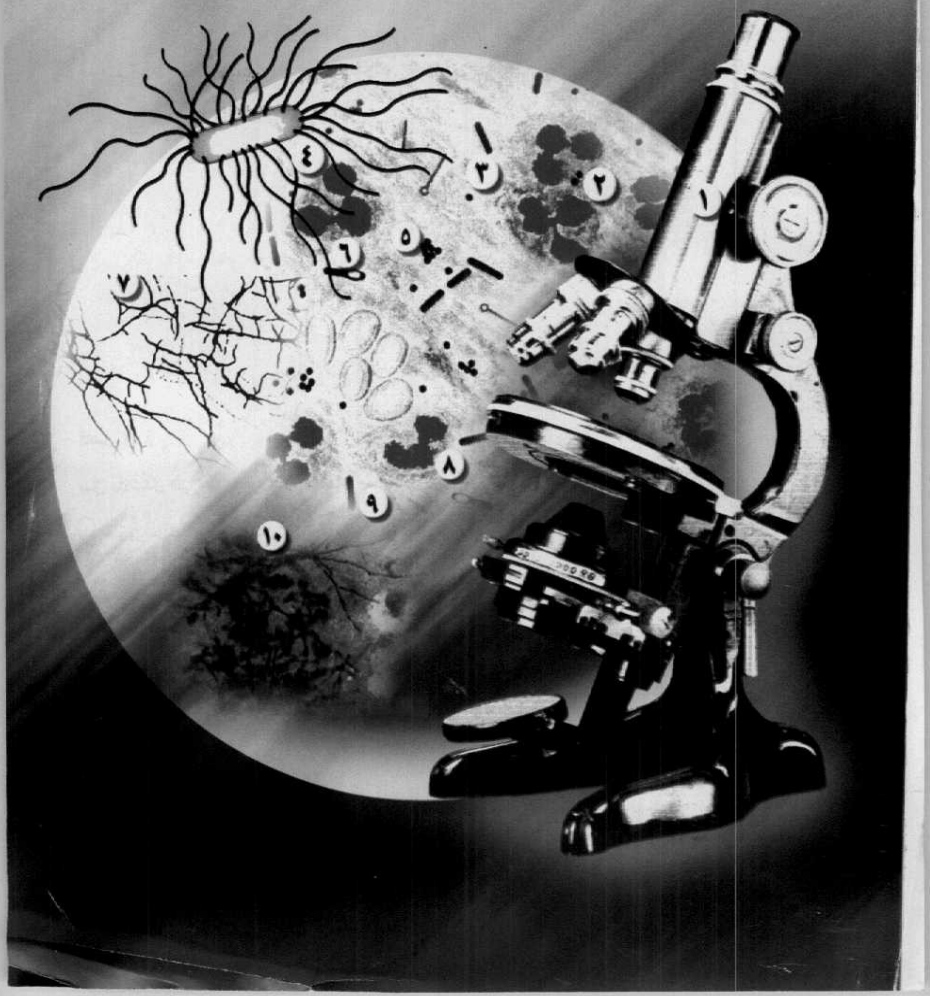
177

II

Bacteria

الجزء الثانى

البكتريـــــا



فاصل ٢

بيان بالأشكال التى على ظهر هذه الصفحة

(١) مجهر مركب ، (٢) بكتريا كروية فى أزواج داخل خلايا صديدية ، (٣) بكتريا عصوية متجرثمة كلوستريديوم
(٤) شكل تخطيطى لبكتريا ذات أسواط محيطية
(٥) بكتريا كروية ، (٦) بكتريا عصوية متجرثمة كلوستريديوم ، (٧) اكتينومايسيس
(٨) خلايا صديدية ، (٩) بكتريا عصوية
(١٠) أكتينومايسيس

﴿الباب الخامس﴾

الخلية البكتيرية وتركيبها

الموضوع	الصفحة
مقدمـــة	١٦٧
الفصل الأول : البكتريا ومظهرها الخارجى	من ١٦٧ الى ١٨٨
الفصل الثانى : تركيب الخلية البكتيرية ووظائف أجزائها	من ١٨٩ الى ٢٥٠
الفصل الثالث : المادة النووية البكتيرية	من ٢٥١ الى ٢٧١
الباب الرابع : التجرثم فى البكتريا	من ٢٧٣ الى ٢٩٤
مراجع الباب الخامس	٢٩٤

﴿الباب الخامس – الفصل الأول﴾

البكتريا ومظهرها الخارجى

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
تعريف البكتريا	١٦٧
تواجد البكتريا	١٦٨
الشكل المورفولوجى للبكتريا	١٦٨
حجم البكتريا	١٦٩
وزن الخلية البكتيرية	١٦٩
علاقة سطح الخلية البكتيرية بوزنها	١٧٠
أشكال البكتريا	١٧١
١- الشكل الكروى	١٧١
٢- الشكل العصوى	١٧١
٣- الشكل الحلزونى	١٧٢
٤- الشكل الخيطى	١٧٣

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
التغير فى شكل البكتريا	١٧٥
تجمع الخلايا البكتيرية	١٧٦
المستعمرة البكتيرية	١٧٩
حركة البكتريـــــا	١٧٩
أنواع حركة البكتريا	١٧٩
الأســـــواط	١٨١
طبيعة الأسواط	١٨١
تركيب الأسواط	١٨١
نمو الســـــوط	١٨٣
توزيع الأسواط	١٨٤
ميكانيكية الحركة بالأسواط	١٨٥
تأثر الحركة البكتيرية بالاستجابات التكتيكية	١٨٧
الاستجابة الكيميائية	١٨٧
الاستجابة الضوئية	١٨٨
الاستجابة الهوائية	١٨٨
الاستجابة المغناطيسية	١٨٨

﴿الباب الخامس﴾

الخلية البكتيرية وتركيبها
Bacterial Cell and Its Structure

مقدمـــة

من مميزات الخلية البكتيرية الهامة ، حجمها ، وشكلها ، وطرق تجمعـــها ، وتشـكل مجموعة هذه الصفات مايعرف بمورفولوجيا البكتريا ، وهى صفات لها أهميتها فى التعرف على البكتريا ، وفى تصنيفها .

وللخلية البكتيرية مكوناتها التركيبية التى تقع خارج جدارها ، أو تلك التى تقع بداخـــل جدارها ، وقد أمكن التوصل الى معرفة دقائق تلك المكونات بتقدم طـــرق الفحـــص المجـــهرى الضوئى والالكترونى وطرق الفحص المعملى .

وتختلف مكونات الخلية البكتيرية من نوع بكتيرى لآخر ، ليـــس فقـــط فـــى صفاتـــها الفيزيائية، بل وأيضا فى خواصها الكيميائية ، وخصائصها الوظيفية .

﴿الباب الخامس - الفصل الأول﴾
البكتريا ومظهرها الخارجى
Bacteria and Their Outer Appearances

تعريف البكتريا

تمثل البكتريا أبسط أنواع الكائنات الحية الخلوية ، وهى تضم مجموعـــة كبـــيرة مـــن المجهريات الواسعة الانتشار فى الكرة الأرضية ، حيث توجد فى كل مكان تقريبـــا ، ولايخلـــو منها إلا أماكن محدودة .

والبكتريا كائنات حية دقيقة ، تتميز بالصفات العامة التى تتميز بها الأحيـــاء جميعـــا ، وهى النمو والتكاثر والتنفس والتغذية والحركة والموت ، غير أن البكتريا وحيدة الخليـــة ، ذات حجم دقيق ، ولصغر حجمها فإنها لاترى بالعين المجردة ، حيث تحتاج لمشاهدتها إلـــى مجـــهر ضوئى ذو قوة تكبير عالية ، والبكتريا بدائية النواة Procaryota فنواتها غير محاطـــة بغشـــاء نووى ، وتتكاثر البكتريا عادة بالانقسام الثنائى البسيط Binary fission ، ولاتحتـــوى البكتريـــا على بلاستيدات خضراء ، وحتى الأنواع القليلة منها التى تحتوى على كلوروفيل بكتيرى ، فإنـــه لايوجد بداخل بلاستيدات خضراء .

ولصغر حجم البكتريا ، فإن إكتشافها وتقدم الدراسات الخاصة بها ، قد ارتبط بتطـــور المجاهر (الميكروسكوبات) بأنواعها المختلفة ، وبزيادة قدراتها التوضيحية .

تواجد البكتريا : Occurrence of bacteria

توجد البكتريا فى كل مكان تقريبا ، وهى بذلك تعتبر من أكثر الكائنات الحية إنتشارا فى الطبيعية ، فهى توجد فى التربة الزراعية بأعداد كبيرة تصل إلى عشرات الملايين فى الجرام الواحد من التربة ، وتزداد أعدادها فى الأراضى الخصبة عن غير الخصبة ، وفى الأراضى المنزرعة عن الأراضى البور ، وتكون أعدادها أكبر مايمكن فى الطبقات السطيحة من التربة وحول جذور النباتات ، وتقل مع العمق وفى المسافات الخالية بين النباتات .

وتوجد البكتريا فى الهواء من حولنا ، وتزداد أعدادها فى هواء الأماكن الملوثة ، وفى الأماكن المزدحمة ، وتقل أعدادها فى الأماكن جيدة التهوية النظيفة ، وعلى شواطىء البحر ، حيث تقل نسبة الأتربة المحملة بالميكروبات .

وتوجد البكتريا فى الغلاف الجوى المحيط بنا ، إلى ارتفاع يصل الى ٧ كيلومترات من سطح الأرض ، وفى مياه المحيطات حتى الطين بالقاع ، ويكون عدد البكتريا أكبر مايمكن بالقرب من سطح الأرض ، ويقل العدد مع الارتفاع بالجو ، ومع العمق بمياه المحيطات .

كما توجد البكتريا فى المياه العذبة والمالحة ، وفى مياه الينابيع الساخنة عند درجة ٧٥°م ، وفى الثلوج القطبية ، ويحتوى الماء الصالح للشرب على أقل من ١٠٠ خلية بكتيرية فى الواحد ملليلتر ماء ، وقد تخلومياه الآبار العميقة من الميكروبات ، حيث أن طبقات التربة التى تمر بها تلك المياه ، تعمل على ترشيح مابها من مواد عالقة وميكروبات ، أما المياه السطحية فإن محتواها الميكروبى يأتى من مصادر التلوث المختلفة التى تتعرض لها ، كمخلفات المجارى ، والتربة المحيطة ، ومن الهواء .

كما توجد البكتريا فىالأغذية والألبان ، ويحتوى اللبن الجيد غير المبستر على حوالى ٥٠ ألف خلية بكتيرية/مل . وتوجد البكتريا بأعداد وفيرة فى أمعاء الحيوان والانسان ، وبالتالى فإن مخلفات المجارى والمخلفات الحيوانية تحتوى على ملايين الملايين من البكتريا ، وقد يوجد من بينها أنواع ممرضة ، فربع براز الانسان عبارة عن ميكروبات

أما الأماكن التى لاتوجد فيها البكتريا فإنها قليلة جداً ومحددة ، وهى

- دم الانسان السليم ودم الحيوان السليم .
- الأنسجة النباتية والحيوانية السليمة .
- المواد القاتلة للبكتريا كالأحماض والقلويات .
- الأوانى والمواد المعقمة .
- فوهات البراكين النشطة .

الشكل المورفولوجى للبكتريا : Morphology of the bacterial cell

يتضمن دراسة الشكل المورفولوجى للخلية البكتيرية ، معرفة حجمها وشكلها وطريقة تجمعها وحركتها . وعموما فإن خلية البكتريا لاتختلف كثيرا من ناحية التركيب الخلوى عن خلايا الكائنات الأخرى وحيدة الخلية ، ولصغر حجم البكتريا المتناهى ، فتتم دراستها بالفحص

المجهرى بعد معاملتها بمعاملات خاصة مع استعمال الأصباغ البسيطة والمركبة (الصبغات التفريقية) ، حتى يمكن التعرف على أجزاء الخلية المختلفة ومكوناتها ، وتتم الدراسة فى تحضيرات جافة غير مصبوغة عند استعمال المجهر الالكترونى للتعرف على الأجزاء والمكونات الدقيقة الداخلية للخلية البكتيرية ، التى يصعب التعرف عليها بالمجهر الضوئى ، لكونها تقع خارج قدرته التوضيحية .

حجم البكتريا : Size of bacteria

الخلية البكتيرية ضئيلة الحجم ولذلك تقاس أبعادها بالميكرومتر (الميكرون) Micrometer, µm ، وهو يساوى ١ × ١٠$^{-٣}$ من المليمتر ، كما تقاس بالنانومتر (ملليميكرون) Micrometer, nm وهو يساوى ١ × ١٠$^{-٣}$ من الميكرومتر . وتؤخذ القياسات البكتيرية باستخدام المجهر الضوئى المركب ، بالاستعانة بمقياس العينية Ocular micrometer والشريحة الميكرومترية Stage micrometer .

يتراوح قطر أغلب الخلايا البكتيرية بين ١,٠ الى ٥,٠ ميكرومتر ، ومع هذا ، فهناك أنواع من البكتريا أصغر أو أكبر من هذه القياسات ، فمن البكتريا ماهو صغير جدا ويشاهد بصعوبة بالغة بالمجهر الضوئى المركب ، مثل البكتريا العصوية *Dialister pneumosintes* التى يتراوح طول خليتها بين ٠,١٥ إلى ٠,٢٠ ميكرومتر ، ومنها ماهو كبير نسبيا مثل البكتريا الحلزونية *Spirillum volutans* التى يصل طولها الى ١٥,٠ ميكرومتر وعرضها إلى ١,٥ ميكرومتر .

وعند أخذ قياسات البكتريا ، فإنه يجب أن نضع فى الاعتبار أن أغلب هذه القياسات يتم فى تحضيرات للبكتريا مثبتة ومصبوغة ، وتؤدى معاملات التثبيت والصبغ المستعملة فيها الحرارة إلى انكماش الخلية البكتيرية ، وبالتالى الى نقص فى حجمها بمقدار الثلث تقريبا ، إذا ماقورنت بالقياسات التى تتم على بكتريا حية فى نقطة معلقة .

ويلاحظ أيضا أن حجم الخلية البكتيرية يتأثر بعمر المزرعة ، فالخلايا الحديثة غالبا ماتكون أكبر حجما من الخلايا المسنة . ويعود السبب فى نقص حجم الخلايا بازدياد العمر ، الى زيادة الضغط الأسموزى فى المزرعة المسنة ، وإلى تجمع فضلات الايض الغذائى ومايصاحبه من تأثير ، ومن حدوث تغيرات بالبيئة النامية بها الخلايا .

وزن الخلية البكتيرية : Weight of bacteria

وزن الخلية البكتيرية فى منتهى الصغر ، وتحتوى الخلية فى المتوسط من ٧٠ إلى ٨٥% ماء ، وكثافتها النوعية تتراوح بين ١,٠٤ الى ١,١٠ ، وتزن الخلية الواحدة من البكتريا العصوية متوسطة الحجم ٢ × ١٠$^{-١٢}$ من الجرام ، ويعنى هذا أن جراما واحدا من مادة الخلايا الرطبة غير المجففة ، يحتوى على ٥٠٠ × ١٠^{٩} خلية ، ويحتوى الجرام الواحد من الخميرة الجافة على حوالى ١ × ١٠^{١١} خلية جافة .

علاقة سطح الخلية البكتيرية بوزنها : Bacterial surface to weight ratio

نظرا لصغر حجم الخلية البكتيرية ، فإن النسبة مابين سطح الخلية الى وزنها تكون كبيرة جدا ، وذلك مقارنة مع تلك النسب الموجودة فى الأحياء الأرقى . وهذه النسبة المتسعة بين السطح والوزن بالبكتريا ، تعتبر ميزة كبيرة للخلية البكتيرية من الناحية الايضية ، فالبكتريا تتغذى بالانتشار الغشائى ، وتخرج منها الفضلات بالانتشار الغشائى أيضا ، لذلك فإنه كلما زادت مساحة السطح ، كلما زاد نشاط ونمو البكتريا ، وهذا يفسر قدرة البكتريا على أن تستعمل ، أو تستهلك ، كميات كبيرة من العناصر الغذائية ، مما يجعل التغيرات التى تجريها البكتريا فى الوسط الذى تعيش فيه كبيرة ، وتتم فى فترة وجيزة .

وفى نفس الوقت فإن صغر حجم الخلية ، يجعل المسافة التى تنتقل فيها العناصر الغذائية بالخلية محدودا ، فلاتحتاج الخلية الى حركة السيتوبلازم . أو بذل جهدا أو طاقة كبيرة ، لإجراء عمليات دوران للمواد الغذائية ، كما يحدث فى الكائنات الأرقى .

ولتوضيح مدى الزيادة فى مساحة السطح بالنسبة للوزن ، كلما نقص الحجم ، نأخذ المثال التالى

نفرض أن لدينا مكعبا وزنه ٦ جرام ، وأبعاد أضلاعه هى ١ × ١ × ١ سم ، فتكون مساحة مسطح ذلك المكعب هى ٦ × ١ × ١ = ٦ سم^{٢} ، وتصبح نسبة مساحة السطح إلى الوزن

$$\frac{\text{مساحة السطح}}{\text{الوزن}} = \frac{٦}{٦} \text{ أى } = ١$$

فإذا قسمنا هذا المكعب الى ١٠٠٠ مكعب متساو ، طول ضلع كل منها ٠,١ سم ،

فتصبح مساحة أسطح المكعبات الصغيرة الناتجة =

= ٦ × (٠,١ × ٠,١) × ١٠٠٠ = ٦٠ سم^{٣}

$$\text{وتكون النسبة مابين مساحة السطح / الوزن} = \frac{٦٠}{٦} = ١٠$$

وهكذا ، فكلما زدنا من تقسيم المكعبات ، كلما زادت النسبة مابين مساحة السطح الى الوزن .

وبالمقارنة مع الخلايا الحية ، نجد أن نسبة مساحة السطح الى الوزن ، كما يلى

فى بكتريا *E. coli* = ٥٠ ألف
وفى بروتوزوا الأميبا = ٤٠٠
أما فى الانسان فإن هذه النسبة = ٠,٢٤

أى أن نسبة مساحة السطح / الوزن فى الخلية البكتيرية ، أكبر بحوالى ٢٠٠ ألف مرة من النسبة فى حالة الانسان .

إن كمية المادة المستهلكة بواسطة الخلية البكتيرية الواحدة ، صغيرة جدا بطبيعة الحال ولكن إذا ماارتبط ذلك بمساحة سطح الخلية ووزنها ، فإننا نلاحظ أن نسبة مساحة السطح المرتفعة الى وزن الخلية البكتيرية ، تؤدى الى حدوث زيادة كبيرة فى إستهلاك البكتريا للمواد الغذائية بالنسبة الى وزنها ، فعلى سبيل المثال ، فإن البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز ، تستطيع أن تستهلك كمية من اللاكتوز تتراوح بين ألف الى ١٠ آلاف مرة ضعف وزنها فى خلال ساعة واحدة من الزمن ، بينما يحتاج الانسان إلى ٢٥٠ ألف ساعة (أى حوالى ٢٩ سنة) لاستهلاك ألف ضعف وزنه من اللاكتوز .

لذلك فان العلاقة ذات النسبة المتسعة مابين سطح الخلية البكتيرية إلى وزنها ، يجب أن توضع فى الإعتبار عند تقدير نشاط البكتريا ، إذ أنه كلما صغرت الخلية ، كلما كبرت مساحة سطحها بالنسبة لوزنها ، وبالتالى كلما زاد نشاطها الحيوى ، ومعدل إمتصاصها ، وزادت سرعتها فى إحداث التغيرات الكيميائية بالوسط .

أشكال البكتريا : Shape of bacteria

تتميز أغلب أنواع البكتريا بوجود جدار صلب يعطى للخلية شكلها المميز . والبكتريا الحقيقية True bacteria ذات شكل بسيط ، ولخلاياها ثلاثة أشكال رئيسية [شكل ٥ (١) – ١] ، هى

١ – الشكل الكروى Spherical ، واسمه العلمى Coccus (والجمع Cocci) .

والبكتريا الكروية قد تكون مستديرة كما فى جنس *Micrococcus* & *Staphylococcus* ، أو لاتكون كاملة الاستدارة فتأخذ الشكل البيضى Oval كما فى جنس *Rhodomicrobium* ، أو كروية عصوية Coccobacilli كما فى جنس *Moraxella* ، أو كلوية الشكل Kidney shape كما فى جنس *Neisseria* ، أو أهليجية الشكل Ellipsoidal كما فى جنس *Desulfobacter* .

البكتريا الكروية عادة مايكون طولها مساو لعرضها ، وتتميز أنواع البكتريا الكروية عن بعضها بنظام تجمعها نتيجة لطريقة انقسامها ، كما يميز بينها بقابليتها للصبغ بطريقة جرام فأغلبها موجب لصبغة جرام ويأخذ اللون القرمزى مثل جنس *Staphylococcus* ، وقليل منها سالب لصبغة جرام ويأخذ اللون الوردى مثل جنس *Neisseria* & *Azotobacter* .

٢ – الشكل العصوى : Cylinder ; Rod-shaped ، وأسمه العلمى Bacillus (والجمع Bacilli) .

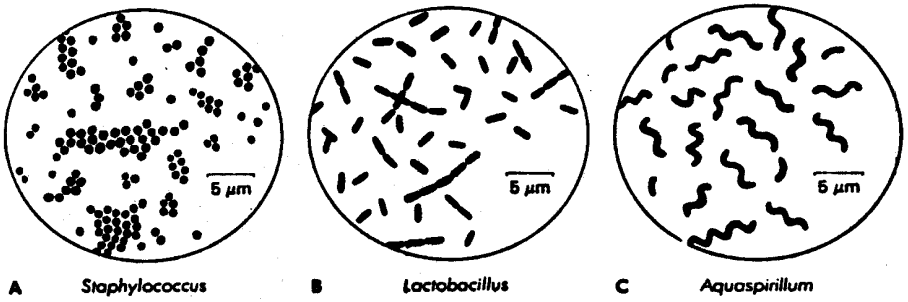
البكتريا العصوية لها طول وعرض ، ولذلك فهى تقسم الى

أ – عصوى قصير Short rods ، حيث يقرب طولها من عرضها ، مثل جنس *Escherichia* .

ب – عصوى طويل Long rods وهنا يبلغ طول الخلية من ٣ إلى ١٠ أضعاف عرضها ، مثل جنس *Bacillus* & *Lactobacillus* .

وقد يكون طرف خليـــة البكتريـــا العصويـــة مســـتويا Square cut ، أو مســـتديرا Rounded ، أو على شكل عصا الطبلة Club-shaped .

وقد تكون الخلية العصوية مســـتقيمة Straight ، أو مقوســـة أو منحنيـــة Curved ، مفردة Single ، أو فى سلاسل Chains ، ومنها المتجرثم، وغير المتجرثم ، ومنـــها الموجـــب والسالب لصبغة جرام



شكل ٥ (١) - ١ . الأشكال الرئيسية للبكتريا

A) كروى ، مفرد أو فى تجمعات أو فى عناقيـــد
B) عصوى ، مفرد أو فى سلاسل
C) حلزونـــــى

٣- الشكل الحلزونى : Spiral ، واسمه العلمى Spirillum (والجمع Spirilla) للبكتريا الحلزونية شكلين

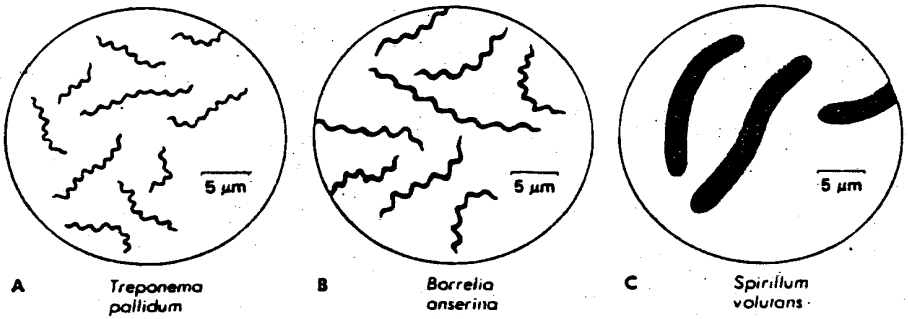
أ - الشكل الواوى Comma-shape ، وفى هذا الشكل تكون الخلية منحنيـــة Curved انحنـــاءه واحدة ، ويأخذ الانحناء أقل من لفة كاملة ، فتظهر الخلية على شكل حرف واو أو الضمة ، ومن أمثلة الشكل الواوى ، بكتريا الكوليرا *Vibrio cholerae* .

ب - الشكل البريمى كنازعة سدادة الفلين Cork-screw shape ، وفى هذا الشكل تكون الخليـــة منحنية بعدة إنحناءات ، وتأخذ الخلية شكل البريمة ، ومن أمثلتها جنس *Aquaspirillum*.

البكتريا الحلزونية الحقيقية (أ ، ب السابقة) ذات جدار صلب ، لذلك فإن خلاياها غـــير مرنة ، وهى مفردة ، سالبة لصبغة جرام ، وأعضاء الحركة هى الأسواط ، توجد فى البكتريـــا الواوية على قطب واحد من أقطاب الخلية ، فى حين توجد الأسواط فى البكتريا البريمية ، علـــى كلا القطبين بالخلية .

ومن حيث الشكل ، فإنه يضاف للبكتريا الحلزونية مجموعة ثالثة ، هي مجموعة الاسبيروكيتات Spirochaetes ، وهى بكتريا راقية (*) ، جدارها مرن ، بريمية الشكل ، أى أن خلاياها تحتوى على عدة إنحناءات ، والحركة بدون أسواط .

يختلف طول خلايا السبيروكيتا بإختلاف الأنواع ، ومن أمثلتها بكتريا *Treponema pallidum* [شكل ٥ (١) - ٢] .



شكل ٥ (١) - ٢ : بكتريا حلزونية

A,B : سبيروكيتات : وهى بكتريا راقية لخلايا مرنة

لاحظ الفرق بين نوعى *Treponema & Borrelia* من حيث سمك الخلية ، وعدد انثناءاتها

C : حلزونيات ، وهى بكتريا حقيقية ، خلاياها ذات جدار صلب

الشكل الخيطى : Filaments

يوجد هذا الشكل فيما يعرف بالبكتريا الراقية Higher bacteria* . ومن البكتريا ذات الشكل الخيطى

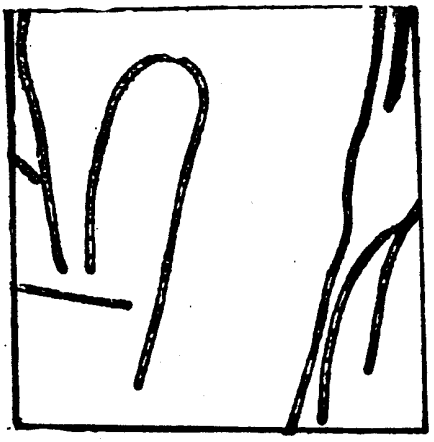
(*) بكتريا راقية Higher bacteria ، هى أنواع من البكتريا ، تجمع فى أشكالها وبعض صفاتها بين أنواع البكتريا الحقيقية كالكولاى ، وبين صفات بعض الكائنات الأخرى الأكثر رقياً ، كالفطريات والطحالب والبروتوزوا .

١- البكتريا الشبيهة بالفطر

تقع هذه البكتريا فى مجموعة الأكتينومايسيتات ، وتكوّن خلايا هذه البكتريا خيوطا (هيفاتا) متفرعة تشبه هيفات الفطر ، ولكن سمك خيوط هذه البكتريا رفيع جدا مقارنة بسمك هيفات الفطر ، حيث تماثل فى سمكها سمك خلية البكتريا ، كما أن بعضها يكون جراثيما لاجنسية يختلف نوعها من جنس لآخر ، ومن أمثلة هذه البكتريا ، تلك التابعة لجنس *Streptomyces* ، الذى تكون أفراده خيوطا متفرعة تحمل جراثيم كونيدية على أطراف الهيفات الهوائية .

٢- البكتريا المغلفة : Sheathed bacteria

تتميز هذه البكتريا بأنها تكون غلافا Sheath يحيط بسلسلة الخلايا أو بالترايكوم (*) ، معطيا لها المظهر الخيطى ، ويساعد الغلاف البكتريا على الالتصاق بالأسطح الصلبة ، وذلك كما فى أجناس *Leptothrix & Sphaerotilus* شكل [٥ (١) - ٣] .



شكل ٥ (١) - ٣ : ترايكومات بكتريا *Saprospira grandis* يتكون الترايكوم من خلايا اسطوانية ، طول الخلية من ١-٥ ميكرومتر ، والخلايا شديدة الالتصاق ببعضها ومكونة لسلسلة (× ١٦٥٠) .

٣- البكتريا التابعة لرتبة Beggiatoales

تكون هذه البكتريا سلاسل طويلة من الخلايا المتصلة ببعضها اتصالا وثيقا ، مكونة للخيط ، بحيث يظهر خيط الخلايا فى شكل ترايكوم .

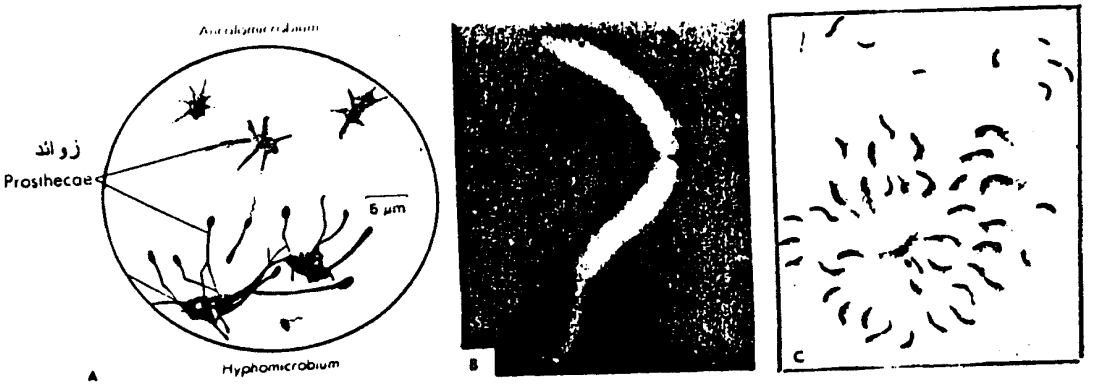
البكتريا ذات الزوائد : Bacteria with appendages

بالإضافة إلى الأشكال البكتيرية السابقة ، فإن بعض الأنواع البكتيرية تأخذ أشكالا خاصة ، مثالاً على ذلك البكتريا ذات الزوائد ، التى تعطى للخلايا شكلا مميزا .

(*) الترايكوم Trichome سلسلة طويلة من الخلايا الثالوسية غير المتمايزة ، المتصلة ببعضها اتصالاً وثيقاً ، أقوى مما بين الخلايا العصوية المكونة للسلاسل ، وبمساحات اتصال بين الخلايا كبير .

تكون هذه البكتريا زوائد Prosthecae ; ;Appendages ، وهذه الزوائد عبارة عن إمتدادات خيطية نصف صلبة تمتد من جدار الخلية أو من غشائها السيتوبلازمى ، تساعد على لصق البكتريا بالسطوح أو إمتصاص المواد الغذائية .

فقد تكون بالبكتريا زائدة واحدة كما فى جنس *Caulobacter* ، أو تكون بالبكتريا أكثر من زائدة كما فى جنس *Ancalomicrobium* [شكل ٥ (١) - ٤] .



شكل ٥ (١) - ٤ :

A - بكتريا *Hyphomicrobium* متبرعمة ، وذات زوائد ، بالخلية أكثر من زائدة .

B - بكتريا *Caulobacter* فى حالة انقسام ثنائى ، والخلية السفلى ذات زائدة واحدة Prostheca وتنتهى الزائدة بمثبت Hold fast (× ١٣٠٠٠) يلصق الخلية بالأسطح الصلبة .

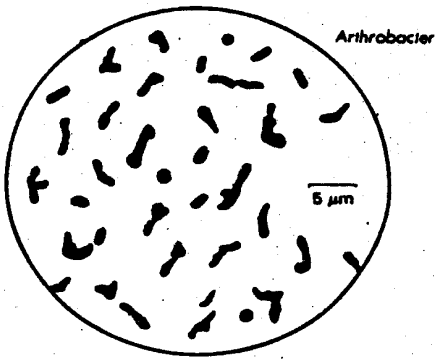
C - خلايا *Caulobacter* ذات مثبت مشترك ، وتكون تجمعا فى شكل وردة .

التغير فى شكل البكتريا : Pleomorphism in bacterial shape

خلايا البكتريا الحقيقية الحديثة العمر النشطة ، لها شكل مميز ثابت ، وذلك عندما تزرع فى بيئة وتحت ظروف مناسبة ، ولكن عند تغير الظروف البيئية فإن شكل البكتريا يتغير ، فيأخذ أشكالا غير منتظمة مثل الشكل الخيطى ، أو تحدث إستطالة فى الخلية ، أو انتفاخ بها ، أو تظهر الخلايا متفرعة ، لذلك فإنه عند وصف نوع من الأنواع البكتيرية ، فإنه يجب أن تثبت الظروف المحيطة بنموه ، حيث أن تغير هذه الظروف يغير من شكل وصفات البكتريا النامية ، كما يجب أن يكون الوصف لبكتريا حديثة العمر ، أى مأخوذة من مزارع حديثة ، وعمرها أقل من ٢٤ ساعة ، لأن الخلايا الحديثة العمر تحتفظ بشكلها وبصفاتها عن البكتريا المسنة .

يلاحظ التغير فى الشكل فى بعض أنواع البكتريا ، مثل *Arthrobacter globiformis* التى تظهر عصوية عندما تكون الظروف البيئية مناسبة ، ولكن فى المزارع المسنة التى نفذت منها المواد الغذائية أو تعرضت للجفاف ، فإن الخلايا تصبح ذات أشكال متغايرة وتعرف هذه البكتريا بأنها بكتريا متغايرة الشكل Pleomorphic bacteria [شكل ٥ (١) – ٥] .

إضافة إلى ذلك فإن بعض أنواع البكتريا تظهر تغيرا فى شكلها كصفة وراثية ، عندما تمر بمرحلة من مراحل دورة حياتها ، وذلك كما يحدث فى طور البكتيروويد لبكتريا الرايزوبيا أثناء معيشتها بالعقد الجذرية ، حيث تأخذ الخلايا البكتيرية أشكال حروف الهجاء TLYXV بدلا من الشكل العصوى .



شكل ٥ (١) – ٥ : بكتريا *Arthrobacter* متغايرة الأشكال

تجمع الخلايا البكتيرية

عندما تنقسم الخلية البكتيرية ، فإن الخليتين الناتجتين من الانقسام ، إما أن ينفصلا عن بعضهما أو تبقيا ملتصقتين ، فالخلايا التى لها طبقة هلامية تامة النمو أو غلاف ، فإنها تميل إلى الالتصاق ببعضها ، أما الخلايا ذات الغلاف الرقيق فإنها تبقى عادة منفردة .

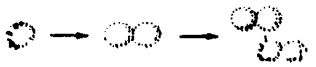
وتجمعات الخلايا البكتيرية المتكونة نتيجة الانقسام ، تكون ثابتة ومتماثلة فى كثير من الأنواع ، لدرجة أن نظام تجمع الخلايا البكتيرية يستعمل كدليل له أهميته ، لتمييز الأنواع عن بعضها ، ورغم وجود خلية البكتريا فى تجمع ، إلا أن كل خلية داخل التجمع ، تعمل ككائن مستقل .

أشكال التجمعات : Types of arrangement

أ- الخلايا الكروية

تنقسم الخلية الكروية فى مستويات مختلفة ، تعتمد على النوع أو الجنس ، مما يعطى للخلايا الكروية نظما مختلفة من التجمعات [شكل ٥ (١) – ٦] ، هى

A. Diplococci

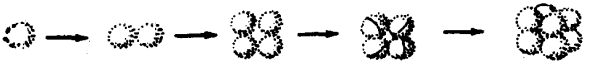


B. Streptococci

C. Tetrads

D. Staphylococci

E. Sarcinae



شكل ٥ (١) – ٦ : أشكال توضيحية لنظم تجمعات الخلايا البكتيرية الكروية ، مع توضيح لنظام التكاثر

A – تجمع فى أزواج Diplococci
B – تجمع فى سلاسل Streptococci
C – تجمع فى رباعيات Tetrads
D – تجمع فى عناقيد Staphylococci
E – تجمع فى مكعبات Sarcinae

١– تجمع الكرويات فى أزواج Pairs, Diplococci

يحدث هذا النظام من التجمع عندما تنقسم الخلية الكروية على أحد المحاور إلى خليتين ، وتظل الخليتين ملتصقتين ببعضهما ، وعند الانقسام التالى تنفصل كل خليتين مع بعضهما ، فتظهر الخلايا فى أزواج ، وتكون الخلايا عند مكان الاتصال مفلطحة Flattened أو منحنية قليلا على شكل الكلية ، ومن أمثلة البكتريا الكروية التى توجد فى أزواج *Neisseria meningitidis & Streptococcus pneumoniae* .

٢– تجمع الكرويات فى شكل السلسلة أو السبحة : Chain, Streptococci

يحدث ذلك التجمع ، إذا إنقسمت الخلية الكروية على محور واحد ، مع استمرار الانقسام فى نفس هذا المحور ، وتبقى الخلايا متصلة ببعضها مكونة لسلسلة Chain ، أو سبحة، أو خيط .

يعتبر طول السلسلة من الصفات المميزة للنوع ، فقد يكون التجمع فى سلسلة قصيرة كما فى بكتريا *Lactococcus lactis* ، أو فى سلسلة طويلة كما فى بكتريا *Streptococcus agalactiae* .

٣- تجمع الكرويات فى رباعيات : Tetrads, Tetracocci

يحدث ذلك التجمع إذا إنقسمت الخلية الكروية فى محور واحد الى خليتين ، وهذان ينقسمان بدورهما فى الانقسام التالى فى محور عمودى على المحور السابق ، فتتكون مجموعة من أربعة خلايا Tetrad مكونة لتجمع رباعى Tetracoccus ، وذلك كما فى بكتريا *Pediococcus* .

٤- تجمع الكرويات فى مكعبات : Cubic , Sarcinae

يحدث ذلك التجمع إذا انقسمت الخلية الكروية فى محاور مختلفة ، فتنقسم الخلية فى الانقسام الأول إلى خليتين ، وتنقسم الخلايا فى الانقسام الثانى فى محور عمودى على المحور السابق ، وفى الانقسام الثالث ، تنقسم الخلايا عموديا على المحورين السابقين ، وبذلك يتكون تجمعا من ثمانى خلايا كروية على شكل مكعب Cubic packet ، كما فى جنس *Sarcina* .

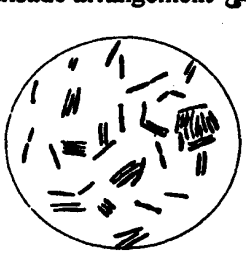
٥- تجمع الكرويات فى عناقيد : Cluster, Staphylococci

يحدث ذلك التجمع عندما تنقسم الخلية الكروية فى محاور مختلفة ، فيتكون تجمعا من الخلايا يشبه عنقود العنب ، مثل بكتريا *Staphylococcus aureus* .

ب - الخلايا العصوية

تنقسم الخلايا العصوية فى مستوى واحد فقط ، وهو المستوى العمودى على المحور الطولى للخلية . والخلايا الناتجة من الانقسام ، قد تبقى منفردة ، كما فى *Escherichia coli* ، أو تتصل فتكون أزواجا Diplobacillus ، أو تكون سلسلة من الخلايا كما فى *Bacillus subtilis* ، أو تكون خيوط كما فى جنس *Nocardia* .

قد تتجمع الخلايا العصوية الناتجة من الانقسام فى شكل متوازى وفى زوايا حادة ، مكونة شكل الحروف الصينية كما فى بكتريا *Corynebacterium diphtheriae* [شكل ٥ (١) - ٧] ويعرف هذا التجمع ، بالتجمع السياجى* Palisade arrangement .



شكل ٥ (١) - ٧ :
خلايا بكتريا *Corynebacterium* ،
عصوية الشكل وفى تجمع سياجى
Palisade arrangement*
× ١٠٠٠

* انظر تذييل ص ٤١٠

المستعمرة البكتيرية : Bacterial colony

إذا نمت خلية بكتيرية فى بيئة صلبة أو نصف صلبة ، فإنها تكون مجموعة من الخلايا البكتيرية تسمى مستعمرة Colony . وتمثل المستعمرة كتلة من الخلايا البكتيرية المنفردة ، عددها ملايين الملايين من الخلايا ، ويمكن رؤيتها بالعين المجردة ، وتسمى المستعمرة بمستعمرة سطحية Surface colony ، إذا ماوجدت المستعمرة على سطح البيئة ، أما إذا كانت المستعمرة تقع بداخل الاجار ، فإنها تسمى مستعمرة تحت سطحية Subsurface أو مستعمرة متعمقة deep colony ، والمستعمرات المتعمقة خلاياها أكثر إندماجاً من خلايا المزرعة السطحية .

قد تنشأ المستعمرة من خلية بكتيرية واحدة ، أو من جرثومة بكتيرية واحدة ، أو من مجموعة من الخلايا البكتيرية . وغالبا فإن كل نوع من البكتريا ، يكون مستعمراتاً ذات شكل وتركيب وخصائص [1] ، [2] خاصة بها ، وتحت ظروف بيئية متشابهة ، فإن مستعمرات النوع الواحد من البكتريا ، تكون متماثلة فى الشكل والتركيب والصفات ، وهذا يساعد على تمييز أنواع البكتريا عن بعضها البعض واضعين فى الاعتبار ، بأنه اذا ماتغيرت ظروف النمو البيئية ، فقد تتأثر صفات المستعمرة البكتيرية النامية .

حركة البكتريا : Bacterial motility

بعض أنواع البكتريا ، مثل معظم الأنواع العصوية والحلزونية ، قادرة على الحركة ، بينما نجد أن معظم الأنواع الكروية غير متحركة .

وتنتقل البكتريا المتحركة بقوتها الذاتية من موقع لآخر ، أى أنها تتحرك حركة حقيقية وفى ذلك فإن حركة البكتريا تختلف عن حركة الأجسام الصغيرة المسماه بالحركة البراونية ، التى تحدث نتيجة تصادم الجزيئات الدقيقة الموجودة فى المحلول ببعضها ، أو بتأثير التيارات التى تتولد فى السائل .

أنواع حركة البكتريا

تتم حركة البكتريا بوسائل متعددة منها

* الحركة السابحة Swimming motility

تعتبر هذه الوسيلة ، هى الوسيلة الرئيسية لحركة أنواع البكتريا الحقيقية التى توجد بالسوائل ، وتتم هذه الحركة بتركيبات خاصة توجد بالخلية البكتيرية تسمى أسواط Flagella (ومفردها سوط Flagellum) ، وتوجد الأسواط بكثرة فى البكتريا العصوية والحلزونية ، وبقلة فى

---

(١) خصائص المستعمرة البكتيرية Colony characteristics ، هى مجموعة من الصفات التى تميز المستعمرات البكتيرية عن بعضها ، وتشمل هذه الصفات شكل وحجم وارتفاع وتركيب وقوام ولون ورائحة المستعمرة البكتيرية ، النامية بالأطباق على بيئة صلبة .

(٢) أنظر المستعمرات المندفعة ص ١٨٨ .

البكتريا الكروية ، ويمكن مشاهدة هذه الحركة فى تحضيرات النقطة المعلقة[1] Hanging drop technique .

* **الحركة الزاحفة : Gliding motility**

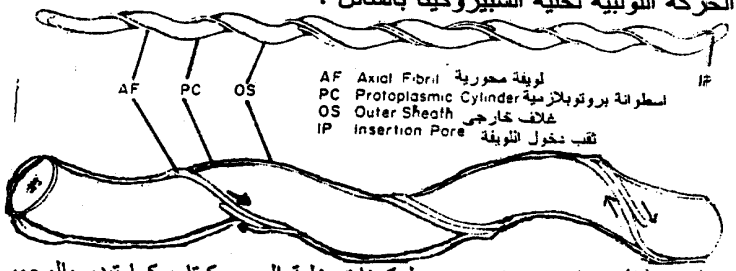
يوجد هذا النوع من التحرك فى البكتريا الخالية من الأسواط ، مثل بكتريا السيانوبكتريا وبكتريا السايتوفاجا والبكتريا اللزجة . وتتم هذه الحركة زحفا على الأسطح الصلبة ، وتتحرك البكتريا نتيجة إفراز الخلية لمواد لزجة عديدة التسكر فى الاتجاه الأمامى للخلية يجعلها تنقبض على السطح الموجودة عليه ، محدثة تموجات وتذبذبات فى جسم الخلية البكتيرية نفسها ، فتندفع للأمام .

والحركة الزاحفة حركة بطيئة إذا ماقورنت بالحركة السابحة أو الحركة اللولبية ، فهى لاتزيد عن بضعة ميكرومترات فى الثانية (من ٢ الى ٥ ميكرومتر/ثانية) .

* **الحركة اللولبية (البريمية) : Rotatory motility**

توجد هذه الحركة فى بكتريا السبيروكيتا Spirochaetes ، وهى بكتريا حلزونية ، جدارها مرن ، وخالية من الأسواط الخارجية ، وتتم هذه الحركة البريمية فى السوائل ، وذلك بواسطة لويفات محورية Axial fibrils ، والتى قد تسمى أيضا بالأسواط البريبلازمية Periplasmic flagella ، أو بالأسواط الداخلية Endoflagella ، لوجودها بداخل الخلية فى البريبلازم .

تقع هذه اللويفات فى الفراغ البريبلازمى للخلية ، [شكل ٥ (١) – ٨] أى بين الغشاء الخارجى المرن لجدار خلية السبيروكيتا ، وبين الغشاء السيتوبلازمى ، وتلتف اللويفة حول البروتوبلاست ، وتتشابه فى تركيبها ، مع تركيب أسواط البكتريا الحقيقية ، من حيث وجود الجسم القاعدى Basal body والحلقات Rings ، ويؤدى التواءات هذه اللويفات ، إلى حدوث الحركة اللولبية لخلية السبيروكيتا بالسائل .



شكل ٥ (١) – ٨: رسم توضيحى لمكونات خلية السبيروكيتا ، كما تبدو بالمجهر الالكترونى .

---

[1] تقنية النقطة المعلقة Hanging drop technique

طريقة معملية تستخدم لفحص حركة البكتريا الحية الموجودة فى مزرعة سائلة ، باستخدام شريحة زجاجية ذات تجويف

الأسواط ، الفلاجلات : Flagella (المفرد Flagellum)

الأسواط هى وسيلة الحركة السابحة ، للبكتريا الحقيقية (أى البكتريا ذات الجدار الصلب) الموجودة بالسوائل ، كما أن الأسواط وسيلة الحركة أيضا فى كثير من الكائنات الدقيقة حقيقية النواة مثل البروتوزوا السوطية ، وبعض الجراثيم الفطرية المتحركة ، وعدد من الطحالب مثل الكلاميدوموناس .

ويمكن مشاهدة الأسواط البكتيرية بالمجهر الالكترونى ، أو بالمجهر الضوئى مع استخدام طرق خاصة بالصبغ ، تتضمن ترسيب مادة شفافة على الأسواط ، تزيد من سمكها بدرجة تسمح برؤيتها بعد الصبغ ، وعادة مايستعمل لذلك الغرض مرسخ كحامض التانيك مع بعض الأملاح المعدنية .

ورغم أن الأسواط وسيلة الحركة بالبكتريا ، كما أنها ميزة من مميزات النوع ، إلا أنها ليست ضرورية لحياة البكتريا أو لتكاثرها ، فيؤدى فقدها الى توقف الحركة ، دون أن يتأثر النمو .

طبيعة الأسواط

الأسواط عبارة عن خيوط رقيقة ورفيعة جدا ، تنشأ من داخل الخلية البكتيرية ، من جسيم حبيبى دقيق ، يسمى بليفاروبلاست Blepharoplast ، قطره حوالى ٠,٢ ميكرومتر ، ويقع مابين الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى ، ويمتد السوط من داخل الخلية المكونة له ، ويمر فى الجدار ويبرز إلى خارج الخلية .

وسمك الأسواط البكتيرية أرفع بكثير من سمك أسواط خلايا حقيقيات النواة ، كما أنها أبسط منها فى التركيب ، ويتراوح سمك الأسواط البكتيرية مابين ٠,٠١ إلى ٠,٠٢ ميكرومتر ، أما أطوالها فإنها تكون أطول عدة مرات من طول الخلية الخارجة منها ، وعادة مايتراوح طول السوط مابين ٦ إلى ٢٠ ميكرومتر ، وقد يصل طول السوط فى بعض أنواع البكتريا الحلزونية إلى ٩٠ ميكرومتر .

وأوضحت التحضيرات الحية ، أن الأسواط نادرا ماتكون مستقيمة ، بل هى عادة حلزونية أو ملتوية ، ويختلف شكل وطول الالتفافات من نوع لآخر ، ولكنها صفات ثابتة بالنسبة لأفراد النوع الواحد .

تركيب الأسواط :

يختلف تركيب أسواط البكتريا اختلافا بينا عن تركيب أسواط خلايا حقيقيات النواة . فأسواط حقيقيات النواه أكثر سمكا ، وأكثر تعقيدا فى التركيب ، إذ يتكون سوط حقيقيات النواة من مجموعة من اللويفات الدقيقة (أنيبات Microtubules ، هى عبارة عن زوج لويفات بالوسط ، يحيط به تسعة أزواج ، والجميع محاط بغشاء ، هو إمتداد للغشاء السيتوبلازمى للخلية) .

أما أسواط البكتريا ، فإنها أرفع كثيرا ، ويتكون السوط من ثلاث لويفات دقيقة ، وقد يزيد عن ذلك قليلا في بعض أنواع البكتريا ، وتلتوى اللويفات أو تلتف معا لتكون حلزون حول مركز أجوف ، يكون قناة مفتوحة خلال طول السوط ؛ وليس لأسواط البكتريا غلاف خارجى ، وإن كان قد يحاط السوط فى بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة جرام ، بغلاف ، هو إمتداد من الغلاف الخارجى (الجدار الخلوى) للخلية .

تتركب أسواط البكتريا من بروتين ليفى ، ذو وزن جزيئى منخفض (حوالى ٤٠ ألف دالتون) ، يسمى فلاجيللين Flagellin ، ويختلف الفلاجيللين فى مكوناته حسب النوع أو السلالة البكتيرية ، كما أن فلاجيللين الأسواط ، يختلف فى التركيب عن بروتين الخلية البكتيرية العادى فى إحتواء فلاجيللين الأسواط على كميات أقل من الأحماض الأمينية الكبريتية (مثل السيستين) والأحماض الأمينية الحلقية (مثل التربتوفان) ، وفى إحتوائه على نسبة عالية من حامض الاسبارتيك وحامض الجلوتاميك .

وللأسواط البكتيرية خواص أنتجينية كما ظهر من الدراسات المناعية ، ويطلق على أنتجين الأسواط H-antigen (*) ، ويطلق على أنتجين جسم الخلية O-antigen (*)، وتستخدم هذه الخواص الأنتجينية فى التمييز السيرولوجى بين السلالات البكتيرية التابعة للنوع الواحد ، مثل سلالات بكتريا *Salmonella typhi* .

مكونات السوط

يتكون سوط البكتريا من ثلاثة أجزاء [شكل ٥ (١) - ٩] .

أ - الجسم القاعدى : Basal body

يربط الجسم القاعدى خيط السوط والخطاف بالغشاء السيتوبلازمى للخلية ، والجسم القاعدى بروتينى التركيب ويختلف فى تركيبه عن تركيب الفلاجيللين ، ويتكون الجسم القاعدى فى البكتريا السالبة لصبغة جرام ، من زوجين من الحلقات Two pairs of Rings ، يتصلان بساق Stem ، ويقع زوج الحلقات الخارجى (L & P) قرب الجدار الخلوى للخلية ، بينما يقع زوج الحلقات الداخلى (S & M) قرب الغشاء السيتوبلازمى ، ويتركب الجسم القاعدى فى

(*) **H & O-antigens**

- يشير رمز **H** الى المصطلح الألمانى **Hauch** الذى يعنى ضباب ، مشيرا الى أن للبكتريا أسواطا ، تتحرك بها فوق سطح البيئة الصلبة مكونة غشاء رقيقا كالضباب .

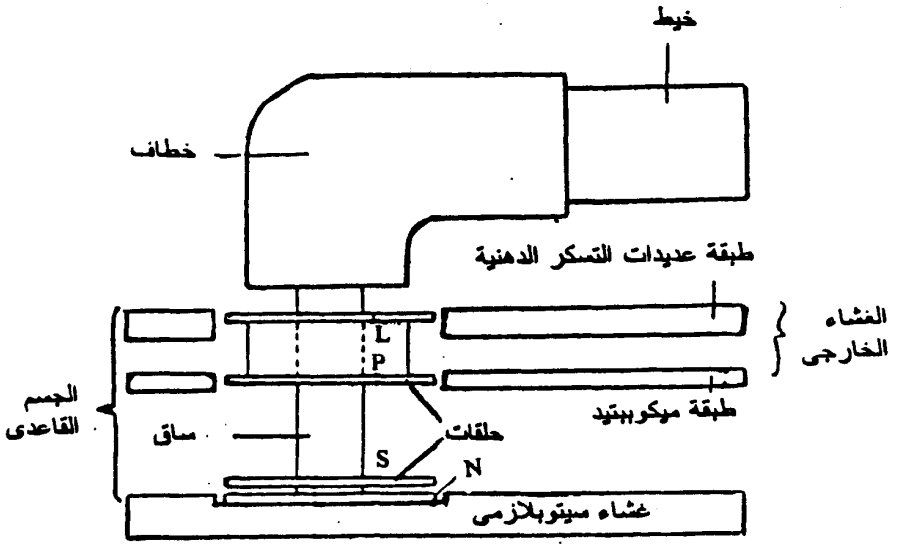
ويعنى H-antigen أن الأنتجين ينتج من أسواط الخلية البكتيرية .

- ويشير رمز **O** إلى المصطلح الألمانى **Ohne hauch** الذى يعنى بدون ضباب ، مشيرا إلى أن البكتريا غير متحركة ، وبالتالى لاتكون غشاءا رقيقا كالضباب على سطح البيئة الصلبة .

ويعنى **O-antigen** أن الأنتجين ينتج من جسم الخلية البكتيرية وليس من اسواطها ، لأنها بدون أسواط .

- بعض الأنواع البكتيرية المتحركة كالتابعة لجنس اشريشيا وسالمونيلا ، تفتح النوعين من الانتجينات : H من الأسواط و O من جسم الخلية .

البكتريا الموجبة لصبغة جرام من زوج واحد من الحلقات . ويمثل الجسم القاعدى القوة المحركة للسوط ، إذ تعمل زوج الحلقات الداخلية على تحريك السوط .



شكل ٥ (١) - ٩ : رسم تخطيطى يبين تركيب السوط فى بكتريا *E coli* .

ب - الخطاف (الماسك) : Hook

الخطاف بروتينى التركيب منحنى الشكل ، يربط الجسم القاعدى بخيط السوط .

جـ - خيط السوط : Flament

الخيط حلزونى الشكل ، يتركب من الفلاجيللين ، وبه قناة مفتوحة تمتد بطول الخيـط ، ويصل فى طوله لعدة أضعاف طول الخلية .

نمو السوط

ينمو السوط ويستطيل ، بطريقة تخالف نمو الشعره مثلا ، فالسوط لاينمو من القـاعدة ولكن ينمو من الطرف ، إذ أن وحدات جزيئات الفلاجيللين المخلقة داخل خليـة البكتريا ، تمر

من خلال تجويف وسطى بمركز السوط ، إلى نهايته ، حيث تضاف وحدات الفلاجيللين لطرف السوط لزيادة طوله ، ويستمر السوط فى البناء حتى يصل إلى طوله المحدد ثم يتوقف ، ولكن إذا حدث وقطع السوط ، فإنه يعاد بنائه ثانية حتى يصل إلى طوله المحدد .

وعندما تنقسم الخلية البكتيرية ، فإن الخلايا المتكونه لابد وأن تحتوى على نفس العدد من الأسواط الذى كان موجودا بالخلية الأم ، فإذا كان للبكتريا سوط طرفى واحد ، فإن السوط الجديد يتكون فى المنطقة التى يتم عندها إنقسام الخلية إلى خليتين ، أما إذا كانت البكتريا من ذوات الأسواط المحيطية ، فإن أسواط خلية الأم تتوزع بالتساوى بين الخليتين البنويتين ، ثم تتكون أسواطا جديدة بكل خلية بنوية لاستكمال عدد الأسواط .

قد تفقد الخلية البكتيرية أسواطها نتيجة الفرج الميكانيكى أو الطرد المركزى أو الترشيح ، أو بتأثير بعض المنظفات والمواد المطهرة مثل الفينول والبورات ، أو لوجودها فى ظروف بيئية غير ملائمة ، إلا أنه عندما تتحسن الظروف ، فإن الخلايا الجديدة المتكونة يكون لها أسواط .

توزيع الأسواط

يعتبر عدد الأسواط ونظام توزيعها بالخلية البكتيرية ، من الصفات المميزة للنوع الواحد ، وإن كان يختلف ذلك من نوع بكتيرى لأخر [شكل ٥ (١) - ١٠] .

ومن حيث توزيع الأسواط على الخلية البكتيرية ، فإن البكتريا تقسم إلى

١- **عديمة الأسواط ، Atrichous**

ومثلها *Lactobacillus & Staphylococcus* .

٢- **ذات سوط طرفى واحد ، Monotrichous**

قد يقع هذا السوط بأحد أقطاب الخلية ويسمى قطبى Polar ، ومثلها *Pseudomonas aeruginosa & Vibrio cholerae* ، أو قد يقع بأحد جوانبها ، ويسمى جانبى Lateral .

٣- **ذات خصلة من الأسواط ، Lophotrichous**

قد توجد الخصلة فى أحد أطراف الخلية ، ومثلها *Alcaligenes viscolactis* ، أو توجد الخصلة فى جوانب الخلية ، ومثلها *Selenomonas* .

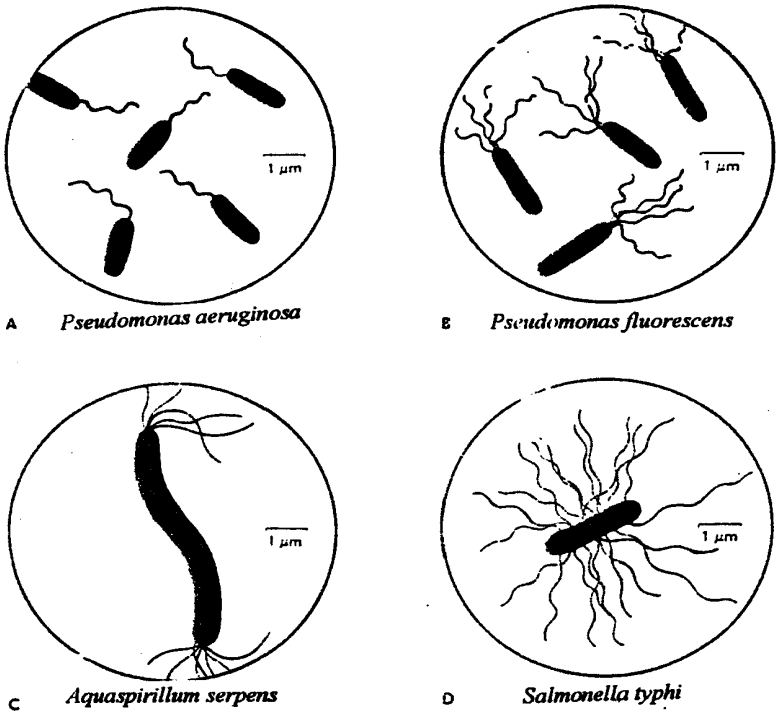
٤- **ذات خصلة من الأسواط على كل طرف من أطراف الخلية ، Amphitrichous .**

ومثلها *Aquaspirillum serpens & Spirillum volutans* .

٥- **ذات أسواط محيطية** ، أى موزعة على مدار محيط الخلية ، **Peritrichous .**

ومثلها *B. subtilis, E. coli & Salmonella typhi* .

الخلية البكتيرية ومظهرها الخارجى



A *Pseudomonas aeruginosa*

B *Pseudomonas fluorescens*

C *Aquaspirillum serpens*

D *Salmonella typhi*

شكل ٥ (١) – ١٠ : أشكال توضيحية لتوزيع الأسواط على الخلايا البكتيرية

A : خلايا ذات سوط طرفى واحد ..... Monotrichous

B : خلايا ذات خصلة من الأسواط فى طرف واحد Lophotrichous

C : خلية ذات خصلة من الأسواط فى طرفى الخلية Amphitrichous

D : خلية ذات أسواط محيطية..... Peritrichous

ميكانيكية الحركة بالأسواط :

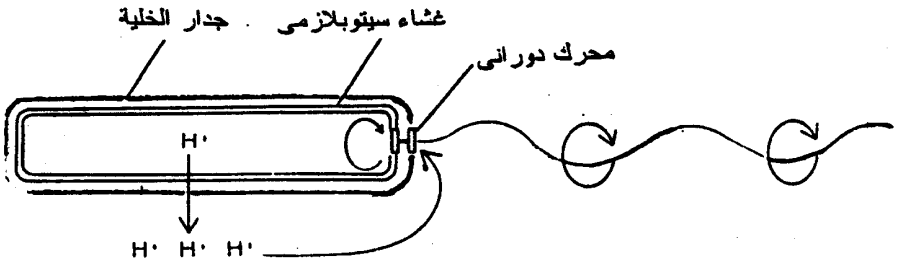
يعتبر وجود الجدار الخلوى ضروريا لحركة البكتريا ، لأن الخلايا المتحركة المعاملة باللايسوزيم ، تكون عبارة عن بروتوبلاست يحمل أسواطا ، ورغم ذلك فإنها تكون غير قادرة على الحركة لفقدها للجدار الخلوى .

ويمكن تشبيه حركة الأسواط البكتيرية ، بدوران مروحة رفاص السفينة ، حيث تتحرك الأسواط حركة دائرية مسببة تحريك جزيئات السائل المعلقة به البكتريا ، مما يؤدى إلى حركة الخلية فى الإتجاه العكسى ، ويحكم هذه الحركة الدائرية الجسم القاعدى ومابه من حلقات ، وتحت الظروف المثالية ، فإن الخلية تتحرك بسرعة تصل من ٥٠ إلى ٢٠٠ ميكرومتر فى

الثانيـــة . ورغم أن هذه السرعة تعتبر ضئيلة مقارنة مع سرعة الكائنات الأخرى ، إلا أنه يجب أن ينظر إلى هذه السرعة على أساس نسبتها الى طول الخلية ، وعلى هذا الأساس فإن ســـرعة البكتريا التى تتحرك بمعدل ٥٠ ميكرومتر/ثانية ، تعادل سرعة إنســـان يتحـــرك بمعـــدل ٢٠٠ كم/ساعة .

وتتوقف سرعة التحرك على الظروف البيئية ، وعلى نظام توزيع الأســـواط بالخليـــة البكتيرية . ففى حالة البكتريا ذات الأسواط المحيطية ، فإن البكتريا تتحرك وفى نفـــس الوقـــت تدور ، وذلك فى خط مستقيم ، ولذلك تكون حركتها بطيئة (حوالى ٣٠ ميكرومتر/ثانية) ، أمـــا فى حالة البكتريا ذات السوط الواحد الطرفى ، فإن البكتريا تلف بدوران مغزلى مع اندفاع للأمام ولذلك تكون حركتها سريعة (حوالى ٦٠ ميكرومتر/ثانية) .

الطاقة اللازمة لتحريك الأسواط البكتيرية لاتأتى من ATP كما فى حالة خلايا حقيقيات النواة ، لأن فلاجيللين الأسواط البكتيرى لايحتوى على إنزيم ATP ase ، ولكن تأتى الطاقـــة ، من القوة الدافعة للبروتون Proton motive force ، (أى من القوة المستمدة من فرق الجـــهد الكهربى Electric potential ، ومن الانحدار الايدروجينى Hydrogen gradient ، الذى يحدث عبر الغشاء السيتوبلازمى للخلية) ، إذ يؤدى تدفق البروتونات خلال حلقـــات الجسم القـــاعدى للســـوط ، الـــى دوران تلـــك الحلقـــات ، وتحريـــك الســـوط لحركـــة دائريـــة [شكل ٥ (١) - ١١] .



شكل ٥ (١) - ١١ : تحرك السوط البكتيرى بواسطة القوة الدافعة للـــبروتون ، حيـــث يـــؤدى تدفـــق البروتونات ، وهى راجعة الى الخلية ، خلال حلقات الجسم القاعدى للسوط البكتيرى ، الى دوران السوط ، وتعمل حلقـــات الجســـم القـــاعدى للســـوط كمحـــرك دورانـــى Rotary motor .

تأثر الحركة البكتيرية بالاستجابات التكتيكية : Tactic responses

تتأثر حركة البكتريا فى توجهها من مكان لاخر ، باستجابتها للمؤثرات التكتيكية التى تحدث بالوسط الموجودة به . قد يكون التأثر من مواد كيميائية ويسمى استجابة كيميائية Chemotaxis ، أو يكون التأثر بسبب الضوء ويسمى استجابة ضوئية Phototaxis ، أو بسبب الأكسجين (الهواء الجوى) ويسمى إستجابة هوائية Aerotaxis ، أو بسبب مجال مغناطيسى ويسمى استجابة مغناطيسية Magnetotaxis .

ويعتبر التوجه موجبا ، إذا كانت حركة البكتريا بالإتجاه نحو المؤثر ، ويعتبر التوجه سالباً ، اذا كانت الحركة بالإبتعاد عن المؤثر .

الاستجابة الكيميائية : Chemotactic response

تعزى الاستجابة الكيميائية فى حركة البكتريا ، لوجود مواد كيميائية بالوسط ، وتكون الاستجابة موجبة ، بمعنى أن البكتريا تتحرك تجاه المواد الكيميائية المؤثرة ، إذا ماكانت تلك المواد ذات فائدة للبكتريا ، وتكون الاستجابة سالبة بمعنى أن البكتريا تتحرك بعيداً عن المواد الكيميائية المؤثرة ، إذا ماكانت تلك المواد غير لازمة أو ضارة بالبكتريا .

مثالاً على ذلك ، فقد وجد فى حالة البكتريا ذات الأسواط المحيطية مثل *E. coli* ، بأنه عندما تميل هذه البكتريا للتحرك إلى الأمام ، كاستجابة موجبة للمؤثر ، فإنها تُجمِّع أسواطها فى إتجاه عكس الاتجاه المطلوب للحركة ، ثم تدور مجموعة الأسواط مع بعضها فى إتجاه عكس عقارب الساعة ، فتندفع الخلية البكتيرية للأمام ، بحركة موجهة ، تجاه المؤثر .

أما البكتريا *E. coli* التى لاتستجيب للمؤثر ، فان أسواطها لاتتجمع ، وتدور أسواطها فى إتجاه عقارب الساعة ، وبذلك تتحرك الخلية حركة عشوائية غير موجهة .

وتحدث الاستجابة الكيميائية فى حركة البكتريا ، لوجود نوع من الأحساس الكيميائى لخلية البكتريا نحو المؤثر ، يؤدى إلى تحكم البكتريا فى توجيه حركة أسواطها . فقد بينت الدراسات الوراثية والبيوكيميائية ، أن أسطح الخلايا البكتيرية تحتوى على مستقبلات كيميائية Chemoreceptors ، تستجيب للمادة الكيميائية المؤثرة ، وهذه المستقبلات عبارة عن بروتينات، لها القدرة على الإتحاد المتخصص مع المواد الكيميائية المؤثرة عليها .

وهذا التخصص ليس مطلقا ، حيث أن البروتينات المستقبلة لسكر الجالاكتوز مثلاً ، تتأثر أيضا بالجلوكوز والفركتوز ، وتلعب البروتينات المستقبلة دورا فى دخول تلك المواد الكيميائية إلى داخل الخلية البكتيرية .

قد تؤثر الاستجابة الكيميائية فى حركة البكتريا ، على شكل النمو البكتيرى الموجود على أطباق بيئة الاجار ، فإذا مالقحت بكتريا *E. coli* مثلاً فى وسط طبق بترى ، فإنه بعد فترة من النمو ، تستهلك الخلايا البكتيرية النامية المواد الغذائية الموجودة بوسط الطبق ، وتتحرك الخلايا بتأثير الاستجابة الكيميائية ، للخارج نحو التركيز الأعلى للمواد الغذائية ، وتنمو مكونة حلقة من النمو الجديد ، وتتكرر حلقات النمو بالطبق ، بتكرر حركة البكتريا للاستجابة

الكيميائيـــة ، وتسمى المستعمرات البكتيرية الناتجة بالمســـتعمرات المندفعـــة أو بالمســـتعمرات المنتشرة Spreading colonies; Swarming colonies .

وقد تتكون المستعمرات المندفعة بتأثير الاستجابة الكيميائية ، بطريقة أكثر تعقيداً ممـــا سبق ، وذلك كما فى حالة بكتريا *Proteus vulgaris* السريعة الحركـــة ، إذ يـــؤدى اســـتهلاك البكتريا النامية للمواد الغذائية بطبق بترى ، إلى حدوث تغير فـــى حجـــم الخلايـــا البكتيريـــة ، فتتحول من خلايا قصيرة عليها عدد محدود من الأسواط ، الى خلايا طويلة عديد ة الأســـواط ، أسرع فى الحركة كثيرا ، وهذه تتحرك كاستجابة كيميائية من المنطقة التى استهلك فيها الغـذاء ، الى منطقة يتوفر بها الغذاء ، وهنا تتكون خلايا عادية أقل حركة وتنمو مكونة حلقة نمو جديدة ، وبعد استهلاك الغذاء فى الموضع الجديد ، تتكون خلايا مندفعة جديدة تندفع إلى موقع جديـــد ، مكونة حلقة نمو جديدة ، ويتكرر تكون حلقات النمو على بيئة الاجار ، بتكرر حركة البكتريا .

الاستجابة الضوئية : Phototactic response

تعتمد البكتريا الممثلة للضوء ، مثل البكتريا الارجوانية *Chromatium* ، على الضـــوء كمصدر لما تحتاجه من طاقة ، ولذلك فإن أمثال هذه البكتريا تبدى استجابة ضوئية وتتحرك نحو مصدر الضوء ، وتبتعد عن مناطق الظلام .

الاستجابة الهوائية : Aerotactic response

تقوم البكتريا الهوائية والإختيارية بعملياتها الأيضية فى وجـــود الأكســـجين (الـــهواء الجوى) ، لذلك فإن هذه الأنواع البكتيرية تبدى استجابة لأكسجين الهواء الجوى ، وتتحرك نحـــو مصدره ، وتتجمع قرب الفقاقيع الهوائية ، وقرب حافة غطـــاء الشـــريحة (فـــى التحضـــيرات البكتيرية الموجودة بين الشريحة وغطائها) .

وعلى العكس من ذلك ، فإن البكتريا اللاهوائية تبتعد عن مصـــدر الـــهواء الجـــوى ، وتتجمع بوسط المزرعة ، أو فى قاع الأنبوبة النامية بها .

الاستجابة المغناطيسية : Magnetotactic response

تتأثر حركة بعض الأنواع البكتيرية بالاستجابة المغناطيسية ، كما فـــى حالـــة بكتريـــا *Magnetospirillum magnetobacterium* (*Aquaspirillum megnetotacticum*) ، التـــى تتأثر حركتها بالمجال المغناطيسى وتتجه إما ناحية الشمال أو ناحيـــة الجنـــوب المغناطيســـى ، وتعود الاستجابة المغناطيسية إلى وجود جسيمات مغناطيسية Magnetosomes توجـــد بداخـــل الخلية البكتيرية ، تحتوى على بللورات دقيقة من أكسيد الحديديك المغناطيســـى (الماجنيتـــايت) Fe_3O_4 ، وهى مواد ذات خواص مغناطيسية ، تجعل الخلية البكتيرية تعمل كمغنـــاطيس ثنـــائى القطب ، وتتأثر بخطوط المجال المغناطيسى ، وتتجه نحو الشمال أو نحو الجنوب المغناطيسى .

أغلب الأنواع البكتيرية التى تتأثر بالإستجابة المغناطيسية ، هى أنـــواع لاهوائيـــة أو محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، وتعيش هذه الأنواع البكتيرية بأسطح الرواسب الموجودة بقـــاع مياه البرك أو البحار ، وتساعد خاصية الاستجابة المغناطيسية ، تلك الأنـــواع البكتيريـــة علـــى التحرك بالوسط المائى لأسفل ، حيث المناطق الفقيرة فى الأكسجين ، أو الرواسب الخالية مـــن الأكسجين .

﴿الباب الخامس – الفصل الثانى﴾

تركيب الخلية البكتيرية ووظائف أجزائها

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
التركيب الكيميائى للخلية البكتيرية	١٩١
التركيب الخلوى للخلية البكتيرية	١٩٢
الأســـواط	١٩٢
الشعيرات ، البيلى	١٩٢
العلبة (الكابسول)	١٩٥
إظهار علبة الخلية البكتيرية	١٩٥
تركيب العلبة البكتيريـــــة	١٩٧
تأثير العلبة على مظهر النمو البكتيرى	١٩٨
أهمية العلبة البكتيرية	١٩٨
تأثير العلبة على لزوجة الوسط	١٩٩
الغلاف ، الغمد	١٩٩
الزوائد والسوق	٢٠٠
الجدار الخلوى	٢٠١
خاصية الصبغ للجدار الخلوى	٢٠٢
تأثير اللايسوزيم والبنسلين على الجدار الخلوى	٢٠٣
تركيب الجدار الخلوى	٢٠٤
جدر الخلايا البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة جرام	٢٠٧
حامض التيكوييك	٢٠٨
الغشاء الخارجى للميورين	٢٠٩
البورينـــات	٢١٢
الحيز البريبلازمى	٢١٢
الشحنة الكهربائية لسطح الخلية الخارجى	٢١٢
جدر خلايا البكتريا وجدر خلايا الكائنات الأخرى	٢١٣
أهمية الجدار الخلوى للبكتريا	٢١٣
الغشاء السيتوبلازمى	٢١٤
الصبـــغ	٢١٤
انغلافات ومحتويات الغشاء السيتوبلازمى	٢١٤
الناقـــلات	٢١٧
تركيب الغشاء السيتوبلازمى	٢١٨
بروتينات الغشاء السيتوبلازمى	٢٢٠
فوسفوليبيدات الغشاء السيتوبلازمى	٢٢١

المحتويات

الموضوع	الصفحة
الغشاء السيتوبلازمى فى بكتريا الأركيو والبكتريا الحقيقية	٢٢٢
كربوهيدرات الغشاء السيتوبلازمى	٢٢٤
النفاذية ، انتقال المغذيات فى البكتريا	٢٢٤
نظم النفاذية	٢٢٥
١- الإنتشار البسيط	٢٢٦
٢- الانتشار غير المنشط	٢٢٦
٣- الانتشار الميسر	٢٢٦
٤- الانتقال النشط	٢٢٨
٥- انتقال المجموعات	٢٢٩
طاقة الانتقال	٢٢٩
البروتوبلاست	٢٣٢
السفيروبلاست	٢٣٢
أهمية الغشاء السيتوبلازمى للبكتريا	٢٣٣
السيتوبلازم ومحتوياته الداخلية	٢٣٤
مميزات السيتوبلازم البكتيرى	٢٣٤
مناطق السيتوبلازم	٢٣٥
المحتويات الداخلية والمواد المخزنة بالسيتوبلازم	٢٣٥
المواد المخزنة	٢٣٦
١- حبيبات الفوليوتين	٢٣٦
٢- حبيبات البولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات	٢٣٧
٣- السكريات العديدة	٢٣٩
أ - الجليكوجين	٢٣٩
ب - النشـــــا	٢٤٠
ج - الجرانيولوز	٢٤٠
٤- حبيبات الكبريت	٢٤١
٥- الحبيبات المغناطيسية	٢٤١
٦- بلورات البروتين	٢٤٢
٧- حبيبات السيانوفايسين	٢٤٢
٨- الفجوات : الغازية والعصارية	٢٤٣
٩- المكونات السيتوبلازمية الذائبة	٢٤٤
الصبغات غير الممثلة للضوء	٢٤٤
المحتويات الداخلية	٢٤٦
١- حوامل الصبغات الضوئية	٢٤٦
٢- الكربوكسى سومات	٢٤٨
٣- الميسوسومات المركزية	٢٤٨
٤- الرايبوسومات	٢٤٨
وحدات سفدبرج	٢٥٠

﴿الباب الخامس - الفصل الثانى﴾

تركيب الخلية البكتيرية ووظائف أجزائها
Structure and Function of Bacterial Cell

البكتريا ككلّ الكائنات الحية الدقيقة ، خلوية التركيب ، ولكنها تتميز عن باقى الكائنات الدقيقة الأخرى ، فى أن خلاياها ذات نواة غير محددة وغير محاطة بغلاف نووى ، أى أنها خلايا ذات نواه بدائية Procaryotes* ، بينما الكائنات الدقيقة الأخرى من خمائر وفطريات وطحالب وبروتوزوا ، ذات نواة مميزة ومحاطة بغلاف نووى أى أن خلاياها حقيقية النواة Eucaryotes* ، وينعكس هذا الوضع على التركيب الخلوى ، وعلى ماتؤديه مكونات الخلية المختلفة من وظائف ، بين مختلف الأحياء الدقيقة .

ولفترة مضت ، فقد كانت دراسة التركيب الداخلى للخلية البكتيرية أمر بالغ الصعوبة ، بسبب صغر حجم الخلية ، غير أنه ، بتقدم وتطور أجهزة الفحص بالمجهريات الضوئية والإلكترونية ، ومع تقدم تقنيات الفحص بالطرق البيوكيميائية والوراثية ... وغيرها ، واستخدام أجهزة الطرد المركزى فائق السرعة ، وطرق الفصل على درجات ، فقد أمكن ايضاح التركيب الداخلى الدقيق للخلية البكتيرية ، ومعرفة الوظائف التى تؤديها هذه التراكيب .

التركيب الكيميائى للخلية البكتيرية

يختلف التركيب الكيميائى للخلايا البكتيرية باختلاف النوع ، وعمر المزرعة ، وباختلاف الظروف البيئية التى تنمو بها البكتريا . وعموما ، فإن الخلية البكتيرية تحتوى على نسبة مرتفعة من الماء تتراوح من ٧٠ إلى ٨٥% فى أغلب الأنواع ، قد يكون هذا الماء حرا ، أو مرتبطا مع غرويات ومكونات الخلية .
وعلى أساس الوزن الجاف ، فإن الخلية البكتيرية ، بصفة عامة تحتوى على ٥٠% كربون ، ١٠-١٥% نتروجين ، ٢-١٥% عناصر مثل
P (± 1-3%), Na, K, Ca, Mg (± 0.5%), Cl, Si,S (± 1%) ، وعناصر صغرى مثل Cu, Fe, Mo, Zn ، ونسبة C/N بالبكتريا حوالى ١:٥.

يوجد أغلب الكربون والنتروجين الخلوى فى الأحماض الأمينية ، التى ترتبط مع بعضها لتكون البروتين . وتتكون المادة العضوية البكتيرية من :

٥٠-٨٠% بروتين : يدخل فى ذلك البروتين البنائى ، والانزيمات ، والمرافقات الانزيمية ، والنيوكليوبروتينات ، والأحماض النووية

٢-٤٠% كربوهيدرات : يدخل فى ذلك المواد عديدة التسكر ، والسكريات الداخلة فى تركيب البروتينات ، واللبيدات ، واسيتايل جلوكوز أمين

---

* راجع جدول (٢-٣) بالباب الثانى ، لمعرفة الفروق بين خلايا بدائية النواة ، وخلايا حقيقية النواة ، ص ص ٢٥و٢٦.

١-١٠% ليبيدات : يدخل فى ذلك الأحماض الحرة ، والدهـون المتعادلـة (الجلسـريدات الثلاثية) ، والفوسفوليبيدات ، والشموع .
قد تصل نسبة الليبيدات فى بعض أنواع البكتريا ، مثل بكتريا السل الـى ٤٠% .

وعلى أساس الوزن الجاف للخلية البكتيرية ، فإن حامض الرنا RNA يشكل حوالـى ١٠%، وحامض الدنا DNA بشكل حوالى ٢% ، وبفرض أن جـزىء حـامض الدنـا يـزن ٨×١٠^{٦} ، فإن ٢% من الحامض تمثل حوالى ألف جزىء فى بكتريا *E. coli* .
أما العناصر العشر الكبرى الداخلة فى تركيب الخلية البكتيرية فإن نسبتها فى المتوسـط ٥٠% كربون ، ٢٠% أكسجين ، ١٢% نتروجين ، ١٨% ايدروجيـن ، ٣% فوسـفور ، ١% لكل من الكبريت والكالسيوم والبوتاسيوم ، ٠,٥% لكل من الحديد والمغنسيوم .

التركيب الخلوى للخلية البكتيرية :

تتركب الخلية البكتيرية [شكل ٥ (٢) - ١] من سطح خلوى وبروتوبلاست . ويـتركب السطح الخلوى من الطبقة اللزجة (العلبة ، الكابسول) والجدار الخلوى ، ومايقع علـى السـطح الخلوى من أسواط وشعيرات . أما البروتوبلاست فإنه يقع بداخل الجدار الخلوى ، ويشمل كـلا من الغشاء السيتوبلازمى ومنطقة البريبلازم ، والسيتوبلازم ، والمادة النووية ، والمواد المخزنـة والحبيبات (مثل الميسوسوم والرايبوسـومات) ، وحوامـل الصبغـات Chromatophores ، والفجوات ، وكذلك الجراثيم البكتيرية فى الأنواع البكتيرية المتجرثمة .

ويصل المحتوى المائى للخلية البكتيرية الى حوالى ٧٠-٨٥% من وزنها ، وتـتراوح نسبة المواد الصلبة بها من ١٥-٣٠% من وزن الخلية ، وتزداد نسبة المواد الصلبة عن ذلـك بزيادة المواد المخزنة فى الخلية مثل الكبريت والفوسفات ، وعديـدات التسـكر والبولـى بيتـا هيدروكسى بيوتيرات ... وغيرها .

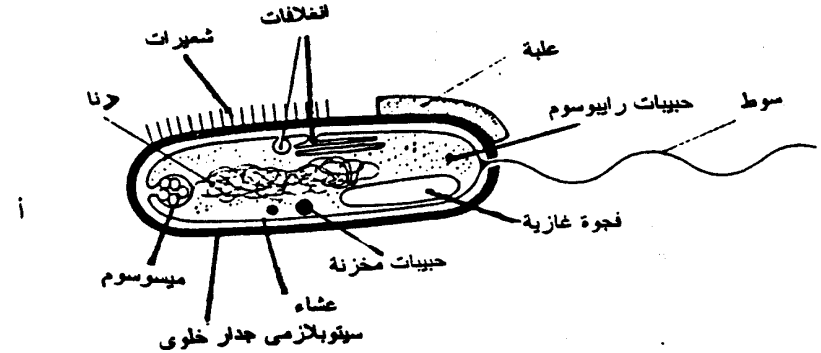
وفيما يلى توضيح لتركيب الخلية البكتيرية ، من الخارج الى الداخل

الأسـواط : Flagella

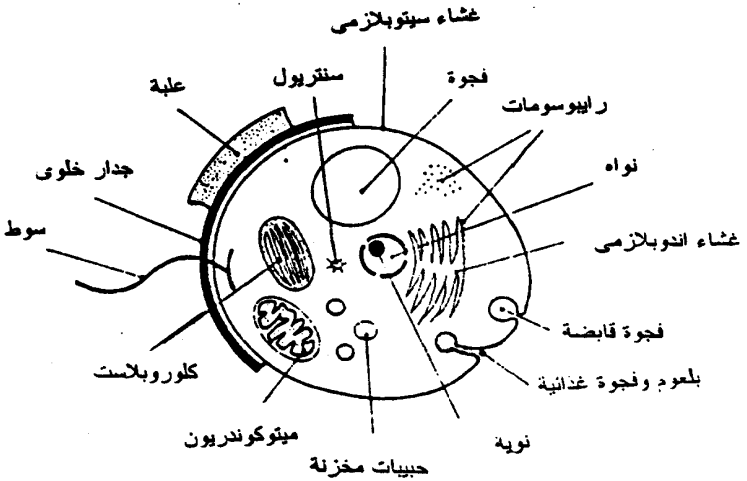
وقد سبق الكلام عنها بالتفصيل فى الجزء الخاص بحركة البكتريا بالفصل الأول مـن هذا الباب .

الشعيرات ، البيلى Pili

الشعيرات Pili (ومفردها Pilus) ، وقد تسمى أيضا Fimbriae (مفردها Fimbria) ، [شكل ٥ (٢) - ٢] ، هى عبارة عن زوائد خيطية مجوفة تمتد من سطح بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة جرام ، وتوجد على طول محيط الخلية ، ويمكن مشاهدتها بالمجهر الإلكترونى ، ويمكن إزالتها بالرج ، والشعيرات تشبه الأسواط ، ولكن ليس لها دور فـى حركـة البكتريـا ، إذ أن الشعيرات توجد فى البكتريا المتحركة وغير المتحركة ، والشعيرات أقصر من الأسواط (يصـل طولها لحوالى ١٢ ميكرومتر) ، وأرفع من الأسواط (يتراوح سمك الشعيرات مابين ٣ الـى ٢٠ نانومتر) ، كما أن الشعيرات أكثر عدداً من الأسواط ، فقد يصل عددها إلى عدة مئات بالخليـة



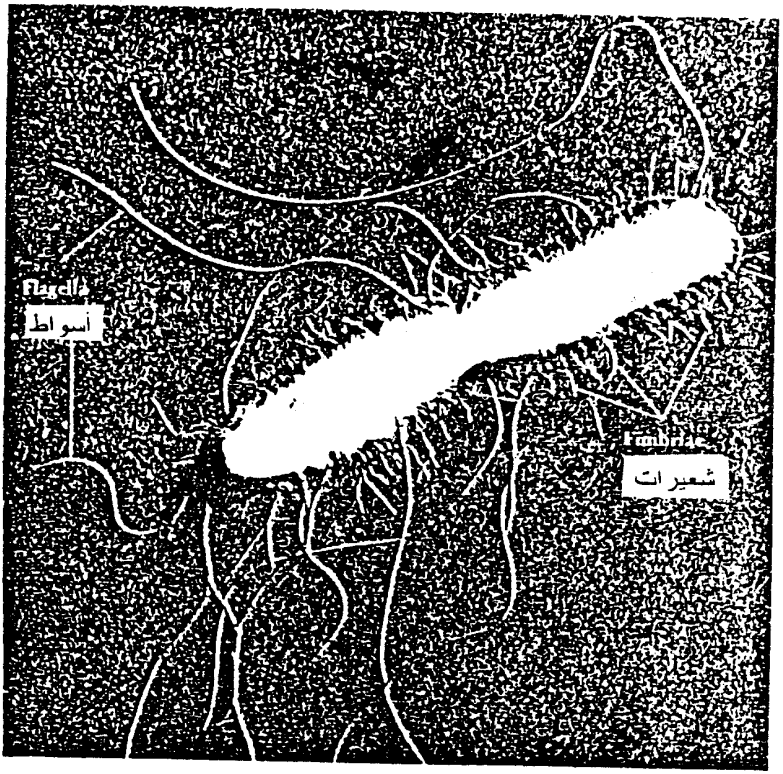
أ



ب

شكل ٥ (٢) – ١ : أ – شكل توضيحى للتركيب العام لخلية بكتريا

ب – شكل توضيحى لخلية حقيقية النواة (للمقارنة)



شكل ٥ (٢) – ٢ : صورة بالمجهر الالكتروني توضح وضع الأسواط والشعيرات (البيلى) على خلايا *E. coli* .

(من ٢٥٠ الى ٣٠٠ بالخلية الواحدة) ، ويمكن إزالة الشعيرات من الخلايا بالرج بالخلاط ، ولايؤثر فقدها على حياة الخلية .

تتكون الشعيرات من وحدات من بروتين يسمى بيلين Pilin ، وتلتف وحدات البروتين حول تجويف محورى ، مكونة أنبوبة مجوفة من البروتين ، ولبروتين الشعيرات خواص أنتجينية .

وظائف الشعيرات : Function of pili

تقوم الشعيرات البكتيرية بوظائف متعددة ، ويمكن تقسيم الشعيرات إلى أنواع ، حسب وظيفة كل نوع منها ، ويختلف كل نوع من الشعيرات عن الآخر فى طول الشعيرة ، وسمكها ، وفى أعداد مايوجد منها على الخلية البكتيرية .

فمن الشعيرات مايتعلق بالتزاوج بين الخلايا ، وتسمى بالشعيرات الجنسية Sex-pili ، او بشعيرات الخصوبة F-pili ، وهذه الشعيرات متعلقة بالجنس ، وتمتاز عن أنواع الشعيرات الأخرى ، بأن عددها قليل (١ أو ٢ فى الخلية الواحدة) ، وبأنها أكثر طولا وأكثر سمكا عن باقى الشعيرات . وتوجد شعيرات الجنس بالخلايا البكتيرية الحاملة للعامل F ، وهى الخلايا المانحة لمادة الدنا الوراثية .

ويتحكم بلازميد الجنس F-plasmid فى الخصوبة ، وهو الذى يحكم أيضا المعلومات الوراثية الخاصة بتكوين شعيرات الجنس بالخلية المانحة . وتقوم شعيرات الجنس بربط الخلية المانحة للمادة الوراثية بالخلية المتلقية ، وتكوين مايعرف بقنطرة التزاوج Conjugating bridge، التى تمر منها مادة الدنا الوراثية من الخلية المانحة إلى الخلية المتلقية، وذلك كما فى حالة بكتريا *E. coli* K12 . ويوجد بالخلية المتلقية نقاطا متخصصة للالتصاق بالشعيرات الجنسية ، بحيث لايتم الالتصاق والتزاوج إلا بين خلايا النوع البكتيرى الواحد .

ومن الشعيرات مايعمل على لصق الخلايا البكتيرية ببعضها البعض ، والمساعدة فى النمو السطحى وتكوين الغشاء البكتيرى على سطح البيئة السائلة ، والصاق الخلايا البكتيرية بالخلايا النباتية والحيوانية الأخرى ، أو بلصقها بالسطوح الخاملة مثل السليلوز والزجاج ، أو بالسطوح الصلبة .

ومن الشعيرات مايساعد على إحداث المرض بالكائن ، حيث تساعد الشعيرات فى لصق البكتريا المرضية بخلايا النسيج ، كما يحدث فى حالة بكتريا السيلان التى تمتلك شعيرات تلصقها بسهولة بخلايا العائل ، ومن ثم تحدث الإصابة ، وهذا الالتصاق ضرورى لإحداث المرض . لأن السلالات البكتيرية الممرضة التى لاتمتلك تلك الشعيرات ، تفشل فى إحداث المرض بالعائل إذ أن الالتصاق يمنع غسيل خلايا البكتريا المرضية ، ويمنع زوالها مع الخلايا المخاطية المنفصلة ، أو مع سوائل الجسم المتدفقة .

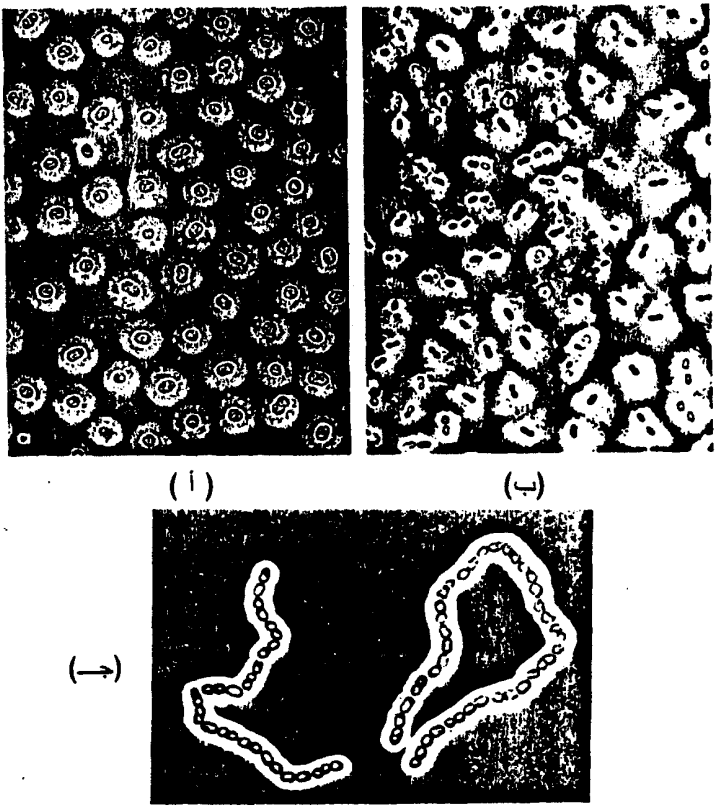
العلبة (الكابسول) : Capsule

العلبة هى الطبقة الخارجية التى تحيط بالخلية البكتيرية ، وهى طبقة هلامية Viscous لزجة Slimy ، يختلف سمكها بإختلاف النوع البكتيرى ، فقد تكون العلبة غشاءا رقيقا فى بعض لانواع سمكه يقل عن ٠,٢ ميكرومتر ، وتسمى علبة دقيقة Microcapsule ، وقد تكون العلبة طبقة سميكة فى أنواع بكتيرية أخرى ، وتسمى طبقة لزجة Slime layer ، حيث يصل سمكها الى أكثر من ضعف قطر الخلية ، وتحيط العلبة بالخلية المفردة ، أو بالخلايا المتجمعة ، أو بسلسلة الخلايا إذا كان التجمع فى سلاسل ، وترتبط العلبة بجدار الخلية بروابط تكافؤية (تساهمية) Covalent bonds .

إظهار علبة الخلية البكتيرية

عادة لاتظهر طبقة الغلاف المكونة للعلبة ، عند صبغ الغشاء البكتيرى بطرق الصبغ العادية ، لذلك فإنه لإظهار العلبة وتوضيحها ، تستعمل طرقا خاصة لصبغ الخلية البكتيرية . تعرف بالصبغ السالب Negative staining ، مع استعمال صبغات مثل الحبر الصينى [شكل ٥ (٢)-٣] .

وقد تظهر العلبة باستخدام طرق سيرولوجية ، إذ يؤدى إضافة الأنتيسيروم المتخصص لبكتريا الالتهاب الرئوى *Streptococcus pneumoniae* ، الى إنتفاخ العلبة البكتيريـــة بشـــكل واضح ، إذ قد يصل الانتفاخ من ٥ الى ١٠ أضعاف حجم العلبة العادى ، ويسمى هذا التفـــاعل بتفاعل الانتفاخ Swelling (Quellung) reaction ، ويسمى أيضا بتفـــاعل نيوفلـــد Neufeld reaction ، نسبة الى اسم العالم الذى أجرى هذا التفاعل لأول مـــرة عـــام ١٩٠٢ ، ويســـتخدم تفاعل الانتفاخ ، فى التمييز السيرولوجى بين سلالات البكتريا المسببة للالتهاب الرئوى



شكل ٥ (٢) – ٣ : العلبة البكتيرية كما تظهر بالصبغ السالب
أ– بكتريا الكبريت الأرجوانية *Amoebobacter roseus* × ١٢٠٠ .
ب – بكتريا *Azotobacter chroococcum* × ٥٠٠ .
ج – بكتريا *Bacillus megaterium* × ١٠٠٠ (العلبة مغلفة لسلسلة الخلايا)

تركيب العلبة البكتيرية

تتكون العلبة البكتيرية ، فى معظم الأنواع ، من مواد كربوهيدراتية معقدة ، وهذه المواد قد تتكون من بوليمر لنوع واحد من السكريات ، كالجلوكوز أو الجالاكتوز أو المانوز أو الفراكتوز أو الأرابينوز ، أو تتكون من بوليمر لأكثر من نوع من السكريات ، ومن أمثلة السكريات المعقدة الداخلة فى تركيب العلبة البكتيرية

- الدكستران Dextran (عديد الجلوكوز) كما فى بكتريا *Leuconostoc mesenteroides*
- الليفان Levan (عديد الفركتوز) كما فى بكتريا *Streptococcus salivarius* .
- السليلوز (عديد الجلوكوز) كما فى بكتريا *Acetobacter xylinum* .

وفى بعض الأنواع البكتيرية ، قد يدخل فى تركيب العلبة ، الأحماض الأمينية ، أو السكريات الأمينية مثل اسيتايل جلوكوز أمين واسيتايل جالاكتوز أمين ، أو أحماض يورونية Uronic acids مثل حامض الجليكورونيك Glucoronic acid وحامض الجالاكتورونيك Galacturonic acid ، وذلك كما فى بكتريا *Streptococcus pneumoniae* .

وقد تتكون العلبة من مركبات ببتيدية معقدة Polypeptides كما فى بكتريا *Bacillus anthracis* ، التى تتكون علبتها أساسا من معقد حامض الجلوتاميك Polyglutamic acid .

العلبة البكتيرية التى تتكون من بوليمر لنوع واحد من السكريات ، تسمى علبة ذات سكريات متجانسة Homopolysaccharides ، وغالبا ماتخلق مكونات هذه العلبة من الوسط خارج الخلية ، وذلك بواسطة انزيمات تفرزها البكتريا إلى خارج الخلية ، وذلك كما يحدث بواسطة بكتريا *Streptococcus mutans* ، عند تخليق مادة الجلوكان من الجلوكوز .

أما العلبة البكتيرية التى تتكون من بوليمر لأكثر من نوع من السكريات ، تسمى علبة ذات سكريات عديدة خليطة Heteropolysaccharides ، وغالبا ماتخلق مكونات هذه العلبة من داخل الخلية البكتيرية ، بواسطة الانزيمات الداخلية ، ثم ترتبط المادة المخلقة بحامل ليبيدى. ينقل المادة المخلقة عبر غشاء الخلية السيتوبلازمى إلى خارج جدار الخلية ، حيث تدخل المادة المخلقة فى تركيب العلبة ، وذلك كما يحدث بواسطة بكتريا *Klebsiella pneumoniae* .

يختلف شكل وحجم وتركيب العلبة باختلاف النوع البكتيرى ، وأحيانا باختلاف السلالة البكتيرية ، وكذلك يختلف شكل وحجم وتركيب العلبة باختلاف الظروف البيئية التى تعيش فيها البكتريا . عموما ، فإن تكوين العلبة البكتيرية فى البكتريا القادرة على تكوينها ، يزداد مع زيادة التهوية ، كما يزداد بوجود نسبة عالية من مصدر الكربون بالبيئة ، وباتساع نسبة الكربون إلى النتروجين C/N ratio فى بيئة النمو .

ويستفاد عمليا من الإختلافات الموجودة فى تركيب العلبة بين سلالات النوع البكتيرى الواحد ، فى تمييز تلك السلالات عن بعضها مناعيا ، وهذا مثل مايحدث عند التمييز السيرولوجى بين سلالات بكتريا *Streptococcus pneumoniae* المرضية المسببة لمرض

الالتهاب الرئوى ، البالغة عدد سلالاتها حوالى ٧٥ سلالة ، وهى سلالات ذات طـــرز مناعيـــة مختلفة ، ويعتمد الاختلاف بين الأنواع السيرولوجية ، على التركيب الكيميائى لمادة العلبة بكـــل سلالة .

تأثير العلبة على مظهر النمو البكتيرى

يؤثر وجود أو غياب طبقة الغلاف بالخلية ، على الشكل الظاهرى للنمـــو البكتـــيرى ، سواء أكان ذلك فى البيئة الصلبة ، أو فى البيئة السائلة .

فالبكتريا المكونة للغلاف ، تكون مستعمراتا على البيئة الصلبة ذات مظـــهر رطـــب ، هلامى القوام ، لزج ، لامع ، ناعم ، متجانس ، غـــير خشـــن ، وتعـــرف تلـــك المســـتعمرات بالمستعمرات الناعمة Smooth colonies, (S) . وفى البيئة السائلة ، فإن الخلايا ذات الغـــلاف النامية ، تبقى معلقة بالسائل وموزعة خلاله بانتظام ، مسببة تعكير البيئة ، ولاترسب إلى القاع.

أما فى حالة البكتريا التى بدون غلاف ، فإن مستعمراتها النامية على البيئة الصلبـــة ، تكون جافة ، غير مرتفعة عن سطح الاجار ، معتمه ، مجعدة ، محببة ، خشنة ، وتعرف تلـــك المستعمرات بالمستعمرات الخشنة أو بالمستعمرات غير الملساء Rough colonies (R) . وفـــى البيئة السائلة ، فإن الخلايا غير المغلفة النامية ، ترسب فى قاع انبوبة بيئـــة النمـــو ، أو تكـــون قشرة على سطح البيئة .

وتعود حالة النعومة فى الخلايا البكتيرية ذات العلبة ، إلى كثافة ولزوجة المواد عديـــدة السكريات الداخلة فى تكوين العلبة ، والتى تملأ الفراغات الموجودة بين الخلايـــا وبأســـطحها ، وتعطى الخلايا مظهرا لزجا لامعا ناعما .

وبالإضافة الى الخلايا الخشنة والخلايا الناعمة ، فإنه توجد درجـــات متوســـطة بيـــن النعومة والخشونة فى الخلايا (RS cells) ، تسمى بالحالات الوسطية ، وهى الخلايا التى تتكون بها علبة ذات محتوى قليل من المواد عديدة السكريات .

ويعتبر تكوين طفرات من البكتريا غير قادرة على تكوين العلبة ، من الحالات الشـــائعة الحدوث فى المزارع البكتيرية ، كما تتحول خلايا R ⟵ S ، وفى بعض الحالات قد تتحـــول خلايا S ⟵ R .

أهمية العلبة البكتيرية

وجود أو عدم وجود العلبة البكتيرية ليس له علاقة بحيوية البكتريا ، فمن الممكن إزالـــة العلبة بالرج أو بطرق صناعية ، أو بمنع تكوين العلبة بتغيير الظروف البيئية أو بـــالتطفر ، دون أن يؤثر ذلك على حيوية الخلية البكتيرية .

غير أن للعلبة فوائد أخرى عديدة للخلايا البكتيرية ، حيث

* تعمل العلبة على حماية الخلية البكتيرية من الظروف البيئيـــة الســـيئة ، خاصـــة الجفـــاف ، فالبكتريا ذات العلبة أكثر تحملا للجفاف من البكتريا عديمة العلبة .

* للعلبة أهمية كبيرة من الناحية المرضية ، حيث ترتبط الحدة الإمراضية Virulence للبكتريا ذات العلبة ، بوجود وبغياب العلبة .

ففى حالة البكتريا الممرضة *Streptococcus pneumoniae* ، نلاحظ أن السلالة الممرضة ذات العلبة تمتاز بحدتها الإمراضية العالية ، عن السلالة عديمة العلبة ، لأن العلبة تزيد من حجم البكتريا ، فتحميها من هجوم خلايا الجسم اللاقمة مثل كرات الدم البيضاء ، ومن تأثير الأجسام المضادة ، كما أن وجود العلبة يغطى نقاط التعارف [*] Recognition sites الموجودة على سطح الخلية البكتيرية التى تتعرف بها على الخلايا اللاقمة ، وبهذا لايتم التقام البكتريا الممرضة من الخلايا اللاقمة .

* وجود العلبة يساعد بكتريا *Streptococcus mutans & S. salivarius* على إحداث التسوس بالأسنان . فالغلاف يساعد هذه البكتريا على الالتصاق بالأسنان ، وإحداث التسوس بها.

* استخدام إختلافات التركيب الكيميائى بين علب السلالات البكتيرية المختلفة ، فى التمييز السيرولوجى بين السلالات وبعضها ، كما فى حالة بكتريا الالتهاب الرئوى .

تأثير العلبة البكتيرية على لزوجة الوسط

قد تذوب المواد الهلامية المكونة للعلبة البكتيرية فى بيئة النمو ، ويؤدى ذلك إلى حدوث لزوجة بالمزرعة ، كما قد تتسبب البكتريا ذات العلبة بما تفرزه من مواد لزجة وإنزيمات ، فى حدوث خسائر كبيرة بالصناعة ، ويلاحظ ذلك فى صناعة السكر ، فعندما تنمو فى المحاليل السكرية ، بكتريا مثل *Leuconostoc dextranicum & L. mesenteroides* ، وهى بكتريا خليطة التخمر ، فإنها تحول السكروز القابل للتبلور إلى مادة غير متبلورة ، جيلاتينية صمغية ، هى الدكستران ، بتأثير إنزيم يفرز خارج خلية البكتريا هو إنزيم Dextran sucrase ، مما يسبب أضرارا كبيرة فى انتاج السكر .

الغلاف ، الغمد : Sheath

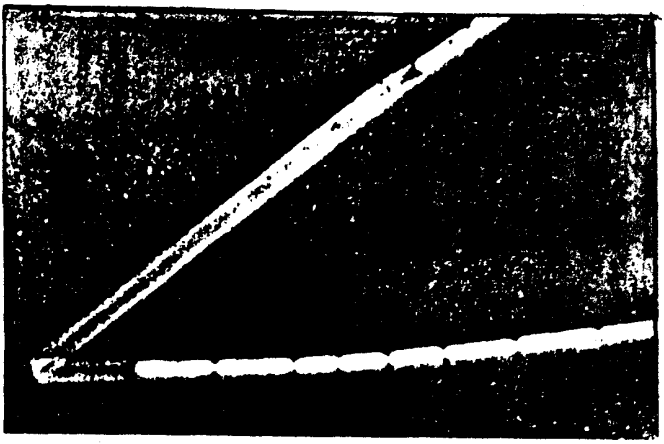
الغلاف عبارة عن تركيب أنبوبى ، يحيط بسلسلة الخلايا البكتيرية النامية فى شكل خيط. وتُكوِّن الغلاف بعض أنواع البكتريا الخيطية ، خاصة تلك الموجودة بالأوساط المائية ، مثل بكتريا *Sphaerotilus natans* [شكل ٥ (٢) - ٤] .

ويتكون الغلاف من مركب عديد السكريات يحتوى على جلوكوز وحامض جليكورونيك وجالاكتوز وفيكوز Fucose (سكر سداسى الدهيدى) ، وقد يدخل فى تركيب الغلاف ايدروكسيدات الحديد والمنجنيز .

ويعمل الخيط على حماية الخلايا المكونة للخيط من الظروف السيئة ، كما يساعد على بقاء خلايا الخيط مرتبطة ببعضها .

---

[*] أنظر كربوهيدرات الغشاء السيتوبلازمى والارتشاف ص ٢٢٤



شكل ٥ (٢) – ٤ : بكتريا *Sphaerotilus natans* المغلفة

تتكون سلسلة الخلايا من خلايا (أبعاد الخلية ١ × ٢-٦ ميكرومتر) ، ويحيط الغلاف بسلسلة الخلايا ، وقد يصل طول الغلاف إلى عدة ملليمترات .

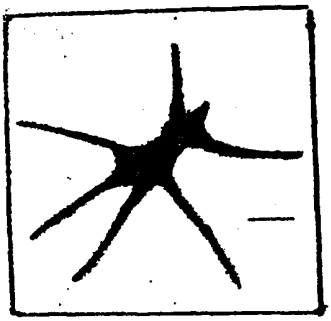
الزوائد والسوق : Prosthecae and Stalks

الزوائد Prosthecae (مفردها Prostheca) عبارة عن إمتدادات نصف صلبة ، قطرها أقل من قطر الخلية ، تخرج من الغشاء السيتوبلازمى والجدار الخلوى ، وتمتد إلى خارج الخلية البكتيرية .

وتوجد الزوائد فى بعض أنواع البكتريا الهوائية التى تعيش بالأوساط المائية ، سواء العذبة أو المالحة ، ولبعض الأجناس البكتيرية ، مثل *Caulobacter* [شكل ٥ (٢) – ٥] زائدة واحدة ، وللبعض الآخر مثل *Ancalomicrobium* أكثر من زائدة .

تساعد الزوائد الخلايا البكتيرية على إمتصاص مايلزمها من مواد غذائية ، ومن الزوائد مايساعد الخلايا البكتيرية على الالتصاق بالأسطح ، كما أن بعض الزوائد تكون براعم للتكاثر فى أطرافها .

أما السوق Stalks ، فإنها إمتدادات شريطية أو أنبوبية ، غير حية ، تفرزها بعض الخلايا البكتيرية مثل *Gallionella & Planctomyces* ، وتستعمل السوق كدعامة للتثبيت ، كما أنها تساعد على إلتصاق الخلايا بالأسطح الصلبة .



شكل ٥ (٢) – ٥ : بكتريا *Ancalomicrobium adetum* وهى بكتريا متبرعمة ولـــها أكثر من زائدة .

يمثل الخط واحد ميكرومتر

الجدار الخلوى : Cell wall

يقع الجدار الخلوى أسفل التركيبات السطحية الخارجية للخلية (مثل العلبـــة والغمـــد) ، وأعلى طبقة الغشاء السيتوبلازمى فى الخلية .

ومن حيث الجدار ، فإنه يمكن من هذه الناحية ، تقسيم البكتريا إلى ثلاثة أقسام مميزة ، هى

١–بكتريا الأركيو : Archaeobacteria

أغلب أنواع هذه البكتريا لها جدار خلوى ، وهو يختلف فى تركيبه بإختلاف الأنـــواع ، كما يختلف فى تركيبه عن تركيب جدر خلايا البكتريا الحقيقية .

فجدار خلايا الأركيو لايحتوى على ببتيدوجلوكان ، ويتكون من بروتين وجليكوبروتيـن وعديدات التسكر ، وبعضاً من بكتريا الأركيو ، مثل *Methanobacterium* يحتوى جداره على ميورين كاذب Pseudomurein ، (أنظر الشكل التالى)وهو يختلف عـــن ميوريـــن البكتريـــا الحقيقية فى أنه

(أ) يحتوى على N-acetyl-talosaminuronic acid بدلا من N-acetyl muramic acid ،

(ب) وفى أن السلاسل الببتيدية الداخلة فى التركيب ، تتكون من أحماض أمينية كلها يسارية .

٢–البكتريا الراقية : Higher bacteria

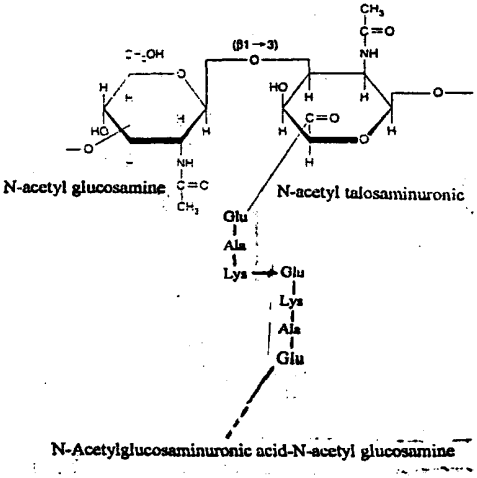
مثل تلك التابعة لرتبة Myxobacteriales & Spirochaetales ، وليس لهذه البكتريـــا جدار خلوى ، بمعنى أنها خالية من الجدار الخلوى الصلب المميز لجدر البكتريا الحقيقية .

٣– البكتريا الحقيقية : True bacteria

وتمثل هذه البكتريا أغلب أنواع البكتريا ، وتتميز بأن لها جدارا خلويا صلبـــا Rigid ، ولكنه قابل للشد والإنثناء .

ويمثل الجدار بهذه البكتريا حوالى ٢٠% من الوزن الجاف ، ويتراوح سمكه مابين ١٠ الى ٢٥ نانومتر ، وفيما يلى تفصيلا لما يتعلق بالجدار الخلوى لخلايا البكتريا الحقيقية .

ويوضح الشكل التالى تركيب الميورين الكاذب بجدار بكتريا الأركيو



شكل يبين الوحدة المتكرره من السكريات الأمينية والأحماض الأمينية ، الداخلة فى تركيب الميورين الكاذب بجدار خلية *Methanobacterium* . ولايوجد مركب N-acetyl talosaminuronic إلا فى جدار بكتريا الأركيو

Glu : جلوتاميك ، Ala : الانين ، Lys : لايسين

خاصية الصبغ للجدار الخلوى

تعتبر قابلية الجدار الخلوى البكتيرى للصبغ بالطرق العادية ضعيفة ، غير أنه يمكن مشاهدة الجدار مجهريا وفحصه ، باستعمال طرقا خاصة فى تحضير وصبغ الغشاء البكتيرى . ويتلخص ذلك فى معاملة الخلايا بمرسخ كحامض التانيك ، الذى بإتحاده مع المواد المكونة للجدار ، فإن سمك الجدار يزداد ، كما تزداد قابليته للصبغ ، وبالتالى يمكن مشاهدته وفحصه بالمجهر الضوئى .

الصبغ بصبغة جرام

من المعروف أن الخلايا البكتيرية إما موجبة أو سالبة لصبغة جرام ، وهى صفة تقسيمية هامة فى البكتريا ، فالخلايا الموجبة لصبغة جرام ، تحتفظ بلون صبغة الجنسيان البنفسجى رغم غسيل الخلايا بالكحول ، بينما لاتحتفظ الخلايا السالبة لصبغة جرام بلون صبغة الجنسيان ، وتأخذ اللون الوردى الخاص بصبغة الفوكسين .

والجدار الخلوى للبكتريا ، إضافة إلى الغشاء السيتوبلازمى ، مسئول عن إيجابية أو سالبية الصبغ بصبغة جرام ، ومما يؤكد ذلك ، أن الخلايا الموجبة لصبغة جرام ، إذا ما افقدت جدارها الخلوى عند معاملتها بإنزيم اللايسوزيم ، فإنها تفقد فى نفس الوقت قدرتها على الاحتفاظ بلون صبغة الجنسيان البنفسجى .

الصبغ الصامد للأحماض

الجدار الخلوى للبكتريا هو المسئول أيضا عن الصبغ الصامد للأحماض ، إذ أن الخلايا الصامدة للأحماض ، مثل بكتريا مرض السل ، يحتوى جدارها الخلوى على حامض مايكوليك Mycolic ، وهو حامض دهنى به ٩٠ ذرة كربون ، وهذا الحامض هو المسئول عن خاصية صمود الخلايا للصبغ الحامضى ، ورمز الحامض العام

$$R_1 - \underset{|}{\overset{OH}{CH}} - \underset{|}{\overset{R_2}{CH}} - COOH$$

وتمثل R_1 ، R_2 سلاسل طويلة من الهيدروكربونات .

ومن مشتقات حامض المايكوليك مادة Trehalose dimycolate . وهى مادة سامة ، وتلعب دورا هاما فى الأمراض الناتجة عن بكتريا السل وبكتريا الدفتريا .

تأثير اللايسوزيم والبنسلين على الجدار الخلوى

اللايسوزيم : Lysozyme

اكتشف اللايسوزيم ، أو مايسمى بأسم Acetyl muramidase ، العالم فلمنج عام ١٩٢٢ ، ويوجد اللايسوزيم فى بياض البيض والدموع ، والعرق وإفرازات الأنف المخاطية .

وتؤدى معاملة الخلايا البكتيرية بإنزيم اللايسوزيم ، إلى تحلل الخلايا الموجبة لصبغة جرام ، كما تؤدى المعاملة بالانزيم أيضا الى تحلل الخلايا السالبة لصبغة جرام ، بعد تحرير طبقة ميورين الجدار من الليبوبولى سكريات المرتبطة بالميورين بأيونات كالسيوم ، وذلك باستخدام مادة مخلبية مثل EDTA ، التى تنزع الكالسيوم من المركب ، فيتحرر الميورين من الليبوبولى سكريات ، فيصبح الميورين خاضعا للتأثر باللايسوزيم .

يهاجم اللايسوزيم روابط الجليكوزيد بالميورين ، الواقعة بين ذرة C_1 بمركب اسيتايل ميراميك ، وذرة C_4 بمركب اسيتايل جلوكوز أمين ، فيتحلل الميورين ، لذلك فإن اللايسوزيم يؤثر على الخلايا التامة النمو أو التى فى طور سكون .

وبالإضافة إلى اللايسوزيم ، فإنه توجد إنزيمات أخرى تحلل الميورين ، بفك روابطه الببتيدية ، مثل إنزيمات Muco-endopeptidases التى توجد أساسا بالبكتريا .

البنسلين : Penicillin

البنسلين أول مضاد حيوى اكتشف ، وكان ذلك عام ١٩٢٨ بواسطة فلمنج ، ويؤثر البنسلين أساسا على البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، مثل البكتريا العنقودية والسبحية ، لاحتواء جدارها على نسبة مرتفعة من الميورين .

يثبط البنسلين عملية تخليق مادة ببتيدوجلوكان الجدار الخلوى ، بمنع تكوين الروابط بين وحداتها البنائية ، لذلك فإن البنسلين يؤثر فقط على الخلايا التى تحت التكوين ، ولايؤثر على الخلايا النامية أو التى فى طور سكون .

من التأثيرات التى تنتج من استعمال البنسلين ، تكوين خلايا الـ L-forms * ، وهذه عبارة عن خلايا بكتيرية فقدت جدارها الخلوى بتأثير المعاملة بالبنسلين ، وتظهر الخلايا غير منتظمة الأشكال والأحجام ، وفاقدة لصلابتها مقارنة بالخلايا العادية .

وقد يظهر نتيجة المعاملة بالبنسلين ، مايعرف بالسفيروبلاست Sphaeroplast ، وهى خلايا غير منتظمة الشكل أيضاً ، ولكنها فقدت أجزاء من الجدار الخلوى ، وليس كل جدارها الخلوى ، وبقيت الخلايا محتفظة بأجزاء من الجدار الخلوى .

تركيب الجدار الخلوى

أمكن معرفة التركيب الكيميائى لمكونات الجدار الخلوى للبكتريا ، بعد أن أمكن عام ١٩٤٨ فصل الجدار عن باقى مكونات الخلية البكتيرية . وقد تم ذلك بخلط المعلق البكتيرى بكريات زجاج Glass beads ، ذات قطر ٠,٠٧ مم ، مع الرج السريع ، فأمكن بذلك تكسير الخلايا . وبالغسيل والطرد المركزى ، أمكن فصل الجدار الخلوى البكتيرى من باقى مكونات الخلية الأخرى .

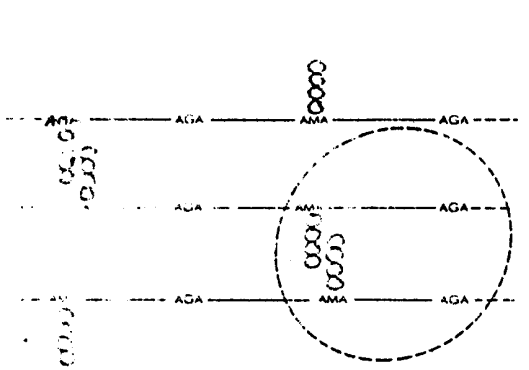
يتركب الجدار الخلوى فى البكتريا الحقيقية أساسا من مادة الببتيدوجلوكان Peptidoglycan ، وقد تسمى ميكوببتيد أو ميورين Mucopeptide ; Murein ، وهو بوليمر غير قابل للذوبان ، منفذ ، يكون خيوطا متشابكة تمتاز بطولها وبصلابتها ، مع قابليتها فى نفس الوقت للشد والإنثناء ، ويحيط الببتيدوجلوكان بالغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية .

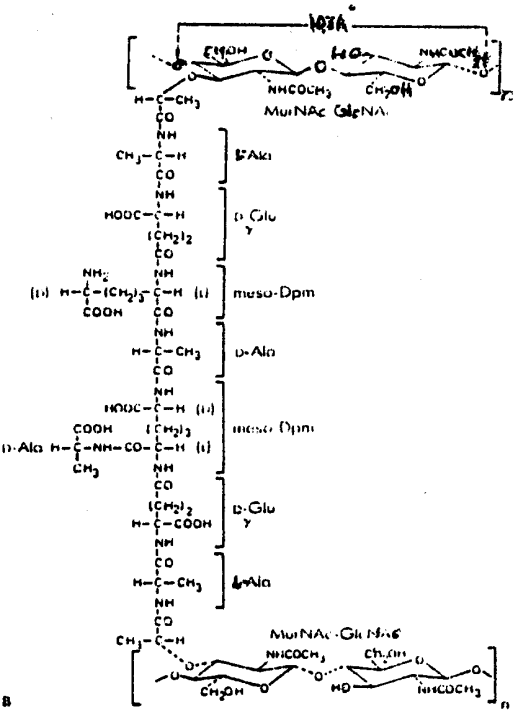
لايوجد الببتيدوجلوكان إلا فى خلايا بدائية النواة ، وهو يختلف فى التركيب قليلا بين نوع بكتيرى وآخر ، ولكنه بوليمر يتكون أساسا من

أسيتايل جلوكوز أمين	N-acetyl glucose amine
اسيتايل حامض الميراميك	N-acetyl muramic acid
ألانين – يسارى	L- alanine
ألانين – يمينى	D-alanine
جلوتاميك – يمينى	D-glutamic
حامض داى أمينو بيميليك – ميسو	m-Diaminopimelic acid
لايسين – يسارى	L-Lysine
أورنيثين – يسارى	L-Ornithine
حامض داى أمينو بيوتيريك – يسارى	L-Diamino butyric acid

* يشير حرف L ، الى معهد ليستر Lister بلندن ، الذى اكتشف به لأول مرة عام ١٩٣٤ ، حالة وجود خلايا بكتيرية بدون جدار خلوى ، أنظر ص ٤٨٥ .

ويوضح الشكل [٥ (٢) – ٦] ، والشكل [٥ (٢) – ٧] ، تركيب وبناء الببتيدوجلوكان





شكل ٥ (٢) – ٦ :

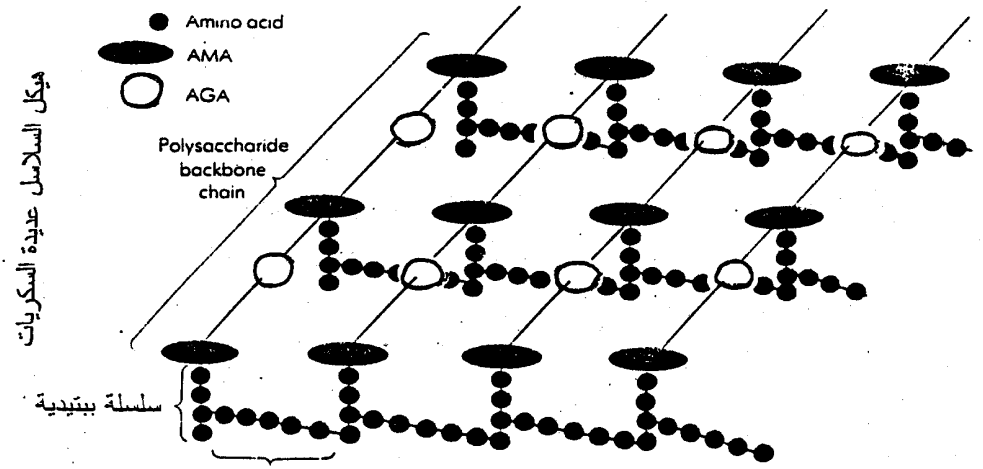
A : التركيب العام للببتيدوجلوكان

AMA : Acetylmuramic acid
AGA : Acetylglucose amine
O : Amino acids
○ :B الجزء ذو الدائرة المنقطة ، مكبر فى الجزء

B : الوحدة الأساسية المكونة للميورين فى بكتريا *E. coli*
الوحدات ثنائية السكريد المتجاورة ، الموجودة بالسلاسل عديدة السكريات المتجاورة ، ترتبط مع بعضها بسلاسل ببتيدية .

Ala: Alanine , Glu: Glutamic , Dpm: Diaminopimelic

تركيب الجدار الخلوى



شكل ٥ (٢) – ٧ : التركيب العام للببتيدوجلوكان

لاحظ الوصلة خماسية الببتيد التى تربط بين السلاسل

AMA : Acetylmuramic acid

AGA : Acetylglucose amine

وكما هو واضح من التركيب والأشكال السابقة ، فإن الببتيدوجلوكان يتركب من ٣ وحدات بنائية أساسية ، هى

1. Acetylglucose amine (AGA) ..... ١ – اسيتايل جلوكوز أمين .....
2- Acetyl muramic acid (AMA) ٢– أسيتايل حامض الميراميك (استر حامض اللاكتيك)
3- Peptide ..... ٣– ببتيد يتكون من ٤ أو ٥ أحماض أمينية .....

وحدات AMA , AGA وحدات متبادلة ، بروابط بيتا ١–٤ ، تتقاطع مع سلاسل ببتيدية قصيرة ، ويختلف تركيب السلاسل الببتيدية من نوع بكتيرى لآخر ، ولكن أكثرها شيوعا هى سلسلة من أربعة أحماض أمينية ، بعضها مشابهات يسارية (L) وهو النوع السائد ، وبعضها مشابهات يمينية (D) .

الببتيدوجلوكان هو التركيب الأساسى الذى يعطى للجدار الخلوى صلابته ، إضافة إلى ذلك ، فإن نظام إرتباط سلاسل وحدات الببتيدوجلوكان البنائية ، المتقاطعة مع الوحدات الببتيدية، يكون فى مجموعة تركيبا شبكيا يزيد من صلابة الجدار الخلوى ، كما أن وجود حامض التيكوويك بجدار الخلايا الموجبة لصبغة جرام يزيد من صلابتها .

ويمتاز الجدار الخلوى البكتيرى ، بأنه يحتوى على مكونات ، لاتوجد إلا فى الكائنات بدائية النواة ، فالمشابهات اليمينية D-isomers للأحماض الأمينية الداخلة فى تركيب السلاسل الببتيدية ، هى حالة خاصة ولاتوجد إلا فى بدائيات النواة ، حيث أن نصف كمية الالانين وكل حامض الجلوتاميك الداخل فى تركيب السلسلة الببتيدية من النوع اليمينى .

ومن ضمن الأحماض الأمينية الداخلة فى تركيب السلسلة الببتيدية ، حامض Diaminopimelic acid ، ولايوجد هذا الحامض أيضا إلا فى بدائيات النواة ، وكذلك فإن حامض الميراميك لايوجد إلا فى بدائيات النواة .

جدر الخلايا البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة جرام

يختلف جدار البكتريا الموجبة عن جدار البكتريا السالبة لصبغة جرام فى بعض الصفات ، وجدول [٥ (٢)-١] التالى ، يوضح الفروقات الهامة بين جدر النوعين .

جدول ٥ (٢) - ١ : الفروقات الهامة بين جدر البكتريا الموجبة والبكتريا السالبة لصبغة جرام .

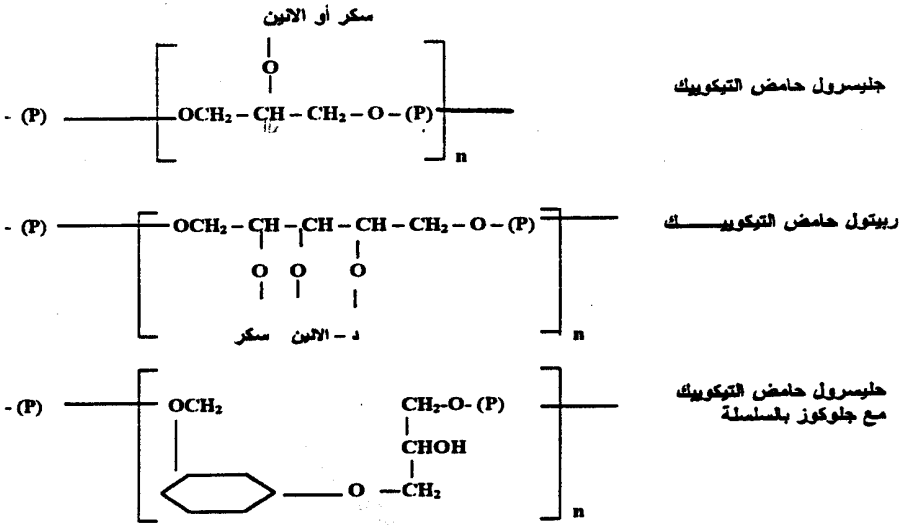
الصفة	البكتريا الموجبة لصبغة لجرام	البكتريا السالبة لصبغة جرام
سمك الجدار الخلوى	سميك ويتراوح سمكه من ٢٠-٢٥ nm	رفيع ويتراوح سمكه من ١٠-١٥ nm
شبكة الميورين	نسبتها عالية وتشكل حوالى ٥٠% أو اكثر من الوزن الجاف للجدار	نسبتها منخفضة وتشكل حوالى ١٠% من الوزن الجاف للجدار
الغشاء الخارجى لسطح الميورين	لايوجد	يوجد
اللايسين	يوجد	لايوجد
حامض التيكوييك	يوجد ويرتبط الميكوييك بروابط تكافؤية مع ميورين الجدار ، ويزيد من صلابه الجدار	لايوجد
حامض المايكوليك	يوجد فى بعض الأنواع ، ويعطى لها صفة الصمود للصبغ الحامضى	لايوجد
الأحماض الأمينية العطرية والكبريتية	لايوجد	يوجد
الحيز البريبلازمى	لايوجد	يوجد

تابع جدول ٥ (٢) – ١ :

الصفة	البكتريا الموجبة لصبغة لجرام	البكتريا السالبة لصبغة جرام
المحتوى الليبيدى	قليل ويمثل حوالى ٢% من الوزن الجاف للجدار . وهو غالبا أحماض دهنية ، فى سلاسل من ١٠ الى ٥٠ وحدة جلسرول مرتبطة بروابط فوسفات استيرية ، وبعضها يحتوى على الفانيتول أو الإرثريتول	كثير ويمثل حوالى ٢٠% من الوزن الجاف للجدار . وهو عبارة عن ليبوبروتين ، وليبوعديد السكريات ، ويرتبط بروابط تكافؤية ، مع الميورين

حامض التيكوييك : Teichoic acid

مصطلح Teichoic ذو أصل إغريقى ، ويعنى جدار ، وقد تم التعرف على حامض التيكوييك عند فحص جدر الخلايا ، ومن هنا جاءت التسمية ، والحامض عبارة عن بوليمر من فوسفات الربيتول أو فوسفات الجلسرول ، وسكريات أخرى مفسفرة ، وهو يوجد فى بعض أنواع البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، ويرتبط الحامض بروابط أيونية مع المغنسيوم ، ويرتبط بروابط تكافؤية مع الميورين ، وهو يساعد على زيادة صلابة الجدار الخلوى ، وزيادة مقاومة البكتريا للحرارة . ويوضح الشكل [٥ (٢) – ٨] ، بعض تركيبات حامض التيكوييك .



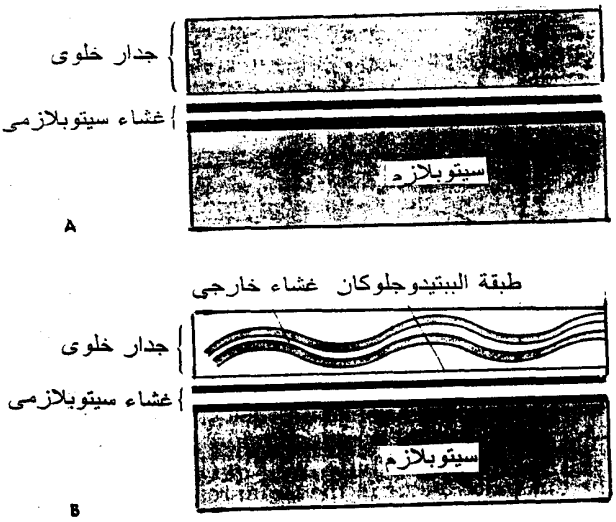
شكل ٥ (٢) – ٨ : بعض تركيبات حامض التيكوييك

الغشاء الخارجي للميورين : Outer membrane of murein

بالإضافة إلى الفروقات الموضحة بالجدول [٥ (٢) -١] السابق ، فإن من أهم مـــايميز جدار البكتريا السالبة لصبغة جرام ، هو وجود غشاء خـــارجي Outer membrane ، يغطـــى السطح العلوى لطبقة الميورين الرقيقة الموجودة بجدار الخلية [شكل ٥ (٢) - ٩] .

ويفيد هذا الغشاء الخارجي ، البكتريا السالبة لصبغة جرام فى نواحى عديدة ، منها أنه

* يعمل كحاجز يحول دون خروج بعض الانزيمات الهامة الى خـــارج الخليـــة ، مثـــل تلـــك الانزيمات الخاصة بنمو الجدار الخلوى .
* ويعمل على حماية مكونات الخلية الداخلية ، من تأثير الكيماويات الضارة الموجودة بالوســـط خارج الخلية ، ومن دخول بعض الانزيمات المحللة للميورين مثل اللايسوزيم ، ومنع وصوله الى طبقة الميورين وتحليله .



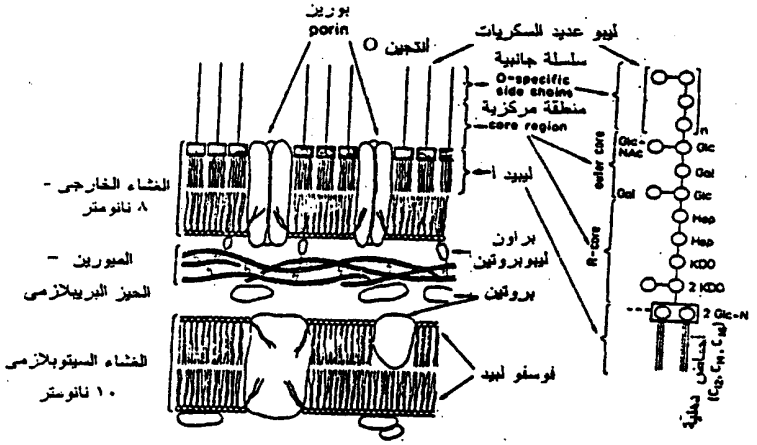
شكل ٥ (٢) - ٩ : رسم تخطيطى لجدر بكتريا حقيقية كما ظهرت بالمجهر الالكترونى

A : بكتريا موجبة لصبغة جرام
لاحظ أن الجدار الخلوى سميك ويتكون أساسا من الببتيدوجلوكان
B : بكتريا سالبة لصبغة جرام
لاحظ وجود غشاء خارجي Outer membrane متموج يغطى طبقة الببتيدوجلوكان الرقيقة نسبيا بجدار الخليـــة

الغشاء الخارجي للميورين

ويصل سمك الغشاء الخارجي للميورين لحوالى ٨ نانومتر ، ويفصل بينه وبين الميورين طبقة من فوسفوليبيدات، سمكها حوالى ٥-٧ نانومتر ، ويربط الغشاء الخارجي بالميورين ، جزيئات من الليبوبروتين تسمى Braun's lipoprotein [شكل ٥ (٢) - ١٠] .

والغشاء الخارجي ذو طبقتين Bilayered وهو يتكون من بروتينات وفوسفوليبيدات وليبو عديد السكريات Lipopolysaccharide (LPS) [شكل ٥ (٢) - ١١] ، وبسبب هذا الغشاء ، فإن جدار البكتريا السالبة لصبغة جرام غنى باللبيدات ، عن البكتريا الموجبة لصبغة جرام (تمثل اللبيدات حوالى ٢٠% من الوزن الجاف للجدار) ، وإلى تركيب الليبو عديد السكريات (LPS) ، تعود الخواص السامة المعروفة بالتوكسينات الداخلية Endotoxins ، في بعض الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة جرام ، مثل السالمونيلا والشيجيلا .



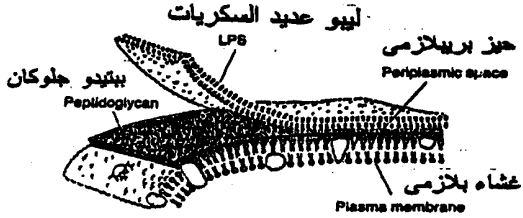
شكل ٥ (٢) - ١٠ : شكل تخطيطي لأغلفة خلية بكتيرية سالبة لصبغة جرام

على يمين الشكل تفاصيل تركيب الليبو عديد السكريات

Glc : جلوكوز
Gal : جالاكتوز
Hep : هبتوز

KDO : ٢ كيتو-٣ دى أكسى اوكتانات
Glc-N : جلوكوز أمين

Glc-NAc : جلوكوز - استيل جلوكوز أمين



شكل ٥ (٢) - ١١ : العلاقة بين طبقة ليبو عديد السكريات Lipopolysacharide (LPS) ، وطبقة الببتيدوجلوكان ، والغشاء السيتوبلازمي في البكتريا السالبة لصبغة جرام .

يتركب الليبو عديد السكريات (LPS) الموجود بالغشاء الخارجي من ثلاث مكونات رئيسية [شكل ٥ (٢) – ١٢] ، ترتبط مع بعضها بروابط تكافؤية ، وهذه المكونات هى

١ – ليبيدات تعرف بـ Lipid A ، وهى مطمورة فى الغشاء الخارجي ، ويتركب Lipid A من جلوكوز أمين مؤستر مع أحماض دهنية ، وهذه تتكون من سلاسل ، ذات عدد ذرات من الكربون ، C_{16}, C_{14}, C_{12} .

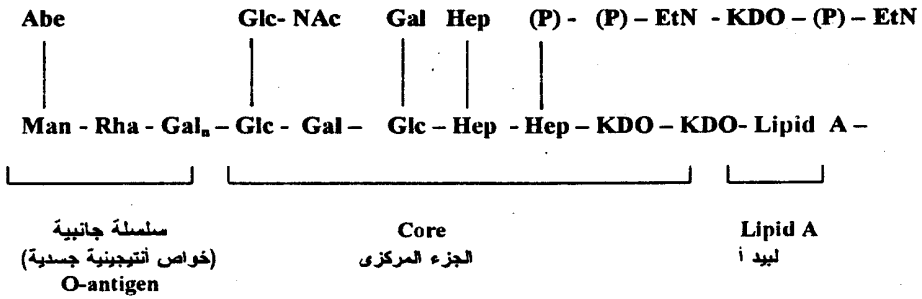
٢ – جزء مركزى من عديد السكريات Polysaccharide core ويقع قرب سطح الغشاء ، وتركيب هذا الجزء ثابت داخل أفراد النوع الواحد ، ولكنه يختلف فى التركيب من جنس بكتيرى لآخر .

ويدخل فى تركيب هذا الجزء : جلوكوز وجالاكتوز وهبتوز واسيتايل جلوكوز أمين وكيتو دى أوكسى أوكتانات .

٣ –سلسلة جانبية من عديد السكريات Polysaccharide side chain ، لها خواص أنتجينية جسدية O-antigens .

تمتد هذه السلسلة الجانبية كشعيرات Whiskers من سطح الغشاء إلى الوسط الخارجي المحيط بالخلية ، وتختلف مكونات هذه السلسلة من نوع بكتيرى لآخر ، بل ومن سلالة لأخرى .

وإلى هذه السلسلة الجانبية ، تعود أغلب الخواص السيرولوجية للبكتريا السالبة لصبغة جرام (مثل السالمونيلا والأشريشيا والرايزوبيا ... الخ) ، كما تعمل هذه السلسلة كمستقبل للفاجات .



Abe	: Abequose	Glc-NAc	: N-acetylglucose amine
Man	: Mannose	Hep	: Heptose
Rha	: Rhamnose	EtN	: Ethanolamine
Gal	: Galactose	Glc	: Glucose
		KDO	: Keto deoxyoctonic acid
		(P)	: Phosphate

شكل ٥ (٢) – ١٢ : تركيب الليبو عديد السكريات Lipopolysaccharide, LPS فى جدار بكتريا *Salmonella typhi* .

البورينـــات : Porins

تقع البورينات بالغشاء الخارجى للميورين ، وتمتد من منطقة Lipid A إلـــى منطقـــة الميورين . والبورينات عبارة عن بروتينات خاصة ، تحتوى على قنوات دقيقة ، تسمح بنفـــاذ بعض المـــواد ذات الجزيئـــات الصغـــيرة ، كالســـكريات والأحمـــاض الأمينيـــة والببتيـــدات والنيوكليوسيدات ، كما أن البورينات تعمل كمستقبلات ، تلتصق بها الفاجات والبكتريوسينات .

الحيز البريبلازمى : Periplasmic space

يوجد الحيز البريبلازمى بالبكتريا السالبة لصبغة جرام ، وهو يقع بين الببتيدوجلوكـــان والغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية ، ويحتوى الحيز البريبلازمى على نســـبة مرتفعـــة مـــن البروتينات ، مثل السيتوبلازم ، كما يحتوى على مجموعة من الانزيمات ، مثل بعض انزيمـــات Depolymerases ، ومثل تلك الانزيمات المحللة للجلوكوز والإيثانول ، أو التـــى تســـاعد فـــى تفاعلات المجاميع غير العضوية ، مثل SO_4^{-2} & NO_3^{-1} .

الشحنه الكهربائية لسطح الخلية الخارجى

عندما تتواجد البكتريا فى وسط متعادل ، فإن شحنة سطحها الخارجى تكـــون ســـالبة ، ويمكن معرفة ذلك من تحرك الخلية البكتيرية ناحية القطب الموجب (الأنـــود) ، إذا مـــاوضعت الخلايا فى وسط ذو مجال كهربائى ، وتعرف خاصية التحرك هذه ، بخاصية التفريد الكـــهربائى Electrophoresis ، وتختلف سرعة التحرك بإختلاف أنواع الجزيئات المتحركة ، ويستفاد من هذه الخاصية ، فى فصل وتعريف بعض المكونات البيولوجية .

الشحنة السالبة الموجودة على السطح الخارجى للخلية البكتيرية ، هى محصلة تفـــاعل المواد الأمفوتيرية المكونة لسطح خلية البكتريا ، مع مواد الوسط ، فلتلك المـــواد الأمفوتيريـــة (مثل الأحماض الأمينية التى تحمل مجموعات حامضية COOH ، وأخرى قاعدية NH_2) ، نقطة تعادل كهربائية Isoelectric point ، عندها تتعادل شحناتها الكهربائية السالبة والموجبة ، وتقـــع هذه النقطة فى الجانب الحامضى ، عند ق يد حوالى ٣ الى ٥ .

وعند وجود البكتريا فى وسط متعادل أو قاعدى ، فإن القواعـــد الموجـــودة بالوســـط (مثل Na) تتفاعل مع كربوكسيل المركبات الأمفوتيرية الموجودة بسطح الخلية ، مكونة أمـــلاح (مثل COO Na–) ، وعندما يتأين الملح تنفرد مجموعة COO^- السالبة الشحنة ، مكسبة الســـطح الخلوى البكتيرى شحنة سالبة .

ويعرف فرق الجهد الكهربائى بين مكونات السطح الخارجى للخلايا البكتيرية ، وبيـــن مكونات محلول البيئة ، بفرق جهد زيتا Zeta (ζ) potential ، وخلايا البكتريا التى لها جهد زيتا قليل ، أى حوالى ١٥ ملليفولت ، تميل الى التجمع مع بعضها ، أما الخلايا البكتيرية التـــى لـــها فرق جهد كبير ، حوالى ٢٥ ملليفولت ، فإنها تتنافر مع بعضها ، ولاتميل الى التجمع ، لأن هذه الخلايا تحمل شحناتا كهربائية عالية ، تزيد من شدة التنافر بينها ، مما يقلل من قدرتـــها علـــى التجمع .

جدر خلايا البكتريا وجدر خلايا الكائنات الأخرى

بمقارنة تركيب الجدر الخلوية البكتيرية ، بجدر خلايا الكائنات الأخرى حقيقية النواة ، سنلاحظ الآتى

١ – تتكون جدر خلايا النباتات الراقية والطحالب الخضراء ، أساسا من السكريات المعقدة ، ويسود السليلوز فى جدر خلايا النباتات ، ويسود البكتين والسليلوز فى جدر خلايا الطحالب.

٢ – تسود السكريات المعقدة فى جدر خلايا الفطريات ، وتمثل حوالى ٨٠ إلى ٩٠% من تركيب جدارها ، وتتضمن تلك السكريات المعقدة الكيتين والسليلوز والمانان والجلوكان ، ويعتبر الكيتين هو المكون الأساسى بجدر معظم خلايا الفطريات الزقية والبازيدية والناقصة ، بينما يسود السليلوز فى جدر خلايا الفطريات الطحلبية ، وتحتوى جدر خلايا الخمائر على نسبة قليلة من الكيتين ، وعلى نسبة مرتفعة من المانان والجلوكان .

٣ – أما البروتوزوا فإنها بدون جدر خلوية .

أهمية الجدار الخلوى للبكتريا

الجدار الخلوى ضرورى لحياة الخلية البكتيرية الحقيقية ، فالخلايا التى أزيل منها الجدار الخلوى ، أصبحت غير قادرة على النمو والانقسام ، وفى بعض الحالات قد لاتفقد الخلية حيويتها نتيجة لفقد جدارها ، ولكنها تصبح شديدة الحساسية للظروف البيئية المحيطة بها ، خاصة التغير فى الضغط الأسموزى .

ونظرا لصلابة جدار الخلية البكتيرية ، فإن الجدار يحفظ للخلية البكتيرية شكلها الكروى أو العصوى أو الحلزونى المميز لها ، كما أن الجدار يحمى الخلية من الظروف البيئية السيئة ، ومن الكيميائيات الضارة ، ومن مهاجمة الكائنات الدقيقة .

ويساعد جدار الخلية البكتيرية على تحمل الإختلافات فى الضغوط الأسموزية الواقعة بين محتوى الخلية والوسط الذى تعيش فيه ، وبذلك فإن الجدار يحمى الخلية من البلزمة نتيجة الانكماش الأسموزى Plasmolysis ، ومن الانفجار نتيجة الانتفاخ الأسموزى Plasmoptysis.

ويتحكم الجدار الخلوى إلى حد ما فى نوع الجزيئات الماره من خلال ثقوبه تبعا لحجم تلك الجزيئات ، وهو تحكم يشبه عمل الغربال أكثر مما يشبه عمل الغشاء ، إذ ليس للجدار خاصية النفاذية الاختيارية التى للغشاء السيتوبلازمى .

والجدار الخلوى مسئول (مع الغشاء السيتوبلازمى) عن إيجابية وسالبية الصبغ بصبغة جرام ، وعن خاصية الصمود للصبغ الحامضى ، كما أن الجدار مسئول عن التوكسينات الداخلية التى تكونها بعض أنواع البكتريا ، كما يستفاد من خواص الجدار الأنتجينية فى التمييز السيرولوجى بين بعض السلالات والأنواع المرضية كبكتريا السالمونيلا .

الغشاء السيتوبلازمى : Cytoplasmic membrane

الغشاء السيتوبلازمى يلى الجدار الخلوى بالخلية ، (فى البكتريا التى لها جدار خلوى) ويحيط بالسيتوبلازم ، وسمكه ضئيل جدا ، حوالى ١٠ نانومتر ، ويمثل حوالى ١٥% من الوزن الجاف للخلية ، ويتركب أساسا من الفوسفوليبيدات والبروتين .

الصبغ

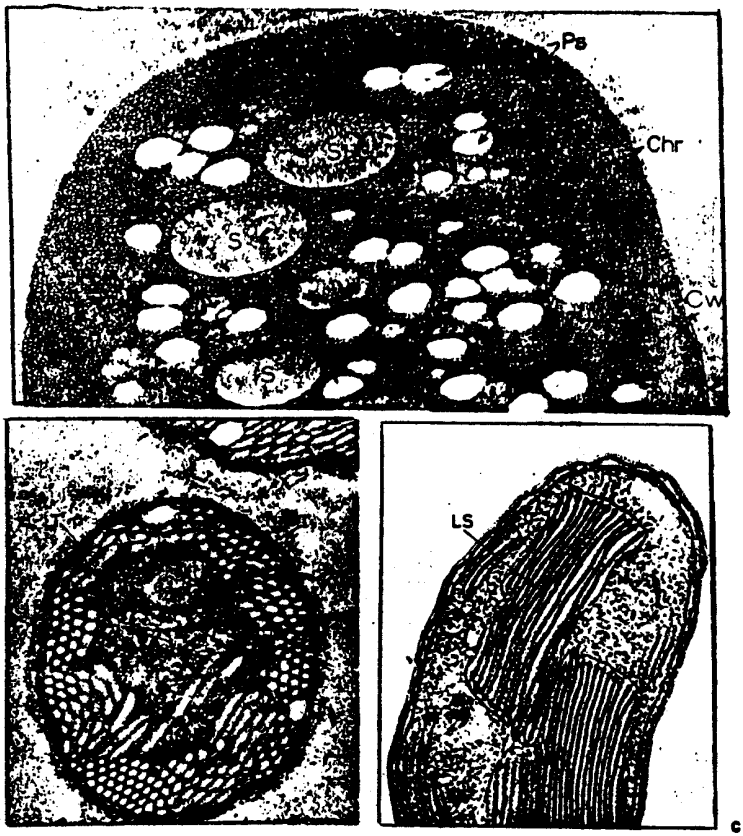
الغشاء السيتوبلازمى حامضى التأثير ، لإحتوائه على نسبة عالية من الأحماض النووية ، ولذلك فإن قابليته عالية للصبغ بالصبغات القاعدية ، مثل صبغة الجنسيان وأزرق المثيلين ، كما أنه يسهل صبغه بالصبغات التى تذوب فى الدهون ، مثل صبغة سودان بلاك ، وذلك بسبب إحتواء الغشاء على نسبة عالية من الدهون .

والغشاء السيتوبلازمى مسئول (مع الجدار الخلوى) عن الصبغ بطريقة جرام ، حيث أن الخلايا البكتيرية الموجبة لصبغة جرام ، يحتوى غشاؤها السيتوبلازمى ، على مركب معقد من كربوهيدرات وبروتينات مع ملح رايبونيوكليات المغنسيوم ، ويتحد هذا المركب باليود المضاف أثناء عملية الصبغ بجرام ، ويتم الإتحاد عن طريق روابط السلفيدريل الموجودة بالبروتين ، وينتج مركب معقد يتفاعل مع صبغة الجنسيان ويثبتها بالخلية .

إنغلافات ومحتويات الغشاء السيتوبلازمى

يظهر الغشاء السيتوبلازمى فى تحضيرات المجهر الإلكترونى على أنه ليس غشاءا بسيطا ، ، إذ يحتوى الغشاء على مجموعة من الانحناءات والانثناءات ، فى صورة أنابيب دقيقة ، أو حزم فى طبقات ، أو حويصلات ، أو أوعية ، منطوية على بعضها ، داخله فى السيتوبلازم ، وتسمى بالإنغلافات Invaginations .

وتختلف أشكال الإنغلافات ، وكمياتها ، ومدى تعمقها بالسيتوبلازم بإختلاف الأنواع البكتيرية ، [شكل ٥ (٢) – ١٣] وعموما ، فإن هذه الانغلافات تكثر فى البكتريا الممثلة للضوء ، وفى البكتريا التى تستخدم غازات فى غذائها ، مثل البكتريا المؤكسدة لغاز الميثان والبكتريا الأوتوتروفية كيميائية الطاقة .



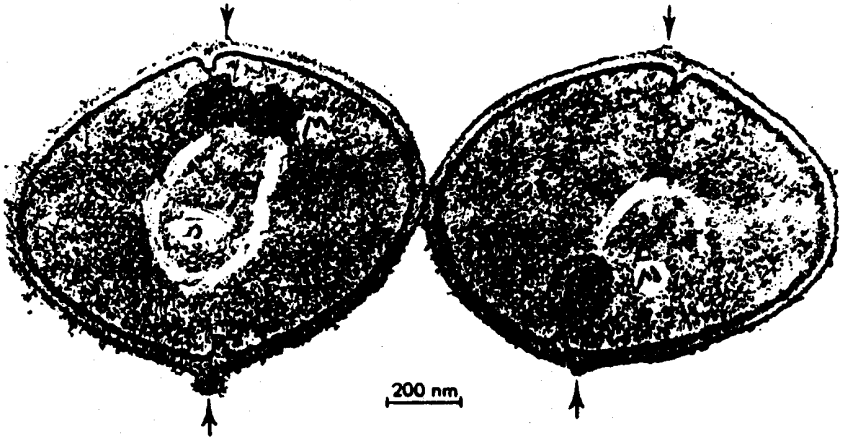
شكل ٥ (٢) - ١٣ : أشكال انغلافات الغشاء السيتوبلازمى المحتوية على الصبغات الضوئيـــة ، فـــى البكتريا الأرجوانية ، الممثلة للضوء .

a : الانغلافات على شكل حويصلات Vesicles فى بكتريا *Chromatium okenii* .
b : الانغلافات على شكل أنابيب Tubules ، فى بكتريا *Thiocapsa pfennigii* .
c : الانغلافات على شكل حزم متراصة فى طبقات ، فى بكتريا *Ectothiorhodospira mobilis* .

Ps : حبيبات عديدة السكريات Polysaccharide granules .
Chr : حاملات الصبغات Chromatophores
CW : جدار خلوى
S : حبيبات كبريت Sulfur droplets
LS : حزم فى طبقات Lamellar stacks .
T : انغلافات أنبوبية

وهذه الإنغلافات بالإضافة إلى أنها تزيد من السطح العام للغشاء السيتوبلازمى ، فيزداد مجال نشاطه الأيضى ، فإنها تحتوى أيضا على مجموعة من التركيبات والانزيمات الضرورية لحياة الخلية ، ولذا فإن هذه الانغلافات بما تحتويه من مواد حيوية ، تحل محل العضيات ذات الأغشية التى توجد بخلايا الكائنات الأخرى حقيقية النواه ، مثل الميتوكوندريا والكلوروبلاست ، والشبكة الاندوبلازمية والبلاستيدات ، حيث أن الخلايا البكتيرية لايوجد بها أمثال هذه العضيات.

فبعضا من هذه الإنغلافات ، يكون مايعرف بالميسوسوم ، وهذه منها ماهو ميسوسوم مركزى Central mesosome ، يقع فى منتصف الخلية ، ويمتد بعمق فى السيتوبلازم حتى يتصل بمادة الخلية النووية ، ويعتقد أن الميسوسوم المركزى يلعب دورا فى تضاعف الدنا ، وفى انقسام الخلية [شكل ٥ (٢) - ١٤] ، وفى بناء الأغشية ، وفى تكوين الجدر الخلوية الجديدة .



شكل ٥ (٢) - ١٤ : قطاع فى البكتريا الموجبة لصبغة جرام *Streptococcus faecalis* يوضح بداية انقسام الخلية (عند الأسهم) .

لاحظ وجود الميسوسوم المركزى (m) بكل خلية ، مجاورا لمادة الخلية النووية (n) التى تبدو أفتح قليلا .

ومنها ماهو ميسوسوم محيطى Peripheral mesosome ، وهذه توجد موزعة على محيط الغشاء ، ولاتتعمق فى السيتوبلازم ، ولاترتبط بمادة الخلية النووية ، ويعتقد أن الميسوسوم المحيطى يساعد على خروج بعض الانزيمات الخارجية إلى خارج الخلية ، كإنزيم البنسلينيز .

وفى البكتريا المؤكسدة لغاز الميثان ، والممثلة للضوء ، وفى كثير من البكتريا الأوتوتروفية كيميائية الطاقة ، فإن هذه الانغلافات تعمل على زيادة المسطح الغشائى القائم بالأنشطة الأيضية ، مثالا على ذلك مايحدث فى البكتريا الممثلة للضوء ، حيث تحتوى انغلافات

الغشاء السيتوبلازمى على جهاز التمثيل الضوئى (الكلوروفيل البكتيرى ، الكاروتينويدات ، النظام الناقل للألكترونات ، إنزيمات الفسفرة ...) ، مهيئه تلك الانغلافات بذلك ، مسطحا متسعا للتفاعلات الضوئية . وتعرف هذه الانغلافات بحاملات الصبغات Chromatophores ، وهى التى تحل محل تركيب الكلوروبلاست Chloroplast الموجود بخلايا حقيقيات النواة .

أما فى السيانوبكتريا ، وهى أيضا بكتريا ممثلة للضوء ، فإن أغشية خاصة بين خلوية Intracellular ، مسطحه الشكل ، هى التى تحتوى على صبغات التمثيل الضوئى ، وتعرف هذه الأغشية بالثيلاكويدات Thylakoids ، وتوجد الثيلاكويدات بهذه الخلايا ، متعمقة فى السيتوبلازم وتتصل بالغشاء السيتوبلازمى فى أماكن محددة .

ومن الإنزيمات التى توجد بالانغلافات ، إنزيمات التنفس الحيوى ، الخاصة بالأكسدة والإختزال والفسفرة وإنطلاق الطاقة ، وتحل هذه الانغلافات ، محل تركيب الميتوكوندريا الموجودة بخلايا حقيقيات النواة ، كما توجد بالانغلافات الانزيمات الخاصة بتخليق مكونات العلبة (الكابسول) ، ومكونات الجدار الخلوى .

الناقلات : Permeases

يحتوى الغشاء السيتوبلازمى على مايعرف بالناقلات Permeases ، وقد تسمى أيضا بالحاملات Carriers; Porters ، والناقلات بروتينية التركيب ، مستحثة التكوين ، تعتمد فى نشاطها على وجود مجموعة (SH) فى تركيبها ، ويثبطها مركبات الزئبق ومضاد الكلورامفنيكول ، وهى مسئولة عن نقل بعض العناصر الغذائية والمواد الإخراجية ، عبر الغشاء السيتوبلازمى ، إلى داخل الخلية ، أو إلى خارجها .

وأعداد الناقلات كبير ، فقد تصل أعدادها فى غشاء بكتريا *E. coli* ، على سبيل المثال الى حوالى ٦٠ نوعا ، وهى تقوم بنقل مختلف الأيونات والسكريات والأحماض الأمينية ... وغيرها من المواد .

ويطلق على الانتقال بواسطة الناقلات ، الإنتقال الإيجابى ، وهو يضم كل من الإنتشار الميسر Faciliated diffusion ، والانتقال النشط Active transport .

وتتميز الناقلات بأنها

- متخصصة فى عملها كالإنزيمات ، حيث أن لكل نوع من أنواع الجزيئات المنقولة ، الناقل المتخصص لنقلها ، الذى يستطيع أن يرتبط بالجزىء وينقله عبر الغشاء السيتوبلازمى . وعقب نقل المادة ، فإن الناقل ينفصل من المادة المنقولة ، ويعود إلى حالته الأولى ، ويكرر عملية الانتقال .
- تختلف الناقلات عن الانزيمات ، فى أن الناقلات تنقل المادة من مكان لاخر ، دون أن تحولها من صورة لأخرى .
- لاتعمل الناقلات إلا فى الأغشية الحية ، بخلاف الانزيمات التى يمكن أن تعمل أيضا فى أنبوبة الإختبار .

تركيب الغشاء السيتوبلازمى

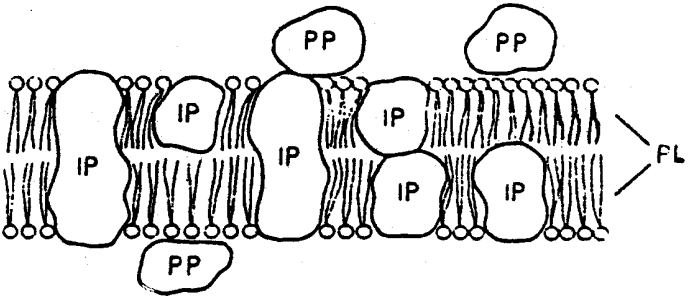
يظهر الغشاء السيتوبلازمى البكتيرى فى تحضيرات المجهر الإلكترونى ، بأنه ثلاثى الطبقات ، حيث توجد طبقة شفافة من الفوسفوليبيدات سمكها حوالى ٤-٥ نانومتر ، تقع بين طبقتين رقيقتين من البروتين معتمتين محبتين للضغط الأسموزى المرتفع ، وسمك كل طبقة منهما حوالى ٢-٣ نانومتر .

ويتركب الغشاء السيتوبلازمى [شكل ٥ (٢) - ١٥] أساسا من

١ - الفوسفوليبيدات ، وهى طبقة مزدوجة Bilayer ، وتشكل حوالى ٢٠-٣٠% من التركيب الجاف للغشاء .

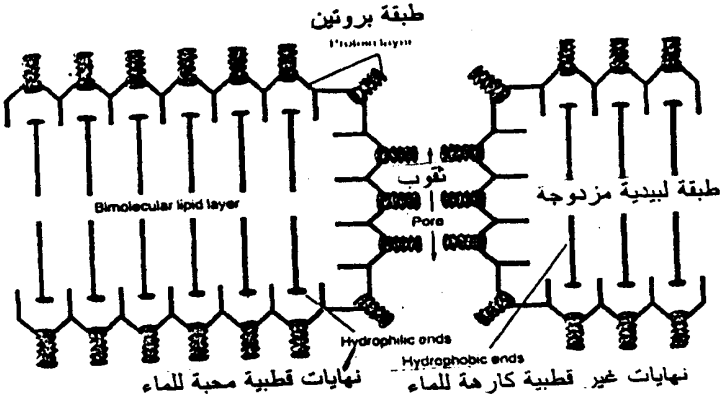
٢ - البروتين وهذا يشكل حوالى ٦٠-٧٠% .

٣ - مواد كربوهيدراتية معقدة ، تشكل حوالى ٢ - ٥% ، وهى مرتبطة ببروتينات كما فى الجليكوبروتينات ، أو مرتبطة بلبيدات كما فى الجليكوليبيدات . كما يحتوى الغشاء على مواد معقدة مرتبطة بحامض الرنا RNA .

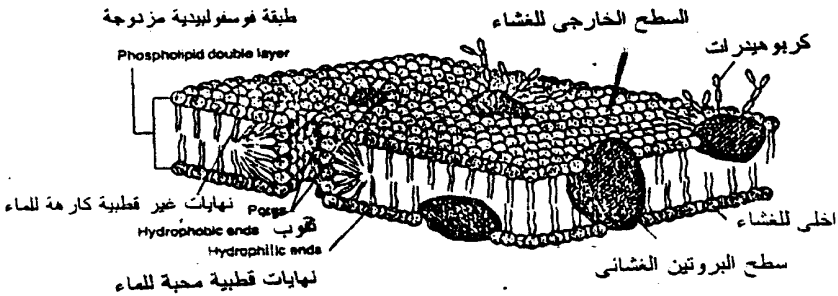


شكل ٥ (٢) - ١٥ : شكل تخطيطى لتوضيح تركيب الغشاء السيتوبلازمى بالبكتريا
تكون الفوسفوليبيدات (PL) طبقة مزدوجة ، حيث تتجه المجاميع القطبية (الدوائر) إلى الخارج ، وتتجه المجاميع غير القطبية (الذيول) الى الداخل .
IP : بروتين التكامل Integral protein
PP : بروتين محيطى Peripheral protein

وحسب النموذج الموزاييكى Fluid mosaic membrane model ، لـــتركيب الغشـــاء السيتوبلازمى ، الذى وضعه كل من Singer and Nicolson, 1972 [شـكلى ٥ (٢) – ١٦ ، ٥ (٢) – ١٧] فإن تركيب الغشاء تركيب ديناميكى ، وأن مكوناته فى حركة مستمرة ، تتبـــادل فيها الأماكن بطريقة تسمح ببقاء وتركيب الغشاء دون حدوث خلل بها . وأن بعـــض جزيئـــات البروتين الموجودة بالغشاء ، توجد كوحدات منفصلة ، ممتدة بعرض طبقـــة الفوســـفوليبيدات ، وتتحرك بسهولة فى وسادة من الليبيدات .



شكل ٥ (٢) – ١٦ : شكل تخطيطى للطبقات المكونة للغشاء السيتوبلازمى البكتيرى .
لاحظ وجود طبقتين من الفوسفوليبيدات محصورتين بين طبقتين من البروتين .



شكل ٥ (٢) – ١٧ : الشكل الموزاييكى للغشاء السيتوبلازمى البكتيرى ، لاحظ
- وجود طبقة فوسفوليبيدية مزدوجة ، ذيولها غير القطبية الكارهة للماء متجهـــة للداخـــل ، ورؤوســـها القطبية المحبة للماء متجهة للخارج .
- الثقوب الموجودة بالغشاء ، وتتشكل هذه الثقوب بتحرك وإعادة ترتيب الجزء الليبيدى .
- البروتين السابح فى الطبقة الليبيدية
- الكربوهيدرات المتصلة بالبروتين

بروتينات الغشاء السيتوبلازمى

يمكن تمييز نوعين من البروتين بالغشاء السيتوبلازمى [شكل ٥ (٢) – ١٨] .

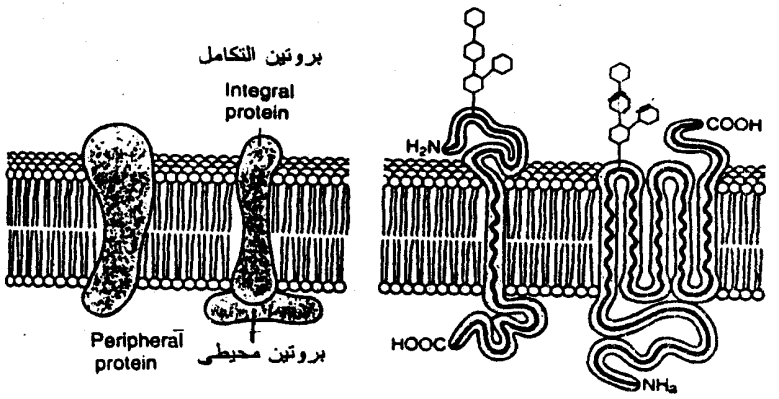
١ – بروتين محيطى : Peripheral protein

يحيط هذا البروتين بالفوسفوليبد كطبقة رقيقة ، وهو غير قوى الارتباط بـه ، ويمكـن إزالة البروتين المحيطى بسهولة من الغشاء ، بتعريض الخلية لصدمة أسموزية معتدلة .

٢ – بروتين التكامل : Integral protein

يمثل هذا البروتين أغلب بروتينات الغشاء ، ويوجد متماسكا بقوة بمنطقة الفوسفوليبيدات ، وهذه البروتينات من الصعب إزالتها من الغشاء ، إلا بتكسير الغشاء ، كما فى حالـة المعاملـة بالمنظفات .

وبمساعدة بروتينات التكامل ، تتم عملية إنتقال المواد عبر الغشاء السيتوبلازمى ، مـن وإلـى الخلية .



شكل ٥ (٢) – ١٨ : نموذج للغشاء السيتوبلازمى البكتيرى ، لاحظ
- بروتين التكامل منغمس فى الطبقة الليبيدية
- البروتين المحيطى يوجد على سطح الغشاء
- السلاسل عديدة السكريات المتصلة بالسطح الخارجى للغشاء ، موضحة بأعلى الشكل .

فوسفوليبيدات الغشاء السيتوبلازمى

تشكل ليبيدات الغشاء ، وهى موجودة فى الفوسفوليبيدات ، حوالى ٧٠-٨٠% من المحتوى الليبيدى الموجود بالخلية البكتيرية ، رغم أن الفوسفوليبيدات لاتشكل إلا حوالى ٨-١٥% من الوزن الجاف للخلية .

ويوضح جدول [٥ (٢) - ٢] تركيب الغشاء السيتوبلازمى لبعض أنواع البكتريا .

جدول ٥ (٢) - ٢ : تركيب الغشاء السيتوبلازمى لبعض أنواع البكتريا .

المكونات	نسبة مئوية من الوزن الجاف للغشاء	
	بكتريا ارجوانية	*Micrococcus luteus*
ليبيدات	٤٠-٥٠	٢٨-٣٧
متعادلة	١٠-٢٠	٩
فوسفوليبيدات	٣٠	٢٨
بروتينات	٥٠	٥٠
سكريات سداسية	١٥-٢٠	٢٥-٢٠

تُكوّن الفوسفوليبيدات طبقة مزدوجة بالغشاء السيتوبلازمى ، ويتضمن الفوسفوليبيد مجموعة غير قطبية Non-polar ، تعرف بالذيل Tail ، هى سلسلة من الأحماض الدهنية ، وهذه السلسلة متصلة عبر الجلسرول بمجموعة قطبية Polar ، تعرف بالرأس Head ، تتكون من استر فوسفات .

وفى الطبقة المزدوجة للفوسفوليبيدات ، فإن سلاسل الهيدروكربونات غير القطبية الكارهة للماء Hydrophobic (الذيول) تتجه إلى الداخل ، بينما تتجه الرؤوس القطبية المحبة للماء Hydrophilic إلى الخارج ، وهذا الشكل البنائى يساعد الفوسفوليبيد على القيام بوظيفته فى النفاذية ، كما أن خاصية السيولة Fluidity التى يتميز بها الجزء الليبيدى المكون للغشاء ، تسمح لمكونات الغشاء من الدوران حول نفسها والتحرك جانبيا ، وهذه الخاصية (السيولة) ضرورية أيضا لعمل الغشاء ، وتعتمد السيولة على مجموعة من العوامل منها درجة الحرارة ، ونسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة إلى الأحماض الدهنية المشبعة الداخلة فى تركيب الفوسفوليبيدات .

وإذا ماقمنا بمزج الفوسفوليبيد مع الماء ثم تركناه لفترة ، فإنه يستعيد الشكل الغشائى ثانية ، وهذا الشكل الغشائى للفوسفوليبيدات ، هو الذى يساعد الغشاء السيتوبلازمى على التحكم فى حركة الماء وغيره من المواد ، على جانبى الغشاء . وبسبب هذه الخاصية ، فإننا لو تصورنا بأننا قمنا بثقب الغشاء بآلة حادة ، فإنه بمجرد نزع الآلة ، فإن الغشاء يلتحم ثانية . وتساعد هذه الخاصية فى المحافظة على الشكل المتكامل للغشاء ضد العوامل الميكانيكية .

تختلف أنواع الفوسفوليبدات الداخلة فى تركيب الغشاء السيتوبلازمى بإختلاف أنواع البكتريا ، فبينما يكون Phosphatidyl ethanolamine ، هو المركب الأساسى بالفوسفوليبد فى بكتريا فصيلة Enterobacteriaceae ، فإنه توجد أنواع أخرى عديدة من الفوسفوليبدات التى توجد فى البكتريا الأخرى ، منها

Phosphatidyl-ethanolamine, Phosphatidyl-glycerol, Phosphatidyl-inositol, Phosphatidyl-ornithine, Phosphatidyl serine, ... etc.

ويتراوح طول سلسلة الحامض الدهنى بالفوسفوليبد بين ٨ الى ١٩ ذرة كربون ، وأكثر الأحماض شيوعا بالسلسلة ، هى تلك التى يتراوح عدد ذرات الكربون بسلسلتها من ١٥-١٨ ذرة كربون .

وتختلف نوعية الأحماض الدهنية الموجودة بالسلسلة بإختلاف الأنواع البكتيرية ، ففى البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، فإنها تحتوى على سلاسل من أحماض دهنية مشبعة ، بينما تحتوى البكتريا السالبة لصبغة جرام ، على سلاسل لخليط من أحماض دهنية مشبعة وغير مشبعة . وترتبط نسبة كل منهما بالآخر ، بدرجة الحرارة التى تنمو عليها البكتريا ، فكلما زادت نسبة الأحماض المشبعة بالفوسفوليبد ، كلما زادت قدرة البكتريا على تحمل الحرارة المرتفعة ، بينما نجد فى البكتريا المحبة للحرارة المنخفضة ، أن أغلب الأحماض الدهنية بها غير مشبعة حتى لاتتجمد أغشيتها وتتحطم الخلايا وتموت ، أما البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة ، فإن نسبة مابها من الأحماض الدهنية المشبعة إلى غير المشبعة ، تكون بنسبة ١:١ تقريبا .

إضافة إلى ماسبق فإن الغشاء السيتوبلازمى البكتيرى ، يتميز بخلوه من الاسترولات* Sterols ، وذلك فيما عدا مجموعة بكتريا المايكوبلازما ، التى يحتوى غشاؤها السيتوبلازمى على كولسترول ، (وهو أحد أنواع الاسترولات) .

وتختلف الليبيدات الموجودة فى الغشاء السيتوبلازمى ببدائيات النواه ، عن تلك الليبيدات الموجودة بأغشية خلايا حقيقيات النواة ، حيث تتميز ليبيدات أغشية بدائيات النواة ، بأنها تحتوى على أحماض دهنية متفرعة السلسلة ، وأن السلاسل أقصر طولا ، وأقل تشبعا ، مقارنة مع حقيقيات النواه ، وأنها فى بدائيات النواة تحتوى على بروبان حلقى Cyclopropane ، كما يندر وجود الليسيثين Lecithin فى ليبيدات بدائيات النواة .

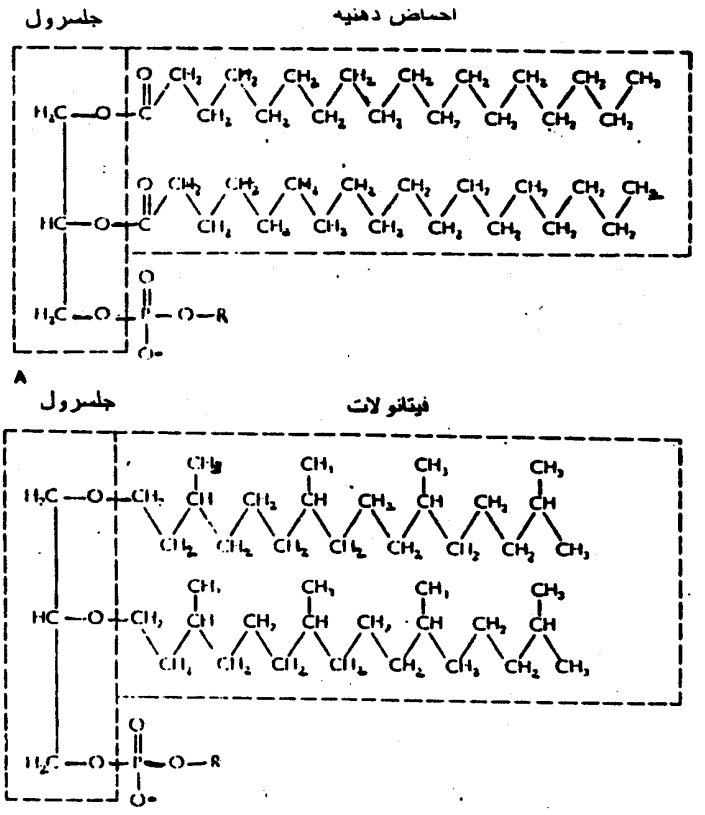
الغشاء السيتوبلازمى فى بكتريا الأركيو والبكتريا الحقيقية

يختلف غشاء بكتريا الأركيو عن غشاء البكتريا الحقيقية فى بعض مكوناته ، ولعل من الفروقات الأساسية ، هو تركيب منطقة الفوسفوليبدات فى كلا النوعين من البكتريا .

---

* الاسترولات Sterols ، هى أحد أقسام الليبيدات ، التى تتميز بأنها ذات تركيب حلقى مكثف ، وقد يصل عدد ذرات الكربون بها الى ٣٠ ذرة كربون أو أكثر .

ففى حالة البكتريا الحقيقيـــة ، فـــإن الفوســـفوليبيدات عبـــارة عـــن فوسفوجلســـريدات Phosphoglycerides ، وبها السلاسل المستقيمة للأحمـــاض الدهنيـــة Straight-chain fatty acids ، مرتبطة بروابط استر Ester-linked مع الجلسرول [شكل ٥ (٢) - ١٩] ، بينما فـــى حالة الأركيو بكتريا ، فإن الفوسفوليبيدات عبارة عن سلاسل متفرعة من بولى ايســـو برينويـــد Polyisoprenoid branched-chain lipids ، وترتبـــط السلاســـل المتفرعـــة للفايتـــانولات Phytanols، بروابط اثيرية Ether-linked مع الجلسرول [شكل ٥ (٢) - ١٩] ، وروابط الاثير أقوى من روابط الاستر ، مما يزيد من قوة بكتريا الأركيو على تحمل تأثير الحرارة والضـــوء المرتفع .



شكل ٥ (٢) -

A : فوسفوليبيد فى غشاء سيتوبلازمى لبكتريا حقيقية ، موضحا لتركيب سلسلتين طويلتين غـــير متفرعتيـــن مـــن الأحماض الدهنية ، مرتبطة بروابط استر مع الجلسرول .

B : فوسفوليبيد فى غشاء سيتوبلازمى لبكتريا الأركيو ، موضحا لتركيب سلسلتين متفرعتين من سلاسل الفيتانول ، مرتبطة بروابط اثيرية مع الجلسرول .

كربوهيدرات الغشاء السيتوبلازمى

تشكل الكربوهيدرات حوالى ٢-٥% من التركيب الجاف للغشاء السيتوبلازمى ، ومنها ماهو مرتبط بالبروتين ليكون جليكوبروتينات Glycoproteins ، أو مرتبط بلبيدات ، ليكون جليكولبيدات Glycolipids .

ولكلا النوعين (الجليكوبروتينات والجليكولبيدات) ، دور فى التحكم فى حركة المواد عبر الغشاء السيتوبلازمى من خلال عملية الابتلاع Endocytosis ، التى تتضمن إحاطة المادة الداخلة إلى الخلية بما يشبه الغشاء ، مكونة فجوة غذائية . وبعد إبتلاع المادة تفرز الخلية انزيمات على تلك المادة ، لهضمها وإمتصاصها .

والابتلاع على نوعين

١ - الالتقام (البلعمة) Phagocytosis

وفى هذه العملية يقوم الكائن بإبتلاع جزيئات كبيرة الحجم ، كما يحدث فى الالتقام بواسطة البروتوزوا ، أو التقام كرات الدم البيضاء للميكروبات .

٢- الإرتشاف Pinocytosis

وفى هذه العملية يقوم الكائن بإبتلاع السوائل ، أو جزيئات ذائبة ، أو جزيئات صغيرة الحجم .

تحتاج عملية الابتلاع بنوعيها (الالتقام والارتشاف) إلى طاقة ، مع توفر الكالسيوم وكربوهيدرات الغشاء السيتوبلازمى . وعملية الابتلاع ليست عملية عشوائية ، بل تقع تحت سيطرة الخلية ، فالخلية لاتبتلع إلا الجزيئات التى تحتاجها ، ويتم ذلك بواسطة نقاط تعارف Recognition sites (مجموعات كيميائية بمركبات الجليكوبروتينات والجليكولبيدات) توجد على السطح الغشائى للخلية ، تتعرف بها الخلية على الجزيئات التى تبتلعها .

إذا ماحدث تعارف بين الجزيئات المطلوب ابتلاعها ، وبين المركبات الكربوهيدراتية الموجودة بالغشاء السيتوبلازمى للخلية ، يحدث إلتصاق بين الجزيئات المطلوب إبتلاعها وبين كربوهيدرات الغشاء ، ويتم بعد ذلك الابتلاع .

وتؤدى تغطية نقاط التعارف الموجودة بالغشاء السيتوبلازمى الى توقف عملية الابتلاع ، كما يحدث فى حالة بكتريا الالتهاب الرئوى *Streptococcus pneumoniae* ، فالأنواع ذات العلبة ، من هذه البكتريا ، لاتتمكن كرات الدم البيضاء من التقامها ، لأن علبة البكتريا تغطى نقاط التعارف الموجودة بغشاء البكتريا السيتوبلازمى ، فإذا ماإختفت العلبة ، تظهر نقاط التعارف ، فتتعرف كرات الدم البيضاء على البكتريا المرضية ، وتلتقمها .

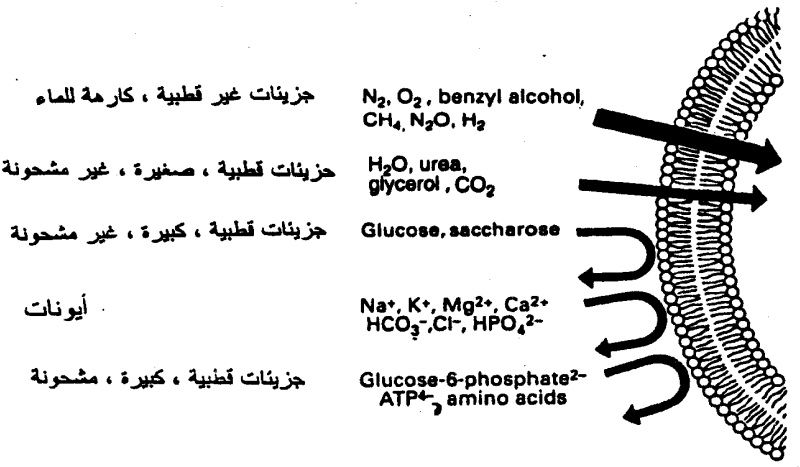
النفاذية ، انتقال المغذيات فى البكتريا : Transport of nutrients

الغشاء السيتوبلازمى غشاء مرن ، هش ، شبه منفذ ، يسمح بمرور الماء والمواد الذائبة فيه بدرجات مختلفة ، حسب حاجة الخلية ، إذ أن للغشاء السيتوبلازمى خاصية النفاذية الإختيارية ، لذلك يعتبر الغشاء السيتوبلازمى ، المسئول عن كل عمليات الانتشار الغشائى من

الخلية واليها ، حيث أن نظام تركيب الغشاء السيتوبلازمى ، وبما يحتويه من ناقلات ، ومايمتاز به من خاصية السيولة Fluidity ، يهيؤه لتأدية وظيفة النفاذية ، التى تتم بنظم مختلفة .

إضافة الى ذلك ، فإن الطبقة الفوسفوليبيدية المزدوجة الداخلة فى تكوين الغشاء السيتوبلازمى ، تحتوى على ثقوب دقيقة Pores ، وهذه الثقوب غير ثابتة ، حيث تظهر وتختفى باستمرار مع حركة الجزء الليبيدى ، وتسمح سعة هذه الثقوب لجزيئات الماء وبعض الايونات بالمرور خلالها بنظام الانتشار البسيط Simple diffusion ، أما الجزيئات الأكبر حجما فإنها لاتمر من تلك الثقوب .

ويوضح الشكل [٥ (٢) – ٢٠] ، معدلات الانتشار لمجموعة من المواد عبر الغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية .



شكل ٥ (٢) – ٢٠ : نفاذية بعض الجزيئات فى الغشاء الليبيدى المزدوج للبكتريا .

ويلاحظ من الشكل أن المواد الكارهة للماء تنفذ بسهولة ، بينما يصعب ذلك على الانزيمات والمواد القطبية وبعض الأيونات ، وتتم عملية الانتقال من وإلى الخلية ، عبر الغشاء السيتوبلازمى بمساعدة بروتين التكامل Integral protein الموجود بالغشاء السيتوبلازمى .

نظم النفاذية

يعمل الغشاء السيتوبلازمى كحاجز ، مابين خارج الخلية وداخلها ، ولذلك فإن أية مادة لابد أن تنفذ من خلال هذا الحاجز ، لكى تدخل الى داخل الخلية ، أو تخرج منها .

وتتم هذه النفاذية بنظم مختلفة [شكل ٥ (٢) - ٢١] ، هى

١- الانتشار البسيط : Simple diffusion

فى هذا النظام ، ، كما ذكر سابقا ، تمر جزيئات المذاب من الثقوب الدقيقة Pores ، الموجودة بين جزيئات الغشاء السيتوبلازمى ، حيث تستطيع الجزيئات ذات الحجم الصغير مثل الماء ، وبعض الجزيئات غير القطبية مثل N_2 & O_2 ، وبعض الإنزيمات ، من المرور خلال تلك الثقوب ، أما الجزيئات الأكبر حجما من الثقوب ، فإنها لاتمر .

٢- الانتشار غير المُنشَّط : Passive diffusion

فى هذا النظام [شكل ٥ (٢) - ٢١ أ] تمر الجزيئات من ناحية الغشاء ، التى يكون فيها الجزيئات أعلى تركيزا ، إلى الناحية الأخرى من الغشاء ، التى تكون فيها الجزيئات أقل تركيزا ، بمعنى أن انتشار المواد يكون فى إتجاه الانحدار ، دون الحاجة إلى وجود عوامل منشطة ، إذ لايحتاج هذا النظام ، أو النظام السابق (الانتشار البسيط) ، إلى مواد مساعدة أو إلى طاقة لكى تتم عملية الانتشار .

ويحدث الانتشار غير المنشط بالنسبة للمواد التى يمكنها أن تمر خلال الغشاء بسهولة ، مثل المواد الذائبة فى الليبيدات .

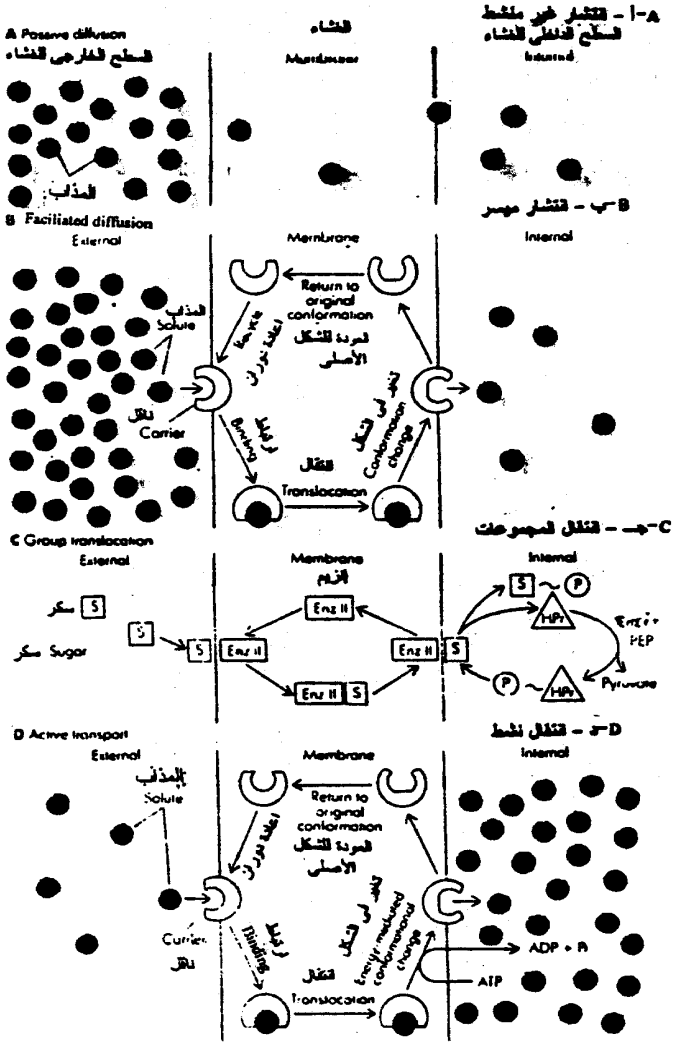
ويعتبر الماء من أهم المواد التى تنتشر عبر غشاء الخلية السيتوبلازمى ، بنظام الانتشار البسيط أو بالانتشار غير المنشط ، ونظرا لأن أغلب الأحياء الدقيقة تعيش فى وسط يختلف فى تركيزه عن تركيز الوسط بداخل الخلية ، فإن الجدار الخلوى للخلية ، يقوم بحماية الخلية من الإنكماش الأسموزى ومن الانتفاخ الأسموزى .

بعض الأنواع البكتيرية ، مثل التابعة لجنس *Halobacterium* ، محبة للملوحة المرتفعة ، وتستطيع أن تنمو فى وسط عالى الملوحة ، رغم أنه ليس لها جدار خلوى ، لأن بغشائها السيتوبلازمى صفات تركيبية مناسبة ، تساعد تلك البكتريا على تحمل الضغط الأسموزى المرتفع .

٣- الانتشار الميسر : Faciliated diffusion

يشابه هذا النظام [شكل ٥ (٢) - ٢١ ب] ، نظام الانتشار غير المُنشَّط ، فى أن الجزيئات الذائبة فى كلا النظامين تنتشر عبر الغشاء السيتوبلازمى فى إتجاه الانحدار ، من التركيز الأعلى إلى التركيز الأقل ، ولاتحتاج عملية الانتشار الى طاقة ، ولكن يختلف الانتشار الميسر عن الانتشار غير المنشط ، فى احتياج الانتشار الميسر إلى عوامل حيوية مساعدة توجد بالغشاء ، تسمى الناقلات Permeases ، تيسر عملية الانتشار .

يرتبط الناقل بالجزىء ، ويعود الارتباط إلى أن جزيئات المادة المنقولة ، تكون متلائمة للإرتباط مع البروتين الناقل المتخصص ، ويؤدى ارتباط الجزىء المنقول بالناقل ، إلى حدوث تغير فى شكل البروتين الناقل ، يصحبه دوران لهذا البروتين بما يحمله من جزيئات



شكل ٥ (٢) – ٢١ : نظم انتقال العناصر الغذائية إلى داخل الخلية البكتيرية .
أ – انتشار غير منشط ب – انتشار ميسر جـ – انتقال المجموعات د – انتقال نشـــط
S : سكر ، Enz : انزيم ، S-P : سكر فوسفاتي ، HPr : ناقل بروتيني متحمل للحرارة
PEP : حامض فوسفوانيول بيروفيك

منقولة ، ويتحرك البروتين الناقل بما يحمله ، من السطح الخارجي للغشاء إلى السطح الداخلي ، حيث ينفصل الجزيء المنقول من الناقل ، ويدخل الجزيء المنقول إلى سيتوبلازم الخلية ، وينفرد الناقل ، ويعود الى شكله الأصلي ، ويدور ، ويتحرك إلى السطح الخارجي للغشاء ، ويعاود الناقل عمله من جديد [٥ (٢) - ٢١ ب] .

ويسود نظام الانتشار الميسر فى حقيقيات النواة عن بدائيات النواه ، ومن المواد التى تنتشر بهذا النظام ، السكريات .

إن أنظمة الانتشار الثلاثة السابقة ، لاتحتاج الى طاقة ، وتعمل فى إتجاه الإنحدار ، ولاتعمل عكس الأسموزية ، وهى نظم غير قادرة على تجميع الجزيئات المطلوبة بداخل الخلية ، أو على زيادة تركيزها بالخلية . أما النظامين التاليين ، وهما نظام الانتقال النشط ونظام انتقال المجموعات ، فانها نظم تحتاج إلى طاقة ، ويمكن أن تعمل عكس الإنحدار Against gradient وهى نظم قادرة على تجميع الجزيئات بداخل الخلية وزيادة تركيزها ، عما هو موجود بخارج الخلية منات المرات .

٤ - الانتقال النشط : Active transport

(وقد يسمى أيضا بمضخة نقل الجزيئات أو الأيونات Molecular or ion pumb transport)

تنتقل أغلب المواد الذائبة ، مثل السكريات ، الأحماض الأمينية ، الببتيدات ، النيوكليوسيدات ، والأيونات ... الخ ، خلال الغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية ، بنظام الانتقال النشط . ويحتاج هذا النظام الى توفر طاقة ووجود ناقلات ، حتى تتم عملية الانتقال .

ويتم هذا الانتقال النشط فى ثلاث خطوات رئيسية [شكل ٥ (٢) - ٢١د] هى

أ - ارتباط الجزيء المنقول بالبروتين الناقل ، وتكون مركب مرتبط من الجزيء المنقول والناقل البروتينى ، ويتم الارتباط بإتحاد الجزيء المنقول بمراكز استقبال تقع على السطح الغشائى للناقل .

ب -انتقال المركب المرتبط عبر الغشاء السيتوبلازمى من سطح الغشاء الخارجى الى سطحه الداخلى ، كما يحدث فى حالة الانتشار الميسر .

جـ - تحرر الجزيء المنقول من الناقل ، عند السطح الداخلى للغشاء السيتوبلازمى ، حيث يدخل الجزيء المنقول الى سيتوبلازم الخلية ، وينتقل الناقل الى السطح الخارجى للغشاء ، ليعاود نشاطه من جديد .

فك الارتباط الموجود بالمركب المرتبط ، الذى يربط بين الجزيء المنقول والناقل ، يتم بتفاعل إزدواجى Couple reaction بين المركب المرتبط وبين مادة مانحة للطاقة ، حيث تعمل الطاقة الناتجة على فك الارتباط ، وتحرر الناقل من الجزيء المنقول .

٥- إنتقال المجموعات : Group translocation

يحتاج هذا النظام إلى توفر طاقة وناقلات ومجموعات انزيمية لكى تتم عملية الانتقال .
وفى هذا النظام [شكل ٥ (٢) - ٢١ جـ] ، تنتقل بعض المجموعات الكيميائية ، مثل السكريات ومشتقاتها ، من خارج الخلية إلى داخلها ، وذلك بعد حدوث تغير كيميائى وفسفرة للمجموعة المنقولة ، حتى تدخل إلى سيتوبلازم الخلية ، وتتجمع بها كسكر ثنائى .

مثالا على ذلك إنتقال السكر (S) من خارج بكتريا *E. coli* إلى داخلها ، بعد تحوله الى سكر فوسفاتى S-P ، ويشارك فى هذه العملية ، مجموعات إنزيمية عديدة ، ومجموعات ناقلة ، منها

نظام الفوسفو ترانسفريز ..... Phosphotransferase system, PTS

حامض فوسفواينول بيروفيك ..... Phosphoenol pyruvate, PEP

ناقل بروتينى متحمل للحرارة ..... Heat-stable carrier protein, HPr

ويمكن تتبع عملية الانتقال من الشكل [٥ (٢) - ٢١ جـ] ومن المعادلة العامة التالية

$$\text{PEP} + \underset{\text{سكر بخارج الخلية}}{\text{S}} \xrightarrow[\text{Enz II}]{\text{Enz I + HPr}} \underset{\text{سكر فوسفاتى بداخل الخلية}}{\text{S-P}} + \text{Pyruvate}$$

ومن المجموعات الأخرى التى تنتقل بنفس النظام ، مجموعات الأدنين والبيوتيرات Adenine & Butyrate ، التى تنتقل من السطح الخارجى لغشاء الخلية البكتيرية إلى السطح الداخلى للغشاء ، بعد أن تتحول مجموعة الأدنين إلى Adenine monophosphate ، وبعد تحول مجموعة البيوتيرات إلى Butyryl - Coenzyme A .

طاقة الانتقال

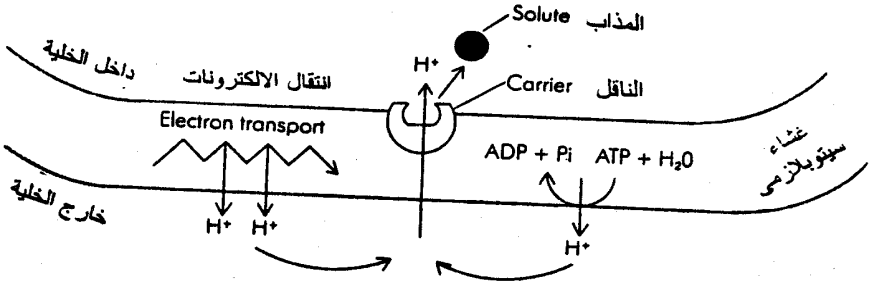
يتطلب إنتقال المواد الذائبة عبر الغشاء السيتوبلازمى ، توفر طاقة ، وذلك فى حالة الانتقال النشط وفى حالة انتقال المجموعات . وتعمل الطاقة على تنشيط البروتين الناقل ، وإحداث تغيير فى شكله ، تجعل الناقل قادرا على الارتباط بجزيئات المادة المنقولة ، وحملها ، ونقلها الى الناحية الأخرى من الغشاء ، حيث يتحرر الناقل من المادة المنقولة ، ويصبح قادرا على نقل جزيئات جديدة .

فى حالة الانتقال النشط ، فإنه يلاحظ أن تدفق الالكترونات عبر السلسلة التنفسية ، وانشطار مجموعة فوسفاتية من جزىء ATP ؛ يدفع البروتونات (H^+) لتخرج الى خارج الخلية ، وحدوث إنحدار بروتونى Proton gradient ، مما يؤدى الى تولد فرق فى قيمة ق يد pH ، وفى قيمة الجهد الكهربى Electric potential ، بين داخل الخلية وخارجها ، أو عبر غشائها السيتوبلازمى .

ويؤدى الانحدار البروتونى ، إلى تولد قوة دافعة للبروتون Proton motive force ، يمكن أن تستخدمها الخلية البكتيرية ، فى ضخ المواد الذائبة من خارج الخلية إلى داخلها .

وعند دخول البروتونات ثانية الى داخل الخلية ، فإن الطاقة الناتجة من هذا الدخول ، تُنشِّط الناقلات وتدفعها الى نقل المواد الذائبة ، عبر الغشاء السيتوبلازمى .

ويوضح [الشكل ٥ (٢) – ٢٢] ، عملية الربط مابين الانتقال النشط وبين الطاقة المولدة من الأيض الغذائى .



شكل ٥ (٢) – ٢٢ : إرتباط الطاقة المنطلقة من الايض مع نظام الانتقال النشط بالغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية .

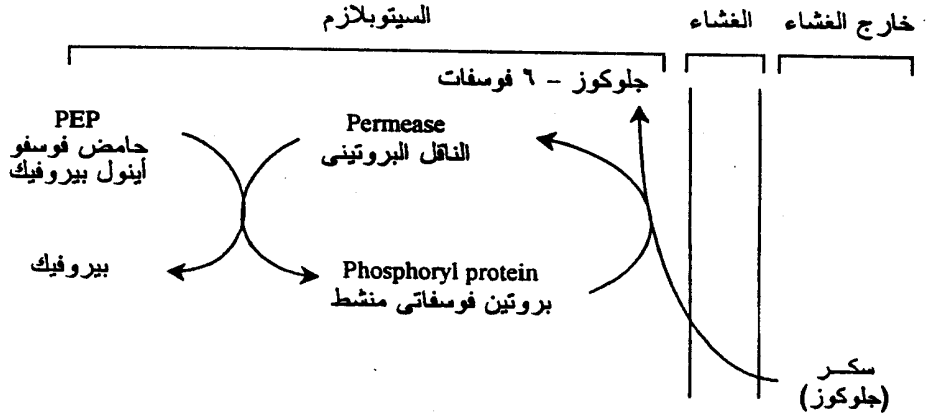
وفى نظام إنتقال المجموعات Group translocation ، تأتى الطاقة اللازمة لعملية الانتقال عبر الغشاء السيتوبلازمى ، من حامض الفوسفوإينول بيروفيك الناتج من دورة الانحلال الجليكولى بالخلية ، حيث يتحد الحامض بالبروتين الناقل (البرميز) ، فينشط الناقل ، ويقوم بحمل المجاميع ونقلها ، وتعادل الطاقة الناتجة عن جزىء الفوسفوإينول بيروفيك ، تلك الطاقة الناتجة عن استخدام المجموعة الطرفية فى جزىء ATP ، ويمكن تمثيل خطوات هذا الانتقال بما يلى

Phosphoenol pyruvic acid + Protein carrier ⟶ Phosphoryl protein + Pyruvic

PEP — **ناقل بروتينى (برميز)** — **بروتين فوسفاتى منشط**

Phosphoryl protein + Sugar ⟶ Sugar phosphate + Protein

ويمكن توضيح ذلك بالتخطيط التالى



البروتوبلاست (خلية بدون جدار خلوى) Protoplast

البروتوبلاست عبارة عن الخلية البكتيرية التى بدون جدار خلوى ، أى جزء الخلية البكتيرية الذى يحتوى على الغشاء السيتوبلازمى ، ومايوجد بداخله من مكونات خلوية .

ويمكن الحصول على البروتوبلاست من الخلايا البكتيرية ، بمعاملة الخلايا بإنزيم اللايسوزيم الذى يذيب الجدار الخلوى ويزيله ، أو بزراعة البكتريا فى وسط يحتوى على مضاد البنسلين الذى يمنع تكوين الجدار الخلوى ، أو بتعريض الخلايا لضغط أسموزى مناسب ، حيث تنتفخ الخلية البكتيرية ، وينفصل الجدار الخلوى عن باقى الخلية ، أو بزراعة خلايا البكتريا فى وسط يخلو من حامض الداى أمينوبيميليك ، الى غير ذلك من الطرق .

ونتيجة لفقد الخلية لجدارها الخلوى ، فإن خلايا البروتوبلاست الناتجة ، تكون عبارة عن خلايا لينة ، هشة ، كروية (بصرف النظر عن شكلها الأصلى) ، وتكون شديدة الحساسية لتأثير الضغوط الأسموزية ، والرج والطرد المركزى ، ولايلتصق البكتريوفاج بخلايا البروتوبلاست .

وللمحافظة على حيوية خلايا البروتوبلاست ، فإنه يجب أن توجد تلك الخلايا فى وسط متساوى الأسموزية Isotonic ، أى ذى ضغط أسموزى بخارج البروتوبلاست مساو لما بداخل البروتوبلاست .

خلايا بكتريا مجموعة المايكوبلازما ، خلايا بدون جدار خلوى ، وهذا الفقد ليس نتيجة المعاملة ، بل هو صفة وراثية ، وبسبب عدم وجود جدار خلوى بالمايكوبلازما ، فإن لخلاياها خصائص خلايا البروتوبلاست ، فأغلبها كروى الشكل ، ولاتتحمل الضغوط الأسموزية ، وأغلب خلايا المايكوبلازما ، طفيليات على النباتات ومفصليات الأرجل والحيوان ، حيث تعيش فى وسط عادة متساوى الأسموزية ، ويدخل فى تركيب أغشية بعض أنواع المايكوبلازما ، مادة الكولسترول (أحد أنواع الاستيرولات) ، التى تعطى لغشائها جزءا من الصلابة .

السفيروبلاست : Sphaeroplast

السفيروبلاست عبارة عن خلية بكتيرية فقدت جزءا أو أجزاءا من جدارها الخلوى (وليس كل الجدار) ، إذ مازال بعض أجزاء من ذلك الجدار متبقية ، ومرتبطة بغشاء الخلية السيتوبلازمى .

خلايا السفيروبلاست خلايا مستديرة ، وشديدة الحساسية للضغوط الأسموزية ، ويمكن الحصول على خلايا السفيروبلاست ، من الخلايا السالبة لصبغة جرام ، بمعاملة الخلايا باللايسوزيم أو بالبنسلين ، أو بتعريضها للضغوط الأسموزية ، وذلك كما فى حالة الحصول على خلايا البروتوبلاست من خلايا البكتريا الموجبة لصبغة جرام .

أهمية الغشاء السيتوبلازمى للبكتريا

للغشاء السيتوبلازمى أهمية كبيرة فى حياة الخلية البكتيرية ، وفى قيامها بوظائفها الحيوية المختلفة ، وإذا ماوقع ضرر على الغشاء السيتوبلازمى لسبب فيزيائى أو كيميائى ، فإن ذلك يؤدى إلى توقف نشاط الخلية وموتها .

ومما ذكر سابقا عن الغشاء السيتوبلازمى البكتيرى ، فإنه يمكن أن نوجز أهميته فيما يلى

١ – الغشاء تركيب نشط ، له خاصية النفاذية الاختيارية ، وهو المسئول عن كل عمليات الانتشار الغشائى ، من وإلى الخلية .

أ – فهو منظم لحركة الماء والكربوهيدرات والبروتينات واللبيدات والأيونات ... وغيرها من المواد .

ب – ويساعد على تركيز العناصر الغذائية بداخل الخلية ، رغم وجودها خارج الخلية بتركيزات منخفضة .

جـ – ويعمل على تنظيم إخراج المواد التالفة ، والانزيمات الخارجية التى تفرزها الخلية البكتيرية ، الى خارجها .

٢ – يحتوى الغشاء على كثير من الانزيمات التى تخلقها الخلية ، كما يحتوى فى تركيبات خاصة (الانغلافات) ، على الانزيمات التنفسية المسئولة عن الأكسدة والإختزال وانتقال الالكترونات والفسفرة ... الخ .

٣ – يحمل الغشاء جهاز التمثيل الضوئى الخاص بالبكتريا الممثلة للضوء ، من كلوروفيل بكتيرى ، وكاروتينويدات ، ونظام ناقل للالكترونات ، وانزيمات فسفرة ... الخ

٤– يحتوى الغشاء على الناقلات البروتينية Permeases ، المسئولة عن عمليات انتقال المواد عبر الغشاء السيتوبلازمى .

٥ – يوجد بالغشاء مراكز تضاعف الحامض النووى الدنا DNA ، ويتم بالغشاء كثير من العمليات التخليقية الحيوية ، الخاصة بإنقسام الخلية ، وتخليق الجدار الخلوى ، وتكوين العلبة البكتيرية .

٦ – يعتبر الغشاء السيتوبلازمى ، مكان توليد القوة الدافعة للبروتون Proton motive force، التى تأتى منها الطاقة اللازمة لتخليق ATP فى كثير من الكائنات ، وفى عمليات الانتشار الغشائى ، وفى تحريك الأسواط .

٧ –يحتوى الغشاء السيتوبلازمى على منابت الأسواط البكتيرية ، بالبكتريا المتحركة .

٨ –يشارك الغشاء السيتوبلازمى الجدار الخلوى ، المسئولية فى إيجابية الصبغ بطريقة جرام .

السيتوبلازم ومحتوياته الداخلية : Cytoplasm and its inclusions

مميزات السيتوبلازم البكتيرى

يحيط الغشاء السيتوبلازمى ، بالسيتوبلازم ، ويفصله عن الجدار الخلـــوى . ويمكـــن الحصول على السيتوبلازم ومحتوياته بتعريض الخلايا البكتيرية للطرد المركزى فائق الســـرعة (١٠٠,٠٠٠ g) لعدة ساعات فى بيئة مخففة ، وبالتالى يمكن استخلاص مايحتويه الســـيتوبلازم من إنزيمات ذائبة ومايحتويه من أحماض الرنا mRNA & tRNA ، ورايبوسومات مسئولة عن تخليق البروتين .

فالسيتوبلازم هو مادة الخلية الحية ، ويتشابه السيتوبلازم البكتيرى فـــى صفاتـــه مـــع سيتوبلازم خلايا الكائنات الحية الأخرى ، ولايعتبر السيتوبلازم مادة واحـــدة متجانســـة ، بـــل خليطا ، إذ يضم كل المكونات التى يحيط بها الغشاء السيتوبلازمى ، فيما عدا النواة .

ويعتبر السيتوبلازم مادة غروية ، عديمة اللون ، تحتوى على نسبة ماء تبلغ حوالـــى ٧٠-٨٥%، ويتكون أساسا من البروتين والليبوبروتينات والأحماض النووية وغيرها من المواد ، فى وســـط مائى .

وللسيتوبلازم خواص الغرويات السائلة ، وهو يحتوى على غرويـــات محبـــة لوســـط الانتشار ، وأخرى كارهة له ، إلا أن الغرويات المحبة لوسط الانتشـــار ، هـــى الغالبـــة فـــى السيتوبلازم . ومكونات السيتوبلازم فى حالة إتزان دقيق ، وأى تغير فى هذا الاتـــزان يضـــر بنشاط الخلية ، أو بحياتها ككل .

وعند تعادل الحموضة ، أى عند نقطة التعادل الكهربائية Isoelectric point ، ترسب غرويات السيتوبلازم ، ونظرا لأن السيتوبلازم يحتوى على أكثر من نوع من الغرويات، لكـــل منها درجة ق يد معينة ، لذلك فإن للسيتوبلازم مدى range للتعادل الكهربائى ، وليـــس نقطـــة point للتعادل الكهربائى ، ويتراوح مدى التعادل الكهربائى الذى يرســـب عنـــده الســـيتوبلازم مابين ق يد ٤,٦ إلى ٥,٠ .

وأهم مايميز السيتوبلازم البكتيرى عن سيتوبلازم خلايا حقيقيات النواة ، هو إحتـــواء السيتوبلازم البكتيرى على نسبة مرتفعة من حامض الرنا النووى RNA ، مما يعطى للسيتوبلازم قابلية عالية ، للصبغ بالصبغات القاعدية مثل صبغة الجنسيان وصبغـــة أزرق المثيليـــن ، هـــذا بالإضافة إلى أن خلايا بدائيات النواة ، لاتحتوى على عضيات محاطة بأغشـــيه ، مثـــل خلايـــا حقيقيـــات النواة ، وبهذا فإن الخلايـــا البكتيريـــة لاتحتـــوى علـــى ميتوكوندريـــا أو شبكـــة إندوبلازميـــة أو بلاستيـــدات أو كلوروبلاســـت أو جهاز جولجـــى Golgi apparatus [1] ،

---

[1] جهاز جولجى Golgi apparatus : حويصلات صغيرة ليبوبروتينية ، توجد بالخلايا الحيوانية ، تلعب دورا فى عمليات الابض ، وفى الإخراج ، وتكوين الفجوات .

أو ديكتيوسومات Dictyosomes [1] ، كما أن سيتوبلازم بدائيات النواة ، يخلو من التدفقات البروتوبلازمية Protoplasmic streaming ، الموجودة بخلايا حقيقيات النواة ، والتى تساعد على حركة الجزيئات بداخل السيتوبلازم ، وذلك لأن حجم الخلية البكتيرية صغير نسبياً ، مما يجعل المسافة التى تنتقل فيها العناصر الغذائية بالخلية محدودا ، فلا تحتاج الخلية البكتيرية الى حركات تدفقية بالسيتوبلازم ، كالكائنات الأخرى .

ويمكن تمييز ثلاثة مناطق بالسيتوبلازم البكتيرى ، وهى

١ – منطقة السيتوبلازم Cytoplasmic area

وهى منطقة محببة المظهر ، غنية فى الجزيئات الكبيرة المكونة من رنا – بروتين RNA-protein ، المعروفة بالرايبوسومات Ribosomes ، أو بالرنا الرايبوسومى r-RNA ، حيث تتم عملية تخليق البروتين .

كما يوجد بهذه المنطقة السيتوبلازمية ، المواد الغذائية المخزنة كالفوليوتين والجليكوجين ، كما تضم تلك المنطقة الفجوات الغازية والعصارية .

٢– منطقة الكروماتين Chromatin area

وهى منطقة غنية بحامض الدنا DNA ، المكون لمادة الخلية النووية .

٣ – جزء مائع Fluid portion

ويضم هذا الجزء المحتويات السيتوبلازمية الذائبة ، فى وسط مائى .

ويحتوى هذا الوسط ، على العديد من الأيونات والسكريات والأحماض الأمينية والببتيدات والقواعد النتروجينية والانزيمات والمرافقات الانزيمية والصبغات غير الممثلة للضوء ، ويكون الكثير من هذه المواد ، أحجار البناء اللازمة لعمليات التخليق الحيوى التى تتم بالخلية ، كما يوجد بهذا الوسط الكثير من نواتج الأيض الغذائى للخلية .

المحتويات الداخلية والمواد المخزنة بالسيتوبلازم

Cytoplasmic inclusions and stored materials

يضم السيتوبلازم البكتيرى الكثير من المشتملات الداخلية ، بعضها يوجد بشكل ثابت ، ويلعب دورا هاما فى حياة الخلية ، كالرايبوسومات والكربوكسى سومات ، ويعتبر من خصائص النوع البكتيرى ، وتعرف هذه المواد بالمحتويات الداخلية Inclusions ، وبعضها يتواجد خلال فترات من أطوار النمو والنشاط ، ويظهر ويختفى بسيتوبلازم الخلية ، حسب ظروف النمو البيئية ، وتعرف هذه المحتويات بالمواد المخزنة Stored materials .

---

[1] ديكتيوسومات Dictyosomes : أكياس غشائية توجد فى الخلايا النباتية ، تماثل فى عملها عمل جهاز جولجى بالخلايا الحيوانية .

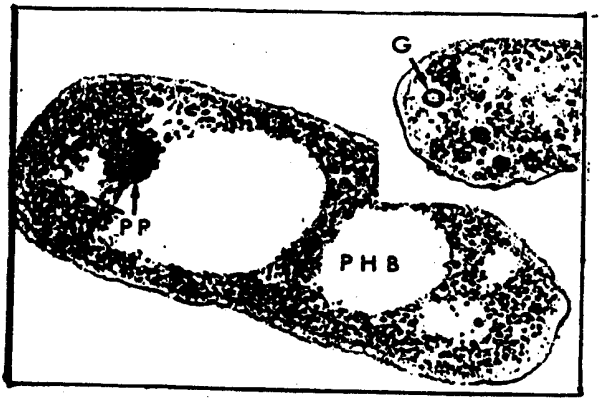
المواد المخزنة : Stored materials

هذه المواد عبارة عن رواسب مركزة ، عالية الكثافة ، عضوية أو غير عضوية ، توجد بسيتوبلازم الخلية البكتيرية ، وهى مواد خاملة أسموزيا ، ولاتذوب فى الماء ، وقد تظهر كحبيبات أو بلورات ، ويتوقف وجود هذه المواد نوعا وكما على نوع البكتريا وظروف نموها ، وفى الخلايا البكتيرية المخزنة للمواد الغذائية ، فإن هذه المواد تتراكم بالخلايا مع مضى الوقت، وتختفى من الخلية عند حاجة الخلية إليها ، أو أثناء الجوع .

ومن المواد المخزنة

١ – حبيبات الفوليوتين : Volutin granules

سميت هذه الحبيبات بالفوليوتين ، لأن أول مرة تم التعرف عليها ، كانت فى البكتريا الحلزونية المتحركة حلزونيا ، المسماه *Spirillum volutans* [٥] ، وقد تسمى هذه الحبيبات باسم مكتشفيها بيبس وايرنست،وتسمى Babes and Ernst granules ، كما قد تسمى بالحبيبات الميتاكروماتينية أو الحبيبات عديدة التلون Metachromatic granules لأنها تأخذ لونا أحمرا ، مختلفا عن اللون الأزرق لباقى الخلية ، عند الصبغ بصبغة أزرق المثيلين ، وقد تسمى بالحبيبات عديدة الفوسفات Polyphosphate granules لمحتواها العالى من البولى فوسفات ، وتشاهد هذه الحبيبات بالمجهر الالكترونى ، كحبيبات مستديرة غامقة كثيفة[شكل ٥ (٢) – ٢٣].



شكل ٥ (٢) – ٢٣ : قطاع فى *Pseudomonas pseudoflava* يوضح

pp : حبيبات عديدة الفوسفات (الفوليوتين)
PHB : حبيبات بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات
G : حبيبات جليكوجين

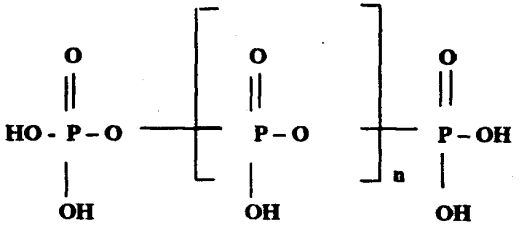
---

[٥] Volutin : كلمة ذات أصل لاتينى تعنى يلف حلزونيا .

حبيبات الفوليوتين واسعة الانتشار ، كمادة غذائية مخزنة بين أنواع البكتريا ، وتظهر الحبيبات صغيرة الحجم فى الخلايا صغيرة العمر ، ثم يزداد حجم الحبيبات بتقدم عمر الخلايا ، وقد يصل حجم الحبيبة الى ٠,٦ ميكرومتر ، وتتراكم الحبيبات بالخلايا لحين الحاجة اليها ، لدرجة أنها قد تشكل ٤٠% من حجم الخلية .

ويعتبر وجود حبيبات الفوليوتين من الصفات المميزة لبكتريا الدفتريا ، كما تظهر الحبيبات فى بكتريا الرايزوبيا وهى فى طور البكتيرويد ، عند الصبغ ، كأشرطة بالخلية ذات لون أغمق عن لون باقى الخلية .

تتكون حبيبات الفوليوتين من نواتج الأيض الغذائى للخلية ، ويشكل الفوسفور بتلك الحبيبات ، أكثر من ٥٠% من الفوسفور الكلى الموجود بالخلية ، فهى حبيبات عديدة الفوسفات متبلمرة من سلاسل طويلة من بولى فوسفات مرتبط مع حامض الرنا ولبيدات ، بنسب تختلف من نوع بكتيرى لآخر ،



وحدة الفوسفات المتكررة بالفوليوتين

تستخدم الخلية البكتيرية حبيبات الفوليوتين كمصدر للفوسفور والطاقة ، إذ أن الروابط الفوسفاتية الموجودة بجزىء الفوليوتين ذات روابط غنية بالطاقة ، ويمكن للبكتريا أن تستخدمها وقت الحاجة فى انتاج ATP ، وفى تكوين الأحماض النووية ، وفى إنقسام الخلية .

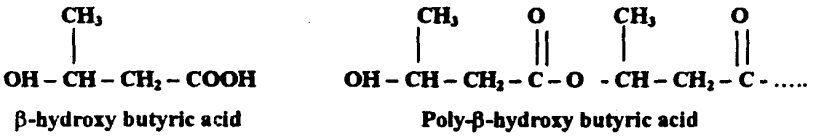
٢- حبيبات البولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات : Poly-βeta-hydroxy butyrate, PβHB

مواد غذائية مخزنة توجد فى البكتريا الهوائية والاختيارية مثل *Azotobacter, Bacillus & Escherichia* ، أما البكتريا اللاهوائية مثل الكلوستريديوم ، فإنها لاتحتوى على PβHB ، وكذلك فإن خلايا حقيقيات النواة لاتحتوى على PβHB ، ولكنها تحتوى بدلا منها على الأحماض الدهنية المتعادلة (الجلسريدات الثلاثية) [أنظر جدول ٥ (٢) -٣ ، ص ٢٤٠] .

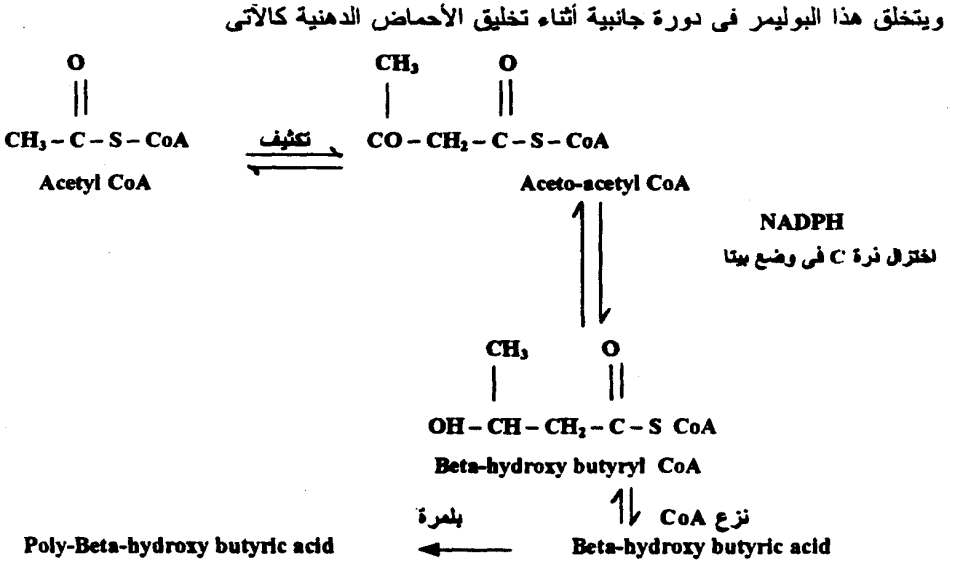
يزداد تخزين هذه المادة بالخلايا البكتيرية النامية فى وسط ذو نسبة كربون مرتفعة ونسبة نتروجين منخفضة ، حيث تصل نسبتها الى حوالى ٧٠-٨٠% من الوزن الجاف للخلية فى البكتريا الهوائية ، وتصل نسبتها الى ٣٥% بالبكتريا الاختيارية ، كما يزداد تراكم هذه المادة بالخلايا ، عند حاجة الخلايا لإجراء تخمرات فى وسط به نسبة الأكسجين قليلة .

البولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات شديدة الشبه باللبيدات ، فهى قابلة للذوبان فى الدهون، وقابلة للصبغ فى الصبغات المحبة للدهون مثل صبغة أسود السودان Sudan black ، حيث تأخذ اللون الأسود المزرق ، بينما تأخذ باقى الخلية اللون الأحمر من صبغة الصفرانين . وعند عدم الصبغ ، فإن مادة PβHB تظهر تحت المجهر الضوئى كمناطق لامعة لقدرتها العالية على كسر الأشعة الضوئية .

البولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات مادة متبلمرة ، من حامض بيتا هيدروكسى بيوتريك ، ترتبط فيه وحدات الهيدروكسى بيوتيرات مع بعضها بروابط استر ، تربط بين مجموعة الهيدروكسى من جزىء ، ومجموعة الكربوكسيل من الجزىء التالى

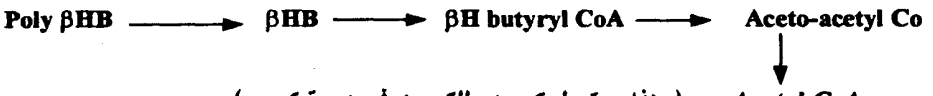


ويتخلق هذا البوليمر فى دورة جانبية أثناء تخليق الأحماض الدهنية كالآتى



وتراكم PβHB بالخلية ، يساعد البكتريا على معادلة الحموضة التى تتكون بها ، أثناء النشاط الايضى للخلية ، حيث تختفى الصفات الحامضية للجزىء ، أثناء بناء روابط الاستر . وتستخدم البكتريا مادة PβHB المخزنة ، كمصدر للكربون والطاقة ، وفى عمليات الايض التأكسدى ، كما تلعب مادة PβHB دورا فعالا فى تثبيت نتروجين الهواء الجوى بواسطة بكتريا الأزوتوباكتر .

وفى البيئات البكتيرية الفقيرة فى الكربون ، الغنيه فى النتروجين ، فإن البكتريا تحلل PβHB فى خطوات عكسية لعملية تخليقة ، لتستخدمه كمصدر للكربون ، لبناء المادة الخلوية



بعض أنواع البكتريا قادرة على تكوين بوليمرات ، جنبا إلى جنب مع بوليمر PβHB ، وتخزينها بالسيتوبلازم ، وذلك إذا ماتوافرت بالبيئة مواد التفاعل اللازمة لتكوين هذه البوليمرات .

على سبيل المثال ، فعند توفر مادة حامض البروبيونيك ، أو حامض بيتا هيدروكسى فالريك ، أو أحماض دهنية هيدروكسيلية Hydroxyfatty acids ذات سلاسل طويلة (ك٨ ، ك١٠ ، ك١٢) ، فإنه يتكون من هذه المواد بوليمرات

Poly-β-hydroxy butyric acid,
Poly-β-hydroxy valeric acid, &
Poly hydroxy fatty acids

ويشار الى هذه المواد مجتمعة باسم Poly-hydroxy-alkanoates, PHAS ، وتستخدم هذه البوليمرات حاليا ، لإنتاج أنواع جديدة من البلاستيك ، تتميز بقابليتها للتحلل البيولوجى ، عن البلاستيك المنتج من بلمرة Polyethylene & Polypropylene .

٣ – السكريات العديدة : Polysaccharides

وجدت هذه المواد مخزنة فى سيتوبلازم أنواع عديدة من البكتريا ، وهذه المواد هى بوليمر من الجلوكوز ، فى سلاسل ، بروابط بين الجزيئات من نوع ألفا ١–٤ جليكوزايد (مكونة أمايلوز) ، مع تفرعات بروابط ألفا ١–٦ جليكوزايد عند التفرعات (مكونة أمايلوبكتين) .

وتخزن هذه السكريات بالخلايا البكتيرية فى صورة معقدة ، كالجليكوجين (النشا الحيوانى) ، أو النشا (النشا النباتى) ، أو الجرانيولوز (شبيه النشا النباتى) ، ولكن أكثر هذه السكريات العديدة إنتشارا كمادة غذائية مخزنة بخلايا البكتريا ، هو الجليكوجين .

أ – الجليكوجين : Glycogen

عديد التسكر شبيه بالأمايلوبكتين ، وهو المسئول عن إكساب حبيبات النشا الحيوانى (الجليكوجين) اللون البنى المحمر مع صبغة اليود ، وتظهر الحبيبات بالمجهر الإلكترونى كمناطق داكنة اللون [أنظر شكل ٥ (٢) – ٢٣] .

وعادة مايخزن الجليكوجين بخلايا البكتريا ، عندما تنمو البكتريا فى وسط ذو نسبة متسعة من الكربون إلى النتروجين Wide C/N ratio ، وعند تناقص مصادر الكربون بالوسط ، تقوم البكتريا باستهلاك ماخزنته من جليكوجين .

وقد وجدت حبيبات الجليكوجين مخزنة فى خلايا أنواع بكتيرية كثيرة ، خاصة الهوائية والإختيارية ، مثل *Arthrobacter, Bacillus, Escherichia, Salmonella* and *Micrococcus* وبالاضافة إلى البكتريا ، فإن حبيبات الجليكوجين توجد أيضا فى خلايا الخمائر والفطريات .

ب – النشا : Starch

يتكون جزىء النشا من أمايلوز وأمايلوبكتين ، ويكون الأمايلوز حوالى ٢٠ – ٣٠% من الكمية الكلية ، والامايلوز هو المسئول عن إكساب النشا اللون الأزرق مع صبغة اليود .

وقد وجدت حبيبات النشا مخزنة فى بعض أنواع البكتريا مثل *Acetobacter pasteurianus & Neisseria* .

جـ – الجرانيولوز : Granulose

هى حبيبات شبيهة بالنشا فى تركيبها ، وتعطى لونا أزرقا مع صبغة اليود . وقد وجدت هذه الحبيبات مخزنة فى سيتوبلازم بعض أنواع البكتريا اللاهوائية المتجرثمة مثل *Clostridium butyricum & Cl. pasteurianum* .

ويوضح جدول [٥ (٢) –٣] التالى ، المواد المخزنة العضوية غير النتروجينية ، الموجودة فى أنواع مختلفة من البكتريا .

جدول ٥ (٢) – ٣ : تواجد المواد المخزنة العضوية غير النتروجينية ، فى أنواع مختلفة من البكتريا .

PβHN + Glycogen	Glycogen جليكوجين	PβHB
– بكتريا الكبريت الارجوانية – السيانوبكتريا	*Bacillus* *Clostridium* *E. coli* *Salmonella* *Shigella*	*Azospirillum* *Azotobacter* *Bacillus* Enterobacteriaceae *Pseudomonas* *Rhizobium* *Vibrio*

ملاحظات :

١ – يوجد النشا والجليكوجين فى خلايا كل من بدائيات النواة وحقيقيات النواة ، ويميز بينهما باليود .

٢ – يوجد PβHB فى خلايا بدائيات النواة ولايوجد فى حقيقيات النواة ، ويتعرف عليه بالصبغ بأسود السودان .

٣– لايوجد PβHB فى خلايا البكتريا اللاهوائية مثل *Clostridium* .

٤– تحتوى خلايا حقيقيات النواة على أحماض دهنية متعادلة ، ولاتوجد هذه الأحماض فى خلايا بدائيات النواة

٤ – حبيبات الكبريت : Sulfur granules

توجد هذه الحبيبات كمادة مخزنة ، فى خلايا البكتريا المؤكسدة للكبريتيد وغيره من المركبات الكبريتية المختزلة ، مثل بكتريا *Beggiatoa & Thiothrix* ، حيث تؤكسد هذه البكتريا المركبات الكبريتية المختزلة ، وترسب الكبريت كحبيبات بداخل خلاياها ، لحين الحاجة اليه .

حبيبات الكبريت المخزنة داخل الخلايا ، ذات شكل كروى ، ولها قدرة عالية على كسر الأشعة الضوئية ، ولذا تظهر لامعة تحت المجهر الضوئى ، وهى غير قابلة للذوبان فى الماء أو الأحماض ، ولكنها تذوب فى الكحول والقلويات .

بكتريا الكبريت الهوائية غير الممثلة للضوء مثل *Beggiatoa & Thiothrix* ، تستخدم H_2S كمصدر للطاقة ، وتؤكسده إلى S ، الذى يتراكم داخل خلاياها ، ثم يتأكسد S الى كبريتات وبالتالى تختفى حبيبات الكبريت .

كما أن بكتريا الكبريت اللاهوائية الأرجوانية ، الممثلة للضوء مثل *Chromatium* ، تستخدم H_2S كمانح للالكترونات ، فى تفاعلات الأكسدة والإختزال ، وتؤكسده إلى S ، الذى يتراكم بداخل خلاياها ، حسب التفاعل التالى

$$CO_2 + 2\,H_2S \xrightarrow[\text{بكتريا أرجوانية}]{\text{ضوء}} HCHO + H_2O + 2S$$

ثم يتأكسد الكبريت الناتج ، ويتحول الى كبريتات ذائبة

قد يوجد أحيانا ، حبيبات كبريتية مخزنة فى خلايا بعض أنواع السيانوبكتريا ، او فى خلايا بكتريا *Sphaerotilus natans* (من أنواع بكتريا الحديد وتعيش بالمياه) ، ويعتبر هذا التخزين طريقة للتخلص من سمية H_2S الموجود بوسط نمو هذه الأنواع البكتيرية ، وذلك بأكسدته وتحويله الى كبريت .

٥– الحبيبات (الجسيمات) المغناطيسية : Magnetosomes

عبارة عن ترسبات دقيقة بالخلايا لبلورات من أكسيد الحديديك المغناطيسى Fe_3O_4 (الماجنيتايت) ، مخزنة بداخل سيتوبلازم بعض أنواع البكتريا المائية مثل *Magnetospirillum* (*Aquaspirillum*) *magnetotacticum* ، وتعمل هذه الجسيمات على جذب خلايا البكتريا إلى القاع حيث تسود الظروف اللاهوائية ، لأن أغلب هذه الأنواع البكتيرية التى توجد بها هذه الحبيبات ، لاهوائية أو محبة لكمية قليلة من الأكسجين (أنظر ص ١٨٨) .

وتعمل هذه البلورات الممغنطة ، كما تعمل إبرة البوصلة الممغنطة ، إذ توجه الخلية فى خط المجال المغناطيسى الأرضى ، ناحية الشمال أو ناحية الجنوب المغناطيسى (راجع الاستجابة المغناطيسية ، ص ١٨٨) .

٦- بلورات البروتين : Protein crystals

بعض أنواع البكتريا ، مثل *Bacillus thuringiensis* يتكون بداخل خلاياها وهى فى طور الاسبورانجيوم ، بلورات بروتينية توجد بجانب الجرثومة ، وتسمى البلورة المتكونة ، بالجسم المجاور للجرثومة Parasporal body .

تحتوى الخلية المتجرثمة على جسم واحد فقط من هذه الأجسام ، وهى بلورات ثمانية الأسطح Octahedral ، وبعكس الجراثيم الداخلية ، فإن هذه الأجسام تصبغ بسهولة ، ولاتحاط بأى غشاء أو غطاء ، ويتحكم فى انتاج هذه البلورات ، جينات إنتاج بروتين البلورة Cry genes, Crystal protein genes الموجود فى السلالة البكتيرية المنتجة .

وهذه البلورات عبارة عن جليكوبروتين ذو وزن جزيئى مرتفع ، قد يصل إلى ٢٥٠ ألف دالتون ، والجزء السام به عبارة عن سلسلة عديدة الببتيدات ، والبلورات سامة ليرقات بعض الحشرات حرشفية الأجنحة ، مثل دودة ورق القطن ، وتنتج هذه المواد الآن تجاريا فى شكل مسحوق ، يستعمل فى المكافحة الحيوية ضد بعض الحشرات .

والشكل التالى يبين وضع الجسم البلورى المجاورة للجرثومة الداخلية ببكتريا *B. th.* ، كما تشاهد بمجهر متباين الأطوار الضوئى .

شكل يبين وضع الجسم البلورى المجاور للجرثومة الداخلية ببكتريا *Bacillus thuringiensis* ، كما تشاهد بمجهر متباين الأطوار الضوئى

٧ – حبيبات السيانوفايسين : Cyanophycin granules

مادة غذائية نتروجينية مخزنة ، توجد فقط فى خلايا السيانوبكتريا ، وتخزن أساسا فى خلايا الهيتيروسست ، والسيانوفايسين عبارة عن جسيمات من النتروجين المرتبط ، عديدة الببتيدات ، يدخل فى تركيبها أحماض الأسبارتيك والأرجنين بنسبة ١:١ .

يعمل السيانوفايسين كمادة غذائية نتروجينية مخزنة ، تمد السيانوبكتريا بحاجتها من النتروجين ، وذلك عند نقص النتروجين بالبيئة ، كما يعمل السيانوفايسين أحياناً كمصدر للطاقة حيث يمكن لنتروجين السيانوفايسين تحت ظروف لاهوائية ، تخليق ATP ، بتحلل السيانوفايسين الى Carbamoyl phosphate وأورنثين .

٨ – الفجوات : Vacuoles

يشتمل السيتوبلازم البكتيرى على تجاويف محاطة بغلاف رقيق تعرف بالفجوات ، منها مايكون مملوءا بالغازات ويسمى فجواتا غازية Gas vacuoles ، ومنها مايحتوى على عصارات خلوية ويسمى فجواتا عصارية Cell-sap vacuoles .

أ – الفجوات الغازية : Gas vacuoles

بعض الأنواع البكتيرية خاصة تلك التى تعيش فى الأوساط المائية ، ومنها الأنواع المحبة للملوحة ، والبكتريا الممثلة للضوء والسيانوبكتريا ، يحتوى سيتوبلازم خلاياها على فجوات غازية ، وهذه الفجوات تساعد البكتريا على الطفو بالمياه ، بتغيير كثلتها النوعية ، كما أنها تساعد البكتريا على التوجه نحو مصدر الضوء كما فى حالة البكتريا الضوئية ، أو التوجه نحو الوسط ذو الحرارة المناسبة للنمو .

تظهر هذه الفجوات الغازية تحت المجهر الضوئى ، كأجسام لامعة ، لقدرتها العالية على كسر الأشعة الضوئية ، وتظهر تحت المجهر الالكترونى كفقاعة جوفاء ، مغزلية الشكل ، ومرتبة ترتيبا منظما بالسيتوبلازم . والفقاعة محاطة بغلاف رقيق بسمك حوالى ٢ نانومتر ، من بروتين أحادى الطبقة ، وهذا الغلاف غير منفذ للماء ، ولكنه يسمح بنفاذ الغازات الذائبة من بيئة النمو ، إلى داخل الفجوة .

ب – الفجوات العصارية : Cell-sap vacuoles

عبارة عن فجوات توجد فى السيتوبلازم البكتيرى ، تحتوى على عصارات خلوية Cell-sap ، ويتوقف عددها بالخلية البكتيرية على نشاط الخلية ، وظروف النمو البيئية .

تشاهد الفجوات العصارية بوضوح فى الخلايا البكتيرية النشطة ، حديثة النمو ، وعندما تقترب الخلية من النضج ، فإن بعضا من المغذيات القابلة للذوبان المُنتجة بواسطة الخلية ، تضاف لمحتويات الفجوة العصارية ، أما المواد غير الذائبة ، فإنها تترسب بالسيتوبلازم ، كمواد غذائية مخزنة .

تعمل هذه الفجوات العصارية فى المحافظة على ضغط الانتفاخ بالخلية Turgor pressure* ، كما تخزن الخلية بها بعض نواتجها الايضية الزائدة ، وبعض الانزيمات الذائبة .

---

* ضغط الانتفاخ (ضغط الجدار) ، Turgor pressure ، هو الضغط الذى ينشأ من داخل الخلية النباتية على جدارها الخلوى ، نتيجة الأسموزية Osmosis أو بسبب التشرب Imbibition .

٩ – المكونات السيتوبلازمية الذائبة : Soluble cytoplasmic constituents

بالإضافة إلى محتويات السيتوبلازم من الحبيبات ، فإن السيتوبلازم البكتيرى يحتوى على جزء ذائب ، يعرف بالعصير الخلوى Cell sap .

ويحتوى العصير الخلوى على جزيئات دقيقة الحجم ، تحت مجهرية ، منها ماهو ذو وزن جزيئى كبير ، وهى بروتينات لمجموعة من الانزيمات الذائبة ، وحامض الرنا الذائب (النـاقل) t-RNA ، ومنها ماهو ذو وزن جزيئى صغير ، مثل الكربوهيدرات والأحماض الأمينية والنيوكليوسيدات ، وهذه الجزيئات ذات الوزن الجزيئى الصغير ، تولد ضغط أسموزيا على جدار الخلية من الداخل يختلف فى مقداره باختلاف الأنواع البكتيرية ، وهو عموما أعلى فى الخلايا البكتيرية الموجبة لصبغة جرام ، عما هو فى الخلايا السالبة لصبغة جرام .

كما يحتوى العصير الخلوى البكتيرى على النواتج الثانوية للأيض الغذائى Secondary metabolites ، مثل المضادات الحيوية ، والصبغات غير الممثلة للضوء ، وتستخدم خاصية انتاج هذه المواد ، كصفات تصنيفية للتفرقة بين الأنواع البكتيرية ، لأن انتاج هذه المواد يعتمد على الصفات الوراثية للنوع البكتيرى .

الصبغات غير الممثلة للضوء : Non-photosynthetic pigments

توجد هذه الصبغات فى الجزء الذائب من السيتوبلازم ، فى بعض أنواع البكتريا ، كنواتج ثانوية للأيض الغذائى ، وهى من الصفات الوراثية للنوع البكتيرى .

وعادة ماتوجد هذه الصبغات فى البكتريا الموجودة بالهواء ، لأن هذه الصبغات تحمى البكتريا من تأثير الأكسدة الضوئية ، الناتجة من تأثير الأشعة الضوئية والأشعة فوق البنفسجية كما أن بعضا من هذه الصبغات يعمل كمضاد حيوى .

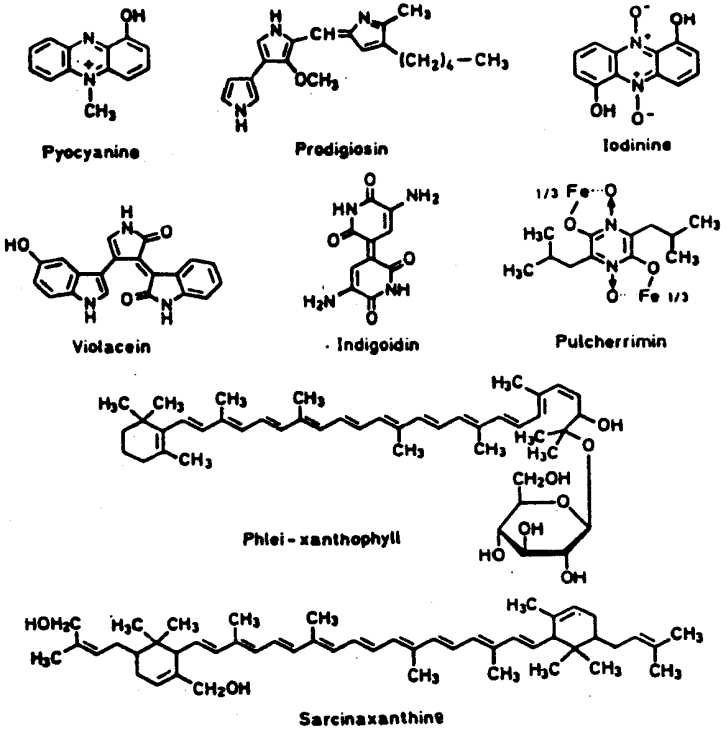
قد تبقى هذه الصبغات بداخل الخلية البكتيرية ، وتسمى صبغات داخلية Intracellular pigments كما فى حالة بكتريا *Serratia* ، أو تفرز الى خارج الخلية ، وتسمى صبغات خارجية Extracellular pigments ، كما فى حالة بكتريا *Pseudomonas* .

وتنتمى الصبغات غير الضوئية ، إلى مجموعات كيميائية عديدة [شكل ٥ (٢) – ٢٤] ، فمنها

١ – الكاروتينويدات : Carotenoids

كما فى بكتريا : *Micrococcus, Mycobacterium phlei, Nocardia, Rhodotorula & Sarcina*

وهذه الصبغات ذات لون مصفر أو محمر ، ومنها صبغات Xanthine (Sarcinaxanthine), Xanthophyll (Phlei-xanthophyll) & Iodinine .



شكل ٥ (٢)- ٢٤ : تركيب بعض الصبغات (غير الضوئية) التى تكونها الخلايا البكتيرية .

٢ – الكينونات : Quinones

كما فى بكتريا : *Arthrobacter, Corynebacterium & Pseudomonas indigofera*

وهذه الصبغات ذات لون مزرق وتفرز خارج الخلية ، ومن هذه الصبغات Indigoidin .

٣ – الملانين : Melanine

كما فى بكتريا *Azotobacter*

وهذه الصبغات ذات لون أسود .

٤ – مشتقات البيرول : Pyrollic derivatives

كما فى بكتريا *Serratia marcescens* & Actinomycetes

وهذه الصبغات ذات لون محمر ، ومنها صبغة Prodigiosin .

٥ – مشتقات الاندول : Indole derivatives

كما فى بكتريا *Chromobacterium violaceum*

وهذه الصبغات ذات لون بنفسجى ، ومنها صبغة Violacein .

٦ – صبغات الفينازين : Phenazine dyes

كما فى بكتريا *Pseudomonas*

وهذه الصبغات ذات لون مزرق وتفرز خارج الخلية ، ومنها صبغة Pyocyanine التى تفرزها بكتريا *Ps. aeruginosa* ، وصبغة Fluorescein ذات لون أصفر مخضر ، التى تفرزها بكتريا *Ps. fluorescens* .

المحتويات الداخلية : Inclusions

إضافة الى المواد المخزنة الغذائية Stored materials ، التى يحتويها السيتوبلازم البكتيرى ، فإن السيتوبلازم يحتوى أيضا على مجموعة من الجسيمات والتراكيب ، تعرف بالمحتويات الداخلية Inclusions ، وتوجد هذه المحتويات بالخلية البكتيرية بشكل ثابت ، وتعتبر من خصائص النوع البكتيرى ، وتلعب أدوارا هامة فى نشاط وحياة الخلية البكتيرية .

وتشتمل المحتويات الداخلية على

١ – حوامل الصبغات الضوئية : Chromatophores *

لايوجد بالبكتريا الممثلة للضوء بلاستيدات خضراء أو كلوروبلاست ، ولكن يوجد بدلا منها مايعرف بحاملات الصبغات Chromatophores ، وهذه عبارة عن جسيمات ليبوبروتينية ، غشائية ، يتكون غشاؤها من طبقة رقيقة من بروتين أحادى الطبقة . تحمل جهاز التمثيل الضوئى من كلوروفيل بكتيرى وكاروتينويدات ونظام ناقل للالكترونات وانزيمات فسفرة ، وفى هذه الحوامل تتم عملية التمثيل الضوئى .

ورغم أن الحوامل تراكيب غشائية ، إلا أنها لاتعتبر عضيات كتلك الموجودة بحقيقيات النواة ، لأن غشاء حوامل الصبغات بالبكتريا ، لايشبه الأغشية الخلوية مزدوجة الطبقة

---

* راجع البكتريا الممثلة للضوء بالباب السابع الفصل الثانى

وراجع التمثيل الضوئى بالباب العاشر الفصل السادس

الفوسفوليبيدية ، بل هو أحادى الطبقة بروتينى ، كما أنه غير قادر على التكاثر الذاتى كما فى حقيقيات النواة .

وفى البكتريا الملونة ، الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين ، مثل البكتريا الأرجوانية والخضراء ، فإن حوامل الصبغات الضوئية ، توجد كإنغلافات بالغشاء السيتوبلازمى .

أما فى البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين ، السيانوبكتريا ، فإن حوامل الصبغات الضوئية ، عبارة عن ثنايا متعددة مسطحة الشكل ، توجد متعمقة فى السيتوبلازم ، وتتصل بالغشاء السيتوبلازمى فى أماكن محددة ، وتسمى بالثايلاكويدات Thylakoids [شكل ٥ (٢) - ٢٥] . ويلاحظ أن جنسا واحدا من السيانوبكتريا ، هو *Gloeobacter* ، لاتحتوى خلاياه على ثايلاكويدات ، بل يوجد جهازه الضوئى فى إنغلافات بالغشاء السيتوبلازمى .

شكل ٥ (٢) - ٢٥ : قطاع فى سيانوبكتريا *Anabaena azollae*
يوجد أغلب الثيلاكويدات فى المحيط الخلوى ، وبعضها يمتد إلى وسط الخلية .

وتمتاز ثايلاكويدات السيانوبكتريا ، بأنها تحمل الكلوروفيل البكتيرى ، كما أنها تحمل أيضا كلوروفيل أ الذى يمكن الجهاز الممثل للضوء بالخلية ، من إمتصاص الموجات الضوئية ذات الطول الموجى من ٦٨٠ الى ٦٨٣ نانومتر ، كما أن السيانوبكتريا قادرة على استخدام الماء كمانح للالكترونات بدلا من H_2S ، وذلك لتثبيت CO_2 .

٢- الكربوكسى سومات : Carboxysomes

الكربوكسى سومات عبارة عن تركيبات حبيبية دقيقة ، عديدة الأوجه ، محاطة بغشاء رقيق ، توجد فى سيتوبلازم خلايا السيانوبكتريا ، وفى بعض أنواع البكتريا الممثلة للمواد الكيميائية مثل *Nitrobacter & Thiobacillus* .

تحتوى هذه الجسيمات على إنزيم Ribulose diphosphate carboxylase ، وهو الانزيم المفتاحى Key enzyme فى دورة كالفن الخاصة بتثبيت غاز CO_2 .

٣- الميسوسومات المركزية : Central mesosomes

هى انغلافات ليبوبروتينية من الغشاء السيتوبلازمى ، توجد عند منتصف الخلية ، أى فى المنطقة التى سيحدث عندها انقسام الخلية وتكوين الجدر الخلوية الجديدة ، وتمتد هذه الانغلافات بعمق فى السيتوبلازم حتى تتصل بمادة الخلية النووية . وتلعب هذه الميسوسومات دورا فى تضاعف الدنا DNA ، وفى انقسام الخلية وبناء الأغشية ، وتكوين الجدر الخلوية للخلايا البنوية الجديدة .

٤- الرايبوسومات : Ribosomes *

الرايبوسومات عبارة عن وحدات بنائية توجد فى سيتوبلازم الخلية البكتيرية كحبيبات ، وقد تم التعرف عليها عام ١٩٥٩ باستخدام الطرد المركزى فائق السرعة ، وهى تعطى للسيتوبلازم البكتيرى مظهره المحبب الذى يظهر تحت المجهر الالكترونى .

وحدات الرايبوسومات كروية الشكل تقريبا ، قطر الوحدة حوالى ٢٠ نانومتر ، وكتلتها حوالى $٢,٤ \times ١٠^{٦}$ دالتون ، وتتركب الرايبوسومات من حوالى ٦٠% حامض الرايبوز النووى الرنا و ٤٠% بروتين ، ولذا تسمى الرنا الرايبوسومى Ribosomal RNA, r-RNA ، ويشكل رنا الرايبوسومات حوالى ٨٠% من جملة أحماض الرنا RNA الكلية الموجودة بالخلية ، وتحتوى الخلية البكتيرية على عدد من الرايبوسومات يتراوح مابين ٥ آلاف إلى ٥٠ ألف ، ويتوقف ذلك على معدل نمو ونشاط البكتريا ، ومدى ملاءمة الظروف البيئية للنمو ، وتمثل الرايبوسومات فى وقت نشاط الخلية ، حوالى ٤٠% من وزن الخلية الجاف .

الرايبوسومات هى مراكز تخليق البروتين بالخلية ، وهى تقابل الميكروسومات Microsomes فى خلايا حقيقيات النواة ، ولاتوجد رايبوسومات البكتريا فى شبكة إندوبلازمية ، كما فى رايبوسومات حقيقيات النواة ، ولكنها توجد فى السيتوبلازم ، بعضها فى حالة حرة ، وبعضها مرتبط بالسطح الداخلى للغشاء السيتوبلازمى ، وأغلبها يوجد فى تجمعات بأحجام مختلفة بالسيتوبلازم ، ويطلق عليها عديد الرايبوسومات Polysomes, Polyribosomes ، وبعضا من هذه التجمعات يظهر على شكل سلسلة ملتصقة مع بعضها ، بواسطة خيط من مواد

* راجع أنواع حامض الرنا ، بالباب التاسع ، الفصل الثالث ، ص ٧٠٧ ومايليها .

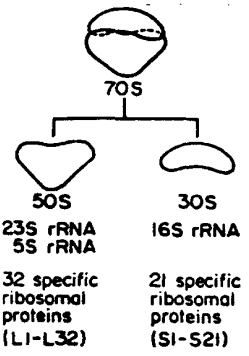
لاصقة من حامض الرنا الرسول m-RNA ، وهو الحامض الذى يحمل الشفرة الوراثية الخاصة بتخليق السلاسل الببتيدية من حامض دنا DNA النواة ، إلى الرنا الرايبوسومى r-RNA بالسيتوبلازم .

ويحتوى الرايبوسوم على إنزيم Ribonuclease ، الذى يقوم بواسطة التحلل المائى ، بفك r-RNA من m-RNA ، بعد تخليق السلسلة الببتيدية .

وعندما رُسِّبت رايبوسومات الخلية البكتيرية بجهاز الطرد المركزى ، وجد أن معامل ترسيب الرايبوسومات Sedimentation coefficient يساوى 70S (أى ٧٠ وحدة من وحدات سفدبرج Svedberg units) ، ووجد أن الوحدة من الرايبوسوم البكتيرى ، تتكون من تحت وحدتين Subunits ، معامل ترسيبهما هو 30S & 50S ، وكل تحت وحدة تتكون من وحدات أصغر [شكل ٥ (٢) - ٢٦] (تحت وحدة 50S لها قابلية للارتباط مع t-RNA ، أما تحت وحدة 30S فلها قابلية للارتباط مع mRNA ، وذلك أثناء تخليق السلاسل الببتيدية) .

وبالمقارنة مع رايبوسومات حقيقيات النواة ، سنجد أن رايبوسومات البكتريا أصغر حجما ، وأخف وزنا ، وأسرع ترسيبا ، من رايبوسومات حقيقيات النواة ، التى معامل ترسيبها 80S ، وتتكون من تحت وحدتين معامل ترسيبهما هو 40S & 60S .

ولهذه الاختلافات بين رايبوسومات البكتريا ورايبوسومات حقيقيات النواة ، أهميتها العلاجية من العدوى ، فالمضادات الحيوية التى توقف تخليق البروتين بواسطة رايبوسومات البكتريا التى من نوع705 ، لاتؤثر على رايبوسومات حقيقيات النواة التى من نوع 80S .



شكل ٥ (٢) - ٢٦ :
يسار : صورة بالمجهر الالكترونى توضح رايبوسومات *E coli*

70S : موضحة بسهم به ٣ رؤوس .
50S : موضحة بسهم به ٢ رأس .
30S : موضحة بسهم به رأس واحدة
- البار يمثل ١٠٠ نانومتر
يمين : مقارنة تخطيطية بين مكونات الرايبوسوم

وحدات سفدبرج : Svedberg units

ينسب اسم الوحدات الى العالم السويدى سفدبرج Svedberg ، صاحب الإضافات الهامة فى مجالات الترسيب بالطرد المركزى ، ووحدة سفدبرج Svedberg unit (S) ، وقد تسمى أيضا بمعامل الترسيب Sedimentation coefficient ، هى معدل سرعة رسوب الحبيبات (جزيئات كبيرة Macromolecules) ، الموجودة فى معلق مائى درجة حرارته ٢٠°م، عند ماتتعرض تلك الحبيبات لتأثير وحدة واحدة من وحدات الجاذبية الأرضية ، بمعنى أن وحدات سفدبرج ، تعبر عن معدل رسوب حبيبات المادة الموجودة فى معلق ، عندما تتعرض لجاذبية أرضية أو لطرد مركزى .

وتحسب تلك الوحدات باستعمال معادلات خاصة ، تجمع مابين العوامل المختلفة المؤثرة على سرعة ترسيب الحبيبات ، مثل قوة جهاز الطرد المركزى Centrifugal force (F_c) ، حجم الحبيبة (Size) معبرا عنه بوزنها الجزيئى ، وشكل الحبيبة (Shape) معبرا عنه بقوة الاحتكاك Frictional force (F_f) التى بين الحبيبة والمحلول ، وقوة قابلية الحبيبة للطفو Buoyancy force (F_b) ، وكتلة السائل المزاح بواسطة الحبيبة (معبرا عنه بحجم الحبيبة وكثافة المعلق)

وبذلك نحصل على المعادلة النهائية التالية

$$S = \frac{\text{Velocity of particle (v)}}{\omega^2 r} = \frac{dr}{dt} \times \frac{1}{\omega^2 r}$$

حيث S : معامل الترسيب

v : سرعة تحرك الحبيبة

r : المسافة بين الحبيبة وعامود الدوران بالسم

t : زمن الرسوب بالثانية

ω : السرعة الزاوية Angular velocity سم / ثانية

يتناسب معامل الترسيب S طرديا مع كتلة أو كثافة الحبيبة ، كما يكون معامل الترسيب كبيرا فى حالة الحبيبات كروية الشكل مقارنة بالحبيبات عصوية الشكل ، ويتناسب S عكسيا مع زيادة قوة الاحتكاك بين الحبيبة والمحلول .

ونظرا لأن رايبوسومات الخلية متعددة الأحجام والأشكال ، فإنه عندما تتواجد الرايبوسومات فى محلول وتعامل بالطرد المركزى ، فإنها تظهر فى طبقات مختلفة من المحلول طبقا لمعامل ترسيبها ، ولذلك فإنه يميز بين أنواع الرايبوسومات المختلفة بمعامل ترسيبها ، أى بوحدات سفدبرج (S) ، إلى

80S (60S & 40S), 70S (50S & 30S), 16S, 18S ... etc.

ويلاحظ أن قيم وحدات سفدبرج لاتجمع حسابيا Not additive ، بمعنى أن تحت الوحدة الرايبوسومية الكبيرة 60S عندما تتحد مع تحت الوحدة الرايبوسومية الصغيرة 40S ، فإنه يتكون رايبوسوم 80S وليس 100S .

﴿الباب الخامس – الفصل الثالث﴾

المادة النووية البكتيرية

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
النواة	٢٥٣
تركيب الحامض النووى الدنا	٢٥٣
وزن جزىء الدنا	٢٥٨
تخليق حامض الدنا	٢٥٩
فصل الدنا من البكتريا	٢٥٩
جينوم البكتريا	٢٦١
البلازميـــدات	٢٦١
دور البلازميـــد	٢٦٢
بلازميد الخصوبة فى بكتريا *E. coli*	٢٦٢
بلازميدات المقاومة	٢٦٣
تضاعف خيوط حامض الدنا	٢٦٣
١ – طريقة ثيتا	٢٦٤
٢– طريقة سيجما	٢٦٥
٣– الطريقة الخيطية	٢٦٧
الأحداث التى تقع عند نقطة النمو بالدنا	٢٦٨
تضاعف كروموسوم الخلية	٢٧١

﴿الباب الخامس - الفصل الثالث﴾

المادة النووية Nucleur material

النـــواه * Nucleus

قبل الخمسينات من القرن الماضى ، كان من الصعب مشاهدة نواة البكتريا وفحصـها ، لصغر حجمها المتناهى ، ، وعدم وجودها فى مكان محدد بالخلية ، ولكن منذ الخمسينات ومـع تقدم طرق الفحص الخلوية ، وتطور استخدام المجهر الالكترونى ، أصبح من الممكن التعـرف على المادة النووية الموجودة بالخلية البكتيرية .

فباستخدام المجهر الضوئى والصبغ بصبغة فولجين Feulgen المتخصصة لصبغ الدنـا DNA ، أمكن التعرف على منطقة النواة بالخلية البكتيرية ، وباسـتخدام المجـهر الالكـترونى درست النواة ، وباستخدام الانزيمات المُحـدِّدة (انزيمـات القطـع Restricted) ، Nucleases enzymes ، الخاصة بكسر حامض الدنا فى أماكن معينة بيـن القواعـد النتروجينيـة ، أمكـن التعرف على نظام تتابع النيوكليوتيدات بالحامض النووى ، ودراسة تركيب ووظيفـة الجينـات بالكروموسوم البكتيرى ، وغالبا مايكون كسر حامض الدنا فى أمـاكن التمـاثل بيـن القواعـد النتروجينية ، أو فى أماكن التواء خيط حامض الدنا .

المادة النووية ، وتعـرف أيضـا بـالبلازم النـووى Nucleoplasm ، أو بالجسـم الكروماتينى Chromatin body ، تشغل مساحة متميزة تقع تقريبا بوسط الخلية البكتيرية ، وهى منطقة غنية بحامض الدنا ، وتمثل تلك المنطقة حوالى ٢٠% من حجم السيتوبلازم ويمثل الدنـا بها حوالى ٢% من الوزن الجاف للخلية ، وتنقسم محتويات المنطقة النووية عند حـدوث كـل انقسام خلوى .

وتحت المجهر الالكترونى ، تظهر المنطقة النووية كمنطقة ممتلئة بخيـوط رقيقـة ، وذات كثافة أقل من كثافة باقى محتويات السيتوبلازم ، وغير محاطة بغلاف نووى يفصلها عـن باقى مكونات السيتوبلازم ، وتتصل بالغشاء السيتوبلازمى عن طريق الميسوسوم المركزى .

تركيب الحامض النووى الدنا DNA

تحتوى المنطقة النووية بالخلية البكتيرية على الحامض النووى الدنا ، وهذا الحـامض هو الحامل للمعلومات الوراثية بالخلية ، والمنظم للتجرثم ، وعملية التكـاثر ، ولكـل الأنشـطة والعمليات الحيوية التى تتم بالخلية .

يشكل حامض الدنا كروموسوما واحـدا Single chromosome ، مـزدوج الخيـوط Double strand ، دائرى مقفول (أى ليس له نهاية حرة) ، ملتف حول بعضه بقوة ، فهو شـديد الالتفاف Super coiled ، منضغطا ، ذا شكل ليفى ، ويتكون حامض الدنا مـن نيوكليوتيـدات عديدة تصل لعدة آلاف ، وتتكون النيوكليوتيدة الواحدة من ثلاث مكونات رئيسية هى

---

* راجع جدول (٢-٣) ص ص ٢٥ ، ٢٦ بالباب الثانى لمعرفة الفروق بين نوايا خلايا بداية النواة ونوايا خلايا حقيقية النواة .

١ – قاعدة نتروجينية .

٢ – دى أكسى رايبوز ، وهو سكر ذو خمسة ذرات كربون ، ينقص عن سكر الرايبوز ، مجموعة OH– على ذرة الكربون رقم ٢ بالجزىء .

٣ –حامض فوسفوريك .

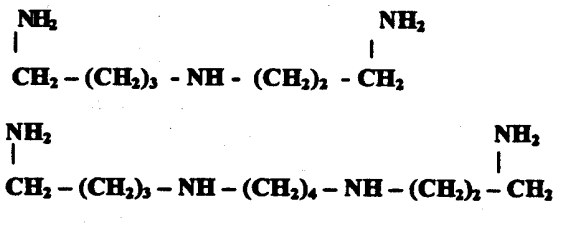
وتتكون القواعد النتروجينية بالحامض من زوجين من القواعد ، هما قاعدة البيورين Purine base (المكونة من أدنين A ، وجوانين G) ، وقاعدة البريميدين Pyrimidine base (المكونة من سيتوزين C ، وثايمين T) ،

وتتحد المكونات الثلاث السابقة (١ ، ٢ ، ٣) مع بعضها كالآتى

قاعدة نتروجينية + دى أكسى رايبوز ⟵ نيوكلوسيد Nucleoside .

نيوكليوسيد + فوسفات ⟵ نيوكليوتيد Nucleotide .

ويحتوى حامض الدنا على شحنات سالبة ، مصدرها مجموعة (OH^-) حامض الفوسفوريك الداخل فى تركيب النيوكليوتيدات المكونة للحامض النووى ، وتتعادل هذه الشحنات بواسطة كاتيونات مثل Ca^{2+} & Mg^{2+} ، أو بمركبات عديدة الأمينات Polyamines ذات وزن جزيئى صغير ، هى مواد الاسبرمين والاسبرميدين ، ورمزها



سبرميدين
Sperimidine

سبرمين
Spermine

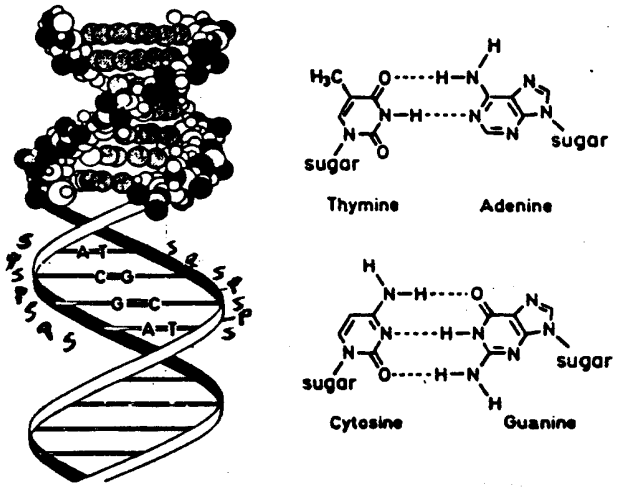
ولايرتبط حامض دنا البكتريا ، بالبروتينات القاعدية المعروفة بالهيستونات Histones* ، كما فى خلايا حقيقيات النواة ، التى يرتبط حامضها النووى الدنا بالهيستونات لمعادلة شحناته السالبة .

* الهيستونات : Histones

بروتينات قاعدية موجبة الشحنة ، تحتوى على نسبة عالية من الأحماض الأمينية القاعدية ، مثل اللايسين والأرجنين والهيستدين .

نموذج واطسون – كريك للدنا

يتكون الحامض النووى الدنا ، حسب النموذج الذى وضعه العالمان Watson & Crick, 1953 ، من سلاسل طويلة من النيوكليوتيدات [شكل ٥ (٣) – ١] المتصلة بالتبادل مع البنتوز والفوسفات .



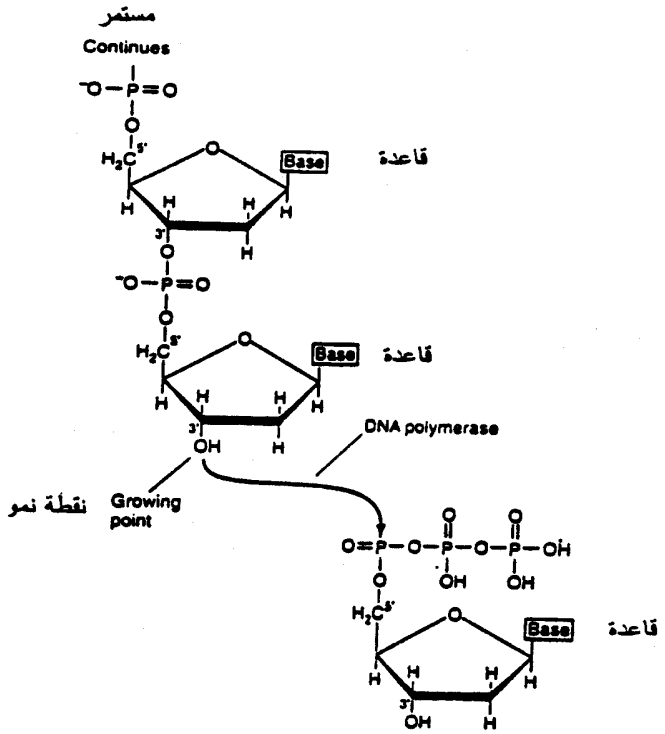
شكل ٥ (٣) – ١ : تركيب حامض الدنا DNA الحلزونى ، مزدوج الخيوط

لاحظ

- تمثل الخيوط العمود الفقرى للدنا ، وهى مكونة من سكر S ، وفوسفات P ، ومتصلة بالقواعد النتروجينية .
- ارتباط القواعد النتروجينية بروابط ايدروجينية
  - زوجية بين الأدنين Adenine (A) ، والثايمين Thymine (T)
  - ثلاثية بين الجوانين Guanine (G) ، والسيتوزين Cytosine (C)
- تشغل كل لفة بالخيط المزدوج مسافة ٣٤Å°
- قطر اللفة حول المحور حوالى ٢٠Å°

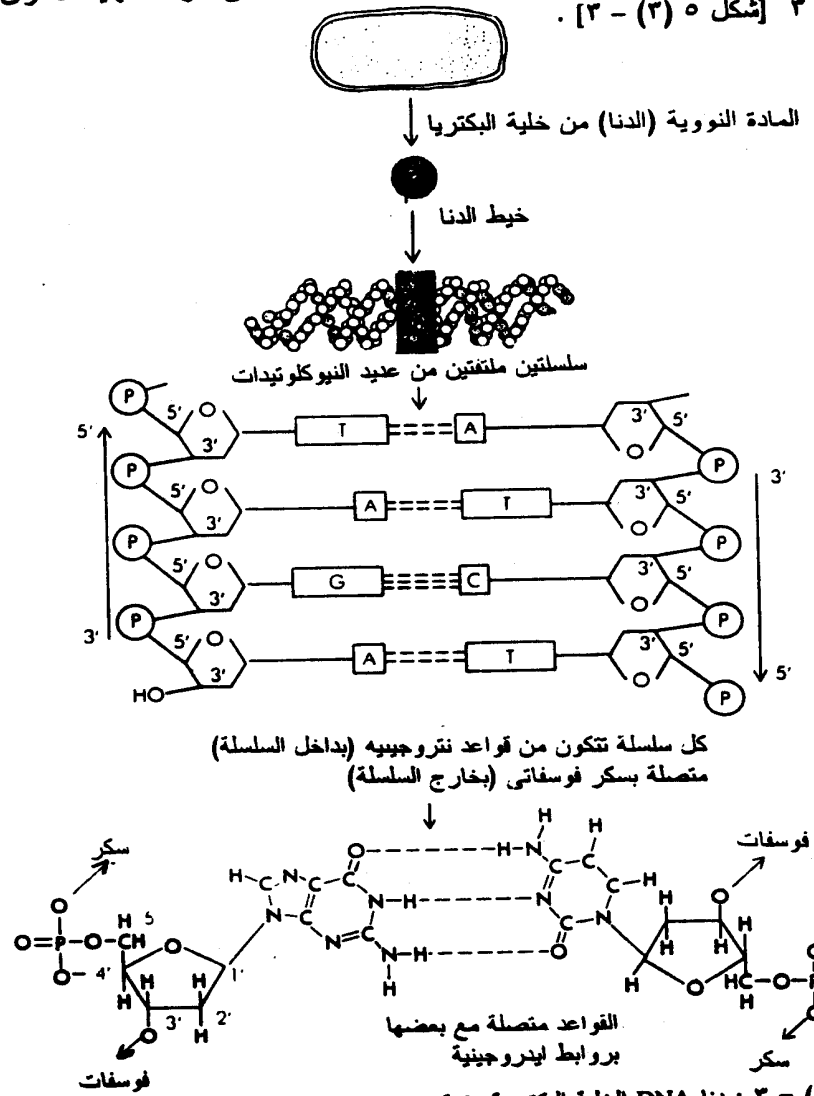
فكل نيوكليوتيدة ، ترتبط بالنيوكليوتيدة التالية لها عن طريق الفوسفات ، حيث يرتبط الفوسفات بالسكر فى القاعدة الأولى فى وضع ٥ ، ويرتبط الفوسفات بالسكر فى القاعدة التالية فى الوضع ٣ ، ويستمر نظام الارتباط هكذا على طول السلسلة [شكل ٥ (٣) - ٢] .

وتسمى رابطة الفوسفات مع السكر فى القاعدتين المتتاليتين ، برابطة الفوسفات ثنائية الاستر Phosphodiester bond ، وتكون عملية البناء دائما فى الاتجاه ٥ الى ٣ ، وسلاسل الحامض النووى حلزونية الشكل ، مزدوجة الخيوط ، تدور حول محور مركزى لتكون حلزونا مزدوجا Double helix ، ذو لفات ، وتتكون باللفة الواحدة من حوالى ١٠ قواعد نتروجينية .



شكل [٥ (٣) - ٢ : تركيب سلاسل الدنا DNA وطريقة إرتباط النيوكليوتيدات ببعضها .

والسلسلة ذات مظهر قطبى Polar ، حيث تقع مجموعة الفوسفات فى طرف أحد النهايات عند الوضع ٥ ، وتقع مجموعة الهيدروكسيل الحرة ، فى طرف النهاية الأخرى عند الوضع ٣ [شكل ٥ (٣) - ٣] .



شكل ٥ (٣) - ٣ : دنا DNA الخلية البكتيرية وتركيبه .

القواعد النتروجينية الموجودة بسلاسل حامض الدنا ، مكملة لبعضها ، وخاصية التكامل Complementation بين قواعد سلسلتى الدنا ، تجعل حامض الدنا منفردا فى قدرته على حفظ ونقل المعلومات الوراثية من كائن لآخر .

وبالإضافة إلى أن سلسلتى الدنا متكاملتين ، فإنهما فى توازى متعاكس Antiparallel ، بمعنى أن إحدى السلسلتين تكون فى الوضع ٣ ← ٥ ، بينما الأخرى تكون فى الوضع ٥ ← ٣ .

وتوجد القواعد النتروجينية بالنيوكليوتيدة بكميات متساوية ، حيث T = A , C = G ، كما أن مجموع البيورينات مساو لمجموع البرميدينات ، ولكن نسبة أزواج القواعد النتروجينية A+T/G+C Base pair ratio ، وإن كانت ثابتة بالنسبة للنوع الواحد ، إلا أنها تختلف بين الأنواع المختلفة ، وهى لذلك تعتبر صفة تقسيمية بين الأنواع ، كما أن كمية ماتحتويه الخلية من GC ثابتة للنوع ، وتعتبر أيضا صفة تقسيمية بين الأنواع .

ويرجع الثبات الوراثى فى الكائنات الحية ، الى ازدواج جزىء الدنا ، حيث يعمل أحد خيطى شريط الدنا ، كقالب لاصلاح الخيط الآخر ، وذلك للتكامل بين النيوكليوتيدات الموجودة على كلا الخيطين ، فأى تلف أو فقد لأى قاعدة بأحد الخيطين ، يتم بناؤها من خلال القاعدة النتروجينية للنيوكليتويدة المقابلة (أنظر ص ٥٥٧) .

ومن الدراسات التى أجريت على بكتريا *E. coli* ، وجد أن طول الكروموسوم (المفرود) حوالى ١,٤ مم ، (ويعتبر هذا الطول أطول بالاف المرات من طول خلية *E. coli* التى تحتويه ، والتى طولها حوالى ١,٠ ميكرومتر) ، وسمكه حوالى ٢٥ نانومتر ، ووزنه النوعى حوالى ٢,٩ × ١٠^{٩} دالتون ، وأن طول ١ ميكرومتر من دنا مزدوج الخيوط ، يحتوى على حوالى ٣٠٠٠ زوج من القواعد base pair (bp) ، أى ٣ كيلو أزواج قواعد kilo base pairs (kbp) ، وزنها حوالى ٢ × ١٠^{٦} ، ويتضاعف كروموسوم *E. coli* فى فترة تتراوح من ٢٠ الى ٤٠ دقيقة ، وذلك حسب ظروف الوسط .

وكما هو واضح من [شكل ٥ (٣) – ١] ، فإن القواعد النتروجينية الموجودة بالسلسلة، ترتبط مع بعضها بروابط من الايدروجين ، رابطة زوجية بين قاعدتى الأدنين A والثايمين T (A=T) ، ورابطة ثلاثية بين قاعدتى الجوانين G والسيتوزين C (G ≡ C) ، وهى روابط غير متساوية ، كما أنها ضعيفة ، وتتأثر هذه الروابط بالحرارة ، حيث يؤدى ارتفاع الحرارة الى كسر الروابط الموجودة بين القواعد وفك الالتفاف الحلزونى لحامض الدنا ، كما تتأثر هذه الروابط بتغير تركيز المغنسيوم ، أو بإضافة اليوريا إلى الوسط ، أو بزيادة كمية الضوء الممتص عند طول موجى ٢٥٩ نانومتر .

وزن جزىء الدنا DNA

النيوكليوتيدة هى وحدة بناء الدنا،والوزن الجزيئى للنيوكليوتيدة الواحدة ٣٣٠ دالتون ، ويتكون الدنا من عدة آلاف من النيوكليوتيدات ، ولذا فإن وزن جزىء الدنا كبير جدا ، يتراوح من عدة ملايين فى جزيئات الفيروسات الصغيرة ، إلى عدة مليارات فى الخلايا العادية .

ولصعوبة التعامل مع هذه الأوزان العالية ، فقد أتفق على استخدام مقياس أسهل من ذلك لتقدير حجم جزىء الدنا ، وهو عدد النيوكليوتيدات الموجودة فى جزىء الدنا ، والألف نيوكليوتيدة يعبر عنها بكيلو قواعد Kilo base, kb ، (أو هى تساوى طول ألف نيوكليوتيدة). ونظرا لأن الدنا يوجد فى صورة لولب مزدوج ، فإن القياس يكون بالتعبير عن كيلو أزواج

القواعد التى توجد بالجزىء Kilo base pairs, Kbp* ، (وهى تساوى طول ألف زوج من النيوكليوتيدات) ، فإذا ذكر على سبيل المثال ، أن حجم جينوم *E. coli* هو ٤٧٠٠ Kbp ، فإن ذلك يعنى أن جزىء جينوم *E. coli* يحتوى على ٤٧٠٠ كيلو من أزواج القواعد النتروجينية ، وأن طوله يساوى طول ٤٧٠٠ قاعدة من النيوكليوتيدات .

تخليق حامض الدنا : DNA biosynthesis

يتطلب تخليق حامض الدنا ، توفر النيوكليوتيدات بوسط النمو ، غير أن بعض أنواع البكتريا ذات الاحتياجات الغذائية البسيطة ، قادرة على تخليق ماتحتاجه من نيوكليوتيدات من مواد بسيطة مثل الجلوكوز وكبريتات الأمونيوم وبعض المعادن ، ويتم ذلك التخليق فى سلسلة من التفاعلات الانزيمية المعقدة ، التى يحتاج أغلبها إلى توفر طاقة فى صورة ATP . وبعد تخليق النيوكليوتيدات ، تقوم البكتريا بتكوين عديد النيوكليوتيدات ، لتكوين خيط الدنا الجديد ، اللازم لعمل السلسلة المزدوجة الخيوط لحامض الدنا . وخيط الدنا الحديث التخليق (البنوى) ، يعتبر مكملا لخيط الدنا القديم التكوين (الأبوى) ، الذى يعتبر قالبا للخيط البنوى حديث التخليق (راجع تضاعف خيوط حامض الدنا ، ص ٢٦٣ ومايليها] .

وبصفة عامة يتم تخليق الدنا كالآتى

$$\text{Nucleotide + ATP} \xrightarrow{\text{Kinase}} \text{Nucleotide phosphate + ADP}$$

$$\text{Nucleotide phosphate + ATP} \xrightarrow{\text{Kinase}} \text{Nucleotide diphosphate + ADP}$$

$$\text{Nucleotide diphosphate} \xrightarrow[Mg^{2+}]{\text{DNA polymerase}} \text{New strand DNA + PPi (inorganic pyrophosphate)}$$

فصل الدنا من البكتريا

فصل الدنا من خلايا البكتريا أسهل بكثير من فصله من خلايا الكائنات الأخرى ، ولعل هذا هو الذى سهل دراسة علم الوراثة الجزيئية ، والتعرف على ميكانيكية عمل الدنا فى نقل الصفات الوراثية .

---

* يستخدم مصطلح كيلو أزواج من القواعد Kbp ، للتعبير عن حجم الجينوم للبلازميد أو للحامض النووى المزدوج الخيوط ds .

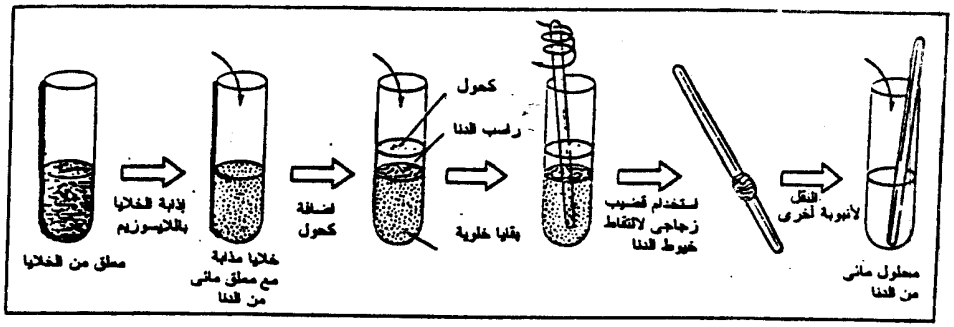
ويستخدم مصطلح كيلو قواعد Kb ، للتعبير عن حجم جينوم الحامض النووى المفرد الخيوط ss .

ويعبر عن طول الدنا بالكيلو قاعدة .

ويستخدم الدالتون D والكيلو دالتون KD ، للتعبير عن الوزن الجزيئى للمواد ، مثل البروتينات والنيوكليوتيدات .

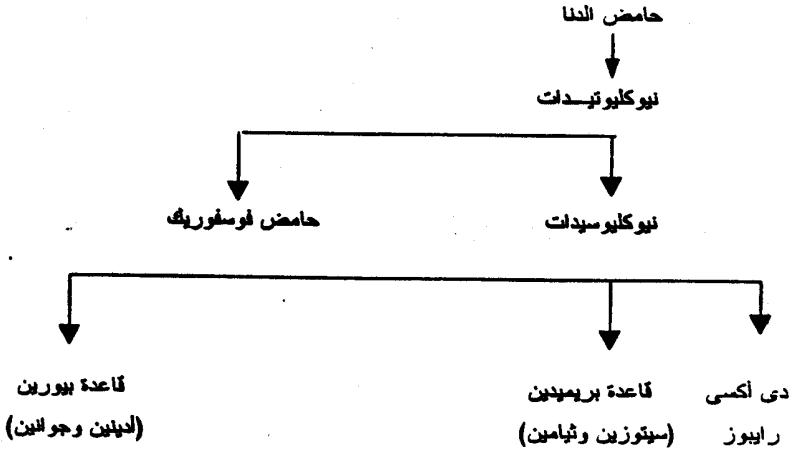
وأول متطلبات فصل الدنا ، هو تحليل الخلايا البكتيرية بواسطة اللايسوزيم ، وبذلك نحصل على معلق مائى يحتوى على الدنا ، ثم التخلص من البروتينات باستخدام الفينول ، والتخلص من الرنا RNA باستخدام Ribonuclease ، وبتكرار خطوات الفصل والتنقية عدة مرات ، نحصل على معلق الدنا الخالى من أى مكونات أخرى .

وشكل [٥ (٣) - ٤] ، يبين إحدى طرق استخلاص الدنا من خلايا البكتريا



شكل ٥ (٣) - ٤ : استخلاص الدنا من خلايا البكتريا .

وعندما يتحلل حامض الدنا ، الى مركبات ذات وزن جزيئى أقل ، فإن التحلل يمر بخطوات عكسية لخطوات تخليقه ، حيث تؤدى إزالة الفوسفات من النيوكليوتيده ، الى تكوين نيوكليوسيد ، وهذه تتحلل إلى قواعد نتروجينية وسكر بنتوز .



جينوم البكتريا : Genome of bacteria

الجينوم هو الطاقم الوراثى الموجود بالخلية ، أى مجموع الجينات الموجودة بها ، ويختلف عدد الجينات بإختلاف النوع البكتيرى وبإختلاف ظروف النمو البيئية ، ويصل عدد الجينات فى بكتريا *E. coli* ، على سبيل المثال ، إلى حوالى ٥٠٠٠ جين بالخلية الواحدة .

تحمل الجينات المعلومات الوراثية للخلية ، وعادة فإن لكل جين أليل واحد One allele ، لذا تعتبر البكتريا فردانية المجموعة الكروموسومية Haploid, 1N ، وإن كان قد وجد أن بعض الخلايا البكتيرية ، مثل تلك الحاملة لبلازميد عامل الخصوبة F-factor ، وجد بها كروموسومات أو أجزاء من كروموسومات ، ضعفائية المجموعة الكروموسومية Diploid, 2N (أى تحتوى على زوج من الكروموسومات ، أو على زوج من أجزاء الكروموسومات) .

يتكون الجين من مجموعة من النيوكليوتيدات الموجودة بسلاسل حامض دنا النواة ، وكل جين يعبر عن صفة معينة ، والمعلومات الوراثية لجين ما ، مشفرة بالقواعد النتروجينية المكونة للنيوكليوتيدات الخاصة بذلك الجين ، فإذا ماحدث تغيير فى التركيب الكيميائى للنيوكليوتيدات أو لترتيب تتابع القواعد النتروجينية بها ، فإن ذلك يؤدى إلى حدوث تطفر Mutation ، نتيجة للتعبير الخاطىء للجين ، الذى يسبب حدوث تعبير خاطىء فى السلسلة الببتيدية الجارى تخليقها ، أو الى عدم تكون تلك السلسلة على الإطلاق .

البلازميدات : Plasmids

البلازميد عبارة عن مادة وراثية ذات تركيب جينى من حامض الدنا ، توجد بسيتوبلازم الخلية البكتيرية خارج الكروموسوم Extrachromosomal DNA ، متحدة بالكروموسوم ، أو بعيدة عنه أى غير متحدة به .

فبالإضافة إلى حامض الدنا الكروموسومى (المكوِّن لكروموسوم البكتريا) ، فإن كثيرا من أنواع البكتريا تحتوى على حامض دنا دائرى ، مقفول ، مزدوج الخيط ، قادر على التضاعف الذاتى ، وعلى الانتقال من خلية بكتيرية لأخرى . ويقع هذا الحامض خارج الكروموسوم فى تركيبات تعرف بالبلازميدات ، ومنه مايكون متحدا بالكروموسوم ويتكامل معه فى عمله ، ويسمى ابيسوم Episome ، مثل عامل الخصوبة F-factor فى بعض أنواع البكتريا.

يتوقف حجم البلازميد على مايحتويه من جينات ، إذ يتراوح حجم البلازميد من واحد الى ألف كيلو زوج من القواعد ، كما يختلف العدد من بكتريا لأخرى ، ويصل أعداد البلازميدات فى بكتريا *E. coli* مثلاً ، إلى ٣٠٠ بلازميد ، ويمثل البلازميد حوالى ١-٣% من كمية حامض الدنا الكلية الموجوده بالخلية البكتيرية .

ويمكن استبعاد البلازميد من الخلية الحاملة له ، وقد يحدث ذلك ذاتيا ، أو باستخدام وسائل مناسبة ، مثل الاشعاع ، أو صبغة الأكريدين Acridine dye ، أو المعادن الثقيلة ...الخ، وتؤدى هذه الوسائل إلى ايقاف نشاط البلازميد أو تثبيط تكاثره ، فيتناقص عدده بالخلية مع تكاثرها حتى يختفى .

ويتم تكاثر البلازميد فى البكتريا السالبة لصبغة جرام ، من نقطة الابتـــداء Initiation point ، التى تقع فى موقع محدد على البلازميد ، ويتم التكاثر فى إتجاهين Bidirectional حول البلازميد ، بطريقة تشبه تلك التى تحدث عند تضاعف الكروموســوم البكتــيرى ، أمــا تكــاثر البلازميد فى البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، فيتم بنظام الحركة الدوارة Rolling circle mode (راجع تضاعف خيوط حامض الدنا ، بالصفحات التالية) .

دور البلازميـــد

لايحمل البلازميد جينات أساسية لحياة الخلية ، ولايشارك فى عمليات الأيض الغذائـــى الخلوى ، ولكنه يحمل بعض المعلومات الوراثية ، التى تكسب الخلية البكتيرية الموجودة بـــها ، خصائص وصفات خاصة ، وكأمثلة على ذلك :

- إكتساب الخلية البكتيرية خاصية نقل الدنا من خلية مانحة الـــى خليـــة مســـتقبلة ، ويســـمى البلازميد الذى يُكسب الخلية هذه الخاصية ، بلازميد الـــتزاوج Conjugation plasmid ، أو بلازميد الخصوبة F plasmid ، أوعامل الجنس Sex factor ، أو عامل الخصوبة F factor، ومن عوامل الجنس مايتحد بكروموسوم الخلية .
- إكتساب الخلية البكتيرية خاصية المقاومة لبعض العقاقير أو المضادات الحيوية أو الصبغـــات أو المعادن الثقيلة ، ويسمى البلازميد الذى يكسب الخلية هـــذه الصفـــة ، عـــامل المقاومـــة R factor ، أو بلازميد المقاومة R plasmid .
- إكتساب الخلية البكتيرية القدرة على إنتاج أورام Tumours بالعائل الذى تصيبه ، مثل بكتريا *Agrobacterium tumefaciens* عندما تحمل البلازميد Ti ، الذى يحث على حدوث مـــرض التدرن التاجى ، بالنبات المصاب بتلك البكتريا الحاملة للبلازميد Ti .
- إكتساب الخلية البكتيرية القدرة على انتاج بكتريوسينات * أو إنتاج توكسينات ، كما فى بكتريـــا القولون الحاملة للبلازميدات الخاصة بإنتاج تلك المواد .
- إكتساب الخلية البكتيرية القدرة على الالتصاق والنمو فى الموضع المناسب من العائل ، ممـــا يزيد من حـــدة البكتريـــا المرضيـــة ، كمـــا فـــى بكتريـــا القولـــون المعويـــة الممرضـــة Enteropathogenic *E. coli* ، الحاملة لبلازميد الاستيطان Colonization factor ، وهـــذا العامل يعطى لخلية البكتريا ، القدرة على الالتصاق بخلايا الطبقة الطلائية للأمعاء .

بلازميد الخصوبة فى بكتريا *E coli*

يصل حجم هذا البلازميد إلى حوالى ١٠٠ كيلو مـــن أزواج القواعـــد ، وقـــد يوجـــد البلازميد بعيداً عن الكروموسوم البكتيرى ، أو متحداً به، ويسمى البلازميد المتحد بالكروموسوم

---

* بكتريوسينات Bacteriocins : بروتينات سامة تكونها البكتريا الحاملة للبلازميد المولد لهذه البروتينـــات ، وهـــى مواد قاتلة للبكتريا الأخرى ، من نفس نوع البكتريا المنتجة للتوكسين أو أنواع أخرى قريبة منها ، ولكـــن لاتحمـــل عامل البلازميد، المولد لتلك البروتينات .

باسم إبيسوم Episome ، ويطلق على سلالة *E. coli* ذات الابيسوم ، سلالة بكتيرية عالية التكرار High frequency recombinant strain, Hfr strain ، وتمتاز هذه السلالة بقدرتها العالية على التكرار عند حدوث إتحاد جينى ، مقارنة بالسلالة الأخرى ذات عامل الخصوبة غير المتحد بالكروموسوم البكتيرى .

يحمل عامل الخصوبة جينات التزاوج ، وجينات التحكم فى إنتقال المادة الوراثية (الدنا) من الخلية المانحة الى الخلاية المستقبلة ، كما يحمل جينات التحكم فى تكوين شعيرات الخصوبة F pili (التى من خلالها تنتقل المادة الوراثية من خلية لأخرى) . ويقع عامل الخصوبة فى منطقة بالبلازميد تسمى Tra region ، وهى منطقة مميزة بالبلازميد ، وكبيرة نسبياً ، ويصل حجمها الى ٣٠ كيلو زوج من القواعد .

بلازميدات المقاومة : R plasmids, R-factors

من البلازميدات الهامة التى توجد فى بعض أنواع الخلايا البكتيرية ، بلازميدات المقاومة R plasmids ، لبعض العقاقير أو المضادات الحيوية أو المعادن الثقيلة . وتحمل هذه البلازميدات جينات ، تكوّن بالخلية بروتينات لها دور فى مقاومة البكتريا للعقار ، أو إفساده ، أو التأثير على دخوله إلى داخل خلية البكتريا .

وعلى سبيل المثال ، فإن بلازميد R100 ، يحمل جينات المقاومة لبعض المضادات الحيوية ، علاوة على جينات مقاومة الزئبق . وهذا البلازميد قادر على الانتقال ذاتيا بين البكتريا المعوية من أجناس: *Escherichia, Klebsiella, Proteus, Salmonella & Shigella*، بينما لاينتقل هذا البلازميد بين أجناس البكتريا غير المعوية .

تضاعف خيوط حامض الدنا : Replication of DNA strands

قبيل إنقسام الخلية البكتيرية ، تنفك سلسلتى الدنا ، المكونتين للكروموسوم البكتيرى ، وتعمل كل سلسلة كقالب Template ، لتكوين سلسلة جديدة عديدة البيتيدات ، مكملة تماما لسلسلة القالب ، وبذلك ينشأ حلزونين جديدين Two new helices ، كل حلزون Helix منهما يشبه الحلزون الأبوى تماما ، ويذهب كل حلزون من الحلزونين البنويين الجديدين ، إلى إحدى الخلايا البنوية الناتجة بالإنقسام من الخلية الأم .

هذا النوع من التضاعف للمادة الوراثية البكتيرية ، الذى تعمل فيه إحدى السلاسل عديدة النيوكليوتيدات ، كقالب لتخليق سلسلة جديدة مكملة لسلسلة القالب تماما ، يطلق عليه تضاعف شبه متحفظ Semi-conservative replication ، لأنه مع كل تضاعف ، تتكون سلسلة جديدة مع سلسلة قديمة محافظ عليها .

الحلزون البنوى الجديد Daughter helix الذى تم تخليقه ، يتكون من خيط قديم (محافظ عليه) ، وخيط آخر جديد مكمل للخيط القديم ، مما يعنى أنه يتم الاحتفاظ بخيط أبوى واحد فقط فى كل حلزون من الحلزونات البنوية الناتجة .

طرق تضاعف جزىء الدنا

يوجد ثلاث طرق لتضاعف جزيئات الدنا ، هى

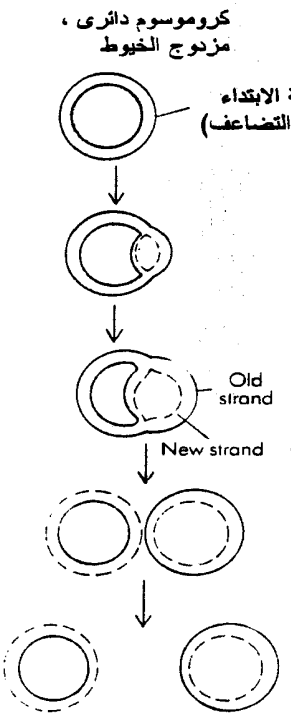
١- طريقة ثيتا θ (Theta) mode θ

فى هذه الطريقة يبدأ تضاعف الدنا الحلقى ، عند نقطة محددة ، تقع على جزىء الدنا ، تسمى منشأ التضاعف Origin of replication ، أو نقطة الابتداء Initiation point ، وهى مواقع متخصصة Specific sites لكل نوع بكتيرى ، وهى التى تنظم عملية تضاعف الدنا .

وتتكون نقطة الابتداء من تتابعات خاصة من القواعد النتروجينية ، يبلغ عددها حوالى ٣٠٠ قاعدة ، ويتم التعرف على هذه القواعد ببروتينات البدء Initiation proteins . وعند نقطة الابتداء يتم كسر سلسلة الدنا المزدوجة وفك الحلزون بإنزيم هليكيز Helicase ، فيتكون عند منطقة النمو ، شوكة التضاعف Replication fork ، ثم تبدأ عملية تضاعف الدنا .

ومع تقدم عملية تضاعف الدنا ، تتحرك نقطة النمو Growth point (شوكة التضاعف) مع نمو واستطالة جزىء الدنا ، ويتم تضاعف الدنا فى إتجاهين حول الكروموسوم ، مما يؤدى الى تكوين فقاعة Bubble ، وتزداد الفقاعة فى الحجم مع استمرار تضاعف الدنا .

تسمى هذه الطريقة بطريقة ثيتا Theta ، لأن شكل جزيئات الدنا الوسطية التى تتكون أثناء مراحل التضاعف ، تشبه شكل الحرف الاغريقى ثيتا θ ، وفى طريقة ثيتا للتضاعف ، يتضاعف الكروموسوم الحلقى الأبوى ، من نقطة النمو Growth point ، إلى كروموسومين حلقيين بنويين Two daughter chromosomes ، ويوجد بكل كروموسوم بنوى خيطين ، أحدهما أبوى محافظ عليه من جزىء الدنا الأبوى ، والآخر بنوى مخلق من جديد ومكمل لخيط الجزىء الأبوى المحافظ عليه . والشكل [٥ (٣) - ٥] ، يوضح طريقة ثيتا لتضاعف جزيئات الدنا الحلقية .



شكل ٥ (٣) – ٥ : تضاعف الدنا الحلقى بطريقة ثيتا

لاحظ وجود نقطة ابتداء واحدة تنمو فى إتجاهين ، أى يوجد منطقتى نمو .

٢–طريقة سيجما σ , (طريقة التضاعف بنظام الحلقة الدوارة)

σ (Sigma) or Rolling circle mode

فى هذه الطريقة من التضاعف ، تتحلل رابطة الفوسفات ثنائية الأستر Phosphodiester bond ، فى خيط واحد من خيوط جزىء الدنا الحلقى ، بواسطة انزيم اندونيوكلييز Endonuclease ، فيحدث شق (كسر) Nick بالخيط له نهايتى هيدروكسيل –٣ (3^{-}-OH) وفوسفات –٥ (5^{-} - PO_4) . ويعمل الخيط الحلقى المتكامل مع الخيط المكسور كقالب ، لتخليق خيط جديد يرتبط تساهمياً مع النهاية 3^{-} - OH للخيط الأبوى المكسور Nicked parental strand .

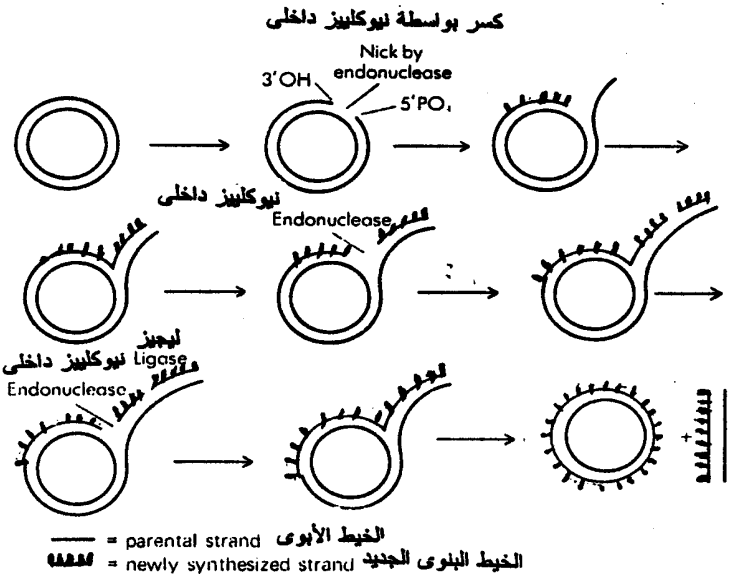
وبتقدم بناء الخيط الجديد عند النهاية 3^{-} - OH ، فإن النهاية الأخرى 5^{-} - PO_4 لنفس الخيط تزاح ، لتكون ذيلا على الحلقة .

وبإكتمال عملية تضاعف الدنا ، فإن الجزىء الحلقى الأبوى يتحول إلى كروموسومين بنويين ، أحدهما حلقى والآخر خيطى .

وتسمى هذه الطريقة بطريقة سيجما ، لأن أشكال التراكيب الوسطية من جزيئات الدنا التى تتكون أثناء التضاعف ، تشبه شكل الحرف الإغريقى سيجما σ [شكل ٥ (٣) - ٦] .

وتتم طريقة سيجما لتضاعف جزيئات الدنا ، فى بعض البكتريوفاجات مثل الفاج لمدا λ والفاج φ X 174 ، التى يتكون بانسالها ، دنا من النوع الخيطى . كما تتم طريقة سيجما فى البكتريا القادرة على التزاوج الجنسى ، وكذلك توجد هذه الطريقة فى أغلب الخلايا حقيقية النواة خلال مراحل تكوين البويضات Oogenesis .

[والشكل ٥ (٣) - ٦] يوضح طريقة سيجما لتضاعف جزيئات الدنا .



شكل ٥ (٣) - ٦ : تضاعف الدنا بطريقة سيجما

لاحظ حدوث كسر بخيط الدنا ، ثم إضافة نيوكليوتيدات بإنزيمات البلمرة ، وتكون قطع من الدنا تلتحم مع بعضها بانزيم الليجيز ، ثم حدوث قطع بواسطة انزيم النيوكليز ، لتكوين وحدات طولية من الدنا

٣- الطريقة الخيطية لتضاعف الدنا : Linear mode

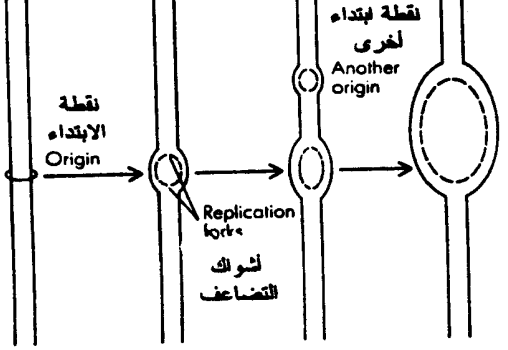
من المعروف أن كل خلايا حقيقيات النواة وكذلك بعض الفيروسات ، تحتوى على جزيئات دنا خيطية وليست حلقية . ويبدأ تضاعف هذه الكروموسومات عند نقاط الابتداء (منشأ التضاعف) Initiation points الواقعة على الكروموسوم ، عن طريق تكوين فقاعات تضاعف Replication bubbles .

قد تحتوى الفيروسات ذات جزيئات الدنا الخيطية الصغيرة ، على نقطة ابتداء واحدة يبدأ منها تضاعف الجزىء ، أما حقيقيات النواة ذات جزيئات الدنا الخيطية الكبيرة ، فقد تحتوى على المئات من نقاط الابتداء ، التى يتضاعف عندها جزىء الدنا .

وبتقدم عملية تضاعف الدنا من نقط الابتداء ، يزداد حجم فقاعات التكاثر ، كما تندمج الفقاعات الصغيرة المتجاورة لتكون فقاعات أكبر فى الحجم .

وباكتمال عملية تضاعف الدنا ، فإن الجزىء الخيطى الأبوى ، يتحول الى كروموسومين خيطيين بنويين من الحلزونيات المزدوجة Linear double-helical daughter molecules ، ويحتوى كل جزىء بنوى على خيط محافظ عليه من الجزىء الأبوى ، وعلى خيط آخر حديث التخليق مكمل للخيط الأبوى .

والشكل [٥ (٣) - ٧] يوضح طريقة التضاعف الخيطى .



شكل ٥ (٣) - ٧ : طريقة التضاعف الخيطية لجزىء الدنا .

لاحظ وجود أكثر من نقطة إبتداء ، وأن النمو فى إتجاهين .

يلاحظ من نظم تضاعف الدنا السابقة ، أن تضاعف جزيئات الدنا فى خلايا بدائيات النواة ، يتم من نقطة إبتداء واحدة لكل جزىء ، بينما يبدأ التضاعف فى خلايا حقيقيات النواة ، من عدة نقاط إبتداء ، توجد بالجزىء الواحد . ولايرجع ذلك إلى طول كروموسوم حقيقيات النواة ، ولكن يرجع إلى أن عملية تخليق النيوكليوتيدات بواسطة DNA polymerase فى حقيقيات النواة ، تكون أبطأ عن تلك الخاصة ببدائيات النواة ، وأن تعدد مراكز إبتداء النمو ، فيه تعويض لبطء النمو .

كما قد يتم تضاعف الدنا من نقطة الابتداء ، فى إتجاه واحد Unidirectional حول الكروموسوم ، أو يتم فى إتجاهين Bidirectional عند كل نقطة ابتداء ، مما يعنى فى هذه الحالة وجود أكثر من نقطة نمو ، فى منطقة الابتداء .

الأحداث التى تقع عند نقطة النمو بالدنا : Events at the growing point

تبدأ عمليات تضاعف خيوط الدنا ، عند نقطة الابتداء Initiation point بالكروموسوم، بكسر سلسلة الدنا المزدوجة وفك الحلزون ، وتكون شوكة التضاعف Replication fork ، ثم تبدأ عملية التخليق ، فيما يعرف بمنطقة النمو Growth point ، ويتم تخليق نيوكليوتيدات خيوط الدنا عند نقطة النمو ، وذلك بمعدل ١٠٠٠ نيوكليوتيدة فى الثانية الواحدة فى بدائيات النواة ، وبمعدل أقل من ذلك فى حقيقيات النواة ، ليصل لحوالى ١٠٠ نيوكليوتيدة فى الثانية .

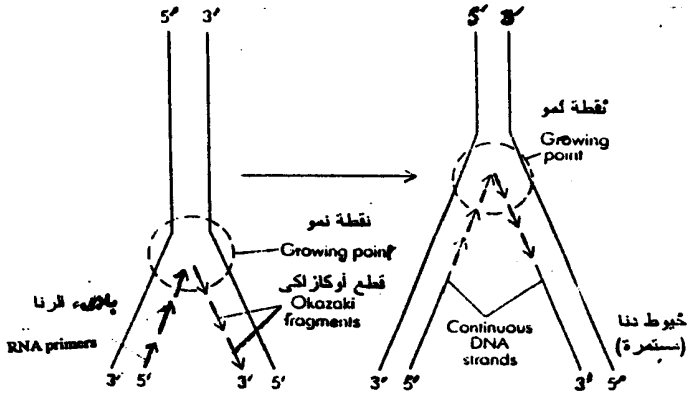
ويشترك فى عملية تخليق خيوط الدنا العديد من الانزيمات . ويبدأالنشاط بتلك الانزيمات الخاصة بفتح حلزون الدنا الأبوى وفك إلتفافه الحلزونى عند نقط الابتداء ، مع تكون شوكة التضاعف ,

ومن هذا الانزيمات التى تشارك فى بداية النشاط التخليقى

* بروتين فك الحلزون ، هليكيز ، Helix- unwinding protein, Helicase وهو بروتين معتمد على الـ ATP .
* إنزيم خلخلة الحلزون Helix-destabilizing enzyme .
* البروتين المسبب لإيقاف نشاط جزء الدنا الذى تم فكه ، والعمل على استرخاء هذا الجزء المفكوك ، ويسمى هذا البروتين باسم جريز الدنا DNA gryase . ويتحد هذا البروتين بالمنطقة المفكوكة من الدنا ، ويمنعها من تكوين روابط ايدروجينية ثانية بين السلاسل المفكوكة ، ويعقب ذلك ، نشاط مجموعة أخرى من الانزيمات الخاصة بتخليق النيوكليوتيدات فى مناطق النمو ، وربطها لتكوين خيوط جزىء الدنا .

بعد فتح حلزون الدنا وفك التفافه ، يتضاعف الدنا بشكل متقطع Discontinuous ، حيث يتضاعف خيط الدنا بواسطة إنزيمات البلمرة فى الإتجاه ٥ˉ الى ٣ˉ ، على هيئة قطع صغيرة Fragments (كل قطعة حوالى ألف نيوكليوتيدة فى الطول) ، تسمى قطع أوكازاكى Okazaki fragments (نسبة الى اسم مكتشفها) ويوضح ذلك بالشكل [٥ (٣) – ٨] .

يحتاج إبتداء تضاعف خيوط الدنا ، إلى وجود بادىء الرنا Primer [١] – RNA [٢] وهو عبارة عن تتابع قصير من حامض الدنا ، ويتم تخليق بادىء الرنا بواسطة انزيم RNA polymerase ، ويعتبر البادىء مكملا لخيط الدنا ، وهذا الخيط يعمل كقالب للبادىء .



شكل ٥ (٣) – ٨ : التخليق المتقطع بجزىء الدنا لاحظ تكون قطع أوكازاكى فى إتجاه ٥ˉ الى ٣ˉ ، ثم التحام القطع مع بعضها بانزيم الليجيز لعمل خيط الدنا المتصل ، مع تحرك نقطة النمو مع استطالة الدنا .

---

[١] بادىء ، مادة ممهدة ، مبدىء Primer : مادة تضاف الى البيئة الجارى تخميرها ، لتشجيع البكتريا المخمرة على انتاج المادة المطلوبة من التخمر ، كما يحدث عند إضافة بادىء لانتاج المضادات الحيوية .

[٢] بادئات الرنا RNA primers ، مواد ممهدة لتضاعف الدنا بالخلية . وتعمل بادئات الرنا ، مع انزيم RNA polymerase الذى يحتاج فى نشاطه الى وجود قالب فقط .

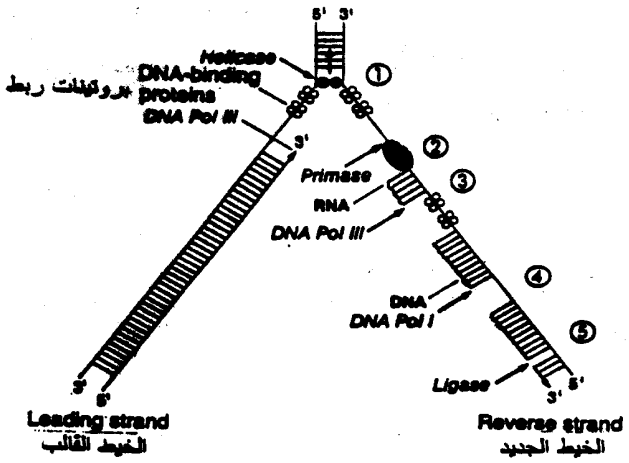
أما بادئات الدنا DNA primers ، فإنها تعمل مع انزيم DNA polymerase الذى يحتاج فى نشاطه الى وجود قالب بالإضافة الى وجود بادىء .

تتم البلمرة ، باستخدام نهاية $OH^- - 3'$ البادىء لإضافة Nucleotide diphosphate بواسطة إنزيم البلمرة DNA polymerase III ، وعندما تصل البلمرة بهذا الانزيم ، إلى منطقة يكون قد تم فيها بناء قطعة دنا ، DNA fragment ، يتوقف إنزيم DNA polymerase III عن العمل ، وينفصل ، ويعاود نشاطه ليكون قطعة أخرى جديدة من الدنا ، وبذلك تتكون قطع من الدنا .

يحل انزيم DNA polymerase I مكان انزيم III المنفصل ، حيث يقوم انزيم DNA polymerase I بإزالة البادىء Primer من التركيب ، بقدرته على إجراء القص بدءاً من النهاية $5'-PO_4$ ، مع التزامن في نفس الوقت بسد الفجوة الناتجة عن النقص ، بدءا من النهاية $3'$ ، بواسطة نشاط انزيمات البناء .

كما يستخدم انزيم DNA polymerase I مجموعة الهيدروكسيل $3'-OH$ الموجودة بقطعة الدنا التى تسبقه ، كبادىء لاطالة وامتداد جزيء الدنا السابق بنائه ، وبعد الازالة الكاملة لبادىء الرنا ، فإنه يتم وصل الشق الموجود بين خيطى الدنا ، بواسطة الانزيم اللاحم DNA ligase وانزيم البلمرة DNA polymerase II .

ويوضح شكل [٥ (٣) – ٩] الأحداث التى تقع ، عند تضاعف حامض الدنا المزدوج الخيوط .

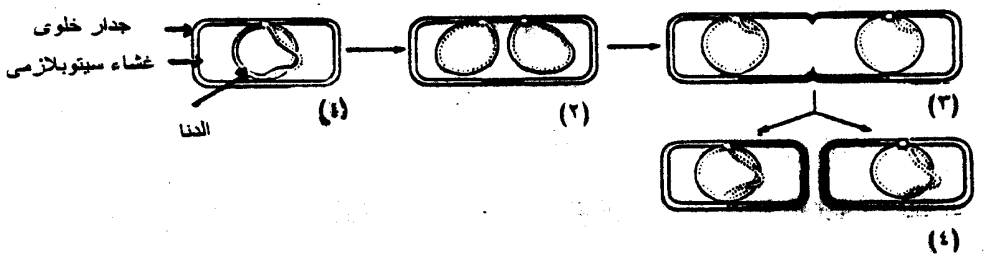


شكل ٥ (٣) – ٩ : تضاعف حامض الدنا المزدوج الخيوط

(1) – كسر الحامض عند نقطة الابتداء بانزيم هليكيز Helicase ، لتكوين شوكة التضاعف
(2&3) – تضاعف خيط الدنا بمساعدة البادىء وانزيم البلمرة III على شكل قطع (أمام الخيط القالب) .
(4) – إزالة البادىء ، مع ملأ الفجوات بانزيم البلمرة I .
(5) – وصل الشق الموجود بين الخيوط بانزيم ليجيز Ligase .
Pol : بوليمريز Polymerase .

تضاعف كروموسوم الخلية

يوضح الشكل [٥ (٣) – ١٠] الشكل العام لتضاعف كروموسوم الخلية البكتيرية وإنقسام الخلية الى أثنتين ، على أساس أن تضاعف الدنا يتم فى إتجاه واحد Unidirectional ، فى وجود نقطة ابتداء واحدة للتضاعف .



شكل ٥ (٣) – ١٠ : تضاعف الكروموسوم الدائرى ، وانقسام الخلية البكتيرية .

يلاحظ من شكل [٥ (٣) – ١٠] الآتى

١ – المادة الوراثية للخلية البكتيرية عبارة عن جزىء دنا واحد ، دائرى ، متصل بغشاء الخلية السيتوبلازمى عند الميسوسوم .

٢– تضاعف الدنا الى كروموسومين ، وذلك قبيل انقسام الخلية الأبوية ، بالطرق السابق ذكرها لتضاعف جزىء الدنا .

ويلاحظ من الشكل أن كلا الكروموسومين الناتجين من التضاعف متصلين بالغشاء السيتوبلازمى للخلية فى موقعين متجاورين .

٣– بتقدم إنقسام الخلية ، ينمو غشاؤها السيتوبلازمى فى المنطقة الفاصلة بين موقعى إتصال الدنا بالغشاء (المنطقة السوداء بالشكل) ، فيزداد طول الغشاء بتلك المنطقة ، وعلى ذلك يبتعد موقعى كروموسومى الدنا عن بعضهما .

٤– بعد تمام إنقسام الخلية الأبوية إلى خليتين بنويتين ، نتيجة تكون جدار عرضى بينهما ، يبقى كروموسوم من كروموسومى الدنا ، بكل خلية بنوية (راجع الباب السادس ، الفصل الأول ، الإنقسام الثنائى البسيط) .

﴿الباب الخامس – الفصل الرابع﴾

التجرثم البكتيـــرى

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
مقدمـــــة	٢٧٥
الجراثيم الداخلية	٢٧٥
الأجناس البكتيرية المكونة لجراثيم داخلية	٢٧٦
مميزات الجرثومة الداخلية	٢٧٦
مقاومة الجرثومة الداخلية للظروف السيئة	٢٧٧
شكل وحجم الجرثومة الداخلية وموضعها بالخلية المتجرثمة	٢٧٨
تركيب الجرثومة الداخلية	٢٧٩
تكون الجراثيم الداخلية	٢٨١
جينات التجرثم	٢٨٣
مراحل تكوين الجراثيم	٢٨٣
التغيرات المورفولوجية والفسيولوجية التى تحدث أثنـــاء عمليـــة التجرثم	٢٨٦
إنبات الجرثومة الداخلية	٢٨٨
كسر طور السكون	٢٨٨
مرحلة النمو	٢٨٩
التغيرات الفسيولوجية والكيميائية التى تحدث أثناء عملية الإنبات.	٢٩٠
أنواع الجراثيم الأخرى التى تكونها البكتريا	٢٩٠
١- الحويصلات	٢٩٠
٢- الجراثيم اللزجة	٢٩٢
٣- الجراثيم الكونيدية والاسبورانجية	٢٩٣
٤- الجراثيم الخارجية	٢٩٤
مراجع الباب الخامس	٢٩٤

﴿الباب الخامس – الفصل الرابع﴾

التجرثـــــم البكتيرى Bacterial Sporulation

مقدمـــة

بعض أنواع البكتريا قادرة على تكوين جراثيم لاجنسية ، وتعتبر هذه الجراثيم مرحلـــة سكون أى ذات نشاط أيضى منخفض ، وعندما تتحسن الظروف البيئية ، فإن هذه الجراثيم تعاود النشاط والنمو ، وتكون خلايا خضرية جديدة .

وقد أمكن التعرف على خمسة أنواع من الجراثيم البكتيرية

١ – الجراثيم الداخلية : Endospores

وهى جراثيم توجد داخل الخلية البكتيرية ، ومن الأجناس المكونة لجراثيـــم داخليـــة ، أنواع هوائية مثل *Bacillus* ، وأخرى لاهوائية مثل *Clostridium* .

٢ – الحويصلات : Cysts

تتشكل الحويصلات على الخلايا البكتيرية ، وتتشابه فى بعض صفاتها مـــع الجراثيـــم الداخلية ، وتوجد الحويصلات بصفة خاصة فى جنس أزوتوباكتر *Azotobacter* .

٣ – الجراثيم اللزجـــة : Myxospores

وتتكون هذه الجراثيم بالأنواع التابعة لرتبة Myxobacteriales .

٤ – الجراثيم الكونيدية والإسبورانجية : Conidiospores and Sporangiospores

تتكون هذه الجراثيم بأطراف أو بجوانب الهيفات الهوائية ، لبعض الأجنـــاس التابعـــة لرتبة الأكتينومايسيتات ، وتعتبر هذه الجراثيم وسيلة تكاثر ، بخلاف أنواع الجراثيـــم البكتيريـــة الأخرى ، التى تعتبر مرحلة سكون لحفظ النوع .

٥ – الجراثيم الخارجية : Exospores

وتتكون هذه الجراثيم خارج الخلية البكتيرية ، كما فى البكتريا المؤكسدة لغاز الميثـــان ، مثل جنس *Methylosinus* .

الجراثيم الداخلية : Endospores

تعتبر الجراثيم الداخلية للبكتريا ، أكثر أنواع الجراثيـــم البكتيريـــة أهميـــة ، وأكثرهـــا تعرضا للدراسات التفصيلية ، وهذه الجراثيم عبارة عن مرحلة ســـكون ، تحمـــى الخليـــة مـــن الظروف البيئية السيئة ، وعندما تتحسن تلك الظروف ، تعاود الجراثيم النشاط والنمو ، وتكويـــن خلايا خضرية جديدة .

وتكوّن الخلية البكتيرية الخضرية الواحدة ، جرثومة داخلية واحدة ، وتنتج الجرثومة الداخلية ، خلية خضرية واحدة ، وهذا يعني أن التجرثم في البكتريا (عدا تجرثم الأكتينومايسيتات) ، يعتبر طريقة من طرق حفظ النوع ، وليس طريقة من طرق التكاثر كما في بعض الكائنات الأخرى ، كالخمائر والفطريات والبروتوزوا .

الأجناس البكتيرية المكونة لجراثيم داخلية

توجد الجراثيم الداخلية في أجناس بكتيرية محددة ، تمتاز كلها بأنها عصوية (عدا جنس واحد كروى هو *Sporosarcina*) والبكتريا المتجرثمة داخليا ، موجبة لصبغة جرام ، وأغلبها متحرك بأسواط محيطيه .

منها أجناس هوائية أو اختيارية للهواء ، هى

Bacillus, Sporolactobacillus, Sporosarcina, Sporovibrio and *Thermoactinomyces*

ومنها أجناس لاهوائية ، هى :

Clostridium, Desulfotomaculum and (*) *Oscillospira*

وأغلب أنواع البكتريا المتجرثمة داخليا مترممة ، وتوجد بالتربة والمياه ، والبعض ممرض مثل *B. anthracis* ، والبعض الآخر مثل *Clostridium botulinum* مفرز للسموم .

وتحصل البكتريا اللاهوائية على طاقتها من التخمرات كما في جنس *Oscillospira & Clostridium* (*) ، أو من التنفس اللاهوائى باستخدام الكبريتات كمستقبل للالكترونات مثل جنس *Desulfotomaculatum* .

وتحتوى البكتريا المتجرثمة عموما على نسبة منخفضة من قواعد الـ GC ، حيث تصل نسبة GC في الكلوستريديوم إلى حوالى ٢٠-٢٧% ، وهى أقل نسبة قواعد نتروجينية توجد في جميع أنواع بدائيات النواة .

مميزات الجرثومة الداخلية

الجرثومة البكتيرية الداخلية عبارة عن جسم كثيف يتكون داخل الخلية الخضرية ، في الأنواع البكتيرية المتجرثمة ، والجرثومة ذات سطح ناعم Smooth أو مخطط Streaked أو مضلع Ribbed (حسب النوع) . وتصل نسبة الرطوبة بالجرثومة لحوالى ١٥% ، وتمثل الجرثومة حوالى عشر حجم الخلية الخضرية التى نشأت منها ، وعلى الرغم من ذلك ، فإن الجرثومة تحتوى على معظم المحتويات الصلبة للخلية الخضرية ، وكذلك جميع الانزيمات والرايبوسومات الضرورية ، وجميع الوحدات الوراثية اللازمة لاستمرار النوع .

وتظهر الجرثومة تحت المجهر الضوئى كجسم لامع ، إذ أن معامل إنكسار الأشعة الضوئية بواسطة بروتين الجرثومة الجاف ، أعلى بكثير من معامل إنكسار الأشعة ببروتين الخلية الخضرية الرطب ، كما أن الجرثومة غير قابلة للصبغ بالصبغات العادية ، لعدم قدرة

(*) بكتريا *Oscillospira* ، بكتريا كبيرة الحجم ، عصوية منحنية ، فى سلاسل ، وتتواجد فى كرش الحشرات .

الصبغة على النفاذ من جدار الجرثومة السميك ، ويلزم لصبغ الجراثيم البكتيرية استخدام صبغات قوية وحرارة أثناء الصبغ ، لتسهيل دخول الصبغة إلى داخل الجرثومة .

مقاومة الجرثومة الداخلية للظروف السيئة

تتميز الجرثومة الداخلية بشدة مقاومتها للظروف البيئية السيئة ، كالحرارة العالية والبرودة والجفاف والكيميائيات والضغوط الأسموزية ... الخ ، وذلك مقارنة بالخلايا الخضرية التى نتجت منها ، أو مقارنة بأنواع الجراثيم البكتيرية الأخرى ، مثل الحويصلات والجراثيم اللزجة والجراثيم الخارجية وجراثيم الأكتينومايسيتات ، فقدرة الجراثيم البكتيرية الداخلية على مقاومة الظروف السيئة ، لاتماثلها فيها أى نوع آخر من الأحياء .

والأمثلة التالية ، توضح مدى قدرة الجراثيم الداخلية البكتيرية ، على مقاومة الظروف السيئة

١ – تستطيع الجراثيم أن تحتفظ بحيويتها لفترات طويلة وهى فى حالة جفاف ، مثل بكتريا حمى الانثراكس ، التى تستطيع تَحَمُّل الوسط الجاف لعشر سنوات .

٢– تستطيع الجراثيم أن تتحمل الغليان لفترات طويلة دون أن تموت ، مثل جراثيم البوتيولينم التى تستطيع تحَمُّل الغليان لعدة ساعات ، أو تحَمُّل التعقيم على درجة ١٢٠°م لعدة دقائق ، فى الوقت الذى تهلك فيه الخلايا الخضرية عند تعرضها لدرجة ٨٠°م لعدة دقائق .

ويستفاد من خاصية تحمل الجراثيم للحرارة ، عند الرغبة فى عزل الجراثيم من الوسط الموجوده به ، ثم تنميتها .

وبسبب مقاومة جراثيم البكتريا الداخلية للحرارة العالية ، فإن الغليان لايكفى للتخلص منها ، بل يلزم للقضاء عليها اللجوء إلى التعقيم بواسطة الأوتوكلاف ، أو التعقيم بمعقم الهواء الساخن على درجة حرارة عالية ولفترة زمنية طويلة .

٣– تستطيع الجراثيم مقاومة الإشعاع عن الخلايا الخضرية التى نتجت عنها ، وتَحَمُّل أضعاف الجرعات الاشعاعية التى لاتتحملها الخلايا الخضرية .

وقد وضعت تفسيرات عديدة لتفسير القدرة العالية للجراثيم البكتيرية الداخلية على مقاومة الظروف السيئة . من هذه التفسيرات

- سمك جدار الجرثومة البكتيرية غير المنفذ للمواد الضارة كالكيميائيات والسموم وغيرها ، الى داخل السيتوبلازم ، مما يحفظ الخلية من تأثير هذه المواد السامة .
- إحتواء بروتين الجرثومة على كمية قليلة من الرطوبة (حوالى ١٥%) ، مقارنة ببروتين الخلايا الخضرية (حوالى ٨٠%) .

إذ تقترب رطوبة بروتين الجرثومة من رطوبة البروتين الجاف Dehydrated protein ، ويتميز البروتين الجاف بأنه أكثر مقاومة لتأثير الحرارة بكثير عن البروتين الرطب .

- إحتواء الجرثومة البكتيرية الداخلية على حامض الدبيكولينيك * ، Dipicolinic acid (DPA) ؛ (Pyridine-2,6-Dicarboxylic acid) بكميات كبيرة ، تصل الى ١٥% من وزن الجرثومة الجاف ، وغالباً مايوجد هذا الحامض فى منطقة لب الجرثومة Spore core ، ويساعد وجود هذا الحامض على عملية تجفيف الجرثومة أثناء تخليقها داخل الخلية الخضرية.

ويكون حامض DPA مع الكالسيوم ، مركب Ca Dipicolinate ، ويلعب هذا المركب ، بالإضافة إلى جفاف الجرثومة ، دوراً رئيسيا فى مقاومة الجرثومة البكتيرية للحرارة العالية ، ويتم تخليق هذا الحامض فى المراحل المتقدمة من عملية التجرثم .

- ومما يساعد أيضا على مقاومة الجرثومة للحرارة ، وجود إنزيمات الجراثيم فى حالة ثبات Stabilized ، فى تراكيب الجرثومة ، وتقع الانزيمات التى فى حالة الثبات عادة فى جدار الجرثومة ، وذلك كما لوحظ فى حالة إنزيم Alanine racemase فى بكتريا *B. cereus* . ويعود الثبات الحرارى لبعض الانزيمات الجرثومية ، لإرتباطها بأيون الكالسيوم .
- إحتواء أغلفة الجرثومة Spore coats ، على نسبة مرتفعة من البروتينات المحتوية على الحامض الأمينى الكبريتى السستئين Cysteine ، ذو الروابط الكبريتيدية Disulfide bridges وترتبط مقاومة الجراثيم للإشعاع بعدد الروابط الكبريتيدية الموجودة بالأغلفة البروتينية للجرثومة .

شكل وحجم الجرثومة الداخلية وموضعها بالخلية المتجرثمة

Shape, size and location of endospores

تسمى الخلية الخضرية الحاملة للجرثومة الداخلية ، باسم الحافظة الجرثومية أو الاسبورانجيوم Sporangium . ويعتبر شكل الجرثومة ، وحجمها ، وموضعها بالاسبورانجيوم صفات تقسيمية ثابتة ومميِّزة للنوع البكتيرى الواحد .

قد يكون شكل الجرثومة كروى Spherical ، أو بيضى Ellipsoidal ، أو اسطوانى Cylindrical ، وقد تقع الجرثومة بوسط الخلية المتجرثمة ، وتسمى جرثومة وسطية Central spore ، كما فى بكتريا *B. subtilis* ، أو بقرب طرف الخلية ، وتسمى جرثومة قرب طرفية أو تحت طرفية Subterminal ، كمافى بكتريا *Clostridium. fallax & Cl. subterminale* ، أو تقع الجرثومة بطرف الخلية ، وتسمى جرثومة طرفية Terminal ، كما فى بكتريا *Cl. sporogenes* .

ومن حيث حجم الجرثومة ، فعادة مايكون قطر الجرثومة مساو أو أقل من قطر الاسبورانجيوم ، ولكن فى بعض الأنواع البكتيرية ، قد يزيد قطر الجرثومة عن قطر الاسبورانجيوم ، مما يسبب انتفاخا Swelling بالاسبورانجيوم ، وفى هذه الحالة فإن الحافظة الجرثومية تأخذ الأشكال التالية [شكل ٥ (٤) - ١] .

---

* أنظر تركيب حامض الديكولينيك بشكل [٥ (٤) - ٢] ، ص ٢٨٠ .

* **الشكل القاربى Boat-like shape**

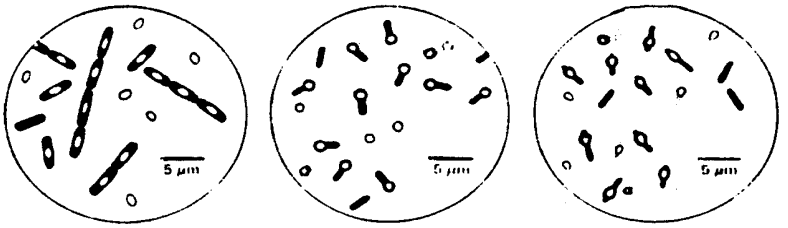
وذلك عندما يكون الانتفاخ بوسط الخلية ، كما فى بكتريا *B. cereus & B. polymyxa* .

* **الشكل المغزلى Spindle shape**

وذلك عندما يكون الانتفاخ قرب طرف الخلية ، كما فى بكتريا *Cl. botulinum & Cl. subterminale* .

* **شكل عصا الطبلة Drum-stick shape**

وذلك عندما يكون الانتفاخ بطرف الخلية ، كما فى بكتريا *Cl. tetani* .



الجرثومة بيضاوية ، وسطية غير منتفخة
B. cereus
شكل قاربى

الجرثومة كروية طرفية منتفخة
Cl. tetani
شكل عصا الطبلة

الجرثومة بيضاوية قرب طرفية منتفخة
Cl. subterminale
شكل مغزلى

شكل ٥ (٤) – ١ : أشكال تخطيطية توضح شكل وحجم وموضع الجرثومة الداخلية ، بخلايا أنواع مختلفة من البكتريا .

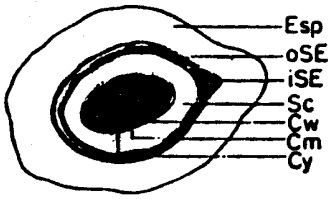
تركيب الجرثومة الداخلية : Structure of endospore

تختلف الجرثومة الداخلية فى تركيبها ، عن تركيب الخلية الخضرية التى نتجت منها ، وبالفحص بالمجهر الالكترونى ، تظهر الجرثومة محاطة بعدة أغلفة ، وعموما ، فإن الجرثومة البكتيرية تتركب من الطبقات التالية بدءا من خارج الجرثومة الى داخلها [شكل ٥ (٤) – ٢] .

١– ظهارة الجرثومة ، الاكسوسبوريام : Exosporium

هى الطبقة الخارجية من الجرثومة ، وهى تحيط بأغلفة الجرثومة البكتيرية ، والاكسوسبوريام طبقة رقيقة غير محددة السمك إذ يتوقف سمكها على ظروف البيئة ، وتتكون أساسا من سكريات معقدة ، وتشاهد بوضوح فى بعض الأنواع البكتيرية ، مثل بكتريا *B. cereus, B. megaterium & B. polymyxa* ، وتساعد طبقة الاكسوسبوريام فى حماية الجرثومة من الظروف السيئة .

تركيب الجرثومة



dipicolinic acid

شكل ٥ (٤) - ٢ : تركيب الجرثومة الناضجة

Esp : Exosporium ، ظهارة الجرثومة
oSE : outer Spore envelopes ، الأغلفة الخارجية للجرثومة
iSE : inner Spore envelopes ، الأغلفة الداخلية للجرثومة
Sc : Spore cortex قشرة الجرثومة
Cw : الجدار الخلوى
Cm : الغشاء السيتوبلازمى
Cy : السيتوبلازم
لب الجرثومة Spore core ، البروتوبلاست

أنظر: تركيب حامض دبيكولينيك ، على يمين الشكل

٢- أغلفة الجرثومة : Spore coats

الأغلفة الجرثومية تلى منطقة الاكسوسبوريام ، وهى تحيط بالقشرة Cortex ، وتتكون الأغلفة من طبقة واحدة أو اكثر قد تصل فى بعض الأنواع إلى أربعة (مثلاً يوجد غلاف واحد فى جرثومة *B. cereus* ، ويوجد غلافين فى *B. megaterium*) .

وتتركب أغلفة الجرثومة أساسا من البروتينات ، وتمثل هذه البروتينات حوالى ٣٠-٦٠% من وزن الجرثومة الجاف ، ويحتوى بروتين الأغلفة على نسبة مرتفعة من الحامض الأمينى الكبريتى السستين Cysteine ، مع أحماض أمينية أخرى كارهة للماء وقليل من اللبيدات والببتيدوجلوكان .

وتساعد الأغلفة فى حماية الجرثومة من الجفاف والكيميائيات الضارة والاشعاع

٣ – القشرة : Cortex

تقع القشرة بين أغلفة الجرثومة وجدار الجرثومة ، وتتكون القشرة من طبقات متعددة من الببتيدوجلوكان ، وهو يختلف فى تركيبه عن تركيب ببتيدوجلوكان الجدار ، من حيث محتواه من الأحماض الأمينية ، ونظام إرتباط السلاسل مع بعضها .

تعطى القشرة الصلابة للجرثومة البكتيرية ، كما تحميها من التأثيرات الضارة للكيميائيات والمواد السامة ، وتعيق دخول الصبغات إلى داخل الجرثومة .

وتركيب القشرة ، تركيب مميز للجرثومة البكتيرية ، حيث يظهر هذا التركيب فى الجرثومة فقط ، ولايتواجد فى الخلية الخضرية .

٤– جدار الجرثومة : Cell wall

جدار الجرثومة يفصل القشرة عن بروتوبلاست الجرثومة ، وهو يشبه فى تركيبه الجدار الخلوى للخلية الخضرية ، وإن كان الببتيدوجلوكان المكون لجدار الجرثومة ، أكثر مقاومة للتحلل عن ذلك الموجود بجدار الخلية الخضرية ، أو الموجود بأغلفة الجرثومة .
ويحمى جدار الجرثومة ، لب الجرثومة Core من التأثيرات الخارجية الضارة .

٥ – بروتوبلاست الجرثومة (لب الجرثومة)

البروتوبلاست يلى جدار الجرثومة ، ويمثل البروتوبلاست لب الجرثومة Spore core، أى الجزء المركزى فيها ، وهو يشمل كلا من الغشاء السيتوبلازمى والسيتوبلازم بكل مشتملاته البروتينية ومكوناته الخلوية ، وما به من مادة نووية .

ويتميز سيتوبلازم الجرثومة ، بإنخفاض محتواه من الماء مقارنة بسيتوبلازم الخلية الخضرية ، وبإحتوائه على نسبة مرتفعة من الكالسيوم وحامض دبيكولينيك .

ويوضح الجدول التالى [٥ (٤) – ١] ، أهم الفروق الموجودة بين الجرثومة الداخلية والخلية الخضرية التى نتجت منها .

تكون الجراثيم الداخلية : Spore formation

يعتبر التجرثم الداخلى فى البكتريا المتجرثمة ، طوراً من أطوار نمو البكتريا ، إذ أن الجرثومة البكتيرية تتكون من المحتويات الداخلية للخلية الأم ، والظروف البيئية التى تؤدى الى تطور نمو البكتريا ، هى نفس الظروف التى تؤدى الى تكون الجراثيم الداخلية ، بمعنى أن طور التجرثم يبدأ ، بعد أن تكون الخلايا البكتيرية قد مرت أولا بطور النمو والتكاثر ، ووصلت إلى طور النضج ، ودخلت طور الثبات ، وعادة مايكون بداية التجرثم فى بداية طور الثبات . وفى طور الثبات يطول عمر الجيل ، وتأخذ المواد الغذائية الموجودة بالبيئة ، خصوصاً مصدر الكربون ، فى التناقص ، وتتراكم فضلات الأيض الغذائى بالمزرعة ، مما يشجع على دخول البكتريا مرحلة التجرثم .

جدول ٥ (٤) - ١ : أهم الفروق بين مكونات الجرثومة الداخلية ، ومكونات الخلية الخضرية التى نتجت منها الجرثومة .

الخاصية	الجرثومة الداخلية	الخلية الخضرية
نسبة الرطوبة	منخفضة ، حوالى ١٥% من وزن الجرثومة الجاف . وتوجد الرطوبة فى صورة مرتبطة	مرتفعة ، حوالى ٨٠%
القشرة Cortex	يوجد	لايوجد
حامض دبيكولينيك	يوجد	لايوجد
الكالسيوم	يوجد بتركيز عالى	يوجد بتركيز منخفض نسبيا
النشاط الانزيمى	فى حالة سكون	فى حالة نشطة
مقاومة الظروف السيئة ، (الحرارة والجفاف والمطهرات والاشعاع ... الخ)	عالية	منخفضة

ويمكن تشجيع عملية التجرثم معمليا بطريقتين

١- تنمية البكتريا فى بيئة بها مستوى محدود من عنصر غذائى معين ، كالكربون أو النتروجين ، وباستهلاك البكتريا لهذا العنصر الغذائى المحدود ، فإن نموها يتوقف ، وتدخل الخلايا فى مرحلة التجرثم .

٢- تنمية البكتريا فى بيئة عادية ، وبعد وصول الخلايا الى مرحلة النمو اللوغاريتمى ، تنقل خلايا المزرعة إلى بيئة فقيرة غذائيا ، فيقف النمو الخضرى ، وتبدأ الخلايا البكتيرية فى التجرثم .

وتتميز الطريقة الثانية ، بأن الخلايا تبدأ التجرثم ، وتتجرثم ، بطريقة متزامنة Synchronously .

ومن العوامل التى تساعد على التجرثم ، إضافة أملاح بعض المعادن الى البيئة مثل أملاح المنجنيز والكروم والنيكل ، والنترات والأمونيوم ، وكذلك رج المزرعة الخضرية مع ماء مقطر على درجة ٣٧°م ، وأيضا التحضين على درجة حرارة غير مناسبة .

وعلى العكس من ذلك ، فإن وجود بعض المواد بالبيئة مثل الأحماض الدهنية المشبعة ذات السلاسل التى تحتوى على ١٠ الى ١٤ ذرة كربون ، تثبط عملية التجرثم خاصة فى جنس باسلس .

جينات التجرثم

يتحكم الجينوم البكتيرى كما هو معروف ، فى النمو الخضرى وفى عملية التجرثم ، وأثناء النمو الخضرى تكون جينات التجرثم فى حالة تثبيط ، بسبب حدوث كبح هدمى* Catabolic repression من نواتج هدم جلوكوز ونتروجين البيئة ، وبإختفاء نواتج هدم هذه المواد بتقدم عمر المزرعة ، يقف كبح جينات التجرثم ، فتنشط وتبدأ فى عملها .

كما يسبب كبح جينات التجرثم أيضا ، إتحاد جلوكوز البيئة بمادة 3`, 5`-cyclic guanosine- 5` - monophosphate, cGMP ، اللازمة كبادىء لتشجيع عملية التجرثم ، وبإختفاء الجلوكوز من البيئة بتقدم عمر المزرعة ، تنفرد مادة cGMP ، فتنشط كبادىء ، وتُنشّط عملية التجرثم .

عدد الجينات الذى يتحكم فى عملية التجرثم حوالى ٥٠ جين ، توجد موزعة على الكروموسوم البكتيرى ، وهى كما ذكر سابقا ، تكون خاملة أثناء نمو الخلية الخضرى ، وبزوال أسباب تثبيط جينات التجرثم ، فإن ذلك ينشط جينا معينا بمجموعة جينات التجرثم ، وعندما ينشط هذا الجين فإنه يُنشّط بالتتابع باقى جينات التجرثم ، فتدخل الخلية الخضرية ، مراحل تجرثمها ، التى تنتهى بتكون الجرثومة الحرة .

الخلايا الخضرية التى بدأت مرحلة التجرثم ، ووصلت الى المرحلة الثانية من مراحل تكوين الجرثومة (حوالى ساعتين من بدء التجرثم) ، يمكن أن تعود لحالتها الخضرية ، بإضافة جلوكوز ، وبإزالة مثبطات النمو الخضرى . أما الخلايا الخضرية التى وصلت إلى مراحل فى التجرثم ، بعد المرحلة الثانية ، فإنه لايمكن أن تعود لحالتها الخضرية الأولى ، بل تستمر فى استكمال مراحل تجرثمها .

مراحل تكوين الجراثيم : Spore formation, Sporogenesis

تأخذ الجرثومة البكتيرية عادة فترة تتراوح من ٧ إلى ٨ ساعات من بداية التجرثم ، حتى تمام تكون الجرثومة الناضجة ، وخلال هذه الفترة ، تمر الجرثومة البكتيرية بسبعة مراحل من التغيرات التركيبية حتى تنضج فى النهاية ، وتنفرد الجرثومة الحرة المقاومة للظروف السيئة [شكل ٥ (٤) – ٣] ، وهذه المراحل هى

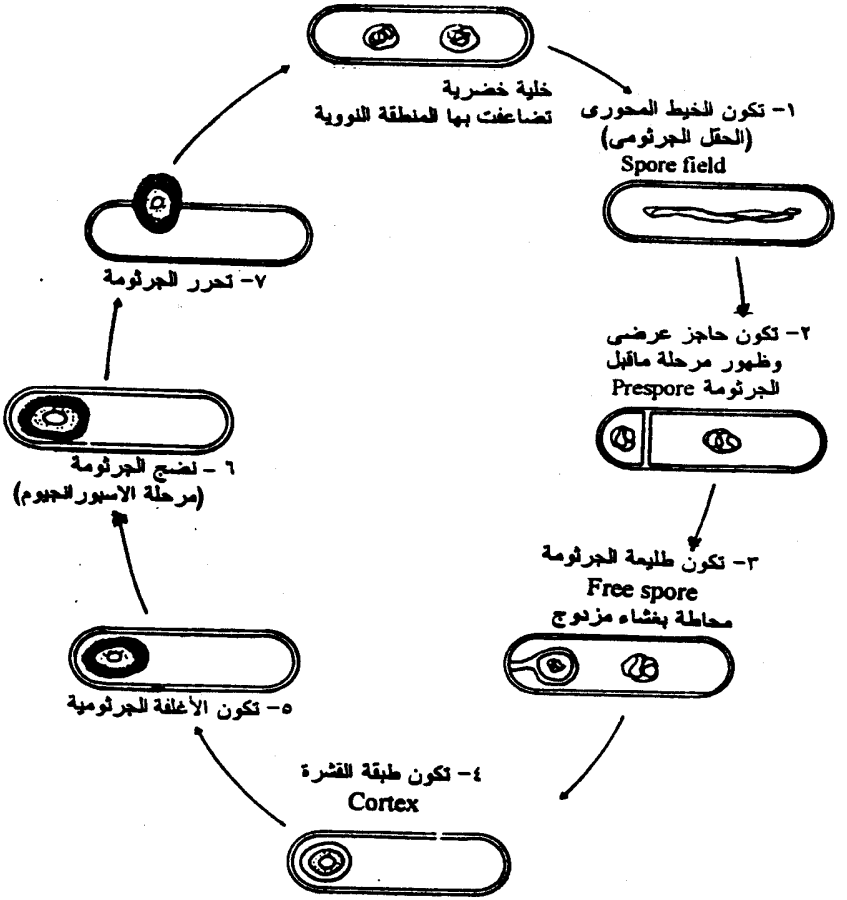
---

* كبح بواسطة نواتج الهدم Catabolic repression :

تنظيم لتخليق الانزيمات التى تقوم بهدم مادة ما ، وذلك بواسطة الكبح بنواتج هدم نفس المادة الموجودة بالبيئة .

١ – المرحلة الأولى :

تبدأ المرحلة الأولى من عملية التجرثم بعد دخول المزرعة البكتيرية طـــور الثبـــات ، وذلك بحدوث تغير فى دنا الخلية البكتيرية ، نتيجة اندماج كروموسومى الخلية فى تجمع واحـــد يسمى بالخيط المحورى Axial filament ، وتظهر هذه المنطقة ككتلة سميكة من البروتوبلازم ، وتسمى بمنطقة الحقل الجرثومى Primordium, Spore field .



شكل ٥ (٤) – ٣ : مراحل تكوين الجرثومة الداخلية .

ويحدث التعدد الكروموسومى الذى يلاحظ بالخلية الخضرية ، أثناء مرحلة انقسامها السريع فى الطور اللوغاريتمى ، حيث يتكون بالخلية كروموسومين أو أكثر ، نتيجة لأن إنقسام الكروموسومات يتم بمعدل أسرع من انقسام الخلية . وبإندماج هذه الكروموسومات فى بداية عملية التجرثم ، يتكون الخيط المحورى .

٢- المرحلة الثانية

يتضاعف الدنا الى كروموسومين ، ويتكون حاجز عرضى Septum قرب أحد طرفى الخلية ، ليفصل الخلية الى جزئين غير متساويين ، بكل جزء منها مادتها النووية .

يزداد تكثف الجزء الصغير من الخلية ، لتكوين مرحلة ماقبل الجرثومة Prespore ، ويستغرق تكون هذه المرحلة حوالى ساعة .

وفى هذه المرحلة ، يلعب الميسوسوم دورا هاما فى تكوين الحاجز العرضى ، وفى تضاعف دنا الخلية الأم .

٣ - المرحلة الثالثة

يمتد الغشاء السيتوبلازمى لخلية الأم ، ويحيط بطور ماقبل الجرثومة ، وبذلك تتكون طليعة الجرثومة Forespore ، التى تظهر محاطة بغشاء مزدوج ، الغشاء الداخلى يحيط بالجرثومة ، والغشاء الخارجى يلتف حولها ويمتد ليتصل بغشاء خلية الأم [شكل ٥ (٤) - ٣] . ويلعب هذين الغشائين دورا فى تكوين جدار الجرثومة .

٤- المرحلة الرابعة

يحدث فى هذه المرحلة تكوين وترسيب مكونات هامة للجرثومة ، فيخلق الغشاء البلازمى الداخلى المحيط بالجرثومة ، ويخلق جدار الجرثومة ، ويتخلق خارجه طبقة القشرة Cortex .

٥ - المرحلة الخامسة

يتم فى هذه المرحلة تكوين أغلفة الجرثومة Spore coats ، وهذه الأغلفة تكونها الخلية الأم ، ويلى ذلك إختفاء الغشاء البلازمى الخارجى للجرثومة .

٦- المرحلة السادسة

يتم فى هذه المرحلة اكتمال مكونات الجرثومة الداخلية ونضجها ، وتأخذ مكانها المحدد بداخل الحافظة الجرثومية (مرحلة الاسبورانجيوم Sporangium) .

٧ - المرحلة السابعة

فى هذه المرحلة ، تتحلل الاسبورانجيوم ، وتتحرر الجرثومة وتصبح حرة Free spore ، وفى وجود الظروف البيئية المناسبة ، فان الجرثومة تنبت وتكون خلية خضرية جديدة.

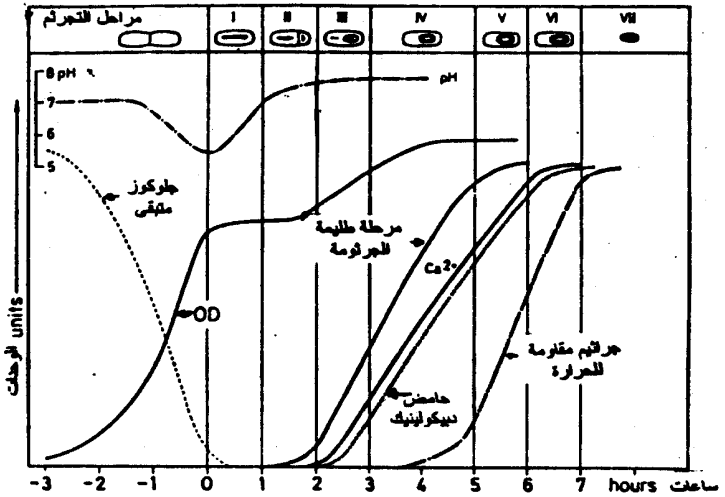
التغيرات المورفولوجية والفسيولوجية التى تحدث أثناء عملية التجرثم

يوضح الشكل [٥ (٤) – ٤] التغيرات التى تحدث خلال المراحل السبعة ، لعملية تكوين الجراثيم الداخلية البكتيرية ، مع ملاحظة أنه

- تبدأ عملية التجرثم بعد نضج الخلية الخضرية البكتيرية ، ونفاذ الجلوكوز من البيئة ، وتجمع المواد البروتينية بالخلية ، وتوفر مصادر الطاقة بها (بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات فى حالة البكتريا الهوائية ، والسكريات فى حالة البكتريا اللاهوائية) .

ويعتبر نفاذ الجلوكوز من البيئة ، هو نقطة البداية لعملية التجرثم .

- بتقدم مراحل التجرثم ، يزداد محتوى الخلية المتحولة الى جرثومة من الكالسيوم وحامض DPA ، وكذلك يزداد معامل إنكسارها للضوء ، ومقاومتها للحرارة .
- تحرر الجرثومة الناضجة فى المرحلة السابعة من مراحل التجرثم .



شكل ٥ (٤) – ٤ : التغيرات المورفولوجية والفسيولوجية التى تحدث أثناء مراحل تكون الجرثومة الداخلية البكتيرية .
– مراحل التجرثم السبعة موضحة بأعلى الشكل

لاحظ

– نفاذ الجلوكوز من البيئة قبل بدء التجرثم
– تراكم الكالسيوم وحامض DPA مع تقدم مراحل التجرثم
– تحرر الجرثومة الناضجة المقاومة للحرارة المرتفعة فى المرحلة السابعة من التجرثم

وبالنسبة للتغيرات الانزيمية التى تحدث خلال مراحل التجرثم ، فإننا نلاحظ

* فى المرحلة الثانية من مراحل التجرثم ، تكون كل الانزيمات المرتبطة بدورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل نشطة ، وذلك لحاجة عملية التجرثم الى توفر كميات كبيرة من مصادر الطاقة ممثلة فى ATP .

* بعض إنزيمات البروتييز الخارجية Extracellular proteases ، تكون قليلة النشاط أو غير موجودة فى الخلايا الخضرية ، بينما تتواجد وتنشط أثناء التجرثم ، ومن أهم هذه الانزيمات Alkaline serine protease & Neutral metaloprotease

ومن الانزيمات التى توجد فقط فى الجراثيم

Aceto acetyl-CoA reductase	Dipicolinic acid synthetase
DAP adding enzymes	Extracellular proteases
Dihydrodipicolinic synthetase	Glucose dehydrogenase

وبالنسبة للمركبات الجديدة المتكونة أثناء مرحلة التجرثم ، نلاحظ

* فى خلال الخمس ساعات الأولى من بداية مراحل التجرثم ، يتحلل الكثير من بروتينات الخلية الخضرية الأم ، وتتخلق المواد الخاصة بالجرثومة الجارى تكونها .

* انتاج الخلايا أثناء مرحلة التجرثم لعدد من المضادات الحيوية التى لم تكن تنتجها الخلية الخضرية الأم ، وقد اتضح ذلك من أن الطفرات غير القادرة على تكوين الجراثيم الداخلية ، لاتكون تلك المضادات الخاصة بالتجرثم .

ويعتقد أن هذه المضادات المنتجة أثناء عملية التجرثم ، تلعب دورا فى عملية التجرثم ، بتثبيطها جينات النمو الخضرى .

* فى المرحلة الثانية من مراحل التجرثم ، تتخلق فى الغشاء البلازمى للخلية الأم ، بروتينات أغلفة الجرثومة Spore coats ، وهى بروتينات غنية بالروابط الكبريتيدية لاحتوائها على نسبة مرتفعة من الحامض الأمينى السستئين Cysteine ، وهى بروتينات مشابهة للكيراتين . وتلعب هذه البروتينات دورا فى تقليل نفاذية الجرثومة للمواد ، وفى زيادة مقاومة الجرثومة للأشعة المؤينة .

* تكوين مركبات جديدة خاصة بالجرثومة ، لم تكن أصلا موجودة بالخلية الخضرية ، مثل

أ – مكونات جدار وأغلفة الجرثومة ، ذات التركيب الخاص من الببتيدوجلوكان .

ب – تراكم أيون الكالسيوم منذ بداية مراحل التجرثم .

ج – تخليق وتراكم حامض DPA فى مراحل التجرثم من المرحلة الرابعة الى السادسة ، ويمثل حامض DPA حوالى ١٥% من وزن الجرثومة الجاف ، ويوجد مرتبطا بالكالسيوم مكونا Ca-dipicolinate .

ويوجد حامض DPA فى بروتوبلاست الجرثومة الداخلية ، ولايوجد بالخلية الخضرية .

ويتخلق حامض DPA من الحامض الأميني الاسبارتيك والحامض الكيتونـــى البـــيروفيك حسب المعادلة العامة

Aspartic + Pyruvic + Succinyl CoA ⟶ Diaminopimellic acid ..... ⟶ DPA

ويرتبط مركب Ca-dipicolinate بالمقاومة الحرارية العالية للجراثيم ، ويتوازى معـــدل تكون صفة المقاومة الحرارية بالجراثيم الداخلية ، مع معدل تراكم DPA بالجرثومة .

د – تخليق الأنتجينات الخاصة بالجرثومة .

هـ – تخليق بلورات البروتين المجاورة للجرثومة Parasporal protein crystals ببكتريـــا *B. thuringiensis* ، أثناء طور الاسبورانجيوم .

إنبات الجرثومة الداخلية : Endospore germination

تظل الجرثومة البكتيرية الداخلية ساكنة ، بعد تحررها مـــن الاســـبورانجيوم ، إذا لـــم يتوفر لها الظروف الملائمة للنمو ، وقد تبقى كذلك لفترات طويلة . ولكـــن بتحســـن الظـــروف البيئية ، فإن الجرثومة تمتص الماء ، وتنتفخ ، وتبدأ فى الانبات فى خلال ٣٠ الى ٦٠ دقيقـــة ، ثم تتكون الخلية الخضرية الجديدة . ومما لاشك فيه ، فإن الظروف الملائمة لانبات الجراثيـــم ، هى نفسها الظروف الملائمة للنمو الخضرى .

تتم عملية الإنبات ، وهى تحول الجرثومة البكتيرية إلى خلية خضرية تامـــة النضـــج قادرة على الانقسام الثنائى ، فى وقت أسرع نسبيا (حوالى ٣–٤ ساعات) ، من عملية التجرثـــم التى تستغرق حوالى ٧–٨ ساعات . وتتضمن عملية الانبات ، مرحلتين أساسيتين ، هما مرحلـــة كسر طور السكون Cessation of dormancy (وقد تعرف بمرحلـــة التنشـــيط Activation) ، ومرحلة النمو أو الإنماء Outgrowth .

كسر طور السكون

ويمكن كسر طور سكون الجرثومة معمليا وتنشيطها ، بعدة عوامل منها

١ – استخدام طريقة الصدمة الحرارية Heat shock treatment

وذلك بتعريض الجراثيم لدرجة حرارة أقل من الدرجـــة القاتلـــة ، أى لدرجـــة ٦٠ أو ٧٠°م لعدة دقائق ، (تعرض جراثيم الكلوستريديا لدرجة حرارة ٩٠°م لمدة ٢ دقيقة) ، وذلك قبل وضع الجرثومة مباشرة فى بيئة الانبات .

وتؤدى الصدمة الحرارية الى تشقق جدار الجرثومة ، وزيادة نفاذية جدرهـــا ، وزيـــادة معـــدل أيضها ، كما أنها تنشط بعض الانزيمات ، مثل الانزيمات الناقلة للأمينات ، Transaminases .

٢– إضافة بعض الكيميائيات إلى بيئة الانبات ، مثل الجلوكوز ، الانين يســـارى ، أدينوزيـــن ، بعض الأملاح ، بعض الفيتامينات .

٣- توفير غاز CO_2 فى بيئة النمو ، الخاصة بإنبات جراثيم الكلوستريديوم .

وعلى العكس مما سبق ، فإنه يمكن إبطاء عملية انبات الجراثيم ، بإضافة بعض المواد لبيئة النمو ، مثل الانين يمينى ، أحماض دهنية مثل الأولييك Oleic ، واللينولييك Linoleic .

مرحلة النمو : Outgrowth

بعد تنشيط الجرثومة فإنها تدخل فى مرحلة النمو ، وفى هذه المرحلة ، تتحول الجرثومة الى خلية خضرية تامة النضج ، قادرة على الانقسام الثنائى ، وتتم مرحلة النمو على مراحل

ففى بدء عملية النمو ، تمتص الجرثومة الماء وتنتفخ ، ويتحول الحامض الأمينى D-alanine الموجود بالجرثومة إلى L-alanine ، بواسطة إنزيم Alanine racemase ، فتنشط الجرثومة ، وتبدأ فى الانبات .

ونتيجة لانتفاخ الجرثومة ولنشاطها ، تتمزق جدر الجرثومة أو تتحلل ، وتبرز الخلية الخضرية Emergence من أغلفة الجرثومة الى الخارج [شكل ٥ (٤) - ٥] ، وتستطيل الخلية النامية Elongate ، مكونة أنبوبة إنبات Germination tube ، تتحول الى خلية خضرية محاطة بجدار خلوى ، ثم تمر الخلية الخضرية بمرحلة النضج لاستكمال محتوياتها ، حتى تتهيأ لدخول مرحلة الانقسام الثنائى .

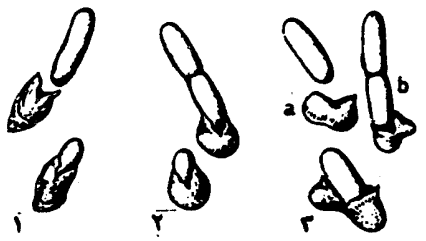
وتمتاز كل مرحلة من مراحل إنبات الجرثومة (الانتفاخ ، بروز الخلية الخضرية ، الاستطالة ، تكون أنبوبة انبات ، اكتمال نمو الخلية الخضرية ونضجها) بإحتياجاتها الغذائية الخاصة .

تبرز الخلية الخضرية النامية من أغلفة وجدر الجرثومة بطريقتين

١ - بتحليل الجدر إنزيميا بواسطة إنزيم Ribosidase ، وذلك فى حالة الجراثيم كبيرة الحجم .

٢ - بثقب الجدار من طرفه أو وسطه أو من جانبه ، وخروج الجرثومة ، تاركة الجدار والأغلفة ، أو تبقى عالقة بها لفترة ، وذلك فى حالة الجراثيم صغيرة الحجم .

شكل ٥ (٤) - ٥ : بروز الجراثيم النامية :



١ - بروز الخلية الخضرية من طرف أغلفة الجرثومة ، (بكتريا كلوستريديوم) .
٢- بروز الخلية الخضرية من طرف أغلفة الجرثومة ، ومازالت أغلفة الجرثومة عالقة بها (بكتريا *B. megaterium*) .
٣- بروز الخلية الخضرية من جانب أغلفة الجرثومة
(a- *B. subtilis*, b- *B. cereus*)

التغيرات الفسيولوجية والكيميائية التى تحدث أثناء عملية الانبات

تمر الجرثومة الداخلية خلال مراحل إنباتها المختلفة ، بمجموعة من التغيرات الفسيولوجية ، حتى تتحول من جرثومة داخلية الى خلية خضرية ناضجة ، قابلة للأنقسام الثنائى .

من هذه التغيرات

* زيادة معدلات النفاذية .
* زيادة معدل التنفس والنشاط الأيضى .
* تخليق المواد اللازمة للخلية الخضرية النامية من رنا وبروتينات وانزيمات وجدار خلوى ... الخ .
* خروج الأحماض الأمينية والببتيدات ، وحامض DPA من الجرثومة النامية ، مما يسبب فقدها لحوالى ٢٥% من وزنها الجاف .
* فقد الجرثومة النامية للخواص المميزة للجرثومة ، مثل إنكسار الضوء ، مقاومة الصبغ ، مقاومة الحرارة المرتفعة .

ويمكن ملاحظة تطور إنبات الجرثومة ، بعد إنباتها ، بمتابعة قلة كثافتها ، وقلة قدرتها على كسر الضوء ، أى قلة لمعانها عند فحصها بالمجهر الضوئى ، وبزيادة قابليتها للصبغ القاعدى ، وقلة مقاومتها للحرارة ، وزيادة نشاطها ، وزيادة معدل أيضها الغذائى .

أنواع الجراثيم الأخرى التى تكونها البكتريا

١- الحويصلات : Cysts

الحويصلات تركيبات سميكة الجدار ، تتحول فيها الخلية الخضرية الأم بأكملها الى حويصلة ، كمرحلة سكون لمقاومة الظروف السيئة ، خاصة الجفاف والاشعاع ، وتعاود الحويصلات النمو والنشاط عند تحسن الظروف .

والحويصلات ليست فى مستوى مقاومة الجراثيم الداخلية للحرارة ، كما أنها تختلف عنها فى التركيب ، ومن أهم الأجناس البكتيرية المكونة لحويصلات ، جنس الأزوتوباكتر وجنس *Methylocystis* .

تحتاج مرحلة تحول الخلية الخضرية الى حويصلة ، الى حوالى ٣٦ ساعة ، ويشجع على تكوين الحويصلات ، الظروف التى تسبب قلة النمو ، مثل قلة السكريات بالوسط ، واستخدام الايثانول والبيوتانول كمصدر للكربون ، وخلو البيئة من النتروجين المرتبط ، وتوفر مادة البيتا بولى هيدروكسى بيوتيرات المخزنة بالخلايا ، لأن الخلايا تستخدم هذه المادة فى تكوين الحويصلات .

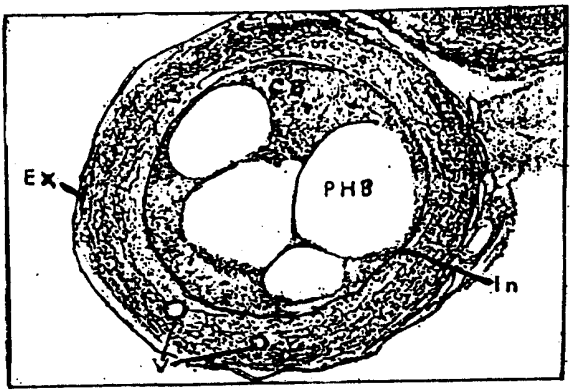
وتتميز عملية تحول الخلية الخضرية الى حويصلة ، بحدوث ثلاث تغيرات أساسية بالخلية ، هى

- فقد الأنواع المتحركة للحركة .
- تحول الخلية البكتيرية من الشكل البيضاوى أو العصوى ، الى الشكل شبه الكروى .
- تكون غلاف من عدة طبقات يحيط بالحويصلة المتكونة .

وتبدأ عملية التحول من خلية خضرية الى حويصلة ، بإنقسام الخلية الخضرية الأم إلى خليتين ، ويطلق على هذه المرحلة ، مرحلة ماقبل تكون الحويصلة Precyst stage ، وتحتوى كل خلية ناتجة على جزء من المادة الوراثية للخلية الأم ، ثم تتطور الخلايا من مرحلة ماقبل الحويصلة ، الى مرحلة الحويصلة ، باستكمال بنائها وتكوين أغلفتها .

تظهر الحويصلة التامة التكوين محاطة بجدار رقيق من الببتيدوجلوكان ، يغلفه من الخارج غطائين Two coats ، الداخلى منهما Intine ، يتكون من لبيدات وكربوهيدرات ، ويظهر شفاف تحت المجهر الإلكترونى .

والخارجى منهما Exine ، يتكون من ليبوبروتينات وليبوسكريات ، ويظهر متعدد الطبقات تحت المجهر الالكترونى [شكال ٥ (٤) – ٦] .



شكل ٥ (٤) –٦ : صورة بالمجهر الالكترونى لحويصلة *Azotobacter vinelandii*

Ex : الغطاء الخارجى – Exine
In : الغطاء الداخلى – Intine
CB : الجسم المركزى – Central body
PHB : حبيبات بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات – Polyhydroxy butyrate granules
V : حويصلة وعائية Vesicle

٢ – الجراثيم اللزجة : Myxospores

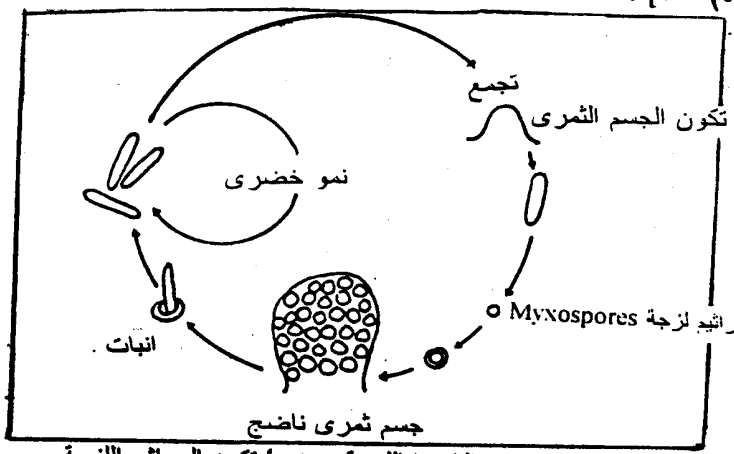
هى خلايا فى طور سكون ، مقاومة للظروف السيئة خاصة الجفاف والإشعاع ، تنتجها أنواع من البكتريا التابعة لرتبة المكسوبكتريا ، Myxobacteriales ، مثل جنس *Myxococcus*، وكذلك الفطريات اللزجة .

تتميز البكتريا التابعة لرتبة المكسوبكتريا ، بتكوين كميات كبيرة من المادة اللزجة ، تحيط بالخلايا الخضرية النامية ، وعندما تسوء الظروف البيئية ، تتحرك الخلايا حركة زاحفة ، وتتلاصق ، وتتجمع مع بعضها ، ربما بإنتحاء كيميائى Chemostatic ، ثم تكون الخلايا المتجرثمة ، جسما ثمريا Fruiting body .

فى الجسم الثمرى ، تتحول الخلايا الخضرية من الشكل الاسطوانى ، الى الشكل الكروى ، مكونه جراثيم ساكنه تعرف بالجراثيم اللزجة ، والجراثيم اللزجة أقصر وأسمك من الخلايا الخضرية التى نشأت منها ، وأكثر مقاومة للجفاف والاشعاع ولكن ليس للحرارة ، وتتميز الجراثيم اللزجة ، عن الجراثيم الداخلية والحويصلات ، بأن الجرثومة اللزجة تحتوى على ٣–٤ نسخ من الكروموسوم البكتيرى ، لأن الجرثومة تكونت من الخلية الخضرية مباشرة دون حدوث انقسامات بها .

الجرثومة اللزجة تكون محاطة بجدار خلوى سميك ، ويحيط به من الخارج علبة Capsule ، تكسب الجرثومة حالة اللزوجة ، ويؤدى نقص بعض الأحماض الأمينية بالوسط ، مثل Methionine, Phenylalanine & Tryptophan ، الى تشجيع عملية التجرثم .

وتأخذ الدورة الخلوية للبكتريا الزاحفة حوالى ٥٠ ساعة فى المتوسط ، ويوضحها الشكل [٥ (٤) – ٧] .



شكل ٥ (٤) – ٧ : دورة حياة نوع من البكتريا اللزجة موضحا تكون الجراثيم اللزجة .

٣- الجراثيم الكونيدية والاسبورانجية : Conidiospores and Sprangiospores

تتكون هذه الجراثيم فى الأجناس البكتيرية التابعة لرتبة الأكتينومايسيتات ، إذ تنمو هذه البكتريا فى خيوط (هيفات) ، وتتكون الجراثيم بأطراف أو بجوانب الهيفات الهوائية ، وتستطيع هذه الجراثيم مقاومة الجفاف لفترات طويلة ، ولكنها ليست عالية المقاومة للحرارة مثل الجراثيم الداخلية .

وبجانب ذلك ، فان الجراثيم الاسبورانجية والكونيدية تمثل وسيلة لتكاثر وانتشار الأنواع البكتيرية التى تنتمى اليها ، لأن الخلية البكتيرية تنتجها بأعداد كبيرة ، وكل جرثومة ناتجة ، قادرة على تكوين كائن جديد ، وهذا بخلاف الجراثيم البكتيرية الداخلية التى تعمل على حفظ النوع فقط .

أ – الجراثيم الكونيدية

من أجناس الاكتينومايسيتات المكونة للجراثيم الكونيدية ، جنس *Streptomyces* . وتتكون الجراثيم الكونيدية بالتبرعم من طرف الهيفا الهوائية ، مع تكون حاجز عرضى يفصل مابين الجرثومة المتكونة وطرف الهيفا ، وتتكون الجراثيم على الهيفا فرادى أو فى سلاسل ، وقد يصل عدد الكونيديات الى ١٠٠ جرثومة بالسلسلة ، محمولة على حامل كونيدى .

الجرثومة الكونيدية محاطة بغلاف Sheath يعطى لها سطحا مميزا ، وقد تكون الجراثيم شفافة أو فاتحة أو ملونة ، وذلك حسب النوع البكتيرى . وتتميز الكونيديات بأنها كارهة للماء جدا Very hydrophobic ، لوجود نسبة مرتفعة من اللبيدات فى الغلاف المحيط بالجرثومة .

ويحتوى جدار الجرثومة الكونيدية ، مثل جدار الهيفا العادية على نسبة مرتفعة من الببتيدوجلوكان ، ولكن جدار الجرثومة يتميز عن جدار الهيفا ، بعدم قابليته للتحلل بواسطة انزيم اللايسوزيم ، لوجود إختلافات فى الروابط فى تركيب الببتيدوجلوكان المكون لجدار الجرثومة عن ذلك المكون لجدار الهيفا ، ولإرتباط ببتيدوجلوكان جدار الجرثومة بمركبات أخرى تجعله غير قابل للتحلل باللايسوزيم .

وعندما تنضج الجرثومة الكونيدية ، تنفصل عن الهيفا بجدار عرضى ، وتبقى الجرثومة ساكنة بالوسط ، الى أن تتحسن الظروف ، وتعاود النشاط وتكون نموا جديدا .

ب – الجراثيم الاسبورانجية

من أجناس الاكتينومايسيتات المكونة للجراثيم الاسبورانجية ، جنس *Actinoplanes* ، وتتكون الجراثيم الاسبورانجية على الهيفات الهوائية ، ويحملها حامل اسبورانجى ، وتوجد الجراثيم داخل حافظة جرثومية مقفولة تسمى Sporangium ، وتحتوى الحافظة على مئات أو آلاف الجراثيم الاسبورانجية ، والجراثيم شكلها كروى أو بيضاوى وجدارها أملس ، وقد تكون فاتحة أو ملونة ، وعندما تنضج الجراثيم ، فإنها تنطلق من الحافظة الجرثومية بعد تمزقها ، وتعتمد الجراثيم فى انتشارها على التيارات الهوائية ، وعندما تكون الظروف مناسبة ، فإنها تنبت وتكون نموا جديدا .

٤- الجراثيم الخارجية : Exospores

جراثيم صغيرة الحجم ، كروية الشكل ، ذات سطح مجعد فى بعض الأنواع ، تتكون خارج الخلية الخضرية بطريقة التبرعم من أحد أطراف الخلية الأم . وتوجد هذه الجراثيم فى بعض أجناس البكتريا ، مثل *Methylosinus trichosporium* ، التابع لمجموعة البكتريا المؤكسدة لغاز الميثان .

تمثل الجراثيم الخارجية مرحلة سكون للبكتريا ، حيث تعاود النمو والنشاط عند تحسن الظروف ، وتمتاز هذه الجراثيم بمقاومتها للجفاف والحرارة ، غير أنها تختلف عن جراثيم البكتريا الداخلية فى عدم إحتوائها على حامض Dipicolinic acid (DPA) .

References مراجع الباب الخامس

Alberts, B.; D. Bray; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts and J.D. Watson (1990). Molecular Biology of the Cell, Garland Pub. Co., New York.

Alcamo, I.E. (2001). Fundamentals of Microbiology. Jones and Bartlett, London.

Cole, J.A.; C. Dow and S. Mohen (eds.) (1992). Procaryotic Structure and Function: A New Perspective. Cambridge Univ. Press, New York.

Madigan, M.T.; J.M. Martinko and J. Parker (1997). Brock Biology of Microorganisms. 8th Ed. Printice Hall Int. Inc., Englewood Cliffs, N.J. USA.

Nester, E.W.; C.E. Roberts; Nancy N. Pearsall; D.G. Anderson and Martha T. Nester (1998). Microbiology 2nd Ed., Mc Graw-Hill Book Co., Inc. New York.

Pelczar, M.J.Jr.; E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1999). Microbiology, Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

Schlegel, H.G. (1995). General Microbiology. Cambridge Univ. Press, New York.

﴿الباب السادس﴾

نمو وتكاثر البكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
مقدمـــة	٢٩٧
الفصل الأول : تكاثر البكتريا	من ٢٩٨إلى٣٢٣
الفصل الثانى : تغذية وزراعة البكتريا	من ٣٢٥إلى٣٤٩
مراجع الباب السادس	٣٥٠

﴿الباب السادس – الفصل الأول﴾

تكاثر البكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
تكاثر البكتريا	٢٩٨
الإنقسام الثنائى البسيط	٢٩٨
تجزئة الميسليوم	٢٩٩
التبرعـــم	٣٠٠
الجراثيم الكونيدية	٣٠٠
الجراثيم الاسبورانجية	٣٠٠
الهرموجونيا والأكينيت والبايوسايت	٣٠٠
منحنى النمو البكتيرى	٣٠٢
حساب عمر الجيل	٣٠٢
منحنى النمو البكتيرى	٣٠٦
١- الطور اللاجى	٣٠٧
٢- الطور اللوغاريتمى	٣٠٨
عمر الجيل لبعض أنواع البكتريا .. [جدول ٦ (١)-١]	٣٠٩
٣- الطور الثابت	٣٠٩
٤- طور الهبوط	٣١١

المحتويات

الموضوع	الصفحة
تنمية البكتريا	٣١٢
النمو البكتيرى بالنظم المزرعية	٣١٢
النمو بنظام المزرعة المستمرة	٣١٣
١- النمو فى المنظم الكيميائى ، الكيموستات	٣١٣
٢- النمو فى الجهاز المنظم لكثافة النمو ، التربيدوستات	٣١٥
٣- النمو المتزامن	٣١٦
طرق تقدير النمو البكتيرى	٣١٦
١- العد المباشر بالمجهر	٣١٧
أ - شريحة بريد	٣١٩
ب - شريحة الهيموسايتومتر	٣١٩
٢- العد بطريقـــة الأطبـــاق	٣١٩
٣- العد بالمرشحـات الغشائيـة	٣١٩
٤- العد بطريقة التخفيف التقريبية	٣٢٠
٥- تقدير الوزن الجاف للخلايـا	٣٢٠
٦- تقدير المحتوى النتروجينى للخلايا	٣٢١
٧- تقدير النمو البكتيرى باستخدام القياسات البصرية	٣٢١

﴿الباب السادس﴾

نمو وتكاثر البكتريا
Growth and Reproduction of Bacteria

مقدمة

تعبر كلمة نمو Growth عن الزيادة التى تحدث فى الكتلة الخلوية Cell mass بخلايا الكائن ، سواء أكان ذلك فى كتلة خلية واحدة ، أو فى كتلة مجموعة من الخلايا التى تشكل مستعمرة أو نسيجا . بينما تعبر كلمة تكاثر Reproduction ، عن الزيادة التى تحدث فى عدد خلايا الكائن Cell numbers ، نتيجة لإنقسام خلاياه .

وفى الكائنات الدقيقة التى تتكون من خلية واحدة كالبكتريا ، فإن كلمة النمو تستعمل عادة مرادفة لكلمة التكاثر ، ويقصد بأى منهما الزيادة فى عدد خلايا الكائن البكتيرى .

ويتأثر النمو البكتيرى بالظروف المحيطة تأثرا كبيرا ، سواء أكانت هذه الظروف طبيعية مثل الحرارة والرطوبة والتهوية والضوء ... الخ ، أو كيميائية مثل توافر العناصر الغذائية القابلة للتمثيل ، وجود مواد سامة ... الخ ، أو بيولوجية مثل التعاون والتضاد بين الكائنات .

وتحت الظروف المناسبة ، فإن الخلايا البكتيرية الملقحة بالبيئة المزرعية ، تزداد حجما ، وتتضاعف عدداً ، خلال فترة زمنية قصيرة ، ويصل النمو لأقصاه فى بعض الأنواع البكتيرية خلال ٢٤ ساعة من التلقيح ، وفى البعض الآخر قد يحتاج لفترة أطول من ذلك ، ويتم التكاثر فى معظم أنواع البكتريا بطريقة الانقسام الثنائى البسيط ، وإن كان بعضها يتكاثر بطرق أخرى كالتبرعم أو بغيرها من الطرق .

وعند زراعة البكتريا ، تستعمل الوسائل المناسبة لحث البكتريا على النمو والتكاثر ، ويتضمن ذلك توفير الوسط الغذائى المناسب ، المسمى بالبيئة المزرعية Culture medium ، وفى أغلب الأعمال الميكروبيولوجية ، فإن زراعة البكتريا تتم معمليا *in vitro* ، أى فى أوانى زجاجية كأنابيب الاختبار والدوارق والأطباق ، وفى الاستخدامات التجارية ، تنمى البكتريا فى أوعية مناسبة كبيرة الحجم ، (بلاستيكية أو معدنية) ، أو مخمرات ... أو غيرها .

وسنستعرض فيما يلى نظم تكاثر وتنمية وعد البكتريا وأنماطها الغذائية ، وبيئاتها المزرعية .

﴿الباب السادس – الفصل الأول﴾
تكاثر البكتريا

Reproduction of Bacteria

يتم التكاثر فى البكتريا أساسا لاجنسيا ، وهناك طرق جنسية لانتقال بعض الصفات الوراثية بين الخلايا المختلفة ، كالتزاوج الذى يحدث بين الخلايا (راجع الباب الثامن ، الفصل الثانى) ، ولكن لاتوجد بين خلايا البكتريا دورة جنسية تؤدى إلى تكوين زيجوت بالمستوى الموجود فى الكائنات الأكثر رقيا.

يتم التكاثر اللاجنسى فى البكتريا بطريقة لاتزاوجية ، وذلك بعدة طرق هى الانقسام الثنائى البسيط ، تجزئة الميسليوم ، التبرعم ، تكوين الجراثيم الكونيدية ، تكوين الجراثيم الاسبورانجية ، أو بغيرها من الجراثيم .

الأنقسام الثنائى البسيط : Simple binary fission

تعتبر طريقة الأنقسام الثنائى البسيط ، وقد تسمى بطريقة الانقسام الثنائى المستعرض البسيط Simple transverse binary fission ، تعتبر طريقة التكاثر الأساسية فى البكتريا الحقيقية .

وتتلخص خطوات الانقسام بطريقة الانقسام الثنائى البسيط ، فيما يلى[شكل ٦ (١) – ١] .

١ – زيادة فى المحتويات البروتوبلازمية الداخلية للخلية ، نتيجة تكون مواد جديدة بها ، مع زيادة فى طول الخلية .

٢ – تضاعف المحتويات الخلوية الوراثية (الجينوم) * .
ويلاحظ أن المادة الوراثية للخلية البكتيرية (الكروموسوم البكتيرى) ، عبارة عن جزىء دنا واحد دائرى ، متصل بإنحناءات الغشاء السيتوبلازمى المسماه بالميسوسوم ، ويلعب الميسوسوم دورا هاما فى تضاعف انفصال الكروموسوم البكتيرى ، بما يحتويه من الانزيمات اللازمة لتضاعف الأحماض النووية وتكوين الكروموسوم الجديد .

٣– يعقب ذلك تكون غشاء سيتوبلازمى عرضى بالخلية Transverse membrane ، وينشأ الغشاء بظهور بروزان جانبيان فى منطقتين متقابلتين ، يخرجان من السطح الداخلى بالغشاء السيتوبلازمى ،وينموان متقابلين فى إتجاه مركز الخلية على طول المحور العرضى ثم يلتحم البروزان وبذلك يتكون الغشاء العرضى بالخلية ، وتنفصل الخلية الى جزئين ، كل جزء منهما يحتوى على جينوم .

٤– ينشق الغشاء العرضى الذى تكون ، الى غشائين منفصلين نتيجة لتكون جدار خلوى بين الغشائين . ويتكون الجدار الخلوى من خارج الخلية الى داخلها .

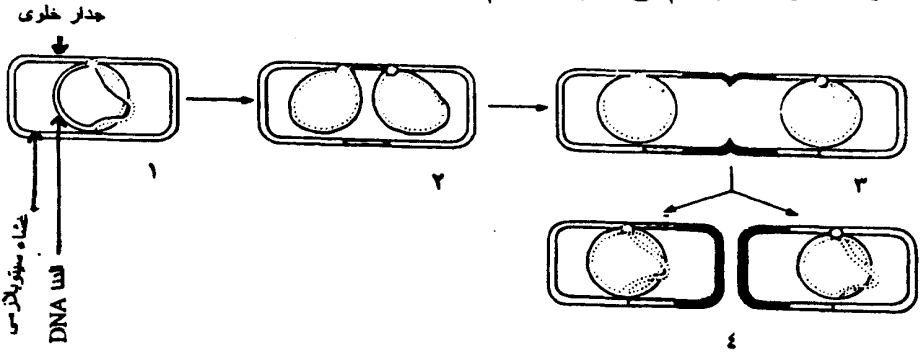
---

* راجع تضاعف خيوط حامض الدنا ، بالباب الخامس ، الفصل الثالث ، وراجع ص ٢٧١ .

٥- يعقب ذلك إنشطار الجدار الخلوى المتكون بدوره طوليا إلى قسمين ، وبذلك تصبح الخلية خليتان .

والخليتان الجديدتان قد ينفصلا عن بعضهما مباشرة ، أو يحدث الانفصال بعد مدة ، أو يظلا ملتصقين ليكونا مع غيرهما سلسلة من الخلايا أو من التجمعات ، وذلك حسب النوع البكتيرى .

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



شكل ٦ (١) - ١ : الانقسام الثنائى البسيط
١- بدء انقسام الدنا DNA
٢- تضاعف الدنا واستطالة الخلية .
٣- بدء تكون الحاجز العرضى الفاصل بين جزئى الخلية .
٤- استكمال تكون وانشطار الجدار الخلوى ، وتكون الخليتان البنويتان الجديدتان ، وبكل خلية ناتجة مادتها النوويه

من طرق التكاثر اللاجنسى الأخرى ، التى توجد فى بعض أنواع البكتريا

١- تجزئة الميسليوم : Fragmentation

بعض الأنواع البكتيرية تتكاثر لاجنسيا بتجزئة الميسليوم الى عدة خلايا ، وتستطيع كل خلية ناتجة تكوين ميسليوم جديد ، من هذه الأنواع مايتبع أجناس *Actinomyces & Dermatophilus* .

ومن البكتريا التى تكون نموا خيطيا كثيفا ، *Nocardia* ، وتتكاثر بتجزئة الهيفات إلى خلايا صغيرة ، كروية أو عصوية الشكل ، كل منها ينمو ليكون نموا جديدا .

٢- التبرعم : Budding

بعض أنواع البكتريا مثل *Rhodopseudomonas acidophila* تتكاثر بالتبرعم . ويحدث التبرعم نتيجة لتكون بروز فى أحد أطراف الخلية يسمى برعم Bud ، يبرز البرعم على سطح الخلية من الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى ، ويندفع إليه جزء من السيتوبلازم والمادة الوراثية .

يكبر البرعم فى الحجم مكونا لخلية جديدة ، وينفصل عن الخلية الأم بجدار فاصل ، ويصبح البرعم خلية مستقلة ويعاود تكاثره .

فى بعض الأنواع البكتيرية ، مثل تلك التابعة لجنس *Hyphomicrobium* ، يتكون البرعم فى طرف زائدة تسمى Prostheca . وهذه الزائدة عبارة عن إمتداد يمتد من الغشاء السيتوبلازمى وجدار الخلية ، إلى خارج الخلية (أنظر ص ص ١٧٥ و ٢٠٠) .

٣- الجراثيم الكونيدية : Conidiospores

تتكون الجراثيم الكونيدية ببعض أنواع الأكتينومايسيتات مثل تلك التابعة لجنس *Streptomyces* . تتكون خارجيا بطرف هيفا الاستربتومايسيس ، وقد توجد هذه الجراثيم بطرف الهيفا ، مفردة أو فى أزواج أو فى سلاسل (راجع الجراثيم الكونيدية بالباب الخامس ، الفصل الرابع ، ص ٢٩٣) .

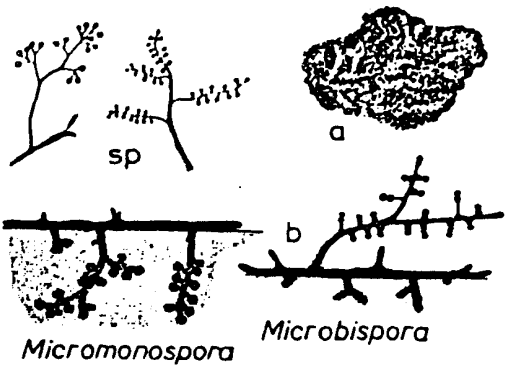
عندما تنضج الجرثومة تنفصل عن الهيفا بجدار عرضى ، وكل جرثومة تنبت فى الوسط المناسب لتكون كائنا جديدا . وتبدأ الجرثومة فى النمو ، بتكوين ميسليوم يمتد داخليا بالوسط البيئى ، ثم يلى ذلك تكون ميسليوم هوائى يمتد لأعلى ، ليحمل الجراثيم الكونيدية ، وشكل [٦ (١) - ٢] يبين الجراثيم الكونيدية فى *Micromonospora & Microbispora* .

٤- الجراثيم الاسبورانجية : Sporangiospores

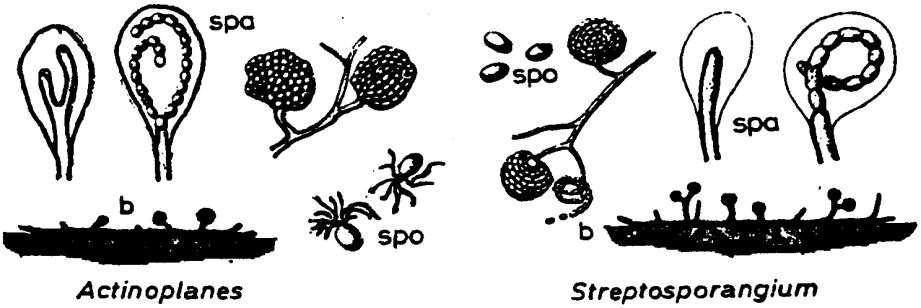
من البكتريا التى تتكاثر بالجراثيم الاسبورانجية ، أنواع من الأكتينومايسيتات مثل تلك التابعة لجنس *Actinoplanes* . تنمو هذه البكتريا على حبوب اللقاح الموجودة على سطح الماء، وتكون البكتريا على هيفاتها ، الجراثيم الاسبورانجية ، بداخل كيس خاص يسمى بالحافظة الاسبورانجية Sporangium ، ويحتوى الكيس على العديد من الجراثيم الاسبورانجية ، التى عندما تنبت تكون نموا جديدا (راجع الجراثيم الكونيدية والاسبورانجية بالباب الخامس ، الفصل الرابع ، ص ٢٩٣) .

وشكل [٦ (١) - ٣] يبين الجراثيم الاسبورانجية فى جنسى *Actinoplanes & Streptosporangium* .

٥- من طرق التكاثر اللاجنسى التى توجد فى بعض أجناس السيانوبكتريا ، التكاثر بواسطة **الهرموجونيا ، والأكينيت ، والجراثيم القزمية** المسماه بجراثيم **الهايوسايت** (راجع تكاثر السيانوبكتريا بالباب الخامس عشر ، ثالثا ، ص ١٠٩٣ ومايليها) .



شكل ٦ (١) – ٢: الجراثيم الكونيدية فى بعض الأكتينومايسيتات.
a – مستعمرة من الخلايا نامية على سطح بيئة صلبة .
b – قطاع عرضى فى مستعمرة نامية على سطح بيئة ، صلبة
sp – حوامل الجراثيم الكونيدية وعليها الجراثيم الكونيدية



شكل ٦ (١) – ٣ : الجراثيم الاسبورانجية فى بعض الأكتينومايسيتات
b : هيفات البكتريا الممتدة خلال بيئة الأجار
spa : الحوافظ الاسبورانجية
spo : جراثيم اسبورانجية بأسواط وبدون أسواط

منحنى النمو البكتيرى
Bacterial growth curve

حساب عمر الجيل

تتكاثر أغلب أنواع البكتريا بمعدل سريع ، فإذا ماوضعت خلية بكتيرية واحدة مثل *E. coli* فى بيئة غذائية ملائمة وظروف نمو مناسبة ، فإنها تنقسم بالانقسام الثنائى لتصبح خليتين بعد ٢٠ دقيقة ، وتستمر الخلايا الناتجة فى الانقسام المتكرر ، وإذا ماأستمر هذا المعدل فى التكاثر ثابتا ، فإن الخلية الواحدة سوف تعطى مليار خلية بعد ١٠ ساعات ، ولكن التكاثر لايستمر بهذا المعدل الى مالانهاية ، بسبب استهلاك مكونات البيئة الغذائية ، وتراكم نواتج تمثيل البكتريا ، وموت العديد منها ، ويزداد معدل موت الخلايا بتقدم عمر المزرعة البكتيرية .

ولاتتكاثر كل الأنواع البكتيرية فى المزرعة بسرعة واحدة ، فعمر الجيل (g) Generation time ، عباره عن الفترة التى تمر بين أنقسامين متتاليين ، يختلف فى كثير من الأنواع بين ٢٠ الى ٤٠ دقيقة ، وقد يصل إلى عدة ساعات فى الأنواع البطيئة النمو [أنظر جدول ٦ (١) - ١] .

ويعبر عمر الجيل (g) كما ذكر ، عن الفترة التى تمر بين إنقسامين متتاليين ، أى يعبر عن الوقت الذى يمر لكى يتضاعف عدد Number الخلايا البكتيرية . بينما يعبر زمن التضاعف Doubling time (t_d) ، عن الوقت الذى يمر لتتضاعف الكتلة Mass الخلوية البكتيرية .

ويلاحظ أن الزيادة فى أعداد الخلايا البكتيرية ، لايكون متماثلاً دائما مع الزيادة فى كتلة الخلايا البكتيرية ، فالعلاقة بين العدد والوزن تتغير على مدار مراحل نمو المزرعة البكتيرية ، ويتساوى عمر الجيل (g) مع زمن التضاعف (t_d) ، عندما يتضاعف كلا من عدد الخلايا البكتيرية والكتلة الخلوية البكتيرية ، فى نفس الفترة الزمنية .

ويعبر مقلوب عمر الجيل 1/g ، وقد يسمى بمعدل الانقسام Rate of division ويرمز له بالرمز (v) ، يعبر عن عدد مرات التضاعف لكل ساعة (أى عدد الأجيال المتكونة Number of generations ، أو عدد الانقسامات الخلوية التى تتم ، فى وحدة الزمن) .

ويحسب عمر الجيل (g) أثناء الطور اللوغاريتمى Exponential phase من منحنى النمو ، حيث تزداد أعداد الخلايا بزيادة أسيه٢ ← $٢^{١}$ ← $٢^{٢}$ ← $٢^{٣}$ ← ٢^{n} ، أى بمعدل ثابت لكل فترة زمنية ، فإذا ماإحتوت وحدة حجمية من مزرعة نامية بطريقة الدفعة الواحدة على عدد من الخلايا فى البداية قدره N_0 ، فإن عدد الخلايا N فى نهاية زمن التجربة t ، بعد عدد من الإنقسامات n ، يصبح $N_0 \times 2^n$ ، بمعنى أن $N = N_0 \times 2^n$

وباستخدام اللوغاريتمات ، فإن

$$\log N = \log N_0 + n \log 2$$

$$\therefore n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2}$$

ويعبر عن عدد الانقسامات بالنسبة لوحدة الزمن ، بمعدل الانقسام v، Division rate ، حيث

$$v = \frac{n}{t} = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2 (t_1 - t_0)}$$

t = زمن نمو المزرعة من البداية t_0 الى النهاية t_1

وبكون عمر الجيل generation time (g)

$$g = \frac{t}{n} = \frac{1}{v}$$

مثال : إذا تكاثرت مزرعة بكتيرية لمدة ١٠ ساعات وتزايدت أعداد الخلايا من 10^3 إلـــى 10^9/مـــل ، فإن معدل الانقسام (v) =

$$v = \frac{\log 10^9 - \log 10^3}{0.3010 \times 10} = \frac{6}{3} = 2$$

أى أن v = ٢ انقسام/ساعة

$\therefore$ $v = n/t$ i.e. $2 = n/10$

$\therefore$ $n = 20$

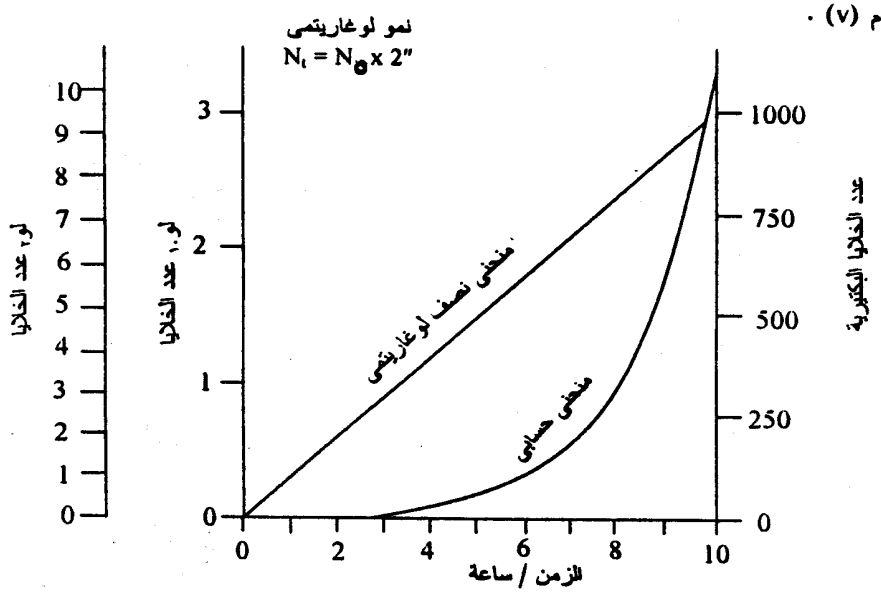
أى أن n (عدد الانقسامات أى عدد الأجيال التى تكونت) = ٢٠ انقسام/ساعة

وحيث أن عمر الجيل $g = \frac{t}{n}$

$\therefore g = \frac{١٠}{٢٠} = \frac{١}{٢}$ ساعة

بمعنى أن عمر الجيل g = نصف ساعة

عند رسم علاقة بيانية بين أعداد مزرعة بكتيرية (أو كتلة الخلايا) على الإحداثى الرأسى ، والزمن على الاحداثى الأفقى ، نحصل على منحنى بيانى حسابى لايلائم العدد الهائل من الإنقسامات ، وبالتالى لاتظهر الاعداد بوضوح إلا فى البداية وفى نهاية التجربة ، لذلك يفضل تسجيل النتائج باستخدام العرض البيانى النصف لوغاريتمى Semi-logarithmic diagram [شكل ٦ (١) - ٤] ، حيث يوقع لوغاريتم اعداد الخلايا أو كثافتها على الاحداثى الرأسى ، بينما يوقع الزمن على الاحداثى الأفقى ، وبذلك يبدو منحنى النمو اللوغاريتمى كخط مستقيم ، ذو انحدار (ميل) يطابق معدل الانقسام ، إذ أن هناك علاقة طردية بين الميل ومعدل الانقسام (v) .



N_t : عدد الخلايا فى نهاية زمن التجربة
N_0 : عدد الخلايا فى بداية التجربة
t : زمن التجربة
n : عدد الانقسامات

شكل ٦ (١) - ٤ : النمو اللوغاريتمى للكائنات وحيدة الخلية .
عدد الخلايا النامية ، موضح بالشكل كمنحنى حسابى وكمنحنى نصف لوغاريتمى ، مقابل الزمن .

وعند تقدير عمر الجيل (g) لنوع بكتيرى نامى فى بيئة مزرعية ، فإن التقدير الذى نحصل عليه ، يعبر عن حالة الخلايا الموجودة بذلك التجمع البكتيرى بما فيه من خلايا نشطة وأخرى غير نشطة (غير قادرة على الانقسام) ،وهو مايسمى بنظام تكاثر الهدم الذاتى Autocatalytically multiplying system ، ولذلك فإن عمر الجيل المتحصل عليه ، يكون عادة أقل من الواقع بالنسبة للخلايا النشطة ، وعليه فإنه من الأفضل عند دراسة حركيات النمو استخدام تعبير كثافة ميكروبية ، Microbial density (×) ، بدلا من أعداد ميكروبية .

وتتناسب الكثافة الميكروبية (x) طرديا مع معدل التغير $\frac{dx}{dt}$ للكتلة الخلوية ، وذلك بالنسبة لوحدة الزمن (t)

$$\frac{dx}{dt} \propto (x) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots (1)$$

$$\frac{dx}{dt} = \mu (x) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots (2)$$

حيث μ = معدل ثابت النمو Growth constant

وباجراء التكامل تصبح المعادلة (2)

$$X = X_0 . e^{\mu t}$$

أما بالنسبة لتضاعف x ، فإن

$$2X_0 = X_0 . e^{\mu t_d}$$

$$\therefore 2 = e^{\mu t_d} \quad or \quad \ln 2 = \mu t_d$$

$$i.e. \ \mu = \frac{\ln_2}{t_d} = \frac{0.693}{t_d}$$

ومن هنا نجد أن ثابت النمو (Growth constant) μ ، له علاقة بمقلوب زمن التضاعف Doubling time ، وأيضا له علاقة طردية مع معدل الانقسام (v)

$$v = \frac{1}{t_d} = \frac{\mu}{0.693}$$

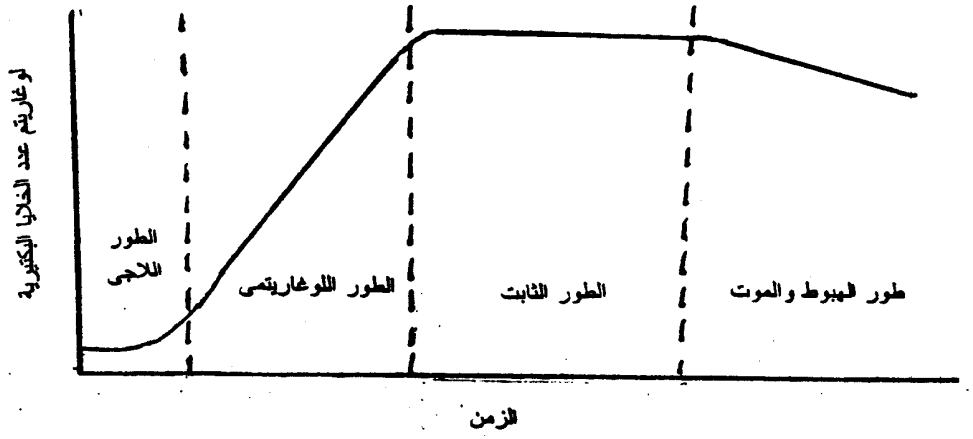
أطوار النمو البكتيرى

إن معدل النمو والتكاثر البكتيرى ، حتى فى البيئة الملائمة ذات الظروف المناسبة ، لايكون ثابتا ، بل يحدث للبكتريا النامية بالمزرعة تطورات مختلفة فى العدد والشكل ، وذلك فى مراحل النمو المختلفة ، ويمكن معرفة ذلك عن طريق عد وفحص البكتريا النامية بالمزرعة على فترات ، وإذا ماعمل منحنى يربط لوغاريتم أعداد خلايا البكتريا بالزمن ، سينتج منحنى ذو شكل سيجمويدى (الشكل السينى) Sigmoid curve ، وسيظهر بالمنحنى أربعة أطوار مختلفة لمراحل النمو البكتيرى ، ويسمى المنحنى الناتج ، **بمنحنى النمو البكتيرى Bacterial growth curve** .

ويوجد بين كل طور نمو وآخر ، فترة إنتقالية Transitional period ، تظهر منحنية بالشكل [٦ (١) – ٥] ، وتمثل الفترة الانتقالية الوقت اللازم لكى تدخل كل خلايا المزرعة ، فى الطور الجديد التالى من أطوار النمو .

ويمثل الشكل التالى [شكل ٦ (١) – ٥] ، منحنى النمو النموذجى للبكتريا ، وأطوار هذا المنحنى أربعة ، هى

١- الطور اللاجى Lag phase ، وقد يسمى بطور الركود .
٢- الطور اللوغاريتمى Log (Exponential) phase ، وقد يسمى بطور النمو الأسى ، أو بطور التكاثر السريع .
٣- الطور الثابت Stationary phase ، وقد يسمى بطور الثبوت ، أو بطور الثبات .
٤- طور الهبوط Decline (Death) phase ، وقد يسمى بطور الإنحدار أو بطور الموت .



شكل ٦ (١) – ٥ : منحنى النمو البكتيرى .

١- الطور اللاجى : Lag phase

عقب تلقيح البيئة الغذائية بالبكتريا ، فإن البكتريا تتوقف عن الانقسام لفترة من الزمن ، ثم تبدأ الخلايا فى الانقسام ببطء ، ثم يسرع معدل الانقسام حتى يصل الى درجة يثبت عندها .

وتعرف الفترة من بدء التلقيح والتى تكون فيها الخلايا البكتيرية متوقفة عن الانقسام أو بطيئة جدا فى الانقسام ، حتى تصل سرعة الانقسام الى درجة سريعة ثابتة ، تعرف باسم الطور اللاجى ، ورغم أن الخلايا البكتيرية فى الطور اللاجى لاتنقسم أو تنقسم ببطء شديد جدا ، إلا أنها لاتكون خاملة ، بل نشطة فسيولوجيا ، وتكون عملية التخليق البروتوبلازمى بداخلها مستمرة .

وفى الطور اللاجى يزداد تنفس الخلايا البكتيرية ، ويزداد معدل أيضها الغذائى ، ويزداد حجمها ، وقد يصل حجم الخلايا البكتيرية الى ضعف أو ثلاثة أضعاف حجمها الأصلى ، بمعنى أن معدل الزيادة فى الكتلة الخلوية ، يكون أكبر من معدل الزيادة فى عدد الخلايا . أما البروتوبلازم الخلوى فإنه يكون متجانسا ، لإختفاء مابه من حبيبات مخزنة .

تطول أو تقصر مدة الطور اللاجى ، تبعا لعوامل كثيرة

* فتقصر مدة هذا الطور ، إذا كانت كمية اللقاح المضافة للبيئة كبيرة ، واذا كان اللقاح مأخوذ من خلايا صغيرة العمر نشطة ، وإذا كان الوسط الجديد مناسبا للنمو ، ومشابها للوسط السابق الذى كانت خلايا اللقاح نامية به .
* وعلى العكس مما سبق ، فإن مدة الطور اللاجى تطول ، اذا كانت كمية اللقاح المضافة للبيئة قليلة ، وإذا كانت خلايا اللقاح مسنة أو متجرثمة ، وإذا كانت البيئة الجديدة مختلفة عن تلك التى كان اللقاح ناميا بها .

ولذلك فإنه من الأهمية بمكان ، معرفة العوامل التى تؤثر على طول أو قصر فترة الطور اللاجى ، لأهمية ذلك فى النواحى التطبيقية ، كالصناعات الغذائية والتخميرية وغيرها .

وقد وضعت تفسيرات عديدة ، تفسر سبب حدوث الطور اللاجى ، عند وضع البكتريا فى البيئة الجديدة ، من هذه التفسيرات

* أن خلايا اللقاح المضافة إلى البيئة الجديدة ، يلزمها بعض الوقت لتخليق مايلزمها من رنا RNA ، ورايبوسومات ، وإنزيمات ... الخ ، لتتلاءم الخلايا مع الظروف الجديدة للوسط ، قبل أن تبدأ فى عملية التكاثر السريع .
* يلزم للبكتريا المضافة الى البيئة الجديدة ، بعض الوقت لتخليق الانزيمات الخاصة بالتعامل مع المكونات التى توجد فى تلك البيئة الجديدة ، وذلك لإحداث تغيرات معينة بها ، حتى تصبح تلك البيئة الجديدة مناسبة للخلايا البكتيرية ، قبل أن تبدأ الخلايا فى التكاثر السريع .

٢- الطور اللوغاريتمى : Logarithmic (Log) phase

فى نهاية الطور اللاجى بمنحنى النمو البكتيرى ، تدخل الخلايا البكتيرية فى مرحلة الطور اللوغاريتمى ، الذى يستمر حتى بداية الطور الثابت .

وسمى الطور اللوغاريتمى بهذا الاسم ، لأن معدل تكاثر الخلايا البكتيرية فى هذا الطور يكون لوغاريتميا ، بمعنى أن عدد الخلايا يزداد زيادة لوغاريتمية مع مرور الزمن ، والعلاقة البيانية بينهما ، تكون خطية ، وربط لوغاريتم العدد مع الزمن ، يشكل خطا مستقيما .

والطور اللوغاريتمى هو طور التكاثر السريع للبكتريا ، حيث تصل سرعة التكاثر فى هذا الطور الى أقصاها ، ويكون عمر الجيل ثابتا ، بالنسبة للنوع الواحد ، كما تكون معدلات الزيادة الاسية فى كل من العدد الخلوى (أو الكتلة الخلوية) ، والمحتوى البروتينى والمكونات النووية (الدنا والرنا) ، ثابتا فى وحدة الزمن .

وفى الطور اللوغاريتمى تظهر الخلايا البكتيرية صغيرة الحجم ، ويبقى البروتوبلازم الخلوى متجانسا ، ويبدأ ظهور الحبيبات المخزنة فى البروتوبلازم قرب نهاية الطور اللوغاريتمى .

وتتوقف طول مدة الطور اللوغاريتمى ، على الظروف البيئية المؤثرة على نمو البكتريا بالوسط ، فيصل النمو بالمزرعة لأقصاه عند توفر الغذاء الملائم للبكتريا بالبيئة ، وعند درجة الحرارة المثلى ، و (ق يد) المناسبة ، وبعدم حدوث تراكم لنواتج الأيض بالبيئة .

وعلى ذلك ، فإنه يمكن إطالة الطور اللوغاريتمى ، بإضافة مواد غذائية بدل تلك التى استهلكت، وسحب أو معادلة المواد السامة الناتجة من الأيض الغذائى .

ويعتبر الطور اللوغاريتمى كما ذكر سابقا ، أنسب الأطوار لقياس معدلات النمو ، فى مزارع ذات الدفعة الواحدة ، حيث يمكن فى هذا الطور تقدير عمر الجيل (g) ، وعدد الأجيال (n) ، ومعدل الانقسام (v) ... الخ ، وذلك من خلال تجربة معملية ، تتم بتلقيح عدد من الخلايا فى بيئة ملائمة ، ثم التحضين تحت ظروف بيئية مناسبة ، وتقدير أعداد البكتريا الموجودة فى بداية التجربة وفى نهايتها .

عمر الجيل : Generation time

يكون عمر الجيل ثابتا خلال فترة الطور اللوغاريتمى . ويحدد عمر الجيل العوامل الوراثية الخاصة بالنوع البكتيرى الملقح بالمزرعة ، والظروف البيئية السائدة بالوسط الغذائى . وتحت الظروف البيئية المناسبة ، يكون عمر الجيل حوالى ٢٠ دقيقة لبكتريا *E. coli* & *B. cereus* عند النمو على ٣٧°م ، و٣٥ دقيقة للسيدوموناس ، و ٢ ساعة للرايزوبيوم ، و٤ ساعات للأزوتوباكتر ، بينما يمتد عمر الجيل الى عدة ساعات ، فى حالة البكتريا بطيئة النمو مثل النتروزوموناس (من ٥-١٠ ساعات) .

وجدول [٦ (١) - ١] يوضح عمر الجيل لبعض أنواع البكتريا .

جدول ٦ (١) - ١ : عمر الجيل لبعض أنواع البكتريا* .

البكتريا	البيئة	درجة حرارة النمو °م	عمر الجيل بالدقيقة
Escherichia coli	مرق مغذى	٣٧	١٧
Bacillus thermophilus	مـــــرق	٥٥	١٨,٥
Streptococcus lactis	لبـــــن	٣٧	٢٦
Streptococcus lactis	مرق لاكتوز	٣٧	٤٨
Staphylococcus aureus	مـــــرق	٣٧	٣٠
Bradyrhizobium japonicum	أملاح معدنية ومستخلص خميرة ومانيتول	٢٥	٤٢٠
Mycobacterium tuberculosis	تركيبية (Lowenstein)	٣٧	٧٩٢-٩٣٢
Treponema pallidum	خصيـــة أرنب	٣٧	١٩٨٠

* **Pelczar M. J. Jr. and E.C.S. Chan (1981). Elements of Microbiology.** Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

٣- الطور الثابت : Stationary phase

عند نهاية الطور اللوغاريتمى ، يبطوء معدل تكاثر البكتريا ، بمعنى أن الخلايا تستمر فى نشاطها ، ولكن تكاثرها يكون بطيئا ، ويصبح عدد الخلايا فى المزرعة ثابتا تقريبا ، وبذلك تكون الخلايا الجديدة المتكونة مساوية لعدد الخلايا الميتة .

وفى بداية الطور الثابت ، تظهر الخلايا البكتيرية متجانسة الشكل والحجم ، وبمرور الوقت تبدأ المواد المخزنة فى الظهور بوضوح فى الخلايا ، كما تظهر الجراثيم فى الأنواع المتجرثمة .

وتوقف البكتريا عن الاستمرار فى الطور اللوغاريتمى ، ثم الدخول فى الطور الثابت ، ينتج من زيادة تركيز الخلايا البكتيرية بالبيئة ، ونفاذ بعض مواد البيئة المغذية ، وتراكم نواتج الأيض (مثل الأحماض) ، وانخفاض ضغط الأكسجين بالبيئة ، بدرجة تضر بالبكتريا ، بينما يستمر تخليق بعض الانزيمات أثناء هذه المرحلة .

ويتوقف تأثير هذه العوامل المختلفة على طبيعة العامل المحدد للنمو ، وعلى النوع البكتيرى نفسه ، فقد تموت بسرعة البكتريا الحساسة ، بينما تبقى الأنواع الأخرى حية لفترة أطول ، وتستمد مايلزمها من طاقة عن طريق تمثيل البروتين والمواد المخزنة بها .

ويمكن إطالة الطور الثابت بإضافة مواد مغذية جديدة للبيئة بدلا من تلك التى استهلكت ، وبمعادلة أو سحب نواتج الأيض الضارة ، أو بتجفيف المزرعة ، أو بتخزينها على درجة حرارة منخفضة ، حيث أن خفض درجة الحرارة يبطىء عملية الايض الغذائى .

وكلما زاد أثر العوامل الضارة ، وكلما كانت الظروف البيئية غير مناسبة ، كلما زادت حساسية الخلايا الموجودة بالمزرعة ، وقصرت فترة الطور الثابت ، بحيث يمكن أن ينتهى هذا الطور ، وتدخل البكتريا فيما يسمى بطور الهبوط .

وفى بداية الطور الثابت تجرى الإختبارات الميكروبيولوجية على البكتريا المنماة ، كما يستفاد عمليا من خاصية تخزين البكتريا على درجة حرارة منخفضة وهى فى الطور الثابت ، لحفظ مزارع البكتريا العقدية ، وبادئات المنتجات اللبنية ، والخميرة المضغوطة ، واللقاحات ، وغيرها من المزارع لحين توزيعها للاستعمال .

وتعرف كمية النمو البكتيرى الذى أمكن الوصول اليها أثناء طور الثبات ، بالمحصول Yield, Y ، وتتوقف كمية المحصول الناتج ، على ظروف البيئة الغذائية وعلى ظروف النمو . ويعبر عن المحصول بالجرام وزن جاف من الخلايا ، ويمكن تقدير المحصول تجريبيا بحساب الفرق بين أقصى كتلة خلوية بكتيرية (أو عدد خلايا) أمكن الوصول إليها بعد زمن معين ، وبين الكتلة الخلوية البكتيرية (أو عدد خلايا) التى كانت موجودة فى البداية .

ويمكن حساب محصول الخلايا الناتج ، أو مايعرف بالكتلة الخلوية ، حسب المعادلة التالية

$X = X_{max} - X_o$ ، حيث

X = الوزن الجاف للمحصول الخلوى بالجرام

X_{max} = الوزن الجاف للمحصول الخلوى بالجرام بعد نهاية التجربة فى الطور الثابت

X_o = الوزن الجاف للمحصول الخلوى بالجرام عقب التلقيح مباشرة

وهناك قياسات أخرى تستخدم للتعبير عن المحصول منها

معامل المحصول Yield coefficient (Y) ، ومحصول النمو المولى Molar growth yield (Y_m) ، ومعامل طاقة المحصول Energy yield coefficient (Y_{ATP})

ويتم حساب تلك القياسات ، كما يلى

معامل المحصول = جرام خلايا منتجة / جم مادة غذائية (S, Substrate) مستهلكة $Y = X/S$

معامل النمو المولى = جرام خلايا منتجة / مول مادة غذائية مستهلكة

$Y_m = X/$ mol. Substrate

معامل طاقة المحصول = جرام خلايا منتجة/مول ATP $Y_{ATP} = X/mol\ ATP$

ويحسب Y_{ATP} عند معرفة المسار الهدمى للميكروب وكمية الطاقة الناتجة ، ففى حالة نمو *E. coli & Klebsiella pneumoniae* تحت ظروف لاهوائية معتمدة على تركيز الجلوكوز ، كانت قيم Y_{ATP} ١٢,٤ جم خلايا كولاى/مول ATP و ١٤ جم خلايا كلبسيلا / مول ATP* . وفى حالة البكتريا اللاهوائية التى تحصل على كل طاقتها بالتخمر ، فان قيم Y_{ATP} تكون غالباً ثابتة ، وتزداد قيم Y_{ATP} بإمداد البيئة بمصادر أخرى للطاقة .

كما تختلف قيم Y_{ATP} بالنسبة للبكتريا الهوائية ، بإختلاف ظروف ومكونات البيئة الغذائية ، كأن يستخدم النتروجين مثلا فى صورة أمونيوم ، أو نترات أو مركبات نتروجين عضوية .

٤- طور الهبوط : Decline phase

عقب الطور الثابت بمنحنى النمو ، تدخل البكتريا طور الهبوط . وفى هذا الطور يزداد معدل موت الخلايا البكتيرية عن معدل تكاثرها ، ويحدث تناقص مستمر فى أعدادها الحية ، ويزداد معدل تناقص الخلايا الحية فى العدد تدريجياً مع مرور الوقت ، ويصبح معدل التناقص فى العدد لوغاريتمياً مع الزمن ، وذلك عكس معدل الزيادة فى العدد الذى يحدث أثناء الطور اللوغاريتمى .

وأثناء طور الهبوط ، تظهر الخلايا البكتيرية بأشكال غريبة ، وتكون غير متجانسة فى الشكل أو الحجم ، ويرى التحبب فى البروتوبلازم واضحا ، وتنفرد الجراثيم من الخلايا ، وتتحلل بقايا الخلايا .

غير أنه إذا أخذ لقاح من هذه الخلايا غير المتجانسة ، ولقحت بها بيئة مناسبة ، فإن الخلايا تتكاثر وتعيد دورة حياتها ، وتظهر الصفات الثابتة المميزة للبكتريا فى بداية الطور الثابت من منحنى النمو الجديد .

وفى طور الهبوط أو فى نهايته ، تموت الخلايا البكتيرية على فترات مختلفة ، تختلف باختلاف النوع ، فبعض الكرويات السالبة لصبغة جرام تموت سريعا خلال ساعات ، وبعض الأنواع الأخرى تموت ببطء بعد أشهر أو سنوات . وتتحلل الخلايا البكتيرية عقب موتها تحللاً ذاتيا Autolysis ، نتيجة لنشاط الانزيمات الموجودة بها .

* From Schlegel (1995)

تنمية البكتريا

عند تنمية البكتريا ، فإن النمو البكتيرى يتأثر بعوامل عديدة ، من أهمها تركيز المواد الغذائية الموجودة بالبيئة ، ومن هذه الناحية فإننا نجد أن البكتريا تنمى بنظم متعددة ، يمكن وضعها أساسا تحت نظامين رئيسيين هما :

- نظام مزرعة الدفعة الواحدة Batch culture method .
- نظام المزرعة المستمرة Continuous culture method .

وهناك تعديلات وطرق تجمع مابين الطريقتين السابقتين .

النمو البكتيرى بالنظم المزرعية

إذا لُقِّحت البكتريا فى بيئة مغذية ، وحُضِّنت تحت الظروف المناسبة ، فإن البكتريا ستتكاثر ، الى أن يتم استهلاك أحد المكونات الغذائية الهامة المحددة للنمو ، فإذا لم يتم إضافة أية مواد غذائية جديدة بدل تلك التى استهلكت ، أو سحبت أية نواتج خلال فترة التحضين ، فإن التنمية بهذا النظام ، تعرف بنظام المزرعة ذات الدفعة الواحدة Batch culture method .

وتعانى هذه المزارع من حدوث تغير مستمر فى الظروف المزرعية ، فنتيجة لتزايد النمو البكتيرى بالمزرعة ، تتناقص تركيزات المواد الغذائية تدريجياً ، كما تتراكم إفرازات الايض الميكروبية الضارة كالأحماض ، مما يؤثر على النمو البكتيرى .

وفى حالات عديدة من الانتاج الميكروبى ، اضافة إلى متطلبات الكثير من الدراسات الفسيولوجية ، فإن الأمر يتطلب الإبقاء على الخلايا البكتيرية فى المزرعة ، فى حالة نشطة لفترة طويلة ، وهذا يستلزم الحفاظ خلال تلك الفترة على تركيزات ثابتة من المواد الغذائية وأيضا على ظروف بيئية ثابتة ، لكى تستمر الخلايا البكتيرية الموجودة بالمزرعة ، فى طور النمو اللوغاريتمى ، بحالة ثابتة .

ويمكن تحقيق ذلك باستمرار نقل الخلايا النامية الى بيئة مغذية طازجة ، أو باستخدام وسيلة أخرى أسهل وأكثر إحكاما ، وذلك بإضافة بيئة تنمية جديدة ، بمعدل ثابت ومعلوم ، الى المزرعة البكتيرية النامية ، مع سحب كميات مساوية من المزرعة .

وتمثل عماية إضافة مواد مغذية وسحب نواتج الأيض الضارة ، الأساس فى عمل مايعرف بنظام المزرعة المستمرة Continuous culture method ، سواء باستخدام

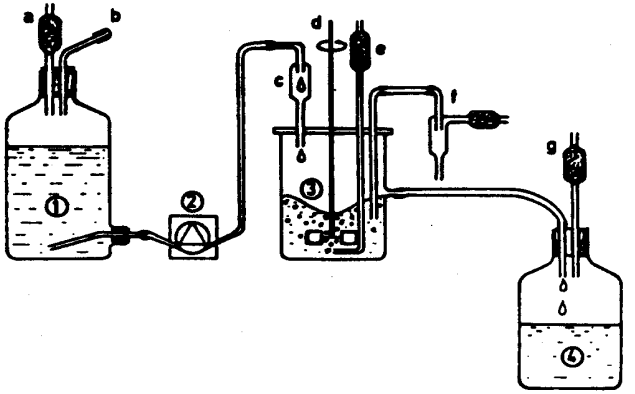
- جهاز المنظم الكيميائى ، أى الكيموستات Chemostat .
- أو الجهاز المنظم لكثافة النمو ، أى التربيدوستات Turbidostat .

النمو بنظام المزرعة المستمرة

١- النمو فى المنظم الكيميائى ، الكيموستات : Growth in chemostat

يعتمد نجاح هذه الطريقة ، على التحكم فى مكونات وتركيز مواد التفاعل المضافة الى البيئة ، والمسحوبة منها ، ويتم ذلك باستخدام جهاز الكيموستات .

ويوضح الشكل [٦ (١) - ٦] ، أساسيات نظام المزرعة المستمرة فى جهاز الكيموستات



شكل ٦ (١) - ٦ : تركيب جهاز الكيموستات ، يتركب الجهاز من
1 - مستودع للبيئة مزود بمرشح a ، وفتحة لدخول البيئة b .
2 - مضخة تمعجية Peristatic pumb ؛ تمد وعاء التنمية بالبيئة ، وذلك بمعدل ثابت .
3 - وعاء تنمية مزود بفتحة دخول البيئة c ، ومقلب Stirrer, d ، وفتحة لدخول الهواء خلال مرشح e ، ومكان لأخذ العينات f .
4 - وعاء لتجميع ماينساب من المزرعة ، مزود بمرشح هوائى g لخروج الغازات .

يتم ضخ الهواء بوعاء التنمية ، مع التقليب الميكانيكى لمحتوياته ، للتأكد من توزيع الهواء والمواد المغذية توزيعا منتظما ومتماثلا ، فى كل أجزاء الوعاء .

ويتم إضافة البيئة الغذائية الطازجة الى وعاء التنمية بمعدل ثابت ومستمر ، مع سحب قدر مماثل من المزرعة البكتيرية بنفس المعدل ، ويقدر معدل التخفيف باللتر Dilution rate, D، وهو يمثل معدل الإستبدال الحجمى لمحتويات المزرعة فى الساعة ، وذلك من المعادلة التالية

$$\text{معدل التخفيف باللتر} = \frac{\text{معدل إضافة البيئة إلى المزرعة لتر/ساعة}}{\text{حجم المزرعة النامية باللتر}} \quad \text{أى أن} \quad D = \frac{f}{v}$$

ومع معدل التخفيف المستخدم بالكيموستات ، فإنه سواء لم تنمو البكتريا أو نمت ببطء بوعاء التنمية ، فإنه يحدث غسيل Wash-out للخلايا البكتيرية من وعاء التنمية ، بمعدل يعرف بمعدل الغسيل Washout rate, Dx ، وهذا المعدل يساوى

$$\text{معدل الغسيل} = \frac{\text{الفرق فى وزن الخلايا بالجرام}}{\text{الفرق فى زمن التجربة بالساعة}} \quad \text{أى أن} \quad Dx = \frac{dx}{dt}$$

ويكون التناقص فى تركيز الميكروب تناقصا أسيا على النحو التالى

$$X = X_o . e^{-Dt}$$

بينما عند استمرار نمو الميكروب أسيا فان معدل الزيادة يصبح $\mu x = \frac{dx}{dt}$

أى $X = X_o . e^{\mu t}$

ويكون معدل التغير dx / dt فى الكثافة البكتيرية بالمزرعة ، هو محصلة المعادلتين السابقتين ، أى

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - Dx$$

وتمثل μ معدل ثابت النمو Growth constant ، وهو عدد الخلايا المتكونة فى وحدة الزمن .

وعلى ذلك فإنه فى طريقة الكيموستات ، إذا ماتساوى معدل النمو μ ، مع معدل التخفيف D ، فإنه يحدث توازن بين معدل غسيل المزرعة ، وبين كمية الخلايا المكتسبة من النمو البكتيرى ، ويصبح معدل إنتاج خلايا ميكروبية جديدة بوعاء التنمية ، متوازنا Balanced مع معدل الخلايا المفقودة فى عملية الغسيل من وعاء التنمية ، وبالتالى يصبح مقدار التغير فى الكتلة الميكروبية بوعاء التنمية يساوى صفرا ، وسيظل التركيز البكتيرى بالوعاء ثابتا ، وتبقى المزرعة البكتيرية فى حالة نمو ثابت Steady state growth .

يعتمد نجاح نظام المزرعة المستمرة بالكيموستات ، على النجاح فى تنظيم معدل النمو البكتيرى μ بوعاء التنمية ، ويتأتى ذلك بالتحكم فى مكونات وتركيز مواد التفاعل ، المضافة إلى البيئة والمسحوبة منها ، وذلك بالتحكم الدقيق فى معدل التخفيف ، وهو معامل الاستبدال الحجمى لمحتويات وعاء التنمية ، وبهذا التحكم يمكن الحفاظ على توازن معدلات الانسياب Flow balance ، مابين البيئة المضافة الى وعاء التنمية ، وتلك المسحوبة من الوعاء ، ويؤدى الاتزان فى معدلات الانسياب، الى أن يعمل الكيموستات كنظام ذاتى التنظيم Self-regulatory system .

٢- النمو فى الجهاز المنظم لكثافة النمو ، التربيدوستات : Growth in turbidostat

يعتمد نجاح هذه الطريقة ، على تنظيم تركيز نمو البكتريا الموجودة بوعاء التنمية ، والمحافظة على ذلك التركيز فى حالة ثبات ، وذلك بالتحكم فى كمية وكثافة النمو البكتيرى . يقدر النمو البكتيرى الموجود بوعاء التنمية ، بطريقة التعكير ، ويحافظ على كثافة النمو ، بالمحافظة على درجة التعكير فى حالة ثابتة ، ويتم ذلك بواسطة جهاز ضوئى كهربائى ، يبين باستمرار بطريقة التعكير ، كثافة النمو البكتيرى الموجود بوعاء التنمية ، وبواسطة ذلك الجهاز يتم أيضا التحكم فى معدل تخفيف البيئة ، للحفاظ على كثافة الخلايا البكتيرية الموجودة بوعاء التنمية ، عند معدلات ثابتة ، فإذا مازادت كثافة النمو البكتيرى بوعاء التنمية ، يزداد معدل التخفيف ، وإذا ماإنخفضت كثافة النمو البكتيرى ، يقل معدل التخفيف .

نظام التربيدوستات أكثر تعقيدا عن نظام الكيموستات ، ويؤدى ذلك إلى بعض المصاعب فى التطبيق منها

* التصاق بعض خلايا المزرعة بجدار وعاء العينة ، مما يؤدى إلى استشعار خاطىء من جهاز التربيدوستات المنظم .
* تذبذب التيار الكهربائى وعدم ثباته ، يؤدى الى استشعار خاطىء بالخلايا الضوئية لجهاز التربيدوستات ، مما يسبب حدوث أخطاء فى معدل إنسياب البيئة المضافة إلى المزرعة ، أو المسحوبة منها .

الفروق الأساسية بين نظام النمو ذو الدفعة الواحدة ونظام المزرعة المستمرة
Fundamental differences

ينظر الى نظام التنمية ذو الدفعة الواحدة ، إلى أنه نظام ، منغلق على نفسه Closed system . وفى هذا النظام يتطور الميكروب النامى من الطور اللاجى ، إلى اللوغاريتمى ، إلى الثابت ، ثم إلى طور الهبوط (الموت) ، وهو مايعادل فى الانسان أطوار الطفولة ، النضج ، الشيخوخة ثم الموت ،

وفى هذا النظام المقفول ، تتغير ظروف المزرعة البكتيرية من لحظة لأخرى ، مما يصعب من حدوث عملية النمو والتطور الذاتى لخلايا المزرعة Culture automation .

بينما يمثل نظام المزرعة المستمرة ، نظاما مفتوحا Open system ، يحقق حالة نمو ثابتة Steady state growth لثبات ظروف التنمية ، مع تجنب هذا النظام المستمر لعامل الزمن وتأثيره على البكتريا النامية ، ولذلك فإنه من السهل جعل النظام المستمر ، نظام نمو وتطور ذاتى تلقائى Automated system .

٣- النمو المتزامن : Synchronous growth

تهتم بعض الدراسات الميكروبيولوجية ، بدراسة عمليات الأيض الغذائى من حيث علاقتها بأحد أطوار الانقسام الخلوى ، أو بمرحلة معينة من مراحل النمو الخلوى . وتتطلب هذه الدراسات التعامل مع عشيرة من الخلايا البكتيرية ، التى تنقسم جميعها فى وقت واحد ، أى عشيرة ذات نمو متزامن ، لأنه من الصعب التعامل أو تحليل خلية بكتيرية واحدة لصغر حجمها .

النتائج المتحصل عليها ، من تحليل مجموعة الخلايا المتزامنه النمو الموجودة بالمزرعة ، ستصبح ذات قيمة، ويمكن الاعتماد عليها ، بإعتبارها ممثلة لما يمكن أن يحدث فى البكتيرة الواحدة .

وتوجد طرقا معملية ، تعتمد على استخدام الظروف الطبيعية أو الكيميائية المؤثرة على النمو البكتيرى ، تمكننا من دفع الخلايا الموجودة بالمزرعة ، إلى النمو نموا متزامنا ، من هذه الطرق ، استخدام التغيرات الحرارية ، التنبيه بالمؤثرات الضوئية ، التحديد بالمواد المغذية ... الخ .

على سبيل المثال ، فإنه عند تلقيح الخلايا البكتيرية فى بيئة غذائية ، وتحضينها لبعض الوقت عند درجات حرارة أقل من الدرجة المثلى للنمو Suboptimal temperature ، فان الخلايا ستقوم بأيضها الغذائى ببطء ، ولكنها لن تنقسم ، فإذا مارتفعت درجة الحرارة إلى المثلى ، فإن الخلايا ستنمو متزامنة .

تفصل الخلايا المتزامنه النمو من المزرعة ، بالترشيح أو بالطرد المركزى ، لتستخدم بعد ذلك فى الدراسات المطلوبة .

والخلايا البكتيرية التى عوملت بإحدى المعاملات السابقة لكى تنمو نموا متزامنا ، ستعطى عددا محدودا من الأجيال المتزامنه ، ثم تعود بسرعة الى حالة النمو غير المتزامن .

طرق تقدير النمو البكتيرى (العدد والكتلة الحيوية)

Methods of estimating bacterial growth (Number & mass)

عندما تنمو البكتريا فى وسط ما ، ولتكن مثلاً مزرعة على دفعات ، فليس من الضرورى وجود علاقة بين الزيادة فى عدد الخلايا البكتيرية والزيادة فى كتلتها . فعقب تلقيح البكتريا فى البيئة ، فان بعض البكتريا تزيد فى العدد بمعدل أسرع من الزيادة فى كتلتها الحيوية ، وفى هذه الحالة ، فإن حجم الخلايا النامية يكون صغيرا ، بينما فى مرحلة متأخرة من النمو ، فإن معدل زيادة البكتريا فى كتلتها الخلوية ، يكون أسرع من معدل زيادتها فى العدد ،

وفى هذه الحالة فإن حجم الخلايا النامية يكون كبيراً ، ولذا فعلينا أن نميز بين زيادة البكتريا فى عددها ، وزيادتها فى كتلتها الخلوية .

ولاتوجد كل الخلايا البكتيرية فى المعلق فى صورة حية ، فمنها ماهو حى Viable ، ومنها ماهو غير حى Non-viable ، ومنها ماقد حدث له تلفاً Damaged cells .

والخلايا الحية هى التى تنمو ، وتعطى مستعمراتاً بالبيئة الصلبة ، أو تكون معلقاً بالبيئة السائلة، بينما فى طرق تقدير العدد الكلى للخلايا ، فإن العدد الناتج يتضمن كلا من الخلايا الحية وغير الحية والتالفة .

وفى القياسات البصرية للمعلق البكتيرى ، فإنه يجرى تقدير الكثافة البصرية Optical density للمعلق ، مما يوجب علينا ، إيجاد العلاقة التى تربط بين النفاذية الضوئية للمعلق ، وكتلته الخلوية ، أو عدد خلاياه .

ويقدر النمو البكتيرى بطرق عديدة ، تعتمد على واحدة أو أكثر من أنواع القياسات التالية

١ - عدد الخلايا Cell count

ويتم ذلك بطرق مباشرة بالمجهر ، أو بطرق غير مباشرة بعد المستعمرات .

٢ - كتلة الخلايا Cell masss

ويتم ذلك مباشرة بالوزن أو بتقدير النتروجين الخلوى ، أو بطرق غير مباشرة ، بتقدير درجة التعكير .

٣ - نشاط الخلايا Cell activity

ويتم ذلك بطرق غير مباشرة تعتمد على الربط بين درجة النشاط البيوكيميائى للخلايا وحجم المجموع البكتيرى المتواجد ، كما يحدث عند تقدير نواتج الأيض الغذائى ، وكمية O_2 المستهلك ، وكمية CO_2 المنتج ، وتكون حامض معين ... الخ .

وجدول [٦ (١)- ٢] يبين الطرق المستخدمة فى تقدير النمو البكتيرى .

وسنشير فيما يلى إلى أهم الطرق المستعملة فى تقدير النمو البكتيرى ومميزات كل طريقة ، وذلك دون الدخول فى التفصيلات العملية الخاصة بتلك الطرق .

١- العد المباشر بالمجهر : Direct microscopic count

فى هذه الطريقة يؤخذ حجم معلوم من المعلق البكتيرى ، مثل ذلك المعلق المجهز من التربة أو المياه ، وينشر المعلق البكتيرى على مساحة محددة من شريحة الفحص الزجاجية ، مثل شريحة Petroff-Hausser counting chamber ، أو شريحة بريد Breed ، ثم يثبت الغشاء ، ويصبغ ، ويفحص ، وتعد البكتريا الموجودة فى عدة مجالات ، ويحسب العدد الموجود فى ١ جم تربة جافة ، أو ١ مل عينة سائلة .

وعند عد البكتريا ببيئات تحتوى على أعداد كثيفة أو خفيفة جدا من البكتريا ، فإنه يلـــزم عمـــل التخفيفات أو التركيزات المناسبة على التوالى .

تمتاز طريقة العد المباشر بالمجهر ، بأنها سريعة ، سهلة ، ولاتحتاج الى معـــدات أو تجهيزات خاصة ، كما أنها تمكن الفاحص ، من ملاحظة الشكل المورفولوجى للبكتريا الجـــارى عدها تحت المجهر. غير أنه يعاب على هذه الطريقة بأنه عند استعمالها باستمرار فإنـــها تجـــهد النظر ، كما أنه يصعب استخدامها لعد البكتريا النامية فى بيئات صلبة ، لتكتل البكتريا وصعوبـــة فردها ، كما أنه فى بعض الأحيان ، يصعب التمييز بين المكونات الدقيقة للبيئة وبيـــن البكتريـــا الحيه والميته .

جدول ٦ (١) – ٢ : الطرق المستخدمة فى تقدير النمو البكتيرى .

الطريقـــــة	استخدامات الطريقة	التعبير عن النمو
العد المباشر بالمجهر	المياه ، الالبان ، الأغذية ، الأراضى ، اللقاحات ... الخ	عدد الخلايا / مل
العد الالكترونى	مثل السابق	عدد الخلايا / مل
العد بالأطباق	مثل السابق	الوحدات المكونه للمستعمرة / مل (Cfu/ml)
المرشحات الغشائية	مثل السابق	الوحدات المكونة للمستعمرة / مل
العد بطريقة التخفيف التقريبية	المياه والمجارى والأراضى	عدد الخلايا / مل
القياس بطريقة التعكير	المعلقات المائية ، المزارع السائلة ... الخ	مقـــدار الكثافـــــة البصريـــة (الامتصاص)
تقدير الوزن الجاف	المزارع الميكروبية الكثيفة النمو	مجم وزن جاف خلايا / مل
تقدير المحتوى النتروجينى	فى الأغراض البحثية	مجم نتروجين / مل
قياس النشاط البيوكيميائى للخلايـــا كإنتاج حامض	فى التقديرات الميكروبيولوجية	ملليمكافىء حامض / مل

ومن الشرائح الزجاجية ذات الاستخدامات الخاصة ، المستخدمة فى العد المباشر بالمجهر

أ – شريحة بريد : Breed slide

شريحة زجاجية تستخدم بكثرة لعد البكتريا الموجودة فى اللبن ، وفى هذه الطريقة من العد ، ينشر حجم معلوم من البيئة المراد العد فيها (عادة ٠,٠١ مل) ، بانتظام على مساحة معلومة من شريحة بريد ، ثم يثبت الغشاء ويصبغ ويفحص ، وتعد البكتريا الموجودة فى عدة مجالات بالشريحة ، وبالحساب يقدر عدد البكتريا الموجود فى ١ مل عينة .

ب – شريحة الهيموسايتومتر : Haemocytometer

تحتوى هذه الشريحة الزجاجية على غرفة عد Counting chamber ، وهى عبارة عن غرفة صغيرة مجوفة بالشريحة ، مقسمة بأبعاد معلومة الى مربعات ذات مساحات محددة . وبعد وضع تخفيف المعلق البكتيرى بالغرفة ، تغطى الشريحة ، وبعد عد البكتريا والضرب فى معامل الشريحة ، يمكن معرفة عدد الخلايا الموجودة فى ١ مل مزرعة بكتيرية .
وتستعمل هذه الشريحة فى أغراض طبية عديدة ، منها عد خلايا كرات الدم الحمراء .

٢- العد بطريقة الأطباق : Plate count method

فى هذه الطريقة تعمل تخفيفات متسلسلة من البيئة المراد عد البكتريا بها ، ثم يؤخذ ١ مل من كل تخفيف ، ويوضع فى طبق بترى تحت شروط التعقيم ، ثم تصب بيئة الأجار بالطبق ويحضن . ينمو كل ميكروب ليكون مستعمرة ، وهذه المستعمرات يمكن مشاهدتها بالعين المجردة . وبعد إنتهاء النمو ، تختار الأطباق ذات العدد المناسب من المستعمرات ، والذى يتراوح مابين ٣٠ الى ٣٠٠ مستعمرة بالطبق ، وبمعرفة عدد المستعمرات النامية بالطبق ، يمكن حساب عدد البكتريا الموجودة فى ١ مل بيئة أو ١ جم تربة جافة (حسب نوع العينة التى فحصت) .

وتعد المستعمرات النامية فى الطبق بالعين المجردة ، أو باستخدام عدسة مكبرة ، أو بأجهزة عد خاصة ، أو بعدادات الكترونية Electronic counters .

تستعمل طريقة العد بالأطباق بكثرة لتقدير عدد البكتريا ، الموجودة فى الماء واللبن والأغذية والتربة وغيرها ، وفى هذه الطريقة ، يعد عدد البكتريا الحى فقط ، أى القادر على التكاثر .
ولكن يعاب على هذه الطريقة أنها تحتاج لوقت طويل ، وإلى أجهزة وأدوات ، كما أنها تعطى عددا أقل من العدد الحقيقى ، إذ أن البيئة المستخدمة وظروف التحضين والنمو ، لاتناسب كل الأنواع البكتيرية الموجودة بالعينة الجارى فحصها ، هذا بالإضافة الى أن المستعمرة المتكونة ، قد تكون ناتجة من ميكروب واحد ، أو من كتلة من الميكروبات ، أو من سلسلة ميكروبية . ولذلك فإنه يفضل أن يشار إلى الأعداد البكتيرية التى تم تقديرها ، باستخدم تعبير الوحدات المكونة للمستعمرات / مل Colony-forming units/ml, Cfu/ml ، بدلاً من استخدام تعبير عدد البكتريا فى ١ مل عينة ، Bacterial count/ml .

٣- العد بالمرشحات الغشائية : Membrane-filter count

تصنع المرشحات الغشائية فى صورة أقراص ، من مواد متبلمرة كالكلوديون ، أو تصنع من خلات السليلوز ، وهذه المرشحات ذات ثقوب دقيقة متجانسة التوزيع ، وتستعمل المرشحات فى

وجود مضخات ، لفصل الكائنات الدقيقة الموجودة بالمحاليل المختبرة ، كما تستعمل المرشحات فى تعريف الميكروبات ، وفى عد الموجود منها بالسوائل .

تستعمل المرشحات الغشائية* التى لها سعة ثقوب حوالى ٠,٤٥ ميكرومتر ، لحجز البكتريا الموجودة بحجم معين من السائل ، على سطح المرشح الغشائى ، ثم تنمى البكتريا المحجوزة على المرشح ، بوضع المرشح بما عليه من بكتريا ، على بيئة مناسبة ، وبعد التحضين يقدر عدد البكتريا النامية ، ويحسب عددها الموجود فى ١ مل عينة .

ويعتمد نجاح طريقة المرشحات الغشائية* ، على استعمال بيئات النمو المناسبة ، التى تسمح بِعَد وتعريف المستعمرات البكتيرية النامية .

وتمتاز طريقة العد بالمرشحات الغشائية ، بسرعة إجرائها ، وبسهولة عد البكتريا مع إمكانية التمييز بين أنواعها باستخدام البيئات المناسبة ، كما يمكن بواسطة هذه الطريقة عد كميات كبيرة من عينات المياه أو السوائل بسهولة ، وبالتالى فانها تعطى نتائج أكثر تمثيلاً .

٤- العد بطريقة التخفيف التقريبية : Dilution frequency method

وتعرف هذه الطريقة أيضا باسم طريقة العدد الأكثر إحتمالا Most probable number method, MPN . وفى طريقة التخفيف التقريبية ، تجرى عدة تخفيفات متسلسلة من المزرعة المراد عد البكتريا بها ، ثم يؤخذ ١ مل من كل تخفيف لتلقيح أنابيب بيئة سائلة مناسبة ، مع عمل مايلزم من مكررات ، وبعد تحضين الأنابيب الملقحة ومكرراتها ، يقدر عدد الأنابيب الموجبة للنمو فى ثلاث تخفيفات متتالية ، ومن جداول خاصة ، تعرف بجداول الأعداد الأكثر إحتمالا Most probable number tables ، يقدر عدد البكتريا الموجودة فى ١ مل عينة .

تستخدم هذه الطريقة فى فحص عينات المياه والمجارى والأراضى ، وفيها يتم نمو البكتريا الحية فقط الموجودة بالعينة .

وتحتاج هذه الطريقة إلى وقت طويل ، وأدوات وأنابيب كثيرة ، وتعطى نتائج تقريبية .

٥- تقدير الوزن الجاف للخلايا : Determination of dry weight of cells

فى هذه الطريقة ، يؤخذ جزء من المزرعة المراد تقدير كمية النمو بها ، ثم تفصل خلايا المزرعة بترسيبها بالطرد المركزى ، ثم تجفف الخلايا على درجة ١٠٥°م لمدة ١٢ ساعة ، وتبرد ، وتوزن ، ويقدر الوزن الجاف للخلايا .

تتميز هذه الطريقة بسرعة إجرائها ، وببساطتها ، ولكن يعاب عليها أنها تقدر الوزن الجاف لكل من الخلايا الحية والميتة الموجودة بالعينة .

ولاتصلح هذه الطريقة إلا مع المعلقات البكتيرية الكثيفة النمو ، كما أن الخلايا المفصولة من المعلق يجب غسلها عدة مرات ، قبل تجفيفها ووزنها ، لازالة كل مايعلق بها من مواد خارجية.

وفى طريقة التقدير بالوزن الجاف ، فإنه لايمكن الربط بين وزن الخلايا البكتيرية وعددها ، مثالاً على ذلك ، فان بكتريا الأزوتوباكتر فى المراحل المتأخرة من النمو ، أى فى

---

* أنظر ص ٦٤ .

نهاية الطور اللوغاريتمى وأثناء الطور الثابت ، تزداد محتوياتها الداخلية ، خاصة من مادة البولى هيدروكسى بيوتيرات ، عدة مرات ، دون أن يقابل تلك الزيادة فى الكتلة الخلوية ، مايتكافأ معها من زيادة فى عدد الخلايا البكتيرية .

٦- تقدير المحتوى النتروجينى للخلايا :

Determination of nitrogen content of cells

يعتبر البروتين من أهم مكونات الخلية البكتيرية ، ويشكل النتروجين أهم عناصر البروتين ، ومن الطبيعى فإن كمية النتروجين الخلوى للبكتريا الموجودة بالمزرعة ، ستكون متكافئة مع عدد وحجم خلايا المزرعة . وفى أغلب أنواع البكتريا ، فإن نسبة النتروجين بالبروتين البكتيرى ، تكون حوالى ١٤% من الوزن الجاف للخلية ، وإن كان ذلك يتغير حسب النوع البكتيرى وظروف البيئة .

وفى طريقة تقدير النتروجين الخلوى ، كدلالة على النمو البكتيرى ، يؤخذ جزء من المزرعة البكتيرية المراد تقدير كمية النمو بها ، ثم تفصل الخلايا من المزرعة بترسيبها بالطرد المركزى ، وتغسل الخلايا عدة مرات لتخليصها تماما مما حولها من عناصر البيئة الغذائية ، ثم يقدر كمية النتروجين الكلى بالخلايا كيميائيا بطريقة ميكروكلداهل micro Kjeldahl ، أو بطرق بصرية لونية مثل طرق Lowry, or, Folin-Ciocalteu methods .

وتتشابه عيوب طريقة تقدير المحتوى النتروجينى ، مع عيوب طريقة التقدير بالوزن الجاف . ففى طريقة تقدير المحتوى النتروجينى للخلايا ، يقدر نتروجين كل من الخلايا البكتيرية الحية والميته ، الموجودة بالعينة ، كما أن الطريقة لايمكن إجراؤها إلا مع المزارع الكثيفة النمو المغسولة جيدا ، الخالية من أى مصدر نتروجينى غير الخلايا البكتيرية . هذا بالإضافة إلى أن طريقة التقدير النتروجينى للخلايا ، طريقة معقدة ، ولذلك فإنها تستعمل عادة فى الأغراض البحثية .

٧ - تقدير النمو البكتيرى باستخدام القياسات البصرية :

Optical methods for estimating bacterial growth

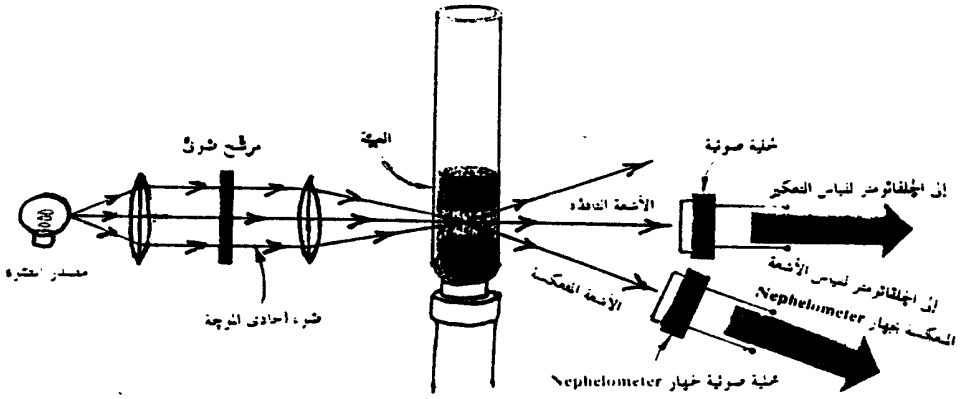
تعمل المزرعة البكتيرية كمعلق غروى ، يحجب ويعكس الضوء المار من خلاله ، فالضوء الذى يمتص Absorbed ، أو ينعكس Reflected بواسطة معلق الخلايا ، يتناسب طرديا مع تركيز الخلايا الموجود بالمعلق ، وبمعنى آخر فإن كمية الأشعة النافذة Transmitted من المعلق تتناسب عكسيا مع تركيز الخلايا التى بالمعلق ، أى أنه كلما زاد تعكير البيئة نتيجة زيادة النمو البكتيرى ، كلما قلت قراءة جهاز قياس التعكير .

ومن هذه القياسات التى يمكن الحصول عليها بواسطة أجهزة القياسات البصرية ، يمكن تقدير عدد الخلايا الموجودة فى المعلق البكتيرى .

ويستعمل فى أجهزة القياس البصرية ، وحدة ضوئية حساسة Photometric cell متصلة بجلفانوميتر ، لقياس الضوء المار ، وهى توجد فى أجهزة مثل :

جهاز قياس الألوان Colorimeter ، وجهاز قياس عكارة المحلول Nephelometer ، وجهاز قياس الطيف الضوئى Spectrophotometer ، وجهاز قياس التعكير Turbidimeter .

وتعتبر أجهزة القياس البصرية ، مصدرا للضوء الأحادى الطول الموجى Single wavelength ، ويتوفر ذلك بوضع مرشح ضوئى مناسب بالجهاز ، بين مصدر الضوء والعينة ، ليخرج الضوء من المرشح الضوئى بالطول الموجى الأحادى المرغوب فيه ، ويسقط بعد ذلك على العينة [شكل ٦ (١) – ٧] . وعند تشغيل الجهاز ، يوضع به المرشح الضوئى المناسب ، الذى يسمح للمعلق البكتيرى الجارى فحصه ، بأن يمتص أكبر كمية من الضوء النافذ من المرشح .



شكل ٦ (١) – ٧ : رسم تخطيطى لجهاز قياس الألوان الضوئى الذى يمكن أن يستعمل كجهاز لقياس التعكير أو كجهاز لقياس الأشعة المنعكسة .

وباستخدام جهاز القياس البصرى المناسب ، لقياس نسبة الأشعة الممتصة ، فإنه يمكن تقدير عدد الخلايا الموجودة بالمعلق البكتيرى . وتتم معظم التقديرات باستخدام جهاز قياس التعكير Turbidimeter لقياس الأشعة النافذة ، ونادرا مايستخدم جهاز النفيلومتر Nephelometer لقياس الأشعة المنعكسة .

وتقدر درجة تعكير المعلقات البكتيرية غير الملونة على موجة ضوئية طولها ٤٢٠ نانومتر ، وعلى موجه ضوئية طولها ٦٠٠ نانومتر للمعلقات البكتيرية ذات اللون الأصفر أو المائل إلى اللون البنى .

وفى طرق قياس التعكير ، يمكن أن يعبر عن قدرة المعلق البكتيرى على حجب الضوء ، بنسبة الضوء النافذ Transmitted ، وهذا يتناسب عكسيا مع تركيز الخلايا بالمعلق ، غير أنه من الأفضل أن يعبر عن التعكير كامتصاص Absorbance ، وهذا يتناسب طرديا مع تركيز الخلايا بالمعلق .

تُقيَّم النتائج المتحصل عليها من القياسات البصرية ، بطرق العد الأخرى المعروفة ، إذ أن درجة تعكير المعلق البكتيرى ، ترتبط بتقديرات أخرى معلومة للنمو البكتيرى مثل العدد بطريقة الأطباق .

كما أنه للسرعة فى استخلاص النتائج ، تعمل منحنيات قياسية Standard curves ، تربط بين القراءات المأخوذة بأجهزة القياسات البصرية ، والبيانات الأخرى المطلوب معرفتها ، مثل عدد الخلايا ، والوزن الجاف ، والمحتوى النتروجينى ... الخ .

وتعتبر طرق القياسات البصرية ، من الطرق الكثيرة الاستعمال لتقدير النمو البكتيرى، لسرعتها ودقتها ، إلا أنه يعاب عليها أنها تقدر الخلايا الحية والميتة معا ، ولايمكن استعمالها فى المعلقات الملونة بدرجة كبيرة ، أو التى تحتوى على مواد أخرى عالقة غير الخلايا البكتيرية .

﴿الباب السادس – الفصل الثانى﴾

تغذية وزراعة البكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
مقدمـــة	٣٢٧
الاحتياجات الغذائية	٣٢٧
الأنماط الغذائية للبكتريا	٣٣١
أولا : بكتريا ضوئية الطاقة	٣٣١
ثانياً : بكتريا كيميائية الطاقة	٣٣٢
ثالثا : البكتريا ذاتية التغذية وخليطة التغذية	٣٣٣
البكتريا متنوعة التغذية	٣٣٣
رابعاً : البكتريا المتطفلة إجبارياً	٣٣٤
البيئات المزرعية	٣٣٥
المكونات الشائعة الاستخدام فى عمل البيئة ..... الماء ، البيتون ، مستخلص اللحـــم ، مســتخلص الخمـــيرة ، الجيلاتين ، الأجـــار ، الجيـــل رايـــت ، المـــواد المنظمـــة للحموضة ... الخ	٣٣٥ من ٣٣٥ الى ٣٣٧
أنواع البيئات	٣٣٨
البيئات من حيـــث الشكل	٣٣٨
البيئات من حيث التركيب	٣٣٩
البيئات من حيث غرض الاستعمال ..... العـــد ، الانتقـــاء ، الاكثـــار ، تفريقيـــة ، تقديـــر حيـــوى ، دراسة مميزات ، حفظ	٣٤٠ من ٣٤٠ الى ٣٤٩
المزرعة النقية	٣٤٣
المزارع المهواة ، والتهوية	٣٤٤
زراعة البكتريا اللاهوائية	٣٤٨
دلائل التنمية اللاهوائيـــة	٣٤٩
مراجع الباب السادس	٣٥٠

﴿الباب السادس – الفصل الثانى﴾

تغذية وزراعة البكتريا
Nutrition and Cultivation of Bacteria

مقدمـــة

لاتختلف البكتريا عن غيرها من الكائنات الحية فى إحتياجها للغذاء ، فبدونه لايمكنـــها أن تنمو أو تقوم بوظائفها الحيوية ، حيث يستخدم الغذاء فى بناء الخلايا ، وفى الحصول علـــى الطاقة اللازمة لمختلف الوظائف الحيوية .

وتختلف البكتريا فى إحتياجاتها الغذائية بدرجة كبيرة بـــإختلاف أنواعـــها ، فبعضـــها يحصل على مايلزمه من عناصر غذائية من مواد بسيطة مثل النبات ، مع حصوله على الطاقـــة من التمثيل الضوئى أو من أكسدة المواد الكيميائية البسيطة ، والبعض الآخر من البكتريا حيـــث يمثل الأغلبية ، يحصل على المواد الغذائية والطاقة من مواد عضوية مثل الحيوان .

وتحصل البكتريا على المواد الغذائية بالانتشار الغشائى ، مما يتطلب ضرورة تواجـــد المواد الغذائية فى البيئة فى صورة ذائبة ، حتـــى تمـــر تلـــك المـــواد خـــلال غشـــاء الخليـــة السيتوبلازمى إلى السيتوبلازم ، ولذلك فإنه فى حالة البكتريا التى تتغذى على مـــــواد عضويـــة معقدة مثل السليلوز أو النشا أو الدهون أو البروتين ، فإنه لابد لـــــها مـــن أن تفـــرز إنزيمـــات خارجية ، تخرج من الخلية إلى الوسط المحيط بها ، وتحول المواد المعقدة الموجودة بالوســـط ، إلى الحالة الذائبة القابلة للإمتصاص .

يتم إستزراع البكتريا وفحصها ، بتنميتها فى بيئات غذائية مناسبة ، وبسبب الإختلافات الكبيرة القائمة بين أنواع البكتريا المختلفة ، فى إحتياجاتها الغذائية وفى ظروف نموهـــا ، فإنـــه يستخدم فى التنمية بيئات غذائية متعددة ، كل منها يناسب فى تركيبه تنمية نوع بكتيرى معين ، على أن يراعى عند التنمية ، توفير الظروف البيئية المناسبة للنمو ، مـــن حـــرارة ، وق يـــد ، ووسط غازى ... الخ .

الاحتياجات الغذائية : Nutritional requirements

لاتختلف الاحتياجات الغذائية للخلايا البكتيرية عن إحتياجات الكائنات الحية الأخـــرى ، وأهم الاحتياجات هى الأكسجين والايدروجين والكربـــــون والنـــتروجين والعنـــاصر المعدنيـــة (Ca , Mg , P, K , S , Fe) .

والملاحظات التالية توضح ذلك ، ويبين [جدول ٦ (٢) – ١] الاختلافات الواسعة الموجودة بين أنواع البكتريا المختلفة ، من حيث إحتياجاتها الغذائية .

جدول ٦ (٢) - ١ : مصادر الطاقة والكربون ومانح الالكترونات لبعض أنواع البكتريا .

البكتريا	مصدر الطاقة		مانح الالكترونات		كربون الايض	
	ضوئى	كيميائى	معدنى	عضوى	معدنى (ذاتى)	عضوى (خليط)
Chromatium	+		+		+	
Rhodospirillum						
تحت ظروف لاهوائية	+			+		+
تحت ظروف هوائية		+		+		+
Nitrosomonas		+	+		+	
Desulfovibrio		+	+			+
Pseudomonas						
فى وجود H_2		+	+		+	
فى عدم وجود H_2		+		+		+
Escherichia coli		+		+		+

١ - تحتاج جميع الكائنات إلى **مصدر للطاقة** Source of energy، حتى تقوم بأنشطتها المختلفة.

وتختلف البكتريا من حيث مصدر طاقتها

- فبعضها يعتمد على المواد الكيميائية كمصدر للطاقة ، وتسمى بكائنات كيميائية الطاقة Chemotrophs .
- وبعضها يمكنه أن يستخدم الضوء كمصدر للطاقة ويسمى بكائنات ضوئية الطاقة Phototrophs [جدول ٦ (٢) - ١] .

٢ - تحتاج جميع الكائنات الى **مصدر للإلكترونات** Soure of electrons ، حتى تقوم بايضها الغذائى .

وتختلف البكتريا من حيث مصدر الإلكترونات

- فبعضها يستطيع استخدام المركبات المختزلة غير العضوية كمانحات للإلكترونات ، تسمى كائنات معدنية التغذية Lithotrophs ، وهذه منها مايستخدم الضوء كمصدر للطاقة ، وتسمى كائنات معدنية التغذية ضوئية الطاقة Photolithotrophs .
- وبعضها يستطيع استخدام المركبات العضوية كمانحات للالكترونات وتسمى كائنات عضوية التغذية Organotrophs ، وهذه منها ماهو عضوى التغذية ضوئى الطاقة

Photoorganotrophs ، ومنها ماهو عضوى التغذية كيميائى الطاقة Chemoorganotrophs . [جدول ٦ (٢) - ١] .

٣- تحتاج جميع الكائنات إلى **مصدر كربونى** Carbon source ، لتخليق مكونات الخلية .

- **ومن حيث البكتريا** فبعضها يستطيع استخدام CO_2 الجو أو CO_3 الكربونات ، كمصدر وحيد للكربون ، وتسمى هذه الكائنات بذاتية التغذية Autotrophs .
- والبعض يستطيع استخدام مصادر الكربون العضوية ، وتسمى هذه الكائنات بخليطة التغذية Heterotrophs [جدول ٦ (٢) - ١] .

ويعتبر النشا والسليلوز من مصادر السكريات العديدة الموجودة بالتربة ، والوحدة الأساسية لهذه المركبات هى الجلوكوز ، وهذا يمكن تمثيله بواسطة العديد من الميكروبات .

- وتحتاج البكتريا خليطة التغذية المتطفلة ، التى توجد فى الدم أو الأنسجة ، الى أن تحضن فى جو يحتوى على حوالى ١٠% CO_2 ، لأن هذه البكتريا أثناء حياتها التطفلية ، تأقلمت على الحياة فى وسط به محتوى عالى من CO_2 .

٤- تحتاج جميع الكائنات الى **مصدر نتروجينى** Source of nitrogen ، لبناء مكونات الخلية

ومن حيث البكتريا ، فإن مصادرها النتروجينية متعددة

- فبعضها يستطيع استخدام نتروجين الهواء الجوى .
- وبعضها يستطيع استخدام النتروجين غير العضوى ، مثل أملاح الأمونيا ، والنتريت ، والنترات .
- وبعضها يستطيع استخدام النتروجين العضوى مثل الأحماض الأمينية والببتيدات .

ويوجد معظم النتروجين فى الخلية البكتيرية فى صورة مختزلة ، تعرف بمجموعة الأمين Amino group .

٥ - تحتاج جميع الكائنات الى **الأكسجين والكبريت والفوسفور**

- **ومن حيث الأكسجين** ، فإن البكتريا تستمده من مصادر متعددة ، منها الهواء الجوى ، والماء ، وكذلك من مكونات مواد البيئة الغذائية .
وفى التنفس الهوائى ، فإن الاكسجين يعمل كمستقبل نهائى للالكترونات ، حيث يختزل الاكسجين إلى ماء (راجع تأثير العوامل الطبيعية والبيئية - الأكسجين بالباب الرابع ، الفصل الثانى) .
- **ومن حيث الكبريت** ، فإن البكتريا تستمده من مواد كبريتية عضوية مثل السستئين ، أو من مواد كبريتية غير عضوية مثل الكبريتات ، أو من عنصر الكبريت ، أو كبريتيد الايدروجين .

وتحتاج البكتريا الى الكبريت لتخليق الأحماض الأمينية الكبريتية ، مثل السستين والسستئين والمثيونين .

ويوجد معظم الكبريت بالخلية البكتيرية في صورة مختزلة ، تعرف بمجموعة السلفيدريل Sulfhydryl .

- **ومن حيث الفوسفور** ، فإن البكتريا غالبا ماتأخذه في صورة فوسفات .

والفوسفور مكون أساسى فى الخلية ، حيث يدخل فى تكوين النيوكليوتيدات والأحماض النووية والفوسفوليبيدات وحامض التيكوييك Teichoic ، ومواد أخرى .

٦ - تحتاج جميع الكائنات إلى **أيونات المعادن** لاستكمال نموها .

من هذه المعادن ، مثل K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} & Fe^{2+} ، مايستخدم بكميات كبيرة نسبيا لتغطية احتياجات النمو ،

ومنها مثل $B^{3+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Mo^{6+}, Ni^{2+}$ & Zn^{2+} مايستخدم بكميات قليلة كقرائن انزيمية ، وتسمى عناصر نادرة Trace elements أو مواد مشجعة للنمو .

ومعظم العناصر النادرة توجد كشوائب فى أملاح العناصر الكبرى ، وتصل الى البيئة الغذائية من الأوعية الزجاجية وحبيبات التربة .

ولاتحتاج أغلب أنواع البكتريا الى أيون الصوديوم Na^+ ، ولكن بعض أنواع السيانوبكتريا والبكتريا البحرية تحتاج إلى وجود الصوديوم ، كما أن البكتريا المحبة للملوحة المرتفعة ، لاتنمو فى وسط تقل به نسبة كلوريد الصوديوم عن ١٥% ، حيث يعمل الصوديوم على المحافظة على تكامل الخلية ، وعلى ثباتها ، والمحافظة على أنشطة إنزيماتها .

٧ - تحتاج جميع الكائنات إلى **الفيتامينات** والمركبات الشبيهة بالفيتامينات Vitamin-like compounds ، وتعمل هذه المواد كمرافقات إنزيمية .

تستطيع بعض أنواع البكتريا تخليق ماتحتاجه من فيتامينات ، والكن البعض الآخر لايستطيع ذلك ، ولذلك يجب أن تزود البيئة النامي بها الميكروب ، بما يحتاجه من فيتامينات حتى لايتوقف عن النمو [جدول ٦ (٢) - ٢] .

كما أن بعض أنواع البكتريا مثل اللاكتوباسلس تحتاج الى توفر فيتامينات معينة فى بيئة نموها ، وتسمى مثل هذه الأنواع بكائنات دقيقة Fastidious organisms .

٨- **تحتاج جميع الكائنات إلى الماء**

وفى حالة البكتريا فان وجود الماء فى وسط النمو يعتبر ضروريا ، حيث يعمل الماء على إذابة مواد الغذاء ، لتصبح فى صورة محاليل مائية ، تستطيع أن تمر من غشاء الخلية بالانتشار الغشائى الى داخل الخلية ، كما يقوم الماء بحمل المواد التالفة من داخل الخلية الى خارجها ، ويعمل الماء على المحافظة على رطوبة البروتوبلازم ، موفرا بذلك وسطا

مناسبا بالخلية تتم به تفاعلات الأيض المختلفة ، كما أن الماء عنصر تفاعل ضرورى فى تفاعلات التحلل المائى التى تتم بالخلية .

إضافة الى ذلك ، فإن الحرارة النوعية المرتفعة للماء ، تحمى الخلية البكتيرية من الضرر الذى قد يصبها ، من التغيرات الفجائية التى تحدث فى حرارة الوسط المحيط بها .

جدول ٦ (٢) – ٢ : فيتامينات تحتاجها بعض أنواع البكتريا .

نوع الفيتامين	البكتريا المحتاجه للفيتامين
ثيامين (ب١)	*Bacillus anthracis* .....
رايبوفلافين (ب٢)	*Clostridium tetani* .....
نياسين	*Brucella abortus* .....
بيريدوكسين (ب٦)	*Lactobacillus* spp. .....
بيوتين	*Leuconostoc mesenteroides* ...
حامض بانتوثنيك	*Morganella morganii* .....
حامض فوليك	*Leuconostoc dextranicum* .....
كوبالامين (ب١٢)	*Lactobacillus* sp. .....
فيتامين K	*Bacteroides melaninogenicus*

الأنماط الغذائية للبكتريا : Nutritional types of bacteria

لاحظنا مما سبق أن الأنواع البكتيرية تختلف فيما بينها ، من حيث مصادر طاقتها ومصادر إحتياجاتها الغذائية المختلفة ، مما يجعل لكل مجموعة بكتيرية نمطا غذائيا معينا تسلكه فى معيشتها ، وعلى أساس مصدر الطاقة ، ومصدر الكربون ، والمواد المانحة للايدروجين ، فإنه يمكن أن نوجز الأنماط الغذائية للأنواع البكتيرية فيما يلى

أولاً : بكتريا ضوئية الطاقة : Phototrophs

تحصل هذه البكتريا على طاقتها من الضوء

* من هذه البكتريا ، أنواع تستخدم المركبات المختزلة غير العضوية كمصدر للالكترونات ، وتسمى بكائنات معدنية التغذية ضوئية الطاقة **Photolithotrophs** ، مثالا على ذلك ، بكتريا *Chromatium okenii* ، التى تستخدم H_2S كمانح للالكترونات ، مؤكسدة اياه إلى عنصر الكبريت[أنظر جدول ٦ (٢) – ١] .

$$H_2S \longrightarrow S + 2H^+ + 2e^-$$

ومن البكتريا الضوئية مايستطيع استخدام المركبات العضوية مثل الأحماض الدهنية والكحولات كمصدر للالكترونات ، وتسمى بكائنات عضوية التغذية ضوئية الطاقة **Photoorganotrophs** ، مثالا على ذلك بكتريا *Rhodospirillum rubrum* ، التى تستخدم السكسينات كمانح للالكترونات

$$\textbf{Succinate} \longrightarrow \textbf{Fumarate} + 2H^+ + 2e^-$$

- بعض أنواع البكتريا ، مثل البكتريا السابقة *Rhodospirillum rubrum* ، تستطيع أن تكون إختيارية من حيث مصدر طاقتها .

ففى غياب الأكسجين ، أى تحت الظروف اللاهوائية ، فإنها تعتمد على الضوء كمصدر لطاقتها ، وتصبح عضوية التغذية ضوئية الطاقة **Photoorganotrophs** ، بينما فى وجود الأكسجين ، أى تحت الظروف الهوائية ، فإنها تستطيع أن تنمو فى الظلام وتعتمد على المواد الكيميائية كمصدر لطاقتها ، وتصبح عضوية التغذية كيميائية الطاقة **Chemoorganotroph** [أنظر جدول ٦ (١) – ١] .

ويلاحظ أن البكتريا الضوئية تضم مجموعتين كبيرتين

أ – مجموعة البكتريا اللاهوائية غير المنتجة للأكسجين **Anaerobic anoxygenic phototrophs** .

وهذه البكتريا الممثلة للضوء ، لاتنتج أكسجينا أثناء تمثيلها الضوئى ، ومثلها البكتريا الأرجوانية ، وبكتريا الكبريت الخضراء .

ب – مجموعة البكتريا الهوائية المنتجة للأكسجين **Aerobic oxygenic bacteria** ، وهذه البكتريا الممثلة للضوء ، تنتج أكسجينا مثل النباتات ، أثناء تمثيلها الضوئى ، ومثلها السيانوبكتريا .

ثانيا : بكتريا كيميائية الطاقة : Chemotrophs

تكتسب هذه البكتريا طاقتها عن طريق تفاعلات الأكسدة والاختزال للمواد الغذائية ، بصرف النظر عن وسيلة الحصول على الطاقة سواء من التنفس أو من التخمر .

- من البكتريا كيميائية الطاقة مايستخدم المركبات غير العضوية كمصدر للالكترونات ، وتمتاز هذه البكتريا بقابليتها لاستخدام مانحات الالكترونات ومانحات الايدروجين غير العضوى مثل NH_4^+, H_2, H_2S, S, , Fe^{2+} ، وتسمى هذه البكتريا بكائنات معدنية التغذية كيميائية الطاقة **Chemolithotrophs** ، مثالا على ذلك بكتريا *Nitrosomonas* التى تستخدم الأمونيا كمصدر للإلكترونات ، وتحصل على طاقتها من أكسدة الأمونيا إلى نتريت

$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + \text{energy}$$

وبكتريا *Nitrobacter* التى تؤكسد النتريت إلى نترات وبذلك تحصل على طاقتها

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2\,HNO_3 + \text{energy}$$

- ومن البكتريا كيميائية الطاقة ، مايستطيع استخدام المواد العضوية كالسكريات والأحماض الأمينية كمانحات للالكترونات ، وتمتاز هذه البكتريا بقابليتها لاستخدام مانحات الايدروجين العضوية ، وتسمى بكائنات عضوية التغذية كيميائية الطاقة **Chemoorganotrophs** ، وأغلب أنواع البكتريا تتبع هذه المجموعة .
- ومن البكتريا كيميائية الطاقة ، مايستطيع استخدام مادة عضوية كالجلوكوز ، أو مادة غير عضوية كالايدروجين كمصدر للإلكترونات ، والمثال على ذلك بكتريا *Pseudomonas pseudoflava* ، وهى بكتريا متنوعة التغذية ، حيث تستطيع أن تقوم بأى من التفاعلين الآتيين ، حسب ظروف نموها

1) $C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O \longrightarrow 6\ CO_2 + 24\ H^+ + 24e^-$

2) $H_2 \longrightarrow 2\ H^+ + 2e^-$

ثالثاً : البكتريا ذاتية التغذية وخليطة التغذية : Autotrophs and Heterotrophs

تشير مصطلحات ذاتية التغذية Autotrophs ، وخليطة التغذية Heterotrophs إلى مصدر الكربون اللازم لبناء الخلية البكتيرية .

فتعتبر البكتريا ذاتية التغذية ، عندما يكون مصدر كربونها الوحيد هو CO_2 الجو ، حيث تحصل على مايلزم لبناء كربونها الخلوى من تمثيل ثانى أكسيد الكربون الجوى .

مثالاً على البكتريا ذاتية التغذية ، بكتريا *Nitrosomonas* ، فهذه البكتريا كما ذكر سابقا ، بكتريا معدنية التغذية كيميائية الطاقة Chemolithotrophs ، تحصل على طاقتها من أكسدة الأمونيا إلى نتريت ، وتستفيد من الطاقة الناتجة ، فى تمثيل ثانى أكسيد كربون الهواء الجوى وتثبيته CO_2-fixation لبناء مكوناتها الخلوية .

$$CO_2 + 4\ e^- + 4H^+ \longrightarrow (HCHO) + H_2O$$

ويمثل الرمز **(HCHO)** ، المواد الكربوهيدراتية المتكونة بالخلية .

وتعتبر البكتريا خليطة التغذية ، إذا ماحصلت على مايلزم لبناء كربونها الخلوى عن طريق تمثيل المركبات العضوية ، ويتبع البكتريا خليطة التغذية ، أغلب أنواع البكتريا ، وهى تعتبر عضوية التغذية كيميائية الطاقة Chemoorganotrophs .

البكتريا متنوعة التغذية : Mixotrophs

بعض أنواع البكتريا معدنية التغذية كيميائية الطاقة ، تجمع فى صفاتها مابين ذاتية التغذية وخليطة التغذية ، وتسمى بكتريا متنوعة التغذية Mixotrophs ، فهى تعتبر ذاتية

التغذية من حيث حصولها على الطاقة باستخدام المركبات غير العضوية كمانحات للإلكترونات، وتعتبر خليطة التغذية من حيث حصولها على مايلزم لها من كربون من مركبات عضوية .

من الأمثلة على ذلك بكتريا *Desulfovibrio desulfuricans* ، التى تحصل على الالكترونات من H_2 ، وتحصل على الكربون من المركبات العضوية الموجودة بالبيئة .

ومن الأمثلة الأخرى بكتريا *Pseudomonas pseudoflava* ، فهى تعتبر متنوعة التغذية من حيث مصدر الكربون ، إذ تعتبر ذاتية التغذية عندما تحصل على الكربون من CO_2 الجو عند توفر مانح للالكترونات غير عضوى مثل H_2 ، وتعتبر تلك البكتريا خليطة التغذية عندما تستخدم الجلوكوز كمصدر للكربون والالكترونات .

رابعاً : البكتريا المتطفلة إجبارياً : Strict parasites

يمثل التطفل نمط غذائى لبعض أنواع الكائنات ومنها البكتريا . وهذه الأنواع البكتيرية لم يمكن تنميتها فى البيئات الصناعية ، لأن إحتياجاتها الغذائية والبيئية غير محددة تماما حتى الان ، ولذلك فإن هذه الأنواع البكتيرية لاتنمو إلا فى خلايا وأنسجة العائل الحى ، وتسمى إجبارية التطفل .

وأمثلة لهذا النمط الغذائى بكتريا الجذام *Mycobacterium leprae* ، التى لاتنمو إلا إذا زرعت فى خلايا فار Mouse ، وكذلك بكتريا الكلاميديا والريكتسيا التى لاتنمو إلا إذا زرعت فى بيضة ، نامى بها جنين كتكوت .

ومن البكتريا المتطفلة على بكتريا أخرى ، البكتريا الواوية *Bdellovibrio bacteriovorus* ، التى تتطفل على خلايا البكتريا الأخرى ، الأكبر حجما السالبة لصبغة جرام ، مثل *E. coli, Proteus & Rhizobium* .

البيئات المزرعية : Culture media

البيئات المزرعية ، عبارة عن تحضير غذائى ، قد يكون صلبا أو نصف صلب أو سائلا ، تستعمل لزراعة الميكروبات وفحصها ، فالبيئة الغذائية Medium (وجمعها Media) ؛ وسط يتم إعداده معمليا ، لتوفير ظروف طبيعية وكيميائية مناسبة بقدر الإمكان لتنمية الميكروبات .

وباستثناء بعض الدراسات الإيكولوجية ، التى يتم فيها دراسة البكتريا فى مواقعها الطبيعية ، فإن البكتريا عادة ماتزرع وتفحص تحت الظروف المعملية ، باستخدام البيئات المناسبة . ونظرا لأن الإحتياجات الغذائية للبكتريا متباينة ، فإن التركيب الكيميائى للبيئات المستعملة معمليا ، يكون أيضا متبايناً ، ويختلف كثيرا من مجموعة بكتيرية لأخرى .

وبالإضافة الى ذلك ، فإن العوامل الفيزيائية المناسبة للنمو ، مثل الحرارة ، وتركيز أيون الايدروجين ، والوسط الغازى ... الخ ، تختلف بإختلاف الأنواع البكتيرية ، لذلك فإن الزراعة الناجحة للبكتريا ، تتطلب الإحاطة الواعية بكل تلك العوامل .

المكونات الشائعة الإستخدام فى عمل البيئة

الماء

تحتاج جميع الكائنات الحية إلى الماء ، وفى حالة البكتريا كما ذكر سابقاً ، فإن جميع العناصر الغذائية بالبيئة ، يجب أن تكون فى محاليل مائية قبل دخولها إلى الخلية ، فالبكتريا تتغذى بالإنتشار الغذائى ، والماء ضرورى ليذيب المواد الغذائية اللازمة للخلية ، وليحمل المواد التالفة خارج الخلية ، والماء ضرورى أيضا للمحافظة على رطوبة البروتوبلازم ليوفر وسطا مناسبا لتفاعلات الايض الغذائى المختلفة بالخلية ، كما يعتبر الماء مادة تفاعل مطلوبة فى تفاعلات التحلل المائى بالخلية .

الببتون : Peptone

الببتون ، ناتج وسطى من نواتج التحلل المائى للمواد البروتينية (كاللحم والكازين) ، بواسطة الانزيمات أو الأحماض . وباستمرار عملية التحلل المائى ، فإن جزىء البروتين الكبير يتجزأ تدريجيا الى وحدات أصغر فأصغر ، هى بالترتيب : بروتيوز ، ببتون ، ببتيدات وأخيرا أحماض أمينية .

ويحتوى الببتون التجارى المستعمل فى الأعمال الميكروبيولوجية ، على خليط من النواتج الوسطية لتحلل البروتينات ، والتى تختلف فى نسبتها بإختلاف نوع البروتين المستعمل ، وطريقة الهضم .

وتعود أهمية الببتون الأساسية فى البيئة ، إلى كونه مصدراً للنتروجين العضوى ، وقد يحتوى أيضا على بعض الفيتامينات والكربوهيدرات وذلك حسب نوع البروتين المهضوم ، كما أنه يعتبر عاملا منظما للحموضة بالبيئة ، بسبب خواصه الأمفوتيرية .

مستخلص اللحم : Meat extract

مستخلص اللحم ، عبارة عن مستخلص مائى ، مركز فى شكل عجينة ، لأنسجة اللحم البقرى الأحمر . يحتوى المستخلص على المواد القابلة للذوبان فى الماء الموجودة فى أنسجة الحيوان ، ويشمل ذلك مركبات النتروجين العضوى ، والكربوهيدرات ، والأحماض العضوية والفيتامينات ، والأملاح المعدنية . ولذلك فإنه يعتبر مصدرا غذائيا هاما فى البيئة ، للبكتريا غير ذاتية التغذية .

مستخلص الخميرة : Yeast extract

مستخلص الخميرة ، عبارة عن مستخلص مائى لخلايا الخميرة ، ويوجد تجاريا فى شكل مسحوق . وهو يعتبر مصدرا غنيا لمجموعة فيتامين ب ، بالإضافة الى أنه يحتوى علىأحماض عضوية ومركبات كربونية .

الجيلاتين : Gelatin

الجيلاتين ، مادة بروتينية ، يحضر بالتحلل المائى لمادة الكولاجين Collagen بواسطة الماء المغلى . ويوجد الجيلاتين فى الحالة السائلة عند درجة أعلى من ٢٥°م ، ويتصلب عند درجة حرارة أقل من ذلك .
يهاجم الجيلاتين بواسطة ميكروبات عديدة ، لذلك فإنه لايستعمل بالبيئة كعامل تصليب ، ولكن يستعمل لاختبار قدرة بعض البكتريا على تحلله (إسالته) ، ويضاف الجيلاتين للبيئة بتركيز ١٢-١٥% .

الآجار : Agar

يستخلص الآجار تجاريا من بعض أنواع الطحالب البحرية الحمراء ، مثل تلك التابعة لجنس *Gelidium* ، وتوجد هذه الطحالب بكثرة على سواحل الصين واليابان وكاليفورنيا .
والآجار عبارة عن مادة عضوية معقدة ، هى خليط من الآجاروز Agarose والاجاروبكتين Agaropectin .
ويتكون الآجاروز من وحدات من 3-6 anhydrogalactose & D-galactose ، مرتبطة مع بعضها فى سلاسل طولية ، بروابط متبادلة من النوع بيتا ١-٣ ، وبيتا ١-٤ .
ويتكون الآجاروبكتين من الوحدات السابقة ، مكونة لروابط استر مع حامض الكبريتيك وأحماض اليورونيك .
ويمتاز الآجار بانه يسيل عند درجة ٨٠ - ١٠٠°م ، ويتصلب بالتبريد عند حوالى ٤٢°م ، ولايتعرض للتحلل من أغلب أنواع البكتريا ، ولذلك فإنه يضاف إلى البيئة البكتيرية ليس كمصدر غذائى ، بل كعامل تصليب Solidifying agent ، لتنمية وعزل أنواع البكتريا خليطة التغذية ، حيث يضاف للبيئة بتركيز ١,٥ - ٢% .

قليل من الأنواع البكتيرية قادرة على تحليل الآجار ، وقدعزلت تلك الأنواع من مياه البحار والأعشاب البحرية ، ووجد أنها تتبع الأجناس :
Alcaligenes, Bacillus, Cytophaga, Flavobacterium and *Pseudomonas*

الجل رايت : Gelrite

الجيل رايت بوليمر عديد التسكر ، يتركب من سكريات متعادلة من الجلوكوز والجلاكتوز بنسبة مولارية ١:٧ ، ويحتوى أيضا على ٢-٣,٥% مجاميع أسايل (مجاميع اسيتايل أو سكسينايل أو مخلوط منهما) ، و ٣-٤% بيروفات ، وينتج الجيل رايت تخميريا بواسطة بكتريا *Agrobacterium radiobacter* ، كما تقوم بإنتاجه بعض الأنواع التابعة لأجناس *Alcaligenes, Arthrobacter & Bacillus* .

ويستخدم حاليا ، الجل رايت كمادة مصلبة ، وذلك كبديل لمادة الأجار التى تستخدم فى المنابت الميكروبية ، وبتركيز يعادل نصف الكمية المستخدمة من الأجار ، كما يستخدم الجل رايت فى مزارع الأنسجة النباتية ، وفى عمليات التصنيع الغذائى ، وفى تحميل الانزيمات .

ويتميز الجل رايت عن الأجار ، فى أنه سريع التصلب ، منخفض التكلفة ، ويستخدم بتركيزات منخفضة ، وهو غير سام ، ولايسبب تعكيرا بالبيئة .

وينتج الجل رايت تخميريا باستخدام طريقة المزارع المغمورة ، تحت ظروف هوائية ، فى بيئة تحتوى على الجلوكوز كمصدر للكربون ، ونترات الأمونيوم وبروتين فول الصويا ، كمصدر للنتروجين ، كما تحتوى البيئة على الفوسفات وبعض المعادن كالحديد والمغنسيوم والمنجنيز ، وتقوم البكتريا المستخدمة ، بتحويل ٥٠% من كربون الجلوكوز ، الى البوليمر خلال ٦٠-٧٠ ساعة ، حيث تصل لزوجة سائل التخمر الى ١٩٠٠ - ٢٣٠٠ وحدة لزوجة Centipoise* .

ويتم فصل الجل رايت من البيئة بعد إضافة الايزوبروبانول ، فى صورة رواسب ليفية Fibrous precipitate .

المواد المنظمة للحموضة : Buffers

المواد المنظمة للحموضة ، هى أملاح لأحماض ضعيفة ، لها القدرة على مقاومة التغير الذى يحدث فى حموضة أو قلوية البيئة . ومن الأملاح الهامة التى تضاف عادة للبيئة ، كمواد منظمة ، أملاح الفوسفات** والكربونات ، كما أن بعض مكونات البيئة ، مثل البيتون ، يكون لها قدرة تنظيمية ، ويتوقف مدى تلك القدرة ، على كمية البيتون المضاف للبيئة .

للمواد المنظمة أهمية كبيرة فى البيئات الكربوهيدراتية ، التى عند تخمرها تكون أحماضا ، وبتراكم تلك الأحماض بالبيئة ، يقف نمو البكتريا ، وفى مثل هذه البيئات ، فإن وجود المواد المنظمة (مثل أملاح الكربونات) التى تقاوم تغير الحموضة الناتجة من التخمر ، يجعل البكتريا قادرة على الاستمرار فى النمو .

---

* السنتى بواز يساوى ١/١٠٠ من البواز

والبواز Poise هو وحدة تقدير للزوجة (خاصية مقاومة السائل للانسياب) ، أى أنه عبارة عن القوة المحركة لواحد جرام مادة لمسافة ١ سم فى الثانية ، ويلسب اسم البواز إلى العالم الفرنسى Poiselle .

Ref: **Botty J. and S. L. Folkman (1999). Food Engineering Fundamentals.** pp. 143 & 144. John Wiley and Sons Inc., New York.

** يكوّن حامض الفوسفوريك ثلاثة أنواع من أملاح الفوسفات

- فوسفات قلوى ، رمزه PO_4^{3-} -
- فوسفات متعادل ، HPO_4^{2-} - ، فوسفات أحادى الايدروجين
- فوسفات حامضى ، $H_2PO_4^{1-}$ - ، فوسفات ثنائى الايدروجين

أنواع البيئات : Types of media

يُستعمل فى أعمال البكتريولوجى أنواع كثيرة من البيئات ، تختلف فى شكلها وفى تركيبها حسب الإحتياجات الخاصة بالبكتريا موضع الدراسة ، على سبيل المثال ، فالبكتريا ذاتية التغذية (الأوتوتروفية) ، لاتستطيع أن تستخدم المواد العضوية ، ولكنها تحتاج لوجود أملاح غير عضوية بالبيئة ، بينما تتطلب البكتريا خليطة التغذية (الهتروتروفية) ، وجود مواد عضوية مثل السكريات والببتون والأحماض الأمينية والفيتامينات ، وقد يتطلب الأمر فى حالة البكتريا المتطفلة (مثل بكتريا الجذام) ، إلى زراعتها فى نسيج حى (الفأر) .

البيئات من حيث الشكل

تقسم البيئات من حيث الشكل إلى بيئات سائلة Liquid ، ونصف صلبة Semi solid، وصلبة Solid ، ويعتبر استخدام البيئات السائلة (مرق أو بويون Broth) ، الموزعة بأنابيب الاختبار ، من الطرق السهلة لزراعة وتداول البكتريا ، غير أن استخدام البيئات الصلبة ونصف الصلبة ، هو الأكثر شيوعا لزراعة البكتريا ، ويتم ذلك بإضافة مادة تصلب القوام إلى البيئة السائلة ، فتتصلب البيئة عندما تبرد . ويستعمل لهذا الغرض الأجار بتركيز ١,٥ - ٢,٠% ، وذلك لتنمية البكتريا الهتروتروفية ، بينما تستعمل مادة السليكا جل Silica gel ، وهى مادة مصلبة غير عضوية ، لتنمية البكتريا الأوتوتروفية ، التى تتطلب خلو بيئتها من المواد العضوية .

عموما ، فإن البيئات الصلبة تفيد فى عزل البكتريا ، وفى دراسة خواص المستعمرات النامية عليها .

ومن المواد التى كانت تستخدم فى تصليب البيئة ، مادة الجيلاتين بتركيز ١٢-١٥% ، وقد قل إستخدام الجيلاتين الآن كعامل تصليب ، نظرا لتحوله إلى الصورة السائلة عند درجات حرارة أعلى من ٢٥°م ، ولتأثير بعض الميكروبات عليه وتحويله إلى الحالة السائلة ، وإن كان مازال الجيلاتين يستخدم لإختبار قدرة بعض الميكروبات على تحلله .

ومن أوائل البيئات السائلة المستخدمة ، بيئة المرق المغذى Nutrient broth ، التى تتكون من ٣ جم مستخلص لحم ، ٥ جم ببتون ، ١٠٠٠ مل ماء ودرجة ق يد ٧,٢ . ومن أمثلة البيئات الصلبة بيئة الاجار المغذى Nutrient agar ، حيث يضاف الى مكونات البيئة السابقة ١,٥% اجار .

تحضر البيئات نصف الصلبة ، باستعمال الأجار بنسبة ٠,٥% (أو أقل) ، ويكون قوامها شبيه بالكسترد Custard-like ، وتستعمل هذه البيئات فى زراعة البكتريا المحبة للهواء بكمية قليلة ، أو للكشف عن حركة البكتريا .

وحاليا ، تقوم الشركات المتخصصة ، بإعداد البيئات اللازمة للمعامل الميكروبيولوجية مجففة Dehydrated media ، وتباع فى صورة مسحوق ، وتحتوى البيئة المجففة على جميع المكونات المطلوبة . وقبل استعمال البيئة المجففة ، تذاب محتوياتها فى كمية الماء المطلوبة ، ثم تعقم .

البيئات من حيث التركيب

تقسم البيئات حسب طبيعة المكونات الداخلة فى التركيب إلى مجموعتين : بيئات محددة (معروفة) التركيب Defined ، وبيئات غير محددة التركيب Non-defined .

البيئات المحددة التركيب ، تحتوى على المواد اللازمة للنمو ، فى صورة كيميائيات نقية تقريبا وبتركيزات معروفة ، وتصلح هذه البيئات لتنمية البكتريا ذاتية التغذية ، ولتحديد الاحتياجات الغذائية للبكتريا خليطة التغذية .

أما البيئات غير المحددة التركيب ، وقد تسمى ببيئات معقدة Complex media ، فهى التى تحتوى على مايلزم لنمو الميكروبات من مواد بشكلها الخام Crude form ، بمعنى أن جميع مكونات البيئة غير معروف دقائق تركيبها بالضبط ، مثل الببتون ، ومستخلص اللحم ، ومستخلص الخميرة ، والدم ، وسيرم الدم . وتصلح هذه البيئات لزراعة أنواع عديدة من البكتريا خليطة التغذية .

من البيئات المعقدة المستخدمة فى التخمرات الصناعية ، ماتحتوى على المولاس ، مستخلص المولت ، سائل منقوع الذرة ، مستخلص فول الصويا ، والشرش ... الخ ، كما أن هناك من الأحياء الدقيقة مثل الفطريات المحبة للروث Coprophilic fungi ، مايحتاج فى بيئتة الى تواجد مستخلص منقوع روث الخيول .

جدولى [٦ (٢) – ٣ و ٤] يوضحان تركيب بيئة غذائية ، صناعية محددة التركيب ، تستخدم لتنمية العديد من البكتريا .

جدول ٦ (٢) – ٣ : مكونات بيئة غذائية بكتيرية محددة التركيب .

K_2HPO_4	0.5 g
NH_4Cl	1.0 g
$MgSO_4, 7H_2O$	0.2 g
$FeSO_4\ 7H_2O$	0.01 g
$CaCl_2.\ 2H_2O$	.0.01 g
Glucose	10.0 g
Water	1000 ml
* Trace element stock solution	1 ml

• أنظر جدول ٦ (٢) – ٤ (مكونات العناصر المعدنية النادرة)

جدول ٦ (٢) – ٤ : مكونات العناصر المعدنية النادرة [١] .

$ZnCl_2$	70 mg
$MnCl_2 .4H_2O$	100 mg
$CoCl_2 .6H_2O$	200 mg
$NiCl_2 .6H_2O$	100 mg
$CuCl_2 .2H_2O$	20 mg
$Na\ M_oO_4 .2HO$	50 mg
$Na_2SeO_3 . 5H_2O$	26 mg
$[Na\ VO_3 . H_2O]$ [٢]	[10 mg] [٢]
$[Na_2, WO_4 . 2H_2O]$ [٢]	[30 mg] [٢]
HCl (25%)	1.0 m:
Distilled water	1000 ml

(1) From : Schlegel, 1995.

(٢) مطلوبة لعدد محدود من الكائنات

Se : Selenium, V : Vanadium W : Tungsten

البيئات من حيث غرض الاستعمال

تقسم البيئات حسب الغرض من الاستعمال الى

بيئات العد : Media for inumeration

تستعمل أنواعا معينة من البيئات ، لتقدير المحتوى البكتيرى الموجود فى مادة ما ، مثل الماء ، أو اللبن ، أو التربة . وتركيب هذه البيئات ، يجب أن يكون مناسبا للغرض المطلوب .

بيئات انتقائية : Selective media

يتوفر بهذه البيئات العناصر الغذائية اللازمة والوسط المناسب ، الذى يسمح بنمو وسيادة نوع معين من البكتريا على الأنواع الأخرى الموجودة بالوسط ، وكأمثلة لذلك

- استعمال بيئة مصدر الكربون الوحيد بها هو السليلوز ، يعتبر بيئة انتقائية وإكثار للكائنات المحللة للسليلوز ، وذلك عند تلقيح البيئة بعينة تربة تحتوى على أنواع مختلفة من الميكروبات .
- عزل بكتريا مرض السيلان ، من عينة مأخوذة من مريض ، يتم بسهولة باستعمال بيئة تحتوى على مضادات حيوية معينة ، لاتؤثر فى بكتريا السيلان ، ولكن توقف نمو الكائنات الأخرى الملوثة .

إن نجاح النمو البكتيرى فى بيئات الانتقاء والاكثار ، يعتمد فى حالات كثيرة على ماتحتويه تلك البيئات من مثبطات انتقائية Selective inhibitors ، كاستخدام الأزيد Azide كمثبط إنتقائى ضد البكتريا الهوائية التى تحتوى على سيتوكروم ، حيث يسمح الأزيد المضاف للبيئة بنمو بكتريا حامض اللاكتيك تحت ظروف هوائية ، مع تثبيط نمو البكتريا الهوائية الأخرى وذلك لتثبيط الأزيد للسيتوكروم اللازم لاتمام عملية التنفس بها . كما يضاف البنسلين إلى بيئة الإكثار ، لتثبيط نمو البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، ويتوقف نمو الخمائر والفطريات والبروتوزوا وحقيقيات النواة الأخرى ، فى البيئة المضاف لها مادة السيكلوهكسيميد Cycloheximide.

بيئات الإكثار : Enrichment media

يعتبر استخدام طريقة بيئات الإكثار ، من الطرق الفعالة التى تستخدم لتشجيع نمو النوع البكتيرى المطلوب ، بحيث يتغلب فى نموه على نمو أنواع البكتريا الأخرى المخالطه له ، وبذلك يسود النوع البكتيرى المطلوب فى المزرعة ، ويمكن بذلك عزله ودراسة خواصه .

ويتم ذلك ، بأن نوفر فى مزرعة الإكثار Enrichment culture ، العوامل المناسبة من مكونات غذائية وظروف بيئية ، التى تعمل على تكاثر وسيادة النوع البكتيرى المطلوب ، ومن تلك العوامل التى تراعى عند تجهيز بيئة الإكثار : مصدر الطاقة ، طبيعة ومصدر الكربون والنتروجين ، الوسط الغازى ، ق يد ، درجة الحرارة ، الإضاءة ... الخ .

مثالاً على ذلك

* استخدام بيئة معدنية سائلة ، خالية من النتروجين ، مع مصدر ضوئى كمصدر للطاقة ، وتحت ظروف هوائية ، لإكثار وعزل السيانوبكتريا .
* استخدام بيئة سائلة ، خالية من النتروجين ، ذات مصدر كربون وطاقة عضوى ، وتحت ظروف هوائية ، وفى الظلام ، لإكثار وعزل الأزوتوباكتر .

وتستخدم تلك الظروف السابقة ، ولكن تحت الظروف اللاهوائية ، لعزل الكلوستريديوم .

ويتوقف نوع الكربون المستخدم فى بيئة الإكثار ، على المكان الذى أخذ منه اللقاح

* فمثلاً يستخدم الهيموجلوبين ، لإكثار سلالات مخلفات المجازر .
* ويستخدم الهيدروكربون ، لإكثار سلالات حقول البترول ومصانع التكرير .

وتستخدم البيئات السائلة عادة ، كبيئات إكثار ، وقد لايمكننا ذلك من الحصول على مزرعة نقية ، من البكتريا الجارى إكثارها ، غير أنه بتكرار نقل البكتريا وزراعتها على نفس بيئة الإكثار المختارة وتحت نفس الظروف البيئية ، فإنه يمكن بعد ذلك ، باستخدام البيئات الصلبة ، عزل السلالة أو النوع البكتيرى المطلوب ، وذلك من مستعمرات منفصلة عن بعضها .

إضافة إلى ماسبق ، فإن بيئة الإكثار قد تستخدم أيضا كبيئة إنتقائية ، لبعض أنواع البكتريا ، مثل بيئة Tetrathionate broth base* المستخدمة لإكثار وعزل السالمونيلا .

بيئات تفريقية : Differential media

بعض المواد اذا أضيفت للبيئة ، تمكننا من أن نفرق بين الأنواع المختلفة من البكتريا الموجودة على نفس البيئة ، مثال ذلك

- عند تلقيح خليط من الميكروبات فى بيئة أجار الدم ، فان بعضها يحلل كرات الدم الحمراء ، والبعض الاخر لايقدر على ذلك . وبذلك نستطيع أن نفرق بين البكتريا المحللة للدم Hemolytic ، وغير المحللة Non-hemolytic على نفس البيئة .
- استعمال بيئة Eosine Methylene blue ، يمكننا من أن نفرق بين البكتريا المحللة والبكتريا غير المحللة لسكر اللاكتوز .

بيئات دراسة مميزات البكتريا : Media for characterization

فى الدراسات الخاصة بتصنيف البكتريا ، فإنه تستعمل بيئات متعددة ، تركيب كل منها يتوقف على الغرض المطلوب ، وذلك لدراسة مميزات البكتريا موضع الدراسة ، وتحديد قدراتها على إحداث تغيرات كيميائية فى الوسط ، وتحديد النوع البكتيرى الناتج من النمو .

بيئات تقدير حيوى : Bioassay media

تستعمل بيئات ذات تركيب محدد لتقدير الفيتامينات ، والأحماض الأمينية ، والمضادات الحيوية ، والمواد القاتلة للميكروبات .

ينمى على البيئة المختارة ، البكتريا الحساسة للمادة الحيوية المراد إختبارها ، أو المادة المطلوب تقدير كميتها ، ومن معدلات النمو البكتيرى الناتجة بعد التحضين ، يمكن معرفة حساسية البكتريا للمضاد المختبر ، أو كمية المادة الحيوية الموجودة بالعينة .

مثالاً على ذلك ، تقدير الثيامين بواسطة بكتريا *Lactobacillus casei* ، وتقدير النياسين بواسطة *L. plantarum* ، وتقدير قوة البنسلين بواسطة *Staphylococcus aureus* .

بيئات الحفظ : Maintenance media

يتطلب حفظ المزرعة البكتيرية بشكل مرضى لمدة طويلة ، الحفاظ على حيوية البكتريا وخواصها الفسيولوجية . وقد يتطلب ذلك استعمال بيئة تختلف عن البيئة المثلى المستعملة للنمو إذ أن النمو السريع قد يكون مصحوبا أيضا بموت سريع فى نهاية طور النمو . على سبيل المثال ، فإن وجود جلوكوز بالبيئة ، سيشجع النمو البكتيرى ، ولكن الأحماض المتكونة ستكون ضارة بالخلايا . لذلك ، فإن استبعاد الجلوكوز فى هذه الحالة من بيئة الحفظ ، أو تقليل كميته ، يكون مفضلاً .

---

* **Difco Manual (1992). Dehydrated Cultures. Media and Reagents. Difco Laboratories**, Detroit, USA.

عموما ، فإن الأساس ، فى عمليات حفظ المزارع المعملية لحين طلبها ، هو الإعتماد على ظاهرة إيقاف النمو الميكروبى ، بمعنى المحافظة على حياة ميكروبات المزرعة بدون نمو أو تكاثر ، وللوصول إلى حالة السكون المطلوبة Dormancy لتلك المزارع ، فإن أغلب طرق الحفظ تعتمد على استعمال التبريد ، أو التجفيف ، أو الأثنين معا (التجفيد) .

المزرعة النقية : Pure culture

لاتحتاج الميكروبات فى نموها إلى مساحات كبيرة ، إذ يمكن أن تتم التنمية فى أنابيب اختبار ، أو دوارق ، أو أطباق بترى ، وهى الأوعية الثلاثة التى تستعمل عادة فى تنمية الميكروبات . ونظرا لصغر حجم الميكروبات ، فإن دراسة خواصها ، فى أغلب الأحوال ، لايتم بفحص أفراد Individuals ، بل بفحص عشيرة (مجموعة من الأفراد Populaltion) ، ويتم ذلك بتنمية الميكروبات فى بيئة مناسبة ، لعمل مزرعة Culture .

وتتواجد الميكروبات فى الطبيعة ، بشكل خليط ، يجمع بين أجناس عديدة مختلفة ، وبأعداد كبيرة . ولدراسة مميزات نوع معين ، ومعرفة نشاطه ، وتعريفه ، فإنه يصبح من الضرورى فصله أولا بحالة نقية من الأنواع الأخرى المصاحبة له . وقد أمكن بتطور الطرق المعملية ، عزل البكتريا التى تمثل كل نوع ، وتنمية كل منها منفصلاً عن الأنواع الأخرى .

تكوّن كتلة الخلايا النامية لنوع واحد من الميكروبات ، فى بيئة مزرعية ، مايعرف بالمزرعة النقية ، بمعنى أن المزرعة النقية Pure culture; Axenic culture ، هى المزرعة التى تحتوى على نوع واحد من الميكروبات ، أو المزرعة الناتجة من خلية واحدة ، أما المزرعة التى تحتوى على أكثر من نوع واحد من الميكروبات ، فتسمى مزرعة خليطة Mixed culture .

يتم الحصول على مزرعة نقية فى خطوتين متتاليتين هما : العزل Isolation ، أى فصل نوع معين من الميكروبات من المجتمع الخليط الذى يعيش فيه فى الطبيعة ، ثم الزراعة Cultivation ، أى تنمية الميكروب المعزول فى بيئة صناعية ، تحت الظروف المعملية . والأسس المتبعة فى تلك الخطوات ، هى نفسها ، المستخدمة للحصول على مزارع نقية ، من جميع الكائنات المجهرية سواء أكانت فيروسات أو بكتريا أو فطريات أو طحالب أو بروتوزوا ، وأيضا بالنسبة للحيوانات اللافقارية الصغيرة . وقد تطورت تلك الطرق فى السنوات الأخيرة ، بعمل المزارع النسيجية (مزارع الانسجة) Tissue cultures ، من خلية أو من نسيج ، ماخوذ من النباتات أو الحيوانات الراقية .

ومن أهم الطرق المستخدمة للحصول على مزارع نقية للبكتريا : طريقة الأطباق المخطوطة Streak-plate method ، وطريقة الأطباق المصبوبة Pour-plate method . والأساس فى هذه الطرق ، هو إجراء تخفيف كبير لخلايا البكتريا الخليطة ، ثم التنمية على بيئات صلبة مناسبة فى أطباق بترى ، فتنمو كل خلية مكانها على الطبق ، فى حالة منفصلة متباعدة عن الأخرى (بسبب عمليات التخفيف التى تمت) ، ويأخذ النمو شكل مستعمرات Colonies منفصلة على البيئة الصلبة (الأجار عادة) ، وبذلك يمكن عزل البكتريا فى أنابيب مستقلة ، تحتوى على البيئة المغذية المناسبة ، وبالتحضين نحصل على المزرعة النقية .

بعض أنواع البكتريا المتحركة مثل *Bacillus, Proteus & Pseudomonas* ، تنتشر بسرعة على سطح البيئة الصلبة الرطبة ، وبذلك لاتكون مستعمرات منفصلة على سطح البيئة ، ويمكن تجنب ذلك باستعمال أطباق ذات أسطح من البيئة جافة تماما .

ومما يساعد أيضا فى الحصول على مزارع نقية ، إضافة المضادات الحيوية للبيئة ، إذ أن المضادات متخصصة فى تأثيرها القاتل للميكروبات . على سبيل المثال ، فإن إضافة البنسلين بتركيزات عالية يمنع نمو البروكاريوتا ، وبذلك يمكن تنقية البروتوزوا والفطريات من البكتريا الملوثة ، كذلك فإن إضافة النستاتين Nystatin للبيئة (وهو مثبط لنمو الأيوكاريوتا) ، سيمكننا من عزل البكتريا الملوّثة بالفطريات والأميبا .

تصلح البيئات الصلبة ، وطريقة الأطباق المخطوطة أو المصبوبة ، للحصول على مزارع نقية من أغلب أنواع البكتريا والفطريات والطحالب وحيدة الخلية ، لأن أغلب أنواع هذه الكائنات يستطيع أن ينمو جيدا على البيئات الصلبة . غير أن بعض أنواع البكتريا ذات الخلايا الكبيرة ، وكثير من الطحالب والبروتوزوا ، تُنمّى فى بيئات سائلة . كما أن الكثير من الفيروسات تعزل فى بيئات سائلة تحتوى على خلايا العائل المناسب لها .

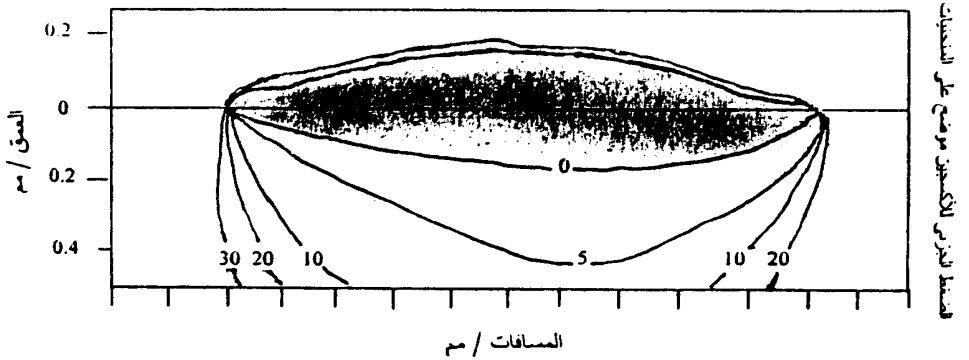
وأبسط الطرق المستعملة للعزل فى البيئات السائلة ، هى طريقة التخفيف Dilution method ، حيث تجرى تخفيفات متسلسلة من اللقاح ، ثم تلقح هذه التخفيفات فى أنابيب البيئة السائلة ، وتحضن ، وتفحص الأنابيب ذات التخفيفات الكبيرة ، للمزارع النقية .

المزارع المهواه : Aerated cultures ، والتهوية Aeration

تحتاج البكتريا الهوائية فى نموها ، إلى وجود الأكسجين بالوسط ، حيث يعمل كمستقبل نهائى للالكترونات مع إختزاله إلى ماء ، فإذا ما جدت البكتريا الهوائية على سطح بيئة صلبة ، أو فى طبقات رقيقة ملامسة للهواء بالمزارع السائلة ، فإن الإمداد الأكسجينى للبكتريا الهوائية يكون كافيا لكى تنمو بدرجة جيدة . ومع نمو هذه البكتريا الهوائية على سطح البيئة السائلة ، واستهلاكها المستمر للأكسجين الذائب الموجود بالبيئة ، تصبح الظروف تحت سطح البيئة السائلة وفى أعماقها ، ظروفا لاهوائية .

ويزداد الانخفاض فى نسبة الأكسجين بالبيئة كلما زاد عمق البيئة ، حيث تصبح الظروف لاهوائية غير مناسبة لنمو البكتريا الهوائية بأعماق البيئة السائلة . ويؤدى إنخفاض نسبة الأكسجين الذائب بأعماق البيئة ، إلى الحد من قدرة البكتريا على استهلاك الأملاح المعدنية والمغذيات الأخرى العضوية الموجودة بالبيئة ، وبالتالى إلى توقف النمو البكتيرى .

وشكل [٦ (٢) - ١] ، يوضح توزيع الأكسجين فى مستعمرة بكتيرية ، نامية على بيئة اجار .



شكل ٦ (٢) - ١ : توزيع الأكسجين تحت وبداخل مستعمرة بكتريا *E. coli* نامية على بيئة أجار معقدة *.

الضغط الجزئى للأكسجين بالمستعمرة ، مقدر بعد ٣ أيام من التحضين على درجة ٣٠°م ، بالكترود أكسجيني دقيق ، ومحسوب كنسبة مئوية من الضغط الأكسجيني المتحصل عليه من بيئة الأجار الموضوعة فى جو مشبع بالهواء .

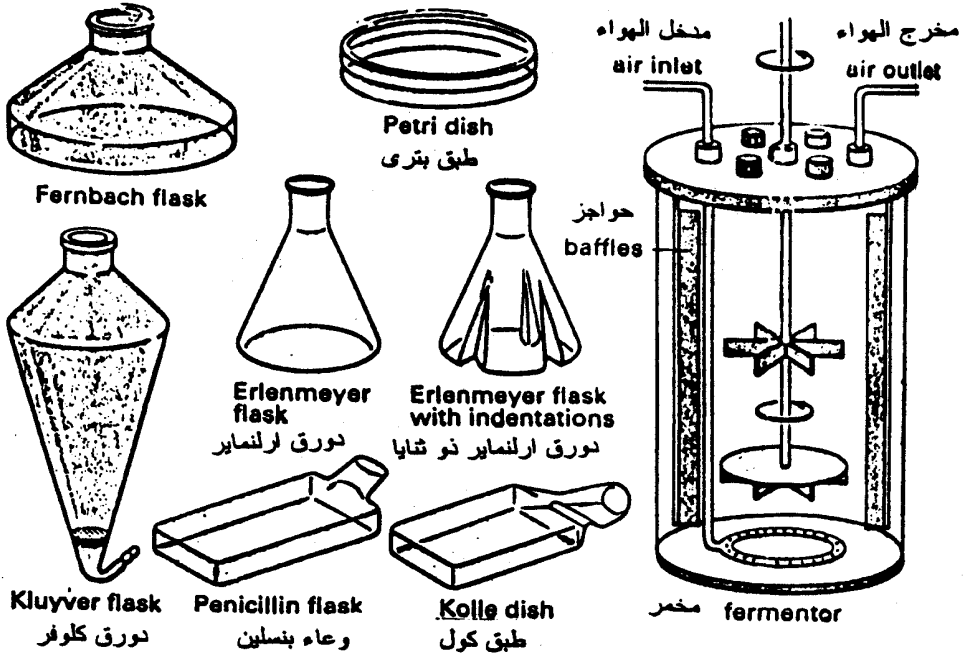
لاحظ أن ضغط الأكسجين الجزئى تحت المستعمرة ، يقل كلما إتجهنا من خارجها أو من أسفلها ، إلى مركزها .

يحتوى لتر الماء* الموجود فى حالة اتزان مع الهواء عند درجة ٢٠°م ، وتحت ظروف الضغط الجوى العادى ، على ٦,٢ ملليلتر أكسجين (تعادل ٠,٢٨ نانومول أكسجين) ، وتكفى هذه الكمية لأكسدة ٠,٠٤٦ نانومول (أى ٨,٣ ملليجرام) جلوكوز ، وهى كمية من الجلوكوز تعادل واحد على ألف من تركيز الجلوكوز الموجود فى البيئة الغذائية ، وللتغلب على نقص الأكسجين بالبيئة السائلة ، بهدف المحافظة على المستوى المناسب من الأكسجين الذائب لتنفس الخلايا البكتيرية ، ومن ثم لتنمية البكتريا الهوائية على إمتداد عمق المزرعة السائلة ، فإنه يلزم توفير إمداد مستمر من الأكسجين للخلايا البكتيرية النامية بالبيئة الغذائية السائلة ، ويتم ذلك عن طريق التهوية Aeration .

ويلاحظ أنه حتى تحت ظروف التهوية الجيدة بالمخمرات ، فإن توزيع الأكسجين بالبيئة السائلة لايكون دائما متماثلاً فى كل أجزاء البيئة ، فقد تتواجد بالبيئة مواقع دقيقة ذات ظروف شبه لاهوائية ، وتنتج هذه المواقع من تكتل المجاميع الميكروبية بوسط النمو ، أو من وجود مواد معلقة دقيقة بالمياه المستخدمة فى عمل البيئة ، وتعالج هذه الحالات بإضافة مواد صلبة مثل الطمى ، السليلوز ، أو البكتين ، الى المعلق البكتيرى بالبيئة .

* From : **Schlegel, 1995.**

ويوضح بشكل [٦ (٢) – ٢] ، بعض الأوعية الزجاجية المستعملة بالمزارع السطحية والمغمورة ، لزيادة سطح البيئة السائلة المعرضة للهواء .



شكل ٦ (٢) – ٢ : أوعية مختلفة تستعمل فى تنمية البكتريا الهوائيـــة بطريقـــة المزرعـــة الســـطحية والمغمورة .

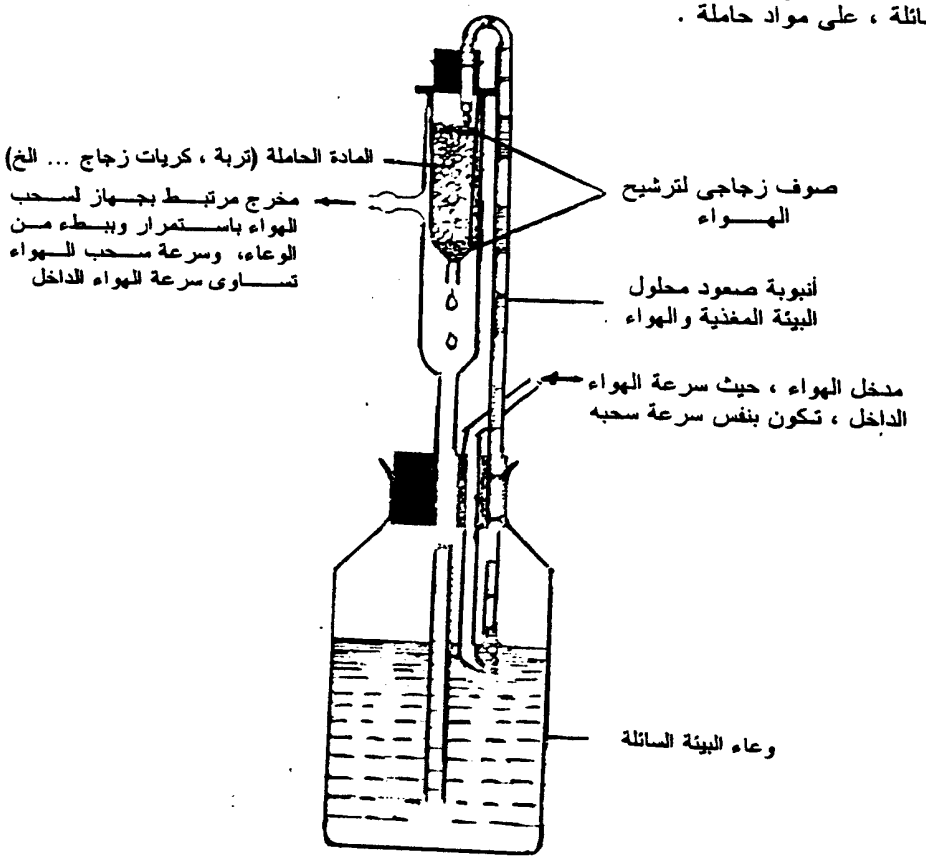
وعادة مايتم تهوية المزارع السائلة باستخدام الهواء ، أو باستخدام مخلوط غازى من الأكســـجين والنتروجين وثانى أكسيد الكربون ، ويمكن زيادة معدل سريان الأكسجين بالبيئة السائلة ، بزيادة الضغط الجزئى للأكسجين وهو فى صورته الغازية Gas phase ، وبزيادة سطح البيئة الســـائلة المعرض للهواء Gas-liquid interphase ، ويتم ذلك بوسائل متعددة منها

- استخدام تقنية مزارع الطبقات الرقيقة Thin-layer cultures .
- الرج باستخدام الهزازات الرحوية Reciprocal shakers أو الدائرية Rotary shakers .
- لف دوارق مزارع البيئة أفقيا حول محورها الطولى .
- دفع الهواء تحت ضغط بالمزرعة ، من خلال موزع غازى مناسب Gas distributor .

- ترشيح الهواء الداخل إلى المزرعة السائلة ، من خلال إمراره على صوف زجاجى وأعمدة بها مواد محببة ككريات الزجاج [شكل ٦ (٢) - ٣] .
- الرج الميكانيكى Mechanical stirring .

وعند تنمية البكتريا الهوائية بطريقة المزارع المغمورة ، فإنه غالبا ماتستخدم طرقا تجمع مابين الرج الميكانيكى وضخ الهواء من خلال رشاشات الهواء Air-spargers .

ويوضح الشكل [٦ (٢) - ٣] ، أحد الأجهزة المستخدمة لامرار الهواء ومغذيات البيئة السائلة ، على مواد حاملة .



شكل ٦ (٢) - ٣ : جهاز لتخلل الهواء والمادة الغذائية بالمادة الحاملة
يخرج الهواء من الجهاز ببطء وبانتظام ، ويحل محله هواء جديد من مدخل خاص بنفس السرعة ، دافعا معه مكونات البيئة الغذائية لأعلى خلال أنبوبة الصمود ، لتمر على محتويات المادة الحاملة وعلى الصوف الزجاجى .

زراعة البكتريا اللاهوائية : Cultivation of anaerobic bacteria

لكى تنمو البكتريا اللاهوائية إجبارا ، فإنه يجب إتخاذ مايكفى من إحتياطات ، لاستبعاد الأكسجين الجوى من وسط النمو ، ويمكن الوصول إلى ذلك باستخدام إحدى الطرق التالية

١- استخدام بيئات سبق إختزالها : Prereduced media

تغلى البيئة أثناء تحضيرها لعدة دقائق ، ليخرج منها أغلب مابها من أكسجين ذائب ، ثم يضاف للبيئة مادة مختزلة مثل حامض الأسكوربيك ، الثيوجليكولات ، السستئين ، أو الكبريتيد ، للإكثار من تقليل محتوى البيئة من الأكسجين ، وبعد ذلك ، توزع البيئة فى الأنابيب ثم تقفل بإحكام وتعقم ، ومثل هذه الأنابيب ، يمكن تخزينها لعدة أشهر قبل الاستعمال .

وقد يمرر بالبيئة الملقحة ، تيار من النتروجين الخالى من الأكسجين فى صورة فقاعات غازية ، وهى التقنية التى أضافها Hungate ، لزيادة المحافظة على الظروف اللاهوائية بالبيئة .

٢- استخدام البرطمانات اللاهوائية : Anaerobic jars

من البرطمانات المستخدمة فى التنمية اللاهوائية ، وعاء بروور Brewer jar وجهاز ماكنتوش وفيلدز Mc Intosh & Fildes jar ، ويتم التخلص مما بالجهاز من أكسجين بعد وضع المزارع به وقفله ، بجعل الأكسجين الموجود بالجهاز يتحد مع الايدروجين فى وجود عامل مساعد من البلاديوم ، ثم يحضن الجهاز بما يحتويه من مزارع [شكل ٦ (٢) - ٤] .

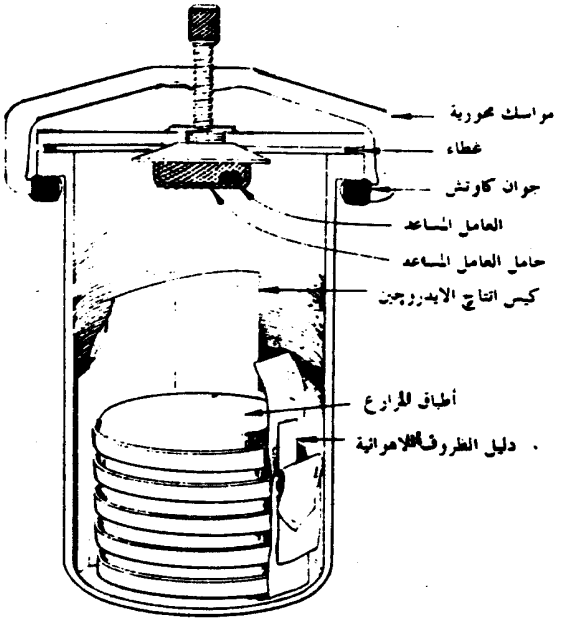
وقد تزود هذه البرطمانات بعبوات غازية Gas Pak ، تعمل على ملأ البرطمان بغازات CO_2 & H_2 ، لتحل محل مابها من أكسجين .

وقد توضع فى برطمانات التنمية اللاهوائية ، أو فى المجففات الجارى تنمية البكتريا بها ، موادا ممتصة للأكسجين مثل مادة Alkaline pyrogallol dithionite ، لجعل الظروف بالبرطمان ، ظروفا لاهوائية .

٣- استخدام الغرف اللاهوائية : Anaerobic chambers

الغرف اللاهوائية عبارة عن صناديق من البلاستيك محكمة القفل ذات حجم مناسب ، تستعمل فى التنمية اللاهوائية ، وقد حل محل مابها من هواء ، خليط من غازات H_2, CO_2 & N_2 أو غاز الأرجون . وهذه الغرف مزودة بمداخل ذات قفازات من الكاوتش ، تساعد القائم بالعمل على التعامل مع المعدات والبيئات الموجودة بالغرف .

وتجهز الغرف من الداخل بنظام لامداد الغازات ، والأشعة فوق البنفسجية ، والتيار الكهربائى ، كما أن الغرف مزودة بحضانات لتنمية ماتم تلقيحه بها من مزارع .



شكل ٦ (٢) – ٤ : وعاء بروور للتنمية اللاهوائية باستخدام الايدروجين .

دلائل التنمية اللاهوائية

عند تنمية البكتريا اللاهوائية ، بالبرطمانات أو بالغرف اللاهوائية ، فإنه يوضع بداخل البرطمان أو الغرفة ، دليل مناسب Indicator قابل للأكسدة والإختزال ، للتأكد من توفر الظروف اللاهوائية فى البيئة أثناء التنمية .

ومن تلك الأدلة المستعملة فى التنمية اللاهوائية

• الريزازورين Resazurin ، وهو ذو لون أزرق فى وجود الأكسجين ، ويصبح عديم اللون تحت الظروف اللاهوائية ، وبعد إعادة أكسدته يتحول الى اللون الأحمر .

• أزرق المثيلين Methylene blue ، وهو ذو لون أزرق فى وجود الهواء ، ويصبح عدم اللون فى عدم وجود الأكسجين .

References

مراجع الباب السادس

Cooper S. (1991). Bacterial Growth and Division. Academic Press, New York.,

Gerhardt P.; R.G.E. Murray; R.N. Costilow; E.W. Nester; W.A. Wood; N.R. Krieg and G.B. Phillips (eds.), 1981, Manual of Methods for General Bacteriology. Amer. Soc. Microbiol., Washington D.C.

Ingraham J.L.; O. Maaloe and F.C. Weidhardt (1983). Growth of the Bacterial Cell. Sinauer, Sunderland, Mass., USA.

Nester E.W.; C.E. Roberts; Nancy N. Pearsall; D.G. Anderson and Martha T. Nester (1998). Microbiology. 2nd Ed. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.

Schlegel H.G. (1995). General Microbiology. 7th Ed., Cambridge Univ. Press, New York.

Starr M.P.; H. Stolp; H.G. Truper; A. Balows and H.G. Schlegel (eds.) 1981. The Procaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria. Springer-Verlag, New York.

﴿الباب السابع﴾

المجموعات البكتيرية (تقسيم البكتريا)

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
تمهيـــد :	٣٥٢
وضع البكتريا بين عالم الأحياء	٣٥٢
الممالك الخمسة لعالم الكائنات الحية حسب تقسيم هويتاكر	٣٥٤
الفصل الأول : تسمية البكتريا وتمييزها وتصنيفها	من ٣٥٥ الى ٣٨٣
الفصل الثانى : المجموعـــات البكتيريـــة الهامـــة	من ٣٨٥ الى ٥٢٩
مراجـــع الباب التاسع (فصل ١ ، ٢)	٥٣٠
الفصل الثالث : بكتريا الاندوفايت	من ٥٣١ الئ ٥٣٨
مراجـــع الإندوفايت	٥٣٩
فهرس الأسماء العلمية الواردة بالباب السابع	٥٤١ الى ٥٥٢

﴿الباب السابع﴾

المجموعات البكتيرية (تقسيم البكتريا)
Bacterial Groups (Bacterial Classification)

تمهيـــــد

وضع البكتريا بين عالم الأحياء [١]

إن ترتيب الأوضاع التقسيمية للكائنات الحية ، هو عمل من صنع الإنســـان ، ويتـــأثر ذلك العمل بما يتوفر لدى الانسان من معلومات ، ومايتطلبه من إحتياجات ، وبوجهة نظره فـــى الموضوع ، والأسس التى يعتمد عليها فى إجرائه لعمليات تقسيم تلك الأحياء ، هذا إضافة إلـــى أن عملية تقسيم الأحياء إلى مجموعات ، وترتيب هذه المجموعات فى فئـــات تصنيفيـــة ، هـــى عملية معقدة ، وتعتمد على الكثير من المعلومات والتقنيات ، كما أنها تتطلب المراجعة المستمرة لما يتم ، مما يجعل عملية تقسيم الكائنات الى مجموعات ، ووضعها فى مواضع تقسيمية ثابتـــة بين الأحياء ، عملية شاقة بالنسبة لعلماء التخصص ، وتزداد الصعوبة عند تقسيم الكائنات الدقيقة . التى تتميز عن غيرها من الأحياء ، بدقة حجمها ، وصعوبة تمييز مكوناتها الداخلية ، وبتداخل بعض صفاتها مع صفات أحياء أخرى .

ولفترة طويلة مضت ، كان العلماء ينظرون إلى الكائن الحى ، علـــى أنـــه نبـــات أو حيوان ، وكان العلماء يضعون مايكتشفوه من كائنات دقيقة فى المملكة النباتيـــة أو الحيوانيـــة ، حسب مدى قرب صفات تلك الكائنات الدقيقة المكتشفة ، بالصفات المتعارف عليـــها فـــى ذلـــك الوقت ، لذلك فإننا نلاحظ أنه حتى منتصف القرن الماضى (العشرين) ، وذلك كما جاء بمرجـــع برجى عام ١٩٤٨ [٢] **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6th Ed., 1948**، فإن البكتريا وضعت باعتبارها نباتات وحيدة الخلية ، في طائفـــة الفطريـــات المنشـــقة Class Schizomycetes ، التابعة لشعبة النباتات الثالوســـية [٣] Phylum Thallophyta ، التابعـــة للمملكة النباتية ، أما البروتوزوا وماشابهها من كائنات ، فقد وضعت فى المملكة الحيوانية .

وبتطور طرق الفحص ، فقد وضح أن البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة (التى سميت فيمـــا بعد بالبكتريا الخضراء المزرقة ، ثم سميت بالسيانوبكتريا) ، وضح أن لها تركيب خلوى متمـــيز عن تركيب خلايا النباتات الثالوسية ، لذلك وضعت البكتريا والطحالب الخضراء المزرقـــة فـــى شعبة مستقلة عن النباتات الثالوسية ، سميت بأسم شعبة النباتات البدائية Phylum Protophyta ، التابعة للمملكة النباتية ، وذلك كما جاء فى مرجع برجـــى لعام ١٩٥٧ **Bergey's Manual,** ، **7th Ed., 1957**[٢] و تضـــم هذه الشعبة كلا من الفيروسات والريكتسيـــا والبكتريا والبكتريا

---

[١] أنظر موقع الميكروبات بين الأحياء ، بالباب الثانى .

[٢] **C.A. Garrit (2001)** .

[٣] النباتات الثالوسية Thallophyta ، كائنات بسيطة التركيب ، ليس لها جذر أو ساق أو اوراق أو ازهار ، ويتبعـــها حسب تقسيم برجى لعام ١٩٤٨ كل من البكتريا والفطريات والطحالب .

الخضراء المزرقة . أما شعبة النباتات الثالوسية فقد إقتصرت على الفطريات والطحالب .

وكان العالم الألمانى Haeckel, 1866* قد أقترح إنشاء مملكة ثالثة للأحياء الدقيقة ، بجانب المملكة النباتية والحيوانية ، تسمى مملكة الكائنات البدائية Kingdom Protista ، تضم كلا من البكتريا (وقد سماها البروتستا الدنيئة Lower Protista) ، والفطريات والطحالب والبروتوزوا (وقد سماها بالبروتستا الراقية Higher Protista) ، ولكن هذا الاقتراح لم يضع حلولا للإعتراضات الخاصة بتقسيم الأحياء الدقيقة .

ومع تطور طرق الفحص السيتولوجى ، وتقدم تقنيات دراسة المادة الوراثية بالخلايا ، فقد ظهر أن الأحياء عموما تتميز بنوعين متميزين من الخلايا ، هى الخلايا حقيقية النواة Eucaryotic cells ، والخلايا بدائية النواة Procaryotic cells ، وعلى أساس هذه الفروقات الموجودة فى التركيب الخلوى ، فقد وضعت البكتريا والسيانوبكتريا بسبب تركيبهما الخلوى المتميز ، فى مملكة مستقلة عن كل من المملكة النباتية والمملكة الحيوانية ، هى مملكة الكائنات بدائية النواة Kingdom Procaryotae وذلك كما جاء بمرجع برجى عام ١٩٧٤ Bergey's Manual 8th Ed., 1974* ، أما الفيروسات فقد استبعدت من هذه المملكة ، وأصبح لها تقسيم آخر مستقل ، نظرا لأنها غير خلوية .

وفى الطبعات التالية من مرجع برجى وحتى آخر طبعة عام ٢٠٠١ ، المسماه Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2001* ، فقد أستقر وضع البكتريا ، فى مملكة البروكاريوتا .

ويلاحظ أن الدراسات على تقسيم الأحياء وخاصة للبكتريا لم يتوقف ، ولما كان الدنا DNA هو الذى يحدد صفات الأحياء ، فلقد إهتمت الدراسات فى مجال تقسيم البكتريا بالاتجاه الى دراسه الدنا كأساس دقيق لتقسيم البكتريا . واتخذت أولا نسبة G + C كأساس للتمييز بين أنواع هذه الكائنات . وقد اتضح أن اختلاف هذه النسبة يؤكد أن الكائنين المدروسين لاينتميان الى نوع species واحد . ولكن فى نفس الوقت فان تساوى نسبة G + C بين كائنين لايعنى بطريقة مؤكدة أنهما ينتميان لنفس الجنس ، مما أوضح الحاجة للبحث عن نظام آخر مُكمِّل ، يكون أكثر دقة ، يُمكِّن المهتم بالدراسة من تمييز مجموعات البكتريا عن بعضها البعض.

ومع اكتشاف امكانية التهجين Hybridization بين سلاسل الدنا المتكاملة ، فقد استخدمت هذه التقنية فى الدراسات الخاصة بتقسيم البكتريا ، حيث اتضح أنه لايمكن حدوث تهجين بين سلاسل الدنا اذا ماوصل الاختلاف فى القواعد بينها الى مابين ١٠ - ٢٠% ، مما يجعل أن امكانية حدوث تهجين بين سلاسل دنا مجاميع من البكتريا ، يعتبر دليلا على مدى التقارب بينها، ولقد ظهر أن هذه التقنية جيدة فى دراسة التقارب بين البكتريا حتى مستوى النوع species ، أما المستويات التقسيمية الأعلى من ذلك ، أى مستوى الجنس والفصيلة والرتبة ,,, ، فان هذه التقنية لاتفى بالغرض .

ثم بينت الدراسات أن الرنا الرايبوسومى rRNA فى البكتريا (على وجه الخصوص 16S rRNA) ، محفوظ بالخلية لحد كبير من أية تغيرات ، مقارنة بالجينوم الذى يحدث به تغيرات مع الزمن ، مما يعنى أن التهجين بين الرنا الرايبوسومى والدنا rRNA-DNA hybridization يعطى امكانية دراسة مستويات التقسيم الأعلى من النوع ، كالجنس مثلا .

* Garrit (2001).

هذا بالنسبة لوضع البكتريا بين الأحياء ، أما بالنسبة لتقسيم الأحياء عموما ، فقد ظهرت مقترحات كثيرة خاصة بذلك ، لعل أهمها تقسيم هويتاكر الذى أقترحه العالم **Whittaker R.H.** عام ١٩٦٩ ، الذى قسم فيه الكائنات الحية إلى خمسة ممالك ، وذلك حسب

- البناء الخلوى للكائن : وحيد الخلية ، أو عديد الخلايا .
- تركيب نواة خلية الكائن : بدائية النواه ، أو حقيقية النواه .
- طريقة تغذية الكائن : تمثيل ضوئى ، أو إمتصاص ، أو بلع

والممالك الخمسة لعالم الكائنات الحية ، حسب تقسيم هويتاكر ، هى

١- مملكة البدائيات Kingdom Monera ، مملكة المونيرا

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية وحيدة الخلية ، بدائية النواه ، التى تتغذى بالإمتصاص ، ومثلها البكتريا والسيانوبكتريا .

٢- مملكة الفطريات Kingdom Fungi

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية وحيدة الخلية ، حقيقية النواة ، التى تتغذى بالإمتصاص ، ومثلها الخمائر والاعفان والفطريات عديدة الأنوية .

٣- مملكة الكائنات البدائية Kingdom Protista ، مملكة البروتستا

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية وحيدة الخلية ، حقيقية النواة ، وتتغذى بالإبتلاع أو بالإمتصاص ، ومثلها البروتوزوا .

ومن البروتستا مايقوم بالتمثيل الضوئى مثل الطحالب الصغيرة .

٤- المملكة النباتية : Kingdom Plantae

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية عديدة الخلايا ، حقيقية النواة ، وتحتوى الخلايا على كلوروفيل ، وتقوم بالتمثيل الضوئى ، وتتغذى بالإمتصاص ، ومثلها الطحالب الكبيرة والحزازيات والسرخسيات والنباتات معراة البذور والنباتات مغطاة البذور .

٥- المملكة الحيوانية : Kingdom Animalia

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية عديدة الخلايا ، حقيقية النواه ، غير الممثلة للضوء، وتتغذى بالإبتلاع ، وتضم الحيوانات اللافقارية والحيوانات الفقارية .

وعموما ، فإنه يلاحظ أن عدد الممالك بعالم الكائنات الحية ، مازال موضع خلاف بين العلماء ، فالبعض يضع الأحياء فى أربعة ممالك ، والبعض يضعها فى خمسة ، بل وهناك من يضعها فى ثمانية ممالك .

﴿الباب السابع – الفصل الأول﴾
تسمية البكتريا وتمييزها وتصنيفها

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
تسمية البكتريا	٣٥٧
التسمية العلمية	٣٥٧
التسمية الدارجة	٣٥٨
تغير الأسماء	
اسماء بعض البكتريا التى حدث باسمائها تعديل	–
• مرتبة أبجديا حسب الأسماء الجددية . [جدول ٧ (١) – ١]	٣٥٩ و ٣٦٠
• مرتبة أبجديا حسب الأسماء القديمة . [جدول ٧ (١) – ٢]	٣٦١ و ٣٦٢
تصنيف عالم البكتريا	٣٦٣
ماهية التصنيف	٣٦٣
أهمية التصنيف	٣٦٤
تطور علم التصنيف	٣٦٤
الخصائص الرئيسية العامة للبكتريا	٣٦٥
١–الخواص المورفولوجية	٣٦٥
٢– الخـــواص الكيميائيـــة	٣٦٥
٣– الخـــواص المزرعيـــة	٣٦٥
٤– الخـــواص الأيضيـــة	٣٦٦
٥– الخـــواص الأنتجينيـــة	٣٦٦
٦– الخـــواص الوراثيـــة	٣٦٦
٧– الخـــواص البيئيـــة	٣٦٧
٨ – القدرة الامراضيـــة	٣٦٧
تعريف البكتريا	٣٦٧
النـــوع	٣٦٧
الاختبارات المستخدمة لتعريف بعض مجموعـات البكتريـــا ..... **[جدول ٧ (١) – ٣]**	٣٦٨
السلالـــة	٣٦٩
النسيالـــة	٣٧٠

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

نظم تقسيم البكتريا ٣٧٠
نظام تقسيم برجى ٣٧٠
المجاميع الرئيسية للبروكاريوتا ، وقرابة بعضها لبعـــض ، ومنشـــؤها
التطورى مع الزمن ..... [شكل ٧ (١) - ١] ٣٧٣
الـــهيكل الأساســـى لتقســـيم المجموعـــات الرئيســـية للبروكاريوتـــا
..... [شكل ٧ (١) - ٢] ٣٧٤
نظم تقسيمية أخرى..... ٣٧٥
التصنيف العددى ٣٧٥
التصنيف الوراثى ٣٧٨
تقنية التشابه والتهجين بين الدنا ٣٧٩
تقنية التشابه فى الرنا الرايبوسومى ٣٨١
علم تطور السلالات البكتيرية ٣٨١
التصنيف المصلى ٣٨٣
التصنيف بواسطة البكتريوفاج ٣٨٣

﴿الباب السابع – الفصل الأول﴾

تسمية البكتريا وتمييزها وتصنيفها
Nomenclature , Characterization and Taxonomy of Bacteria

تسمية البكتريا : Bacterial nomenclature

التسمية العلمية : Scientific nomenclature

يتم تسمية الكائن البكتيرى تسمية علمية ، بعد إتفاق المجتمع العلمى الدولى * على تلك التسمية طبقا لقواعد محددة ، ويُنشر الاسم العلمى لاسم البكتريا المتفق عليه ، فى المجلة العلمية المتخصصة المسماه International Journal of Systematic Bacteriology (Int. J. Syst. Bact.) ، وبذلك يصبح لكل نوع بكتيرى اسم واحد موثق ، ومتفق عليه عالميا .

وتستعمل اللغة اللاتينية فى التسمية العلمية ، لأن تلك اللغة هى التى كانت سائدة فى الماضى بين المتعلمين بأغلب الأقطار الأوروبية . ويخضع الاسم العلمى المتفق عليه لقواعد وهجاء اللغة اللاتينية ، ويكتب بحروف مائلة Italics ، تعبيرا عن مصدره الإيطالى Italica .

ويسمى الكائن طبقا لنظام التسمية الثنائية **Binomial system of nomenclature** ، الذى وضع أسسه عام ١٧٦٠ عالم النبات السويدى كارل لينيوس (Carl von Linne', **Linnaeus Carolus, 1707-1778**) ، فى كتابه الأنواع النباتية Species Plantarum .

ويتضمن الاسم العلمى تعريفاً بالبكتيره ، ويتكون الاسم من مقطعين

- **المقطع الأول : يشير الى الجنس** Genus (*pl.* Genera) ، ويكتب أوله بحرف كبير Capital ، وهو يعبر عن صفة من صفات الجنس ، أو عن إحدى مميزات الجنس الهامة ، أو يشير الى اسم مكتشف أفراد الجنس ، أو إلى اسم عالم له بحوث مرموقة فى مجال أنواع هذا الجنس ، مثل أسماء العلماء Escherich الألمانى ، Lister الانجليزى ، Pasteur الفرنسى ، Salmon الأمريكى ، و Shiga اليابانى .
- **المقطع الثانى : يشير الى النوع** species, sp. (*pl.* species, spp.) ، أو مايعرف بالصفة المتخصصة Specific epithet ، ويكتب بحروف صغيرة ، وهو يعبر عن صفة خاصة بصفات النوع كاللون ، أو خاصة بالوسط الذى يعيش فيه ذلك النوع ، أو بمرض يسببه ، أو باسم مكتشفه ... الخ .

---

* يتمثل ذلك فى الجمعية الدولية لتسمية البكتريا ، International Committee of Bacteriological Nomenclature ، وهى هيئة دولية من كبار أساتذة التخصص ، تعتمد تقسيم وتسمية الأنواع الجديدة من البكتريا التى يتكشفها الباحثون ، وذلك طبقاً للقواعد والأصول العلمية المحددة لذلك .

وعادة مايتبع الاسم العلمى للبكتريا ، اسم العالم الذى سمى هذه البكتيرة لأول مرة ، وقد يتبع اسم العالم ، السنة التى نشر فيها الاسم العلمى للمرة الأولى ، مثل *Pseudomonas marginalis*, Stevens, 1925 . وقد يعدل اسم البكتيره بعد ذلك بواسطة عالم أخر ، فيضاف اسم العالم الذى قام بهذا التعديل وسنة النشر .

وقد يضاف الى اسم النوع البكتيرى صفة خاصة به ، تميزه عن باقى أفراد النوع مثل *Streptococcus faecalis* var. *liquefaciens* ، وهذه الاضافة بعد اسم النوع تدل على أن هذه البكتيرة هى إحدى سلالات البكتريا السبحية البرازية ، التى تتميز عن غيرها من سلالات ذلك النوع ، بقدرتها على إسالة الجيلاتين .

وعند كتابة الاسم العلمى للبكتريا ، فان الاسم يكتب كاملا عندما يرد لأول مرة بالنص، فإذا ماتكرر ذكر الاسم ، فإنه يمكن إختصار اسم الجنس فقط إلى حرف أو أكثر مثل *Bacillus* التى تختصر عند تكرارها الى *B.* و *Pseudomonas* التى تختصر الى *Ps.* .

التسمية الدارجة : Common, colloquial, nomenclature

فى بعض الأحيان تستعمل أسماء عامة أو أسماء دارجة للإشارة الى اسم البكتريا وسرعة الدلالة عليها ، وهذه الأسماء غير علمية ولاينطبق عليها قواعد التسمية العلمية المتعارف عليها . وتستعمل الأسماء الدارجة فى التعامل اليومى العادى وليس فى النواحى العلمية .

وكأمثلة للتسمية الدارجة ، استخدام Colon bacillus إشارة إلى بكتريا القولون *Escherichia coli* ، أو استخدام Tubercle bacilli إشارة إلى بكتريا الدرن الرئوى *Mycobacterium tuberculosis* ، أو استخدام The Lactics ، إشارة إلى البكتريا المنتجة لحامض اللاكتيك ,

وقد يستعمل الأطباء والبكتريولوجيون ، اسم المرض للإشارة إلى اسم البكتريا المسببة للمرض ، وذلك كنوع من البساطة فى التعامل ، مثل استخدام كلمة Meningococcus التى تعنى كرويات سحائية ، وذلك للإشارة الى البكتريا المسماة *Neisseria meningitidis* ، المسببة لمرض الالتهاب السحائى .

تغير الأسماء :

نتيجة لتطور وتقدم المعلومات المتاحة عن البكتريا ، والتعرف المستمر على كائنات جديدة ، فإن المجموعات التصنيفية للبكتريا ، وأسماء أجناس وأنواع بعض البكتريا ، يحدث بها بعض التغيرات ، كما أن أسماء لأنواع جديدة من البكتريا تضاف . ومثالا على ذلك ، مايحدث من تغيرات لبعض أسماء البكتريا من طبعة لأخرى من الطبعات الخاصة بمرجع تقسيم برجى .

والجداول التالية [٧ (١)-١ ، و٧ (١)-٢] ، توضح أسماء بعض أنواع البكتريا التى تغيرت أسماؤها فى الطبعات الأخيرة من مرجع برجى ، عما جاء بالطبعات السابقة .

جدول ٧ (١)-١ : أسماء بعض أجناس وأنواع البكتريا التى حدث بأسمائها تعديل بطبعة برجى الاخيرة (مرتبة أبجديا حسب الأسماء الجديدة) .

الاسم الجديد	الاسم القديم
Acetobacter aceti	*Mycoderma aceti*
Acidothiobacillus ferrooxidans	*Thiobacillus ferrooxidans*
Acidothiobacillus thiooxidans	*Thiobacillus thiooxidans*
Acinetobacter calcoaceticus	*Moraxella calcoaceticus*
Alcaligenes eutrophus	*Hydrogenomonas eutropha*
Actinoplanes	*Ampullariella*
Bartonella	*Rochalimaea*
Chlamydophila psittaci	*Chlamydia psittaci*
Chromatiaceae	Thiorhodaceae
Chromobacterium iodinum	*Pseudomonas iodina*
Clostridium oroticum	*Zymobacterium oroticum*
Clostridium perfringens	*Clostridium welchii*
Cyanobacteria	Blue-green algae
Enterobacter aerogenes	*Aerobacter aerogenes*
Enterococcus faecalis	*Streptococcus faecalis*
Enterococcus faecium	*Streptococcus faecium*
Flexibacter columnaris	*Chondrococcus columnaris*
Francisella tularensis	*Pasteurella tularensis*
Fusobacterium symbiosum	*Bacteroides symbiosus*
Geobacillus thermodenitrificans	*Bacillus thermodenitrificans*
Gluconobacter oxydans	*Acetomonas suboxydans*
Halobacillus halophila	*Sporosarcina halophila*
Halomonas	*Deleya*
Lactobacillus citrovorum	*Lactobacillus cremoris*
Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	*Streptococcus cremoris*
Lactococcus lactis subsp. *lactis*	*Streptococcus lactis*
Leptospira interrogans	*Leptospira icterohaemorrhagiae*

Ref :

- **DSMZ (2001).** Bacterial Nomenclature up - to - date, List 3/2001, 62 pp. Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany
- International Journal of Systematic Bacteriology (2000).
- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2000).

تابع جدول ٧ (١)-١ أسماء بعض أجناس وأنواع البكتريا التى حدث بأسمائها تعديـــل بطبعـــة برجى الاخيرة (مرتبة أبجديا حسب الأسماء الجديدة) .

الاسم الجديد	الاسم القديم
Magnetospirillum magnetotacticum	*Aquaspirillum magnetotacticum*
Megasphaera elsdenii	*Peptostreptococcus elsdenii*
Mesorhizobium loti	*Rhizobium loti*
Methanobacterium omelianskii	*Methanobacillus omelianskii*
Methylomonas	*Methanomonas*
Micrococcus luteus	*Sarcina aurantiaca*
Micrococcus luteus	*Sarcina flava*
Micrococcus luteus	*Sarcina lutea*
Micrococcus lysodeikticus *	*Sarcina lysodeikticus* *
Moraxella	*Branhamella*
Nitrosococcus oceanus	*Nitrosocystis oceamus*
Paenibacillus alvei	*Bacillus alvei*
Paracoccus denitrificans	*Micrococcus denitrificans*
Prevotella ruminicola	*Bacteroides ruminicola*
Propionibacterium acidi-propionici	*Propionibacterium pentosaceum*
Pseudomonas aeruginosa	*Pseudomonas pyocyanea*
Ralstonia solanacearum	*Pseudomonas solanacearum*
Rhodospirillaceae	Athiorhodaceae
Serratia marcescens	*Bacterium prodigiosum*
Sinorhizobium fredii	*Rhizobium fredii*
Sinorhizobium meliloti	*Rhizobium meliloti*
Streptococcus pneumoniae	*Diplococcus pneumoniae*
Streptococcus pneumoniae	*Pneumococcus pneumoniae*
Streptomyces	*Chainia*
Streptomyces	*Elytrosporangium*
Streptomyces	*Streptoverticillium*
Streptomyces paradoxus	*Actinosporangium violaceum*
Synechococcus nidulans	*Anacystis nidulans*
Veillonella alcalescens	*Micrococcus lactilyticus*
Vibrio	*Beneckea*
Vibrio cholerae	*Vibrio comma*
Xanthobacter autotrophicus	*Corynebacterium autotrophicum*
Yersinia pestis	*Pasteurella pestis*

* سميت كذلك بواسطة فلمنج ، لحساسيتها العالية لانزيم اللايسوزيم

جدول ٧ (١)-٢ : أسماء بعض أجناس وأنواع البكتريا التى حدث بأسمائها تعديل بطبعة برجى الاخيرة (مرتبة أبجديا حسب الأسماء القديمة) *

الاسم القديم	الاسم الجديد
Acetomonas suboxydans	*Gluconobacter oxydans*
Actinosporangium violaceum	*Streptomyces paradoxus*
Aerobacter aerogenes	*Enterobacter aerogenes*
Ampullariella	*Actinoplanes*
Anacystis nidulans	*Synechococcus nidulans*
Aquaspirillum magnetotacticum	*Magnetospirillum magnetotacticum*
Athiorhodaceae	Rhodospirillaceae
Bacillus alvei	*Paenibacillus alvei*
Bacillus thermodenitrificans	*Geobacillus thermodenitrificans*
Bacterium prodigiosum	*Serratia marcescens*
Bacteroides ruminicola	*Prevotella ruminicola*
Bacteroides symbiosus	*Fusobacterium symbiosum*
Beneckea	*Vibrio*
Blue-green algae	Cyanobacteria
Branhamella	*Moraxella*
Chainia	*Streptomyces*
Chlamydia psittaci	*Chlamydophila psittaci*
Chondrococcus columnaris	*Flexibacter columnaris*
Clostridium welchii	*Clostridium perfringens*
Corynebacterium autotrophicum	*Xanthobacter autotrophicus*
Deleya	*Halomonas*
Diplococcus pneumoniae	*Streptococcus pneumoniae*
Elytrosporangium	*Streptomyces*
Hydrogenomonas eutropha	*Alcaligenes eutrophus*
Lactobacillus cremoris	*Lactobacillus citrovorum*
Leptospira icterohaemorrhagiae	*Leptospira interrogans*
Methanobacillus omelianskii	*Methanobacterium omelianskii*
Methanomonas	*Methylomonas*
Micrococcus denitrificans	*Paracoccus denitrificans*
Micrococcus lactilyticus	*Veillonella alcalescens*
Moraxella calcoaceticus	*Acinetobacter calcoaceticus*
Mycoderma aceti	*Acetobacter aceti*

* المراجع : أنظر تذيل ص ٣٥٩

تابع جدول ٧ (١)-٢ : أسماء بعض أجناس وأنواع البكتريا التى حدث بأسمائها تعديل بطبعة برجى الاخيرة (مرتبة ابجدياً حسب الأسماء القديمة) .

الاسم القديم	الاسم الجديد
Nitrosocystis oceanus	*Nitrosococcus oceanus*
Pasteurella pestis	*Yersinia pestis*
Pasteurella tularensis	*Francisella tularensis*
Peptostreptococcus elsdenii	*Megasphaera elsdenii*
Pneumococcus pneumoniae	*Streptococcus pneumoniae*
Propionibacterium pentosaceum	*Propionibacterium acidi-propionici*
Pseudomonas iodina	*Chromobacterium iodinum*
Pseudomonas pyocyanea	*Pseudomonas aeruginosa*
Pseudomonas solanacearum	*Ralstonia solanacearum*
Rhizobium fredii	*Sinorhizobium fredii*
Rhizobium loti	*Mesorhizobium loti*
Rhizobium meliloti	*Sinorhizobium meliloti*
Rochalimaea	*Bartonella*
Sarcina aurantiaca	*Micrococcus luteus*
Sarcina flava	*Micrococcus luteus*
Sarcina lutea	*Micrococcus luteus*
*Sarcina lysodeikticus**	*Micrococcus lysodeikticus**
Sporosarcina halophila	*Halobacillus halophila*
Streptococcus cremoris	*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
Streptococcus faecalis	*Enterococcus faecalis*
Streptococcus faecium	*Enterococcus faecium*
Streptococcus lactis	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
Streptoverticillium	*Streptomyces*
Thiobacillus ferrooxidans	*Acidothiobacillus ferrooxidans*
Thiobacillus thiooxidans	*Acidothiobacillus thiooxidans*
Thiorhodaceae	Chromatiaceae
Vibrio comma	*Vibrio chloerae*
Zymobacterium oroticum	*Clostridium oroticum*

* سميت كذلك بواسطة فلمنج ، لحساسيتها العالية لانزيم اللايسوزيم

تصنيف عالم البكتريا : Taxonomy of Bacterial World

ماهية التصنيف

التقسيم الحيوى للبكتريا Biological classification ، أو مايعرف بعلم التصنيف البكتيرى Bacterial Taxonomy ، هو العلم الخاص بتسمية البكتريا Nomenclature وتقسيمها Classification ، أى وصف البكتريا وتعريفها وترتيبها فى فئات (مجاميع) تصنيفية Taxa (*Sing.* Taxon) ، كالطوائف Classes والرتب Orders والفصائل Families والأجناس Genera والأنواع Species ... ، وذلك طبقا لقواعد ومعايير علمية محددة ، متفق عليها . إذ يخضع الكائن المكتشف حديثا ، لمجموعة من الدراسات المستفيضة ، ويُعرَّف ، ثم يطلق عليه الاسم العلمى المناسب ، ويوضع فى فئته التصنيفية ، وينشر مايتعلق به من معلومات بالدوريات المتخصصة على المجتمع العلمى ، للتعرف على ماتم ، والاقرار به .

ويعتبر علم تصنيف البكتريا ، من أكثر أنواع العلوم تغيرا ، وقد كان ومازال ، عرضة للتعديل والإضافة والتغيير ، بسبب مايتم إضافته باستمرار من معلومات جديدة خاصة بتلك الكائنات الدقيقة .

ويتوقف التصنيف الناجح على التعاون المثمر بين عالم البكتريا وعلماء العلوم الحياتية (البيولوجية) الأخرى ، مع التأكيد عند إجراء التصنيف ، على ضرورة استخدام طرق فحص موحدة بين الباحثين ، تتم تحت ظروف نمو عادية وموحدة للبكتريا موضع الدراسة ، وذلك حتى لايحدث تضارب فى النتائج المتحصل عليها .

تُجمَّع السلالات المتشابهة من البكتريا فى نوع Species ، وتجمع الأنواع المتشابهة فى جنس Genus* ، وتجمع الأجناس المتشابهة فى فصيلة (عائلة) Family التى عادة ما ينتهى اسمها بـ aceae ، وتجمع الفصائل المتشابهة فى رتبة Order والتى عادة ماينتهى إسمها بـ ales... ، وتجمع الرتب فى طائفة Class ، ثم تجمع الطوائف فى عشيرة (أو قسم) Phylum (Division) ، وأخيرا تجمع العشائر المختلفة مع بعضها لتكون فى النهاية مملكة الكائنات بدائية النواة Kingdom Procaryotae ، والتى تشكل مع الممالك الأخرى الفطرية والبروتستا والنباتية والحيوانية عالم الكائنات الحية .

مثال تصنيفى للبكتريا

عادة مايشتق اسم الفصيلة (العائلة) من اسم الجنس النمطى Type genus ، مع إضافة المقطع aceae – إلى اسم الجنس، مثل اسم الفصيلة Lactobacillaceae المشتق من اسم الجنس *Lactobacillus* ، واسم الفصيلة Streptomycetaceae التى تنسب الى اسم الجنس *Streptomyces* . ويشتق اسم الرتبة من اسم الفصيلة ، مع استبدال المقطع aceae ، بالمقطع ales مثل Actinomycetales المشتقة من اسم الفصيلة Actinomycetaceae .

---

* قد يكون الجنس Genus وحيد النوع Monotypic أى يشمل نوعا واحدا فقط ، أو يكون الجنس عديد الأنواع Polytypic ، أى يشمل عدة أنواع .

وكمثال لتلك الفئات التصنيفية ؛ نورد النموذج التالى

Kingdom Procaryotae
Division Gracilutes
Class Scotobacteria
Order Spirochaetales
Family Spirochaetaceae
Genus *Spirochaeta*
Species *S. halophila*

أهمية التصنيف

يُمكِّننا التصنيف من التعرف على الكائنات البكتيرية ، ومعرفة الأنواع الجديدة منها ، ووضع الكائنات المتشابهة مع بعضها فى مجاميع ، كل مجموعة لها مايميزها عن الأخرى ، كما يمكننا التصنيف من مقارنة الأنواع ببعضها ، لمعرفة درجات التشابه ودرجات الإختلاف بينها ، ومعرفة دور كل منها فى الحياة ، للاستفادة من النافع ، والوقاية من الضار .

تطور علم التصنيف

البكتريا – كما ذكر سابقا ، كائنات حية دقيقة ، بدائية النواة ، ، خالية من كلوروفيل أ وبعض أنواع البكتريا ممثلة للضوء ولكنها تحتوى على صبغات ضوئية أخرى غير كلوروفيل أ ، الذى يوجد بالسيانوبكتريا وجميع الكائنات الأخرى الممثلة للضوء عدا البكتريا .

وفى إطار هذا التعريف الواسع للبكتريا ، فقد نمى علم تصنيف البكتريا منذ أكثر من مائة عام ، وأصبح عرضة للإضافة والتعديل ، باكتشاف كائنات جديدة ، أو بتوفر المزيد والمزيد من المعلومات التى لم تكن متاحة من قبل ، وتأتى تلك المعلومات نتيجة التقدم فى طرق الفحص المعملى ، والتطور فى تقنيات الفحص المجهرى ، وفى مجالات الكيمياء الحيوية والفيزياء الحيوية والعلوم الوراثية وعلوم المناعة .

ونظرا لأن الدراسات الوراثية صعبة وتحتاج الى تقنيات متقدمة والى خبرة عالية ، كما أن الانساب الحقيقية بين البكتريا مازال بعضها غامضا ، فإن علم تصنيف البكتريا ، كان ينمو ويتطور أساسا على دلائل وصفية Descriptive keys تتعلق بخصائص البكتريا العامة ، وتستخدم هذه الدلائل فى تعريف البكتريا ، وفى وصف الأنواع الجديدة منها .

غير أنه بتقدم التقنيات الخاصة بالوراثة الجزيئية ، فقد بدأ يتجه التقسيم الحديث للبكتريا ، كما جاء فى مرجع برجى لعام ٢٠٠١ إلى الاعتماد على الأسس التنظيمية التصنيفية Systematic ، أكثر من اعتماده على الأسس الوصفية Descriptive ، وذلك لإجراء عمليات التصنيف البكتيرى ،

ومن أسس الوراثة الجزيئية التى يعتمد عليها التقسيم الحديث للبكتريا

- اختبار مدى التشابه بين دنا الكائنات المدروسة DNA Homology
- التهجين بين جزيئات الدنا DNA-DNA hybridization
- دراسة تتابع النيوكليوتيدات فى الرنا الرايبوسومى rRNA ، Nucleotide sequence of ribosomal RNA, من نوع 16S or 5S

الخصائص الرئيسية العامة للبكتريا : Major characteristics of bacteria

لكى نتمكن من تعريف البكتيرة ووضعها فى مجموعتها التقسيمية الصحيحة ، يجب أولا معرفة خواصها . ولأنه من الصعب دراسة خواص بكتيرة فردية واحدة لصغر حجم الخلية المتناهى ، فإننا ندرس خواص البكتريا فى مزرعة نقية* Pure culture, Axenic culture ، أى مزرعة خالية من الكائنات الملوثة ومن المواد الغريبة ، ولكنها تحتوى على ملايين الأفراد ، التابعة للنوع الواحد المطلوب ، النامية من خلية واحدة ، تحت ظروف مناسبة .

وتقع الخواص الرئيسية العامة للبكتريا التى يجب التعرف عليها ، للمساعدة فى تعريف البكتريا ، فى المجموعات التالية من الخصائص

١ – الخواص المورفولوجية : Morphological characteristics

ويشمل ذالك شكل الخلية البكتيرية ، حجمها ، تركيبها ، نظم تجمعها ، تفاعلات الصبغ ، الحركة ، الأسواط ونظام تجمعها ، التجرثم من حيث شكل الجرثومة وحجمها وتركيبها ، وموضعها بالخلية الخضرية .

ونظرا لصغر حجم البكتريا ، فإن فحصها يتطلب مجهر مركب ذو عدسات زيتية ، يصل التكبير به لحوالى ألف . كما يستعان بالمجهر الالكترونى لمعرفة التفاصيل الدقيقة الخاصة بتركيب خلية البكتريا ومكوناتها .

٢– الخواص الكيميائية : Chemical characteristics

ويشمل ذلك التركيب الكيميائى النوعى والكمى لمكونات كل جزء من أجزاء الخلية . فلكل نوع بكتيرى تركيبه الكيميائى المميز له ، على سبيل المثال ، فإن مركبات عديدات التسكر الليبيدية Lipopolysaccharides تعتبر مكونات مميزة لجدر الخلية البكتيرية السالبة لصبغة جرام ، وليس للبكتريا الموجبة لصبغة جرام ، كما أن الكثير من جدر خلايا البكتريا الموجبة لصبغة جرام تحتوى على حامض تيكوييك Teichoic ، وهذا الحامض لايوجد فى جدار خلايا البكتريا السالبة لصبغة جرام .

٣– الخواص المزرعية : Cultural characteristics

تشمل تلك الخواص الاحتياجات الغذائية (مواد معدنية ، مواد عضوية ، عوامل نمو ... الخ) ، والظروف الفيزيائية (أكسجين ، حرارة ، ق يد ... الخ) اللازمة للنمو ، وكذلك طبيعة نمو البكتريا فى المزرعة السائلة وفى المزرعة الصلبة ، وماتفرزه من صبغات .

من حيث طبيعة نمو البكتريا فى المزرعة ، فإن لكل نوع بكتيرى طبيعته المميزة له فى النمو ، ففى المزرعة السائلة قد يكون النمو سطحيا كغشاء Pellicle ، أو معلقا بالبيئة Suspension ، أو راسبا Sediment بالقاع .

---

* أنظر المزرعة النقية ص ٣٤٣ .

وفى المزرعة الصلبة ، فإن البكتريا تكون مستعمرات Colonies ، ويعتبر حجم المستعمرة وشكلها وقوامها ولونها وتركيبها ... الخ ، من الخصائص المميزة للنوع البكتيرى النامى .

٤ – الخواص الأيضية : Metabolic characteristics

تشمل تلك الخواص المسارات الكيميائية المختلفة ، الخاصة بطرق الأيض الغذائى للبكتريا ، التى تمكنها من الحصول على مايلزمها من طاقة (من مصدر ضوئى أو من مواد غير عضوية أو من مواد عضوية) ، كما تشمل تلك الخواص طرق استخدام تلك الطاقة المتحصل عليها ، لتكوين مكونات الخلية ومنتجاتها ، وطرق تنظيم التفاعلات الكيميائية الخاصة بالأيض الغذائى .

٥ – الخواص الأنتجينية : Antigenic characteristics

يشمل ذلك التفاعلات المتخصصة التى تتم بين أنتجينات أجزاء الخلية البكتيرية ومانفرزه من أجسام مضادة . على سبيل المثال يمكن التمييز بين سلالات بكتريا التيفود بخواصها الأنتجينية .

٦– الخواص الوراثية : Genetic characteristics

يشمل ذلك الدراسات الخاصة بحامض الدنا DNA الكروموسومى والبلازميدى وكذلك الرنا الرايبوسومى .

فتركيب حامض الدنا الكروموسومى صفة ثابتة ومميزة لكل نوع بكتيرى ، ويستخدم ذلك فى عمليات التقسيم البكتيرى ، وذلك من حيث

- تركيب القواعد النتروجينية بحامض الدنا
  DNA base composition, % G+C content of DNA
  وذلك بتقدير النسبة المئوية للجوانين + السيتوزين بحامض الدنا
- تتابع قواعد النيوكليوتيدات بحامض الدنا
  Sequence of nucleotide bases in the DNA ، فهذا التتابع ثابت بالنسبة للنوع .
- معرفة مدى التشابه الموجود فى تتابع النيوكليوتيدات بين دنا الأنواع المختلفة
  DNA homology .
- التهجين مابين دنا الأنواع البكتيرية ، DNA-DNA hybridization ، لمعرفة مدى القرابة بين الأفراد حتى مستوى النوع species .

وبالاضافة إلى دنا الكروموسومات ، فقد يوجد ببعض الخلايا البكتيرية بلازميدات ، وهذه تضيف مميزات خاصة للخلية البكتيرية الموجودة بها ، تفيد فى تقسيم البكتريا ، مثل القدرة على إفراز سموم ، ومقاومة المضادات الحيوية ... الخ .

كما أن دراسة تتابع قواعد النيوكليوتيدات فى الرنا الرايبوسومى rRNA ، من نوع 16S ، تفيد فى عمليات التعريف والتمييز بين مستويات التقسيم ، الأعلى من مستوى النوع species .

٧- الخواص البيئية : Ecological characteristics

يشمل ذلك الموطن التى تعيش فيه البكتريا ، وتواجدها فى الطبيعة بالأوساط البيئية المختلفة (كالهواء والمياه والأراضى والأغذية ... الخ) ، والعلاقات المتبادلة بين الأنواع وبعضها ، من تعايش أو تضاد .

٨ – القدرة الإمراضية : Pathogenicity

يشمل ذلك قدرة البكتريا على إحداث أمراض بالنبات أو الحيوان أو الانسان أو حتى بالكائنات الدقيقة الأخرى .

تعريف البكتريا : Identification

لتعريف بكتيرة ما وتسميتها ، يجب أولا عزلها والحصول عليها بحالة نقية ، ثم تحديد وضعها التقسيمى ، وبعد أن يتم ذلك ، تحدد مجموعة من الخواص المميزة لهذه البكتيرة التى تم التعرف عليها ، على أن تكون خواصا سهلة الاختبار (مثل الشكل ، تأثير الصبغ ، تخمير السكريات ، إختبارات بيوكيميائية ، ... الخ) ، تمكن فى المستقبل أى باحث آخر من إجرائها بسهولة ، للتعرف على مثل هذه البكتيرة .

ويساعد فى تعريف البكتريا ، عموما ، استخدام الطرق المتعددة الاختبارات الدقيقة الحجم ، ذات المجموعات Kits متعددة الأقسام ، كما يساعد أيضا فى التعريف ، إتباع ماهو موجود بجداول التعريف Identification tables ، حيث أن هذه الجداول تحتوى على الخصائص المطلوب فحصها لتعريف بكتيرة ما [أنظر جدول ٧ (١)-٣] ، وهى خصائص مرتبة بطريقة مركزة وبشكل متسلسل ، توجه الباحث لما يقوم به من إختبارات ، وتوفر له وقته وجهده .

ومن المصطلحات العلمية المستخدمة فى تعريف أو تصنيف البكتريا

- **النوع : Species**

النوع Species هو مجموعة أفراد بكتيرية من صنف واحد ، حيث تكون جميع أفراد المجموعة ذات صفات واحدة متشابهة ، ومن الناحية العملية قد لايحدث ذلك ، حيث نجد فى المزرعة النامى بها نوع واحد معين من البكتريا ، نجد خلايا طافرة ذات صفات مختلفة عن ذلك النوع المنزرع، من حيث الصبغ مثلا أو مسار الأيض الغذائى أو الخواص الأنتجينية ... الخ ، لأن المزرعة النامية تحتوى على ملايين الخلايا ذات أجيال وأعمار متعددة ، ويحتمل حدوث تغيرات فى صفات بعض أفرادها الناتجة ، والصفات الجديدة المكتسبة قد تكون مؤقتة أو تكون مستديمة ، مما قد ينظر الى الأفراد الجديدة الناتجة على أنها سلالة جديدة .

النوع النمطى ، النوع المرجع : Type species

النوع النمطى هو النوع الممثل للجنس Genus ، وهو عبارة عن أول نوع species تم وصفه من هذا الجنس وأخذت الصفات الخاصة به ، وأصبحت هى الصفات المميزة لأفراد النوع ، وعلى ذلك فإن النوع النمطى يحمل كل صفات النوع الخاصة بالجنس ، وهو يعتبر النوع المرجع الذى تقارن به صفات جميع الانواع الأخرى ، قبل ضمها لنفس الجنس .

جدول : ٧ (١)- ٣ : الاختبارات المستخدمة لتعريف بعض مجموعات البكتريا[1] .

الاختبارات	عصوى طويل		عصوى قصير						كروى		
	Clostridium[3]	*Bacillus*	*Pseudomonas*	*Serratia*	*Alcaligenes*[2]	*Proteus*	*E.aerogenes*	*E. coli*	*Micrococcus*	*Streptococcus*	*Staphylococcus*
درجة حرارة التحضين	٣٧°م	٣٠°م	٣٠°م	٣٠°م	٢٠°م	٣٠°م	٣٧°م	٣٧°م	٣٠°م	٣٧°م	٣٧°م
صبغة جرام والشكل	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
الحركة	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
تخمر الكربوهيدرات	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
إسالة الجيلاتين	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
التفاعل مع ابن عباد الشمس	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
اختبارات الكتاليز	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
الحاجة للأكسجين	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
النمو في المرق المغذى	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
شكل المستعمرة	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
النمو على بيئة مرق مستخلص الخميرة [1]							X	X			
إختبار الأندول							X	X			
اختبار MR-VP							X	X			
اختبار استخدام السترات						X					
اختبار اليوريز				X							
اختبار النمو على اجار المانيتول المالح			X								
اختبار الأكسيديز			X								
اختبار صبغ الجراثيم	X	X									
تحليل النشادر		X									
تحليل الكازين		X									
النمو على مرق النيوجليكولات	X										

(1) رغم أن كثيرا من البكتريا ينمو جيدا على بيئات مستخلص اللحم (مثل المرق والأجار المغذى) ، إلا أن بعض البكتريا مثل : Streptococci تتطلب بيئة أكثر غنى للنمو الجيد مثل : بيئة منقوع اللحم ، وبيئة مرق مستخلص الخميرة .

(2) يتميز ميكروب *A viscolactis* بقدرته على إحداث لزوجة شديدة في اللبن Ropiness (لبن مخاطي) ، اغمس ابرة التلقيح في سطح مزرعة ابن عباد الشمس ، ولاحظ القوام المخاطي الذي يلتصق بالابرة عند سحبها .

(3) اغلى كل البيئات السائلة لمدة ١٠ دقائق واتركها لتبرد قبل التلقيح بالـ *Clostridium* .

* المرجع : الكائنات الدقيقة عمليا (١٩٨٩) ، تأليف سيلي وفان ديمارك ، ترجمة سعد زكي وعبد الوهاب عبد الحافظ ومحمد الصاوي مبارك ، الدار العربية للنشر والتوزيع ، مدينة نصر ، القاهرة .

وعادة ماتحفظ مزارع النوع النمطى فى مؤسسات خاصة مؤهلة لذلك منها

- American Type Culture Collection, ATCC, Parklawn Drive, Rockville, Maryland, USA.
- Cairo Mircen, CAIM. Faculty of Agriculture, Ain-Shams Univ., Cairo, Egypt.
- Centraalbureau voor Schimmelcultures, Ag Baarn, Netherlands.
- Type Culture Collection, Washington, D.C.

• نموذج نمطى : Type specimen

هو النوع البكتيرى species ، الذى يتفق عليه المصنفون ليكون النموذج المرجعى ، فى وصف وتسمية النوع البكتيرى الجديد .

• السلالة : Strain

يستعمل تعبير سلالة كثيرا فى الميكروبيولوجى ، والسلالة هى نمط يتكون فى مزرعة نقية ، ناتج من نوع بكتيرى واحد ، والسلالات الناتجة من مزرعة واحدة أو مأخوذة من موقع معين ، متشابهة فيما بينها ، أو قد تختلف عن بعضها فى صفة واحدة أو فى أكثر من صفة . ويستفاد من هذه السلالات النمطية الناتجة فى نواحى تطبيقية وتجريبية .

وتعرف السلالة البكتيرية ذات الصفات الثابتة المميزة للنوع باسم **سلالة نمطية Type strain** ، قد تحفظ هذه السلالات النمطية فى مؤسسات خاصة ، مثل تلك المؤسسات التى ذكرت فى حالة حفظ النوع النمطى .

تعدد سلالات النوع الواحد

قد يكون للنوع البكتيرى الواحد عدة سلالات ، Varieties or Strains ، لكل سلالة مايميزها من صفات عن صفات السلالة الأخرى ، ويحدث ذلك عند وجود إختلافات بسيطة فى الصفات بين أفراد النوع الواحد ، لاتكفى لوضعها فى نوع مستقل بذاته .

وعند تعدد الصفات بين سلالات النوع الواحد ، فإن تلك السلالات تقسم حسب صفاتها إلى

- **سلالات حيوية Biovar (Bv.)** ، إذا كانت الاختلافات بينها فى الصفات البيوكيميائية أو الفسيولوجية
- **أو سلالات سيرولوجية Serovar (Sv.)** ، إذا كانت الاختلافات بينها فى الصفات الأنتجينية
- **أو سلالات مرضية Pathovar (Pv.)** ، إذا كانت الاختلافات بينها فى صفاتها الإمراضية بالنسبة لبعض العوامل .
- **أو سلالات مورفولوجية Morphovar (Mv.)** ، اذا كانت الاختلافات بينها فى الصفات الشكلية
- **أو سلالات فاجية Phagovar (Phv)** ، حسب قابلية السلالة للتحلل بفاج معين .

النسيلة (الجمع نسائل) ، كلون Clone

النسيلة هى مستعمرة بكتيرية ذات نمل متماثل ، نتجت من خلية واحدة ، تكاثرت لاجنسيا بالانشطار الثنائى . وفى حالة خلايا حقيقيات النواة فإن النسيلة تنتج بالانقسام الميتوزى .

وكثيرا ماتستعمل نسائل خلايا أنسجة الثدييات ، فى المزارع النسيجية الخاصة بالدراسة الفيروسية .

نظم تقسيم البكتريا : Classification schemes of Bacteria

استخدمت نظم عديدة لتقسيم البكتريا بدأت منذ عام ١٨٧٢ بواسطة العالم Cohn ، الذى إعتمد فى نظامه التقسيمى على الوصف المورفولوجى للبكتريا . وتطورت نظم التقسيم منذ ذلك الحين ، وأصبحت تعتمد الآن على مجموعة من المعايير العلمية الدقيقة التى تؤدى الى تحديد صفات الكائن ووضعه التقسيمى . ويشترط فى تلك المعايير الثبات والتميز والوضوح ، ومن هذه المعايير صفات الكائن المورفولوجية والكيميائية والمزرعية والأيضية ونوعية التكاثر ، والخصائص الأنتجينية والوراثية والبيئية والإمراضية ، التى ذكرت سابقا .

وقد ظهر آخر نظام تقسيمى للبكتريا فى مرجع برجى بطبعته الثانية لعام ٢٠٠١ * ، وقد ظهر من هذا المرجع المجلد الأول حتى كتابة هذه السطور ، وجارى استكمال باقى مجلداته الخمس .

نظام تقسيم برجى : Bergey's system

تعتمد النظم التقسيمية الخاصة بالبكتريا ، المستخدمة الآن بواسطة أغلب العاملين فى مجالات علوم البكتريولوجى ، على مواضيع أسسه علماء مرموقين ، على رأسهم Bergey. Breed and Harrison ، وقد سجلت هذه الأسس فى مرجع يسمى Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ،الذى ظهرت طبعته الأولى عام ١٩٢٣ ، وتوالت طبعاته المعدلة بعد ذلك تباعا ، إلى أن ظهرت طبعته التاسعة عام ١٩٩٤ .

ثم ظهر ذلك المرجع بأسم Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ، وكانت طبعته الثانية عام ٢٠٠١ ، وذلك بعد أن تحولت الأسس المستخدمة فى التصنيف ، من الأسس الوصفية Descriptive ، إلى الأسس التنظيمية التصنيفية Systematic .

وقد شارك فى إعداد طبعات هذا المرجع المئات من علماء البكتريا المتميزين من كل أنحاء العالم ، ساهم كل منهم بما لديه من معلومات وخبرات عن المجموعة البكتيرية المتخصص بها .

ويعتبر مرجع برجى ، عملا شبه متكامل عن تصنيف البكتريا ، يلقى قبولا واسعا من أغلب العاملين فى مجالات البكتريولوجى ، فهو يضم أسماء البكتريا ، ووصفا لها ، وبيانا

---

* **Garrit G.M. (Editor in Chief) (2001). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.** 2nd Ed., Springer, New York.

بمميزاتها ، وتحديدا لوضعها فى فئتها التصنيفية بقدر الإمكان ، مع شرح للمفاتيح الدالة على تعريف وتقسيم الانواع الجديدة من البكتريا .

وفى الطبعة التاسعة من مرجع برجى الصادرة عام ١٩٩٤ ، فقد قسمت مملكة البروكاريوتا إلى أربعة أقسام رئيسية هى :

- بكتريا حقيقية موجبة لصبغة جرام Eubacteria, G+ ve bacteria
- بكتريا حقيقية سالبة لصبغة جرام Eubacteria, G-ve bacteria
- بكتريا بدون جدار خلوى Bacteria without cell wall, e.g. Mollicutes
- بكتريا الأركيو ، الأركيوبكتريا* Archaeobacteria

وقسمت الأقسام الأربعة السابقة الى ٣٥ مجموعة Groups ، وقسمت المجاميع الى أجناس وأنواع ، وكما ذكر سابقا ، فإن نظم تقسيم برجى لما قبل عام ٢٠٠١ ، تعتمد أساسا على دلائل وصفية ، لذلك فان التركيز فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤ قائم على الأجناس والأنواع البكتيرية .

وسنورد فى الفصل الثانى من هذا الباب (السابع) ، ، تعريفا مبسطا بأهم المجاميع والأجناس والأنواع البكتيرية ، حسب نظام برجى لعام ١٩٩٤ ، المتوفر لدينا كاملا حتى الآن ، لأن مرجع برجى لعام ٢٠٠١ لم يصدر منه حتى كتابة هذه السطور سوى مجلدا واحدا فقط من خمس مجلدات .

وفى لمحة سريعة لما جاء بالمجلد الأول لمرجع برجى لعام ٢٠٠١ ، سنجد أن هذا المرجع أعتمد فى نظامه التقسيمى ، على الخصائص الوراثية للبكتريا ، خاصة مايتعلق بتتابعات الرنا الرايبوسومى 16S rRNA ، ومن هذه الدراسات فقد وضح أن الكائنات بدائية النواة تنقسم إلى مجموعتين متميزيتين Two Domains ، هما

١- مجموعة الأركيوبكتريا (البكتريا العتيقة ، Archaea) **1- Domain Archaeobacteria**

وتضم هذه المجموعة شعبتين هما

a. Phylum Crenarchaeota

b. Phylum Euryarchaeota

٢- مجموعة البكتريا (البكتريا الحقيقية ، Eubacteria) **2- Domain Bacteria**

وتضم هذه المجموعة الأقسام التالية

---

* تضم بكتريا الأركيو ، مجموعات محددة ذات صفات خاصة ، مثل البكتريا المنتجة لغاز الميثان ، والبكتريا المحبة للملوحة إجباراً .

- Gram negative bacteria
- Gram positive bacteria
- Actinobacteria
- Cyanobacteria
- Anoxygenic photobacteria
- Naked bacteria (without cell wall as *Mycoplasma*)

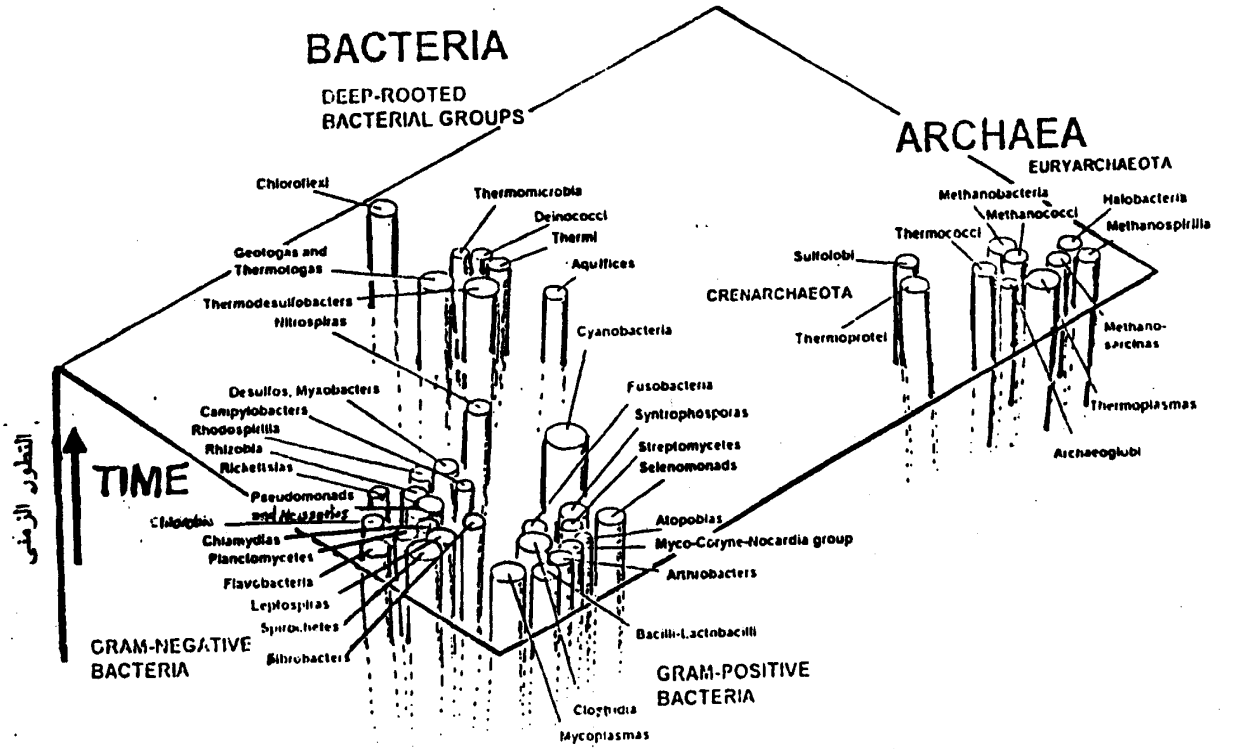
وقد قسمت كل مجموعة بكتيرية بمرجع برجى لعام ٢٠٠١ ، إلى فئـــات تصنيفيـــة ، تضم ٢٣ شعبة Phyla ، وهذه الشعب قسمت الى طوائف Classes ، ثم الى رتـــب Orders ، والى فصائل Families ، والى أجناس Genera ، والى أنواع Species ، وقد قســـمت بعـــض الطوائف إلى تحت طوائف Sub-classes ، وبعض الرتب الى تحـــت رتـــب Sub-orders ... وهكذا .

ويوضح الجدول التالى ، التسلسل التقسيمى لأحد أنواع البكتريا ، *Actinomyces bovis*[*] .

الاســـــم	الفئة (الوحدة) التقسيمية
Bacteria	مجموعة Domain
Actinobacteria	شعبة Phylum
Actinobacteria	طائفة Class
Actinobacteridae	تحت طائفة Subclass
Actinomycetales	رتبة Order
Actinomycineae	تحت رتبة Suborder
Actinomycetaceae	فصيلة Family
Actinomyces	جنس Genus
Actinomyces bovis	نوع Species

ويوضح شكل [٧ (١) - ١] وشكل [٧ (١) - ٢] ، المجموعات الرئيســـية لبدائيـــات النواة .

[*] أنظر تصنيف المجموعات البكتيرية الهامة ، بالباب السابع ، بالفصل الثانى .

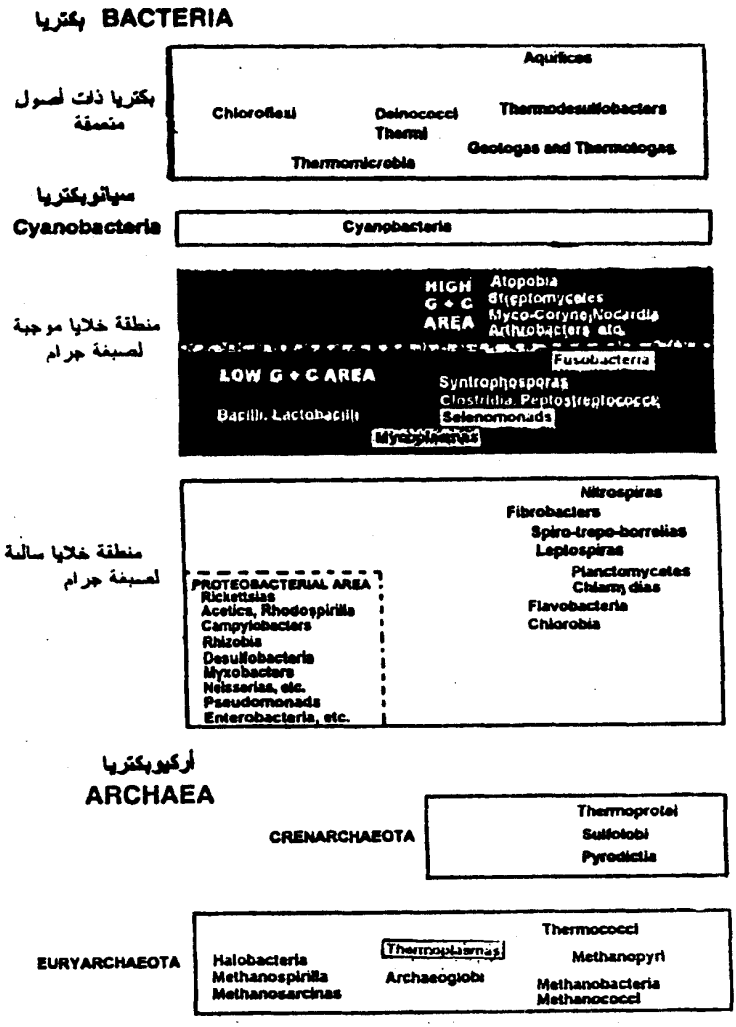


التطور الزمنى

نسبة البكتريا وتصنيفها

شكل (٧ (١)-١ : المجاميع الرئيسية للبروكاريوتا ، وقرابة بعضها لبعض ، ومنشؤها التطورى مع الزمن .
- يعبر الحجم النسبى للقرص البيضاوى عن عدد الأنواع البكتيرية بكل مجموعة .
- منشأ المجاميع البكتيرية وتطورها من الأشكال البدائية الأولى ، موضع بخطوط منقطة ، لأنه مازال موضع نقاش

From : Garrit G.M. (2001).



شكل ٧ (١) – ٢ : ترتيب مبسط يوضح الهيكل الأساسى لتقسيم المجموعات الرئيسية للبروكاريوتا .

- المستطيل الأسود يبين البكتريا الموجبة لصبغة جرام .
- المستطيلات المظللة تبين مجاميع البكتريا والأركيو التى بدون جدار خلوى .

From : Garrit G.M. (2001).

نظم تقسيمية أخرى

بالإضافة إلى نظم التقسيم الموجودة فى مرجع برجى ، فإنه يوجد نظما أخرى لتقسيم البكتريا ووضعها فى فئات تصنيفية Taxa ، منها نظام التصنيف العددى Numerical taxonomy ، ونظام التصنيف الوراثى المبنى على صلات القرابة الوراثية Genetic relatedness .

التصنيف العددى : Numerical Taxonomy ; Adansonian Taxonomy

التصنيف العددى هو إحدى الطرق المستخدمة فى تصنيف البكتريا ، وهو تصنيف مقترح بواسطة العالم Adanson, Michel المعاصر للينيوس Linnaeus . ويعتمد التصنيف العددى على الصفات المحسوسة للكائن ، مرئية كانت أو ممكن اثباتها وجودها Visible or demonstrable properties ، والتى أساسها خصائص الشكل الظاهرى Phenotypic properties ، وتظهر هذه الخصائص على الكائن ، نتيجة استجابة تركيبه الوراثى للظروف البيئية المحيطة به .

وتتوقف دقة التصنيف العددى على توفر البيانات الخاصة بأكبر عدد ممكن من الصفات التشخيصية للكائن ، والتى يمكن أن تقدر بما يتراوح مابين ١٠٠ الى ٢٠٠ صفة ، وذلك من منطلق أن لكل صفة من الصفات المستخدمة فى التصنيف العددى ، لها وزنها وتأثيرها المتساوى مع غيرها فى عملية التصنيف . ويشار لكل صفة بعلامة + أو - ، حسب وجودها أو عدم وجودها .

وبتجميع البيانات الخاصة بصفات السلالات المختلفة ، وباستخدام الحاسبات الآلية ، يمكن عمل الارتباطات المتبادلة بين تلك الصفات ، وذلك لمقارنة كل صفة تشخيصية من صفات السلالة المدروسة ، مع كل صفة تشخيصية بكل السلالات الأخرى .

ومن عدد المتشابهات Number of Similarities الموجبة والسالبة ، الموجودة بين الصفات المختلفة للسلالات ، يمكن تقدير درجة القرابة بين السلالات وبعضها Degree of relatedness ، فدرجة القرابة بين سلالة وأخرى هى المحصلة بين عدد الصفات المتشابهة التى بين السلالات ، منسوبة الى العدد الكلى للصفات المختبرة .

ويعبر عن التشابه بين أزواج من السلالات A, B ، بحساب قيمة معامل التشابه Similarity coefficient, S ، وهذا يساوى

$$S = \frac{N_{sp} + N_{sn}}{N_{sp} + N_{sn} + c + d}$$

حيث S : معامل التشابه

N_{sp} : Number of similar positive characters

أى مجموع عدد الصفات المشتركة ، المتشابهة الموجبة ، للسلالتين A , B

N_{sn} : Number of similar negative characters

أى مجموع عدد الصفات المشتركة ، المتشابهة السالبة ، للسلالتين A , B

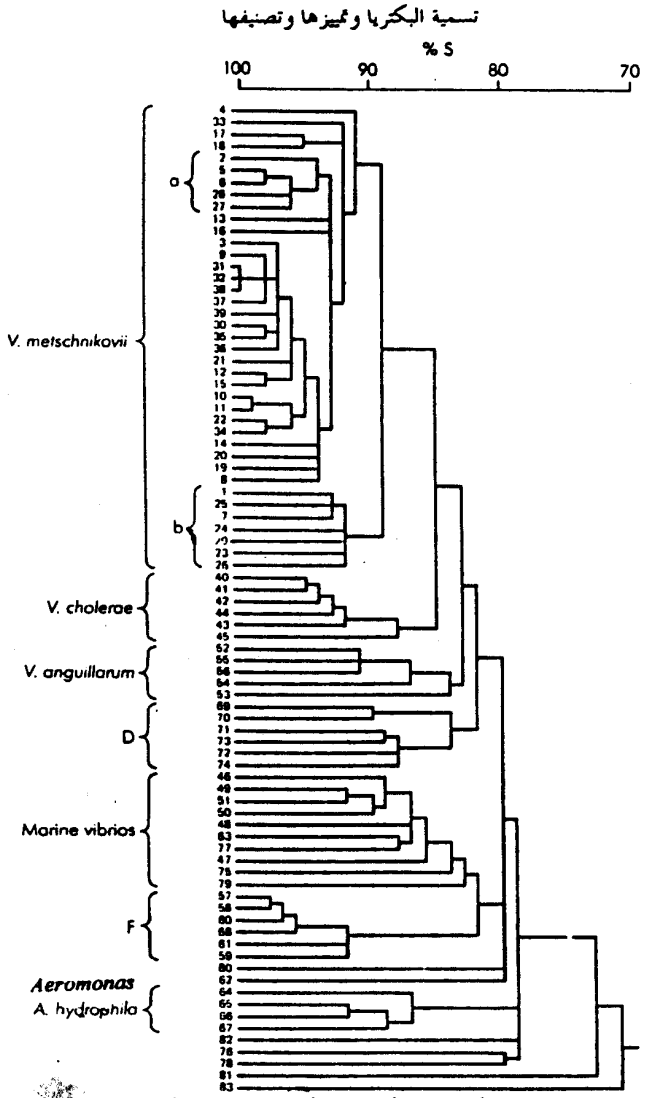
c = مجموع عدد الصفات المشتركة ، المتشابهة الموجبة بالنسبة للسلالة A والسالبة بالنسبة للسلالة B

d = مجموع عدد الصفات المشتركة ، المتشابهة السالبة بالنسبة للسلالة A ، والموجبة بالنسبة للسلالة B

قيمة S الناتجة تتراوح بين صفر الى ١ ، وقيمة ١ ، تعنى أن التشابه بين السلالتين موجود بنسبة ١٠٠% ، وقيمة أقل من ٠,٠٢ تعنى عدم وجود أى تشابه بين السلالتين .

قيم معامل التشابه S ، أو النسبة المئوية للتشابه S% المتحصل عليها ، يمكن أن يعبر عنها فى صورة مخطط شجيرى الشكل ، دندروجرام Dendrogram ، وذلك لتوضيح العلاقة ودرجة القرابة بين كل كائن وبين باقى الكائنات الأخرى التى تقع بنفس المجموعة ، وبذلك يمكن تحديد المجاميع التقسيمية للبكتريا على أساس التصنيف العددى [شكل ٧ (١) -٣] .

التصنيف العددى له أهميته التطبيقية ، كما أنه يُمكِّن الباحث من دراسة عدد كبير من صفات الكائن ، كما يُمكِّنه من التنبوء بموقع السلالة المختبرة تصنيفيا ، إلا أنه مجهد جدا فى إجرائه ، ومحدود فى استعماله ، ولايعتمد على خصائص وراثية ، لذلك فإنه ليس هناك إتفاق كامل عليه ، لاستخدامه فى تصنيف البكتريا .



شكل ٧ (١)-٣ : * دندروجرام يبين التصنيف العددى ، لعدد ٨٣ سلالة ، شبيهة بكتريا الفبريو Vibrio-like bacteria ، موجبة لاختبار الأكسيديز .

بعض المجاميع الناتجة من التقسيم تشكل أنواعا .spp للفبريو ، مثل *Vibrio cholerae* ، وغيرها .

---

*From :

Lee, J.V.: T.J. Donovan and A.L. Furniss Int. J. Syst.. Bacteriol., 28: 99-111, 1978

التصنيف الوراثى

يعتمد التصنيف الوراثى على صلات القرابة الوراثية Genetic relatedness التى توجد بين أنواع البكتريا ، أى على صفات المادة الحاملة لصفات البكتريا الوراثية ، وهى حامض الدنا ، ويتم ذلك بدراسة الصفات الوراثية الهامة المشتركة بين الأنواع البكتيرية ، واستخدام ذلك للتمييز بين الأنواع البكتيرية ووضعها فى فئات تصنيفية .

ويعتبر التصنيف الوراثى للبكتريا ، أكثر نظم التصنيف موضوعية ، لاعتماده على صفات المادة الوراثية ، كما أنه يمكننا من معرفة كيف تطورت البكتريا ، ومدى الارتباط القائم بين الأنواع البكتيرية المختلفة ، وإمكان تصميم مايعرف بشجرة السلالة (شجرة النسب) Phylogenetic tree التى تربط الأسلاف بالأحفاد ، بالنسبة لمجموعة تصنيفية معينة .

وقد أصبح واضحا الآن بعد ماتم من دراسات وراثية ، أن البكتريا (البروكاريوتا) التى نعرفها حاليا قد تطورت منذ البداية من خلال طريقين أساسيين على الأقل ، وأصبحت تكون مجموعتين متباعدتين من حيث القرابة الوراثية ، وصفات كل مجموعة منهما .

- **المجموعة الأولى** هى مجموعة **الأركيو بكتريا Archeobacteria** التى تضم مجموعات محدودة ذات صفات خاصة ، وهى تشمل البكتريا المنتجة لغاز الميثان Methanogens ، والبكتريا المحبة للملوحة إجبارا Extreme halophiles ، والبكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معا Thermoacidophiles .
- **والمجموعة الثانية** هى مجموعة **البكتريا الحقيقية الإيوبكتريا Eubacteria** ، وهى البكتريا الواسعة الانتشار ، والمعتادة بالنسبة لنا فى الوسط المحيط بنا .

والأساس فى التصنيف الوراثى ، هو مقارنة القواعد النتروجينية بحامض الدنا الموجودة فى بكتيرة ما ، بتلك القواعد الموجودة فى بكتيرة أخرى ، وتقدير النسبة المئوية للجوانين + السيتوسين بالحامض النووى Mole % G + C content of DNA .

فالأنواع البكتيرية المتشابهة أو القريبة من بعضها ، يحتوى حامضها النووى على نسب متقاربة من تلك القواعد النتروجينية ، بينما الأنواع البكتيرية التى يزيد الفرق بين نسبة قواعدها النتروجينية عن ١٠% ، فإنها لاتعتبر متشابهة وراثيا .

وجدول [٧ (١) – ٤] يوضح نسب القواعد النتروجينية فى بعض أنواع البكتريا .

جدول ٧ (١)-٤ : أمثلة لنسب القواعد النتروجينية لبعض أنواع البكتريا*

النوع البكتيرى	مول % جوانين + سيتوزين في حامض الدنا
Azospirillum brasilense	٧٠ - ٧١
A. lipoferum	٦٩ - ٧٠
Campylobacter fetus	٣٢ - ٣٥
C. jejuni	٣١
Klebsiella pneumoniae	٥٦ - ٥٨
K. terrigena	٥٧
Neisseria gonorrhoeae	٥٠ - ٥٣
N. elongata	٥٣ - ٥٤
Pseudomonas aeruginosa	٦٧
P. cichorii	٥٩

*Ref.

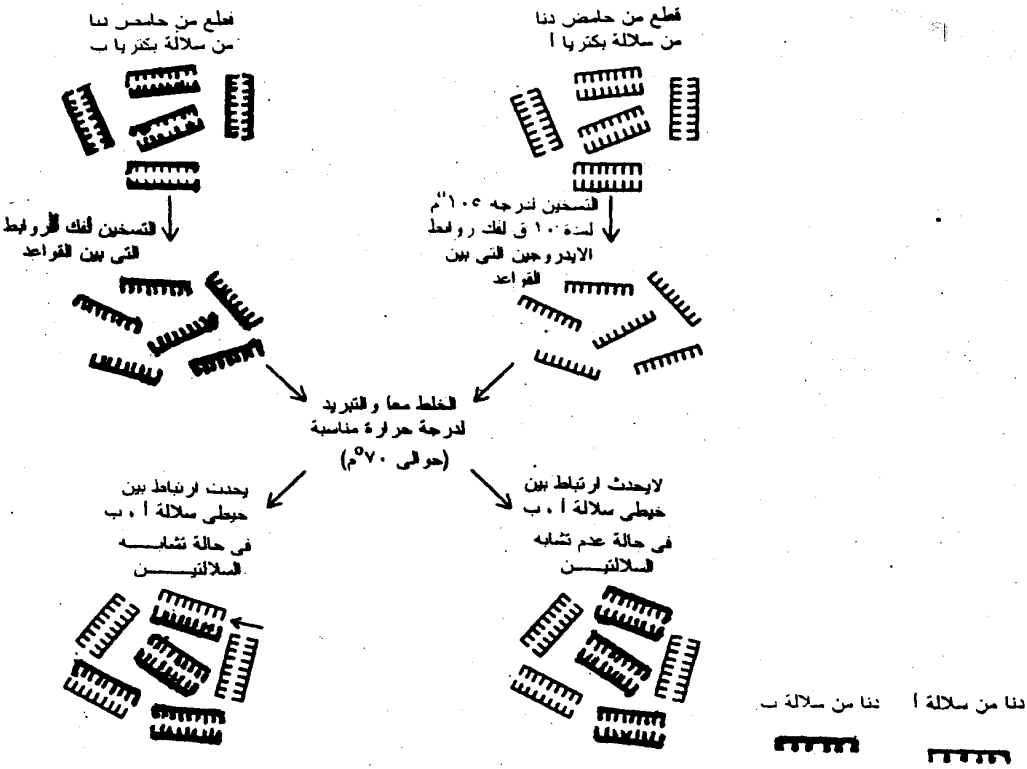
Krieg N.R. (ed.) 1984
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore, USA

ونظرا لوجود أنواع بكتيرية مختلفة عن بعضها ، ولكنها تحتوى على نسب متشابهة من القواعد النتروجينية بحامض الدنا ، فإن دراسات التصنيف الوراثى تستكمل بدراسة تتابع قواعد النيوكليوتيدات الموجودة بحامض الدنا ، حيث أن هذا التتابع صفة ثابتة للنوع ، ولايتأثر بعمر الخلية أو بالمؤثرات الخارجية ، عدا المواد المطفرة .

تقنية التشابه والتهجين بين الدنا

من التقنيات المستخدمة الآن لمقارنة الأنواع البكتيرية ببعضها ، ومعرفة صلات القرابة الوراثية التى بينها ، ومدى التشابه الموجود فى تتابع النيوكليوتيدات بين كروموسومين لكائنين مختلفين انحدرا من سلف مشترك ، هو تقنية التشابه بين دنا الأنواع DNA homology ، وتقنية التهجين بين الدنا DNA-DNA hybridization ، وكذلك تقنية التشابه فى الرنا الرايبوسومى من نوع 16S rRNA homology ، Ribosomal, 16S بين الأنواع ، وتقنية التهجين بين الرنا الرايبوسومى والدنا rRNA-DNA hybridization (أنظر ص ٣٦٤ و ٣٦٦) .

والشكل (٧ (١)-٤) التخطيطى التالى يوضح الأساس فى تجارب تقنية التشـــابه فـــى الدنـــا .



---

* تميز قطع دنا السلالة أ عن قطع دنا السلالة ب ، بادخال قاعدة نتروجينية مثل اليوراسيل ذات نظـــير مشـــع ^{14}C بحامض دنا السلالة أ .

** تقدير درجة التشابه بين الأنواع ، يتم بتقدير النسبة المئوية الناتجة من ارتباط الدنا المشع من السلالة أ ، مـــع الدنـــا العادى بالسلالة ب .

تقنية التشابه فى الرنا الرايبوسومى : r-RNA homology

يشفر لتخليق حامض الرنا الرايبوسومى r-RNA ، جزء جينى من دنا DNA الخلية البكتيرية ، يحمل المعلومات الخاصة بتكوين الرنا الرايبوسومى ، يسمى RNA cistron ، ومن دراسة تتابع قواعد النيوكليوتيدات فى هذا الجين ، وبمقارنتها بتلك الموجودة فى نوع بكتيرى آخر ، يمكن معرفة درجة التشابه وصلة القرابة الوراثية بينهما .

علم تطور السلالات البكتيرية : * Bacterial phylogeny

بتقدم الدراسات الخاصة بعلم الميكروبيولوجيا الجزيئية منذ الستينات من القرن الماضى، ومع تقدم نظم التصنيف الوراثى للبكتريا ، وُضع الأساس لعلم تطور السلالات البكتيرية ، وهو العلم الذى يدرس نشوء وتطور السلالات والأنواع والمجاميع البكتيرية ، وأزمنة حدوث تلك التطورات ، ومدى الارتباط الموجود بين الانواع البكتيرية المختلفة . وقد أمكن بذلك تصميم مخطط ، يعرف بشجرة السلالة البكتيرية Phylogenetic tree ، وهو المخطط الذى يبين روابط النسب بين الأنواع البكتيرية ، والتسلسل التاريخى الذى يربط الأسلاف بالأحفاد .

وتقدم دراسة تتابع قواعد النيوكليوتيدات الموجودة فى حامض الرنا الرايبوسومى rRNA ، الأساس المناسب لدراسة تطور السلالات . فالرايبوسومات توجد بكل خلية لأنها مكان تخليق البروتينات بالخلية ، كما أن تتابع قواعد الرنا الرايبوسومى ، هى صفة ثابتة بالنسبة للنوع البكتيرى ، ولايتأثر هذا التتابع بالمؤثرات المختلفة التى تتعرض لها الخلية ، والأساس فى المقارنة بين الخلايا البكتيرية المختلفة هو 16S rRNA الموجود برايبوسوم 30S ، ومن الطبيعى فان خلايا البروكاريوتا تختلف فى تتابع قواعدها عن ذلك التتابع الموجود بالأحياء حقيقية النواة ، الايوكاريوتا .

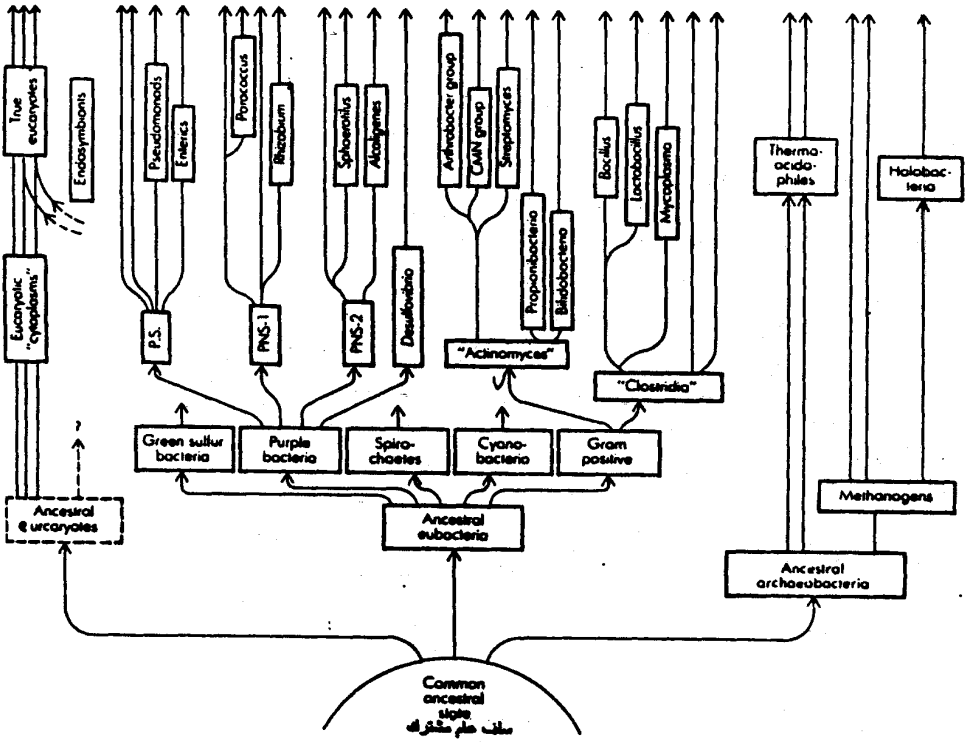
وكما ذكر سابقا ، فإن الدراسات الوراثية ، وما أنجز من دراسة تتابع القواعد النتروجينية فى حامض 16S rRNA ، أوضحت أن البروكاريوتا ، تشعبت منذ بداية التطور الى مجموعتين أساسيتين ، هما الأركيوباكتريا والإيوبكتريا . وقد أمكن بعمل دراسات مقارنة بين الخلايا المختلفة ، التعرف على علاقات النسب الموجودة بين الأركيوباكتريا ، والإيوباكتريا، والإيوكاريوتا [شكل ٧ (١)-٥] .

---

* **Phylogeny** : علم تطور السلالات ، علم تسلسل الأحياء ، علم التطور السلفى

العلم الذى يدرس نشوء وتطور ، نوع ما ، أو سلالة ما ، أو مجموعة ما من الكائنات ، منذ نشأتها الأولى حتى وصولها إلى شكلها المعاصر .

وكذلك يدرس العلم العلاقات التى تربط بين تلك الأنواع التى تطورت ، وتواريخ تلك التطورات



شكل ٧ (١)-٥ : رسم تخطيطى يوضح المجاميع الرئيسية للبكتريا المنحدرة من سلف عام مشـــترك ، مستمدة من دراسة تتابع القواعد فى rRNA .

ويلاحظ التفرع المبكر للأركيوباكتريا عن باقى المجاميع ، ووجود تفرع ثـالث مـن المركز يؤدى الى الكائنات حقيقية النواة .

From : Fox, G.E. 1980. **Science, 209: 457-463.**

التصنيف المصلى : Serotyping

فى بعض الحالات ، تستخدم الخواص المناعية والتفاعلات السيرولوجية للتمييز بين سلالات النوع البكتيرى الواحد ، وذلك حسب الإختلافات الأنتجينية التى توجد بين تلك السلالات .

على سبيل المثال ، فإن البكتريا المسببة للالتهاب الرئوى الفصى والشعبى *Streptococcus pneumoniae* تضم أكثر من ٧٥ سلالة ، (يطلق عليها Type I, Type II ... etc.) ، وتختلف السلالات فيما بينها فى نوع السكريات المعقدة الداخلة فى تركيب الكابسول ، وتستخدم الأجسام المضادة الموجودة بسيروم الدم للتمييز بين تلك السلالات ، ولذلك تسمى هذه السلالات المختلفة عن بعضها فى خواصها الأنتجينية ، بطرز مصلية Serotypes .

وكذلك فإن البكتريا السبحية المحللة لكرات الدم الحمراء ، تقسم الى طرز مصلية حسب التركيب الكيميائى لأنتجيناتها الكربوهيدراتية .

التصنيف بواسطة البكتريوفاج : Bacteriophage typing

طريقة تستخدم فيها الفاجات لتصنيف سلالات البكتريا الهامة صناعيا أو مرضيا ، التابعة لنوع بكتيرى واحد ، مثل السلالات التابعة لبكتريا السالمونيلا ، والسلالات التابعة للبكتريا العنقودية .

وتعتمد هذه الطريقة على خواص جدار سلالة الخلية البكتيرية ، وبالتالى على مدى مقاومتها أو قابليتها للتحلل بواسطة الفاجات المستخدمة ، وتفيد هذه الطريقة فى تشخيص السلالة البكتيرية المسببة للمرض .

﴿الباب السابع – الفصل الثانى﴾

المجموعات البكتيرية الهامة

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

المجموعات البكتيرية الهامة (الواردة بهذا الفصل)

A – البكتريا الكروية الموجبة لصبغة جرام ٣٩١
Gram-positive, Cocci ..... **[جدول ٧ (٢) – ١]** ٣٩١
A1 – الأجناس الكروية الهوائية ٣٩٢
A2 – الأجناس الكروية المحبة للأكسجين بكمية قليلة ٣٩٢
A3 – الأجناس الكروية الاختيارية للهواء ٣٩٥
A4 – الأجناس الكروية اللاهوائية ..... **جدول ٧ (٢) – ٢]** ٣٩٦

B – البكتريا الكروية السالبة لصبغة جرام ٣٩٧
Gram-negative, Cocci ..... **[جدول ٧ (٢) – ٣]** ٣٩٧
B1 – الأجناس الكروية الهوائيـــة ٣٩٧
B2 –الأجناس الكروية اللاهوائية ٣٩٩

C – البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام المتجرثمة داخليا ٤٠٠
Endospore-forming, Gram-positive, Rods [جدول ٧ (٢) – ٤] ٤٠٠
C1 – الأجناس الهوائية المتجرثمة داخليا ٤٠٠
المجموعة الأولى : ذات جراثيم مستديرة أو بيضاوية واسبورانجيا غير منتفخة ٤٠٠
المجموعة الثانية : ذات جراثيم بيضاوية ، واسبورانجيا منتفخة ٤٠٣
المجموعة لثالثة : ذات جراثيم مستديرة ٤٠٣
C2 – الأجناس اللاهوائية المتجرثمة داخليا ٤٠٤

D – البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة (منتظمة الأشكال)
Non-sporing, Gram-positive, Rods (Regular forms)
..... **[جدول ٧ (٢) – ٥]** ٤٠٦
D1 – الأجناس الهوائية ٤٠٦
D2 – الأجناس الاختيارية للهواء ٤٠٧
D3 – الأجناس المحبة للأكسجين بكمية قليلة ٤٠٨

المحتويات

الموضوع	الصفحة
E – البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة (غير منتظمة الأشكال) – مجموعة الكورين	٤٠٩
Non-sporing Gram-positive, Rods (Irregular forms)	
..... **[جدول ٧ (٢) – ٦]**	٤٠٩
E1 – مجموعة بكتريا الكوريـــن	٤٠٩
أجناس هوائية أو اختيارية	٤١٠
E2 – مجموعة النوكارديـــــا	٤١٣
E3 –أجناس لاهوائيـــــــة	٤١٥
F – البكتريا الخيطية الموجبة لصبغة جرام Gram-positive, Filamentous	٤١٧
مجموعة الأكتينومايسيتات Actinomycetes	٤١٧
..... **[جدول ٧ (٢)–٧]**	٤١٩
F1 – مجموعة الأكتينومايسيس *Actinomyces*	٤٢١
مجموعة I : بكتريا خيطية تنقسم هيفاتها فى مستوى واحد	٤٢١
مجموعة II : بكتريا خيطية تنقسم هيفاتها فى أكثر من مستوى	٤٢٣
مجموعة III : أجناس ذات صفات خاصة	٤٢٤
F2 – مجموعة الأستربتومايسيس *Streptomyces*	٤٢٦
G – البكتريا العصوية السالبة لصبغة جرام ، هوائية واختيارية للـــهواء	
..... **Gram-negative, Rods, Aerobes and Facultatives**	٤٣١
..... **[جدول ٧ (٢) – ٩]**	٤٣٢
G1 – فصائل هوائية	٤٣١
G2 – فصائل هوائية مثبتة أو غير مثبتة لنتروجين الهواء الجوى ...	٤٣٦
G3 – أجناس هوائية لاتتبع فصائل معينة **[جدول ٧ (٢) – ١٠]**	٤٣٨
G4 – فصائل إختيارية للهواء ..... **[جدول ٧ (٢) – ١١ و ١٢]**	٤٣٩ ، ٤٤٠
G5 – أجناس إختيارية للهواء لاتتبع فصائل معينة **[جدول ٧ (٢) – ٩]**	٤٤٤
H – البكتريا العصوية السالبة لصبغة جرام اللاهوائية (غير المختزلـــة للكبريت)	٤٤٥
Gram-negative. Rods, Anaerobes	
مميزات بعض الأجناس ..... **[جدول ٧ (٢) – ١٣]**	٤٤٦

المحتويات

الموضوع	الصفحة
I – البكتريـــا اللاهوائيـــة المختزلـــة للكـــبريت أو الكبريتـــات (عصوية ، كروية ، واوية)	
Sulfur or sulfate-reducing anaerobic bacteria	٤٤٧
..... [جدول ٧ (٢) – ١٤]	٤٤٧
J – البكتريا السالبة لصبغة جرام المنحنيةGram-negative Curved rods	
..... [جدول ٧ (٢) – ١٥]	٤٤٨
J1 – أجناس هوائية متحـــــركة	٤٤٩
J2 – أجناس هوائية غير متحركة	٤٥٢
J3 – أجنـــاس لاهوائيـــــــة	٤٥٢
K – مجموعـــــة الســـــبيروكيتا The Spirochaetes	
(بكتريا حلزونية سالبة لصبغة جرام) ..... [جدول ٧ (٢) – ١٧]	٤٥٤ ، ٤٥٥
1 – فصيلة Spirochaetaceae	٤٥٤
2 – فصيلة Leptospiraceae	٤٥٤
L – بكتريا سالبة لصبغة جرام ذات تركيبات خاصة ..... Gram-negative bacteria with special structures	٤٥٦
..... [جدول ٧ (٢) – ١٨]	٤٥٦
L1 – البكتريا المغلفة Sheathed bacteria	٤٥٨
L2 – البكتريا ذات الزوائد Prosthecated	٤٥٩
L3 – البكتريا ذات السوق Stalked bacteria	٤٦١
L4 – البكتريا المتبرعمة Budding bacteria	٤٦٢
١– متبرعمة ذات زوائـــد	٤٦٢
٢– متبرعمة مكونة لسوق	٤٦٣
L5 – البكتريا الزاحفة Gliding bacteria [جدول ٧ (٢) – ١٩]	٤٦٤ ، ٤٦٥
١– البكتريا الزاحفة العصويـــة المكونـــة لأجســـام ثمريـــة (المكسوبكتريا)..... جدول [٧ (٢) – ٢٠]	٤٦٥ ، ٤٦٦
٢– البكتريا الزاحفة العصوية غير المكونـــــة لأجســـام ثمريـــــة (مجموعة السيتوفاجا) [جدول ٧(٢)–٢١]	٤٧٠
٣– البكتريا الزاحفـــة الخيطيـــة غـــير المكونـــة لأجســـام ثمريـــــة وممثلة للمواد العضوية [جدول ٧(٢)–٢٢]	٤٧٣
٤– البكتريا الزاحفة غير المكونـــــة لأجســـام ثمريـــــة ، المؤكســـدة للكبريت ..... [جدول ٧ (٢)– ١٩]	٤٧٤

المحتويات

الموضوع **الصفحة**

M – الريكتسيات والكلاميديات The Rickettsias and Chlamydias ٤٧٧
..... [جدول ٧ (٢) – ٢٣] ٤٧٨
M1 – الريكتسيات ٤٧٧
M2 – الكلاميديات ٤٨٢

N – الميكوبلازمات (موليكيوتس) ، بكتريا عديمة الجدار الخلوى
Mycoplasma (Mollicutes), Cell wall-less bacteria ٤٨٤
..... [جدول ٧ (٢) – ٢٦] ٤٨٤

O – البكتريا الهوائية ، ذاتية التغذية ، كيميائية الطاقة .....
Aerobic chemolithotrophic bacteria [جدول ٧ (٢) – ٢٧] ٤٨٨
O1 – بكتريا النترتة ٤٨٩
أ – البكتريا المؤكسدة للأمونيا ٤٩٠
ب – البكتريا المؤكسدة للنتريت ٤٩١
O2 – البكتريا المؤكسدة و/أو المرسبة للحديد والمنجنيز ٤٩٢
O3 – البكتريا غير الملونة المؤكسدة للكبريت ٤٩٣

P – البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين ٤٩٦
Anoxygenic phototrophic bacteria ... [جدول ٧ (٢) – ٣٠] ٤٩٦
أهم فروقات خصائص التمثيل الضوئى بين البكتريا والسيانوبكتريا
..... [جدول ٧ (٢) – ٣١] ٥٠٠
P1 – البكتريا الممثلة للضوء الأرجوانية ٥٠٢
..... [جدول ٧ (٢) – ٣٢] ٥٠٤
أ – أرجوانية كبريتية Chromatiaceae ٥٠٥
ب – أرجوانية غير كبريتية Rhodospirillaceae ٥٠٨

P2 – البكتريا الممثلة للضوء الخضراء [جدولى ٧ (٢)– ٣٠و٣٢] ٥١١
خضراء كبريتية Chlorobiaceae ٥١١
خضراء غير كبريتية Chloroflexaceae ٥١٢

المحتويات

الموضوع	الصفحة
Q – البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين ..... Oxygenic phototrophic bacteria	٥١٣
Q1 – السيانوبكتريا Cyanobacteria	٥١٣
..... [جدولى ٧ (٢)-٣٤و٣٥]	٥١٤ ، ٥١٥
أقسام السيانوبكتريا	٥١٧
١- رتبة Chroococcales	٥١٧
٢- رتبة Pleurocapsales	٥١٧
٣- رتبة Oscillatoriales	٥١٨
٤- رتبة Nostocales	٥١٨
٥- رتبة Stigonematales	٥١٩
الانقسام المتعدد فى خلايا السيانوبكتريا	٥١٩
Q2 – البروكلوروفايت Prochlorophytes	٥٢١
R – مجموعة الأركيوبكتريا Archaeobacteria	٥٢٢
بعض الفروقات الأساسية بين الاركيوبكتريا والايوبكتريا	
..... [جدول ٧ (٢) – ٣٦]	٥٢٣
أقسام الأركيوبكتريا	٥٢٣
١- البكتريا المنتجة لغاز الميثان Methanogens	٥٢٤
..... [جدولى ٧ (٢)- ٣٧و ٣٨]	٥٢٤ ، ٥٢٥
٢- البكتريا المحبة للملوحة إجبارا Extremely Halobacteria	٥٢٧
..... [جدول ٧ (٢)-٣٧]	
٣- البكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معـــــــا	٥٢٨
..... Thermoacidophiles..... [جدول ٧ (٢) -٣٧]	
أ – أجناس هوائيـــة	٥٢٨
ب – أجناس لاهوائية	٥٢٨
٤- الأركيوبكتريا عديمة الجدار الخلوى	
Cell-wall-less archeobacteria ... [جدول ٧ (٢)-٣٧]	٥٢٩
٥- الأركيوبكتريا المختزلة للكبريتات	
Archaeal sulfate- reducers ... [جدول ٧ (٢) – ٣٧]	٥٢٩
مراجـــع الباب السابع (فصل ١ ، ٢)	٥٣٠

﴿الباب السابع - الفصل الثانى﴾

المجموعات البكتيرية الهامة
Important Bacterial Groups

فيما يلى حصر موجز لأهم المجموعات والأجناس البكتيرية ، مقسمة حسب أشكالها (كروى ، عصوى ، حلزونى) ، وتأثرها بالصبغ بصبغة جرام (موجب أو سالب) ، وعلاقتها بأكسجين الهواء الجوى (هوائية ، إختيارية ، لاهوائية) ، والتجرثم وبعض الخواص الأخرى ، مع تعريف مبسط ومختصر بأهم مميزات كل مجموعة ، وذلك حسب الأسس التى جاءت فى نظام برجى فى طبعاته من ١٩٨٤ إلى ١٩٨٩* والطبعة التاسعة الصادرة عام ١٩٩٤** ، بهدف تعريف القارىء بأهم الأجناس والأنواع الموجودة فى عالم البكتريا .

A- البكتريا الكروية الموجبة لصبغة جرام : Gram positive , Cocci

[جدول ٧ (٢) ١]

يتبع هذه المجموعة أجناس بكتيرية موجبة لصبغة جرام ، هوائية حتما مثل ***Micrococcus*** ، أو محبة للأكسجين بكمية قليلة مثل ***Streptococcus*** ، كما يتبعها أجناس لاهوائية مثل ***Ruminococcus*** .

جدول ٧ (٢)-١ : أجناس البكتريا الكروية الموجبة لصبغة جرام
(Group 17, Bergey's 1994)

هوائية (A1)	محبة لكمية قليلة من الأكسجين (A2)	اختيارية للهواء (A3)	لاهوائية (A4)
Micrococcus *Planococcus*	*Lactococcus* *Leuconostoc* *Pediococcus* *Streptococcus*	*Deinococcus* *Staphylococcus*	*Coprococcus* *Peptococcus* *Peptostreptococcus* *Ruminococcus* *Sarcina*

* **Krieg, N.R. and J.G. Holt (1984-89). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology,** Vol. 1,2,3 & 4, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.

** **Williams R.H. (ed.) 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** 9th Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, ISBN 0-683-00603-7.

وهى المراجع المتوفرة لدينا كاملة حتى الآن ، لأن آخر نظام لتقسيم برجى لعام ٢٠٠١ ، لم يصدر منه حتى كتابة هذه السطور ، سوى مجلداً واحداً فقط من خمسة مجلدات (أنظر ص ٣٧١) .

A1- الأجناس الكروية الهوائية

١ - *Micrococcus*

أنواع هذا الجنس كروية مفردة أو فى تجمعات ، غير متحركة ، ومنها أنواع تكون مستعمراتا ملونة ، صفراء وبرتقالية وحمراء اللون ، باطباق البيئة الصلبة الهوائية . وأنواع الجنس مترممة ، وتوجد بالتربة والمياه وعلى جلد الانسان والحيوان ، كما يتميز الجنس بمحتواه العالى من القواعد النتروجينية الجوانين والسيتوزين (من ٦٦ - ٧٢%) .

وفيما سبق كانت بعض أنواع الجنس مثل *M. luteus* ، كانت تنسب الى جنس *Sarcina* ، لتجمع خلاياها فى مجموعات [أنظر جدولى ٧ (١) ١ و ٢] .

من الانواع التابعة *M. luteus*

٢- Planococcus

أنواع جنس *Planococcus* هوائية ، متحركة بواسطة من ١ الى ٣ أسواط ، وتكون البلانوكوكاس مستعمراتا صفراء بنية اللون ، وهى مترممة وتوجد بالأوساط المائية .

A2 - الأجناس الكروية المحبة للأكسجين بكمية قليلة (بكتريا حامض اللاكتيك الكروية)

يتبع البكتريا الكروية أجناس بكتريا حامض اللاكتيك الكروية [شكلى ٧ (٢) ١ و ٢]، وهى أجناس *Lactococcus* ، *Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus* .

وتوجد هذه البكتريا فى سلاسل قصيرة أو طويلة ، وهى محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، سالبة لإختبار الكاتاليز* ولايحتوى معظمها على السيتوكرومات ، وتعتمد على التخمرات فى الحصول على طاقتها ، وهى تخمر السكريات الى حامض لاكتيك ، ومنها ، ماهو متماثل التخمر** Homofermentative مثل الاستربتوكوكاس ، ومنها ماهو خليط التخمر** Heterofermentative ، مثل اللوكونوستوك .

١- *Leuconostoc*

أنواع هذا الجنس خليطة التخمر ، مترممة ، وتستعمل كبادىء فى الصناعات اللبنية لتكون من حامض الستريك ، مادة 2,3 butane dione (الداى اسيتايل Diacetyl) ، التى تكسب المنتج الطعم المرغوب فيه .

من الأنواع التابعة *L. cremoris, L. dextranicum, L. mesenteroides* .

---

* الكتاليز ازيم يحول H_2O_2 الى ماء وأكسجين .

** متماثل التخمر Homofermentative : يكون حامض اللاكتيك أكثر من ٩٠% من نواتج التخمر للسكريات .

خليط التخمر Heterofermentative: يتكون بنواتج تخمر السكريات ، حامض لاكتيك مع مواد أخرى مثل الايثانول .

٢- *Pediococcus*

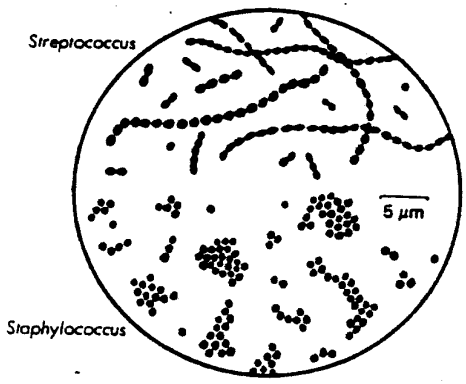
أنواع هذا الجنس مترممة ، وتسبب لزوجة بالوسط لما تفرزه من مواد عديدة التسكر . من الانواع التابعة *P. cerevisiae* [شكل ٧ (٢) - ٢] .

٣- *Streptococcus* [شكل ٧ (٢) - ١]

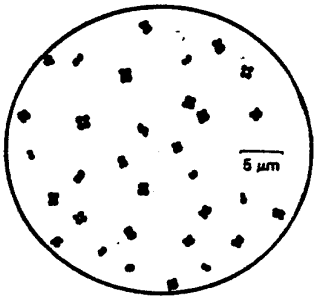
أنواع هذا الجنس ذات إحتياجات غذائية معقدة ، ويوجد عدة نظم لتقسيم أنواع هذا الجنس .

فبعض أنواع هذا الجنس تقسم إلى مجموعات ، تعرف بمجموعات لانسفيلد Lancefield groups ، وذلك حسب الاختلافات الموجودة بالمركبات عديدة السكريات الداخلة فى تكوين جدر خلايا الإستربتوكوكاس .

كما أن بعض أنواع هذا الجنس تقسم حسب تأثيرها على كرات الدم الحمراء ، الى أنواع محللة لكرات الدم الحمراء من نوع ألفا وبيتا (α & β-hemolytic)* ، وأخرى غير محللة لكرات الدم الحمراء ، Non-hemolytic .



شكل ٧ (٢) - ١ : رسم لخلايا
Staphylococcus and *Streptococcus*



شكل ٧ (٢)-٢ : رسم لخلايا
Pediococcus cerevisiae

---

* α-hemolytic streptococci ، بكتريا سبحية محللة جزئياً لكرات الدم الحمراء ، حيث تكون هالة معتمة عديمة اللون أو خضراء اللون ، حول المستعمرات النامية فى بيئة آجار الدم ، مثل *S. viridans* .

β-hemolytic streptococci بكتريا سبحية محللة تماماً لكرات الدم الحمراء ، حيث تكون هالة رائقة عديمة اللون تماماً ، حول المستعمرات النامية فى بيئة آجار الدم ، مثل *S. pyogenes* .

Non-hemolytic streptococci ، بكتريا سبحية غير محللة لكرات الدم الحمراء ، حيث تكون مستعمراتاً فى بيئة آجار الدم ، غير محاطه بأية هالة ، مثل *S. faecalis* .

يتبع جنس استربتوكوكاس أنواع عديدة هامة ، منها

أ – *S. lactis & S. cremoris*

تتبع هذه البكتريا مجموعة Lancefield group N ، وهى أنواع هامة فى الألبان وفى صناعة المنتجات اللبنية كالألبان المتخمرة والجبن .

وقد أصبحت هذه الأنواع الآن تنسب الى جنس *Lactococcus* [أنظر جدول ٧ (١)- ١ و ٢]

ب – *S. faecalis (Enterococcus faecalis)*

تتبع هذه البكتريا مجموعة Lancefield group D ، وتوجد هذه البكتريا طبيعيا بأمعاء الانسان والحيوان ، لذلك تسمى أحيانا بالكرويات المعوية Enterococci .

ووجود هذه البكتريا بمياه الشرب ، يعنى تلوث المياه بمخلفات المجارى . ومن هذه البكتريا سلالات إنتهازية (نهازة للفرص) Opportunistic وتسبب عدوى للجهاز البولى .

جـ – *S. mutans*

غير محللة لكرات الدم ، ولاتتبع مجموعة لانسفيلد ، وتقطن هذه البكتريا بتجويف الفم ، وهى المسبب الرئيسى لتسوس الأسنان .

د – *S. pyogenes*

تتبع هذه البكتريا Lancefield group A ، كما أنها من النوع β-hemolytic . وهذه البكتريا ممرضة وتسبب عددا من الأمراض ، منها التهابات الزور والحمى القرمزية والحمى الروماتزمية .

هـ – *S. pneumoniae*

وهى من النوع α-hemolytic ، وغير محدد لها مجموعة لانسفيلد ، وهذه البكتريا تعتبر المسبب الرئيسى لمعظم حالات الإلتهاب الرئوى الفصى بالانسان Lobar pneumonia . وكانت هذه البكتريا تعرف سابقا باسم *Diplococcus pneumoniae* ، وتسمى عرفيا بالكرويات الرئوية Pneumococci .

٤ – *Lactococcus & Streptococcus*

فى بعض نظم تقسيم بكتريا حامض اللاكتيك الكروية ، يوجد جنس *Lactococcus* . وينتمى إلى هذا الجنس بعض الانواع التى كانت تتبع جنس *Streptococcus* ، مثل استبدال اسم *S. lactis* بـ *Lactococcus lactis* subsp, *lactis* ، واستبدال اسم *S. cremoris* بـ *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* .

A3 – الأجناس الكروية الموجبة لصبغة جرام الاختيارية للهواء

١ – ***Deinococcus***

توجد أنواع هذا الجنس فى تجمعات ، ويكون مستعمراتاً حمراء اللون على البيئة الصلبة ، وهو مقاوم للإشعاع لذلك يفسد الأغذية المحفوظة بالتشعيع .

من الانواع التابعة *D. radiodurans* .

٢ – ***Staphylococcus*** [شكل ٧ (٢)-١] .

استمد جنس Staphylococcus اسمه من نظام تجمع أفراده ، الذى يكون فى شكل عنقود* (Staphyle) ، ينتج من إنقسام الخلايا الكروية فى مستويات متعددة .

وأنواع جنس الاستافيلوكوكاس غير متحركة ، إختيارية للهواء ، تكون السيتوكروم بخلاياها تحت الظروف الهوائية فقط ، وهى موجبة لإختبار الكاتاليز ، ومقاومة نسبياً للجفاف ، وتوجد على الجلد والأغشية المخاطية للإنسان وحيوانات ذوات الدم الحار .

النوع *S. aureus* يكون مستعمراتاً ذهبية اللون ، وهو ممرض ، ويكون الصديد بالجروح والدمامل والخراريج ، كما يسبب مرض التهاب الضرع بالحيوانات ، ومنه سلالات مفرزة لسموم معوية Enterotoxins بالغذاء خاصة غير المحفوظ بالمبردات ، تسبب تسمماتاً للإنسان .

من الأنواع التابعة للجنس : .

S. albus, S. aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus

---

* Staphyle : كلمة ذات أصل إغريقى تعنى عنقود العنب .

A4 – الأجناس الكروية الموجبة لصبغة جرام اللاهوائية

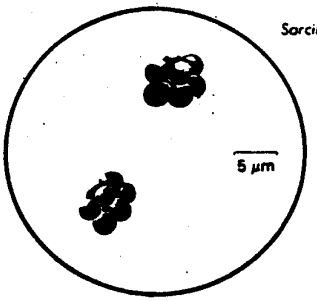
جدول [٧ (٢)-٢] يوضح بعض المميزات الخاصة بالأجناس البكتيرية الكروية الموجبة لصبغة جرام اللاهوائية .

جدول ٧ (٢)-٢ : مميزات بعض أجناس البكتريا الكروية ، الموجبة لصبغة جرام ، اللاهوائية.

الجنس والانواع	نظام تجمع الخلايا	المصدر الرئيسى للكربون والنتروجين	التواجد
Coprococcus	أزواج أو سلاسل	الكربوهيدرات	براز الانسان
Peptococcus	أزواج أو سلاسل أو تجمعات	ببتون أو أحماض أمينية	– الجهاز التنفسى والمعوى للانسان – طين الخلجان
Peptostreptococcus	أزواج أو سلاسل	ببتون أو أحماض أمينية	العينات الإكلينيكية للإنسان
Ruminococcus *R. albus,* *R. flavefaciens*	أزواج أو سلاسل	الكربوهيدرات	كرش المجترات
Sarcina *S. flava, S. lutea,* *S. ventriculi*	مكعبات من ثمانية خلايا	الكربوهيدرات	الأراضى ، الحبوب ، امعاء المرضى

Sarcina ventriculi [شكل ٧ (٢)-٣] بكتريا لاهوائية ، ويمكن عزلها من الأراضى، ولكنها توجد عادة فى المحتويات المعوية للمرضى بأمراض المعدة .

وتمتاز هذه البكتريا بكبر حجم خليتها (قطر الخلية حوالى ٤ ميكرومتر) ، وبتجمع خلاياها فى تجمعات كبيرة (تحتوى المجموعة على حوالى ٦٥ خلية مرتبطة مع بعضها بالسليلوز) ، وبقدرتها على النمو فى مجال متسع من ق يد يتراوح بين ٠,٩ الى ٩,٨ ، وبتكوينها لجراثيم داخلية .



شكل ٧ (٢)-٣ : رسم لخلايا *Sarcina ventriculi* .

B - البكتريا الكروية السالبة لصبغة جرام : Gram negative Cocci

[جدول ٧ (٢) - ٣]

تضم هذه المجموعة بكتريا كروية Cocci وبكتريا كروية عصوية قصيرة جدا (Cocco-bacilli) .

وأفراد هذه المجموعة سالبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، منها الهوائى واللاهوائى ، والمترمم والممرض ، ومايعيش بالجهاز المعوى ، وبالأغشية المخاطية لكثير من الحيوانات .

جدول ٧ (٢)-٣ : أجناس البكتريا الكروية السالبة لصبغة جرام (Groups 4 & 8 Bergey's, 1994) .

هوائية (B1)	لاهوائية (B2)
Acinetobacter	*Acidaminococcus*
Branhamella	*Megasphaera*
Lampropedia	*Veillonella*
Moraxella•	
Neisseria	
Paracoccus•	

•كروى عصوى

B1 - الأجناس الكروية الهوائية Aerobic cocci

١- *Neisseria*

كرويات فى أزواج ، موجبة لإختبار الأكسيديز •• ، وهى متطفلة ، وتعيش فى الأغشية المخاطية للإنسان والحيوان .

من أنواع جنس نسيريا الهامة

أ - *N. gonorrhoeae*

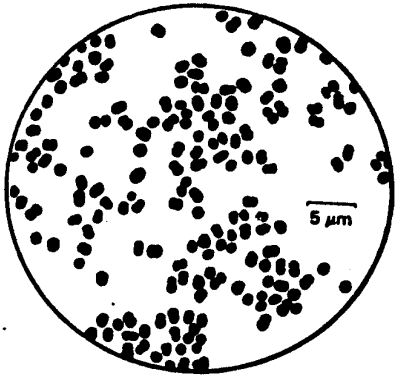
مسبب لمرض جنسى بالانسان ، وهو مرض السيلان . وقد تم إستئصال المرض فى دول عديدة لحساسية الميكروب العالية لمضاد البنسلين .

من الصعب زراعة بكتريا السيلان فى المعمل ، فهى تحتاج لظروف هوائية مع ١٠% CO_2 ، كما أنها شديدة الحساسية للضوء والجفاف .

ب - *N. meningitidis* [شكل ٧ (٢)-٤]

تقطن مجرى الأنف والبلعوم ، كما تنتشر بالجهاز الوعائى ، وهى المسبب للإلتهاب السحائى .

•• اختبار الأكسيديز : اختبار يجرى للكشف عن وجود سيتوكروم سى Cytochrome C بالبكتريا ، وفى التفاعل الموجب، فإن مستعمرات البكتريا النامية على البيئة الصلبة تتلون باللون الأحمر ، عند معاملتها بدليل Tetra methyl-*p*-phenylene diamine .



شـــكل ٧ (٢)-٤ : رســـم لبكتريـــا *Neisseria gonorrhoeae*
الخلايا كروية متجمعة فى أزواج .

٢- ***Acinetobacter***

كرويات عصوية فى أزواج ، سالبة لإختبار الأكسيديز ، مترممة تعيش بالاراضى والميـاه والمجارى ، متعددة المصادر الغذائية ، ويمكن عزلها بسهولة فى بيئـات محتويـة علـى ٠,٢% ، خلات ، عند ق يد من ٥,٥ الى ٦ .

ومن أفراد هذا الجنس ، أنواع مرضية إنتهازية Opportunistic organisms تسـاعد فـى العدوى عند ضعف مقاومة العائل ، خاصة فى المستشفيات .

ويستخدم *A. calcoaceticus* فى الدراسات الخاصة بالانتقالات الوراثية .

٣- ***Branhamella***

كرويات فى أزواج ، موجبة لاختبار الأكسيديز ، متطفلة وتوجد بالأغشية المخاطية .

٤- ***Lumpropedia***

كرويات مترممة ، توجد فى الأوساط المائية .

وتمتاز هذه البكتريا بأن أفرادها تكون تجمعات فى شكل صفائح مربعة

ومن الأنواع التابعة ***L. hyalina*** .

٥- ***Moraxella***

كرويات عصوية ، موجبة لإختبار الأكسيديز ، حساسة للبنسلين ، وغير قادرة على تمثيـل الكربوهيدرات .

ومن الانواع التابعة ***M. lacunata, M. olsoensis*** .

٦- ***Paracoccus***

كرويات عصوية قصيرة ، مفردة ، غنية بالمواد المخزنة مثل الفوسفور وبيتا هيدروكسـى بيوتيرات .

من الأنواع الهامة *P. denitrificans* وهو هوائي إلا أنه يمكن أن ينمو تحت الظروف اللاهوائية لو توفرت النترات بالبيئة ، حيث يختزل NO_3 الى N_2 (عملية دنترة) .

وهذه البكتريا هامة فى كثير من الدراسات الفسيولوجية والبيوكيميائية ، لقدرتها على النمو تحت ظروف مزرعية متعددة ، ولأن نظامها الناقل للإلكترونات ، يشبه ذلك الموجود بالأغشية الداخلية للميتوكوندريا ، بالخلايا حقيقية النواة .

B2 - الأجناس الكروية اللاهوائية : Anaerobic cocci

كرويات فى أزواج ، تختلف الأجناس عن بعضها فى الحجم [شكل ٧ (٢)-٥] ، وفى مصادر طاقتها ونواتج تخمراتها .

من أجناس هذه المجموعة

١- ***Acidaminococcus & Megasphaera***

تقطن أمعاء الحيوانات ، وهى محفزة لتحليل الأحماض الأمينية ، مع انتاج حامض أستيك وبيوتريك و CO_2 ، وذلك فى حالة بكتريا *Acidaminococcus* .

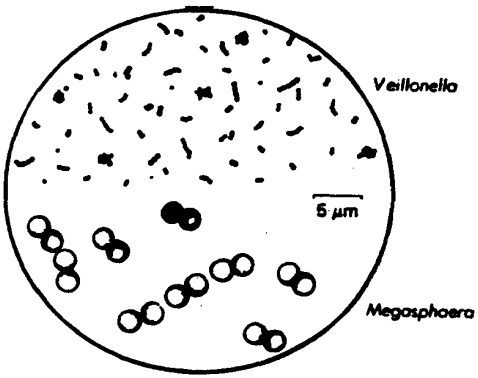
وانتاج أحماض الأستيك والبروبيونيك والبيوتريك والفالريك والكابرويك اضافة الى غاز CO_2 ، وذلك فى حالة بكتريا *Megasphaera* .

ومن أنواع المجاسفيرا ، ***M. elsdenii*** .

٢- ***Veillonella*** : [شكل ٧ (٢)-٥]

توجد فى لعاب الانسان والحيوان وفى كرش المجترات ، وهى تخمر الأحماض العضوية خاصة اللاكتيك الى خليك وبروبيونيك و H_2, CO_2

ومن الأنواع التابعة ***V. alcalescens*** .



شكل ٧ (٢)-٥ : رسم لبكتريا كروية لاهوائية تتبع جنسى *Veillonella & Megasphaera* .

C - البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام المتجرثمة داخلياً

Endospore-forming, Gram positive, Rods [جدول ٧ (٢) - ٤]

بعض الأجناس البكتيرية قادرة على تكوين جراثيم داخلية Endospores . وتمتاز هذه الجراثيم بقدرتها على مقاومة الظروف السيئة عن الخلايا الخضرية التى نشأت منها ، مثل مقاومة الحرارة المرتفعة والجفاف والحموضة ... الخ .

وهذه الأجناس المتجرثمة داخليا الموجبة لصبغة جرام ، وهى (باستثناء أنواع محدودة) ، عصوية متحركة بأسواط محيطية ، ومنها الهوائى كما فى جنس *Bacillus* ، والمحب لكمية قليلة من الأكسجين كما فى جنس *Sporolactobacillus* ، واللاهوائى كما فى جنس *Clostridium* ، وتتميز الأنواع المتجرثمة بقدراتها البيوكيميائية .

جدول ٧ (٢)-٤ : أجناس البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام المتجرثمة داخليا * (Group 18, Bergey's 1994) .

هوائية (C1)	محبة لكمية قليلة من الأكسجين	لاهوائية (C2)
Bacillus *Sporosarcina* (كروية)	*Sporolactobacillus*	*Clostridium* *Desulfotomaculum* *Oscillospira*

C1 - الأجناس الهوائية المتجرثمة داخليا : Aerobic sporeformers

Bacillus

أنواع هذا الجنس عصوية ، وقد تكوّن سلاسل ، وأغلبها مترمم غير ضار ، يعيش فى التربة والمياه .

وتقسم أنواع هذا الجنس إلى ثلاث مجموعات ، حسب شكل الجرثومة ، وموضعها وحجمها بالخلية الخضرية الحاملة لها (الاسبورانجيوم) [شكل ٧ (٢)-٦] .

والمجموعات الثلاث هى

المجموعة الأولى

هذه المجموعة أغلبها ذات جراثيم مستديرة أو بيضاوية ، والخلية الاسبورانجية غير منتفخة . من الانواع التابعة لهذه المجموعة

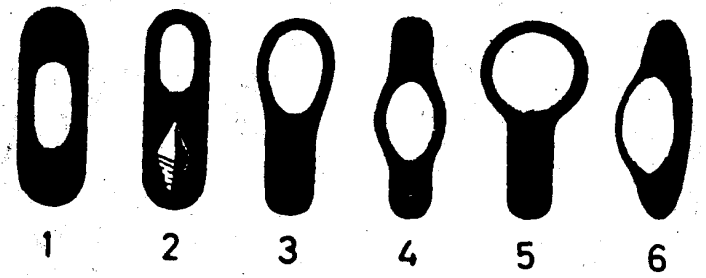
B. anthracis , B. cereus , B. licheniformis , B. megaterium , B. subtilis, B. thuringiensis

---

* أنظر أجناس بكتيرية متجرثمة داخلياً ، مثل *Thermoactinomyces* [شكل ٧ (٢) - ٢٣] ، ص ٤٢٥ ، وجدول [٧ (٢) - ٧] ، ص ٤١٩ ، مجموعة الأكتينومايسيتات .

أ - *B. megaterium* : عصويات طويلة عملاقة نسبيا ، ٢ × ٥ ميكرومتر .

ب - *B. subtilis & B. cereus* : بكتريا مترممة محبة للحرارة المتوسطة ، تفرز إنزيمات قادرة على تحليل كثير من السكريات والبروتينات .



شكل ٧ (٢)-٦ : خلايا الاسبورانجيا وبداخلها الجرثومة

لاحظ من الشكل

أ - خلايا اسبورانجيا غير منتفخة

1- *B. megaterium* : جرثومة بيضاوية وسطية .

2- *B. thuringiensis*: جرثومة بيضاوية طرفية ، مع وجود بللورة بروتينية قرب الجرثومة .

ب - خلايا اسبورانجيا منتفخة

3 - *B. macerans* : جرثومة بيضاوية طرفية ، والاسبورانجيا منتفخة وتشبه مضرب التنس Tennis-raquet .

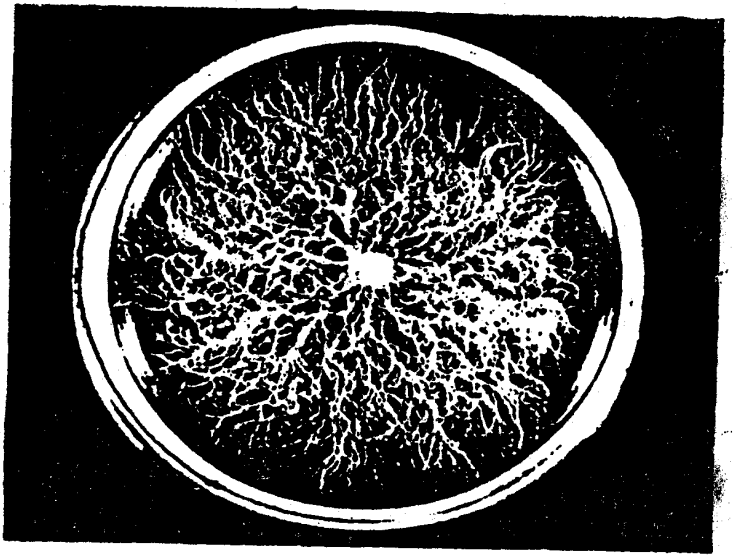
4- *B. polymyxa* : جرثومة بيضاوية وسطية ، والاسبورانجيا منتفخة في الوسط كالقارب Boat-like .

5- *B. sphaericus* : جرثومة مستديرة طرفية ، والاسبورانجيا منتفخة فى الطرف كعصا الطبلة Drum-stick .

6- *B. laterosporus* : جرثومة بيضاوية جانبية ، والاسبورانجيا منتفخة قرب الطرف كالمغزل Spindle .

وتوجد *B. subtilis* بكثرة فى القش لذا تسمى أحيانا ببكتريا القش Hay bacterium ، وهى تفرز مضاداتا حيوية عديدة الببتيدات .

ويوجد سلالات من *B. cereus* تسبب تسممانا غذائية ، كما أن منها السلالة *B. cereus* var. *mycoides* ، التى تكون على سطح الأجار بالبيئة الصلبة ، مستعمرانا تشبه فى مظهرها النمو الفطرى [شكل ٧ (٢)-٧] .



شكل ٧ (٢)-٧ : النمو الخيطى ، الفطرى المظهر، لبكتريا *Bacillus cereus* var. *mycoides* على سطح بيئة الأجار

جـ - *B. anthracis* : غير متحركة ، ومحاطة بكابسول يحتوى على حامض الجلوتاميك، والبكتريا ممرضة للانسان والحيوان ، وتسبب مرض الحمى التفحمية Anthrax .

د - *B. licheniformis* : تفرز مضاداتا حيوية عديدة الببتيدات ، وهى قادرة على القيام بالتخمر .

هـ - *B. thuringiensis* : شديدة الشبه ببكتريا *B. subtilis* ، ويتكون بالاسبورانجيا بللورة سامة بجانب الجرثومة الداخلية ، وهذه البلوره سامة ليرقات بعض الحشرات خاصة تلك التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة وغمدية الأجنحة ،لذا تستعمل هذه البكتريا بنجاح فى المكافحة الحيوية ضد الحشرات .

المجموعة الثانية

هذه المجموعة ذات جراثيم بيضاوية ، واسبورانجيا منتفخة

من الانواع التابعة لهذه المجموعة

B. circulans , B. macerans , B. polymyxa , B. stearothermophilus

أ - *B. polymyxa* : أخذت هذه البكتريا اسمها من افرازاتها المخاطية الغزيرة ، كما أنها تفرز 2,3 butanediol ، وهى بكتريا إختيارية للهواء ، وقادرة على تخمير السكريات مع انتاج غازات ، كما أنها قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت ظروف لاهوائية .

ب - *B. stearothermophilus* : بكتريا محبة للحرارة المرتفعة ، درجة حرارة نموها المثلى من ٥٥ الى ٦٥°م ، ولذلك فهى تسبب فساد الأغذية المعلبة .

المجموعة الثالثة

هذه المجموعة ذات جراثيم مستديرة ، تقع فى طرف الأسبورانجيا ،

من الأنواع التابعة لهذه المجموعة *B. pasteurii*

وهذه البكتريا تتحمل الوسط القلوى ، وهى تفرز انزيم اليوريز الذى يحلل اليوريا الى نشادر و CO_2 .

ومن الأجناس الأخرى المتجرثمة داخليا التابعة للمجموعة C_1 [جدول ٧ (٢) - ٤]

١- *Sporosarcina*

مكورات فى تجمعات مكعبية الشكل [شكل ٧ (٢)-٨] ، ورغم أنها تتشابه مورفولوجيا مع بكتريا السارسينا ، إلا أنها تتشابه فسيولوجيا مع بكتريا الباسلس ، فهى هوائية ، متحركة ، متجرثمة داخليا ، مقاومة للحرارة المرتفعة .

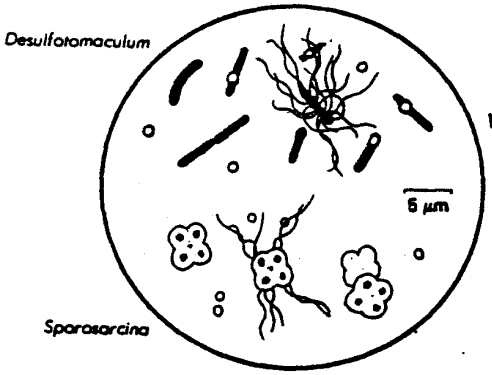
وهذه البكتريا كثيرة الانتشار بالأراضى ، وتحلل اليوريا الى نشادر و CO_2 .

ومن أنواعها *S. ureae* .

٢ - *Sporolactobacillus*

من بكتريا حامض اللاكتيك العصوية ، محبة للأكسجين بكمية قليلة ، وهى متجرثمة داخليا، غير متحركة ، سالبة للكاتاليز ، تحلل السكريات مع انتاج حامض لاكتيك .

من الأنواع التابعة *S. inulinus* .



شكل ٧ (٢) ٨ : رسم لخلايا *Sporosarcina* and *Desulfotomaculum*
لاحظ الجراثيم الداخلية والأسواط .

C2 - الأجناس اللاهوائية المتجرثمة داخليا : Anaerobic sporeformers

لاتحتاج هذه البكتريا فى نموها لأكسجين الهواء الجوى ، ومن أجناسها الهامة

Clostridium

لاتحتوى خلايا هذا الجنس غالبا على السيتوكرومات أو الكتاليز ، ويحتوى أغلبها على نسبة مرتفعة من إنزيمات الفلافين ، وعند تعرض الخلايا للهواء أو للأكسجين فانها تكوّن H_2O_2 السام لخلاياها .

غالبا ماتكوّن الجراثيم أعرض من الخلية الخضرية ، التى أنتجتها ، مما يسبب إنتفاخ خلايا الاسبورانجيا ، وهذه تأخذ أشكالا مختلفة تتوقف على حجم وموضع الجرثومة ، وذلك حسب نوع الكلوستريديا.[أنظر شكل ٧ (٢) - ٦].

أنواع جنس الكلوستريديا واسعة الانتشار ، فهى توجد بالأراضى والمياه والرواسب اللاهوائية ، وفى الجهاز المعوى للإنسان والحيوان . وهى قادرة على تخمير عدد كبير من المواد تتضمن السكريات والبروتينات والأحماض الأمينية وغيرها ، مع انتاج مواد عديدة منها حامض البيوتريك والاسيتون والبروبانول والبيوتانول وغازات منها H_2 , CO_2 .

لذلك يميز بين أنواع هذا الجنس حسب قدراتها التخميرية ، وحسب نواتج التخمر ... فمنها

- المحلل للسكريات Saccharolytic ، مثل

. *C. acetobutylicum, C. butyricum, C. cellulose-dissolvens, C. pasteurianum*

- المحلل للبروتينات Proteolytic ، مثل

C. botulinum, C. histolyticum, C. sporogenes, C. tetani.

- المحلل لحامض اليوريك Uric acid – degrading ، مثل *C. acidi-urici* .

من الأنواع الهامة لجنس الكلوستريديا

أ- *C. botulinum* المسبب للتسمم الغذائى المعروف باسم التسمم البوتشولينى Botulism . الجرثومة فى هذا النوع قرب طرفية ، والاسورانجيا منتفخة قرب الطرف .

ب - *C. pasteurianum* : من بكتريا الأراضى ؛ وهى محبة للحرارة المتوسطة ، ومثبتة لنتروجين الهواء الجوى .

جـ - *C. perfringens* : المسبب الرئيسى لعدوى الجروح المعروفة بالغرغرينا الغازية Gas gengrene . ومن هذا النوع ، سلالات تحدث تسممات غذائية .

د - *C. tetani* : مسبب حمى التتانوس . الجرثومة فى هذا النوع طرفية ، والاسبورانجيا منتفخة فى الطرف ، وشكلها كعصا الطبلة .

هـ - *C. thermosaccharolyticum* : محبة للحرارة المرتفعة ، حرارة نموها المثلى حوالى ٥٥°م ، وهى تسبب الفساد الغازى بالأغذية المعلبة .

ومن الأجناس الأخرى اللاهوائية التابعة للمجموعة C2

١- *Desulfotomaculum*

توجد بالأراضى والمياه وأمعاء الحشرات وكرش المجترات . [أنظر شكل ٧ (٢)-٨] ، وهى متجرثمة داخليا وتحتوى على صبغات تنفسية شبيهة بالهيم ، وتحصل على طاقتها من إختزال الكبريت الى H_2S .

من الأنواع الهامة *D. nigrificans, D. orientalis, D. ruminis,*

D. ruminis يوجد بكرش المجترات ، ويقوم بإختزال الكبريتات وانتاج H_2S .

٢- *Oscillospira*

بكتريا عصوية ، حجمها كبير جدا (٥ × ١٠ ميكرومتر) ، تتجمع فى سلاسل ، وهى لاهوائية ومتجرثمة داخليا .

وتوجد هذه البكتريا فى كرش الحيوانات المجترة ، وفى الزائدة الدودية بخنازير غينيا .

من الانواع التابعة *O. guillermondii* .

D – البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة (منتظمة الأشكال) Non-sporing, Gram positive, Rods (Regular forms)

[جدول ٧(٢)-٥].

ترتب هذه المجموعة حسب صفاتها المورفولوجية والفسيولوجية ، ومنها الهوائى مثل *Listeria* ، والاختيارى للهواء مثل *Brocothrix* ، والمحب لكمية قليلة من الأكسجين كبكتريا حامض اللاكتيك العصوية *Lactobacillus* .

جدول ٧ (٢)- ٥ : أجناس البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة (Group 19, Bergey's 1994) .

هوائية (D1)	اختيارية للهواء (D2)	محبة لكمية قليلة من الأكسجين أو لاهوائية (D3)
Caryophanon (قرصية الشكل) *Erysipelothrix* *Kurthia* *Listeria* *Renibacterium*	*Brocothrix*	*Lactobacillus*

وفيما يلى الصفات المميزة لأهم الأجناس العصوية (أو قرصية الشكل) ، الموجبة لصبغة جرام ، غير المتجرثمة ، الهوائية والاختيارية ، والمحبة لكمية قليلة من الاكسجين .

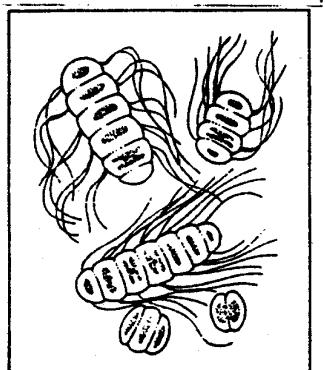
D1 – الأجناس الهوائية

١- *Caryophanon*

الخلايا قرصية الشكل ، كبيرة الحجم (٣ × ١٥ ميكرومتر) ، متراصة فى ترايكومات (خيوط طويلة) ، متحركة بأسواط محيطية (شكل ٧ (٢) – ٩) .

وهى هوائية ، مترممة ، وتوجد بروث الحيوانات المجترة كالأبقار .

من الانواع التابعة C. latum .



شكل ٧ (٢)-٩ : رسم لبكتريا *Caryophanon* لاحظ التريكوم ذو القطر ٣ ميكرومتر ، الذى يتكون من خلايا قرصية الشكل ، محيطية الأسواط .

٢- *Erysipelothrix*

عصويات مكونة لخيوط ، غير متحركة ، هوائية ، سالبة لاختبار الكتاليز . وهى متطفلة على الثدييات والطيور والأسماك ، وتسبب مرض الحُمرة Erysipelas (إلتهاب جلدى) بالخنازير ، ومرض الحمرانى (مرض شبيه الحُمرة) Erysipeloid بالإنسان .

٣- Kurthia

عصويات فى سلاسل ، متحركة بأسواط محيطية ، هوائية ، موجبة لاختبار الكاتاليز , وهى مترممة ، وتوجد باللحوم ومنتجاتها وفى روث الحيوان .

٤- Listeria

عصويات قصيرة جدا ، غالبا فى سلاسل ، متحركة بأسواط محيطية . وهى هوائية ، إلى محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، موجبة لاختبار الكاتاليز .

النوع *L. monocytogenes* يوجد بكثرة فى مياه المجارى مصاحبا لبكتريا القولون ، وهو متطفل وممرض لعدد كبير من الحيوانات ، كما يصيب الأطفال بعد الولادة ، ويسبب بالكبار مايشبه الإلتهاب السحائى بالمخ .

٥- *Renibacterium*

عصويات قصيرة ، غير متحركة ، هوائية ، موجبة لأختبار الكاتاليز ، حرارة نموها المثلى من ١٥ الى ١٨°م ، وهى ممرضة للأسماك خاصة السالمون .

D2 - الأجناس الإختيارية للهواء Brocothrix

الخلايا عصوية ، غالبا فى خيوط طويلة ، غير متحركة ، إختيارية للهواء ، موجبة لإختبار الكاتاليز , وهى تنمو جيدا عند درجة حرارة من ٢٠ الى ٢٢°م ، وليس عند ٣٧°م ، وتوجد باللحوم ومنتجاتها .

من الأنواع التابعة *B. campestris*

D3 - الأجناس العصوية المحبة للأكسجين بكمية قليلة

بكتريا حامض اللاكتيك العصوية *Lactobacillus*

بكتريا عصوية فى سلاسل غالباً ، محبة لكمية قليلة من الأكسجين أو لاهوائيـــة ، غـير متجرثمة ، وعادة غير متحركة ، وهى ذات إحتياجات غذائية معقدة ، وتخمر الســكريات الى حامض لاكتيك [شكل ٧ (٢) - ٩ أ] .

منها ماهو متماثل التخمر* مثل

L. acidophilus, L. bifidus, L. bulgaricus, L. casei, L. delbrueckii, L. helveticus, L. lactis, L. plantarum, L. salivarius

ومنها ماهو خليط التخمر* مثل *L. brevis, L. fermentum, L. viridescens*

وبكتريا حامض اللاكتيك العصوية منها المترمم الذى يوجد فى الألبان حيث تلعـــب دورا هاما فى الألبان ومنتجاتها ، أو تستعمل كبادىء فى الصناعات اللبنية

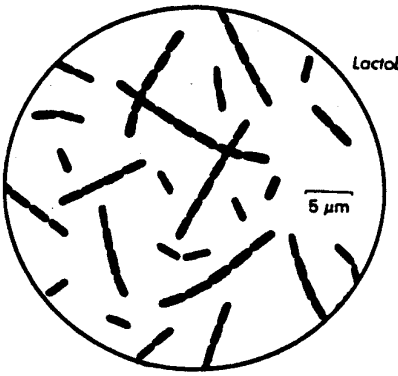
ومن أمثلتها *L. acidophilus, L. bulgaricus, L. casei, L. lactis*

أو تستخدم فى انتاج حامض اللاكتيك تخميريا **مثل** *L. bulgaricus, L. delbrueckii*

وقد توجد فى نواتج التخمر النباتية والحيوانية **مثل**

L. brevis, L. delbrueckii, L. fermentum, L. plantarum

وقد توجد كمتطفلة فى الفم والانسجة المخاطية والمهبل والقناة الهضمية للإنسان وحيوانات ذوات الدم الحار ، **مثل** *L. acidophilus, L. bifidus* .



شكل ٧ (٢) - ٩ أ

بكتريا *Lactobacillus*

---

* أنظر تذييل ص ٣٩٢

البكتريا العصوية أو الخيطية الموجبة لصبغة جرام

تضم هذه المجموعة ، البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة ، المعروفة بمجموعة الكورين Coryneforms (E) ، كما تضم البكتريا الخيطية ، الموجبة لصبغة جرام ، المعروفة بمجموعة الأكتينومايسيتات Actinomycetes (F) .

E - البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة (غير منتظمة الأشكال) - مجموعة الكورين

Non-sporing , Gram positive , Rods (Irregular forms) [جدول ٧ (٢) - ٦]

E1 - مجموعة بكتريا الكورين : Coryneforms

مجموعة بكتيرية تمثل مجموعة وسطية من حيث الخواص المورفولوجية والفسيولوجية، بين بكتريا حامض اللاكتيك والمايكوبكتريا . فخاصية تفرع الخلايا تزداد في بكتريا البروبيونيك والكورين والمايكوبكتريا ، كما تزداد في هذه المجموعة خاصية التحول من الايض اللاهوائي الى الأيض الهوائي .

وتمتاز مجموعة بكتريا الكورين بأن خلاياها عصوية مستقيمة أو منحنية قليلا ، وقد يوجد بالخلايا انتفاخات ، وهي موجبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، منها الهوائي والاختياري واللاهوائي .

جدول ٧ (٢)-٦ : أجناس البكتريا العصوية ، الموجبة لصبغة جرام ، غير المتجرثمة .
مجموعة الكورين Coryneforms (E)
(Groups 20, 21 & 22, Bergey's 1994)

هوائية أو إختيارية (E1 & E2)	لاهوائية (E3)
مجموعة بكتريا الكورين E1	
Agromyces	*Actinomyces*
Arachnia	
Arthrobater	*Bifidobacterium*
Brevibacterium	*Eubacterium (Butyribacterium)*
Cellulomonas	
Clavibacter	*Propionibacterium*
Corynebacterium	
Microbacterium	
Mycobacterium	
مجموعة النوكاردیا E2	
Nocardia	
Pseudonocardia	

من أهم الأجناس التابعة لمجموعة الكورين

أجناس هوائية أو إختيارية

١- Agromyces & Arachnia

بكتريا شبيهة ببكتريا الدفتريا ، وهى سالبة لإختبار الكاتاليز .

الأجروميسس مترمم ويوجد بالاراضى .

أما الأراكنيا فهو اختيارى للهواء ، ممرض للإنسان والحيوان ، ويسبب أمراضا شبيهة بأمراض الأكتينومايسيتات Actinomycosis .

٢- *Arthrobacter*

بكتريا الأرثروباكتر عصوية ، هوائية ، وتتميز بأن لها دورة نمو ، خلال حياتها ، تمر خلالها من الكروى الى العصوى Rod-coccus cycle .
ففى طور النمو اللوغاريتمى تأخذ الخلايا أشكالاً عصوية غير منتظمة وقد تتفرع .
وفى طور الثبات تكون الخلايا كروية الشكل ، وبإعادة زرع الخلايا فى بيئة جديدة ، فانها تعطى ثانية أشكالاً عصوية .
البكتريا مترممة ، وهى من بكتريا الأراضى ، ومنها المتحمل للجفاف ، ومنها مايفرز صبغات زرقاء اللون ، ومنها مايوجد على النباتات .

من الانواع التابعة *A. atrocyaneus, A. globiformis*

٣- *Brevibacterium*

هوائية ، ولها دورة نمو من الكروى الى العصوى مثل بكتريا الأرثروباكتر .

والنوع *B. linens* ، متحمل للملوحة ، ويكون مستعمراتاً صفراء اللون على البيئة الصلبة ، وهو محلل للبروتينات ، ويلعب دورا فى اكساب بعض أنواع الجبن مثل جبن القوالب Brick cheese ، طعماً مميزا .

ومن الانواع التابعة *B. divaricatum*

٤- *Cellulomonas*

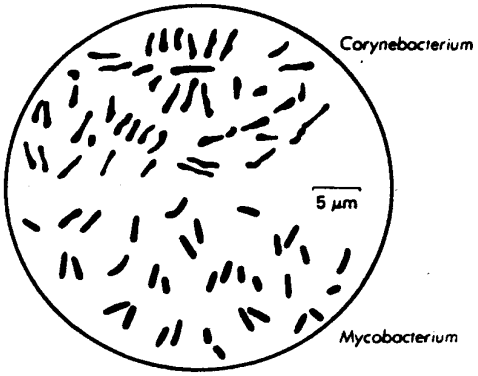
عصويات غير منتظمة الشكل وقد تكون خيطية ، لها قدرة عالية على تحليل السليلوز واستخدامه كمصدر للكربون والطاقة .

٥- *Corynebacterium* [أشكال ٧ (٢) - ١٠ ، ١١ ، ١٢]

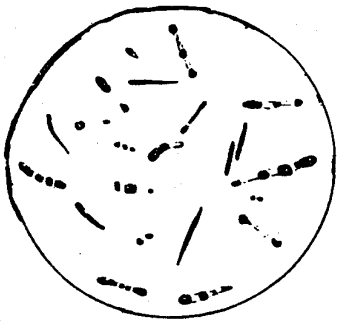
الخلايا عصوية وقد تتفرع ، وغالبا بها انتفاخات ، ومعظمها هوائى ، وتأخذ الخلايا ترتيبا مميزا لها يسمى بالترتيب السياجى أو العمادى * Palisade arrangement .

---

* الترتيب السياجى أو العمادى ، هو نظام لتجمع خلايا البكتريا الأسطوانية الشكل ، حيث تتراص الخلايا الاسطوانية بجوار بعضها كأوتاد السياج .

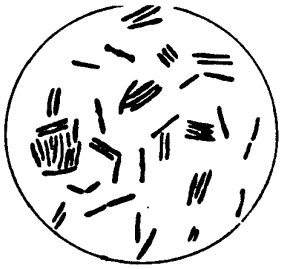


شكل ٧ (٢) ١٠ : رسم يبين شكل خلايا الكوراين بكتريوم وبكتريا المايكوبكتريوم .



شكل ٧ (٢) ١١ : بكتريا *Corynebacterium diphtheriae* مصبوغة بصبغة أزرق مثلين ليفلر .

لاحظ : اختلافات الطول ، وتعدد الأشكال ، وحبيبات الفوليوتين المصبوغة الموجودة بالخلايا كحبيبات ، أو كشرائط ، أو قد تملأ الخلية كلها (× ٩٠٠) .



شكل ٧ (٢) ١٢ : بكتريا *Corynebacterium xerosis* ، تعيش طبيعيا بزور الانسان

لاحظ : تعدد الأشكال والأحجام والترتيب السياجى (× ١٠٠٠)

وتخزن الخلايا بداخلها مادة الفوليوتين (حبيبات ميتاكروماتينية) ، تأخذ لونا محمرا مع صبغة أزرق المثلين المخففة ، كما أن جدر الخلايا يحتوى على حامض مايكوليك* من نوع Corynemycolic acid (يحتوى على ٣٢ الى ٣٦ ذرة كربون) .
ومن هذه البكتريا مايكون مستعمراتاً صفراء اللون على البيئة الصلبة .

يقسم جنس كوراين باكتريوم حسب تعايشه ، الى ثلاث مجموعات رئيسية

- **مجموعة مترممة** : توجد بالأراضى والمياه .
- **مجموعة ممرضة للنبات** ، مثل *C. michiganense* .
- مجموعة ممرضة للحيوان والانسان ، مثل *C. diphtheriae* المسببة لمرض الدفتريا بالانسان ، وتفرز هذه البكتريا توكسينات خارجية تسير مع تيار الدم بالجسم ، تصيب أجزاء عديدة منه كالكلى وعضلة القلب . ويُفرز هذا التوكسين عند وجود تركيز مناسب من الحديد وفاج معين بالبكتريا ، يحمل الجين الخاص بإفراز هذا السم .

٦- ***Microbacterium***

عصويات قصيرة غير منتظمة الشكل ، وهى مترممة وتوجد بالألبان ومنتجاتها ، وفى أوعية اللبن .

٧- ***Mycobacterium***

عصويات هوائية ، غير متحركة ، مستقيمة أو منحنية قليلاً وقد تتفرع . يوجد بجدر خلاياها حامض مايكوليك Mycolic* ذو حوالى ٨٥ ذرة كربون ، وهذا الحامض يجعل الخلايا شمعية ويكسبها صفة كره الماء Hydrophobic ، وصفة الصمود للأحماض Acid-fastness .

تمتاز خلايا هذا الجنس بأنها صامدة للأحماض ، بمعنى أن الخلايا المصبوغة بكاربول الفوكسين ، لاتزول منها الصبغة بمعاملتها بالكحول الحامضى .

---

* حامض مايكوليك : حامضى بيتا دهنى ايدروكسيلى ، طويل السلسلة الكربونية ، متفرع ، رمزه العام R_1- CHOH – CH-R_2- COOH ، حيث R_1, R_2 تمثل مجاميع الكايل .

يختلف طول سلسلة الحامض من ٣٢ الى ٣٦ ذرة كربون فى بكتريا الكورين ، ومن ٤٥ الى ٥٨ ذرة كربون فى النوكارديا ، ومن ٧٩ الى ٨٥ ذرة كربون فى المايكوبكتريا .

وحامض المايكوليك طويل السلسلة هو الذى يعطى للخلية البكتيرية صفة الصمود للصبغ الحامضى .

من أنواع جنس المايكوبكتريوم

١- المترمم غير الضار

مثل *M. phlei* ، وهى تكون مستعمراتاً خشنة مجعدة ، صفراء اللون على البيئة الصلبة ، وهى منتشرة بالأراضى ، وكذلك فى القش والتبن .

٢- الممرض ، مثل

- *M. tuberculosis* ، المسبب لمرض الدرن الرئوى للإنسان

وهى تكون مستعمراتاً خشنة مجعدة ذات لون ابيض باهت أو مصفر على البيئة الصلبة ، وزمن تضاعفها حوالى ١٥ ساعة .

ومن أنواع المايكوبكتريا الأخرى الممرضة

- *M. avium* ، ويسبب السل فى الطيور والانسان
- *M. bovis* ، ويسبب السل فى البقر والانسان
- *M. leprae* ، ويسبب للانسان مرض الجذام Leprosy ،

وبكتريا الجذام بطيئة النمو ، ولم يمكن تنميتها على بيئات عادية حتى الآن .

E2 - مجموعة النوكارديا *Nocardioforms* ، النوكارديات

مجموعة من الأجناس التى تشبه جنس النوكارديا فى صفاته وفى تركيب جدر خلاياه ، لذا سميت (بمجموعة النوكارديا Nocardioforms) ، وهى تمتاز بأنها هوائية ، تكون ميسليوم تحتى Substrate من هيفات متفرعة تمتد تحت سطح بيئة الآجار ، وعادة مايتجزأ الميسليوم التحتى الى خلايا كروية وعصوية ، كما أن بعض الأجناس تكون ميسليوم هوائى Aerial يحمل جراثيم كونيدية فى سلاسل ، كما أنه يوجد بجدر خلايا كثير من أجناسها ، حامض نوكارديو مايكوليك Nocardiomycolic acid ، ولكن بكتريا جنس النوكارديا فقط هى الصامدة للصبغ الحامضى .

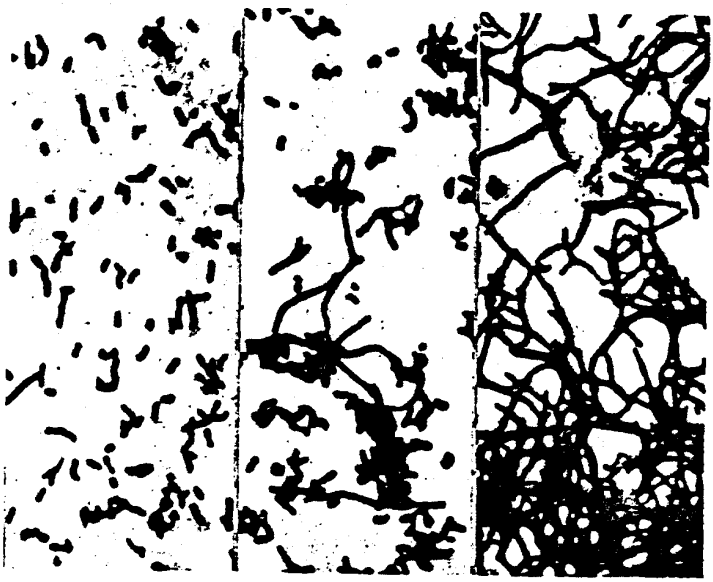
من الأجناس التابعة لمجموعة النوكارديا

١- *Nocardia*

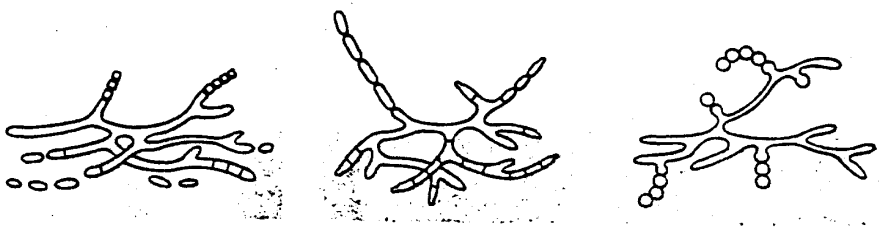
أنواع هذا الجنس هوائية ، صامدة للأحماض ، غير متحركة ، يتروح شكل خلاياها من الكروى الى العضوى الى الخيطى المتفرع ، وذلك نتيجة تفرع الميسليوم التحتى وتجزؤه ، وقد تحمل الهيفات الهوائية سلاسل من الجراثيم الكونيدية [أشكال ٧ (٢) - ١٣ و ١٤] ...

النوكارديا مترممة ، وتوجد بكثرة فى الأراضى والمياه ، وبعض أنواعها ممرضة للانسان والحيوان مسببة ورما يسمى Actinomycetoma .

ومن الأنواع التابعة *N. asteroides & N. opaca* .



شكل ٧ (٢) ١٣ : *Nocardia asteroides*
ثلاث سلالات لنفس البكتريا توضح الاختلاف فى الشكل المورفولوجى (× ١٠٠٠) .



شكل ٧ (٢) ١٤ : رسم تخطيطى يوضح الميسليوم الهوائى والميسليوم المتعمق بالبيئة لبكتريا مجموعة النوكارديا .

Nocardia – A
- ميسليوم هوائى يحمل سلاسل من الجراثيم الكويدية
- وميسليوم متعمق بالبيئة ، متفرع ومتجزىء

Pseudonocardia – B
- سلاسل جرثومية بالهيفات الهوائية
- تبرعم وامتداد الهيفات المتعمقة بالبيئة .

Micropolyspora – C
جراثيم مستديرة فى سلاسل على الهيفات الهوائية وعلى الهيفات التحتيه المتعمقة بالبيئة

٢- *Pseudonocardia*

لاتحتوى جدر خلايا هذا الجنس على حامض المايكوليك ، وهى خلايا غير صامدة للأحماض ، وتمتد وتستطيل الهيفات التحتية بالبيئة بالتبرعم ، وتبقى البراعم متصلة ببعضها، [شكل ٧ (٢) B١٤] ، وتحمل الهيفات الهوائية جراثيم كونيدية عصوية الشكل فى سلاسل طويلة، ومن أنواع هذا الجنس ماهو محب لدرجات الحرارة المتوسطة ، ومنه ماهو محب لدرجات الحرارة العالية .

أنواع هذا الجنس مترممة ، وتوجد بالاراضى والمياه والأسمدة العضوية .

ومن الأنواع التابعة *P. thermophila* .

E3 - أجناس لاهوائية

١- Actinomyces

الخلايا خيطية متفرعة ، وأحيانا تكون متعددة الأشكال ، وهى غير متجرثمة ، غير متحركة ، لاهوائية ، معقدة التغذية ، مخمرة للكربوهيدرات مع إنتاج حامض أستيك مصحوبا بفورميك ولاكتيك وسكسنيك .

توجد أنواع هذا الجنس بالتجويف الفمى وبالجهاز التناسلى للإناث ، ومنها أنواع ممرضة للإنسان مثل *A. israelii* المسبب لمرض Actinomycosis ، ومنها الممرض للحيوان مثل *A. bovis* المسبب لمرض الفك المتكتل Lumpy jaw بالأبقار .

وكان هذا الجنس فيما سبق ، يتبع مجموعة الأكتينومايسيتات فى التصنيف ، ولكنه نقل الى مجموعة الكورين لتشابهه معها فى الصفات .

٢- *Bifidobacterium*

عصويات متعددة الأشكال ، غير متحركة ، تحتاج فى نموها إلى وسط هوائى به حوالى ١٠% CO_2 ، وهى مخمرة للكربوهيدرات مع إنتاج حامض لاكتيك ، (والبعض يعتبرها من بكتريا حامض اللاكتيك خليطة التخمر) .

وهى توجد بالجهاز الهضمى للإنسان والحيوان ، وغير ممرضة .

من الأنواع التابعة *B. bifidum* .

٣- *Eubacterium*

متعددة الأشكال ، منها المتحرك وغير المتحرك ، مخمرة للكربوهيدرات مع إنتاج حامض بيوتريك مع أحماض أخرى مثل الفورميك والأستيك .

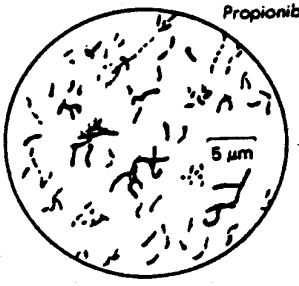
توجد بتجويف الفم والجهاز الهضمى للإنسان والحيوان وفى الأغذية الفاسدة ، وهى غير ممرضة .

٤ - *Propionibacterium*

عصويات قصيرة متعددة الأشكال [شكل ٧ (٢)- ١٥] ، غير متحركة ، تتعدد من لاهوائية الى متحملة لكمية قليلة من الأكسجين ، وهي مخمرة للكربوهيدرات مع انتاج حامض بروبيونيك واستيك .

منها مايوجد بالألبان ومنتجاتها ، ومنها النوع *P. shermanii* الذى يستخدم فى تسوية الجبن السويسرى ، ومنها مايوجد طبيعيا على الجلد وفى الجهاز الهضمى للإنسان والحيوان وبكرش المجترات .

ومنها الممرض مثل *P. acnes* [شكل ٧ (٢)-١٥] الذى يوجد على سطح الجلد ، وهو المسبب لمرض حب الشباب الشائع **Acne vulgaris** .



شكل ٧ (٢)-١٥ : رسم لبكتريا

Propionibacterium acnes

البكتريا عصوية قصيرة فى سلاسل أو فى تجمعات بأشكال Y, V

والبكتريا موجبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، لاهوائية ، منتجة لحامض البروبيونيك .

وتوجد على سطح الجلد .

F- البكتريا الخيطية الموجبة لصبغة جـــرام Gram-positive, Filamentous مجموعة الأكتينومايسيتات Actinomycetes [جدول ٧ (٢) - ٧]

استمدت مجموعة الأكتينومايسيتات اسمها ، من اسم أول نوع تم التعرف عليه ووصفه وهو *Actinomyces bovis* الممرض للماشية ، وهو لاهوائى ، وقد فُصل هذا النوع حاليا مـــن مجموعة الأكتينومايسيتات ، وأضيف لمجموعة بكتريا الكورين اللاهوائية [جـــدول ٧ (٢)-٦] ، لتشابهه مع مجموعة بكتريا الكورين فى الصفات .

وتضم مجموعة الأكتينومايسيتات ، بكتريا أغلبها هوائى ، وهى موجبـــة لصبغـــة جـــرام ، خيطية ، حيث تكون هيفاتا متفرعة كالفطريات ، غير أن هيفات الأكتينومايســـيتات أرفـــع (قطرها حوالى ١,٠ ميكرومتر) من هيفات الفطريات (قطرهـــا حوالـــى مـــن ٥ الـــى ١٠ ميكرومتر) ، كما أن الأكتينومايسيتات تكون جراثيم تكاثر لاجنسية قد تكون عارية وتســـمى جراثيم كونيدية Conidiospores ، أو بداخل أوعية خاصة (أسبورانجيا) وتســـمى جراثيـــم اسبورانجية Sporangiospores .

وجراثيم الأكتينومايسيتات غير شديدة المقاومة للحرارة كالجراثيم الداخلية للبكتريـــا ، فـــهى تُقتل عند درجة ٦٥°م بعد ١٠-٣٠ دقيقة ، ولكنها مقاومة للجفاف وتساعد الكائن على البقاء حيا فى فترات الجفاف .

ويمكن زراعة أغلب الأكتينومايسيتات على بيئات بسيطة ، ذات مصدر عضوى مناســـب، ويمكن التمييز بين أجناسها بطبيعة نموها ، فى أو على سطح الآجار ، وتكوينها لميســـليوم تحتى وهوائى ، والتركيب الكيميائى للجدار الخلوى ، ، وطبيعة ماتكونه من جراثيم كونيدية واسبورانجية [شكل ٧ (٢)-١٦] .

الميسليوم التحتى (الخضرى) يكون ملتصقا بالبيئة الصلبة ، ويتفرع تحت سطح بيئة الآجار، ويختلف فى قطره وتفرعاته من نوع لآخر ، ويحدث بداخله كل العمليات الحيوية المختلفـــة اللازمة للخلية ، وقد يفرز الميسليوم بعض الصبغات المميزة سواء أكانت ذائبة فى المـــاء أو غير ذائبة، كما قد يحدث له تجزئه ، وقد يتكون بداخله جراثيم .

أما الميسليوم الهوائى فهو متفرع غير مقسم ، وأكبر فى قطـــره وأطـــول مـــن الميســـليوم التحتى ، وهو الذى يعطى الشكل العام للمستعمرة النامية على بيئة صلبة ، وقد يكون ملونا، ويعود ذلك إلى لون الجراثيـــم المتكونـــة ســـواء أكـــانت عاريـــة (كونيديـــة) أو داخليـــة (اسبورانجية) .

أغلب أنواع الأكتينومايسيتات مترممة غير ضارة ، وهى توجد بالتربة حيث تقـــوم بتحليـــل كثير من المواد العضوية المعقدة ، وأحد أجناسها (الفرانكيا) مثبت لنتروجين الهواء الجـــوى تكافليا مع أشجار الغابات ، كما أن من الأكتينومايسيتات أنواع تفرز مضاداتا حيويـــة ذات قيمة علاجية كبيرة ، وإضافة إلى ذلك فإن بعض أنواع الأكتينومايسيتات ممرضـــة للنبـــات والحيوان والانسان .

شكل ٧ (٢)-١٦ : شكل يبين طبيعة النمو فى بعض أجناس الأكتينومايسيتات

a – شكل المستعمرة

b – قطاع عرضى فى النمو المتكون على سطح الأجار .

SM – شكل نمو الميسليوم التحتى بالبيئة .

AM – شكل نمو الميسليوم الهوائى .

sp – حامل اسبورانجى ، لاحظ تعدد أشكاله فى جنس الاستربتومايسيس

spa – حافظة اسبورانجية

spo – جراثيم اسبورانجية متحركة أو غير متحركة

وجدول ٧ (٢)-٧ يبين أهم أجناس الأكتينومايسيتات .

وشكلى [٧ (٢) ١٧ و ١٨] يبينان أشكال المجاميع الرئيسية للأكتينومايسيتات .

جدول ٧ (٢)- ٧ : أجناس البكتريا الخيطية الموجبة لصبغة جرام

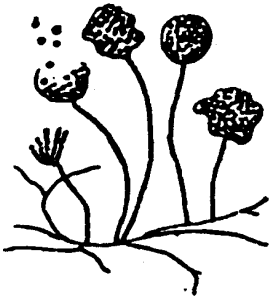
مجموعة الأكتينومايسيتات Actinomycetes (F)

(Groups 22 ... 29, Bergey's 1994)

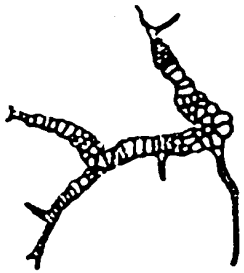
مجموعة الاستربتومايسيس *Streptomyces* (F2)	مجموعة الأكتينومايسيس *Actinomyces* (F1)		
	ذات صفات خاصة Group III	الهيفا تنقسم فى أكثر من مستوى Group II	الهيفا تنقسم فى مستوى واحد Group I
Streptomyces *Streptoverticillium*	*Actinomadura*• *Actinopolyspora* محبـــة للملوحة *Nocardiopsis* شبيـــه بالنوكارديـــا محبة للحرارة المرتفعة : *Thermoactinomyces* *Thermomonospora*	*Dermatophilus* *Frankia.* *Geodermatophilus*	*Actinoplanes* *Ampullariella* *Spirillospora* *Streptospora-ngium*

• منها أنواع ممرضة للإنسان .

ctinomyces rothia
gromyces gordona

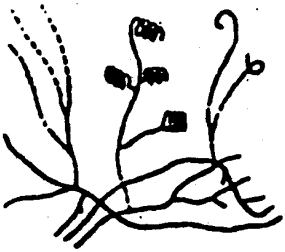


Actinoplanes

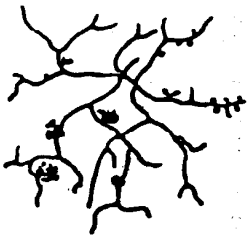


Dermatophilus

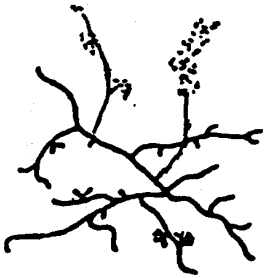
Nocardia



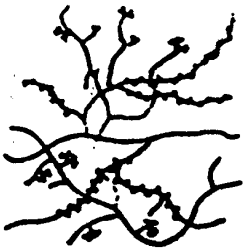
Streptomyces



Micromonospora



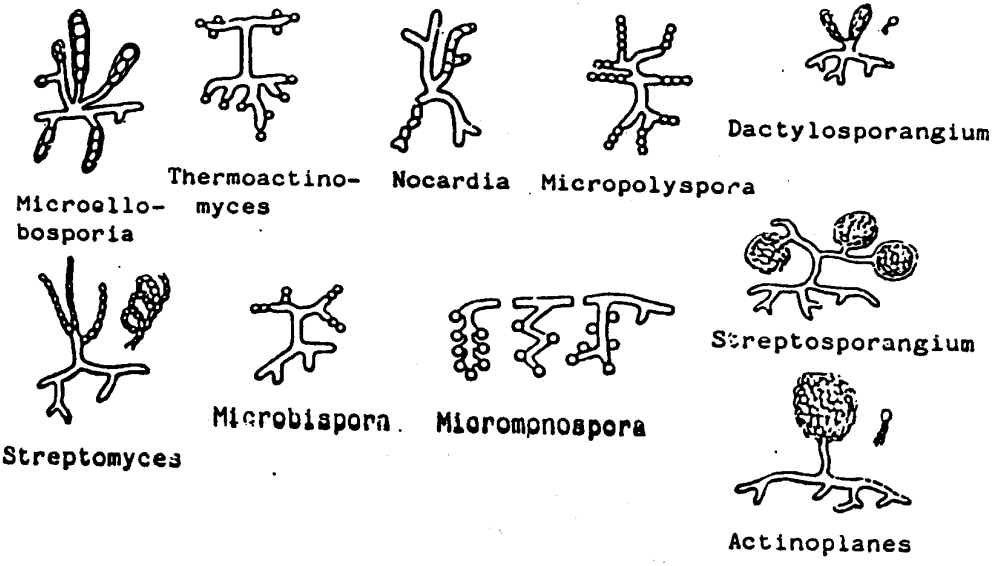
Thermomonospora



Thermoactinomyces

Micropolyspora

شكل ٧ (٢)-١٧ : رسم تخطيطى لبعض اشكال الأكتينومايسيتات



شكل (٧ (٢)-١٨ : المجاميع الرئيسية للأكتينومايسيتات

F1 – مجموعة الأكتينومايسيس Actinomyces group

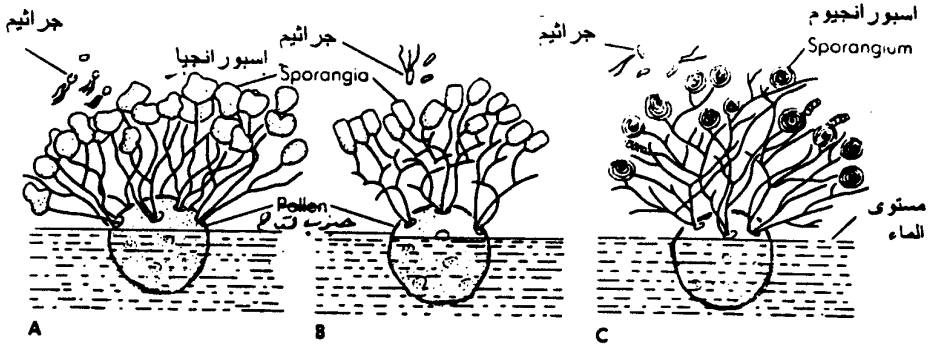
تقسم الأكتينومايسيس [جدول ٧ (٢) – ٧] ، حسب المستوى الذى تنقسم فيه هيفاتها ، إلى ثلاثة مجموعات هى I ، II ، III .

مجموعة I – بكتريا خيطية تنقسم هيفاتها فى مستوى واحد (عرضيا فقط أو طوليا فقط)

تكون هذه الأكتينومايسيتات ميسليوم تحتى وبعضها يكون ميسليوم هوائى ، وفى كلتا الحالتين ، فإنها تكون جراثيم اسبورانجية فى حافظة اسبورانجية يحملها حامل اسبورانجى ، وأحيانا فإن الجراثيم الاسبورانجية تكون ذات أسواط طرفية مما يساعدها على الحركة السابحة عند إنطلاقها من الاسبورانجيات (كما فى أجناس *Actinoplanes, Ampullariella* and *Spirillospora*) .

وهذه الأكتينومايسيتات غير ضارة ، وهى واسعة الانتشار ، وتوجد بالتربة والمياه ، وعلى أجزاء النباتات كالأوراق وحبوب اللقاح ، وعلى شعر الحيوان .

والأشكال [٧ (٢)– ١٩، ٢٠، ٢١] ، توضح أمثلة لبعض أجناس هذه المجموعة



شكل ٧ (٢)-١٩ : رسم تخطيطي لثلاث أجناس من الأكتينومايسيتات تكون جراثيم اسبورانجية متحركة البكتريا نامية على حبة لقاح عائمة على سطح ماء

A : *Actinoplanes*

B : *Ampullariella*

C : *Spirillospora* (× ٣٥٠)

شكل ٧ (٢)-٢٠ :

Streptosporangium roseum

اسبورانجيا تحتوى على جراثيم غير متحركة ، قطر الاسبورانجيا حوالى ٨-٩ ميكرومتر .

شكل ٧ (٢)-٢١ : اسبورانجيا بكتريا *Actinoplanes rectilineatus*

لاحظ

- وجود الجراثيم فى صفوف طولية بداخل الاسبورانجيا .
- السهم يشير الى الجراثيم الاسبورانجية السابحة الخارجة من الاسبورانجيا الممزقة (٧٥٠×)

من أجناس هذه المجموعة

١- *Actinoplanes*

أنواع هذا الجنس توجد بالأراضى والمياه ، وهى ذات جراثيم اسبورانجية متحركة بأسواط طرفية ، تبلمر الأحماض الأمينية لتكون مضاداتاً حيوية عديدة الببتيدات ، كما أنها قادرة على تخليق كثير من المضادات التى من نوع Polyene-type macrolides and Aromatic cyclic antibiotics

من الأنواع التابعة *A. rectilineatus & A. philippinensis* .

٢- *Streptosporangium*

أنواع هذا الجنس محللة للسليلوز ، وتحمل الهيفات الهوائية أكياس الاسبورانجيا ، والجراثيم الأسبورانجية لهذا الجنس غير متحركة .

من الأنواع التابعة *S. roseum* .

مجموعة II - بكتريا خيطية تنقسم هيفاتها فى أكثر من مستوى (أى عرضيا وطوليا) لتكون تجمعات من الخلايا الكروية أو من الجراثيم .

وتوجد هذه المجموعة من الأكتينومايسيتات بالتربة ، ومنها المثبت لنتروجين الهواء الجوى تكافليا فى عقد بجذور أشجار الغابات ، كما أن منها الممرض للحيوان .

من أجناس هذه المجموعة

١- ***Dermatophilus*** : ممرض للحيوانات البرية والمستأنسة ، مسببا لها عدوى جلدية . **من أنواعه *D. congolensis* .**

٢- ***Geodermatophilus*** : من بكتريا الأراضى ، **من أنواعه *G. obscurus* .**

٣- *Frankia*

الفرانكيا ذات ميسليوم تحتى متفرع قليلا ، يحمل أكياسا أسبورانجية دائرية أو غير منتظمة الشكل ، تعطى جراثيم اسبورانجية غير متحركة ، عديمة اللون أو سوداء .

والفرانكيا ذات هيفات متفرعة ، تكون أطرافها حويصلات Vesicles كروية ، يعتقد أنها مكان تثبيت نتروجين الهواء الجوى .

والفرانكيا محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، وهى مثبتة لنتروجين الهواء الجوى تكافليا فى عقد جذرية لبعض أشجار الغابات غير البقولية مثل نبات الألدار *Alder* ، والألناس *Alnus* ، والكازورينا *Casuarina* .

من الأنواع التابعة *F. alni* ، الذى يتكافل مع جذور شجر الألناس .

مجموعة III - أجناس من مجموعة الأكتينومايسيس ذات صفات خاصة

الأجناس التالية تتبع مجموعة الأكتينومايسيس ، وتتميز بصفات خاصة

١- *Actinomadura*

- **تكون جراثيم كونيدية فى سلاسل قصيرة بطرف الهيفا الهوائية .**
- **معظم الأنواع مترمم ، وتوجد بالأراضى .**
- **بعضها ممرض للانسان ، يسبب له ورما يسمى Actinomycetoma .**

٢- *Actinopolyspora*

- **تكون جراثيم كونيدية فى سلاسل طويلة بطرف الهيفا الهوائية [شكل ٧ (٢) - ٢٢].**
- **محبة للملوحة إجبارا ، حيث تتواجد فقط فى الأوساط التى تتراوح بها نسبة الملح (NaCl) ، من ١٠ الى ٣٠% .**

***عزلت من الملح الجاف .**

شكل ٧ (٢)-٢٢ : صورة بالمجهر الالكترونى لبكتريا *Actinopolyspora halophila* المحبة للملوحة المرتفعة (×٤٦٠٠) .

٣- *Nocardiopsis*

- تكون جراثيم كونيدية فى سلاسل طويلة بطرف الهيفا الهوائية .
- تتشابه مع جنس النوكارديا (مجموعة الكورين) [جدول ٧ (٢) - ٦] ، فى أن الميسليوم التحتى يتجزأ إلى خلايا كروية وعصوية .
- وتختلف عن النوكارديا فى أنها لاتحتوى على حامض مايكوليك ، وغير صامدة للصبغ الحامضى .

أغلب أنواع هذا الجنس مترمم بالتربة ، وأحيانا تكون ممرضة .

٤- *Thermoactinomyces*

- تكون جراثيم مفردة على نتوء قصير بطرف الهيفا الهوائية أو ملتصقة مباشرة على طول الهيفا [شكل ٧ (٢) - ٢٣] .
- تكون جراثيم داخلية بالهيفا ، كالبكتريا المتجرثمة داخليا ، وتخرج الجراثيم الداخلية بعد نضجها من الهيفا ، وتحتوى الجراثيم على حامض Dipicolinic ، وتتحمل الجراثيم الحرارة المرتفعة حتى درجة ٩٥°م لمدة ١٠ دقائق .
- أنواع هذا الجنس محبة للحرارة المرتفعة ، ودرجة حرارة نموها المثلى عند حوالى ٥٥°م ، وتتواجد بالأوساط المرتفعة الحرارة ، مثل أكوام الأسمدة العضوية .

من الأنواع التابعة ***T. thalophilus & T. vulgaris*** .

شكل ٧ (٢)- ٢٣ : بكتريا *Thermoactinomyces vulgaris*

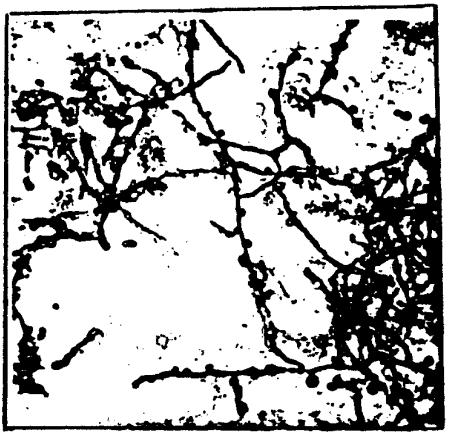
لاحظ

- الميسليوم الهوائى
- الجراثيم المفردة الجالسة على طول الهيفا (× ٦٠٠)

٥- *Thermomonospora*

- تكون جراثيم كونيدية بطرف أو على طول الهيفا الهوائية [شكل ٧ (٢) - ٢٤] .
- محبة للحرارة المرتفعة ، وتنمو جيداً على درجات حرارة بين ٣٥ الى ٤٥°م وهى تعيش فى الأوساط المرتفعة الحرارة مثل أكوام السماد العضوى .
- منها أنواع محللة للسليلوز .

من الأنواع التابعة *Th. mesophila* .



شكل ٧ (٢)- ٢٤

Thermomonospora mesophila

جراثيم كونيدية أحادية ، قطرها ١ ميكرومتر، توجد على طول الهيفا الهوائية وبطرفها

F2 - مجموعة الاستربتومايسيس Streptomyces group [جدول ٧ (٢) - ٧]

هيفات مجموعة الاستربتومايسيس تنقسم فى مستوى واحد ، وتكون جراثيم كونيدية يتراوح عددها ، بين ٥ إلى ٥٠ جرثومة ، وتوجد الجراثيم فى سلاسل طويلة بطرف الهيفا الهوائية .

ومستعمرات الاستربتومايسيس النامية على البيئة الصلبة عادة ماتكون جلمدة Tough ، ومظهرها مخملى ، وملتصقة بقوة بالبيئة لوجود هيفات تحتية بالبيئة ممتدة من المستعمرة النامية .

أغلب أنواع الاستربتومايسيس هوائية ، مترممة غير ضارة ، وتوجد بالأراضى ، وتتحمل الجفاف عن أنواع البكتريا الأخرى ، وتحلل الكثير من المواد العضوية المعقدة التى توجد بالتربة ، مثل السليلوز والكيتين ، ومثلها الأنواع التابعة لأجناس *Micromonospora* التى توجد جراثيمها الكونيدية مفردة على الهيفا ، وكذلك *Microbispora* التى توجد جراثيمها فى أزواج على الهيفا [أنظر شكل ٧ (٢)-١٦] .

كما أن النوع *S. griseus* يفرز زيوتا طيارة بالتربة تسمى Geosmin ، وهى عبارة عن 1, 10-dimethyl- 9- decaloi ، وهذه الزيوت تعطى للتربة رائحتها المميزة ، خاصة بعد حرثها .

وتتميز أنواع جنس الاستربتومايسيس [جدول ٧ (٢)-٨] ، بأنها مفرزه لكثير من المضادات الحيوية ، ذات الأهمية العلاجية الهامة للنبات والحيوان والانسان . وبجانب ذلك فإن من أنواع جنس الاستربتومايسيس ماهو ممرض للنبات مثل *S. scabies* ، الذى يسبب مرض الجرب العادى Common scab فى البطاطس والبنجر ، ومثل *S. somaliensis* الممرض للانسان ، ويسبب له أوراما تسمى Actinomycetoma .

جدول ٧ (٢)-٨ : بعض المضادات الحيوية ، المنتجة من أنواع جنس *Streptomyces* .

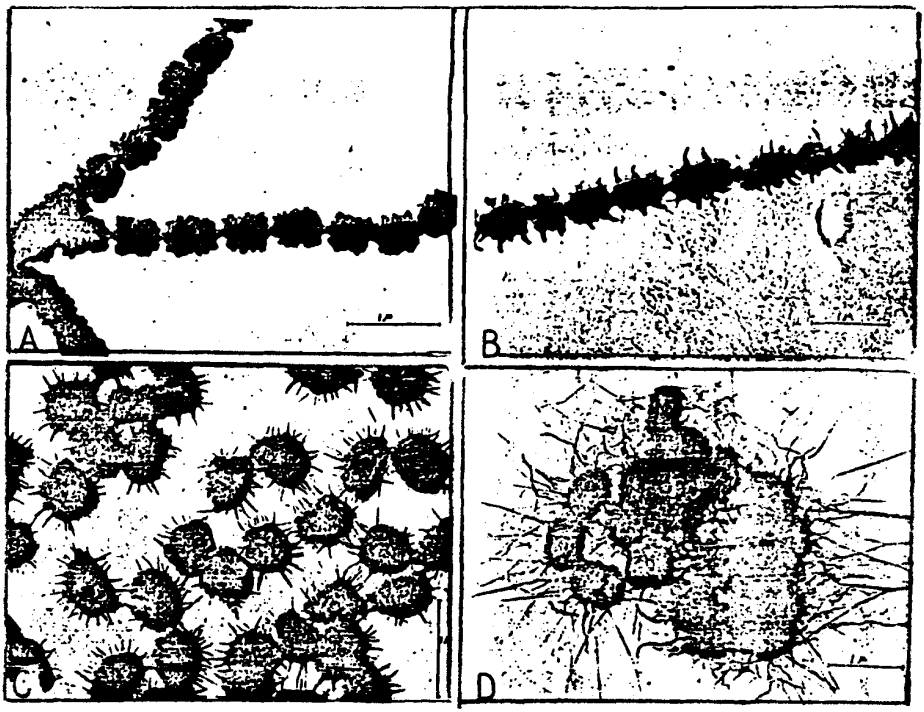
اسم المضاد المنتج	نوع الأستربتومايسس
Chlortetracycline	*S. aureofaciens* .....
Erythromycin	*S. erythraeus* .....
Neomycin	*S. fradiae* .....
Streptomycin	*S. griseus* .....
Kanamycin	*S. kanamyceticus* .....
Amphotericin B	*S. nodosus* .....
Nystatin	*S. noursei* .....
Oxytetracycline	*S. rimosus* .....
Chloramphenicol	*S. venezuelae* .....
Tetracycline	*S. viridifaciens* .....

ومن أهم الأجناس التابعة لمجموعة الاستربتومايسيس ، أجناس ***Streptomyces & Streptoverticillium*** .

ويميز بين أجناس وأنواع مجموعة الاستربتومايسيس ، بالصفات التالية

أ- سطح الجرثومة الكونيدية (بفحصها بالمجهر الالكترونى (تكبير ٨٠٠٠) ، فقد يكون سطح الجرثومة ناعما أو خشنا أو شائكا أو ذو شعيرات (شكلى ٧ (٢) - ٢٥ ، ٢٦) .

شكل ٧ (٢)-٢٥ : جراثيم كونيدية ذات شعيرات على سطح *Streptomyces acrimycini*
A : صورة بالمجهر الالكترونى النافذ . B : صورة بالمجهر الماسح (البار = ١ ميكرومتر)



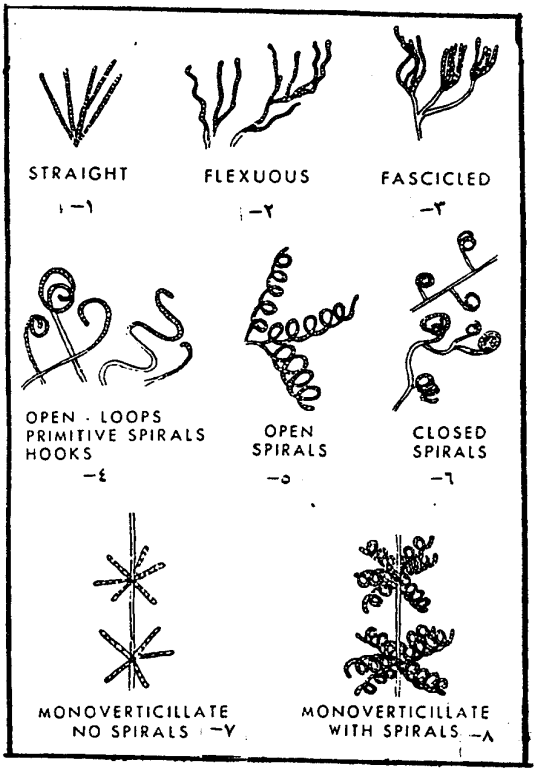
شكل ٧ (٢)-٢٦ : مظهر السطح الخارجى للجراثيم الكونيدية لأنواع من *Streptomyces*

A - *S. alivaceus*
B - *S. purpurascens*
C - *S. diastatochromogenes*
D - *S. albogriseolus*

ب – شكل سلسلة الجراثيم ، وعدد الجراثيم

قد تكون سلسلة الجراثيم مستقيمة ، أو متموجة ، أو لولبية ، كما أن عدد الجراثيم يختلف فـــى السلسلة بإختلاف نوع الاستربتومايسيس [شكلى ٧ (٢) – ٢٧ و ٢٧ أ] .

شكل ٧ (٢) – ٢٧ :
Streptomyces viridochromogenes
الميسليوم هوائى ، يحمـــل سلاســل حلزونية لجراثيم كونيدية



شكل ٧ (٢) – ٢٧ أ :
شكل توضيحى لنظام ترتيـب سلاسل الجراثيم الكونيديـــة ، فـــى أنـــواع مـــن جنـــس استربتومايسيس
١– سلاسل مستقيمة
٢– سلاسل متعرجة
٣– سلاسل فى حزم
٤– سلاسل حلزونية خطافية
٥– سلاسل حلزونية مفتوحة
٦– سلاسل حلزونية مقفولة
٧– سلاسل مستقيمة مكونـــة لسوار حول المحور
٨– سلاسل حلزونية مكونـــة لسوار حول المحور

جـ - **لون الميسليوم الهوائى** ، ولون الميسليوم التحتى ، ولون البيئة نتيجة النمو .

د - **انتاج صبغة الميلانين**

فمن المعروف أن بعض أنواع الاستربتومايسيس قادرة على انتاج انزيم Tyrosinase، الذى يحول الحامض الأمينى تيروزين الى 1,3 hydroxy indol ، وهذا يتأكسد الى صبغة الميلانين الذائبة بقلة فى الماء ، وذات اللون البنى الغامق أو الأسود .

هـ -**الخواص الفسيولوجية** ، مثل استخدام مصادر الكربون المختلفة ، والأحماض العضوية المختلفة ، وإختزال النترات ، وتحلل اليوريا ... الخ .

G – البكتريا العصوية السالبة لصبغة جرام "هوائية واختيارية للهواء"

Gram negative, Rods, Aerobes and Facultatives

[جدول ٧(٢)-٩]

تضم هذه المجموعة ، عددا كبيرا من الأجناس البكتيرية متعددة الصفات ، وعادة ماتقسم الى فصائل

* مثل فصيلة Pseudomonadaceae التى تضم أجناس

Pseudomonas, Xanthomonas and *Zoogloea*

* وفصيلة Enterobacteriaceae التى تضم أجناس

Escherichia, Enterobacter, Erwinia, Proteus, Salmonella, Serratia, Shigella and *Yersinia*

وخلايا المجموعة (G) ، عصوية مستقيمة أو منحنية قليلا ، وقليل منها كروى ، (ولكنها ليست حلزونية) ، وهى سالبة لصبغة جرام ، والحركة بواسطة أسواط طرفية أو جانبية ، ومنها الهوائى مثل *Pseudomonas* ذو الأيض التنفسى ، ومنها الاختيارى مثل *Escherichia* ذو الأيض التنفسى والتخميرى .

G1 – من الفصائل الهوائية الهامة

١- Family Acetobacteriaceae

خلايا هذه الفصيلة عصوية ، تؤكسد الإيثانول إلى حامض أستيك ، والأجناس التابعة مترممة ، وتتواجد فى الوسط السكرى والكحولى والحامضى ، مثل الأزهار ، والفواكه وعصائر الفواكه والمشروبات الكحولية .

من الأجناس التابعة لهذه الفصيلة

أ – *Acetobacter*

ذو أسواط محيطية ، وتستخدم أنواعه مثل *A. aceti* فى الانتاج التخميرى لحامض الخليك ، كما أن النوع *A. xylinum* يتميز بإفرازه لمواد سليلوزية تتجمع حول الخلية .

ب – *Gluconobacter* (وكان يسمى سابقا *Acetomonas*)

ذو أسواط طرفية ، وتستخدم أنواعه مثل *G. oxydans* فى الانتاج التخميرى لبعض المواد مثل Dihydroxyacetone and Sorbose .

ويفرق بين جنسى الاسيتوباكتر والجلوكونوباكتر بيوكيميائيا بتحلل المواد ، ومورفولوجيا بنظام وجود الأسواط .

جدول ٧ (٢)-٩ : أجناس البكتريا العصوية السالبة لصبغة جرام ، هوائية ، وإختيارية للهواء (Groups 4 & 5, Bergey's 1994) .
وأنظر جدول [٧ (٢) - ١٠]

هوائيـــة (G1 & G3)	هوائية مثبتة أو غير مثبتة للنتروجين G2	اختيارية للهواء (G4 & G5)
Acetobacter	مثبتة لنتروجين الهواء الجوى	*Actinobacillus*
Agromonas		*Aeromonas*
Alcaligenes	تثبيت لاتكافلى	
Alteromonas	*Azomonas*	*Beneckea*
	Azotobacter	
Bordetella		*Chromobacterium*
Brucella	*Beijerinckia*	*Citrobacter*
	Derxia	
Erythrobacter		*Edwardsiella*
		Enterobacter
		Erwinia
Flavobacterium	تثبيت تكافلى	*Escherichia*
Francisella	*Azorhizobium*	
	Bradyrhizobium	*Gardnerella*
Gluconobacter	*Rhizobium*	
	Sinorhizobium	*Haemophilus*
Legionella		*Hafnia*
		Klebsiella
	غير مثبتة لنتروجين الهواء الجوى	
	Agrobacterium	*Morganella*
Methylobacteria group		*Pasteurella*
		Photobacterium
Phyllobacterium		*Plesiomonas*
Pseudomonas		*Proteus*
Ralstonia		*Rahnella*
Thermomicrobium		*Salmonella*
Thermus		*Serratia*
		Shigella
Weeksella		*Streptobacillus*
Xanthobacter		*Yersina*
Xanthomonas		
Zoogloea		*Zymomonas*

٢- Family Pseudomonadaceae

خلايا هذه الفصيلة عصوية مستقيمة أو منحنية قليلا ، الحركة بواسطة أسواط طرفية ، وهى موجبة لاختبار الكاتاليز ، وعادة موجبة لإختبار الأكسيديز .

من أجناس هذه الفصيلة

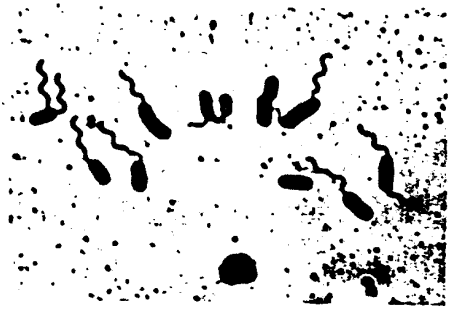
Pseudomonas [شكل ٧ (٢)-٢٨]

أنواع هذا الجنس واسعة الانتشار فى الأراضى والمياه والهواء ، وهى هوائية وإن كان بعضها يستطيع النمو لاهوائيا باستخدام النترات كمستقبل للإلكترونات ، كما أن منها المفرز لصبغات قابلة للذوبان .

وأنواع هذا الجنس بسيطة فى احتياجاتها الغذائية ، وتتميز بقدرتها العالية ، عن كثير من البكتريا الأخرى ، فى استخدام مصادر عديدة عضوية للتغذية منها المركبات الحلقية والعطرية ، وتعتبر كانسة للفضلات Scavengers فى الأراضى والمياه .

ويميز بين أنواع السيدوموناس بخواصها المزرعية ، والبيوكيميائية كاستخدام بعض المركبات كمصادر للكربون .

من أنواع هذا الجنس ماهو ممرض للنبات والحيوان والانسان ، ومنها ماهو مفسد للأغذية واللحوم .



شكل ٧ (٢)- ٢٨ :

خلايا *Pseudomonas* لاحظ الخلايا طرفية الأسواط . (٢٠٠٠×)

من الأنواع التابعة لجنس *Pseudomonas*

P. aeruginosa (سابقا *P. pyocyanea*)

يفرز هذا النوع صبغة البيوسيانين Pyocyanin ، وهى صبغة زرقاء اللون تذوب فى الماء، كما يفرز صبغة البيوفردين Pyoverdin وهى صبغة فلوروسنتية خضراء مصفره تذوب فى الماء .

هذه البكتريا من أحياء التربة وهى مترممة ، ولكنها إنتهازيه إذ تسبب أمراضا للانسان منها التهاب الجهاز البولى والأذن الوسطى ، وقد توجد بالجروح وتفرز بها صديدا.

P. fluorescens

تفرز صبغاتاً فلوروسنتية ، وهى بكتريا مترممة ، توجد بالأراضى والمياه .

P. mallei

ممرضة للحيوانات مثل الخيول والقردة ، وتسبب لها مرض السَّقاوة Glanders ، وهو مرض مسيل للمخاط ، وينتقل الميكروب للإنسان .

P. maltophila

لاتفرز هذه البكتريا صبغات فلوروسنتية ، وهى توجد فى العينات الإكلينيكية .

P. solanacearum (يسمى الآن ***Ralstonia solanacearum***)

ممرض للنباتات ، يسبب العفن البنى فى البطاطس وذبول نبات الدخان .

P. syringae

ممرض للنباتات ويسبب لها أمراضا منها أمراض التبقع وتخطيط الأوراق والنكرزه .

ومن الأجناس لأخرى التابعة لفصيلة السيدوموناديسيا

أ - ***Xanthomonas***

يُكوّن هذا الجنس صبغاتاً صفراء مميزة تسمى Xanthomonadins ، وهى عبارة عن مركبات Polyenes محتوية على بروم .

وكل أنواع هذا الجنس ممرضة للنبات ، تسبب أمراضا منها التبقع والتخطيط والتقرحات والذبول والعفن .

تفرز هذه البكتريا سكريات معقدة لزجة تسمى صمغ الزانثان Xanthan gum ، تستعمل كمثبتات فى الأغذية (كالحلويات) ، وفى الصناعة (كحبر الطباعة ومواد التجميل) .

من أنواع هذا الجنس الهامة *X. campestris* .

ب - ***Zoogloea***

تسمى بكتريا هذا الجنس أيضا بالصموغ الحية Living glue ، وهى بكتريا معقدة التغذية، وتتميز الخلايا بأنها توجد مطمورة فى مادة جيلاتينية صمغية ، مكونة كتلة لزجة متفرعة على شكل الأصابع Finger like [شكل ٧ (٢)- ٢٩] .

من أنواع هذ الجنس ، النوع *Z. ramigera* .

الأنواع المترممة من هذا الجنس مثل *Z. ramigera* ، توجد عادة مُغلّفة للحصى الموجود بالمرشحات البطيئة الإنسياب Trickling-filter beds بأحواض معالجة مياه المجارى ، حيث تؤكسد البكتريا المواد العضوية الذائبة الموجودة بهذه المياه .

شكل ٧ (٢)- ٢٩ : خلايا *Zoogloea ramigera* ، لاحظ أن الخلايا مطمورة فى مادة جيلاتينية وتظهر الكتلة اللزجة متفرعة على شكل الأصابع .

البار = ٥٠ ميكرومتر

٣- Family Legionellaceae

خلايا هذه الفصيلة عصوية متحركة بأسواط طرفية أو جانبية ، تحتاج فى تغذيتها لوجود السيستئين Cysteine وأملاح حديد ، مع وجود فحم ليزيل الأثر السام لـ H_2O_2 المتكون بالبيئة .

يتبع هذه الفصيلة جنس واحد ، هو *Legionella* .

توجد أنواعه بالمياه السطحية ، وبمياه الجداول والبحيرات الملوثة .

وهى بكتريا نهازه للفرص تسبب أمراض الليجيونيلا Legionellosis مثل مرض الشعب الرئوية Bronchopneumonia ، الذى يسببه النوع *L. pneumophila* .

٤- بكتريا الميثايل Methylobacteria (Family Methylococcaceae)

تضم هذه المجموعة أجناسا متباينة ، منها الكروى والواوى والحلزونى ، ولكنها جميعا تمتاز بقدرتها على استخدام غاز الميثان ، أو مجموعة الميثايل (كالميثانول) ، كمصدر وحيد للكربون والطاقة تحت الظروف الهوائية ، أو فى وجود كمية قليلة من الأكسجين ، حيث تؤكسد مجموعة CH_3 الى CO_2 وماء .

هذه البكتريا مترممة غير ضارة ، توجد بالأراضى والمياه ، حيث تخلص الوسط من غاز الميثان الذى يتكون لاهوائيا .

من الأجناس التابعة

Methylobacterium, Methylococcus, Methylomonas, Methylosinus

ويتميز جنس *Methylosinus* بأن خلاياه تكون جراثيم خارجية Exospores ، وهى جراثيم تتكون بالتبرعم خارج الخلية ، وتتميز بمقاومتها النسبية للجفاف والحرارة المرتفعة ، وبعدم إحتوائها على حامض Dipicolinic acid الموجود بالجراثيم الداخلية للبكتريا .

من الأنواع التابعة لهذه الأجناس

Methylobacter extorquens, Methylococcus capsulatus,
Methylomonas methanica, Methylosinus trichosporium

G2 – فصائل هوائية مثبتة (أو غير مثبتة) لنتروجين الهواء الجوى * [جدول ٧ (٢)- ٩] من هذه الفصائل

١ – Family Azotobacteriaceae

الخلايا عصوية أو بيضاوية أو كروية ، منها المتحرك ، وغير المتحرك ، ومنها مايكون صبغاتا بنية اللون ، وهى بكتريا هوائية مترممة وتوجد بالأراضى ، وقادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى لاتكافليا تحت الظروف الهوائية . ويساعد معدل التنفس العالى بهذه الخلايا ، على حماية انزيم النتروجينيز المسئول عن تثبيت النتروجين ، من التأثير المثبط الذى قد يحدث له من الأكسجين الجوى .

من الأجناس التابعة *Azomonas, Azotobacter, Beijerinckia* and *Derxia* ، وتكون خلايا جنس الأزوتوباكتر حويصلات Cysts قادرة على مقاومة الجفاف ، كما أن الدركسيا تستطيع أن تنمو أوتوتروفيا مستخدمة H_2 كمصدر للطاقة .

من الأنواع التابعة لهذه الأجناس

Azomonas agilis, Azotobacter chroococcum, Azotobacter vinelandii, Beijerinckia indica, B. lacticogenes, Derxia gummosa.

٢ – Family Rhizobiaceae

الخلايا عصوية تثير الخلايا النباتية عندما تصيبها ، مما يسبب حدوث تضخم لبعض أجزاء النبات ، مثل تكون عقد جذرية ، عقد ورقية ، عقد ساقية ، أو أورام بأجزاء مختلفة .

من أجناس هذه الفصيلة

Agrobacterium, Azorhizobium, Bradyrhizobium, Rhizobium, and *Sinorhizobium*

أ – *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*

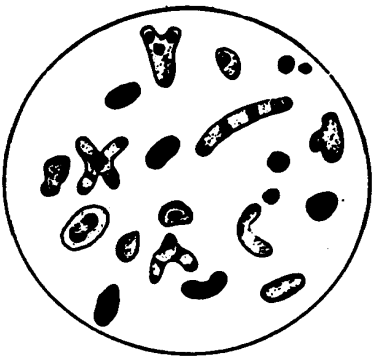
بكتريا هذه الأجناس قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تكافليا ، فى عقد بجذور النباتات البقولية . والأنواع البكتيرية متخصصة بالنسبة للنبات البقولى التى تتكافل معه وتثبت به النتروجين ، وتسمى أنواعا حيوية Biovarieties, bv. .

ومثلها بكتريا *R. leguminosarum* bv. *viceae* ، التى تحدث عقدا بكتيرية مثبتة للنتروجين بنبات الفول البلدى فقط ، ومن أمثلتها أيضا النوع *B. japonicum* المثبتة للنتروجين فى عقد بجذور نبات فول الصويا .

ويتم تثبيت النتروجين الجوى بداخل العقدة الجذرية للنبات ، عندما تكون بكتريا الرايزوبيا فى طور البكتروويد Bacteroids [شكل ٧ (٢) – ٣٠] ، وهو الطور البكتيرى الذى يحتوى على إنزيم النتروجينيز ، كما تكون العقدة الجذرية فى هذا الطور ، محتوية على هيموجلوبين بقولى Leghemoglobin ، وهى مادة تحمى إنزيم النتروجينيز من التأثير الضار لأكسجين الهواء الجوى .

---

* أنظر تثبيت النتروجين الجوى ، بالفصل السابع من الباب العاشر .



شكل ٧ (٢)-٣٠: رسم بين خلايا بكتريا الرايزوبيا فى طور البكتروويد ، حيث تأخذ شكل حروف TLYXV .

كما تظهر الخلايا مخططة ، لوجود مناطق متبادلة الصبغ لاحتوائها على حبيبات ميتا كروماتينية (١٥٠٠x) .

وتتميز الرايزوبيا مزرعيا ، بأنها سريعة النمو على بيئة أجار المانيتول ، عن البرادى رايزوبيا البطيئة النمو على نفس البيئة .

من الانواع التابعة لجنس برادى رايزوبيام : *B. japonicum, B. lupini*

من الأنواع التابعة لجنس رايزوبيام : *R. leguminosarum, R. meliloti, R. trifolii*

ب - *Azorhizobium*

بكتريا سريعة النمو ، مثبتة لنتروجين الهواء الجوى تكافليا فى عقد بسوق النباتات البقولية ، ومن أمثلتها *A. caulinodans* ، المثبتة للنتروجين فى عقد بسوق نبات السيسبانيا .

جـ - *Sinorhizobium*

بكتريا مثبتة لنتروجين الهواء الجوى تكافليا فى عقد بجذور نبات فول الصويا ، وهى من النوع سريع النمو ، من أنواعها *S. fredii & S. xinjiangense* .

د - *Agrobacterium*

بكتريا هذا الجنس غير مثبتة لنتروجين الهواء الجوى ، متحركة بأسواط محيطية ، محللة للأجار والبروتينات ، وهى ممرضة للنبات .

ومن الأنواع التابعة *A. tumefaciens* ، الذى يصيب الكثير من النباتات ، ويدخل بالنبات عن طريق الجروح ، ويسبب بالجذور والسوق والأوراق نموات شاذة وأوراما ، تسمى بسرطان النبات Plant cancer، أو بمرض التدرن التاجى Crown gall disease ، وتسبب هذه الأورام توقف تدفق سريان العصارة النباتية بين أجزاء النبات، وموتها .

تتميز السلالات البكتيرية الممرضة من النوع *A. tumefaciens* بإحتوائها على بلازميد Ti، (Turnover-inducing plasmid) ، الذى يتكامل مع نواة خلية النبات المصاب ، مما يحث على تكوين النموات الشاذة .

G3 – أجناس هوائية لاتتبع فصائل معينة

يبين جدول [٧ (٢) – ١٠] بعض الأجناس الهوائية العصوية السالبة لصبغة جرام ، ولاتتبع هذه الأجناس فصائل معينة بالمجموعة

جدول ٧ (٢) – ١٠ : أجناس عصوية سالبة لصبغة جرام هوائية ، لاتتبع فصائل معينة (Group 4, Bergey's, 1994)

اسم الجنس والانواع	الشكل	الأسواط	المميزات الرئيسية
Alcaligenes *A. eutrophus* *A. faecalis* *A. viscolactis*	عصويات قصيرة جدا	محيطية	• تكوّن مستعمرات غير ملونة • موجبة لإختبار الأكسيديز • توجد بالأراضى والمياه • منها ماينمو أوتوتروفيا مستخدما H_2 كمصدر للطاقة • ومنها الإنتهازى الذى يسبب أمراضا للإنسان
Alteromonas *A. haloplanktis*	عصويات مستقيمة أو منحنية	قطبية	• تتطلب مياه بحرية للنمو • موجبة لاختبار الأكسيديز • بكتريا غير ضارة ، توجد بالبحار
Bordetella *B. pertussis*	عصويات قصيرة جدا	–	• متطفلة وممرضة لكثير من الثدييات • *B. pertussis* يسبب السعال الديكي بالانسان
Brucella *B. abortus* *B. melitensis* *B. suis*	عصويات قصيرة جدا	–	• متطفلة وممرضة للحيوان والانسان حيث تسبب أمراض البروسيلا ، كحمى مالطه
Flavobacterium *F. meningosepticum*	عصويات	–	• تكون مستعمرات صفراء اللون • موجبة لاختبار الأكسيديز • كثيرة الانتشار بالطبيعة والمستشفيات • مترممة ، ومنها الممرض مثل *F. meningosepticum* الذى يسبب مرض الالتهاب السحائى بالأطفال حديثى الولادة
Francisella *F. tularensis*	عصويات قصيرة جدا	–	النوع الأساسى هو *F. tularensis* ، وهو متطفل بالحيوانات البرية ، ويسبب التولاريميا * بالانسان
Thermomicrobium & Thermus *Thermus aquaticus*	عصويات	–	• محبة للحرارة المرتفعة إجبارا • درجة حرارة نموها المثلى ٧٠–٧٥°م . • توجد بمياه الينابيع الحارة
Xanthobacter *X. autotrophicus*	عصويات	–	• تكون مستعمرات صفراء اللون • الخلايا متباينة بالنسبة للصبغ بجرام • توجد بالأراضى ، ومنها مايثبت نتروجين الهواء الجوى • قادرة على النمو أوتوتروفيا مع استخدام H_2 كمصدر للطاقة

* تولاريميا Tularemia : وتسمى أيضا بحمى الأرانب Rabbit fever
ينتقل الميكروب للانسان عن طريق القوارض ، ويسبب له حمى تستمر عدة أسابيع ، وتعالج بالمضادات الحيوية .
ويعود اسم تولاريميا الى مستنقعات Tulare فى كاليفورنيا ، التى لوحظ فيها المرض لأول مره .

G4- فصائل اختيارية للهواء

١- Family Enterobacteriaceae

تحتوى هذه الفصيلة على مجموعة كبيرة من الأجناس [جدول ٧ (٢) - ٩] ، ويميز بينها مورفولوجيا وبيوكيميائيا وبتخميرها للسكريات .
ويوضح جدولى [٧ (٢) ١١ و ١٢] أهم المميزات البيوكيميائية ، والخواص المفرقة بين بعض أجناس هذه الفصيلة .
تمتاز خلايا هذه الفصيلة بأنها عصوية (حوالى ٠,٣ × ١,٥ ميكرومتر) ، سالبة لصبغة جرام ، اختيارية للهواء ، بسيطة التغذية فى أغلبها ، والحركة إن وجدت تكون بأسواط جانبية ، وهى سالبة لإختبار الأكسيديز ، وتحتوى الخلايا على إنتجينات مميزة لها ، تسمى بالأنتجينات العامة للبكتريا المعوية ، Enterobacterial common antigens, CA ، وهى توجد مرتبطة بالانتجينات الجسدية ، ولكن تختلف عنها فى بعض الصفات .
ترتبط معظم أجناس هذه الفصيلة بالنباتات والحيوانات ، ومنها مايعيش بأمعاء الانسان والحيوان ، كما أن منها مايوجد بالأراضى والمياه ، ومنها المترمم والممرض .

جدول (٧ (٢)-١١ : أهم المميزات * البيوكيميائية لأجناس فصيلة Enterobacteriaceae (Group 5, Bergey's, 1994)

الجنس	غاز من الجلوكوز	حامض من اللاكتوز	انتاج يوريز	انتاج H_2S
Escherichia	+	+	-	-
Enterobacter	+	+	d	-
Citrobacter	+	+	-	+
Hafnia	+	+	-	-
Klebsiella	+	+	-	-
Proteus	+	-	+	d
Salmonella	+	-	-	+
Serratia	d	d	-	-
Shigella	-	-	-	-
Yersinia	-	d	d	-

* ١- كل الأجناس سالبة لانتاج Deoxyribonuclease عدا *Serratia* .
٢- كل الأجناس سالبة لانتاج Phenyl alanine deaminase عدا *Proteus* .
٣- d : موجبة أو سالبة حسب النوع
٤- الكلبسيلا تكون كابسول ، ومنها النوع *K. pneumoniae* ، ممرض للإنسان ، وهو من مسببات الالتهاب الرئوى

جدول (٧ (٢)-١٢ : الخواص التفريقية بين أجناس فصيلة *Enterobacteriaceae*

. (Group 5, Bergey's, 1994)

الجنس	الحركة	اختبارات الإيمفيك EMViC tests			
		انتاج الاندول Indole (I)	اختبار أحمر الميثايل Methyl red (M)	اختبار فوجز بروسكاور Voges-Proskauer (V)	استخدام السترات Citrate (C)
Escherichia	+	+	+	-	-
Enterobacter	+	-	-	+	+
Citrobacter	+	-	+	-	+
Hafnia	+	-	-	+	+
Klebsiella	-	-	-	+	+
Proteus	+	d*	+	d	d
Salmonella	+	-	+	-	+
Serratia	+	-	-	d	+
Shigella	-	d	+	-	-
Yersinia	-	d	...	-	...

* d : موجبة أو سالبة للأختبار حسب النوع

من الأجناس الهامة التابعة لهذه الفصيلة **

أ - *Escherichia*

النوع الرئيسى التابع لهذا الجنس ، هو *E. coli* (بكتريا القولون) [شكل ٧ (٢)-٣١] ، وهو يوجد بقولون الانسان وحيوانات ذوات الدم الحار ، حيث يشكل جزءا من الفلورا الطبيعية الموجودة بالقولون .

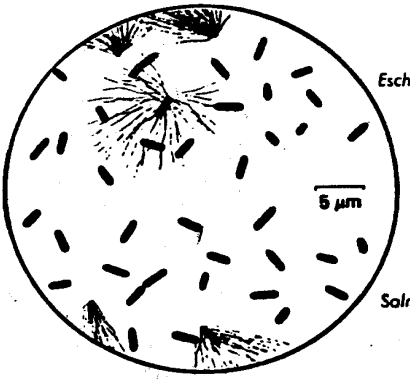
بكتريا *E. coli* مترممة ، ولكن بعض سلالاتها ممرضة ، مثل سلالات :

E. coli O26 : K60 : H 11 & *E. coli* 055 : K59: H 6

وتشير الأرقام والحروف التى تلى اسم البكتريا ، إلى أنتجينات البكتريا الجسدية O ، وأنتجينات جسدية سطحية K ، وأنتجينات الأسواط H ، التى تميز هذه السلالات .

وتسبب هذه السلالات ، اضطراباتا معوية ، والتهاباتا بالجهاز البولى ، ويفرق بين سلالات بكتريا القولون بخواصها الأنتجينية الجسدية O-antigens .

** راجع تخمرات ذات طابع خاص (التخمر الفورميكى ، التخمر المختلط) ، بالباب الحادى عشر .



شكل ٧ (٢)-٣١ : رسم خلايا بكتيرية لأجناس *Escherichia & Salmonella*

لاحظ الأسواط المحيطية ، وهى غير مرئية فى الصبغ العادى .

ب - ***Enterobacter*** (سابقاً ***Aerobacter***)

تتميز أنواع هذا الجنس بأنها تنمو جيدا على درجة حرارة ٣٥°م ، كما أنها تنتج الكثير من الغازات من عمليات التخمر مقارنة ببكتريا *E. coli* .

توجد الإنتروباكتر أساسا بالتربة والمياه وعلى الخضر والنباتات ، كما أن منها مايوجد بالمخلفات البرازية ومنها النهاز للفرص ، ويسبب المرض للانسان .

ومن الأنواع الهامة التابعة ***E. aerogenes*** .

يميز بين *E. coli* وبين *E. aerogenes* باختبارات مجموعة الإيمفيك IMViC tests الموضحة بجدول [٧(٢)-١٢] .

جـ - ***Erwinia***

أنواع هذا الجنس مفرزة لانزيم البكتينيز ، وهى توجد بالنباتات ، وتسبب لها أمراضا متعددة منها العفن الطرى Soft rot ، اللفحة Blight ، التقرحات Cankers ، تبقع الأوراق Leaf spots وغيرها .

من الأنواع الهامة التابعة ***E. carotovora*** .

د - ***Proteus*** .

أنواع هذا الجنس نشطة فى حركتها ، وتنتشر فوق سطح بيئة الأجار مكونة مايعرف بالمستعمرات المنتشرة أو المتجولة Swarming ، وهى توجد أساسا بأمعاء الانسان والحيوان وفى الأراضى والمياه الملوثة ، ومنها أنواع ممرضة للإنسان .

من أنواع جنس البروتياس الهامة

P. mirabilis : المعدى للجهاز البولى

P. vulgaris : غير ممرض ، ويكون مستعمرات منتشرة على سطح البيئة الصلبة

هـ - *Salmonella* [شكل ٧ (٢) - ٣١]

أنواع هذا الجنس ممرضة للانسان ، فمنها

S. typhi الذى يسبب حمى التيفود

S. paratyphi الذى يسبب حمى الباراتيفويد

S. enteritidis و *S. typhimurium* المسببة للتسمم الغذائى .

كما أن من السالمونيلا ماهو ممرض للحيوان والطيور .

ويميز بين سلالات السالمونيلا سيرولوجيا بخواصها الأنتجينية السوطية والجسدية ، H & O-antigens .

و - *Serratia*

توجد هذه البكتريا بالأراضى والمياه وعلى أسطح النباتات ، وأغلبها غير ضار ، غير أن منها أنواعا مفسدة للأغذية ، ومنها ماهو إنتهازى ويسبب أمراضا للإنسان ، خاصة للمرضى بالمستشفيات .

النوع *S. marcescens* يكون مستعمراتا حمراء اللون على سطح البيئة الصلبة .

ز - *Shigella*

أنواع هذا الجنس غير متحركة ، سالبة لاختبار فوجز وبروسكاور* ، وهى ممرضة للانسان وتسبب له مرض الدوسنتاريا الباسيلية (الزحار) .

من أنواع هذا الجنس *Sh. dysenteriae, Sh. flexneri, Sh. sonnei*

ويميز بين السلالات بخواصها الأنتجينية الجسدية .

ح - *Yersinia* [شكل ٧ (٢) - ٣٢] (كان يسمى سابقا *Pasteurella*)

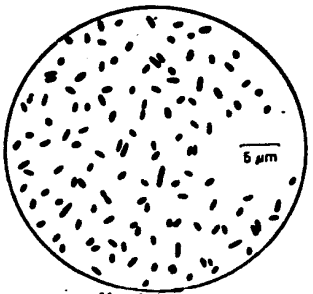
أنواع هذا الجنس غير متحركة ، وسالبة لاختبار فوجز وبروسكاور* ، وهى متطفلة ، ومنها الممرض .

من الانواع الهامة

Y. pestis المسبب لمرض الطاعون بالانسان ، وتقوم البراغيث بنقل البكتريا من القوارض الى الانسان .

Y. enterocolitica المسبب للإضطرابات المعوية بالأطفال

* أنظر اختبارات الايمفيك ، ص ٨٨٠ .



Yersinia pestis.

شكل (٧(٢)-٣٢) : رسم يبين *Yersinia pestis* مسبب مرض الطاعون .

٢- Family Pasteurellaceae

خلايا هذه الفصيلة عصوية قصيرة (حوالى (٠,٢ × ٠,٤ ميكرومتر) ، سالبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، إختيارية للهواء ، ذات إحتياجات غذائية معقدة ، موجبة لإختبار الأكسيديز ، ولاتحتوى خلايا هذه الفصيلة على الانتجينات العامة للبكتريا المعرية ، الموجودة فى خلايا بكتريا فصيلة Enterobacteriaceae. وعادة ماتوجد أنواع هذه الفصيلة كمتطفلة بالفقاريات، ومنها الممرض .

من الأجناس الهامة التابعة لهذه الفصيلة

أ - *Actinobacillus*

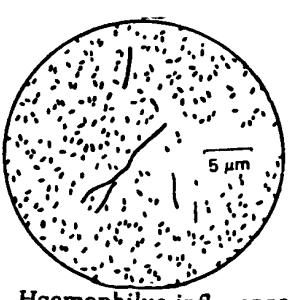
متطفلة على الطيور والثدييات ، ومنها الممرض للحيوان ، مثل

- ***A. lignieresii*** المسبب لأورام حبيبية *Granulomatous lessions* بالماشية والأغنام
- ***A. suis*** المسبب للالتهاب الرئوى والتلوث الدموى Septicimia بالخنازير .

ب - *Haemophilus* [شكل ٧ (٢)-٣٣]

ذات إحتياجات غذائية معقدة غير عادية ، فهى تحتاج فى نموها لعامل X factor, X، وهو هيم الدم ، و/أو عامل V factor V ، وهو قرين انزيم الناد NAD .

توجد أنواع هذا الجنس متطفلة على الأغشية المخاطية للإنسان والحيوان ، ومنها الممرض للإنسان ، مثل *H. influenzae* المسبب للالتهاب السحائى بالأطفال .



Haemophilus influenzae.

شكل (٧(٢)-٣٣) : رسم يبين خلايا *Haemophilus influenzae* .

جـ - *Pasteurella*

متطفلة على الأغشية المخاطية للجهاز التنفسى العلوى للطيور والثدييات (نادرا بالنسبة للانسان)

منها ***P. multocida*** المسبب لكوليرا الطيور والتلوث الدموى بالماشية .

G5- أجناس أخرى اختيارية للهواء لاتتبع فصائل معينة [جدول ٧ (٢)- ٩] .

١ - *Aeromonas*

عصويات متحركة توجد بالمياه ومياه المجارى والتربة ، وهى قادرة على تخمير الجلوكوز (وليس اللاكتوز) مع انتاج حامض وغاز .

منها الممرض للأسماك ، مثل *A. salmonicida* ، الممرض لسمك التروت (السلمون المُرقَّط) Trout والسالمون العادى Salmon .

٢ - *Beneckea*

عصويات متحركة محبة للملوحة ، توجد بالمياه البحرية ، وهى ممرضة للحيوانات . من أنواعها

B. parahaemolytica وينتقل من الأسماك الى الانسان ، ويسبب للانسان إضطراباتا معوية .

٣ - *Chromobacterium*

عصويات متحركة تكون صبغة الفيولاسين Violacein ، وهى من مشتقات الإندول ، وغير ذائبة بالماء ، وتظهر مستعمرات هذه البكتريا بنفسجية اللون على البيئات الصلبة بسبب صبغة الفيولاسين .

النوع *C. violaceum* يوجد بالأراضى والمياه ، وهو مترمم ، وأيضا نهاز للفرص مسببا المرض للإنسان والحيوان .

٤ - *Gardnerella*

عصويات غير متحركة ، متباينة للصبغ بجرام ،

منها *G. vaginalis* وهو من مسببات التهاب المهبل بالإناث .

٥ - *Photobacterium*

عصويات متحركة ، محبة للملوحة ، تعيش بالبحار وعلى سطح بعض الأسماك وفى جهازها الهضمى ، وبالمواد العضوية المتحللة ، وبعضها يعيش تكافليا مع أسماك قاع البحار .

تمتاز أنواع هذا الجنس بأنها تسبب إضاءة حيوية ، وتحدث الاضاءة فى وجود الأكسجين ، ومن الأنواع التابعة *Ph. phosphoreum* (أنظر ص ٨٨٥) .

٦ - *Streptobacillus*

عصويات متعددة الأشكال ، غير متحركة ، قد توجد الخلايا فى صورة بروتوبلاست عارى (أى بدون جدار) ، مما يجعل الخلايا تأخذ أشكال إل ، L-forms .

وتُكوّن الأستربتوباسلس مستعمراتاً دقيقة بالبيئة الصلبة ، شكلها كالبيض المقلـى Fried-egg ، تشبه فى مظهرها مستعمرات المايكوبلازما .

ومن الأنواع التابعة *S. moniliformis* ، وهى متطفلة بالفئران ، ومن مسببات حمـى عضة الفأر للإنسان Rat-bite fever .

٧ - *Zymomonas*

عصويات متحركة بأسواط طرفية ، مترممة ومخمرة للسكريات ، وتُنتج من الجلوكـوز كميات كبيرة من الإيثانول ، توجد بالمخلفات النباتية المتخمرة وبالعسل ، ومنها المفسـد للبيرة وعصائر الفاكهة ،

من الأنواع التابعة *Z. mobilis* .

H- أجناس البكتريا العصوية السالبة لصبغة جرام اللاهوائية (غـير المختزلـة للكبريت) Gram negative, Rods, Anaerobes جدول [٧ (٢) - ١٣]

خلايا هذه المجموعة سالبة لصبغة جرام ، عصوية مستقيمة أو منحنية ، لاهوائية ، منـها المتحرك وغير المتحرك ، وكثير منها يفرز كمياتاً محسوسة من الأحمـاض العضويـة نتيجة للتخمر ، وهى لاتستخدم مركبات الكبريت كمستقبلة للإلكترونات ، وأغلبها متطفل .

من الأجناس التابعة لهذه المجموعة

Bacteroides	*Pelobacter*
Fibrobacter	*Ruminobacter*
Fusobacterium	*Thermobacteroides*
Leptotrichia	*Wolinella*
	Zymophilus

ويوضح جدول [٧ (٢)-١٣] مميزات بعض الأجناس التابعة لهذه المجموعة .

جدول ٧ (٢)-١٣ : مميزات بعض الأجناس العصوية السالبة لصبغة جرام اللاهوائية غير المختزلة للكبريت (Group 6, Bergey's 1994) .

الجنس	*Bacteroides* (B.)	*Fibrobacter* (Fib.)	*Fusobacterium* (Fus.)	*Leptotrichia* (L.)	*Wolinella* (W.)
الشكل المورفولوجي	- عصوى - الحركة إن وجدت تكون بأسواط محيطية	- عصوى - غير متحرك	- عصوى طويل ذو أطراف مدببة - مغزلي الشكل - غير متحرك	- عصوى خيطي - غير متحرك	- عصوى أو منحنى قليلا - متحرك بسوط واحد طرفي
نواتج التخمر الأساسية	خليط من الأحماض، منها: الأستيك ، الفورميك، البروبيونيك ، البيوتريك ، اللاكتيك	أستيك ، سكسنيك	البيوتريك	لاكتيـــــك	- يستخدم H_2 أو الفورميك كمانح للإلكترونات ، مع أكسدة الفورميك الى CO_2 - ويستخدم الفيومارايك أو النترات كمستقبل للإلكترونات وأختزال الفيومارايك الى سكسنيك
التواجـــد	- بالقناة الهضمية وكرش المجترات والمخلفات البرازية - منه أنواع ممرضة	بالقناة الهضمية وبكرش المجترات	- بتجويف الفم والقناة الهضمية - منه أنواع ممرضة للإنسان	بتجويف الفم	بالأوساط اللاهوائية
أهم الأنـــواع	*B. fragilis* *B. ruminicola* *B. succinogenes*	*Fib. intestinalis* *Fib. succinogenes*	*Fus. fusiforme* *Fus. nucleatum*	*L. buccalis*	*W. succinogenes*

I – أجناس البكتريا اللاهوائية المختزلة للكبريت أو الكبريتات (عصوية ، كروية ، واوية)

Sulfur or sulfate-reducing anaerobic bacteria [جدول ٧ (٢)-١٤]

تشمل هذه المجموعة [جدول ٧ (٢)-١٤] ، الأجناس البكتيرية اللاهوائية القادرة على استخدام الكبريت أو مركباته غير العضوية (كالكبريتات والثيوكبريتات) كمستقبل للإلكترونات وانتاج H_2S .

من هذه الأجناس ماهو متحرك مثل *Desulfuromonas* ، ومنها غير المتحرك مثل *Desulfococcus* ، والزاحف Gliding مثل *Desulfonema* . ومنها السالب لصبغة جرام الواوى مثل *Desulfovibrio* ، ومنها الموجب لصبغة جرام المكون لجراثيم داخلية مثل *Desulfotomaculum* [أنظر جدول ٧ (٢) – ١٤] .

والبكتريا المختزلة للكبريت قادرة على استخدام المركبات ذات الوزن الجزيئى الصغير (مثل الأسيتات واللاكتات والإيثانول) ، والأحماض الدهنية ، والمركبات العطرية ، كمواد مانحة للالكترونات .

وتوجد البكتريا المختزلة للكبريت فى الأوساط اللاهوائية ، وفى قاع البرك والمستنقعات ، وفى طين المياه العذبة والبحرية ، وأمعاء الإنسان والحيوان ، ومنها المترمم والمتطفل .

جدول (٧(٢)-١٤) : أجناس بكتيرية لاهوائية مختزلة للكبريت أو الكبريتات (عصوية ، كروية ، واوية)

. (Group 7, Bergey's 1994)

الجنس	الشكل المورفولوجى
Desulfobacterium	عصوى
Desulfococcus	كروى
Desulfomicrobium	عصوى
Desulfomonas	عصوى منحنى
Desulfonema	خيطى لزج
Desulfosarcina	كروى فى تجمعات
Desulfotomaculum	عصوى
Desulfovibrio	واوى
Desulfurella	عصوى
Desulfuromonas	عصوى
Thermodesulfobacterium	عصوى

J – البكتريا السالبة لصبغة جرام المنحنية ، واوية أو حلزونية

Gram-negatgive, Curved rods : Vibrios and Spirals [جدول ٧(٢)-١٥]

يتبع هذه المجموعة أجناس بكتيرية سالبة لصبغة جرام ، خلاياها منحنية ذات لفة واحدة (واوية Vibroid) ، أو ذات أكثر من لفة (حلزونية Spiral) ، متحركة بأسواط طرفية ، هوائية أو إختيارية أو لاهوائية ، تهاجم عددا قليلا من الكربوهيدرات ، وهى عادة موجبة لإختبار الأكسيديز .

وتوجد هذه البكتريا فى المياه العذبة أو المالحة ، وأغلبها مترمم غير ضار ، وقليل منها ممرض للإنسان والحيوان .

جدول (٧(٢)-١٥) : أجناس بكتيرية منحنية : واوية أو حلزونية سالبة لصبغة جرام

(Groups 2, & 3, Bergey's 1994)	(Group 6, Bergey's , 1994)
هوائية (J1 & J2)	لاهوائية (J3)
Aquaspirillum	*Acetivibrio*
Azospirillum	*Acetogenium*
Bdellovibrio	*Anaerobiospirillum*
Campylobacter (محب للأكسجين بكمية قليلة)	*Anaerovibrio*
Cellvibrio	*Butyrivibrio*
Cyclobacterium	*Desulfovibrio*
Flectobacillus	*Selenemonas*
Halovibrio	*Succinimonas*
Helicobacter	*Succinivibrio*
Microcyclus	
Oceanospirillum	
Runella	
Spirillum	
Spirosoma	
Sporospirillum	
Vampirovibrio	
Vibrio (اختيارية للهواء)*	

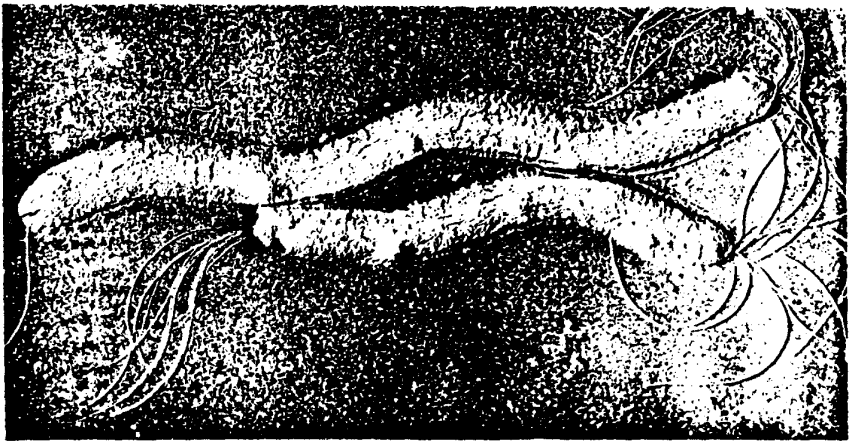
* تتبع الفيبريو المجموعة ٥ ، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤ .

J1 - أجناس هوائية متحركة : (Group 2, Bergey's, 1994) [جدول ٧ (٢)-١٥]

أ - *Aquaspirillum*

حلزونية ، هوائية الى محبة للأكسجين بكمية قليلة ،ذات خصلة من الأسواط بطرفى الخلية Amphitrichous [شكل (٧)(٢)-٣٤] . توجد فى المياه الساكنة وفى البحيرات ، ولاتنمو فى المياه البحرية ، أو المياه التى تزيد نسبة كلوريد الصوديوم بها عن ٣% ، وهى مترممة غير ضارة .

من أنواعها *A. serpens, (bengal) & A. itersonii* .



شكل ٧ (٢) - ٣٤ : *Aquaspirillum serpens* ، لاحظ وجود خصلة من الأسواط بكل طرف (١٠,٠٠٠×)

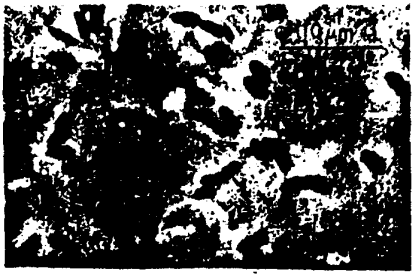
ب - *Azospirillum* [شكل ٧ (٢)-٣٥]

واوية ، هوائية ، متحركة بسوط طرفى ، وإذا نمت فى بيئة صلبة فإنها تتحرك بمجموعة من الأسواط الجانبية .

توجد متعايشة مع جذور الحشائش والنجيليات كالقمح والذرة وقصب السكر ، حيث تثبت نتروجين الهواء الجوى فى منطقة جذر النبات ، تحت ظروف كميات قليلة من الأكسجين .

النوع *A. lipoferum* يستطيع النمو أوتوتروفيا مستخدما H_2 كمصدر للطاقة .

ومن الأنواع الأخرى التابعة *A. brazilense* .



شكل (٧(٢)-٣٥ :

Azospirillum braziliense خلايا منحنية ومستقيمة من مزرعة عمرها ٤٨ ساعة ، عرض الخلية حوالى ١,٠ ميكرومتر .

جـ - *Bdellovibrio*

واوية ، هوائية ، دقيقة الحجم (٠,٣ × ٢,٠ ميكرومتر) ، متحركة بسوط طرفى ، تعيش فى المياه العذبة والبحرية ومياه المجارى ، كما توجد فى الأراضى .

أغلبها متطفل إجبارا على البكتريا السالبة لصبغة جرام ، مثل تلك التابعة لأجناس *Escherichia, Pseudomonas & Salmonella* ، حيث تلتصق البديللوفبريو بخلية العائل ، وتخترق الجدار الخلوى من ثقب ، وتنفذ إلى الغشاء البريبلا زمى وتسكن به ، أو تمتد إلى داخل خلية العائل ، ثم تنمو وتتكاثر وتتغذى على محتويات الخلية وتستهلك محتوياتها ، وبذلك تصبح خلية العائل فارغة كالشبح ، ثم تخرج خلايا البديللوفبريو النامية من خلية العائل ، لتغزو خلايا أخرى .

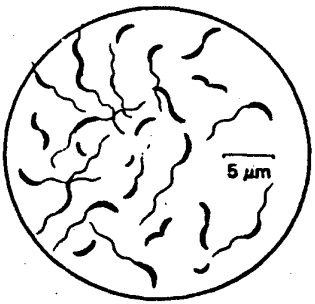
من أنواعها ***B. bacteriovorus*** .

د - *Campylobacter*

واوية ، محبة للأكسجين بكمية قليلة ، متحركة بسوط واحد فى طرف الخلية أو فى كلا الطرفين [شكل ٧(٢)-٣٦] . توجد بتجويف الفم وفى الجهاز الهضمى وفى الأعضاء التناسلية ، وهى متطفلة ، وبعض أنواعها ممرض مثل

C. jejuni من مسببات الإسهال فى الإنسان ،

و *C. fetus* subsp. *venerealis* المسبب لإجهاض الماشية .



شكل ٧ (٢) - ٣٦: رسم يبين خلايا *Campylobacter*

الأسواط غير مرئية فى الخلايا المصبوغة بالصبغ العادى

هـ - *Oceanospirillum*

حلزونية ، هوائية ، متحركة بخصلة من الأسواط بطرفى الخلية ، توجد فى البحار ، وهى لاتنمو فى وسط به أقل من ٣% ملح ، ويلزم لنموها وجود مياه بحرية فى بيئة النمو ، وهى مترممة غير ضارة .

و - *Spirillum*

حلزونية ، هوائية ، متحركة بخصلة من الأسواط فى الطرفين ، توجد بالمياه الراكدة ، والمياه الملوثة بالمجارى ، والمواد المتحللة ، وأغلبها مترمم غير ضار .

من أنواع السبايريلام

S. volutans

خلاياه كبيرة الحجم ، تحتوى على نسبة عالية من الفوليوتين ، ينمو فى وجود أكسجين بكميات قليلة ، ويوجد فى مخلفات الماشية .

S. minus

خلاياه دقيقة الحجم ، ومن مسببات حمى عضة الفأر للإنسان rat-bite fever ، حيث توجد البكتريا بدم الفأر ، وتنتقل للإنسان عن طريق العض .

ز - *Vampirovibrio*

يتشابه فى أغلب صفاته مع صفات جنس *Bdellovibrio* ، ولكن الفامبيروفبريو لايهاجم البكتريا ، ولكن يهاجم خلايا الطحالب حقيقية النواة .

ح - *Vibrio* [شكل ٧(٢)-٣٧]

واوية ، اختيارية للهواء ، حجمها حوالى ٠,٣ × ١,٣ ميكرومتر ، متحركة بسوط طرفى ، ويتميز السوط بأنه مغلف بغشاء ، وهى ذات إحتياجات غذائية بسيطة ، خليطة التخمر ، وتوجد فى الأوساط المائية العذبة والبحرية .

وأغلبها مترمم غير ضار ، وبعضها ممرض ، ويميز بين سلالات الفبريو الممرضة سيرولوجيا ، بواسطة الانتجينات الجسدية .

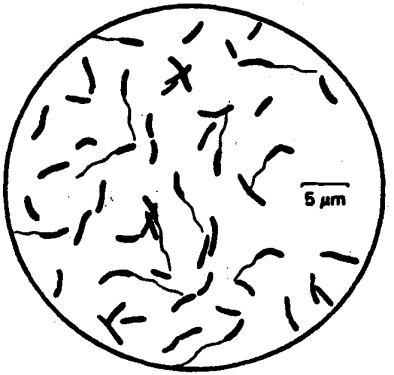
من أنواع الفبريو

V. anguillarum ..... ممرض للأسماك البحرية وثعابين البحر

V. cholerae ..... مسبب مرض الكوليرا بالانسان ، وتتكاثر هذه البكتريا بالأمعاء الدقيقة وتفرز توكسينات خارجية تسبب المرض ،

V. fischeri ..... توجد متعايشة مع أسماك قاع البحار ، وتسبب إضاءة حيوية لونها أخضر مزرق

V. parahaemolyticus تسبب تسمماتا غذائية للإنسان ، تظهر كاضطرابات معوية .



شكل (٧(٢)-٣٧ : رسم يبين بكتريا *Vibrio* ، لاحظ الأسواط الطرفية التى لاتظهر بالخلايا المصبوغة بالصبغ العادى .

J2- أجناس هوائية غير متحركة (Group 3, Bergey's 1984)

[جدول ٧ (٢) - ١٥]

أجناس بكتيرية خلاياها حلزونية أو منحنية ، وقد يتصل طرفى الخلية المنحنية لتكون حلقة ، وهى سالبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، هوائية ، موجبة لإختبار الأكسيديز والكاتاليز .

وتوجد أساسا بالأراضى والمياه العذبة والبحرية ، وأغلبها مترمم غير ضار .

من الأجناس التابعة *Flectobacillus, Runella & Spirosoma* .

وخلايا هذه الأجناس لاتكون فجواتا غازية بداخل الخلايا ، وعلى البيئة الصلبة فإنها تكون مستعمراتا ملونة ، حمراء اللون فى حالة *Flectobacillus & Runella* ، وصفراء اللون فى حالة *Spirosoma* .

أما خلايا جنس *Microcyclus* (التابع لنفس المجموعة) فإنها تكون فجواتا غازية دائمة بداخل الخلايا ، وتعطى مستعمراتا غير ملونة .

J3 - أجناس لاهوائية : [أنظر جدول (٧(٢)-١٥]

خلايا هذه الأجناس سالبة لصبغة جرام ، منحنية ، لاهوائية ، أغلبها متحرك بسوط طرفى ، تحصل على طاقتها بالتخمر ، وتنتج كمياتا محسوسة من الأحماض العضوية نتيجة التخمر .

تعيش فى التجويف الفمى وبالجهاز الهضمى وكرش المجترات ، وفى طين قاع البحار ، وبالأوساط اللاهوائية الأخرى ، وأغلبها مترمم .

ويميز بين الأجناس بشكلها المورفولوجى ، وبأنواع الأحماض العضوية التى تنتجها نتيجة عملية التخمر .

ويوضح جدول [٧(٢)-١٦] مميزات بعض الأجناس التابعة لهذه المجموعة .

جدول (٧(٢)-١٦) : مميزات بعض الأجناس المنحنية السالبة لصبغة جرام اللاهوائية (Group 6, Bergey's 1994) .

الجنس وأهم الأنواع	الشكل المورفولوجى	نواتج التخمر الاساسية	التواجـــد
Anaerobivrio	واوى متحرك بسوط طرفى	أستيك ، بروبيونيك	الأوساط اللاهوائية
Butyrivibrio *B. fibrisolvens*	واوى متحرك بسوط طرفى	أستيك ، بروبيونيك	كرش المجترات
Desulfovibrio *D. desulfuricans*	واوى متحرك بسوط طرفى	– أستيك من المواد العضوية – H_2S من اختزال الكبريت والكبريتات	– طين قاع البحار – الجهاز الهضمى للانسان والحيوان – كرش المجترات – آبار زيت البترول – وتسبب تآكل وتثقب حديد المواسير
Selenomonas *S. ruminantium* *S. sputigena*	– هلالى الشكل – متحرك بخصلة من الأسواط التى توجد بوسط الجانب المحدب للخلية	أستيك ، بروبيونيك وأحيانا لاكتيك	– تجويف الفم والاسنان . – كرش المجترات
Succinimonas *S. amylolytica*	كروى عصوى ، متحرك بسوط طرفى	أستيك ، سكسنيك	كرش المجترات
Succinivibrio *S. dextrinosolvens*	واوى متحرك بسوط طرفى	أستيك ، سكسنيك	كرش المجترات

K – مجموعة السبيروكيتا : The Spirochaetes

بكتريا حلزونية سالبة لصبغة جرام [جدول ٧ (٢) – ١٧]

يتبع هذه المجموعة أجناس بكتيرية تتميز خلاياها بأنها سالبة لصبغة جرام ، منحنية حلزونية ، ذات جدر مرنة قادرة على الانثناء ، هوائية أو لاهوائية ، والحركة لولبية بنوع خاص من الأسواط الداخلية بالخلايا Endoflagella ، تسمى أسواط بريبلازمية* ، كما أن السبيروكيتا قادرة على الحركة الزاحفة على الأسطح الصلبة .

الخلايا فى أغلب الأجناس دقيقة الحجم ، قطرها حوالى (٠,١ – ٠,٦ ميكرومتر) ، تمر من أغلب المرشحات البكتيرية ، وتُستعمل طرقا مناسبة فى فحصها ، ويستخدم مجهر الحقل المظلم فى مشاهدتها .

توجد السبيروكيتا فى الأوساط المائية العذبة والبحرية ، كما يوجد بعضها بالحيوانات والرخويات ومفصليات الأرجل ، وهى مترممة أو متطفلة وبعضها ممرض .

ويتبع مجموعة السبيروكيتا فصيلتين ، هما

1. Family Spirochaetaceae

وتمتاز أجناس هذه الفصيلة بأنها لاهوائية أو محبة للأكسجين بكمية قليلة ، وبأنها قادرة على استخدام الكربوهيدرات أو الأحماض الأمينية كمصدر للكربون والطاقة ، **ومن الأجناس التابعة لهذه الفصيلة**

Borrelia, Brachyspira, Cristispira, Spirochaeta, Treponema

2. Family Leptospiraceae

وتمتاز أجناس هذه الفصيلة بأنها هوائية ، وتستخدم الأحماض الدهنية ذات السلسلة الطويلة ، كمصدر للكربون والطاقة .

ومن الأجناس التابعة لهذه الفصيلة *Leptospira* ،

وجدول [٧ (٢)–١٧] يوضح مميزات أهم الأجناس التابعة لمجموعة السبيروكيتا

---

* أسواط بريبلازمية Periplasmic flagella ، أسواط توجد بداخل خلية السبيروكيتا ، وتقع فى الحيز البريبلازمى للخلية ، أى بين غلاف الخلية الخارجى وبروتوبلازم الخلية .

وهذه الأسواط البريبلازميه لاتمتد الى خارج الخلية ، ولكنها تساعد الخلية على الحركة السابحة بالسوائل (أنظر ص ١٨٠) .

جدول ٧(٢)-١٧ : مميزات بعض الأجناس التابعة لمجموعة السبيروكيتا

(Group 1, Bergey's 1994)

الجنس وأهم الانواع	العلاقة بالأكسجين	التعايش	أهم المميزات
Borrelia *B. recurrentis*	محب للأكسجين بكمية قليلة	متطفل على القوارض وصغار الثدييات ، وعلى مفصليات الأرجل المتعلقة بتلك الحيوانات	ممرض ، ويسبب للانسان الحمى الراجعة (الناكسة) Relapsing fever ، وتنتقل البكتريا الى الانسان بواسطة القمل والقوارض
Cristispira *C. pectinis*	غير محدد	- متطفل غير ضار - يوجد بالمياه العذبة والبحرية وبالمحاريات	- من أجناس السبيروكيتا كبيرة الحجم . - ذات عدد كبير من الأسواط البريبلازمية
Leptospira *L. biflexa* *L. canicola* *L. interrogans*	هوائى	- يوجد بالأوساط المائية والمياه الملوثة . - بعضها مثل *L. biflexa* غير ضار - وبعضها مثل *L. interrogans* متطفل على الحيوانات المستأنسة والبرية ، وهو ممرض ، ويسبب للانسان حمى يعقبها يرقان . - تنتقل البكتريا للانسان من الأغذية واللحوم الملوثة	- الخلايا خطافية الشكل - أصغر أجناس السبيروكيتا حجما
Spirochaeta *S. plicatilis*	اختيارى للهواء أو لاهوائى	- مترمم غير ضار - يوجد فى الأوساط المائية ورواسبها ، وفى كرش المجترات	يستخدم الكربوهيدرات ، ولايستخدم الأحماض الأمينية ، كمصدر للكربون والطاقة
Treponema *T. hyodysenteriae* *T. pallidum*	لاهوائى ، أو محب للأكسجين بكمية قليلة	- يوجد بالتجويف الفمى والجهاز الهضمى والأعضاء التناسلية للانسان والحيوان . - بعض الأنواع ممرضة مثل *T. pallidum* التى تسبب مرض الزهرى للإنسان	- دقيق الحجم - يستخدم الكربوهيدرات والأحماض الأمينية كمصدر للكربون والطاقة

L - بكتريا سالبة لصبغة جرام ذات تركيبات خاصة

Gram negative bacteria with special structures

[جدول ٧ (٢)-١٨]

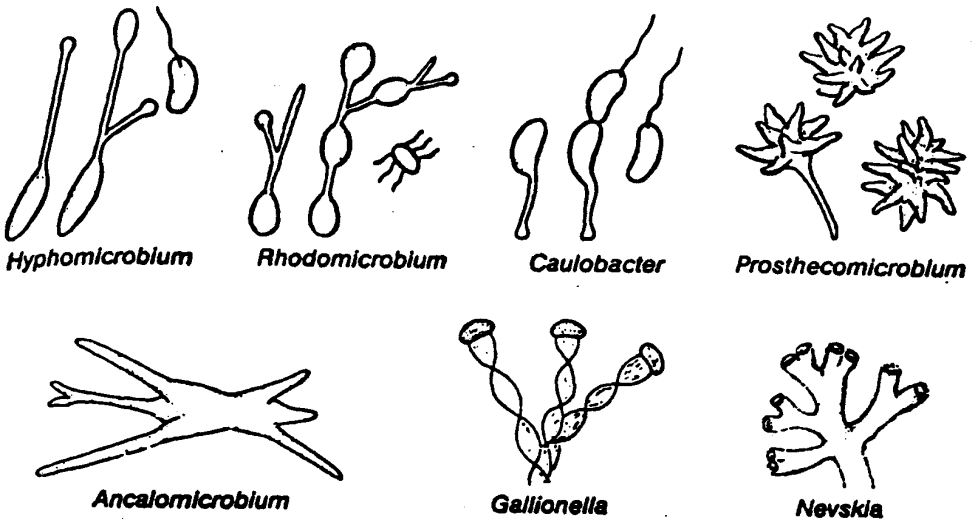
تتميز هذه المجاميع البكتيرية [جدول ٧(٢)- ١٨] وشكل [٧ (٢) - ٣٨] بأن لها تركيبات خاصة أو نظام حركة خاص [جدول ٧ (٢) - ١٩] ، ولاتوجد هذه الخواص فى المجاميع البكتيرية الأخرى

جدول ٧ (٢)- ١٨ : بكتريا سالبة لصبغة جرام ذات تركيبات خاصة مغلفة ، ذات زوائد، ذات سوق ، متبرعمة .

Group 13, Bergey's, 1994		Group 14, Bergey's, 1994		
متبرعمـــة (L4)		ذات سوق Stalked (L3)* غير متبرعمة	ذات زوائد Prosthecated (L2)* غير متبرعمة	مغلفة Sheathed (L1)
بدون زوائد (ذات سوق)	ذات زوائد			
Blastobacter *Blastocaulis* *Planctomyces*	*Ancalolmic-robium* *Hyphomicrobium* *Hyphomonas*	*Gallionella***, *Nevskia*	*Asticcacaulis* *Caulobacter* *Prostheco-microbium* *Seliberia*	*Cladothrix* *Clonothrix* *Crenothrix* *Leptothrix* *Lieskeella* *Phragmidiothrix* *Sphaerotilus* *Streptothrix*

* بكتريا المجموعة L2 & L3 غير متبرعمة مقارنة ببكتريا المجموعة L4 .

** تتبع الجاليونيلا المجموعة ١٢ ، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤



شكل ٧ (٢) - ٣٨ : أجناس لبكتريا ذات زوائد وذات سوق .

ومن التركيبات الخاصة التى توجد بهذه المجموعة من البكتريا

أ - وجود أغلفة [١] Sheaths حول الخلايا

ب - أو إمتدادات من الخلايا كالزوائد [٢] Prosthecae

جـ - أو السوق [٣] Stalks الممتدة من الخلايا

د - أو وجود براعم كوسيلة للتكاثر

هـ - أو تحرك الخلايا زحفا Gliding وليس بالأسواط

(١) **الغلاف Sheath** ، عبارة عن تركيب أنبوبى يحيط بسلسلة الخلايا ، وهو من مواد سكرية معقدة Heteropolysaccharides ، وقد يدخل فى تركيب الغلاف أكاسيد وإيدروكسيد الحديديك والمنجنيك ، التى تعمل على تقوية الغلاف .

(٢) **الزوائد Prosthecae** ، مادة خلوية التركيب ، نصف صلبة ، قطرها أقل من قطر الخلية ، تمتد من الجدار والغشاء السيتوبلازمى للخلية وتحتوى على سيتوبلازم ،

(٣) **أما السوق Stalks** ، فهى مادة غير حية تفرزها الخلية ، وتمتد كالأنبوبة أو الشريط ، ولاتحتوى على سيتوبلازم .

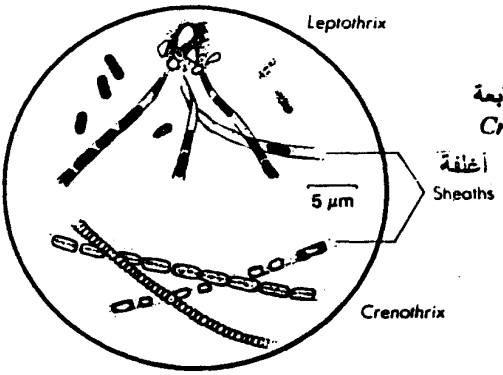
وأنظر ص ٢٠٠ .

وفيما يلى وصفا لهذه المجاميع البكتيرية ، وأهم الأجناس التابعة لها

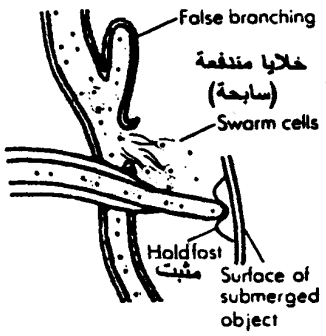
L1 – البكتريا المغلفة : Sheathed bacteria

بكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، تتجمع فى سلاسل Chains أو فى خيوط كالشعر Trichomes* ، وتكون أغلفة Sheaths حول هذه السلاسل أو الخيوط الشعرية .

تقطن هذه البكتريا فى الأوساط المائية العذبة والبحرية ، وشكل [٧ (٢)-٣٩] يبين خلايا أجناس *Crenothrix & Leptothrix* .



شكل ٧ (٢)- ٣٩
رسوم تبين أشكال البكتريا المغلفة التابعة لجنسى *Crenothrix* and *Leptothirx*



شكل ٧ (٢)-٤٠
رسم يبين البكتريا المغلفة التابعة لجنس *Sphaerotilus*

Sphaerotilus

---

* أنظر تذييل ص ٤٦٤

من أجناس البكتريا المغلفة
Sphaerotilus **(شكل ٧ (٢)- ٤٠) .**

الخلايا عصوية طويلة (حوالى ١,٠ × ٢-١٠ ميكرومتر) ، تتجمع فى سلاسل وقد يصل طول السلسلة لعدة ملليمترات ، وتحيط بالسلسلة غلاف ، وقد يتفرع الغلاف نتيجة إلتصاق الخلايا الحديثة ببعضها ، وتنشأ تفرعات كاذبة False branching .

تنقسم الخلايا ثنائيا داخل الغلاف ، وتنطلق الخلايا من الغلاف (من فتحة أو من ثقب بالغلاف) ، والخلايا المنطلقة عصوية متحركة بأسواط طرفية ، وتسمى خلايا مندفعة (سابحة) Swarm cells .

من الأنواع التابعة لهذا الجنس *S. natans* .

يوجد *S. natans* بالمياه ومياه المجارى ، لذلك قد يعرف أيضا بفطر مخلفات المجارى Sewage mold ، وقد يشار إليه أيضا باسم بكتريا الحديد Iron bacteria .

غلاف خلايا هذه البكتريا رفيع نسبيا ، عضوى التركيب ، غير ملون ، وفى المياه المحتوية على أملاح الحديد ، تترسب إيدروكسيدات الحديد بأغلفة هذه البكتريا ، فيتحول لون الأغلفة الى بنى مصفر .

وتكونّ هذه البكتريا تكتلات لزجة بالمياه وبمياه المخلفات ، مما يسبب مشاكل فى المياه المستخدمة فى الصناعة ، وفى شبكات مواسير المياه ، وفى أحواض ترسيب مياه المجارى .

L2 - البكتريا ذات الزوائد Prosthecated bacteria

من أجناس البكتيريا ذات الزوائد : ***Caulobacter*** **[شكلى ٧(٢) ٤١ و ٤٢] .**

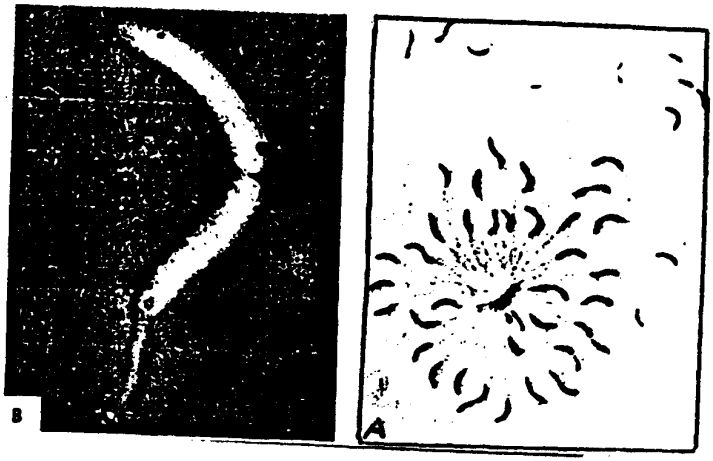
الخلايا هوائية ، عصوية منحنية ، ذات زوائد ، غير متبرعمة ، تتكاثر بالأنقسام الثنائى ، متحركة بسوط طرفى ، وتسمى بالخلايا المندفعة (السابحة) Swarm cells.

يخرج من الخلية زائدة واحدة ، وتنتهى الزائدة بمثبت Holdfast * . وبواسطة المثبت تلتصق الخلايا ببعضها لتكون تجمعاً على شكل الورد Rosettes ، أو يلتصق المثبت بسطح مادة صلبة أخرى ليثبت الخلية بها .

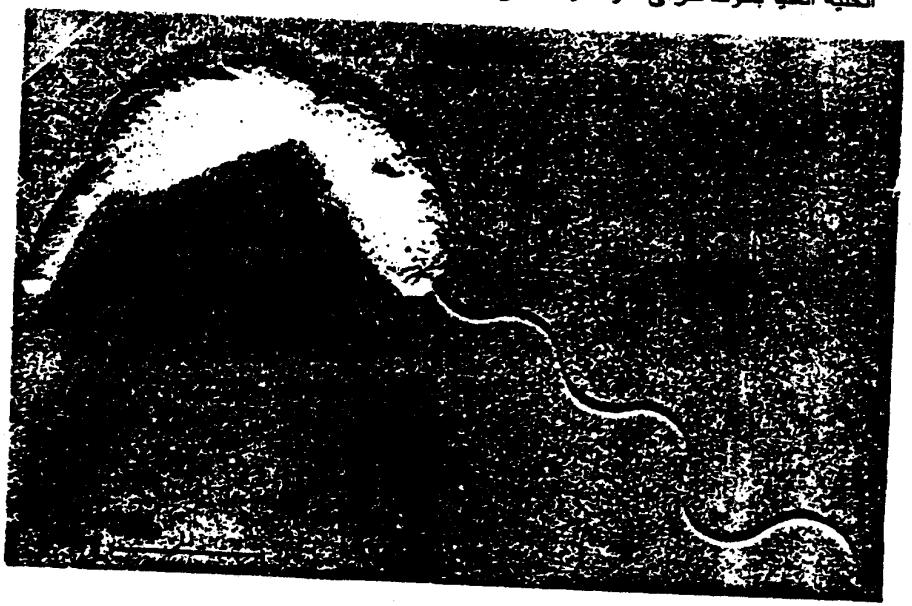
توجد الكولوباكتر فى الأراضى والمياه العذبة ، المالحة ، ومن الأنواع التابعة *C. vibrioides* .

---

* مثبت Holdfast : قرص صغير يوجد فى نهاية الزائدة ، وهو من مادة لاصقة تفرزها الخلية ، ويعمل كلاصق أو كمثبت للخلايا بسطوح المواد الصلبة .



شكل ٧ (٢)- ٤١ : بكتريا ذات زوائد
A : خلايا *Caulobacter* ، متصلة بمثبت واحد مشترك ويأخذ التجمع شكل وردة .
B : خلايا *Caulobacter* (× ١٣,٠٠٠) ، الخلية فى حالة انقسام ثنائى
الخلية العليا بسوط طرفى ، والخلية السفلى ذات زائدة تنتهى بمثبت .



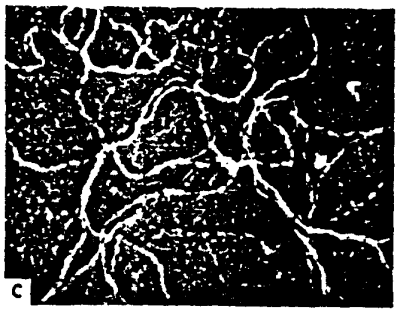
شكل ٧ (٢)-٤٢ : بكتريا واوية *Caulobacter*
صورة بالمجهر الالكترونى للخلية وهى فى حالة انقسام ثنائى ، الخلية لها سوط طرفى من أحد الأطراف ، ومثبت بمثبت من الطرف الأخر .

L3 – البكتريا ذات السوق Stalked bacteria

من أجناس البكتيريا ذات السوق ، جنس *Gallionella* [شكل ٧(٢)-٤٣] .

الخلايا كلوية الشكل (حوالى ٠,٥ × ٢,٠ ميكرومتر) ، ويمتد من وسط الخلية من جهتها المحدبة ، ساقاً لزجة بطول حوالى ٠,٣ ميكرومتر ، مَجدُوله (أى ملتفة حول محورها) ، وتحتاج الخلايا فى نموها الى فيتامين ب ١٢ ، وهى غير متبرعمة وتتكاثر بالانقسام الثنائى .

شكل ٧ (٢)-٤٣ : بكتريا *Gallionella*
A&B : الخلايا كلوية الشكل ذات سوق تلتف حول محورها .
C : خلايا جاليونيلا معزولة من مياه مالحة ذات سوق طويلة (× ١٤٧) .



تنمو الخلايا فى وجود كمية قليلة من الأكسجين ، وتؤكسد أملاح الحديدوز Fe^{2+} ، الى حديديك Fe^{3+} ، وتعرف هذه البكتريا ، ببكتريا الحديد .

وبسبب قدرة هذه البكتريا على تكوين مركبات حديد مؤكسدة غير ذائبة ، فإن وجودها بالمياه يسبب متاعب فى شبكات المواسير .

ومن الأنواع التابعة *G. ferruginea* .

L4 – البكتريا المتبرعمة : Budding bacteria

بكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية أو إختيارية للهواء ، أو محبة للأكسجين بكمية قليلة ، توجد فى الأوساط المائية .

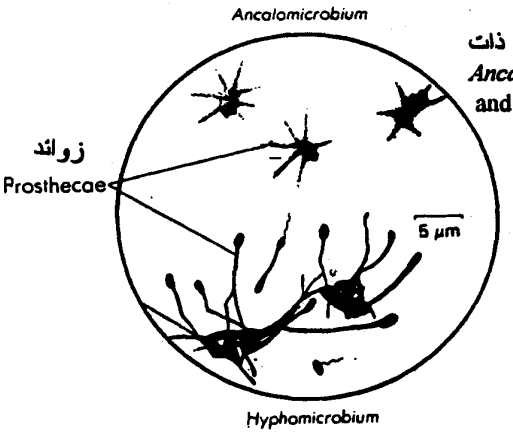
تتميز هذه البكتريا بأنها تتكاثر بالتبرعم ، فيما يشبه التبرعم بالخميرة ، ومنها مايكون ، أو مالايكون ، زوائد .

١- من الأجناس البكتيرية المتبرعمة المكونة لزوائد

أ – *Hyphomicrobium* [شكل ٧ (٢)-٤٤] .

الخلايا كروية أو بيضاوية (حوالى ٠,٥ – ١ ميكرومتر) ، هوائية ، وذات أسواط ، وذات زوائد ، وتخرج الزوائد من أحد أطراف الخلية أو من طرفيها .

ويحدث التبرعم فى أطراف الزوائد ، ثم يتطور البرعم وينضج ليكون الخلية البنوية التى تنفصل من الزوائد .



شكل ٧(٢)-٤٤ : بكتريا متبرعمة أو ذات زوائد لأجناس *Ancalomicrobium* and *Hyphomicrobium*

توجد هذه البكتريا فى الأوساط المائية والمياه الساكنة وفى الأراضى ، وهى تسبب إنطلاق النتروجين من النترات .

ورغم أن جنس *Hyphomicrobium* كيميائى الطاقة ممثل للمواد العضوية Chemo-organotroph ، إلا أنه يتشابه فى كثير من صفاته المورفولوجية مع جنس *Rhodomicrobium* الضوئى الطاقة Phototroph .

من الأنواع التابعة ***H. vulgare*** .

ب - ***Ancalomicrobium*** [شكل ٧ (٢)- ٤٤]

بكتريا متبرعمة مكونة لزوائد ، توجد فى الأوساط المائيـــة ، وهـــى إختياريـــة للهواء ، وتحمل الخلية الواحدة أكثر من زائدة (مـــن ٣ الـــى ٨) ، ولاتتكـــون البراعم بأطراف الزوائد ، ولكن تتكون البراعم مباشرة على الخلية الأم .

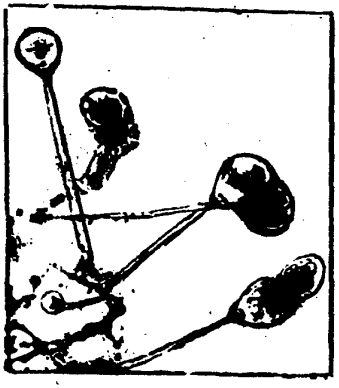
وتتشابه الصفات المورفولوجية لجنس ***Ancalomicrobium*** ، مع صفات جنـس ***Ancalochloris*** ، وهذه من بكتريا الكبريت الخضراء الممثلة للضوء .

من الأنواع التابعة ***Ancalomicrobium adetum*** .

٢- من الأجناس البكتيرية المتبرعمة المكونة لسوق ***Blastocaulis & Planctomyces*** [شكل ٧ (٢) - ٤٥] .

الخلايا كروية ، لاتكون زوائد ولكن تكون سوقا Stalks ، ويوجد فى نهاية الســـاق مثبت Holdfast ، والمثبت هو إمتداد من الساق يعمل كلاصق لخلية الكائن بالسطح.

ويحدث التبرعم بهذه الخلايا ، من الخلية الأم ، وهى توجد بالمياه العذبة والبحرية .



شكل ٧ (٢)- ٤٥ : صورة بالمجهر الالكترونى لخلايا متبرعمـــة ذات ســـوق مـــن مجموعـــة ***Blastocaulis – Planctomyces*** .

لاحظ بالخلية السفلى التى على اليميـــن ، نمـــو لبرعم من الخلية الأم .

(٤٤٠٠×)

L5 – البكتريا الزاحفة Gliding bacteria [جدولى ٧ (٢)-١٩ و ٢٠] .

سالبة لصبغة جرام ، عصوية أو خيطية ، وأغلبها هوائى

بكتريا سالبة لصبغة جرام ، عصوية أو خيطية فى ترايكومات* Trichomes ، ممثلة للمواد الكيميائية والعضوية ، وأغلبها هوائى [جدول ٧ (٢)- ١٩] .

وتتميز هذه المجموعة من البكتريا بحركتها الزاحفة ، بدون أسواط ، على الأسطح الصلبة .

وتضم البكتريا الزاحفه مجموعات بكتيرية متعددة الصفات ، منها

١ – بكتريا عصوية ، تكون أجساما ثمرية
ومثلها مجموعة البكتريا اللزجة Myxobacteria .
٢ – بكتريا عصوية ، لاتكون أجساما ثمرية
ومثلها مجموعة السيتوفاجا *Cytophaga* .
٣ – بكتريا خيطية فى ترايكومات* ، لاتكون أجساما ثمرية ، ممثلة للمواد العضوية لاترسب كبريت بخلاياها ،
ومثلها أجناس *Leucothrix, Saprospira* .
٤– بكتريا مؤكسدة للكبريت ، ترسب الكبريت بداخل خلاياها ، لاتكون أجساما ثمرية ، غير ممثلة للضوء
منها ماهو وحيد الخلية مثل جنس *Achromatium* ، ومنها ماهو خيطى فى ترايكومات مثل *Thiothrix* ; *Beggiatoa* .

كما أن من البكتريا الزاحفة جنس خيطى هو *Chloroflexus* ، وسيناقش مع البكتريا الممثلة للضوء (بكتريا الخبريت الخضراء)** .

وكذلك فإن من البكتريا الزاحفة مجموعة السيانوبكتريا ، التى ستناقش فى أواخر هذا الفصل (ص ٥١٣ ومايليه) .

---

* ترايكوم Trichome ، خيط مكون من مجموعة من الخلايا الثالوسية غير المتمايزة ، المتصلة ببعضها البعض كالسلسلة .

ويتميز الترايكوم بأن مساحة الالتصاق بين الخلايا المتصلة ببعضها ، أكبر من مساحة الالتصاق فى حالة الخلايا المتجمعة كسلسلة .

** أنظر ص ٥١١ ، ٥١٢ .

جدول ٧ (٢) - ١٩ : أجناس البكتريا الزاحفة
سالبة لصبغة جرام ، عصوية أو خيطية ، وأغلبها هوائى .

(Group 15, Bergey's, 1994)			(Group 16, Bergey's, 1994)
عصوية أو خيطية ، لاتكون أجساما ثمريـــــة		عصوية لاتكون أجساما ثمرية	عصوية تكون أجساما ثمرية *
مؤكسدة للكبريت ترسب الكبريت بداخل خلاياها	ممثلة للمواد العضوية لاترسب الكبريت بداخل خلاياها	مجموعة السيتوفاجا	مجموعة البكتريا اللزجة
*Achromatium***	*Alysiella*	*Capnocytophaga*	*Angiococcus*
		Chitinocytophaga	*Archangium*
Beggiatoa	*Leucothrix*	*Cytophaga*	*Condromyces*
	Saprospira	*Flexibacter*	*Melittangium*
Thioploca	*Simonsiella*	*Flexithrix* خيطية	*Myxococcus*
Thiospirillopsis		*Herpetosiphon* خيطية	*Nannocystis*
Thiothrix	*Vitreoscilla*		
		Sporocytophaga (تكون جراثيم لزجة)	*Podangium*
			Polyangium
			Stigmatella

** وحيد الخلية

١- البكتريا الزاحفة العصوية المكونة لأجسام ثمرية (مجموعة البكتريا اللزجة) Gliding fruiting bacteria (Myxobacteria) [جدولى ٧ (٢)-١٩ و ٢٠] .

خلايا هذه البكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية حتما ، عصوية لزجة ، تتحرك زحفـا على الأسطح الصلبة وتنتشر عليها بسرعة ، تاركة خلفها بعد تحركها أثرا لزجا علـى السطح الصلب ، وبسبب هذه اللزوجة ، جاءت تسمية هذه المجموعة من البكتريـــا ، بالبكتريا اللزجة Myxobacteria .

ولهذه البكتريا دورة حياة معقدة ، وتكون فى أحد مراحل نموها أجساما ثمرية .

وجدول [٧ (٢) - ٢٠] ، يوضح مميزات بعض أجناس هذه البكتريا .

---

* تحتوى الأجسام الثمرية Fruiting bodies على جراثيم لزجة Myxospores ، وهذه الجراثيم خلايا فى طـــور سكون ، وهى مقاومة للظروف السيئة .

جدول ٧ (٢)-٢٠ : مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة العصوية المكونة لأجسام ثمرية .

Group 16, Bergey's , 1994

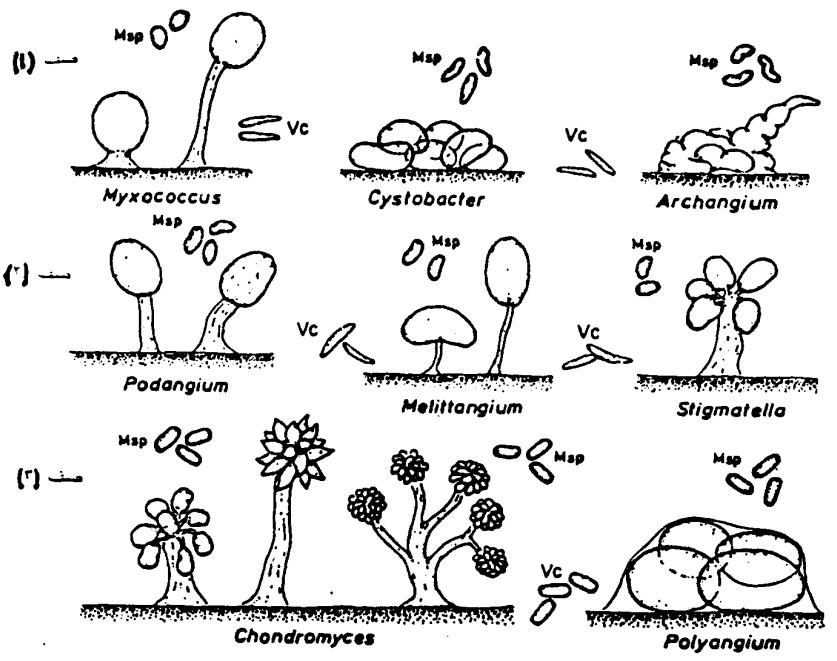
الجنس وأهم الانواع	شكل طرف الخلية الخضرية	الجسم الثمرى		شكل الجرثومة اللزجة	صفات غذائية	
		فى حوصلة	ذو ساق		محللة للبكتريا	محللة للسليلوز
Chondromyces * *C. apiculatus*	مفلطح	+	+	عصوى	+	-
Cystobacter *C. fuscus*	مدبب	+	-	عصوى	+	-
Melittangium *M. lichenicola*	مدبب	+	+	عصوى	+	-
Myxococcus * *M. xanthus*	مدبب	-	-	كروى	+	-
Polyangium *	مفلطح	+	-	عصوى	+	+
Stigmatella *S. aurantiaca*	مدبب	+	+	عصوى	+	-

* قادرة على إختراق آجار البيئة .

الخلايا الخضرية لبكتريا هذه المجموعة عصوية قصيرة مفردة ، ذات جدار مرن لرقة ولعدم تكامل تركيب طبقة الببتيدوجلوكان بجدار الخلية ، وهذا الجدار المرن يساعد البكتريا فى حركتها الزاحفة . وفى أحد مراحل نمو هذه البكتريا ، تتجمع الخلايا الخضرية معاً فى كتل لزجة ، مكونة أجساماً ثمرية Fruiting bodies ، مشابهة فى ذلك الفطريات اللزجة .

والأجسام الثمرية لهذه البكتريا ذات حجم صغير (أقل من ١ مم) ، ويختلف لونها وشكلها وحجمها حسب النوع البكتيرى ، وهى أجسام متخصصة تضم جراثيم لزجة Myxospores ، وهذه قد تسمى Slime spores أو حويصلات صغيرة Microcysts. والجراثيم اللزجة ، خلايا فى طور سكون ، شكلها كروى أو عصوى حسب النوع البكتيرى [جدول ٧ (٢)-٢٠] ، وهى أقصر وأسمك من الخلايا الخضرية ، ولكنها أكثر منها مقاومة للإشعاع والجفاف ، فهى قادرة على البقاء حية لعدة أشهر فى وسط جاف ، ولكنها ليست أكثر مقاومة للحرارة بكثير عن الخلايا الخضرية التى نتجت منها ، وتنبت الجرثومة اللزجة لتكوين خلية خضرية عصوية عند تحسن ظروف الوسط ، خاصة من حيث الرطوبة .

[وشكل ٧ (٢)- ٤٦] يوضح بعض الأشكال الخضرية والثمرية لبعض أجناس البكتريا اللزجة .



شكل ٧ (٢)– ٤٦ : رسوم توضيحية للأشكال الخضرية والأجسام الثمرية لبعض أجناس البكتريا اللزجة.

Msp : جراثيم لزجة Myxospores

Vc : خلايا خضرية Vegetative cells

– الخلايا الخضرية لأجناس صف ١ وصف ٢ ، عصوية ، مدببة الطرفين Pointed ends ، أى مغزلية الشكل Spindle-shaped .

– الخلايا الخضرية لأجناس صف ٣ عصوية بطرف مفلطح Blut end .

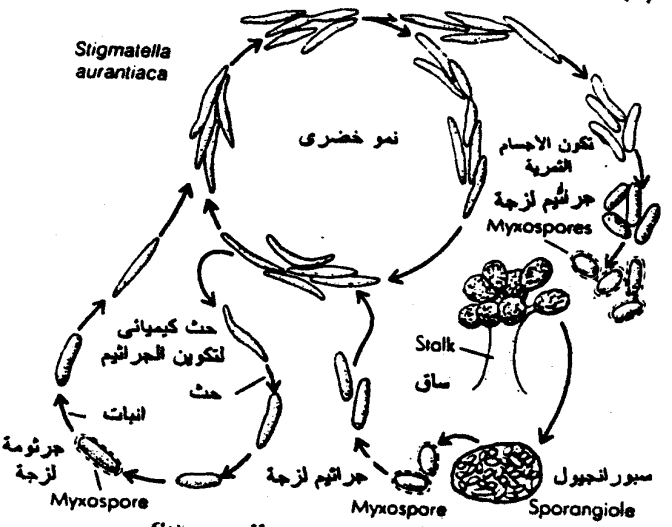
قد تكون الأجسام الثمرية ملونة فى بعض الأنواع ، كما قد توجد بعض الأجسام الثمرية محمولة على ساق Stalk من مواد لزجة ، قد يكون الساق غير متفرع ويحمل جسما ثمريا واحدا كما فى جنس *Melittangium* ، أو يكون الساق متفرعا كالشجرة ، ويحمل عدة أجسام ثمرية ، كما فى جنس *Chondromyces & Stigmatella* ، كما قد يغلف الجسم الثمرى بجدار ، ويكون جسما مغلقا .

وتسمى الأجسام المغلقة بحويصلات Cysts ، أو سبورانجيول Sporangiole .

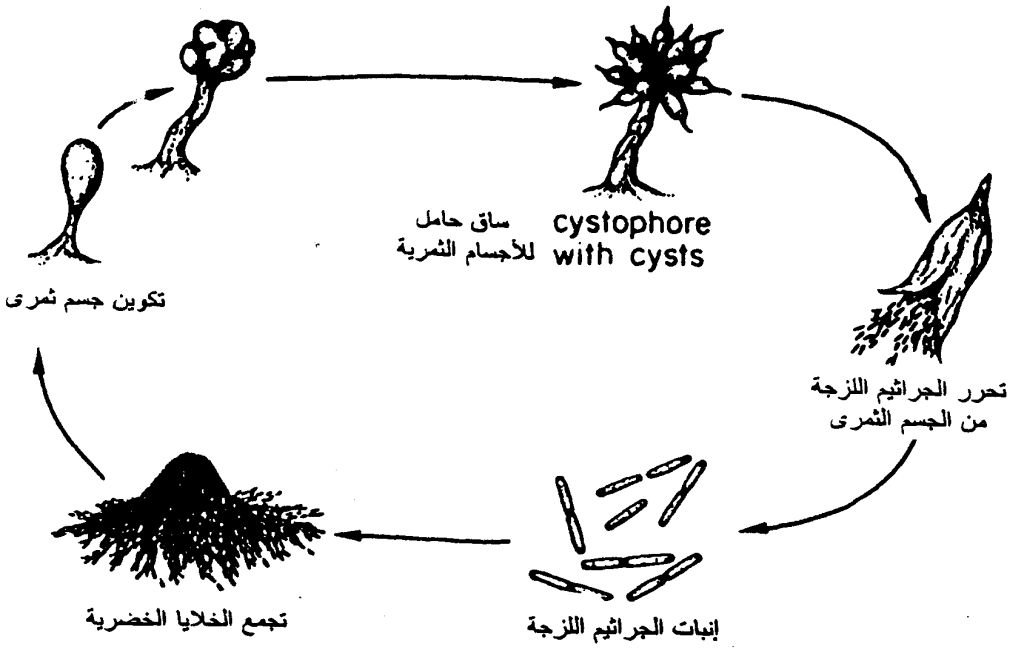
والحويصلة ، عبارة عن وعاء صغير ذو جدار سميك ، يحتوى على عدد من الجراثيم اللزجة ، وهذه الحويصلات مقاومة للظروف السيئة ، وتساعد على نشر وتوزيع الجراثيم اللزجة ، وعند توفر الرطوبة وتحسن الظروف البيئية ، يتمدد جدار الحويصلة ويتشقق ، ويتحرر مابالحويصلة من جراثيم لزجة ، وتنبت تلك الجراثيم اللزجة ، لتكون خلايا خضرية عصوية جديدة وتتواصل دورة الحياة .

مجموعة البكتريا اللزجة هوائية حتما ، هتروتروفية ، تتكاثر بالانقسام الثنائى ، وتوجد على سطح التربة وبالأسمدة العضوية والمواد المتحللة ، وبروث الحيوانات العشبية ، ومنها مايفرز انزيمات خارجية محللة للمواد العضوية المعقدة ، كالسليلوز والبكتين والأجار ، ومنها مايحلل جدر خلايا الكائنات المجهرية كالبكتريا والسيانوبكتريا والفطريات ويتغذى على محتوياتها ، كما أن منها أنواع تفرز مضاداتا حيوية .

ويوضح الشكل [٧ (٢) – ٤٧] ، دورة حياة *Stigmatella aurantiaca* ، كما يوضح الشكل [٧ (٢) – ٤٨] ، دورة حياة *Chondromyces apiculatus* .



شكل ٧ (٢) ٤٧ : دورة حياة البكتريا اللزجة *Stigmatella aurantiaca* .
لاحظ : الخلايا الخضرية ، الجراثيم اللزجة ، الأجسام الثمرية .



شكل ٧ (٢) - ٤٨ : دورة حياة البكتريا اللزجة *Chondromyces apiculatus* .
بعد تجمع الخلايا الخضرية ، يتكون جسم ثمرى له ساق لزجة ، وعند الانبات تخرج الجراثيم اللزجة من الجسم الثمرى ، لتنبت وتكون خلايا خضرية ، وتستمر الدورة .

٢ – البكتريا الزاحفة العصوية ، غير المكونة لأجسام ثمرية (مجموعة السيتوفاجا)

Gliding, non-fruiting bacteria (Rods) [جدولى ٧ (٢) – ١٩ و ٢١]

بكتريا ذات حركة زاحفة مثل مجموعة البكتريا اللزجة السابقة المكونة لأجسام ثمرية، ولكن تختلف عنها فى عدم تكوينها لأجسام ثمرية ، باستثناء الجنس *Sporocytophaga* المكون لجراثيم لزجة .

توجد هذه البكتريا كعصويات مفردة ، وبعضها كخيوط يصل طوله الى ١٠٠ ميكرومتر ، وبعضها يكون خيوطا لها غلاف كما فى جنس *Flexithrix* . وأغلب أجناس هذه المجموعة هوائى وبعضها محب للأكسجين بكمية قليلة ، وتتكاثر بالانقسام الثنائى ، وهى هتروتروفية ، وتعيش فى التربة والمياه ، وعدد كبير منها قادر على تحليل المواد العضوية المعقدة كالسليلوز والكيتين والبكتين والكيراتين والأجار .

وجدول [٧ (٢) – ٢١] وشكل [٧ (٢) – ٤٩] يوضحان مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة غير المكونة لأجسام ثمرية .

جدول ٧ (٢)– ٢١ : مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة العصوية غير المكونة لأجسام ثمرية .

(Group 15, Bergey's, 1994)

الجنس وأهم الأنواع	شكل الخلية الخضرية	تكوين جراثيم لزجة	النمو على المواد المعقدة كالسليلوز والكيتين
Cytophaga *C. johnsonae*	عصوى مفرد	–	+
Sporocytophaga *S. myxococcoides*	عصوى مفرد	+	+
Flexibacter *F. columnaris*	عصوى طويل مفرد أو فى سلاسل	–	–
Herpetosiphon *H. giganteus*	خيطى	–	–

شكل ٧ (٢) - ٤٩

الأشكال المورفولوجية المختلفة لبعض أجناس البكتريا الزاحفة غير المكونة لأجناس ثمرية .

A – *Flexibacter polymorphus*

الخلايا عصوية طويلة متجمعة على سطح مرشح غشائى (× ٧٣٠) .

B – *Herpetosiphon giganteus*

خيوط الخلايا على سطح أجار ،

لاحظ وجود كرويات منتفخة لامعة بالخيوط (×٥٠٠) .

من أجناس هذه المجموعة

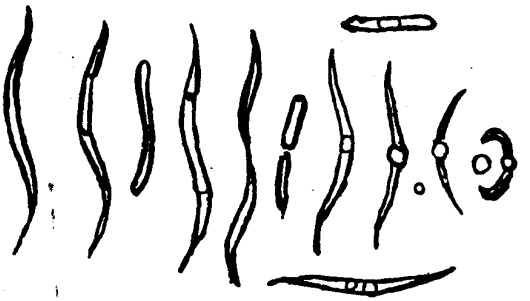
أ – *Cytophaga*

الخلايا عصوية طويلة منحنية ، مدببة الطرفين (مغزلية الشكل) [شكل ٧ (٢)- ٥٠] ، وقد توجد بعض أنواعها فى سلاسل ، وهى هوائية وإن كانت بعض أنواعها إختيارية للهواء قادرة على تخمير الكربوهيدرات إلى احماض عضوية كالسكسنيك .

وهذه البكتريا ذات جدار مرن ، وحركتها زاحفة كالبكتريا اللزجة ولكنها لاتكون أجساماً ثمرية ، وتتكاثر بالانقسام الثنائى ، ومنها مايكون مستعمراتاً ملونة (صفراء ، حمراء ...) لإحتوائها على صبغات كاروتينويدية .

تتواجد السيتوفاجا بالتربة ، وتتميز بقدرتها العالية على تحليل السليلوز وورق الترشيح هوائيا ، بعد التصاقها بتلك المواد .

ومن أنواعها *C. johnsonae* .



شكل ٧ (٢)-٥٠ : تطور بكتريا *Cytophaga* فى شكلها الظاهرى أثناء نموها .

ب - ***Sporocytophaga***

تتشابه صفات هذا الجنس مع صفات جنس سيتوفاجا ، ولكن فى أحد أطوار دورة حياة السبوروسيتوفاجا ، تتحول الخلايا الخضرية المغزلية الشكل ، الى كروية ، وتحاط هذه بكابسول وتدخل فى طور سكون ، مكونة بذلك مايشبه الجراثيم اللزجة لبكتريا *Myxococcus* .

ومن أنواعها *S. myxococcoides* .

جـ - ***Flexibacter***

الخلايا عصوية طويلة تصل الى حوالى ٥٠ ميكرومتر ، مرنة الجدار ، وقد تتجزأ الخلايا نتيجة الاستزراع المستمر إلى خلايا كروية ، وكثير من أنواع هذا الجنس يكون صبغات كاروتينويدية ذات لون مصفر إلى وردى .

تعيش فى المياه وفى الأراضى ، والنوع *Flexibacter columnaris* (سابقا *Chondrococcus columnaris*) ، ممرض لأسماك المياه العذبة والمياه المالحة.

٣- البكتريا الزاحفة الخيطية غير المكونة لأجسام ثمرية ، وممثلة للمواد العضوية

Gliding Non-fruitiing filamentous Heterotrophic bacteria [جدولى ٧ (٢) ١٩ و٢٢]

بكتريا ذات حركة زاحفة ، خيطية فى ترايكومات ، غير مكونة لأجسام ثمرية ، وهى ممثلة للمواد العضوية دون أن ترسب الكبريت فى خلاياها .

من أجناسها

أ – ***Leucothrix***

الخلايا خيطية طويلة ، هوائية ، تنمو على سطح الطحالب البحرية ، كما تتجمع خيوط الخلايا فى خُصل وتلتصق الخصلة بالسطح الصلب وتثبت عليه ، وذلك بواسطة مثبت Holdfast ، يوجد بقاعدة الخيط .

تتكاثر الليكوثركس بالجراثيم الجونيدية Gonidia ، وهى خلايا تكاثر لاجنسية بيضاوية الشكل ، تتكون بطرف الخيط ، ثم تنفصل من الخيط وتتحرك حركة زاحفة على الأسطح الصلبة .

ب – ***Vitreoscilla***

الخلايا خيطية طويلة ، قد يصل طول الخيط الى ٥٠٠ ميكرومتر ، ويتكون الخيط من خلايا اسطوانية منحنية طولها حوالى ٢–٥ ميكرومتر ، وهى هوائية ، عديمة اللون ، وتتكاثر بتجزئة الخيط .

توجد هذه البكتريا عادة فى الأوساط المائية ، كما توجد كقاطنات طبيعية بفم الانسان وبعض الحيوانات ، ويمكن عزلها من روث البهائم .

ويوضح جدول [٧ (٢) – ٢٢] ، مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة الخيطية الممثلة للمواد العضوية .

جدول ٧ (٢) – ٢٢ : مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة الخيطية غير المكونة لأجسام ثمرية ، الممثلة للمواد العضوية .

(Group 15, Bergey's 1994)

الجنس وأهم الانواع	شكل الخيط	حركة الخيط	وجود مثبت	طريقة التكاثر
Leucothrix	اسطوانى مستقيم	–	+	جونيديا من طرف الخيط
L. mucor				
Saprospira	اسطوانى منحنى	+	–	تجزؤ الخيط
S. albida				
S. grandis				
Simonsiella	شريطى مسطح	+	–	تجزؤ الخيط
S. crassa				
Vitreoscilla	اسطوانى مستقيم	+	–	تجزؤ الخيط
V. filiformis				

٤- البكتريا الزاحفة غير المكونة لأجسام ثمرية ، المؤكسدة للكبريت

Gliding non-fruiting sulfur-oxidizing bacteria [جدول ٧ (٢) - ١٩]

بكتريا ذات حركة زاحفة ، منها ماهو وحيد الخلية كبير الحجم كما فى خلايا جنس *Achromatium* ، ومنها ماهو خيطى فى ترايكومات كما فى خلايا أجناس *Thiothrix* ، و *Beggiatoa* .

وخلايا هذه المجموعة من البكتريا غير ممثلة للضوء ، غير مكونة لأجسام ثمرية ، وتؤكسد H_2S هوائيا إلى S و SO_4^{2-} كمصدر للطاقة ، وترسب الكبريت بداخل خلاياها ، وتخزنه لحين الحاجة اليه .

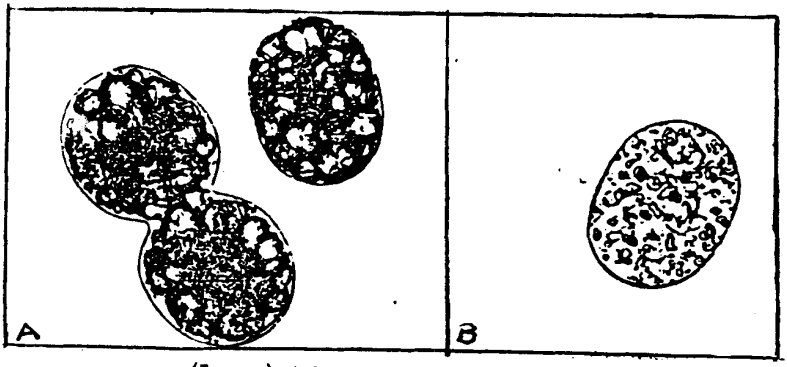
وهى بكتريا ذات إحتياجات غذائية خاصة ، تحتاج الى وجود H_2S مع كميات من الأكسجين لأكسدة كبريتيد الإيدروجين ، ولذا فانها توجد فى الأوساط التى مابين الهوائية الى اللاهوائية ، المحتوية على كبريتيد مع نسبة من الأكسجين ، كاوساط المخلفات المائية المحتوية على مواد عضوية متحللة منتجة لكبريتيد الإيدروجين ، ومياه مخلفات المجارى ، والرواسب الطينية للبرك والمستنقعات ، والينابيع المحتوية مياهها على كبريتيد .

من الأجناس التابعة لهذه المجموعة من البكتريا الزاحفة المؤكسدة للكبريت

أ - *Achromatium*

أفراد هذا الجنس وحيدة الخلايا ، والخلايا عملاقة الحجم ، بطيئة النمو ، وتجمع الكبريت بداخل خلاياها [شكل ٧ (٢)- ٥١] .

ومن أنواعها *A. oxaliferum* .



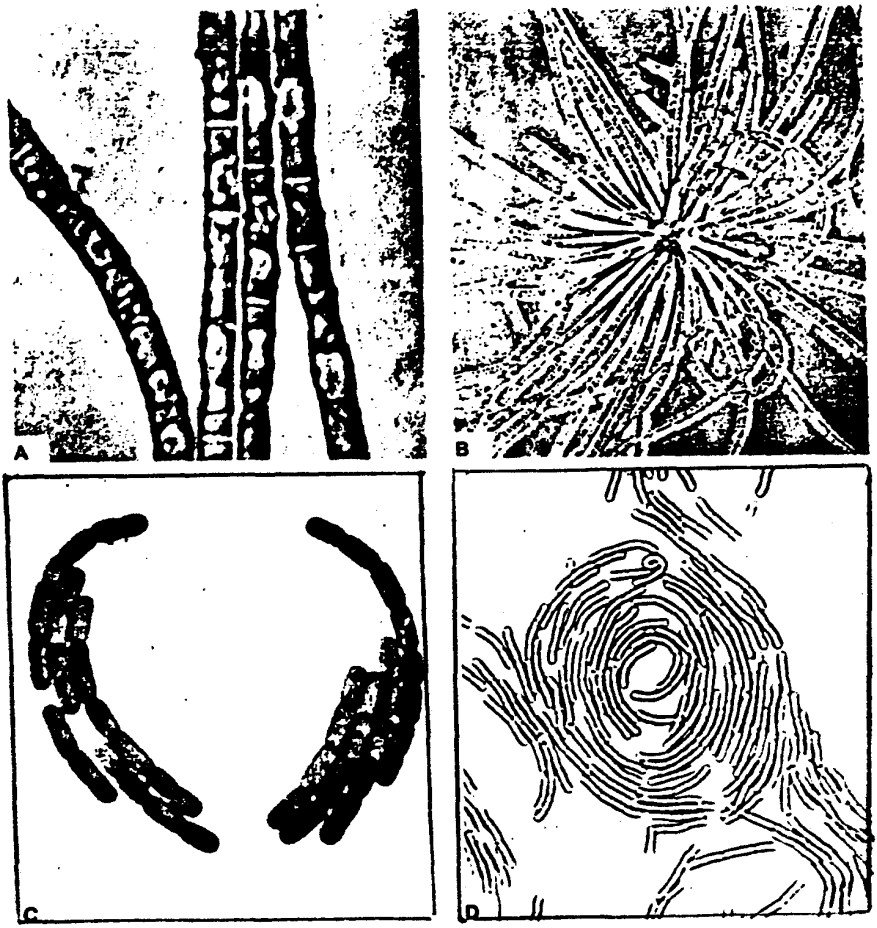
شكل ٧ (٢) - ٥١ : بكتريا *Achromatium oxaliferum* (× ٦٠٠)
A : خلايا بكتيرية كبيرة الحجم محتوية على حبيبات $CaCO_3$ & S
B : خلايا البكتريا (A) عوملت بحامض خليك مخفف ، لإذابة تجمعات كربونات الكالسيوم، فظهرت حبيبات الكبريت .

ب - *Beggiatoa*

خلايا أفراد هذا الجنس تتجمع فى ترايكومات ، يصل طول الترايكوم لعدة ملليمترات ، وسمك الخلية يتراوح مابين ٢ الى ٥ ميكرومتر . وهى خلايا هوائية أو محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، غير ملونة ، ترسب الكبريت بداخلها ، مما يجعل لون الترايكوم أبيضا .
تتكاثر البجياتو بالأنقسام الثنائى للخلايا الفردية المكونة للترايكوم ، كما تتكاثر بتجزؤ خيط الترايكوم ، وتوجد فى الأوساط المائية والمخلفات والترسبات المحتوية على H_2S.
من أنواعها *B. alba* .

جـ - *Thiothrix*

خلايا فى ترايكومات ، وتتجمع الترايكومات فى خُصل وتلتصق بالأسطح الصلبة . وتحتوى الخلايا على فجوات غازية تساعدها على الطفو ، وترسب الخلايا الكبريت بداخلها .
وتتكاثر الثيوثريكس بالجونيديا (أنظر *Leucothrix* ، ص ٤٧٣) .
والشكل [٧ (٢) - ٥٢] يوضح بعض الأشكال المورفولوجية للبكتريا الزاحفة غير المكونة لأجسام ثمرية .



شكل ٧ (٢)- ٥٢ : أشكال مورفولوجية لبعض أجناس البكتريا الزاحفة غير المكونة لأجسام ثمرية
A – ترايكومات بكتريا *Beggiatoa* × ٢٢٥٠
B – ترايكومات بكتريا *Thiothrix* مرتبطة بشيء مشترك ثابت (×٤٢٠)
C – شكل خلايا *Vitreoscilla* .
D – نظام تجمع خلايا *Vitreoscilla* .

M - الريكتسيات والكلاميديات : The Rickettsias and Chlamydias

بكتريا سالبة لصبغة جرام ، متطفلة إجبارياً ، ممرضة [جدول ٧ (٢)-٢٣]

تضم هذه المجموعة البكتيرية كلاً من الريكتسيات والكلاميديات ، [جدول ٧ (٢)-٢٣] ، وهى تشمل أجناسا بكتيرية سالبة لصبغة جرام ، كروية أو عصوية ، ذات جدار صلب ، غير متحركة ، وهى بالغة الصغر حجما ، إذ أنها أصغر بكثير من البكتريا النموذجية ، وإن كانت مازالت فى حدود الرؤية المجهرية الضوئية .

بكتريا هذه المجموعة متطفلة إجبارا داخل خلايا العائل كالانسان وبعض الحيوانات ومفصليات الأرجل ، وتعمل المفصليات كناقلات لتلك البكتريا . ويمكن عزل البكتريا وزراعتها فى خلايا العائل ، وأحياناً يمكن زراعتها فى بيئات معملية مناسبة .

وهذه المجموعة البكتيرية ممرضة للإنسان وبعض الحيوانات ، وهى تنتقل من عوائلها كمفصليات الأرجل إلى الانسان باللدغ ، أو عن طريق خدش أو جرح ، أو بالاستنشاق ، أو من مواد ملوثة .

ورغم أن هذه البكتريا متطفلة إجبارا ، وحجمها صغير جداً ، وفى بعض الأنواع يقرب من حجم الفيروسات الكبيرة كفيروس الجدرى ، إلا أنها تتشابه مع البكتريا النموذجية فى كثير من الصفات .

وجدول [٧ (٢)- ٢٤] يوضح الخصائص الرئيسية للبكتريا النموذجية والريكتسيات والكلاميديات والفيروسات .

M1 - الريكتسيات : Rickettsias

الريكتسيات خلايا متطفلة إجبارا داخل خلايا العائل ، ووهى ممرضة للإنسان وبعض الحيوانات ، وتختلف الريكتسيات عن الكلاميديات فى الآتى

* قدرة الريكتسيات على تخليق ATP .
* إفتقاد الريكتسيات لدورة حياة معقدة ، التى تتميز بها الكلاميديات .
* وجود حامض ميراميك بجدار خلايا الريكتسيات .

والريكتسيات [شكلى ٧ (٢) - ٥٣ و ٥٤) كروية أو عصوية ، صغيرة الحجم ، غير متحركة ، سالبة لصبغة جرام .

وترتبط الريكتسيات بالعديد من مفصليات الأرجل التى تعمل كناقلات للريكتسيا الى القراديات ، وقد تسبب الريكتسيات أمراضا لتلك المفصليات ، أو تتعايش معها بداخل خلاياها فى حالة تبادل منفعة ، لتقدم لعائلها بعض مايلزم لنموه وتكاثره من فيتامينات وعوامل نمو ، وتظهر الريكتسيا فى براز تلك المفصليات .

جدول ٧ (٢) – ٢٣ : أجناس بكتيرية متطفلة إجبارا ممرضة سالبة لصبغة جرام مجموعة الريكتسيات و الكلاميديات .

(Group 9, Bergey's, 1994)

الريكتسيات The Rickettsias (M1)	الكلاميديات The Chlamydias (M2)
Coxiella *Rickettsia* *Rochalimaea**	*Chlamydia*

* تتبع الروكاليميا مجموعة ٤ ، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤

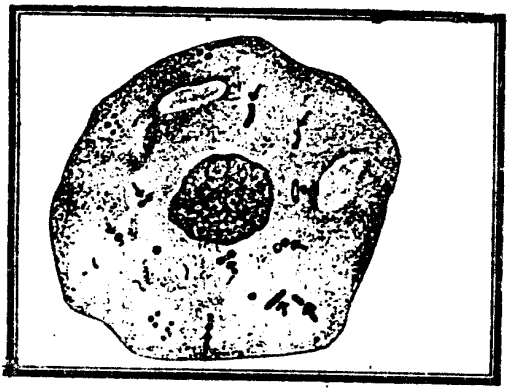
جدول ٧ (٢)– ٢٤ : أهم خصائص البكتريا النموذجية والريكتسيات والكلاميديات والفيروسات.

الخاصيـــــة	البكتريا النموذجية	الريكتسيات	الكلاميديات	الفيروسات
الرؤية بالمجهر الضوئى (× ١٥٠٠)	+	+	+	–
التكاثر بالإنقسام الثنائى	+	+	+	–
وجود الحامضين النوويين DNA & RNA	+	+	+	يوجد حامض واحد فقط DNA أو RNA
وجود حامض ميراميك بالجدار الخلوى	+	+	–**	–
وجود رايبوسوم	+	+	+	–
وجود انزيمات نشطة خاصة بالأيض الغذائى	+	+	+	–
تثبيط بمضادات البكتريا (مثل المضادات الحيوية)	+	+	+	–
التأثر بانزيم اللايسوزيم	+	+	+	–
تخليق ATP كمصدر للطاقة	+	+	–	–
تطفل إجبارى بداخل خلية العائل	–*	+	+	+

* عدا بكتريا الجذام ، لأنها متطفلة إجبارا .

** بعض سلالات الكلاميديا قادرة على تخليق مشتقات من الببتيدوجلوكان .

شكل ٧ (٢)- ٥٣
Rickettsia prowazekii
(× ١٥٠٠)
نامية فى مزرعة جنين كتكوت .



شكل ٧ (٢) - ٥٤

خلايا طلائية تضم الريكتسيا فى السيتوبلازم (× ٣٠٠٠)

السهم يشير الى خلايا ريكتسيا نموذجية .

من الأجناس التى تتبع الريكتسيات : *Rickettsia, Rochalimaea, Coxiella*

Genus Rickettsia

تتميز أفراد هذا الجنس بأن خلاياها

- سالبة لصبغة جرام ، كروية أو عصوية قصيرة ، (حوالى ٠,٣ × ١,٠ ميكرومتر) ، فهى أصغر حجما من البكتريا النموذجية ، وأكبر حجما من الفيروسات ، ولا تمر من المرشحات البكتيرية ، وهى غير متحركة ، وغير متجرثمة .
- تتكاثر بالانقسام الثنائى ، وقد تتجمع بعد الانقسام فى سلاسل قصيرة .
- متطفلة إجبارا بداخل الخلايا ، وتتكاثر بداخل سيتوبلازم خلية العائل وأحيانا بنواة خلية العائل .
- تنتقل للفقاريات عن طريق مفصليات الأرجل ، كالقمل والبراغيث والقراد والحَلَم ، حسب نوع البكتريا ، وذلك باللدغ ، أو عن طريق جرح أو خدش ، أو من براز ملوث من تلك المفصليات .
- يمكن تنمية الريكتسيا معمليا فى عائل حيوانى كالفئران وخنازير غينيا ، أو فى خلايا جنين الكتكوت الحى ، أو فى مزارع نسيجية .
- الريكتسيا ممرضة للإنسان وبعض الحيوانات

وجدول [٧ (٢) – ٢٥] ، يوضح بعض الأمراض التى تسببها الريكتسيا والروكاليميا للإنسان .

جدول ٧ (٢) – ٢٥ : الأمراض التى تسببها الريكتسيا والروكاليميا ، والعوائل المفصلية الناقلة.

البكتريا المسببة	المرض	الناقل الحيوى
Rickettsia R. akari	الطفح الريكتسى بالانسان Ricketsiai pox	حَلَم الفئران Mouse mite
R. prowazekii	حمى التيفوس Typhus fever	قمل الجسم Body louse
R. rickettsii	حمى جبال روكى المبقعة Rocky mountain spotted fever	القراد Ticks
R. tsutsugamushi	حمى الحك Scrub fever	الحَلَم الأحمر Red mites
R. typhi	مرض التيفوس الفئرانى Murine typhus	البراغيث Fleas
Rochalimaea quintana	حمى الخنادق Trench fever	قمل الجسم Body louse

- القراد Ticks والحَلَم Mites ، مفصليات أرجل صغيرة الحجم ، جسمها غير مقسم لحلقات ، ومندمج فيه الرأس والصدر والبطن ، والحيوان الكامل له أربعة أزواج من الأرجل ، وأجزاء الفم قارضة أو ثاقبة ماصة ، ومنها أنواع ناقلة للمسببات المرضية .

Genus *Rochalimaea*

يختلف هذا الجنس عن جنس ريكتسيا ، فى أنه يفضل النمو على سطح خلية العائل ، أكثر من نموه بداخلها فى السيتوبلازم أو فى النواة ، كما أنه يمكن زراعتة معمليا فى بيئة مقواة ، وأساسها أجار الدم .

يتبع هذا الجنس النوع *R. quintana* ، المسبب لمرض حمى الخنادق للانسان Trench fever [جدول ٧ (٢) - ٢٥] .

Genus *Coxiella*

يتميز أفراد هذا الجنس عن جنس ريكتسيا ، فى أن الكوكسيلا

* تفضل النمو فى أغشية الفجوات الخلوية لخلايا العائل ، عن النمو فى سيتوبلازم أو فى نواة خلية العائل .
* تمر من المرشحات البكتيرية .
* لها قدرة كبيرة على مقاومة الحرارة المرتفعة ، فهى تتحمل حرارة حتى ٦٢°م لمدة ٣٠ دقيقة ، وقد يعود ذلك إلى وجود تركيبات بالخلايا تشبه الجراثيم الداخلية .
* تنتقل الكوكسيلا الى الفقاريات بواسطة مفصليات الأرجل كالقراد ، كما تنتقل بوسائل أخرى ، منها استنشاق ذرات التراب الحاملة للكوكسيلا ، أو بشرب لبن ملوث ، أو لبن غير مبستر جيدا ، أو بالاحتكاك بالحيوانات المصابة كالغنم والابقار .

يتبع هذا الجنس نوعا واحدا هو *C. burnetii* ، المسبب لنوع من الالتهاب بالجهاز التنفسى، يسمى حمى كيو Q fever* .

* تشير Q الى كلمة Query بمعنى شك أو استفهام ، اشارة الى عدم توفر علامات تشخيصية مميزة للمرض ، وذلك عندما لوحظت أوائل الحالات التى تم إكتشافها من هذه الحمى باستراليا .

M2 - الكلاميديـــات : Chlamydias

الكلاميديات خلايا متطفلة إجبارا داخل خلايا العائل ، وهـــى ممرضـــة للانســـان وبعـــض الحيوانات .

وتختلف الكلاميديات عن الريكتسيات ، فى أن الكلاميديات غير قادرة على تخليـــق ATP ، وتعتمد فى ذلك على عائلها تماما ، ولذلك تسمى الكلاميديات بمتطفلات الطاقـــة Energy parasites ، كما أن الكلاميديات ذات دورة حياة خاصة مميزة لها .

وصف الكلاميديا

خلايا الكلاميديا سالبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، متناهية فى الصغر ، كروية أو متعددة الأشكال ، وحجم الخلية يتراوح مابين ٠,٢ الى ٠,٧ ميكرومتر ، مشابهة فى ذلـــك حجـــم الفيروسات الكبيرة الحجم ، مثل فيروسات الجدرى .

وحجم جينوم الكلاميديا صغير ، (حوالى ٠,٦٦ × ١٠^{٩}) ، وهو يعادل تقريبـــا ربـــع حجـــم جينوم بكتريا القولون ، ومن الكلاميديا سلالات تمر من المرشحات البكتيرية .

ويمكن زراعة الكلاميديا فى المعمل فى بيض الدجاج المخصب (المحتـــوى علـــى جنيـــن الكتكوت الحى) ، أو فى مزارع نسيجية لخلايا ثدييات مثل خلايـــا هيـــلا Hela cells * ، ولاتنتقل الكلاميديا مثل الريكتسيا بواسطة المفصليات ، ولكن تنتقل بالملامســـة والاحتكـــاك وابتلاع الأتربة الملوثة .

تكاثر الكلاميديا

تتكاثر الكلاميديا بالانقسام الثنائى ، وبما يشبه التـــبرعم بـــالخميرة ، وبتكويـــن جســـيمات دقيقة . ويمر التكاثر بدورة خاصة ، تتم فى مراحل يمكن مشاهدتها بالمجهر الالكـــترونى ، كما تمر مراحل الدورة بفترة كمون Latency مشابهة فى ذلك للفيروسات .

تبدأ الدورة بتحول خلايا الكلاميديا بداخل خلية العائل ، من أجسام صغيرة ذات جدار صلـــب قادرة على العدوى ، تسمى بالأجسام الأولية Elementary bodies ، الى أجسام أكبر حجما ذات جدار مرن وغير قادر على العدوى (حوالى ٢-٣ أضعـــاف الأجســـام الصغـــيرة) ، وتسمى بالأجسام المتشابكة Reticulate bodies ، وهذه تتكاثر بالانقسام الثنـــائى لتكويـــن أجسام متشابكة جديدة .

وتكتمل دورة النمو ، عندما تتحول الأجسام الكبيرة الحجم غير المعدية تدريجيا ، الى أجسام صغيرة الحجم Elementary bodies معدية ، تخرج من خلية العائل ، لتصيب خلايا عـــائل جديد حقيقى النواة ، وتستمر الدورة .

---

* خلايا هيلا Hela cells ، خلايا شبه طلائية أخذت عام ١٩٥١ من سرطان بعنق رحم لسيدة تدعى هنريتا لاكس Henrietta Lacks ، وقد حفظت هذه الخلايا كمزرعة نسيجية ، ويستعمل حالياً النسل الناتج من هذه الخلايـــا فى زراعة الفيروسات .

أجناس الكلاميديات

تضم الكلاميديات جنسا واحدا ، هو جنس *Chlamydia* ، ويطلق على الأنواع التابعة له مجموعة PLT group ، (Psittacosis- Lymphogranuloma- Trachoma organisms) إشارة الى ماتسببه هذه الأنواع من أمراض .

من الأنواع التابعة لهذا الجنس

أ - *C. trachomatis*

يتبع هذا النوع مجموعة من السلالات السيرولوجية Serovars ، منها مايسبب مرض التراكوما بالعين Trachoma (مرض التهاب الملتحمة الحبيبى) ، وهو مرض شديد العدوى وقد يؤدى إلى العمى ، وتنتقل هذه السلالات بالاحتكاك المباشر أو بواسطة الذباب أو بواسطة الأدوات Fomites .

ومن هذا النوع أيضا سلالات سيرولوجية تسبب أمراضا جنسية ، تنتقل بالأتصال الجنسى ، منها مرض إلتهاب الحالب (الإحليل) غير السيلانى بالذكر Non-gonococcal urethritis والورم الليمفى الحبيبى الجنسى Lymphogranuloma venereum ,

ب - *C. psittaci*

هذا النوع ممرض للببغاء والطيور والحيوانات ، كما أنه يسبب للانسان حمى الببغاء Psittacosis, Parrot fever ، التى تسبب التهابات رئوية .

وتنتقل البكتريا بالاحتكاك ، أو باستنشاق ذرات تراب ملوثة ببراز طيور مصابة .

N - المايكوبلازمات (موليكيوتس) ، البكتريا عديمة الجدار الخلوى

Mycoplasma (Mollicutes), Cell wall-less bacteria

بكتريا بدون جدار خلوى ، أغلبها متطفل ، يمكن تنميتها بالمعمل ، أغلبها ممرض ، سالبة لصبغة جرام [جدول ٧ (٢) -٢٦] .

وتسمى مجموعة هذه البكتريا [جدول ٧ (٢)- ٢٦] بالمايكوبلازمات ، أو مجموعة الموليكيوتس ، أو البكتريا الرخوة ، وقد كانت تسمى سابقا بالبكتريا الشبيهة بتلك المسببة للإلتهاب الرئوى للغشاء البللورى ، PPLO ، Pleuropneumonia-like organisms ، لأنه عندما تم التعرف عليها لأول مرة وجدت مرتبطة بمسببات الالتهاب الرئوى .

جدول ٧ (٢) - ٢٦ : أجناس بكتيرية بدون جدار خلوى أغلبها متطفل ، ويمكن تنميتها بالمعمل ، أغلبها ممرض ، سالبة لصبغة جرام ،

مجموعة الميكوبلازمات (الموليكيوتس) .

(Group 30, Bergey's 1994)

تحتاج ستيرول		لاتحتاج ستيرول	
اختيارية للهواء	لاهوائية	اختيارية للهواء	لاهوائية
Mycoplasma *Spiroplasma* *Ureaplasma*	*Anaeroplasma*	*Acholeplasma*	*Asteroleplasma*

تتميز خلايا المايكوبلازمات بعدم وجود جدار للخلية خارج الغشاء السيتوبلازمى المغلف لمحتويات الخلية ، مما يعطى لهذه الخلايا مجموعة من الميزات عن باقى مجاميع البكتريا الأخرى ، منها

* مرونة الخلايا ، بعكس البكتريا النموذجية ذات الجدار الصلب ، وتأخذ خلايا المايكوبلازمات بالتالى أشكالا متعددة بالوسط النامية به ، يتراوح مابين الكروى إلى الخيطى المتفرع [شكل ٧ (٢)- ٥٥] ، وتسمح مرونة المايكوبلازمات لخلاياها ، بالمرور من المرشحات البكتيرية ، رغم أن قطر الخلايا فى المتوسط حوالى ٠,٣ ميكرومتر .

* قابلية خلايا المايكوبلازمات للتحلل Lysis ، عندما تتعرض لصدمات ضغوط أسموزية مفاجئة ، كتلك الناتجة عن تخفيف وسط النمو المفاجىء بالماء .

- عدم تأثر خلايا المايكوبلازمات بالفاجات ، ولاتُثبَّط المايكوبلازمات بالمضادات الحيوية التى تؤثر على الجدار الخلوى كالبنسلين (لعدم وجود جدار خلوى) ، ولكن المايكوبلازمات تُثبط بالمضادات الحيوية التى تؤثر على تمثيل البروتين الخلوى ، مثل التتراسيكلينات والكلورامفينيكول .
- ولإحتواء الغشاء السيتوبلازمى لخلايا المايكوبلازمات على نسبة مرتفعة من اللبيدات، فإن كثيراً من المايكوبلازمات حساس لمذيبات الدهون ومخفضات الجذب السطحى كالإيثانول والمنظفات وأملاح الصفراء .

شكل ٧ (٢)-٥٥
خلايا ومستعمرات المايكوبلازما
A : *Mycoplasma pneumoniae* × ٢٠,٠٠٠ مجهر كاسح .
خلايا عمرها ٦ أيام تبين الأشكال المختلفة للخلايا : كروية ، خيوط ، تفرعات .
B : مستعمرات *M. molare* × ٣٠ .
لاحظ أن شكل المستعمرة كشكل البيض المقلى

علاقة المايكوبلازمات بأشكال إل البكتيرية : Mycoplasmas and L-forms*

تتشابه كلا من المايكوبلازمات وخلايا البكتريا التى من نوع إل L-forms* ، فى أن كليهما بدون جدار خلوى . ولكن عدم وجود جدار خلوى للميكوبلازمات هو صفة ثابتة للنوع ، ولايتكون الجدار عند إعادة تنمية المايكوبلازما تحت أى ظروف .

* خلايا إل L-forms ، يعود حرف إل L ، الى معهد ليستر بلندن Lister Institute ، حيث تم لأول مرة عام ١٩٣٤ عزل خلايا بكتيرية بدون جدار خلوى لسلالة من بكتريا *Streptobacillus moniliformis* .

أما خلايا البكتريا التى من نوع L-forms ، فإنها نتجت من خلايا ذات جدار خلوى، ولكنها فقدت جدارها بصفة مؤقتة لسبب ما ، كوجود بنسلين فى بيئة النمو ، أو لعدم إحتواء البيئة على مادة Diaminopimelic acid ... أو لأى سبب اخر ، وبإعادة تنمية تلك الخلايا تحت ظروف مناسبة (مثل بيئة بدون بنسلين) ، فانها تعطى خلايا جديدة لها جدار خلوى .

صفات خلايا المايكوبلازمات المورفولوجية والمزرعية

خلايا المايكوبلازمات سالبة لصبغة جرام ، بدون جدار خلوى ، ذات أشكال متعددة من الكروى الى الخيطى المتفرع ، والخلايا الكروية ذات أقطار تتراوح من ١٠ الى ٦٠٠ نانومتر ، غير متحركة (عدا جنس سبيروبلازما) ، ومنها اللاهوائى أو الاختيارى للهواء، أو المحب للأكسجين بكمية قليلة .

وتعتبر المايكوبلازمات من أصغر أنواع البروكاريوتا حجما ، التى تعتمد على نفسها فى نموها وتكاثرها والتى يمكن تنميتها معمليا ، وتقع فى حدود الرؤية المجهرية الضوئية .

وتتكاثر المايكوبلازمات بالانقسام الثنائى ، أو بتجزؤ الخيوط ، أو بتكوين جسيمات دقيقة داخل الخلايا الناضجة ، ويمكن زراعتها فى المعمل ، فى بيئات غيرحية ، غنية ، مقواه بسيروم الدم ، وتحتاج بعض الأنواع خاصة الممرضة إلى وجود ستيرولات فى بيئة النمو ، وتجرى الزراعة تحت ظروف هوائية إختيارا أو لاهوائية حسب النوع .

وتتميز المستعمرات النامية بالبيئة الصلبة ، بصغر حجمها (أقل من ١ مم فى القطر) وتشبه ذرات التراب بالأجار وتحتاج لعدسة مجهر ذات قوة صغرى لفحصها . وتوجد المستعمرات مطمورة تحت سطح طبقة الأجار ، وتأخذ المستعمرة شكل البيض المقلى Fried-egg ، مركزها غامق ومحيطها شفاف[شكل ٧ (٢) – ٥٥] .

من المايكوبلازمات ماهو مترمم ، الذى يوجد بينابيع المياه ، أو بالمواد العضوية المتحللة ، ولكن أغلبها متطفل وممرض للانسان والحيوان والنبات ، وتوجد المايكوبلازمات فى النبات بالحزم الوعائية، وفى الحيوان فإنها توجد ملتصقة بالأنسجة الطلائية للأغشية المخاطية .

جينوم المايكوبلازمات : Mycoplasma genome

يعتبر جينوم المايكوبلازمات من أصغر جينومات البروكاريوتا القادرة على الحياة مستقلة عن غيرها ، وهو يمثل جزءا من حجم جينوم بكتريا القولون ، وحجمه من ٥٠٠ الى ٩٠٠ كيلو قاعدة ، وصغر حجم جينوم المايكوبلازمات ، يفسر القدرات الأيضية المحدودة لتلك الخلايا ، وحاجتها فى النمو إلى بيئات غذائية غنية .

من الأجناس الهامة التابعة للميكوبلازمات

- ***Acholeplasma***

أفراد هذا الجنس لاتحتاج فى نموها الى وجود كولسترول فى بيئة النمو ، وهى واسعة الانتشار فى خلايا الفقاريات ، وفى الأراضى ومياه المجارى وينابيع المياه .

من الأنواع التابعة *A. oculi* .

- ***Mycoplasma***

أفراد هذا الجنس تحتاج فى نموها إلى وجود كولسترول فى بيئة النمو ، ويدخل الكولسترول فى تركيب الغشاء السيتوبلازمى للخلية .

توجد المايكوبلازما كمتطفلات بالأغشية المخاطية وأربطة المفاصل ، بالانسان والحيوان ، كما توجد كملوثات بالمزارع النسيجية .

أغلب أنواع هذا الجنس متطفل ممرض للحيوانات ومنها الممرض للإنسان .

من الأنواع التابعة *M. pneumoniae* ، وينتقل بواسطة الهواء ويسبب مرض الالتهاب اللانمطى بالانسان Primary atypical pneumonia .

ومن أنواع المايكوبلازما الأخرى المرتبطة بعوائل حيوانية ***M. canis & M. hominis* .**

- ***Spiroplasma***

أفراد هذا الجنس تحتاج الى ستيرولات فى بيئة النمو ، وهى تختلف عن باقى الأجناس فى أنها أهليجية الشكل وذات حركة بريمية فى السوائل بدون أسواط ، وتشبه فى شكلها المورفولوجى الجنس البكتيرى *Spirillum* .

السبيروبلازما ممرضة لبعض النباتات ، وتسبب إصفرارها وتقزمها وتشوهات فى نموانها، ويمكن عزلها من سطح النبات ومن العصارات النباتية التى باللحاء والأوعية الناقلة بالنبات، ومن مفصليات الأرجل التى تتغذى على النباتاتهنحل العسل والنطاطات ، حيث أن المفصليات هى الناقلة للسبيروبلازما .

من الأنواع التابعة *S. citri* التى تصيب أشجار الموالح وتسبب إصفرارها وتشوهاتا فى نموانها .

- ***Ureaplasma***

أفراد هذا الجنس تحتاج فى نموها الى وجود يوريا وستيرولات فى بيئة النمو . وهى ممرضة ، وتسبب مرض التهاب الإحليل (مجرى البول فى الذكر) Urethritis بالانسان ، والالتهاب الرئوى Pneumonia بالأبقار .

من أنواعها *U. cati*

O - البكتريا الهوائية ذاتية التغذية كيميائية الطاقة

Aerobic chemolithotrophic bacteria

سالبة لصبغة جرام [جدول ٧ (٢) - ٢٧]

تشمل هذه البكتريا [جدول ٧ (٢) - ٢٧] ، أجناس بكتيرية سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، ذاتية التغذية ، غير ممثلة للضوء ، تستمد طاقتها من المواد الكيميائية غير العضوية ، حيث تقوم هذه البكتريا بتثبيت CO_2 الجو ، بواسطة الطاقة المستمدة من أكسدة مواد معدنية كالأمونيا والنتريت فى حالة بكتريا النترته ، وأيونات الحديدوز والمنجنوز فى حالة بكتريا الحديد ، والمركبات الكبريتية المختزلة فى حالة بكتريا الكبريت .

وجدول [٧ (٢) - ٢٨] يوضح تلك المجموعات الفسيولوجية من البكتريا .

جدول ٧ (٢) - ٢٧ : أجناس بكتيرية عصوية أو كروية

سالبة لصبغة جرام ، هوائية ذاتية التغذية ، كيميائية الطاقة .

(Group 12, Bergey's, 1994)

ممثلة للأمونيا أو النتريت (O1)	ممثلة للحديد والمنجنيز (مؤكسدة أو مرسبة) (O2)	ممثلة للمواد الكبريتية (غير ملونة مؤكسدة للكبريت) (O3)
مؤكسدة للأمونيا[1] (Nitroso -)	*Leptospirillum*	*Thiobacillus*
Ammonia oxidizers	*Naumanniella*	*Thiobacterium*
Nitrosococcus	*Ochrobium*	*Thiomicrospira*
Nitrosolobus		*Thiospira*
Nitrosomonas	*Siderocapsae*[2]	*Thiovulum*
Nitrosospira	*Siderococcus*	
Nitrosovibrio	*Siderocystis*	*Thermothrix* خيطية
		Achromatium[6] زاحفة
مؤكسدة للنتريت[2] (Nitro-)	ذات سوق[4] *Gallionella*	
Nitrite oxidizers		
Nitrobacter	مغلفة ، ذاتية التغذية اختيارا	
Nitrococcus	*Sphaerotilus*[5]	
Nitrospina		
Nitrospira		

١- Nitroso - : سابقة لأسماء البكتريا المنتجة للنتريت من الأمونيا

٢- Nitro - : سابقة لأسماء البكتريا المنتجة للنترات من النتريت .

٣- Sidero - : سابقة ذات أصل إغريقى بمعنى حديد .

٤- أنظر جدول [٧ (٢) - ١٨] ، ص ٤٥٦ .

٥- أنظر جدول [٧ (٢) - ١٨] ، وتتبع السفيروتيلاس المجموعة ١٤، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤

٦ - أنظر جدول [٧ (٢) - ١٩]، ص ٤٦٥ وتتبع الأكروماتيوم ، المجموعة ١٥ ، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤

جدول ٧ (٢) – ٢٨ : المجموعات الفسيولوجية للبكتريا الهوائية ذاتية التغذية ، كيميائية الطاقة .

اسم المجموعة Chemolithotrophs ذاتية التغذية ، كيميائية الطاقة	المادة القابلة للأكسدة	المادة المؤكسدة الناتجة	المستقبل النهائى للإلكترونات
مؤكسدة للأمونيا Ammonia oxidizers, Nitrosifiers	NH_3	NO_2^-	O_2
مؤكسدة للنتريت Nitrite oxidizers, Nitrifiers	NO_2^-	NO_3^-	O_2
مؤكسدة للكبريت Sulfur oxidizers	H_2S, S, $S_2O_3^{2-}$	SO_4^{2-}	CO_2 ، وأحيانا NO_3^-
مؤكسدة للحديد و/أو المنجنيز Iron and/or manganese oxidizers	Fe^{2+}, Mn^{2+}	Fe^{3+}, Mn^{4+}	O_2

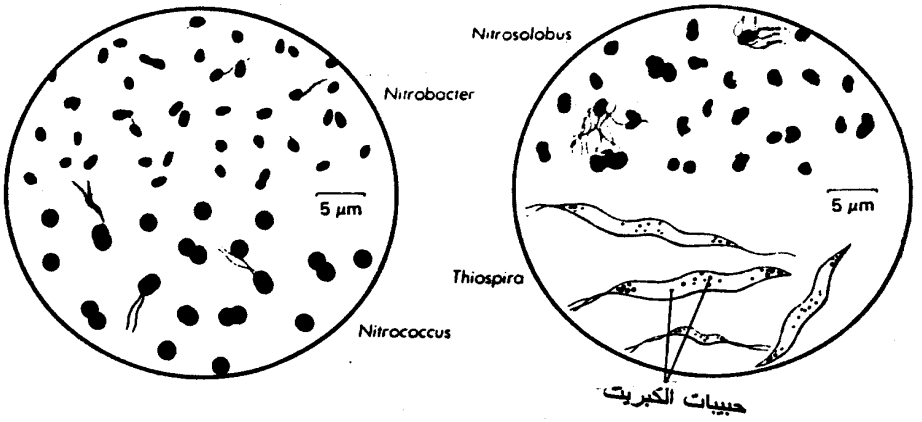
• من البكتريا الأخرى الهوائية عضوية التغذية كيميائية الطاقة Chemoorganotrophs ، التى تستخدم الإيدروجين كمصدر للطاقة ، بكتريا الإيدروجين Hydrogen bacteria ، ومنها أجناس عديدة ، وهذه البكتريا تحول H_2 الى H_2O ، والمستقبل للإلكترونات هو O_2 وأحيانا NO_3^- .

O1 – بكتريا النترتة (بكتريا النازوت) Nitrifying bacteria [جدول ٧ (٢) – ٢٧] .

تتميز هذه المجموعة البكتيرية بأنها سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، ذاتية التغذية ، باستثناء نوع واحد خليط التغذية إختياريا ، وقادر على تمثيل المواد العضوية ، وهو *Nitrobacter winogradskyi* .

تضم بكتريا النترتة ، أجناسا بكتيرية ذات صفات مورفولوجية متباينة ، فمنها العصوى والكروى والحلزونى ، ومنها غير المتحرك ، ومنها المتحرك بأسواط تحت طرفية (قرب طرف الخلية) أو بأسواط محيطية [شكل ٧ (٢) – ٥٦] ، ويتم التكاثر بالانقسام الثنائى ، عدا *Nitrobacter winogradskyi* ، الذى يتكاثر بالتبرعم . وبكتريا النترتة بطيئة النمو نسبيا (زمن الجيل حوالى ٢٤ ساعة) ، مقارنة بالبكتريا الأخرى خليطة التغذية ، أو بالبكتريا ذاتية التغذية غير الملونة ، المؤكسدة للكبريت **ومن بكتريا النترتة أجناس** ، مثل *Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrosococcus, Nitrosomonas* ، يكون غشاؤها السيتوبلازمى انغلافات Invaginations ، تمتد من الغشاء السيتوبلازمى للخلية الى داخل سيتوبلازم الخلية [شكل ٧ (٢) – ٥٧] . وتوجد هذه الإنغلافات متوازية ، مرتبة فى شكل صفائحى Lamellar أو أنبوبى Tubular حسب النوع .

وبكتريا النترتة واسعة الانتشار فى الطبيعة ، وتوجد فى أوساط مختلفة ، منها الميـــاه العذبة والمحيطات والأراضى ومخلفات المجارى . وتلعب بكتريا النترتة دورا هامـــا فى انتاجية الأراضى الزراعية .



شكل ٧ (٢) – ٥٦ : أشكال توضح بكتريا النترتة وبكتريا أكسدة الكبريت .

تضم بكتريا النترتة ، قسمين متميزين ، من حيث طريقة حصول كل قسم منهما على الطاقة

أ – البكتريا المؤكسدة للأمونيا : Ammonia-oxidizing bacteria, Nitrosifiers

يبدأ أسماء أجناس هذه البكتريا بسابقة إغريقية هى Nitroso... ، وتحصـــل هـــذه البكتريا على طاقتها من أكسدة الأمونيا NH_3 الى نتريت NO_2^- ، وهى ذات أشـكال مورفولوجية متعددة ، فمنها الكروى مثل *Nitrosococcus nitrosus, N. oceanus*[*] ،

[*] توجد بالمحيطات ، وكانت تسمى سابقاً *Nitrosocystis oceanus* .

ومنها والعصوى مثل *Nitrosomonas europaea* ، ومنها الحلزونى مثل *Nitrosospira briensis* ، والمنحنى مثل *Nitrosovibrio tenuis* ، وذو الفصوص مثل *Nitrosolobus multiformis* .

ب – البكتريا المؤكسدة للنتريت : Nitrite-oxidizing bacteria, Nitrifiers

يبدأ أسماء أجناس هذه البكتريا بسابقة أغريقية هى ...Nitro ، وتحصل هذه البكتريا على طاقتها من أكسدة النتريت NO_2^- الى نترات NO_3^- . ولهذه البكتريا أيضا أشكال متعددة فمنها الكروى مثل *Nitrococcus mobilis* ، والعصوى مثل *Nitrobacter agilis* و *N. winogradskyi* ، والعصوى الطويل المستدق مثل *Nitrospina gracilis* .

ويتميز النوع *Nitrobacter winogradksyi* بأنه خليط التغذية إختيارا ، قادر على تمثيل المواد العضوية ، يتكاثر بالتبرعم ، وأن غشاءه السيتوبلاز مى ذو إنغلافات صفائحية الشكل تمتد فى السيتوبلازم متوازية [شكل ٧ (٢) – ٥٧] .

شكل ٧ (٢) – ٥٧ : صورة بالمجهر الالكترونى لقطاع طولى فى بكتريا *Nitrobacter winogradskyi*، توضح إنغلافات الغشاء السيتوبلازمى المتوازية الممتدة فى شكل صفائحى بسيتوبلازم الخلية .

الخط بالشكل (Bar) ، يمثل ٠,٢٥ ميكرومتر .

O2- البكتريا المؤكسدة و/أو المرسبة للحديد والمنجنيز

Iron and manganese-oxidizing and/or depositing - Bacteria

[جدول ٧ (٢) - ٢٧]

تتميز هذه المجموعة البكتيرية بأنها سالبة لصبغة جرام ، وحيدة الخلية ، لاتكون زوائد أو سوق، قد توجد مفردة أو فى تكتلات ، هوائية إلى محبة للأكسجين بكمية قليلة ، ذاتية التغذية ، غير ممثلة للضوء ، تحصل على طاقتها من أكسدة الحديدوز Fe^{2+} الى حديديك Fe^{3+} ، ومنها مايستطيع أن يحصل على طاقته أيضا من أكسدة المنجنوز Mn^{2+} الى منجنيك Mn^{4+} ، وترسب أكاسيد الحديديك والمنجنيز خارج خليتها ، على أو فى كابسول الخلية أو بأغلفتها ، معطية للأغلفة لونا محمرا من أكاسيد الحديد أو زيتونيا من أكاسيد المنجنيز .

وهذه البكتريا غير ممرضة ، توجد فى الأراضى والمياه العذبة والمياه الراكدة ومياه الينابيع والمستنقعات ، وفى الأوساط الغنية بأملاح الحديدوز .

وهى ذات أهمية اقتصادية ، لأنها تسبب متاعب فى مواسير المياه ، كما أن ترسيبها للحديد والمنجنيز بالتربة الزراعية ، يحول هذه العناصر المعدنية الى صورة غير جاهزة لامتصاص النبات .

من الأجناس التابعة

أ - ***Siderocapsa***

الخلايا كروية عصوية Cocco-bacilli (حوالى ٠,٥ × ٢,٠ ميكرومتر) ، فى تكتلات صمغية ، محاطة بكابسول يحتوى على أكاسيد الحديد والمنجنيز ، وتأخذ الكابسول لونا محمرا لوجود أكاسيد الحديد ، أو لونا زيتونيا لوجود أكاسيد المنجنيز .

ومن الأنواع التابعة للجنس *S. eusphaera* و *S. treubii* .

ب - ***Sideococcus***

الخلايا كروية ، مفردة أو فى تكتلات ، وترسب بأغلفتها الخارجية أكاسيد الحديديك بكميات محسوسة .

من الأنواع التابعة للجنس *S. limoniticus* .

O3- البكتريا غير الملونة المؤكسدة للكبريت : Colourless sulfur-oxidizing bacteria
[جدولى ٧ (٢) ٢٧ و ٢٩] .

تتميز هذه البكتريا ، ومنها ماتم عزله بحالة نقية ، ومنها مالم يتم عزله بحالة نقية حتى الآن ، تتميز بأنها سالبة لصبغة جرام ، هوائية (بعضها لاهوائى) ، غير ممثلة للضوء (لاتحتوى على صبغات ضوئية) ، ذاتية التغذية ، تحصل على طاقتها من أكسدة مركبات الكبريت المختزلة أو المؤكسدة جزئيا ، مثل :

الكبريتيدات Sulphides ، الكبريت ، الثيوكبريتات ، الكبريتيتات Sulphites ... ، والناتج النهائى للأكسدة هو الكبريتات SO_4^{2-} ، وقد يتراكم الكبريت بصفة مؤقتة بداخل خلايا بعض الأنواع .

والبكتريا المؤكسدة للكبريت ذات أشكال مورفولوجية متعددة ، فمنها العصوى والحلزونى، وأغلب أنواعها متحرك بأسواط طرفية ، وهى متحملة للحموضة ، حيث تعيش فى وسط حامضى ناتج من تكوينها لحامض الكبريتيك بكميات محسوسة نتيجة لأكسدتها لمركبات الكبريت المختزلة .

والبكتريا المؤكسدة للكبريت ، على خلاف بكتريا النترته ، لاتكون إنغلافات ممتدة من الغشاء السيتوبلازمى للخلية الى داخل السيتوبلازم ، كما أنها مقارنة ببكتريا النترتة ، فإنها سريعة النمو (زمن عمر الجيل للبكتريا المؤكسدة للكبريت حوالى ٢ ساعة ، مقابل حوالى ١٠ ساعة لبكتريا النتروزوموناس) .

وهذه البكتريا واسعة الانتشار فى الطبيعة ، حيث توجد فى المياه العذبة والبحرية والأراضى ومياه الصرف والمجارى ومناجم الفحم ،

[وجدول ٧ (٢) - ٢٩] يوضح مزايا بعض وأنواع هذه البكتريا .

جدول ٧ (٢) – ٢٩ : مزايا بعض أنواع البكتريا غير الملونة المؤكسدة للكبريت .

النـــوع	نوع التغذية الذاتية Autotrophy	مانح الالكترونات	ق يد النمو	ملاحظـات
عصوى متحرك Thiobacillus[١] *Th. denitrificans*[٢]	حتمى	$S, S_2O_3^{2-}, CNS^-$	٦–٨	قادر على النمو اللاهوائى واستخدام NO_3^- كمستقبـــل للإلكترونات
Th. ferrooxidans[٣]	متباين	$S, S_2O_3^{2-}, Fe^{2+}$	٢–٦	
Th. intermedius	اختيارى	$S, S_2O_3^{2-}$, glutamate	٢–٦	
Th. novellus	اختيارى	$S, S_2O_3^{2-}$, glutamate	٦–٨	
Th. thiooxidans[٤]	حتمى	$S, S_2O_3^{2-}$	٢–٥	ويتحمل حموضة حتى ق يد ٠,٥
Th. thioparus	حتمى	$S, S_2O_3^{2-}, CNS^-$	٦–٨	
حلزونى متحرك *Thiomicrospira*[٥] *Th. pelophila*	حتمى	$S, S_2O_3^{2-}$	٦–٨	

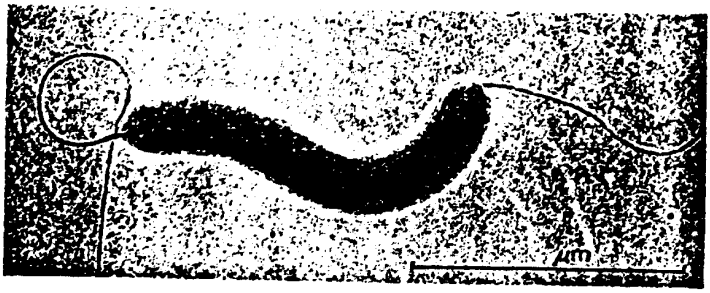
١– ...Thio سابقة إغريقية بمعنى كبريت .

٢– قادر على النمو اللاهوائى ، ويسبب إنطلاق النتروجين فى الأراضى الغدقة .

٣– كان يسمى سابقا *Ferrobacillus ferrooxidans* ، ويحصل على طاقته من أكسدة مركبات الكبريت المختزلة ، وأيضا من أكسدة أيونات الحديوز .

٤– من أكثر أنواع البكتريا تحملا للحموضة العالية ، لأنه يكون حامض كبريتيك بكميات كبيرة بالوسط

٥ – أنظر [شكل ٧ (٢) – ٥٨] .

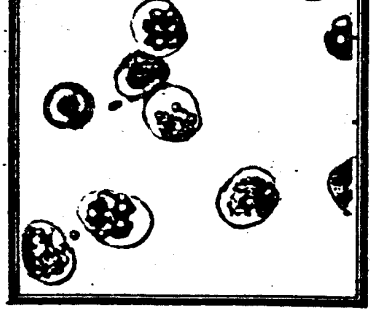


شكل ٧ (٢) – ٥٨ : *Thiomicrospira pelophila*
بكتريا غير ملونة ، مؤكسدة للكبريت ، حلزونية ، ذات سوط طرفى بكل قطب من أقطاب الخلية
صورة بالمجهر الالكترونى .

هناك أجناس من البكتريا غير الملونة المؤكسدة للكبريت ، لم يتم عزلها بحالة نقية حتى الآن ، وذلك بسبب وجود صعوبات فى تقنية التنمية الهوائية فى وجود H_2S ، ولكن تم التعرف على هذه الأجناس ومعرفة خواصها وهى فى بيئاتها الطبيعية ، وهى تتميز بأنها سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، ذاتية التغذية ، تؤكسد المركبات الكبريتية المختزلة مثل H_2S الى SO_4^{2-} ، وتجمع حبيبات الكبريت بداخل خلاياها [أنظر شكل ٧ (٢)– ٥٦] ، وتوجد فى المياه العذبة والبحرية وينابيع المياه المحتوية على H_2S .

من الأجناس التابعة لهذه المجموعة

Achromatium : وحيدة الخلية ، عملاقة الحجم ، زاحفة [أنظر شكل ٧ (٢) –٥١] .
Thiobacterium : الخلايا عصوية غير متحركة .
Thiospira : الخلايا حلزونية متحركة بسوط طرفى [شكل ٧ (٢) – ٥٦] .
Thiovulum : الخلايا بيضاوية متحركة بأسواط محيطية [شكل ٧ (٢)– ٥٩] .



شكل ٧ (٢) – ٥٩ : *Thiovulum* × ٧٠٠
بكتريا غير ملونة مؤكسدة للكبريت بيضاوية ، كبيرة الحجم ، تجمع الكبريت بداخلها .
(لاتظهر الأسواط بالصورة)

P – البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين

Anoxygenic phototrophic bacteria

سالبة لصبغة جرام ، لاهوائية ، ذاتية (أو عضوية) التغذية [جدول ٧ (٢)–٣٠] .

تشمل هذه البكتريا [جدول ٧ (٢) – ٣٠] أجناس بكتيرية وحيدة الخلية ، كروية أو عصوية أو حلزونية أو خيطية ، سالبة لصبغة جرام ، لاهوائية (لأن وجود الأكسجين يثبط من عملية تخليق صبغاتها الضوئية) .

جدول ٧ (٢)– ٣٠ : أجناس بكتيرية سالبة لصبغة جرام
لاهوائية ، ذاتية (أو عضوية) التغذية ، ممثلة للضوء ، غير منتجة للأكسجين
كروية أو عصوية أو حلزونية أو خيطية

. (Group 10, Bergey's, 1994)

بكتريا خضراء Green P2		بكتريا أرجوانية Purple P1	
ب – غير كبريتية	أ – كبريتية	ب – غير كبريتية	أ – كبريتية
Chloroflexus (خيطية زاحفة)	*Ancalochloris*	*Rhodobacter*	*Chromatium*
		Rhodocyclus	*Ectothiorhodospira*
	Chlorobium	*Rhodomicrobium*	
	Chloroherpeton	*Rhodopila*	*Lamprobacter*
	Chloronema	*Rhodopseudomonas*	*Lamprocystis*
	Oscillochloris		
		Rhodospirillum	*Thiocapsa*
	Pelodictyon		*Thiocystis*
	Prosthecochloris		*Thiodictyon*
			Thiopedia
			Thiosarcina
			Thiospirillum

• غير كبريتية ، أى غير قادرة على استخدام H_2S كمانح للإيدروجين ، ولاتخزن الكبريت بداخل خلاياها .

تحتوى هذه البكتريا على صبغة الكلوروفيل البكتيرى Bacteriochlorophyll, Bchl ، فهى خلايا ممثلة للضوء تستخدمه كمصدر للطاقة ، لإختزال CO_2 فى وجود مواد مانحة للإلكترونات مثل الإيدروجين وكبريتيد الايدروجين وبعض الأحماض العضوية ، لأنها غير قادرة على استخدام الماء ، كمانح للإلكترونات ، كما فى حالة النباتات الخضراء .

كما تحتوى هذه البكتريا كذلك على مجموعة من الصبغات الكاروتينويدية القابلة للذوبان فى الماء ، ويطلق على الكاروتينويدات الصبغات المساعدة Accessory pigments ، فهى تمتص الضوء عند مدى طيفى يتراوح مابين ٤٠٠ الى ٥٠٠ نانومتر ، وبذلك تساعد فى إمتصاص الطاقة الضوئية ونقلها الى الكلوروفيل البكتيرى ، كما أن الكاروتينويدات تحمى الكلوروفيل من التلف الذى قد يتعرض له نتيجة الأكسدة الضوئية ، ولاتنتج خلايا هذه البكتريا أكسجيناً أثناء تمثيلها الضوئى .

وهناك مجموعة أخرى من البكتريا ، مختلفة عما سبق فى بعض صفاتها ، ولكنها تتبع البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين تسمى Heliobacteria .

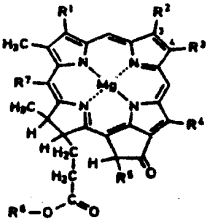
من هذه البكتريا

* أنواع زاحفة ، تتبع جنس *Heliobacterium* .
* أنواع متحركة كبيرة الحجم حلزونية الشكل ، تتبع جنس *Heliospirillum* .
* أنواع متحركة عصوية الشكل ، تتبع جنس *Heliobacillus* .

عموماً ، تعتبر البكتريا الممثلة للضوء اللاهوائية غير المنتجة للأكسجين ، أكثر بدائية وأسبق فى الظهور فى سلسلة التطور ، عن البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين (السيانوبكتريا) ، حيث أيدت الشواهد الجيولوجية والحفرية ، أن الغلاف الجوى فى بداية الخلق ، منذ أكثر من ٣ مليار سنة مضت ، كان خاليا من الأكسجين ، وكان هذا الوسط يناسب نمو البكتريا الممثلة للضوء اللاهوائية ، ولم يتكون الأكسجين بكميات محسوسة ، ويتحول الغلاف الجوى من لاهوائى إلى هوائى ، حتى نشأت منذ حوالى ١,٥ مليار سنة البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين .

التمثيل الضوئى البكتيرى والنباتى *

يختلف الكلوروفيل البكتيرى الخاص بخلايا البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين ، عن كلوروفيل النبات والسيانوبكتريا ، فى تركيبه الكيميائى (من حيث الروابط الزوجية والمجموعات الاستبدالية التى تقع على ذرات الكربون فى النظام الحلقى للبورفرين بجزىء الكلوروفيل ، ومن حيث خواصه فى إمتصاص الموجات الضوئية [شكل ٧(٢)-٦٠] .



Pigment	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7
Chloro-Phyll a	$-CH=CH_2$	$-CH_3$	$-CH_2-CH_3$	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)$	Phytol	–H
Bacterio-chlorophyll a	$O=C(CH_3)$	$-CH_3^*$	$-CH_2-CH_3^*$	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)$	Phytol or Geranyl-geraniol	–H
Bacterio-chlorophyll b	$O=C(CH_3)$	$-CH_3^*$	$=C(CH_3^*)H$	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)$	Phytol	–H
Bacterio-chlorophyll c	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ / $-C_3H_7$ / $-/-C_4H_9$	$-C_2H_5$ / $-CH_3$	$O=C(OCH_3)$	Farnesol	$-CH_3$
Bacterio-chlorophyll d	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ / $-C_3H_7$ / $-/-C_4H_9$	$-C_2H_5$ / $-CH_3$	–H	Farnesol	–H
Bacterio-chlorophyll e	$-CH(OH)-CH_3$	$-CHO$	$-C_2H_5$ / $-C_3H_7$ / $-/-C_4H_9$	$-C_2H_5$	–H	Farnesol	$-CH_3$
Bacterio-chlorophyll g	$-CH=CH_2$	$-CH_3$	$=C(CH_3)H$	$-CH_3$	–H	Phytol	–H

شكل ٧ (٢)-٦٠ : أنواع الكلوروفيل المختلفة .
يعود الاختلاف بين الأنواع المختلفة أساسا ، إلى وجود أو عدم وجود روابط زوجية بين ذرة الكربون ٣ وذرة الكربون ٤ ، وإلى المجموعات الاستبدالية (R) على هيكل البورفرين .
لاحظ العلاقة بين كلوروفيل a ، والبكتريوكلوروفيل g & e, d, c, b, a .

* راجع التمثيل الضوئى البكتيرى بالفصل السادس من الباب العاشر ، ص ٨٢٥ ومايليها .

فالكلوروفيل البكتيرى ستة أنواع (Bchl a, b, c, d, e & g) ، تمتص الموجات الضوئية التى تقع فى المنطقة تحت الحمراء بمجال الطيف الالكترومغناطيسى ، التى يتراوح أطوال موجاتها من ٧٢٥ الى ١٠٣٥ نانومتر .

بينما نجد أن كلوروفيل النبات والسيانوبكتريا ، هو من نوع كلوروفيل أ ، ويمتص الموجات الضوئية الأقصر ، ذات الطول الموجى حوالى ٦٨٠ نانومتر ، مما يوفر طاقة أكبر للتفاعلات الضوئية . وتضم الصبغات الضوئية النباتية الكاروتينويدات والفايكوبليبروتينات Phycobiliproteins .

الفروق الموجودة بين أنواع الكلوروفيل فى قدراتها على إمتصاص الموجات الضوئية ، بين كل من النبات والسيانوبكتريا من ناحية ، وبين البكتريا غير المنتجة للأكسجين الأرجوانية والخضراء من ناحية أخرى ، تعنى أن كل نوع من أنواع هذه الكائنات ، قادر على استخدام موجات ضوئية مختلفة عن الاخر فى عملية التمثيل الضوئى ، تناسب معيشته ، ولهذه الفروق صلة بظروف الإضاءة المتوافرة فى أماكن الاستيطان الطبيعية التى تعيش بها تلك الكائنات ، ويمكن مختبريا الاستفادة من هذه الفروق فى الامتصاص الضوئى ، فى تقنيات الزراعة الانتقائية لتنمية الأنواع المختلفة من البكتريا الممثلة للضوء .

وتتبع البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين فى تمثيلها الضوئى ، نظام الفسفرة الحلقية * Cyclic phosphorylaltion ، لإحتواء خلاياها على صبغات النظام الضوئى رقم ١ فقط ، Pigments of photosystem I ، وهى صبغات تنتج $NADPH^+$ ، ولاتنتج O_2 .

أما النبات والسيانوبكتريا ، فانها تتبع فى نظامها الضوئى ، نظام الفسفرة غير الحلقية* Non cyclic (Acyclic) phosphorylation ، لاحتواء خلاياها على صبغات النظام الضوئى رقم ١ ، ورقم ٢ .

وصبغات النظام الضوئى رقم ٢ Pigments of photosystem II ، صبغات قادرة على شطر جزىء الماء وإنتاج O_2 ، مع تكوين قدرة إختزالية ترتبط مع صبغات النظام الضوئى رقم I بالخلية ، لاستكمال عملية التمثيل الضوئى .

* راجع التمثيل الضوئى البكتيرى بالفصل السادس من الباب العاشر .

وجدول [٧ (٢)- ٣١] يوضح أهم فروقات خصائص التمثيل الضوئى بين خلايا الكائنات الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين (البكتريا) ، وتلك المنتجة للأكسجين (كالسيانوبكتريا والنبات)* .

جدول ٧ (٢)- ٣١ : أهم فروقات خصائص التمثيل الضوئى بين الكائنات غير المنتجة للأكسجين (البكتريا) ، والكائنات المنتجة للأكسجين (السيانوبكتريا والنبات) .

الخاصية	البكتريا غير المنتجة للأكسجين	الكائنات المنتجة للأكسجين (السيانوبكتريا والنبات)
الاحتياج الأكسجينى للتمثيل الضوئى	لاهوائى	هوائى
موقع الصبغات الضوئية بالخلية	الغشاء السيتوبلازمى والسيتوبلازم	• البلاستيدات بالنبات • الغشاء السيتوبلازمى والسيتوبلازم بالسيانوبكتريا
المادة المانحة للإلكترونات	H_2S, H_2 ، أحماض عضوية	H_2O
انتاج الأكسجين	غير منتجة	منتجة
الطاقة اللازمة للتفاعل الضوئى	قليلة	كبيرة
نوع الصبغات الضوئية	• كلوروفيل بكتيرى من نوع a,b,c,d,e,g • تحتوى على كاروتينويدات • تحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ١ فقط	• كلوروفيل نباتى من نوع a • تحتوى على كاروتينويدات وفايكوبليبروتين • تحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ١ ورقم ٢
أطوال الموجات الضوئية الممتصة	من ٧٢٥ الى ١٠٣٥ نانومتر	حوالى ٦٨٠ نانومتر
نظام الفسفرة	حلقى	غير حلقى

* وأنظر جدول [١٦ (١) - ١] ص ١١٠٢ .

نظام تخليق الصبغات الضوئية

تعتمد عملية تخليق الصبغات الضوئية بالخلايا البكتيرية غير المنتجة للأكسجين ، على ظروف النمو الخاصة بتلك البكتريا ، مثل درجة الحرارة ، وشدة الإضاءة ، ومدى توفر الأكسجين للبكتريا الهوائية والاختيارية ، حيث يزداد محتوى الخلايا من الصبغات ، بانخفاض شدة الاضاءة أثناء النمو ، كما يلعب الأكسجين دورا فى تكوين الصبغات ، حيث يؤدى توفر الأكسجين مع الاضاءة الشديدة ، الى كبح تكوين الصبغات الموجودة فى تراكيب غشائية ، وبالتالى إلى توقف تخليق الكلوروفيل البكتيرى والكاروتينويدات ، كما يلعب الأكسجين دورا مثبطا لبعض التفاعلات الانزيمية الخاصة بتخليق الكلوروفيل البكتيرى .

ويتم الحصول على أعلى تركيزات من الصبغات الضوئية الموجودة فى حويصلات Vesicles أو أنيبات Tubules ، فى الخلايا التى سبق تنميتها تحت ظروف لاهوائية وإضاءة منخفضة .

تواجد البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين وتثبيت النتروجين

تتواجد هذه البكتريا فى الأوساط المائية اللاهوائية ، العذبة والبحرية ، كما تتواجد فى الطبقات السفلى من سطح المياه الضحلة ، مثل المياه الراكدة ومياه المستنقعات الملحية ، وفى قاع البحيرات .

وفى مناطق المياه العميقة ، ينفذ الضوء الأزرق لمسافات أعمق من الضوء الأحمر ، لذلك فإن كلوروفيل وكاروتينويدات البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين الموجودة بتلك الأعماق ، يستطيع أن يمتص بعض الموجات الضوئية ذات الطول من ٤٠٠ الى ٤٥٠ نانومتر ، التى تقع فى المنطقة الزرقاء والخضراء من مجال الطيف الإلكترومغناطيسى ، مما يمكن هذه الخلايا البكتيرية من القيام فى تلك الأعماق البعيدة من المياه ، بعملية التمثيل الضوئى .

وكثير من أجناس البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين ، قادر على تثبيت نتروجين الهواء الجوى لاهوائيا فى وجود الضوء ، لأن التمثيل الضوئى يوفر ATP اللازم لانزيم النتروجينيز الذى يقوم بتثبيت النتروجين الجوى .

ألوان وأقسام وحركة البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين

تعود ألوان هذه البكتريا ، إلى ماتحتويه خلاياها من صبغات كاروتينويدية (محمرة اللون) ، وصبغات كلوروفيلية (خضراء اللون) .

وعلى أساس ماتحتويه هذه الخلايا من صبغات ، وماتختص به من الصفات الفسيولوجية الأخرى ، تقسم البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين إلى قسمين كبيرين [جدول ٧ (٢) – ٣٠] ، هما البكتريا الممثلة للضوء الأرجوانية ، والبكتريا الممثلة للضوء الخضراء .

وفى هذين القسمين من البكتريا (الأرجوانية والخضراء) ، فإن حركة الخلايا إن وجدت ، تكون بأسواط طرفية ، عدا جنس *Chloroflexus* فإنه خيطى عديم الأسواط ، وحركته زاحفة .

P1 – البكتريا الممثلة للضوء الأرجوانية : Purple phototrophic bacteria

تحتوى خلايا البكتريا الأرجوانية [جدولى ٧ (٢) ٣٠ و ٣٢] ، على بكتريوفيل أ أو ب ، وتوجد الصبغات الضوئية والكاروتينويدات فى الغشاء السيتوبلازمى للخلية ، الذى يمتد ويكون إنغلافات بالسيتوبلازم ، يبدو كحويصلات [شكلى (٧ (٢) – ٦١ و ٦٢] ومزارع هذه البكتريا أرجوانية اللون ، وهى بكتريا قادرة على استخدام H_2S كمانح للإيدروجين .

ومعظم خلايا البكتريا الأرجوانية متحركة بأسواط ، وأغلبها لاهوائى ، وبعض الأنواع يكون فجواتا غازية بداخل الخلايا ، وهى تتكاثر أساسا بالأنقسام الثنائى ، وقليل منها يتكاثر بالتبرعم ، وبعضها يحتاج الى وجود عوامل نمو بالبيئة ، مثل البيوتين ، الثيامين ، النياسين ، وفيتامين ب١٢ .

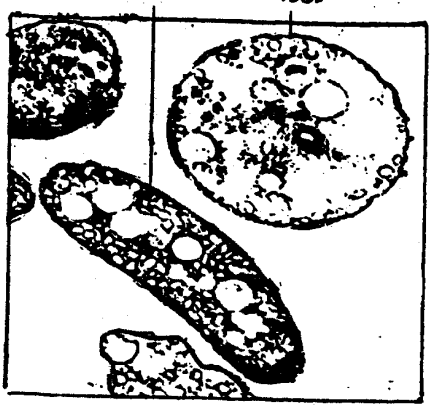
من البكتريا الأرجوانية مايستخدم H_2S كمانح للإيدروجين ، وتسمى بكتريا أرجوانية كبريتية Purple sulfur bacteria ، ومثلها البكتريا التابعة لفصيلة Chromatiaceae .

ومن البكتريا الأرجوانية مالايستطيع استخدام H_2S كمانح للإيدروجين ، وتسمى بكتريا ارجوانية غير كبريتية ، Purple non-sulfur bacteria ، ومثلها البكتريا التابعة لفصيلة Rhodospirillaceae .

ولذلك فإن البكتريا الممثلة للضوء الأرجوانية ، تضم فصيلتين ، هما

أ – Chromatiaceae : أرجوانية كبريتية .

ب – Rhodospirillaceae : أرجوانية غير كبريتية .



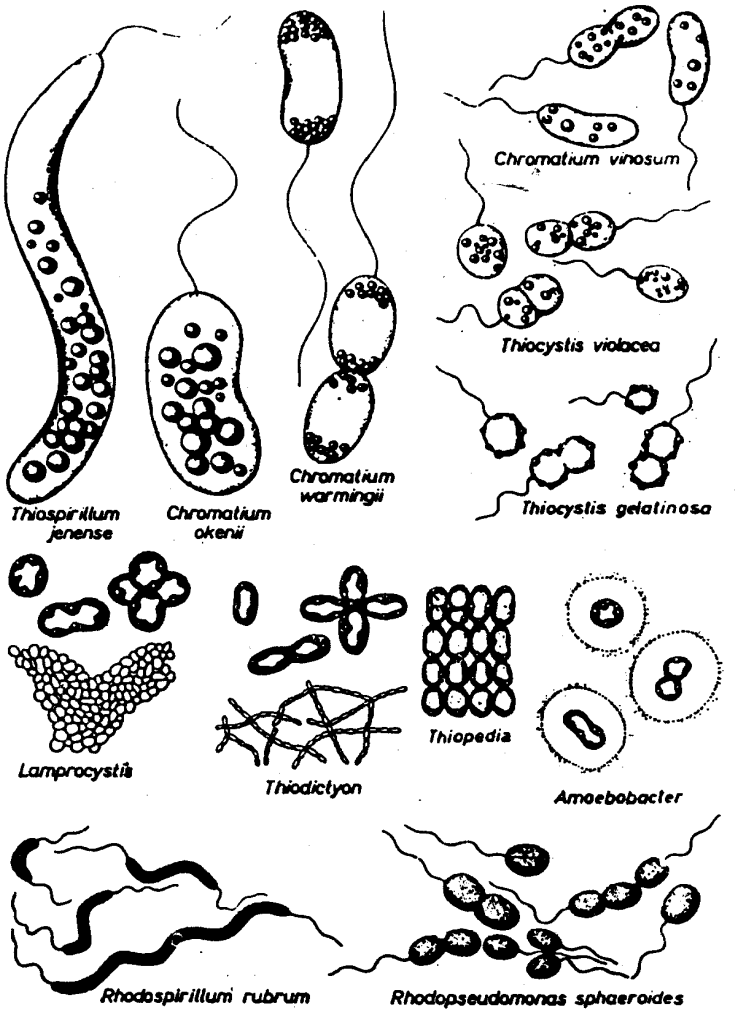
شكل ٧ (٢)– ٦١

بكتريا أرجوانية غير كبريتية *Rhodospirillum rubrum*

صورة بالمجهر الالكترونى × ١٢٠٠٠

– لاحظ الحويصلات الصغيرة المحتوية على الصبغات الضوئية .

– المساحات الكبيرة البيضاء ، هى حبيبات بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات .



شكل ٧ (٢)- ٦٢ : أشكال بعض أنواع البكتريا الأرجوانية الكبريتية التابعة لفصيلة Chromatiaceae والبكتريا الأرجوانية غير الكبريتية التابعة لفصيلة Rhodospirillaceae .

جدول ٧ (٢)-٣٢ : بعض الخواص السيتولوجية والفسيولوجية للبكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين .

الفصيلة والجنس [1]	النمو		أكسدة H_2S	ترسيب الكبريت	البكتريوكلوروفيل	
	لاهوائى فى الضوء	هوائى فى الظلام			نوعه	موقعه بالخلية
أرجوانية كبريتية Chromatiaceae	+	–	+	بداخل الخلية	أ أو ب	الثيلاكويد [2]
أرجوانية غير كبريتية Rhodospirillaceae	+	البعض +	– أو + فى البعض	خارج الخلية	أ أو ب	الثيلاكويد
خضراء كبريتية Chlorobiaceae	+	–	+	خارج الخلية	أ (بكمية قليلة) مع ج، أو د أو هـ كمكون أساسى	الغشاء السيتوبلازمى الكلوروسوم [3]
خضراء غير كبريتية Chloroflexaceae	+	+	البعض +	لاترسب	أ (بكمية قليلة) مع ج ، كمكون أساسى	الغشاء السيتوبلازمى الكلوروسوم

(١) كل الخلايا تحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ١ ، ولاتحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ٢ .

(٢) الثيلاكويدات *Thylakoids* :
إمتدادات غشائية من الغشاء السيتوبلازمى الى داخل السيتوبلازم ، توجد كحويصلات أو كأنابيب أو كصفائح (حسب النوع البكتيرى) ، وترتبط بها الصبغات الضوئية .

(٣) الجسيمات الخضراء (الكلوروسومات) *Chlorosomes* :
جسيمات خلوية دقيقة (حوالى ٥٠ نانومتر عرض × ١٥٠ نانومتر طول) ، وهى ملاصقة للغشاء السيتوبلاز مى ، وتضم الصبغات الضوئية .
وكانت الكلوروسومات تسمى سابقا حويصلات الكلوروبيام Chlorobium vesicles .

– فصيلة Family Chromatiaceae (Formely, Thiorhodaceeae)

تضم هذه الفصيلة ، أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية Purple sulfur bacteria [جدول ٧ (٢)–٣٠] ، ومزارع هذه البكتريا أرجوانية اللون ، قادرة على استخدام H_2S كمانح للإيدروجين .

جدول [٧ (٢)– ٣٣] وشكل [٧ (٢) – ٦٣] يوضحان مزايا بعض أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، ويلاحظ أن خلايا هذه البكتريا متعددة الأشكال ، فمنها

الكروى مثل *Thiocystis violacea*

والعصوى مثل *Chromatium okenii & Thiodictyon elegans*

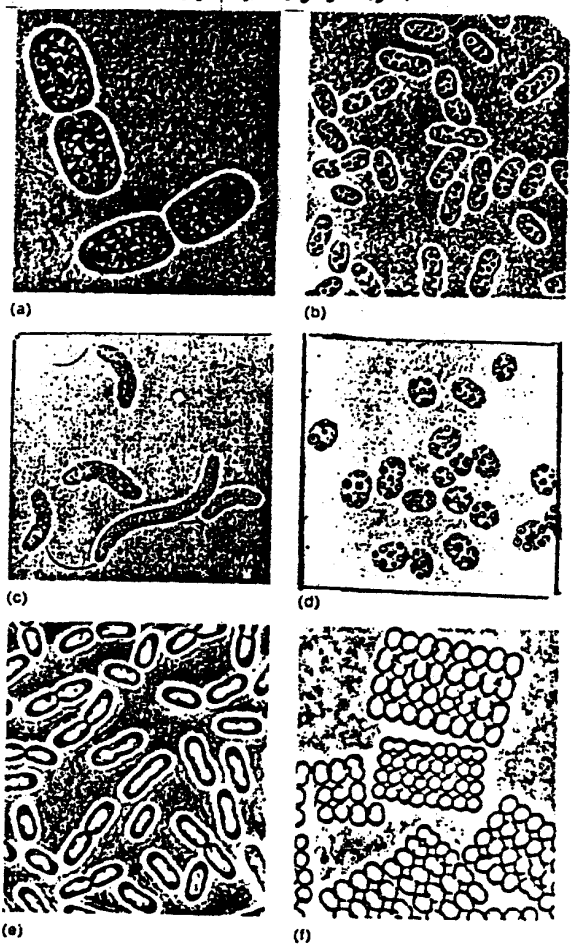
والحلزونى مثل *Thiospirillum jenense*

وقد تتجمع الكرويات في مجاميع كما فى جنس *Lamprocystis* ، أو فى مكعبات كما فى جنس *Thiosarcina* ، أو فى صفائح مسطحة كما فى جنس *Thiopedia* .

جدول ٧ (٢) – ٣٣ : مميزات بعض أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية .

الجنس	شكل الخلية	الحركة	وجود فجوات غازية
Chromatium	عصوى	+	–
Ectothiorhodospira	واوى	+	–
Lamprocystis	كروى فى تجمعات	+	+
Thiocapsa	كروى	–	–
Thiocystis	كروى	+	–
Thiodictyon	عصوى	–	+
Thiopedia	كروى فى صفائح مسطحة	–	+
Thiosarcina	كروى فى مكعبات	+	–
Thiospirillum	حلزونى	+	–

• كل الأجناس ترسب الكبريت بداخل خلاياها ، عدا جنس *Ectothiorhodospira* .



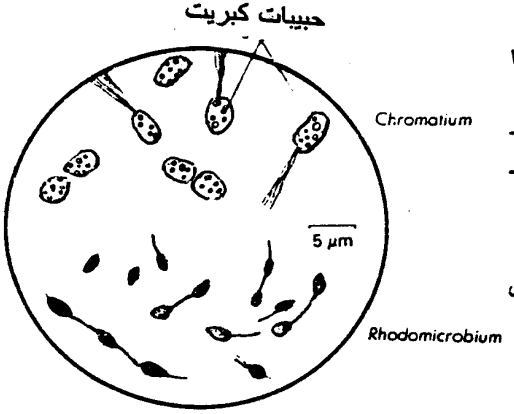
شكل ٧ (٢)- ٦٣ : نماذج لبعض أنواع البكتريا الأرجوانية الكبريتية × ١٤٠٠

a : *Chromatium okenii* : عصوية عملاقة ، قطرها حوالى ٥ ميكرومتر ، طولها حوالى ٢٠ ميكرومتر .
b : *Chromatium vinosum*
c : *Thiospirillum jenense* : حلزونية عملاقة قطرها حوالى ٣,٥ ميكرومتر ، وطولها حوالى ٥٠ ميكرومتر
d : *Thiocystis gelatinosa*
e : *Thiodictyon elegans*
f : *Thiopedia rosea*

لاحظ

- حبيبات الكبريت بداخل خلايا الأنواع من a الى d .
- وجود فجوات غازية فى f .
- وجود مساحات لامعة بداخل الخلايا e .

كل أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، قادرة على استخدام H_2S و S ، كمانح للإلكترونات لتثبيت CO_2 . وعندما يكون H_2S هو المانح للالكترونات ، فإن حبيبات الكبريت الناتجة من أكسدة H_2S ، عادة ماتترسب بداخل الخلايا [شكل ٧ (٢)-٦٤] .



شكل ٧ (٢)- ٦٤ : رسوم توضح خلايا بكتريا أرجوانية

- *Chromatium* (Family Chromatiaceae)
- *Rhodomicrobium* (Family Rhodospirillaceae)

لاحظ حبيبات الكبريت بداخل بكتريا الكروماتيوم

بعض أنواع البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، ممثلة للضوء ، عضوية التغذية Photoorganotroph ، حيث أنها تكون قادرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة ، مع استخدام الكربون العضوى ، كالخلات ، فى التغذية ، كمصدر وحيد للكربون أو بالأشتراك مع CO_2 ، وفى حالة استخدام الكربون العضوى ، فإن المادة المختزلة غير العضوية ، تصبح غير ضرورية لتلك البكتريا .

جنس *Ectothiorhodospira*

من أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، وهو يُجمِّع الكبريت خارج خلاياه ، ثم يمتص الكبريت عند الحاجة ، لأكسدته إلى SO_4^{2-} .

وتتجمع الصبغات الضوئية فى خلايا هذه البكتريا ، فى ثايلاكويدات أنبوبية .

من الأنواع التابعة *E. halophila, E. mobilis*

ب – فصيلة Family Rhodospirillaceae (Formerly, Athiorhodaceae)

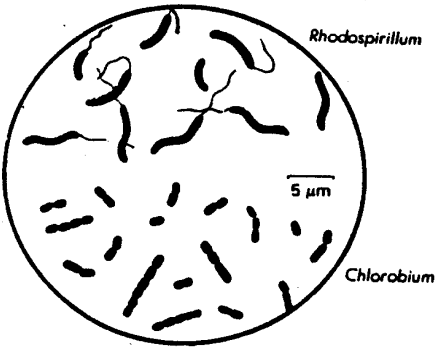
تضم هذه الفصيلة أجناس البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية Purple non-sulfur bacteria [جدول ٧ (٢)- ٣٠] . وأغلب مزارع هذه البكتريا أرجوانية اللون ، وبعضها أخضر اللون ، وهى غير قادرة على استخدام H_2S كمانح للإيدروجين .

وبصفة عامة فإن خلايا هذه البكتريا متحركة بأسواط ، لاتكون فجواتا غازية ، ولاترسب الكبريت بداخل خلاياها ولكن ترسبه بخارجها ، ويحتاج معظمها فى نموه لوجود عوامل نمو بالبيئة ، مثل البيوتين ، الثيامين ، النياسين .

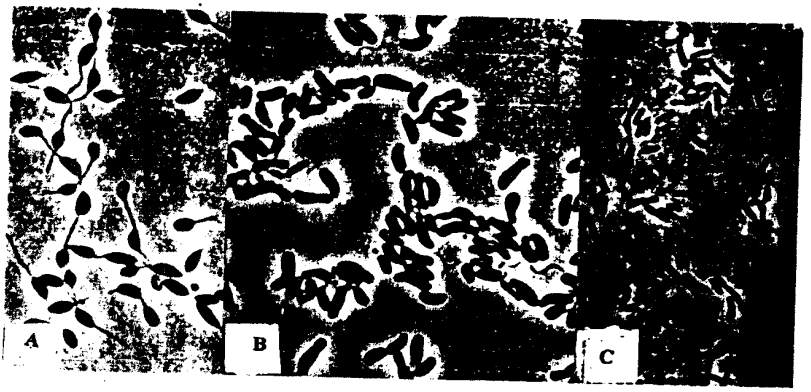
وأشكال [(٧(٢) ٦٥ و ٦٦ و ٦٧] توضح أشكال بعض أنواع هذه البكتريا .

خلايا بكتريا هذه الفصيلة متعددة الأشكال

- فقد تكون حلزونية ، تتكاثر بالانقسام الثنائى ، وتتحرك بسوط طرفى ، مثل تلك التابعة لجنس *Rhodospirillum* .
- أو تكون عصوية بدون زوائد Non-prosthecated ، تتحرك بسوط طرفى ، مثل تلك التابعة لجنس *Rhodopseudomonas* ، وأغلب أنواع هذا الجنس تتكاثر بالإنقسام الثنائى ، وبعض أنواعه تتكاثر بالتبرعم .
- أو تكون الخلايا بيضاوية الشكل ، بدون زوائد ، تتحرك بأسواط محيطية ، وتتكاثر بالتبرعم ويتكون البرعم فى طرف الزائدة ، مثل تلك التابعة لجنس *Rhodomicrobium* .
- أو تكون الخلايا عصوية منحنية كما فى النوع *Rhodocyclus tenuis* ، أو كروية كما فى النوع *Rhodopila globiformis* .



شكل ٧ (٢)- ٦٥ : رسم يبين أشكال أجناس البكتريا الأرجوانية *Rhodospirillum* والخضراء *Chlorobium* .



شكل ٧ (٢)– ٦٦ :

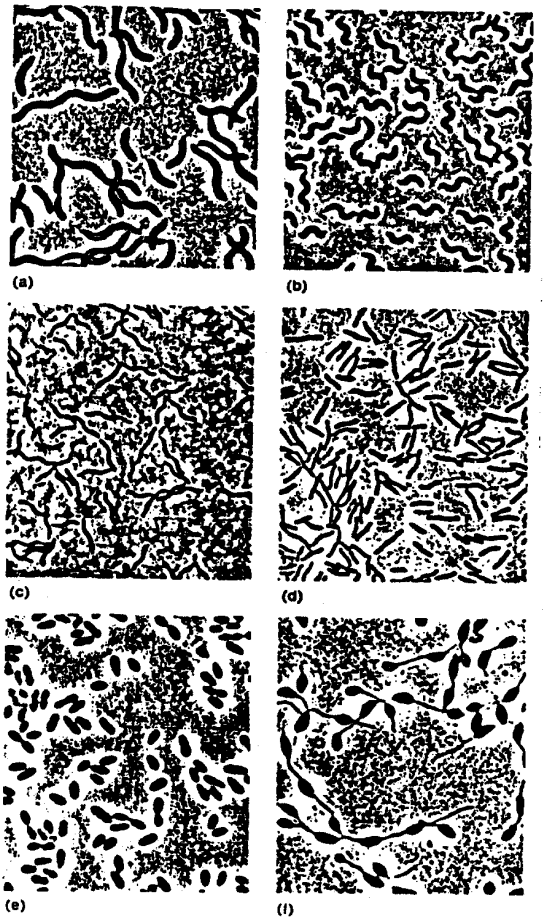
A : *Rhodomicrobium vannielii*
الخلايا متبرعمة ، ذات زوائد ، ويوجد البرعم فى طرف الزائدة .

B : *Rhodopseudomonas acidophila*
الخلايا متبرعمة ، ولاتكون زوائد ، لاحظ الأسواط الطرفية فى بعض الخلايا .

C : *Rhodopsdueomonas palustris*
والخلايا متبرعمة ، ولاتكون زوائد ، وهى أرفع من خلايا B .

أغلب أنواع البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية ، ممثلة للضوء ، عضوية التغذيـــة Photo-organotrophs ، حيث أنها قادرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة ، مع استخدام المادة العضوية كمصدر للكربون وكمانح للإلكترونات لإختزال CO_2 . وبعضا من هذه البكتريـــا ممثل للضوء ، ذاتى التغذية ، يستخدم H_2S كمانح للإلكترونات .

ويتم التمثيل الضوئى فى وجود الضوء تحت ظروف لاهوائية فقط ، لأن وجود الأكســـجين يثبط تخليق الصبغات الضوئية بالخلية ، وبعض الأنواع يستطيع النمو فـــى الظـــلام تحـــت ظروف هوائية ، مع استخدام مصادر متعددة من المادة العضوية فى التغذية .



شكل ٧ (٢) – ٦٧ : أشكال لبعض أنواع البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية × ١٢٠٠ .

a : *Rhodospirillum rubrum*
b : *Rhodospirillum fulvum*
c : *Rhodospirillum tenue*
d : *Rhodopseudomonas gelatinosa*
e : *Rhodopseudomonas sphaeroides*
f : *Rhodomicrobium vannielii*

P2- البكتريا الممثلة للضوء الخضراء : Green phototrophic bacteria

تحتوى خلايا البكتريا الخضراء [جدولى ٧ - (٢) - ٣٠ و ٣٢] ، على بكتريوكلوروفيل جـ أو د أو هـ كمكون أساسى ، مع كميات قليلة من بكتريوكلوروفيل أ . وتوجد أغلب الصبغات الضوئية (بكتريوكلوروفيل جـ أو د أو هـ) فى جسيمات خلوية دقيقة ، حوالى ٥٠ نانومتر عرض × ١٥٠ نانومتر طول ، ملاصقة للغشاء السيتوبلازمى للخلية ، تعرف بالكلوروسومات Chlolrosomes (الجسيمات الخضراء) ، وكانت تعرف سابقا بأسم حويصلات الكلوروبيام Chlorobium vesicles ، كما يوجد قليل من الصبغات الضوئية (بكتريوكلوروفيل أ) مرتبط بالغشاء السيتوبلازمى للخلية [أنظر جدول ٧ (٢)- ٣٢]، ومزارع هذه البكتريا ، خضراء اللون (لوجود بكتريوكلوروفيل جـ أو د) ، أو بنية اللون (لوجود بكتريوكلوروفيل هـ) .

وكالبكتريا الأرجوانية ، فإن بكتريا الكبريت الخضراء ، منها ماهو كبريتى Green sulfur bacteria ، مثل البكتريا التابعة لفصيلة Chlorobiaceae ، ومنها ماهو غير كبريتى Green non-sulfur bacteria ، مثل البكتريا التابعة لفصيلة Chloroflexaceae .

ولذلك فإن البكتريا الممثلة للضوء الخضراء ، تضم فصيلتين ، هما

أ - Chlorobiaceae : فصيلة البكتريا الخضراء الكبريتيه ، وهى تستخدم H_2S كمانح للإيدروجين .

ب - Chloroflexaceae : فصيلة البكتريا الخضراء غير الكبريتية ، وهى غير قادرة على استخدام H_2S كمانح للإيدروجين

أ - فصيلة Family Chlorobiaceae

تضم هذه الفصيلة أجناس البكتريا الخضراء الكبريتية Green sulfur bacteria [جدولى ٧ (٢) - ٣٠ و ٣٢] .

خلايا هذه البكتريا متعددة الأشكال

* فقد تكون بيضاوية أو عصوية ، مثل التابعة لجنس *Chlorobium* [شكل ٧ (٢) - ٦٥]، ومن أنواعه *C. limicola, C. vibrioforme* .
* وقد تكون الخلايا بيضاوية ومتجمعة على شكل نجمة ، نتيجة تقابل الزوائد Prosthecae التى تكونها الخلايا ، مثل التابعة لجنس *Prosthecochloris* ، ومن أنواعه *P. aestuarii* .
* أو عصويات فى سلاسل مكونة لتجمع شبكى مثل التابعة لجنس *Pelodictyon* ، ومن أنواعه *P. clathratiforme* .
* أو تكون خيطية زاحفة وتوجد بالبحار مثل التابعة لجنس *Chloroherpeton* ، ومن أنواعه *C. thalassium* .

عموماً ، فإن معظم خلايا البكتريا الخضراء الكبريتية غير متحركة ، تتكاثر بالانقسام الثنائى فقط ، ولاتكون فجواتاً غازية بداخل خلاياها ، وإن كان البعض مثل التابع لجنس *Pelodictyon* يكون فجواتاً غازية .

والبكتريا الخضراء الكبريتية لاهوائية ، ممثلة للضوء، ذاتية التغذية Photolithotrophs ، تستخدم H_2S كمانح للإلكترونات لتثبيت CO_2 ، وهى غير قادرة على النمو فى الظلام حتى فى وجود كمية قليلة من الأكسجين ، وترسب حبيبات الكبريت بخارج خلاياها (وليس بداخلها) ، وتؤكسد الكبريت الى SO_4^{2-} .

وتحتاج هذه البكتريا الى وجود عوامل نمو بالبيئة ، مثل فيتامين ب١٢ ، وكثير منها قادر على تثبيت النتروجين الجوى لاهوائيا فى وجود الضوء ، مثلها مثل البكتريا الأرجوانية .

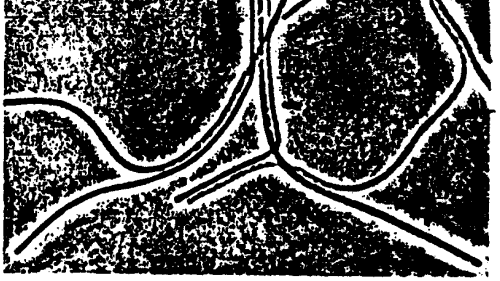
ب – فصيلة Family Chloroflexaceae

تضم هذه الفصيلة أجناس البكتريا الخضراء غير الكبريتية Green non-sulfur bacteria [جدولى ٧(٢) ٣٠ ، ٣٢] ، وأهم أجناس هذه الفصيلة ، هو جنس *Chloroflexus* .

خلايا هذا الجنس خيطية ، قد يصل طولها لحوالى ٣٠٠ ميكرومتر [شكل ٧ (٢)-٦٨]، وحركته زاحفة ، لايكون فجواتاً غازية بداخل الخلايا ، وهو ذا إحتياجات غذائية معقدة .

والبكتريا الخضراء غير الكبريتية لاهوائية ، ممثلة للضوء ، عضوية التغذية ، مع استخدام المادة العضوية كمصدر للكربون وكمانح للإلكترونات ، مثل البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية ، وبعضا منها يستطيع أن ينمو أيضا كذاتى التغذية مع استخدام H_2S كمانح للإلكترونات ، كما تستطيع أن تنمو أيضا فى الظلام هوائيا ، مع أخذ الطاقة من مصادر كيميائية عضوية .

النوع *C. aurantiacus* محب للحرارة المرتفعة ، فحرارة نموه المثلى تتراوح بين ٥٢ الى ٦٠°م ، وهو يوجد بكثرة فى ينابيع المياه الساخنة ، حيث يكون حصيرة خضراء أو مصفرة اللون بالمياه ، وعادة مايوجد متعايشا مع سيانوبكتريا من جنس *Synechococcus* ، وهى سيانوبكتريا محبة للحرارة المرتفعة ممثلة للضوء ، عضوية التغذية ، هوائية اختيارا ، تمد البكتريا الخضراء بإحتياجاتها العضوية .



شكل ٧ (٢)-٦٨ : *Chloroflexus aurantiacus* بكتريا خضراء غير كبريتية ، خيطية زاحفة × ٧٠٠ .

Q - البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين :

Oxygenic phototrophic bacteria
سالبة لصبغة جرام ، لاهوائية ، ذاتية التغذية

تضم مجموعة البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين ، مجموعتين ، هما
١ - مجموعة واسعة الانتشار فى الطبيعة ، وذات أهمية إقتصادية كبيرة ، هى مجموعة السيانوبكتريا **Cyanobacteria** ، وكانت تسمى سابقا بالطحالب الخضراء المزرقة Blue-green algae ، أو بالبكتريا الخضراء المزرقة .
٢ - مجموعة اكتشفت حديثا (**Prescott *et al* 1999**) ، وهى محدودة الانتشار والأهمية ، وتعرف بمجموعة البروكلوروفايت **Prochlorophytes** .

Q1 - مجموعة السيانوبكتريا (الطحالب الخضراء المزرقة) *

The cyanobacteria (Blue-green algae) [جدولى ٧ (٢) -٣٤ و ٣٥]

تشمل هذه المجموعة [جدولى ٧ (٢) - ٣٤ و ٣٥] أجناسا بكتيرية متنوعة ومتعددة الأشكال [شكل ٧ (٢) - ٦٩] ، فمنها ماهو وحيد الخلية غير متحرك ، كروى أو عصوى ، ومنها ماهو عديد الخلايا متحرك بحركة زاحفة ، خيطى متفرع أو غير متفرع ، ومنها مايكون أو لايكون هتيروسست ، أو يكون خلايا خاصة كالبايوسايت ** والأكينيت ** والهورموجونيا ** ، وفى كثير من الأنواع ، تتكون فجوات غازية بداخل الخلايا .
وخلايا السيانوبكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، ذاتية التغذية ، (قليل منها عضوى التغذية وقادر على النمو فى الظلام ، وأكسدة السكريات كمصدر للطاقة والكربون) ، وهى ممثلة للضوء تحت ظروف هوائية ، كالنباتات الخضراء ، فالسيانوبكتريا تحتوى على كلوروفيل أ ، وكاروتينويدات وفايكوبليبروتينات ، وتستخدم الضوء كمصدر للطاقة لإختزال CO_2 الجو ، فى وجود المادة المانحة للإلكترونات وهى الماء ، مع إنتاج أكسجين أثناء التمثيل الضوئى ، وذلك لأن السيانوبكتريا تحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ١ ورقم ٢ . وتوجد الصبغات الضوئية للسيانوبكتريا فى الثايلاكويدات ، وهى حويصلات غشائية توجد بداخل الخلية ، ويوجد على سطح الثايلاكويد ، أجسام الفايكوبلينات Phycobilisomes وهى حبيبات قرصية الشكل ، تحتوى على صبغات الفايكوبيلين [أنظر جدول ٧ (٢)-٣١ ، ص ٥٠٠ ، لمقارنة السيانوبكتريا مع البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين] .
توجد السيانوبكتريا بكثرة فى الأراضى والأوساط المائية العذبة والبحرية ، ومنها مايحتمل الحرارة ويوجد فى ينابيع المياه الساخنة مثل *Synechococcus* ،
ومن السيانوبكتريا أنواع عديدة قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت ظروف هوائية فى وجود الضوء ، وتلعب هذه الأنواع دورا هاما فى خصوبة الأراضى خاصة المنزرعة أرزا ، ومن السيانوبكتريا ماينمو فى تعاون مع كائنات أخرى نباتية كالأشنات وأشجار السيكاس ، وحيوانية كالبروتوزوا .

---

* راجع الجزء الثالث من هذا الكتاب ، الخاص بالسيانوبكتريا ، من ص ١٠٦٣ ومايليها .

** أنظر ص ٥١٥ .

جدول ٧ (٢)- ٣٤ : أجناس بكتيرية سالبة لصبغة جرام
هوائية ، ذاتية التغذية ، ممثلة للضوء ، منتجة للأكسجين
مجموعة السيانوبكتريا (الطحالب الخضراء المزرقـــة) (Group 11, Bergey's, 1994) .

وحيدة الخلية ، غير متحركة		عديدة الخلايا خيطية ، الحركة زاحفة		
		خلايا الخيط تنقسم فى مستوى واحد		الخلايا تنقسم فى أكثر من مستوى
لاتكون بايوسايت	تكون بايوسايت	لاتكون هتيروسست	تكون هتيروسست	تكون هتيروسست
Or. Chroococcales	**Or. Pleurocapsales**	**Or. Oscillatoriales**	**Or. Nostocales**	**Or. Stigonematales**
Anacystis	*Chroococcidiopsis*	*Arthrospira*	*Anabaena*	*Chlorogloeopsis*
Chamaesiphon	*Dermocarpa*	*Lyngbya*	*Anabaenopsis*	*Fischerella*
Chlorogloea	*Dermocarpella*	*Microcoleus*	*Aphanizomenon*	*Geitleria*
Chroococcus	*Myxosarcina*	*Oscillatoria*	*Aulosira*	*Hapalosiphon*
Cyanotheca	*Pleurocapsa*	*Phormidium*	*Calothrix*	*Mastigocladus*
Gloeobacter	*Xenecoccus*	*Plectonema*	*Cylindrospermum*	*Mastigocoleus*
Gloeocapsa		*Pseudoanabaena*	*Dichothrix*	*Nostochopsis*
Gloeothece		*Spirulina*	*Gloeotrichia*	*Stigonema*
Merismopedia		*Trichodesmium*	*Nodularia*	*Westiella*
Microcystis			*Nostoc*	*Westiellopsis*
Synechococcus			*Rivularia*	
Synechocystis			*Scytonema*	
			Tolypothrix	

جدول ٧ (٢)-٣٥ : أهم مميزات رتب السيانوبكتريا .

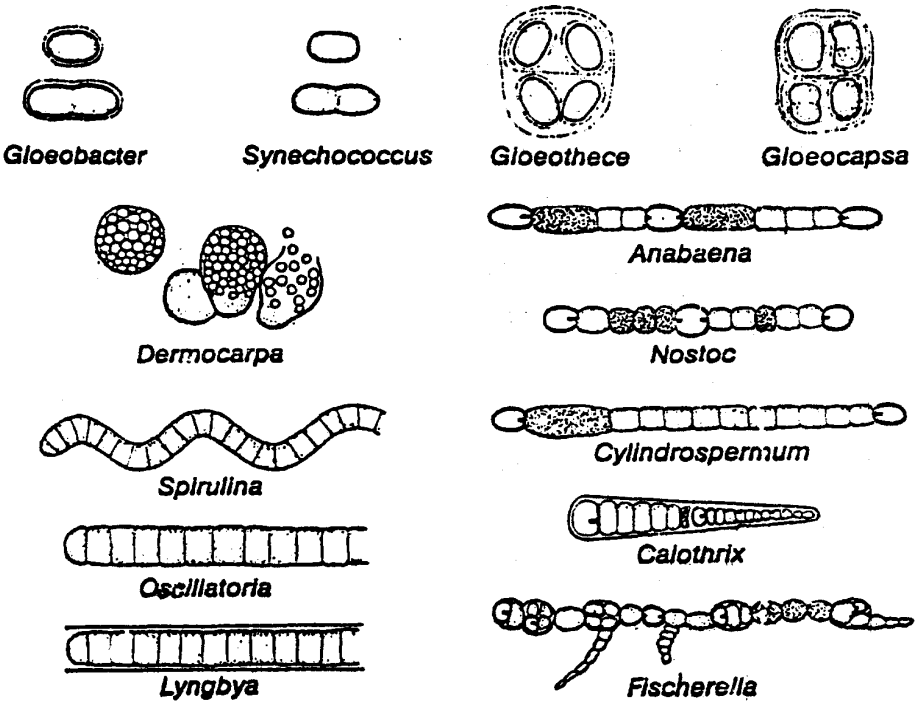
الخاصية	رتب السيانوبكتريـــا				
	Chroococcales	Pleurocapsales	Oscillatoriales	Nostocales	Stigonematales
شكل الخلية	كروى أو عصوى	كروى أو عصوى وقد تتجمع الخلايا	خيطى غير متفرع ويتكون الخيط من خلايا خضرية فقط	خيطى غير متفرع	خيطى متفرع
الحركـــة	–	–	زاحفة	زاحفة	زاحفة
وجود هتيروسست [1]	–	–	–	+	+
وجود أكينيت [2]	–	–	–	+	– أو + في بعض الأنواع
وجود بايوسايت [3]	–	+	–	–	–
إنقسام الخلايا بالخيط	–	–	في مستوى واحد	في مستوى واحد	في أكثر من مستوى
التكاثـر	انقسام ثنائى ومتبرعم	انقسام متعدد وبايوسايت	• انقسام ثنائى • تجزؤ الخيط • هرموجونيا [4]	• انقسام ثنائى • تجزؤ الخيط • هرموجونيا	• انقسام ثنائى • تجزؤ الخيط • هرموجونيا
النسبة المئويـــة لـــ G+C الموجودة بحامض DNA % G+C content of DNA	٤٠-٤٩	٤٠-٤٦	٤٠-٦٧	٣٨-٤٧	٤٢-٤٦

١- هتيروسست ، هوصلة مفايرة Heterocyst
خلية خضرية متحورة ، ذات جدار سميك ، توجد على مسافات بخيط بعض أنواع السيانوبكتريا ، وهى تختلف عن خلايا الخيط الأخرى فى صفاتها الفسيولوجية ، إذ أنها قادرة على تثبيت النروجين الهواء الجوى ، لإحتوائها على إنزيم النتروجينيز .

٢-خلايا اكينيت Akinetes
خلايا لاجنسية تتكون بتغلظ جدر الخلايا الأبوية بخيط السيانوبكتريا ،وهى خلايا كبيرة الحجم نسبياً ، سميكة الجدار ، مقاومة للجفاف ، تمثل طور السكون ، لحين التكاثر عند تحسن الظروف .

٣-خلايا البايوسايت (الخلايا الكزمية) ، Baeocytes
خلايا صغيرة الحجم ، كروية الشكل ، تنتجها الخلايا الأم بخيط السيانوبكتريا أثناء انقسامها المتعدد ، وقد يصل عددها بالخلية للمئات ، وتقوم خلايا البايوسايت بعد خروجها من خلية الأم ، بعملية التكاثر .

٤-هرموجونيا Hormogonia
خلايا توجد بخيط بعض أنواع السيانوبكتريا ، تنفصل من الخيط وتعمل كعضو تكاثر لاجنسى .



شكل ٧ (٢)-٦٩ : أشكال توضيحية لخلايا السيانوبكتريا .

لاحظ

* جراثيم البايوسايت (الخلايا القزمية) فى *Dermocarpa*
* خلايا هتيروسست فى *Anabaena & Nostoc* .
* خلايا الاكينيت (المنقطة بالأشكال) فى *Cylindrospermum* .
* الغلاف المحيط بالخيط فى *Lyngbya* .

أقسام السيانوبكتريا : [جدولى ٧ (٢) - ٣٤ و ٣٥]

تقسيم السيانوبكتريا مبنى على أسس مورفولوجية لنماذج جُمعت من الأوساط الطبيعية، لذلك فهو خاضع للتغيير المستمر ، منذ أن وضع Geitler, 1932 ، هذه الأسس ، وحتى ماجاء بمرجع برجى عام ١٩٩٤ ، ولذلك فإنه فى نظم التقسيم المختلفة ، قد تنقل مجموعة من قسم لآخر ، حسب مايستجد من تقنيات ، ومايتوفر من معلومات وراثية .

وعموما ، تقسم السيانوبكتريا (Holt *et al*, 1994) حسب خواصها المورفولوجية ، وطريقة التكاثر ، والتركيب الخلوى ، والخواص الفسيولوجية وأحيانا الوراثية ، الى خمسة رتب هى

١- رتبة Chroococcales

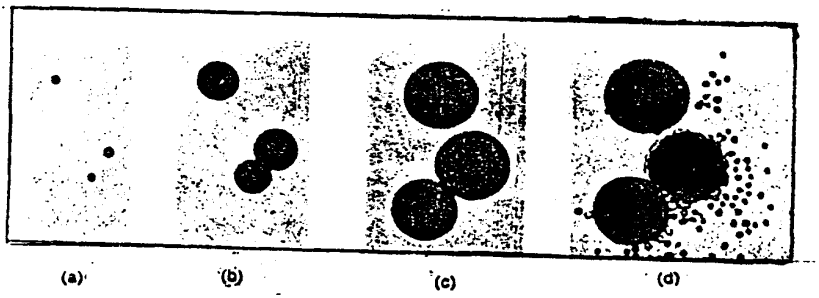
تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا وحيدة الخلية ، الكروية أو العصوية ، وقد تتجمع الخلايا فى تكتلات ، وتتكاثر هذه البكتريا بالانقسام الثنائى أو بالتبرعم ، دون أن تكون خلايا بايوسايت Baeocytes .

من أجناس هذه الرتبة ***Gloeobacter, Gloeocapsa, Gloeothece, Synechococcus***

٢- رتبة Pleurocapsales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا وحيدة الخلية ، وقد تتجمع الخلايا فى مجاميع ، وتتكاثر بالانقسام المتعدد Multiple fission (أنظر ص ٥١٩) ، وتتميز بتكوين خلاياها بالانقسام المتعدد، لجراثيم قزمية ، تعرف بالبايوسايت Baeocytes [شكل ٧ (٢) - ٧٠] .

من أجناس هذه الرتبة ***Dermocarpa, Pleurocapsa*** .



شكل ٧ (٢)- ٧٠ : *Dermocarpa*
صور للدرموكاربا تمت على فترات متتالية ، خلال فترة ٢٤٠ ساعة ، تبين مراحل الانقسام المتعدد بالخلية
a,b,c : زيادة فى حجم الخلية من مرحلة لأخرى
d : خروج الخلايا البنوية الصغيرة الحجم (البايوسايت) ، التى تكونت بالانقسام المتعدد من الخلية الخضرية الأم (× ٣٠٠) .

٣- رتبة Oscillatoriales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية ، ويتكون الخيط البكتيرى من خلايا خضرية فقط ، ولايكون هتيروسست .

من أجناس هذه الرتبة *Lyngbya, Oscillatoria, Phormidium, Plectonema, Spirulina*

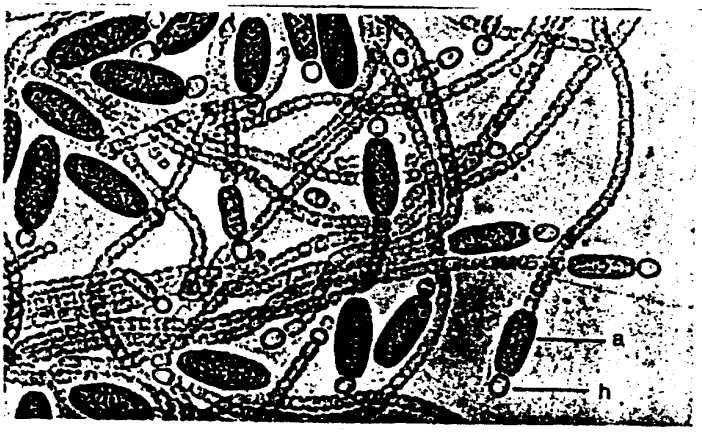
٤- رتبة Nostocales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية ، التى تكون هتيروسست . وتنقسم خلايا الخيط فى مستوى واحد .

فى بعض الأحيان تتحول بعض خلايا الخيط الى جراثيم ساكنة تعرف بجراثيم الأكينيت Akinetes [شكل ٧ (٢)-٧١] .

من أجناس هذه الرتبة

Anabaena, Calothrix, Cylindrospermum, Nostoc, Scytonema



شكل ٧ (٢) - ٧١
Cylindrospermum **: سيانوبكتريا خيطية غير متفرعة (× ٣٨٠)**
لاحظ a : الأكينيت
h : هتيروسست

٥- رتبة Stigonematales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية التى تكون هتيروسست ، وتنقسم خلايا الخيط فى أكثر من مستوى ، وبعض الأنواع يكون أكينيت .

من أجناس هذه الرتبة *Fischerella, Stigonema* .

رتب السيانوبكتريا الخيطية الثلاثة السابقة زاحفة ، تتكاثر بالانقسام الثنائى للخلايا التى بداخل الخيط ، أو بتجزؤ الخيط ، أو بتكوين هورموجونيا Hormogonia .

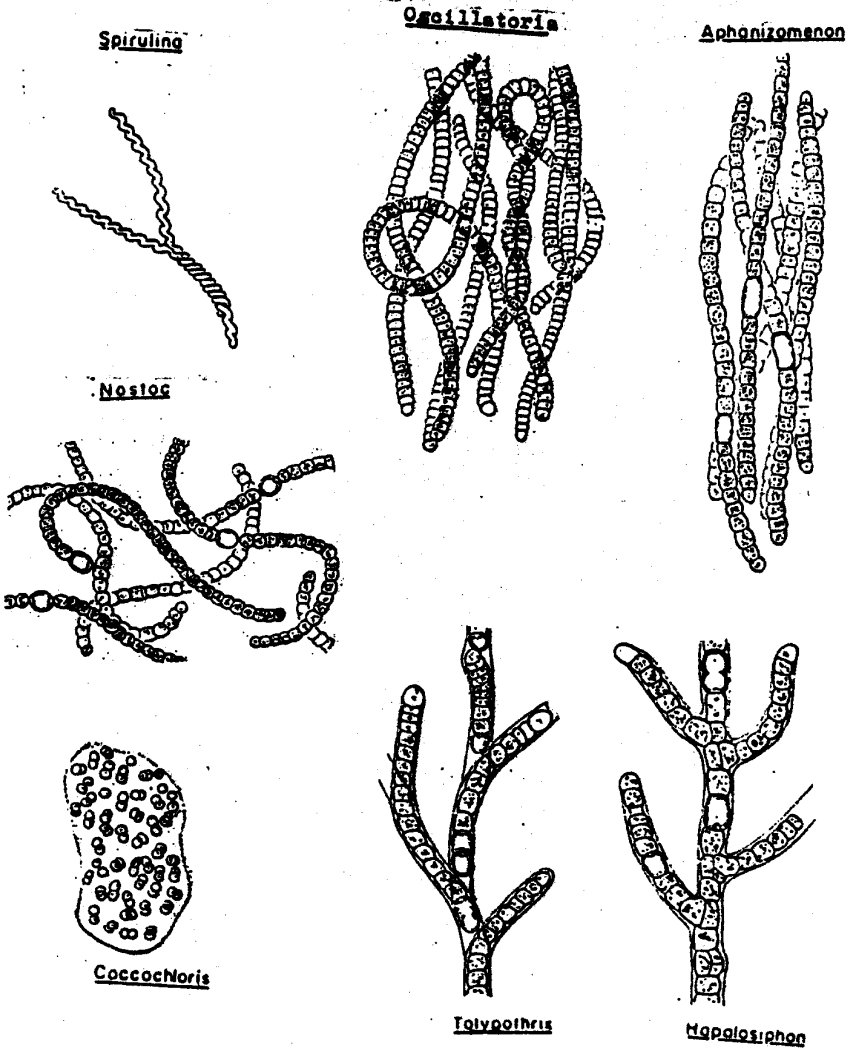
والشكل [٧ (٢) -٧٢] يبين أشكال بعض الأنواع الشائعة للسيانوبكتريا .

الانقسام المتعدد Multiple fission فى خلايا السيانوبكتريا

هو أحد أنواع التكاثر اللاجنسى ، الذى تتميز به بعض أجناس السيانوبكتريا وحيدة الخلية ، مثل تلك التابعة لأجناس *Dermocarpa, Pleurocapsa* .

وفى هذا النوع من التكاثر ، يزيد حجم الخلية التامة النمو عدة مرات ، ثم يحدث بها وبسرعة عدة إنقسامات خلوية متعددة ، فيتكون خلايا بنوية جديدة بداخلها ، صغيرة الحجم ، تعرف بالبايوسايت (خلايا قزمية) Baeocytes ، بعدها يتحطم جدار خلية الأم ، وتخرج منها الخلايا البنوية الجديدة لتعاود دورة الحياة [أنظر شكل ٧ (٢)-٧٠ ، ص ٥١٧] .

أنواع شائعة من السيانوبكتريا



شكل ٧ (٢)- ٧٢ : بعض الأنواع الشائعة من السيانوبكتريا .

Q2 - مجموعة البروكلوروفايت : Prochlorophytes

مجموعة بكتيرية تم التعرف عليها حديثـــا (Prescott *et al* 1999) ، وهى خلايـــا هوائية ، ممثلة للضوء ، منتجة للأكسجين ، تجمع فى صفاتـــها بيـــن البروكاريوتـــا (السيانوبكتريا) ، والايوكاريوتا (الطحالب الخضراء) .

فتتشابه البروكلوروفايت مع السيانوبكتريا فى تركيبها الخلوى ، فهى ســـالبة لصبغـــة جرام ، يحتوى جدارها على حامض ميراميك ، وليس بها عضيات ، ونواتها بدائيـــة ، ويصل حجم جينومها الى ٣,٦ × $١٠^{٩}$ ، وتختلف عن السيانوبكتريا فى عدم إحتـــواء خلاياها على الفايكوبلينات ، لذلك تبدو خلاياها خضراء ، أكثر من كونـــها خضـــراء مزرقة .

وتشبه البروكلوروفايت الطحالب الخضراء ، فى إحتوائها على كلوروفيل أ ، وأيضـــا على كلوروفيل ب الذى لايوجد إلا فى الطحالب الخضراء .

من الأجناس التابعة لمجموعة البروكلوروفايت *Prochloron & Prochlorothrix* .

جنس البروكلورون *Prochloron*

الخلايا كروية الشكل ، وهو متكافل إجبارى خارجى على لافقاريات بحريـــة تعـــرف بالزقيات Ascidians ، ولم يتم تنمية بكتريا البروكلورون بحالة نقية حتـــى الآن فـــى البيئات التركيبية .

جنس البروكلوروثريكس *Prochlorothrix*

الخلايا اسطوانية خيطية ، تعيش حرة فى المياه العذبة ، وأمكن تنميتها بحالة نقية فـــى البيئات التركيبية تحت ظروف ضوئية .

ومن الأنواع التابعة لهذا الجنس *P. hollandica* .

٢ - مجموعة الأركيوبكتريا : Archaeobacteria, Archaebacteria [١، ٢]

تمثل الأركيوبكتريا (البكتريا العتيقة) قسما رئيسيا من البكتريا يتميز بصفات خاصة ، كما أكدت بذلك الدراسات التى تمت على أساس مميزات الرنا الرايبوسومى والصفات الأخرى بالخلية . ويعود ذلك الى أن الأركيوبكتريا ، إختلفت منذ بداية نشأة الحياة على الأرض ، فى تطورها الوراثى عن مجاميع البكتريا الأخرى المعروفة باسم البكتريا الحقيقية (الإيوباكتريا) Eubacteria ، مثل الإشيريشيا والباسلس .

فالبكتريا المعروفة لدينا حاليا نشأت فى بداية التطور ، من صيغة سلفية مبكرة ، وتطورت هذه الصيغة من خلال طريقين ، كل منهما سار فى درب تطورى مختلف عن الأخر ، لينشأ قسمين رئيسيين هما الأركيوبكتريا والإيوبكتريا ، ويصبح لكل منهما صفاته المميزة . ويوضح جدول [٧ (٢)-٣٦] ، الاختلافات الرئيسية بين الأركيوبكتريا والايوبكتريا .

وتتواجد الأركيوبكتريا فى أوساط ذات صفات خاصة شديدة التميز ، مثل عدم وجود أكسجين بالوسط ، وتوفر ملوحة عالية ، ووجود حموضة وحرارة مرتفعة ... الخ ، وهى صفات بيئية تناسب تلك الظروف التى نشأت فيها الأركيوبكتريا ، وهى الظروف التى كانت سائدة فى العصور السحيقة Archaeic times فى بداية نشأة الحياة .

والأركيوبكتريا ، مثل الأيوباكتريا ، ليست بمجموعة بكتيرية واحدة متجانسة ، بل تضم مجاميع بكتيرية عديدة متباينة الصفات ، كتلك التباينات القائمة بين أنواع البكتريا الحقيقية المختلفة ، فمن الأركيوبكتريا ماهو سالب أو موجب لصبغة جرام ، ذاتى أو خليط التغذية ، هوائى أولاهوائى ، مع وجود إختلافات فيما بينها من حيث شكل الخلية ، ومكوناتها ، ونظم أيضها الغذائى ، وطرق تكاثرها .

وحسب المعلومات المتاحة حتى الآن [٣] (Bergey's 1994 & 2001) ، فإن الأركيوباكتريا تضم المجموعات الخمسة التالية [جدول ٧ (١)- ٣٧]

١- البكتريا المنتجة لغاز الميثان ..... Methanogenic bacteria , Methanogens

٢- البكتريا المحبة للملوحة إجبارا Extremely halophilic bacteria; Halobacteria; Red extreme halophiles

٣- البكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معا Thermoacidophilic bacteria; Thermoacidophiles

٤- الأركيوبكتريا عديمة الجدار الخلوى ..... Cell wall-less Archaeobacteria

٥- الأركيوبكتريا المختزلة للكبريتات ..... Archaeal sulfate reducers

---

١- راجع نظم تقسيم البكتريا بالفصل الأول من هذا الباب ، ص ٣٧٠ ومابليها .

٢- فى مرجع برجى لعام ٢٠٠١ ، الذى ظهر منه المجلد الأول حتى كتابة هذه السطور ، وجارى استكمال باقى مجلداته الخمس ، فإن مملكة بدائيات النواة ، قسمت الى مجموعتين متميزتين ، هما مجموعة بكتريا الأركيو Domain Archaeobacteria ، ومجموعة البكتريا الحقيقية Domain Eubacteria .

٣- أنظر المراجع التالية ص ٥٣٠ : Garrit 2001 & William 1994 .

جدول ٧ (٢)- ٣٦ : بعض الفروقات الأساسية بين مجموعة الأركيوبكتريا ومجموعة الإيوبكتريا .

الخاصية	الأركيوبكتريا	الإيوبكتريا
جدار الخلية		
إحتواء الببتيدوجلوكان على حامض ميراميك ، وأحماض ثنائية الأمين	- [1]	+
لبيدات الغشاء البلازمي		
- أحماض دهنية طويلة السلسلة ، مرتبطة مع الجلسرول بروابط استر Ester	-	+
- كحولات متفرعة طويلة السلسلة (Phytanols) ، مرتبطة مع الجلسرول بروابط إثير Ether	+	-
خواص مرتبطة بتخليق البروتينات بالخلية		
أول حامض أميني لتخليق سلسلة جديدة عديدة الببتيدات		
- مثيونين	+	-
- فورمايل مثيونين N-formylmethionine	-	+
عملية الترجمة الى سلسلة عديدة الببتيدات ، حساسة لتأثير		
- توكسين الدفتريا [2]	+	-
- الكلورامفنيكول [3]	-	+
قرين انزيم F 430 [4]	+	-
تثبيت CO_2 أوتوتروفيا ، عن طريق	Acetyl CoA pathway في البكتريا المنتجة للميثان	Ribulose diphosphate cycle

١- عدم إحتواء الجدار الخلوى للأركيوبكتريا على الهيكل الببتيدوجلوكانى ، يفسر سبب عدم تأثر الأركيوبكتريا بالمضادات الحيوية التى تؤثر على الإيوبكتريا ، مثل Penicillin, Cephalosporin, D-Cycloserine .

٢- يثبط توكسين الدفتريا ، تخليق البروتين بخلية الأركيوبكتريا ، بتأثيره على الانزيمات التى تعمل على استطالة السلسلة الببتيدية .

٣- يثبط الكلورامفنيكول تخليق البروتين بخلية الأيوبكتريا ، بإتحاده مع 50 S, RNA .

٤- F 430 ، قرين انزيم يحتوى على النيكل ، Nickel tetrapyrrol factor ، يوجد بالبكتريا المنتجة لغاز الميثان، و (انظر ص ٥٢٦) .

أقسام الأركيوبكتريا

١- البكتريا المنتجة لغاز الميثان : Methanogenic bacteria, Methanogens

[جدولى ٧ (٢) ٣٧ و ٣٨]

تشمل مجموعة البكتريا المنتجة لغاز الميثان [جدول ٧ (٢)- ٣٧] ، أجناساً متعددة الأشكال والصفات [جدول ٧ (٢)- ٣٨] وشكل [٧ (٢) - ٧٣] ، فمنها الكروى والعصوى والحلزونى والخيطى ، والموجب والسالب لصبغة جرام (حسب تركيب الجدار الخلوى ، فالموجبة لجرام يحتوى جدارها على ميورين كاذب ، والسالبة يحتوى جدارها على جليكوبروتين) ، كما أن منها المحب للحرارة المتوسطة والمحب للحرارة المرتفعة مثل *Methanobacterium thermoautotrophicum* & *Methanothermus fervidus*

جدول ٧ (٢) – ٣٧ : أجناس مجموعة الأركيوبكتريا

متعددة الأشكال ، متباينة لصبغة جرام ، هوائية أو لاهوائية
. (Groups 31 - 35, Bergey's, 1994)

Group 31	Group 35	Group 33
منتجة لغاز الميثان Methanogens	محبة للحموضة والحرارة المرتفعة معاً Thermoacidophiles	محبة للملوحة Halophiles
لاهوائية حتماً ، متباينة لجرام	١- هوائية ، سالبة لجرام	هوائية ، سالبة لجرام
Methanobacterium *Methanobrevibacter* *Methanococcus* *Methanogenium* *Methanohalobium* *Methanohalophilus* *Methanolobus* *Methanomicrobium* *Methanoplanus* *Methanosarcina* *Methanosphaera* *Methanospirillum* *Methanothermus* *Methanothrix*	*Sulfolobus* ٢- لاهوائية ، سالبة لجرام *Desulfurococcus* *Desulfurolobus* *Desulfuromonas* *Pyrococcus* *Pyrodictium* *Staphylothermus* *Thermococcus* *Thermodiscus* *Thermofilum* *Thermoproteus*	*Halobacterium* *Halococcus* *Haloferax* *Natronobacterium* *Natronococcus*

Group 32	Group 34
مختزلة للكبريتات لاهوائية حتماً ، سالبة لجرام *Archaeoglobus*	محبة للحموضة والحرارة المرتفعة معاً هوائية ، سالبة لجرام ، بدون جدار خلوى *Thermoplasma*

جدول ٧ (٢)- ٣٨ : صفات بعض أجناس البكتريا المنتجة لغاز الميثان .

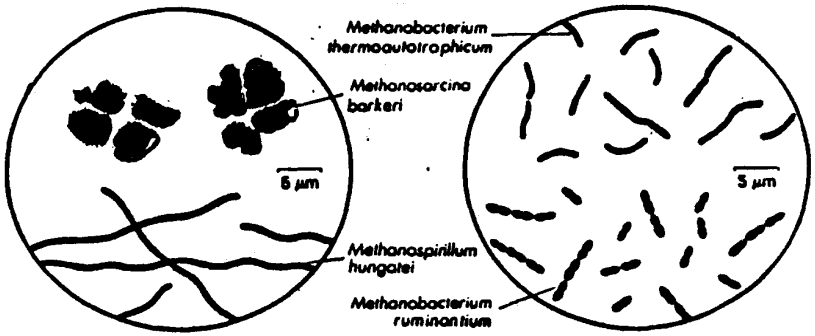
الجنس والنوع	الشكل المورفولوجى	الحركة	تركيب جدار الخلية
Methanobacterium *M. formicicum* *M. omelianskii* *M. ruminantium* *M.thermoautotrophicum*	عصوى طويل متغير لجرام	-	ميورين كاذب * Pseudomurein
Methanobrevibacter *M. smithii*	كروى أو عصوى قصير جرام موجب	-	ميورين كاذب
Methanococcus *M. vannielii*	كروى متعدد الأشكال جرام سالب	+ خصلة واحدة من الأسواط	بروتين مع آثار من جلوكوز أمين
Methanogenium *M. marismigri*	كروى متعدد الأشكال جرام سالب	+ أسواط محيطية	بروتين
Methanomicrobium *M. mobile*	عصوى قصير جرام سالب	+ سوطى واحد طرفى	بروتين
Methanosarcina *M. barkeri*	كروى فى مكعبات جرام موجب	-	سكريات معقدة خليطة
Methanospirillum *M. hungatei*	عصويات منحنية أو خيطية متموجة جرام سالب	+ أسواط طرفية	بروتين الخلايا محاطه بغلاف بروتينى

* الميورين الكاذب **Pseudomurein**

بوليمر يتشابه ظاهريا مع ببتيدوجلوكان الإيوبكتريا ، ولكن يختلف عنه تماما فى تركيبه الكيميائى من حيث :

* عدم إحتوائه على حامض موراميك .
* عدم إحتوائه على أحماض ثنائية الأمين .
* إحتوائه على ببتيد رباعى يتكون أساسا من **L-amino acids** وحلوتاميك

البكتريا المنتجة لغاز الميثان



شكل ٧ (٢)- ٧٣ : رسوم توضح خلايا بعض أنواع البكتريا المنتجة لغاز الميثان .

والبكتريا المنتجة لغاز الميثان ، لاهوائية حتما ، تحصل على طاقتها من أكسدة بعض المركبات مثل $CH_3COOH, HCOOH, H_2$ ، وتستخدم الالكترونات الناتجة فى إختزال CO_2 ، مع تكوين غاز الميثان CH_4 .

وبعض الأجناس ذاتية التغذية ، تستخدم H_2 و CO_2 كمصدر للطاقة والكربون ، بينما أجناس أخرى تحتاج فى البيئة الى وجود مواد عضوية ، وعوامل نمو كالفيتامينات ومستخلص الخميرة .

كما تحتوى البكتريا المنتجة لغاز الميثان على قرائن إنزيمية خاصة بها ، ومنها مالايوجد فى أنواع البكتريا الأخرى ، ومن هذه القرائن الإنزيمية

CoM : وهو Mercapto ethane sulphonate ، ورمزه $HS\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}SO_3H$ ، ويشارك فى تفاعلات إنتقال مجموعة الميثايل .

CoF420 : وهو من مركبات الفلافين ، وهو يتفسفر (يبث وميضا فوسفوريا) عند تعرضه للأشعة فوق البنفسجية .

Co F430: وهو Nickel-tetrapyrroi factor .

وكلا العاملين F430, F420 ، يشاركان فى النظام اللاهوائى الناقل للإلكترونات بالخلية .

تتواجد البكتريا المنتجة لغاز الميثان فى الأوساط اللاهوائية المختلفة ، الغنية بالمواد العضوية مثل البرك والمستنقعات ، وفى طين قاع البحيرات ، وفى القناة الهضمية للإنسان والحيوان ، وفى كرش المجترات ، وأحواض معالجة مخلفات المجارى .

ويستفاد من هذه البكتريا ، فى انتاج الغاز الحيوى بتخمير المخلفات العضوية لاهوائيا، ويستخدم الغاز الحيوى كبديل للطاقة ، فى الصناعة وفى الأغراض المنزلية .

٢- البكتريا المحبة للملوحة إجباراً

Extremely halophilic bacteria, Halobacteria, Red extreme halophiles

تضم هذه المجموعة [جدول ٧ (٢) - ٣٧] أجناساً بكتيرية ، تتميز بأنها

- يتراوح شكلها مابين الكروى غير المتحرك كما فى جنس *Halococcus* ، الى العصوى المتحرك أو القرصى كما فى جنس *Halobacterium* .
- هوائية ، سالبة لصبغة جرام ، منها المتحرك وغير المتحرك .
- تكون مستعمراتا على البيئة الصلبة لونها أصفر محمر ، نتيجة لما تحتويه من صبغات كاروتينويدية (تسمى هالوروبرين Haloruberin) . وهذه الصبغات تحمى الخلايا التى تتواجد غالبا فى أوساط معرضة لإضاءة عالية ، من تأثير ضوء الشمس الضار على الخلايا .
- عضوية التغذية ، كيميائية الطاقة .
- تحتاج فى نموها الى وسط يحتوى على حوالى من ١٧ الى ٢٣% NaCl (من ٣,٥ الى ٥,٠ مولر NaCl) .
- منها ، مثل *Halobacteriium halobium* ، مايستطيع استخدام الطاقة الضوئية كمصدر للطاقة * فى أيضه الغذائى ، لاحتوائه على الصبغة الضوئية القرمزية اللون ، الرودوبسين البكتيرى Bacteriorhodopsin ، التى توجد فى الغشاء السيتوبلازمى للخلية ، وتعيش هذه البكتريا فى الملاحات وفى المحاليل الملحية المشبعة .

تأثير التركيزات العالية من الأملاح

فى التركيزات العالية من ملح NaCl ، فإن خلايا البكتريا المحبة للملوحة إجباراً ، تقاوم الجفاف ، بالمحافظة على وجود تركيز أسموزى مرتفع من KCl بداخل الخلية . فالغشاء السيتوبلازمى للخلية ، ومابالخلية من رايبوسومات ، تكون ثابتة عند التركيزات المرتفعة من KCl فقط ، كما أن فعاليات الإنزيمات الخلوية تكون نشطة فقط عند التركيزات المرتفعة من KCl أو NaCl .

ويتركب الجدار الخلوى فى بكتريا جنس *Halobacterium* من وحدات بروتينية ، تكون مرتبطة مع بعضها فقط فى وجود تركيزات مرتفعة من NaCl ، فإذا ماانخفض تركيز NaCl عن ١٠% ، فان الخلايا البكتيرية تتحلل Lyse ، وتتسرب محتوياتها الخلوية الى الوسط .

وعلى العكس من ذلك ، فإن الجدار الخلوى فى بكتريا جنس *Halococcus* ، يتركب من سكريات معقدة خليطة ، وهى ثابتة حتى عند التركيزات المنخفضة من NaCl .

تواجد البكتريا المحبة للملوحة إجباراً

تتواجد البكتريا المحبة للملوحة إجباراً فى الأوساط المرتفعة الملوحة ، مثل مياه البحر الميت بالأردن ، والبحيرات الملحية العظمى بالولايات المتحدة ، وفى الملاحات ، والمصانع التى تُنتج الملح بالتبخير الشمسى لمياه البحر ، كما تتواجد فى المخللات ، والأغذية البروتينية المملحة ، كالأسماك المملحة ، وقد تسبب فساد وتلون هذه الأغذية .

* أنظر ص ٨٣٩ - استخدام البكتريا المحبة للملوحة للطاقة الضوئية .

٣- البكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معاً

Thermoacidophilic bacteria; Thermoacidophiles [جدول ٧ (٢) - ٣٧]

تتميز هذه المجموعة البكتيرية بأنها غير منتجة لغاز الميثان ، وبأنها محبة للنمو فى وسط ذو حموضة مرتفعة وفى نفس الوقت ذو درجة حرارة مرتفعة . وهذه البكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية أو لاهوائية ، ذاتية أو عضوية التغذية ، معظمها يمثل الكبريت ، حيث تؤكسد الكبرتيد تحت الظروف الهوائية ، وتحول H_2S إلى S ، أو تختزل الكبريت تحت الظروف اللاهوائية ، وتحول S إلى H_2S .

وتنتشر هذه البكتريا فى الأماكن شديدة الحرارة، المالحة ، التى تحتوى على كبريت أو كبريتات.

أ - الأجناس الهوائية

من الأجناس الهوائية التابعة للبكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معا ، جنس *Sulfolobus* . وخلايا هذا الجنس كروية أو قرصية الشكل ، جدارها الخلوى يتركب أساسا من بروتين ، وهى غير متحركة ، محبة للحموضة والحرارة المرتفعة معاً ، فتتراوح درجة حرارة نموها المثلى مابين ٧٠ الى ٧٥°م ، وتتحمل درجة حرارة حتى ٩٠°م ، وق يد المثلى لنموها ٢,٠ (ق يد الدنيا ١,٠ ، والعظمى ٤,٠) .

والسلفولوباس ذاتية التغذية إختيارا ، فهى تستطيع أن تكون ذاتية التغذية عندما يتوفر بالوسط عنصر الكبريت كمانح للإلكترونات ، حيث تؤكسد S إلى SO_4^{2-} ، كما تستطيع أن تنمو كخليطة التغذية ، فى وجود مصادر عضوية مناسبة بالوسط كالجلوتاميك والببتون .

توجد بكتريا السلفولوباس فى ينابيع المياه الحارة الحامضية ، ومن أنواعها الواسعة الانتشار *S. acidocaldarius* .

ب - الأجناس اللاهوائية

عزلت أجناس لاهوائية من البكتريا المحبة ، للحموضة والحرارة المرتفعة معاً ، من ينابيع المياه الحارة ، ومخلفات البراكين ، وقاع البحار ، ووجد أن درجة حرارة نموها المثلى يتراوح مابين ٨٠ الى ١٠٠°م ، ويطلق على البكتريا المحبة للنمو عند درجات الحرارة المرتفعة هذه (من ٨٠ الى ١٠٠°م) تعبير محبة للحرارة شديدة الارتفاع Hyperthermophiles ، ومن أمثلتها *Pyrodictium brockii* ، وأيضها الغذائى من النوع الذى يسمى بالتنفس الكبريتى Sulphur respiration ، بمعنى أنها قادرة على أكسدة H_2 ، واختزال S الى H_2S ، والحصول على الطاقة (الفسفرة بانتقال الإلكترونات)* تحت ظروف لاهوائية .

تتضمن الأجناس اللاهوائية

* بكتريا ذاتية التغذية إجبارا مثل *Thermoproteus neutrophilus & Pyrodictium occultum*
* بكتريا ذاتية التغذية إختيارا مثل *Thermoproteus tenax*
* بكتريا خليطة التغذية مثل أجناس *Desulfurococcus, Thermococcus, Thermodiscus*

* أنظر انتقال الالكترونات تحت ظروف لاهوائية بالفصل الثالث من الباب العاشر ، ص ٧٨٥ ومابليها .

٤- الأركيوبكتريا عديمة الجدار الخلوى : Cell wall-less Archaeobacteria

[جدول ٧ (٢) – ٣٧]

تتشابه هذه البكتريا فى بعض صفاتها مع المايكوبلازما ، فخلاياها بدون جدار خلوى ، وأشكالها متعددة ، تتراوح مابين الكروى الى الخيطى ، وتكون مستعمراتا دقيقة الحجم بالبيئة الصلبة ، تشبه فى شكلها البيض المقلى Fried-egg .

من الأجناس الهامة التابعة لمجموعة الأركيوبكتريا ، عديمة الجدار الخلوى ، جنس *Thermoplasma* ، وأنواع هذا الجنس سالبة لصبغة جرام ، متعددة الأشكال ، هوائية (قد ينمو لاهوائى فى وجود عنصر الكبريت) ، عضوية التغذية ، محبة للنمو فى وسط ذو حموضة مرتفعة وفى نفس الوقت ذو درجة حرارة مرتفعة . فدرجة حرارة نموها المثلى تتراوح من ٥٥ الى ٥٩°م (الدنيا ٤٠°م ، والعظمى ٦٢°م) ، وق يد الأمثل لنموها ٢.٠ (الدنيا ١,٠ ، والعظمى ٤,٠) وفى الوسط المتعادل ، فإن الخلايا تتحلل Lyse ، وللنوع *T. acidophilum* أصغر حجم جينوم (١ × ٩١٠) معروف بين أنواع البكتريا غير المتطفلة .

وقد عزلت أنواع جنس الثرموبلازما من ركام الفحم المحترق ، ومن ينابيع المياه الساخنة .

ومن الأنواع التابعة *T. acidophilum & T. volcanium* .

٥- الأركيوبكتريا المختزلة للكبريتات : Archaeal sulfate-reducers [جدول ٧ (٢) – ٣٧]

تمتاز هذه البكتريا بقدرتها على نقل H_2 الى SO_4^{2-} ، كمستقبل نهائى للإلكترونات ، واختزال الكبريتات الى H_2S ، وهو مايعرف بيولوجيا بالتنفس الكبريتائى Sulfate respiration ، بمعنى أن هذه البكتريا قادرة على أكسدة H_2 ، واختزال SO_4^{2-} إلى H_2S ، ومن خلال انتقال الالكترونات بسيتوكروم الخلية ، تتمكن البكتريا من الحصول على الطاقة (الفسفرة بإنتقال الالكترونات) * تحت ظروف لاهوائية .

من أجناس الأركيوبكتريا المختزلة للكبريت جنس *Archaeoglobus* . وأنواع هذا الجنس كروية غير منتظمة الشكل ، مفردة أو فى أزواج ، سالبة لصبغة جرام ، متحركة أو غير متحركة ، لاهوائية حتما ، محبة للنمو على درجات حرارة مرتفعة فحرارة نموها المثلى ٨٦°م و ق يد الأمثل لنموها ٦,٠ .

وهى قادرة على النمو أوتوتروفيا فى وجود الإيدروجين والثيوكبريتات ، وتكوين H_2S ، كما أنها قادرة على النمو هتيروتروفيا (أى خليطة التغذية) ، باستخدام بعض المركبات العضوية ذات الوزن الجزيئى المنخفض كمانح للإلكترونات .

وقد عزلت الأركيوجلوباس من أعماق البحيرات المالحة .

ومن الأنواع التابعة لهذا الجنس

A. fulgidus : وهو متحرك بأسواط طرفية ، ذاتى التغذية

A. profundus : وهو غير متحرك ، خليط التغذية .

---

* أنظر انتقال الالكترونات تحت ظروف لاهوائية بالفصل الثالث من الباب العاشر ، ص ٧٨٥ ومايليها .

مراجع الباب السابع (فصل ١ ، ٢)

References :

Garrit, G.M. Editor in Chief. (2001). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Ed. Vol. I: The Archaea and the Deaply Branching and Phototrophic Bacteria. Springer Verlag, New York.

Geitler, L. (1932). Cyanophyceae. Akademische, Verlagsgesellschaft, Leipizing.

Holt, J.G.; N. R. Krieg; P. A. Sneath; J.T. Staley and S.T. Williams (1994). In: **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994).** 9th Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, , USA.

Lapage, S.P.; P.A. Sneath; E.F. Lessel; V.B.D. Jr. Skerman; H.P. Seeliger and W.A. Clark (1975). International Code of Nomenclature of Bacteria. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Krieg, N.R. and J.G. Holt (1984, 1986, 1989 & 1989). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1,2,3 & 4, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland , USA.

Prescott, L.M.; J.P. Harley and D.A. Klein (1999). Microbiology, 4th Ed., Mc Graw-Hill, New York.

Sneath, P.A. and R.R. Sokal (1973). Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco, USA.

Starr, M.P.; H. Stolp; H.G. Truper; A. Balows and H.G. Schlegel (eds.) (1981). The Procaryotes: A Handbook of Habitats, Isolation and Identification of Bacteria. Vols. 1 & 2, Springer Verlag, New York.

William, R.H. (ed.) (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.

﴿الباب السابع – الفصل الثالث﴾

بكتريا الاندوفايت

البكتريا داخلية المعيشة بالنباتات

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

التعريف والأهميـــــة ٥٣٣
عزل بكتريا الاندوفايت ٥٣٣
أكثر الأجناس التى ينتمى إليها أنواع بكتريا الاندوفايت [جدول ٧ (٣) – ١] ٥٣٤
مصادر الاندوفايت ومنافذ دخولها ٥٣٤
أماكن وجود بكتريا الاندوفايت بالنبات العائل ٥٣٥
أعداد بكتريا الاندوفايت بداخل النبـــــات ٥٣٦
بكتريا الاندوفايت المثبتة لنتروجين الهواء الجوى .... [جدول ٧ (٣) – ٢] ٥٣٧
العوامل المحددة لتواجد بكتريا الاندوفايـــت ٥٣٨
استخدام بكتريا الاندوفايت كلقاح حيـــــوى ٥٣٨

مراجع الاندوفايت ٥٣٩

فهرس الأسماء العلمية الواردة بالباب السابع ٥٤١-٥٥٢

«الباب السابع – الفصل الثالث»

بكتريا الإندوفايت Bacterial Endophytes

البكتريا داخلية المعيشة بالنباتات

التعريف والأهمية

يقصد ببكتريا الإندوفايت ، الأنواع البكتيرية غير الضارة التى تتواجد بداخل الأنسجة النباتية (Sturz *et al* 2000) . وتشكل العلاقة القائمة بين بكتريا الاندوفايت والنبات العائل ، حالة تعايش مفيدة بين الكائنين بما يقدمه النبات من مواد مغذية للبكتريا ، وبما تنتجه البكتريا من مواد مشجعة لنمو النبات مثل اندول حامض الخليك ، وماتثبته من نتروجين[أنظر ص ٥٣٧ ، جدول ٧ (٣) – ٢] ، وبما تفرزه البكتريا من مواد مضاده للمسببات المرضية النباتية ، سواء أكانت مسببات فطرية مثل *Fusarium oxysporum* أو مسببات بكتيرية مثل *Erwinia carotovora* ، وقد أمكن حاليا استخدام بكتريا الإندوفايت فى إدخال جينات مرغوبة بالنبات .

تقضى بكتريا الاندوفايت جزءا كبيراً من دورة حياتها بداخل النبات العائل متعايشة معه ، دون أن تسبب له ضرراً أو تحدث به مرضاً ، وبذلك فإن بكتريا الاندوفايت تمثل مع النبات الموجودة به مرحلة تعايش ، تعتبر حالة وسطية بين أنواع البكتريا المترممة والأنواع الممرضة .

ويلاحظ أنه من بكتريا الاندوفايت مايعتبر لختيارى المعيشة الداخلية Fucultative endophyte لأنها تكون قادرة على التواجد والنمو بداخل النبات العائل ، وأيضا بالتربة خارج النبات ، ومن بكتريا الإندوفايت مايعتبر إجبارى المعيشة الداخلية Obligate endophyte ، لأنه يكون غير قادر على النمو بالتربة خارج النبات .

عزل بكتريا الإندوفايت

يتم عزل بكتريا الإندوفايت من النبات العائل بطرق متعددة ، ويتم ذلك بعد إجراء التعقيم السطحى للجزء النباتى المطلوب العزل منه ، وذلك بمواد كيميائية مثل الكحول وهيبوكلوريت الصوديوم ، ثم غسيله عدة مرات بماء معقم .

ومن أكثر الطرق المستخدمة شيوعا هى طحن الجزء النباتى السابق تعقيمه السطحى ، فى هاون مع ماء معقم ، وأخذ المستخلص وعزل البكتريا منه . كما قد يتم عزل بكتريا الاندوفايت من الأوعية الناقلة بالنبات ، باستخلاص السائل الموجود بتلك الأوعية ، بالتفريغ أو بالضغط أو بالطرد المركزى ، ثم يخفف السائل الناتج ، وينمى على بيئات مختلفة ، لإجراء عمليات العزل والتنقية والتعريف .

ويوضح جدول [٧ (٣)-١] بعض أجناس البكتريا التى ينتمى إليها أنواع من بكتريا الاندوفايت .

جدول ٧ (٣) - ١ : أكثر الأجناس* التى تنتمى إليها أنواع بكتريا الاندوفايت ، وقد عزلت من أجزاء نباتية مختلفة لبعض المحاصيل .

الجزء النباتى	المحصول	أجناس البكتريا المعزولة
بذور	خضر ، نجيليات ، أشجار خشبية أرز	*Bacillus, Erwinia, Flavobacterium, Pseudomonas* *Herbaspirillum*
جذور	برسيم حجازى ، ذرة قطن ، بنجر سكر	*Bacillus, Erwinia, Pseudomonas* *Agrobacterium, Arthrobacter, Bacillus, Burkholderia, Enterobacter, Erwinia, Pseudomonas*
درنات	بطاطس	*Agrobacterium, Bacillus, Flavobacterium, Micrococcus, Pseudomonas*
ساق	ذرة ، قطن ، عنب	*Bacillus, Enterobacter , Pseudomonas*
ثمار	خيار ، طماطم	*Achromobacter, Enterobacter, Micrococcus , Pseudomonas*

From : Reinhold and Hurek (1998).

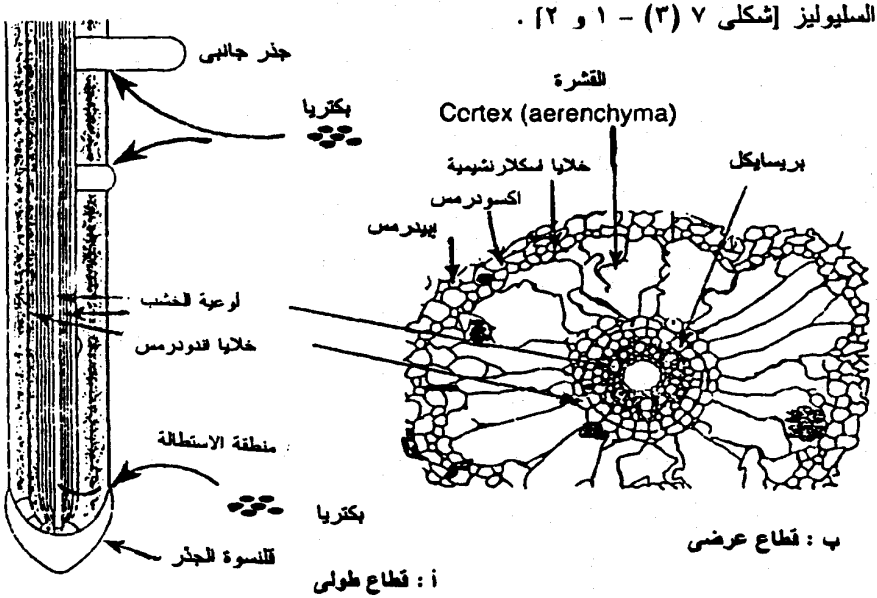
* تنتمى بكتريا الاندوفايت الى أجناس عديدة ، وبعض هذه البكتريا له مدى عوائلى واسع .

مصادر الاندوفايت ومنافذ دخولها : Sources and Points of Entry of Endophytes

المصدر الأساسى لبكتريا الاندوفايت ، هو التربة بمنطقة ريزوسفير النبات ، وفى بعض الحالات قد يكون المصدر هو أجزاء تكاثر النبات ، كالدرنات فى حالة البطاطس ، أو البذور كما فى الأرز والنجيليات ، وفى الحالة الأخيرة ، فإن بكتريا الاندوفايت تنتقل خلال البذرة من جيل الى جيل .

بالنسبة لبكتريا الاندوفايت التى مصدرها التربة ، فانها تصل الى أنسجة النبات الداخلية من منافذ متعددة منها الثغور والعديسات ومناطق نمو الشعيرات الجذرية الجانبية ، غير أن المنفذ الرئيسى لبكتريا الاندوفايت هو الجروح التى تحدث بالنبات أثناء نموه من إصابة فطرية أو حشرية أو نيماتودية ، أو من عمليات الخدمة الزراعية (كالعزيق والتقليم والتطعيم) ، أو أثناء استطالة الجذور وإختراقها للتربة ، كما أن بعض بكتريا الاندوفايت قادرة على الدخول الى

أنسجة النبات الداخلية بما تفرزه من انزيمات محللة لجدر خلايا النبات مثل انزيمات البكتينيز والسليوليز [شكلى ٧ (٣) - ١ و ٢] .



شكل ٧ (٣) -١ : المناطق المحتملة لدخول بكتريا الاندوفايت ، وأماكن إستيطانها بالجذر .
أ - قطاع طولى بجذر نبات الأرز .
ب - قطاع عرضى بجذر نبات الأرز

أماكن وجود بكتريا الاندوفايت بالنبات العائل

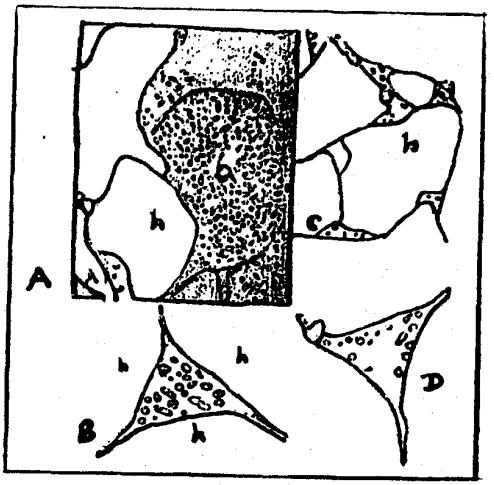
تتحدد الأماكن التى تستوطنها Colonize* بكتريا الاندوفايت داخل النبات ، بناء على نوع النبات [جدول ٧ (٣) - ٢] .

وبصفة عامة فإن بكتريا الإندوفايت تتواجد إما فى المسافات البينية بين خلايا البشرة والقشرة فى الجذور والسيقان ، أو تعيش فى الأوعية الناقلة بالجذور .

وتنتقل بكتريا الاندوفايت مع العصارة النباتية من الجذور الى السيقان ، أو بالعكس ، كما لوحظ فى حالة بكتريا *Gluconacetobacter diazotrophicus* بنبات قصب السكر .

---

* يستوطن Colonize : تمكن ومقدرة نوع ميكروبى معين على التواجد فى وسط ما ، وتكوين مستعمرة بذلك الوسط، والعيش به .



شكل ٧ (٣)-٢ : صورة بالمجهر الالكتروني النافذ لجذور ذرة بداخلها بكتريا إندوفايت *Enterobacter cloacae* .

A : قطاع عرضي بجذر أولي ، يوضح وجود خلايا بكتريا الاندوفايت ، فوق الابيدرمس h

b : خلايا بكتريا الاندوفايت × ١٥٠٠ .

B,D : خلايا بكتريا الاندوفايت تقع بالمسافات البينية الناتجة من تجاور ثلاث خلايا h ، × ٢٥٠٠ .

C : مسافات بينية عديدة بين الخلايا ، تحتوى على بكتريا الاندوفايت × ١٠٠٠ .

أعداد بكتريا الاندوفايت بداخل النبات

أعداد بكتريا الاندوفايت بداخل النبات متغيرة ، إذ أن العدد البكتيرى يختلف باختلاف نوع النبات ، وبما يحيط بالنبات من ظروف بيئية ، بل ويختلف العدد البكتيرى بداخل نفس النبات الواحد ، باختلاف موقع تواجد بكتريا الاندوفايت بالنبات ، إذا كان جذرا أو ساقا أو أوراقا ... الخ ، كما يختلف العدد حسب طريقة التقدير المستخدمة .

وعادة فإن أعداد البكتريا الموجودة بالجذور والجزء السفلى من السيقان ، يكون أعلى من الأعداد الموجودة بالجزء العلوى من السيقان ، أو تلك التى بالأوراق ، وبصفة عامة ، فقد وجد أن أعداد بكتريا الأندوفايت بمحاصيل عديدة ، يتراوح مابين 10^4 الى 10^7 مستعمرة CFU لكل جرام من الوزن الخضرى الطازج للنبات (Hallmann *et al* 1997) .

جدول ٧ (٣)-٢ : بكتريا الإندوفايت المثبتة لنتروجين الهواء الجوى- أماكن الاستيطان Colonization sites ، ومقدار مايثبت من نتروجين .

بكتريا الإندوفايت	النبات العائل	أماكن توطن البكتريا بالنبات	مقدار N المثبت ، مقدرا بطريقة الـ ^{15}N
Acetobacter diazotrophicus•	قصب السكر	- فى ، أو بين ، خلايا البشرة والقشرة فى الجذور والسيقان . - بالأوعية الناقلة بالسيقان	١٥ كجم N/هكتار/ سنة Boddey *et al* 1995
Azoarcus sp.	أرز	- فى ، أو بين ، خلايا البشرة والقشرة فى الجذور - بالأوعية الناقلة بالجذور	٢٥% من إحتياج النبات النتروجينى James, 2000
Azospirillum brasilense	قمح	بين خلايا القشرة فى الجذور.	٥٠% من إحتياج النبات النتروجينى James, 2000
Herbaspirillum seropedicae	قصب السكر	- فى ، أو بين ، خلايا البشرة والقشرة فى الجذور . - بالأوعية الناقلة بالسيقان والجذور	٥٠% من إحتياج النبات النتروجينى Baldani *et al*, 1997
H. seropedicae	الذرة السورجم	بين خلايا البشرة والقشرة بالسيقان	-

• يسمى الآن *Gluconacetobacter diazotrophicus*

العوامل المحددة لتواجد بكتريا الاندوفايت :

Factors affecting colonization of bacterial endophytes

تتأثر درجة كفاءة بكتريا الاندوفايت على الدخول بالنبات العائل ، وعلى التواجد بداخله ، على مجموعة من العوامل ، منها الحيوى Biotic ، ومنها غير الحيوى Abiotic .

أ – العوامل الحيوية

تتعلق العوامل الحيوية ، بالكائنات الدقيقة أو الكبيرة المحيطة بالنبات العائل ، ومن هذه العوامل

١ – الكائنات الدقيقة المتعايشة مع النبات : Plant-associated microorganisms

تتأثر كفاءة دخول ، ومدى تواجد ، بكتريا الأندوفايت بالنبات العائل ، على مايوجد من كائنات دقيقة بمنطقة ريزوسفير النبات العائل ، أو بداخل نفس النبات ، فوجود هذه الكائنات الدقيقة مع بعضها ، يؤدى الى قيام علاقات تعاون أو تنافس بينها وبين بكتريا الاندوفايت ، تشجع أو تُحد من تواجد ونشاط بكتريا الاندوفايت . على سبيل المثال ، فقد لوحظ أن عدوى جذور نبات الفاصوليا بفطر *Rhizoctonia solani* ، شجع على دخول وتوطن بكتريا الاندوفايت التابعة لأجناس *Enterobacter & Pseudomonas* ، كما وجد أن عدد بكتريا الاندوفايت بساق نبات الذرة يزداد ، كلما قل عدد الفطريات الداخلية بالنبات (Ryder *et al* 1997) .

٢ – النيماتودا المتطفلة على النبات : Plant-parasite nematodes

تؤدى إصابة النيماتودا للنبات ، الى زيادة أعداد الاندوفايت به ، حيث تعمل الثقوب النباتية الناتجة عن الإصابة بالنيماتودا ، كمنافذ لدخول بكتريا الاندوفايت بالنبات .

ب – العوامل غير الحيوية

تتعلق العوامل غير الحيوية ، المؤثرة على دخول وتواجد بكتريا الاندوفايت بالنبات العائل ، على خصائص التربة الفيزيائية والكيميائية ، النامى بها النبات ، ويتضمن ذلك قوام التربة وملوحتها ودرجة حموضتها ، حيث تتأثر البكتريا الموجودة بالتربة والبكتريا الموجودة بمنطقة ريزوسفير النبات ، بتلك الخصائص من التربة ، وعلى هذه الخصائص يتحدد أنواع البكتريا التى يمكنها دخول النبات العائل والعيش به .

استخدام بكتريا الاندوفايت كلقاح حيوى

بعد أن عرفت أهمية بكتريا الاندوفايت للنبات العائل ، بما تثبته من نتروجين [أنظر جدول ٧ (٣) – ٢] ، وبما تفرزه من مواد مشجعة لنمو النبات ، وبما تنتجه من مضادات للمسببات المرضية ، فقد بدأ استخدام بكتريا الاندوفايت كلقاح حيوى (Sturz *et al* 2000) ، حيث تنمى السلالات البكتيرية الفعالة فى بيئة مزرعية ، ثم يحمل النمو الناتج على حامل مناسب ، ويضاف الى ريزوسفير أو فيللوسفير النبات ، أو تلقح به البذور عند زراعتها .

المراجـــع

References

مراجع الاندوفايت

Baldani, J.I.; L. Caruso; V.L.D. Baldani; S.R. Goi and Johanna Dobereiner (1997). Recent advances in biological nitrogen fixation with non-legume plants. **Soil Biol. Biochem. 29: 911-922.**

Boddey, R.M.; O.C. Olivera; S. Urequiaga; V.M. Reis; F.L. Olivera; V.L.D. Baldani and Johanna Dobereiner (1995). Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice. Contributions and prospective for improvement. **Plant & Soil, 174: 195-209.**

Elbeltagy, A.; Kiyo Nishioka; T. Sato; Hisa Suzuki; Ben Ye ; K. Yuhashi; H. Mitsui and K. Minamisawa (2001). Endophytic colonization and nitrogen fixation in rice by *Herbaspirillum* sp. associated from wild rice. **Min. J. Agric. Res. 26 : 13-32.**

Hallmann, J.; A. Quadt-Hallmann; W.F. Mahaffee and J.W. Kloepper (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. **Can. J. Microbiol., 43: 895-914.**

James, E.K. (2000). Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crop Research 65: 197-209.**

Reinhold-Hurek, B. and T. Hurek (1998). Life in grasses: Diazotrophic endophytes. **Trends Microbiol., 6: 139-144.**

Ryder, M.H.; P.M. Stephens and G.D. Bowen (1997). Improving Plant Productivity in Rhizosphere Bacteria. CSIRO, Sydney, Australia.

Sturz, A.V.; B.R. Christie and J. Nowak (2000). Bacterial endophytes: Potential role in developing sustainable systems of crop production. **Critical Rev. Plant Sci., 19: 1-30.**

فهرس الأسماء العلمية الواردة بالباب السابع
SCIENTIFIC NAMES INDEX (Ch. 7)
(مرتبة من اليمين إلى اليسار)

A

Aerobacter 441
A. aerogenes 359, 361
Aeromonas 432, 444
A. hydrophila 377
A. salmonicida 444
Agrobacterium 432, 436, 437, 534
A. tumefaciens 437
Agromonas 432
Agromyces 409, 410
A. gordona 420
Alcaligenes 368, 382. 432. 438
A. eutrophus 359. 361, 438
A. faecalis 438
A. viscolactis 368, 438
Alder 423
Alnus 423
Alteromonas 432, 438
A. haloplanktis 438
Alysiella 465
Amoebobacter 503
Ampullariella 359, 361, 419, 421, 422
Anabaena 514, 516, 518
Anabaenopsis 514
Anacystis 514
A. nidulans 360, 361
Anaerobiospirillum 448
Anaeroplasma 484
Anaerovibrio 448, 453
Ancalochloris 463, 496
Ancalomicrobium 456, 457, 462. 463
A. adetum 463
Angiococcus 465
Animalia 354
Aphanizomenon 514, 520
Aquaspirillum 448, 449
A. bengal 449
A. iterosonii 449
A. magnetotacticum 360, 361
A. serpens 449
Arachnia 409, 410
Archae(o)bacteria 371, 373, 374, 378, 382, 389, 522, 523, 529
Acetivibrio 448
Acetobacter 431, 432
A. aceti 359, 361, 431
A. diazotrophicus .. 537
A. xylinum 431
Acetobacteriaceae . 431
Acetogenium 448
Acetomonas 431
A. suboxydans ... 359, 361
Acholeplasma 484, 487
A. oculi 487
Achromatium 464, 465, 474, 475, 488, 495
A. oxaliferum 475
Achromobacter 534
Acidaminococcus .. 397, 399
Acidothiobacillus
A. ferrooxidans .. 359, 362
A. thiooxidans ... 359, 362
Acinetobacter 397, 398
A. calcoaceticus 359, 361, 398
Actinobacillus 432, 443
A. lignieresii 443
A. suis 443
Actinobacteria 372
Actinomadura 419, 424
Actinomyces 372, 382, 386, 409, 415, 419, 420, 421, 424
A. bovis 372, 415, 417
A. israelii 415
A. rothia 420
Actinomycetaceae . 363, 372
Actinomycetes 372, 386, 409, 417, 418, 419, 420, 421, 428
Actinoplanes 359, 361, 418, 419, 420, 421, 422, 423
A. philippinensis 423
A. rectilineatus 422. 423
Actinopolyspora ... 419, 424
A. halophila 424
Actinosporangium..
A. violaceum 360, 361

Bacillus (Cont.)
B. subtilis 400, 401, 402, 403
B. thermodenitrificans 359, 361
B. thuringiensis 400, 401, 403
Bacterium
B. prodigiosum 360, 361
Bacteroides 445, 446
B. fragilis 446
B. ruminicola 360, 361, 446
B. succinogenes 446
B. symbiosus 360, 361
Bartonella 359, 362
Bdellovibrio 448, 450, 451
B. bacteriovorus 450
Beggiatoa 464, 465, 474, 475, 476
B. alba 475
Beijerinckia 432, 436
B. indica 436
B. lacticogenes 436
Beneckea 360, 361, 432, 444
B. parahaemolytica ... 444
Bifidobacterium 382, 409, 415
B. bifidum 415
Blastobacter 456
Blastocaulis 456, 463
Bordetella 432, 438
B. pertussis 438
Borrelia 454, 455
B. recurrentis 455
Brachyspira 454
Bradyrhizobium 432, 436
B. japonicum 436, 437
B. lupini 437
Branhamella 360, 361, 397, 398
Brevibacterium 409, 410
B. divaricatum 410
B. linens 410
Brocothrix 406, 407
B. campestris 407
Brucella 432, 438
B. abortus 438
B. melitensis 438
B. suis 438
Archaeoglobus 524, 529
A. fulgidus 529
A. profundus 529
Archangium 465, 467
Arthrobacter 373, 382, 409, 410, 534
A. atrocyaneus 410
A. globiformis 410
Arthrospira 514
Asteroleplasma 484
Asticcacaulis 456
Athiorhodaceae 360, 361, 508
Aulosira 514
Azoarcus 537
Azomonas 432, 436
A. agilis 436
Azorhizobium 432, 436, 437
A.. caulinodans 437
Azospirillum 448, 449
A. brazilense 379, 449, 450, 537
A. lipoferum 379, 449
Azotobacter 432, 436
A. chroococcum 436
A. vinelandii 436
Azotobacteriaceae 436

B

Bacillus 358, 368, 382, 400, 534
B. alvei 360, 361
B. anthracis 400, 403
B. cereus 400, 401, 402
B. cereus var. *mycoides* 402
B. circulans 403
B. laterosporus 401
B. licheniformis 400, 403
B. macerans 401, 403
B. megat(h)erium 400, 401
B. pasteurii 403
B. polymyxa 401, 403
B. sphaericus 401
B. stearothermophilus 403

Chromatiaceae 359, 362, 388, 502, 503, 504, 505, 507
Chromatium 496, 505, 507
C. okenii 503, 505, 506
C. vinosum 503, 506
C. warmingii 503
Chromobacterium 432, 444
C. iodinum 359, 362
C. violaceum 444
Chrooccidiopsis 514
Chroococcales 389, 514, 515, 517
Chroococcus 514
Citrobacter 432, 439, 440
Cladothrix 456
Clavibacter 409
Clonothrix 456
Clostridium 368, 382, 400, 404
C. acetobutylicum ... 404
C. acidi-urici 405
C. botulinum 405
C. butyricum 404
C. cellulose-dissolvens 404
C. histolyticum 405
C. oroticum 359, 362
C. pasteurianum 404, 405
C. perfringens 359, 361, 405
C. sporogenes 405
C. tetani 405
C. thermosaccharo-lyticum 405
C. welchii 359, 361
Coccochloris 520
Condrococcus
C. columnaris 472
Condromyces 465
Coprococcus 391, 396
Corynebacterium 409, 410, 411
C. autotrophicum ... 360, 361
C. diphtheriae 411, 412
C. michiganense 412
C. xerosis 411
Coxiella 478, 480, 481
C. burnetii 481
Crenarchaeota 371, 373, 374
Burkholderia 534
Butyribacterium 409
Butyrivibrio 448, 453
B. fibrisolvens 453

C

Calothrix 514, 516, 518
Campylobacter 448, 450
C. fetus 379, 450
C. fetus subsp. *venerealis* 450
C. jejuni 379, 450
Capnocytophaga 465
Caryophanon 406
C. latum 406
Casuarina 423
Caulobacter 456, 457, 459, 460
C. vibrioides 459
Cellulomonas 409, 410
Cellvibrio 448
Chainia 360, 361
Chamaesiphon 514
Chitinocytophaga 465
Chlamydia 388, 477, 478, 482, 483
C. psittaci 359, 361, 483
C. trachomatis 483
Chlamydophila
C. psittaci 359, 361
Chlorobiaceae 388, 504, 511
Chlorobium 496, 504, 508, 511
C. limicola 511
C. vibrioforme 511
Chloroflexaceae 388, 504, 511, 512
Chloroflexus 464, 496, 501, 512
C. aurantiacus 512
Chlorogloea 514
Chlorogloeopsis 514
Chloroherpeton 496, 511
C. thalassium 511
Chloronema 496
Chondrococcus 514
C. columnaris 359, 361, 472
Chondromyces 465, 466, 467, 468
C. apiculatus 466, 468, 469

E

E. coli, see *Escherichia coli*
Ectothiorhodospira 496, 505, 507
E. halophila 507
E. mobilis 507
Edwardsiella 432
Elytrosporangium 360, 361
Enterobacter 431, 432, 439, 440, 441, 534, 538
E. aerogenes 359, 361, 368, 441
E. cloacae 536
Enterobacteriaceae 431, 439, 440, 443
Enterococcus
E. faecalis 359, 362, 394
E. faecium 359, 362
Erwinia 431, 432, 441, 534
E. carotovora 441, 533
Erysipelothrix 406, 407
Erythrobacter 432
Escherichia 431, 432, 439, 440, 441, 450
E. coli 358, 368, 440, 441
Eubacteria 371, 522, 523
Eubacterium 409, 415
Eucaryota, Eucaryotes 353, 382, 521
Euryarchaeota 371, 373, 374

F

Ferrobacillus
F. ferrooxidans 494
Fibrobacter 445, 446
F. intestinalis 446
F. succinogenes ... 446
Fischerella 514, 516, 519
Flavobacterium 336, 432, 438, 534
F. meningosepticum 438
Flectobacillus 448, 452
Crenothrix 456, 458
Cristispira 454, 455
C. pectinis 455
Cyanobacteria 359, 361, 372, 373, 374, 382, 389, 513, 521
Cyanotheca 514
Cyclobacterium 448
Cylindrospermum 514, 516, 518
Cystobacter 466, 467
C. fuscus 466
Cytophaga 464, 465, 470, 471, 472
C. johnsonae 470, 471

D

Dactylosporangium 421
Deinococcus 391, 395
D. radiodurans 395
Deleya 359, 361
Dermatophilus 418, 419, 420, 423
D. congolensis 423
Dermocarpa 514, 516, 517, 519
Dermocarpella 514
Derxia 432, 436
D. gummosa 436
Desulfobacterium 447
Desulfococcus 447
Desulfomicrobium 447
Desulfomonas 447
Desulfonema 447
Desulfosarina 447
Desulfotomaculum 400, 404, 405, 447
D. nigrificans 405
D. orientalis 405
D. ruminis 405
Desulfovibrio 447, 448, 453
D. desulfuricans 453
Desulfurella 447
Desulfurococcus 524, 528
Desulfurolobus 524
Desulfuromonas 447, 524
Dichothrix 514
Diplococcus
D. pneumoniae 360, 361, 394

Halobacterium 382, 524, 527
H. halobium 527
Halococcus 524, 527
Haloferax 524
Halomonas 359, 361
Halovibrio 448
Hapalosiphon 514, 520
Helicobacter 448
Heliobacillus 497
Heliobacterium 497
Heliospirillum 497
Herbaspirillum 534, 539
H. seropedicae 537
Herpetosiphon 465, 470
H. giganteus 470, 471
Hydrogenomonas
H. eutropha 359, 361
Hyphomicrobium 456, 457, 462
H. vulgare 462
Hyphomonas 456

K

Klebsiella 432, 439, 440
K. pneumoniae 379, 439
K. terrigena 379
Kurthia 406, 407

L

Lactobacillaceae 363
Lactobacillus 363, 382, 406, 408
L. acidophilus 408
L. bifidus 408
L. brevis 408
L. burgaricus 408
L. casei 408
L. citrovorum 359, 361
L. cremoris 359, 361
L. delbrueckii 408
Flexibacter 465, 470, 472
F. columnaris 359, 361, 470, 472
F. polymorphus 471
Flexithrix 465, 469
Francisella 432, 438
F. tularensis 359, 362, 438
Frankia 419, 423
F. alni 423
Fusarium
F. oxysporum 533
Fusobacterium 445, 446
F. fusiforme 446
F. nucleatum 446
F. symbiosum 359, 361

G

Gallionella 456, 457, 461, 488
G. ferruginea 461
Gardnerella 432, 444
G. vaginalis 444
Geitleria 514
Geobacillus
G. thermodenitrificans 359, 361
Geodermatophilus 419, 423
G. obscurus 423
Gloeobacter 514, 516, 517
Gloeocapsa 514, 516, 517
Gloeothece 514, 516, 517
Gloeotrichia 514
Gluconoacetobacter
G. diazotrophicus 535, 537
Gluconobacter 431, 432
G. oxydans 359, 361, 431
Gracilutes 364

H

Haemophilus 432, 443
H. influenzae 443
Hafnia 432, 439, 440
Halobacillus
H. halophila 359, 362

Melittangium 465, 466, 467, 468
M. lichenicola 466
Merismopedia 514
Mesorhizobium
M. loti 360, 362
Methanobacillus
M. omelianskii 360, 361
Methanobacterium 524, 525
M. formicicum . . 525
M. omelianskii 360, 361, 525
M. ruminatium 525, 526
M. thermoautotrophicum 524, 525, 526
Methanobrevibacter 524, 525
M. smithii 525
Methanococcus 524, 525
M. vannielli 525
Methanogenium 524, 525
M. marisnigri 525
Methanohalobium 524
Methanohalophilus 524
Methanolobus 524
Methanomicrobium 524, 525
M. mobile 525
Methanomonas 360, 361
Methanoplanus 524
Methanosarcina 524, 525
M. barkeri 525, 526
Methanosphaera 524
Methanospirillum 524, 525
M. hungatei 525, 526
Methanothermus 524
M. fervidus 524
Methanothrix 524
Methylobacteria 432, 435
Methylobacterium 435
M. extorquens 435
Methylococcaceae 435
Methylococcus 435
M. capsulatus 435
Methylomonas 360, 361, 435
M. methanica 435
Methylosinus 435
M. trichosporium 435
Microbacterium 409, 412
Microbispora 418, 421, 426
Lactobacillus (Cont.)
L. fermentum 408
L. helveticus 408
L. lactis 408
L. plantarum 408
L. salivarius 408
L. viridescens 408
Lactococcus 391, 392, 394
L. lactis subsp. *cremoris* . 359, 362, 394
L. lactis subsp. *lactis* . 359, 362, 394
Lamprobacter 496
Lamprocystis 496, 503, 505
Lampropedia 397, 398
L. hyalina 398
Legionella 432, 435
L. pneumophila 435
Legionellaceae 435
Leptospira 454, 455
L. biflexa 455
L. canicola 455
L. icterohaemorrhagiae 359, 361
L. interrogans 359, 361, 455
Leptospiraceae 387, 454
Leptospirillum 448
Leptothrix 456, 458
Leptotrichia 445, 446
L. buccalis 446
Leuconostoc 391, 392, 464
L. cremoris 392
L. dextranicum 392
L. mesenteroides 392
Leucothrix 464, 465, 473, 475
L. mucor 473
Lieskeella 456
Listeria 406, 407
L. monocytogenes 407
Lyngbya 514, 516, 518

M

Magnetospirillum
M. magnetotacticum ... 360, 361
Mastigocladus 514
Mastigocoleus 514
Megasphaera 397, 399
M. elsdenii 360, 362, 399

N

Nannocystis ... 465
Natronobacterium ... 524
Natronococcus ... 524
Naumanniella ... 488
Neisseria ... 397
N. elongata ... 379
N. gonorrhoeae ... 379, 397, 398
N. meningitidis ... 358, 397
Nevskia ... 456, 457
Nitrobacter ... 488, 489, 490
N. agilis ... 491
N. winogradskyi ... 489, 491
Nitrococcus ... 488, 489, 490
N. mobilis ... 491
Nitrosococcus ... 488, 489
N. nitrosus ... 490
N. oceanus ... 360, 362, 490
Nitrosocystis
N. oceanus ... 360, 362, 490
Nitrosolobus ... 488, 490
N. multiformis ... 491
Nitrosomonas ... 488, 489
europaea ... 491
ra ... 488
nsis ... 491
Nitrosovibrio ... 488
N. tenuis ... 491
Nitrospina ... 488
N. gracilis ... 491
Nitrospira ... 488
Nocardia ... 409, 413, 414, 420, 421
N. aesteroides ... 413, 414
Nocardiopsis ... 419, 425
N. opaca ... 413
Nodularia ... 514
Nostoc ... 514, 516, 518, 520
Nostocales ... 389, 514, 515, 518
Nostochopsis ... 514
Micrococcus ... 368, 391, 392, 534
M. denitrificans ... 360, 361
M. lactilyticus ... 360, 361
M. luteus ... 360, 362, 392
M. lysodeikticus ... 360, 362
Microcoleus ... 514
Microcyclus ... 448, 452
Microcystis ... 514
Microellobosporia ... 421
Micromonospora ... 418, 420, 421, 426
Micropolyspora ... 414, 420, 421
Mollicutes ... 371, 388, 484
Monera ... 354
Moraxella ... 360, 361, 397, 398
M. calcoaceticus ... 359, 361
M. lacunata ... 398
M. olsoensis ... 398
Morganella ... 432
Mycobacteria ... 464, 465
Mycobacterium ... 409, 411, 412, 413
M. avium ... 413
M. bovis ... 413
M. leprae ... 413
M. phlei ... 413
M. tuberculosis ... 358, 413
Mycoderma
M. aceti ... 359, 361
Mycoplasma ... 372, 382, 388, 484, 485, 486, 487
M. canis ... 487
M. hominis ... 487
M. molare ... 485
M. pneumoniae ... 485, 487
Myxococcus ... 465, 466, 467, 472
M. xanthus ... 466

Podangium ... 465, 467
Polyangium ... 465, 466, 467
Pevotella
P. ruminicola ... 360, 361
Proc(k)aryota, Proc(k)aryotes ... 353, 363, 364, 373, 374, 486, 521
Prochloron ... 521
Prochlorophyta, Prochlorophyte(s) ... 389, 513, 521
Prochlorothrix ... 521
P. hollandica ... 521
Propionibacterium ... 382, 409, 416
P. acidi-propionici ... 360, 362
P. acnes ... 416
P. pentosaceum ... 360, 362
P. shermanii ... 416
Prosthecochloris ... 496, 511
P. aestuarii ... 511
Prosthecomicrobium ... 456, 457
Proteus ... 368, 431, 432, 439, 440, 441
P. mirabilis ... 441
P. vulgaris ... 441
Protista ... 353, 354
Protophyta ... 352
Pseudoanabaena ... 514
Pseudomonadaceae ... 431, 433
Pseudomonas ... 358, 368, 382, 431, 432, 433, 450, 534, 538
P. aeruginosa ... 360, 362, 378, 379, 433
P. cichorii ... 378
P. fluorescens 434
P. iodina ... 359, 362
P. mallei ... 434
P. maltophila ... 434
P. marginalis ... 358
P. pyocyanea ... 360, 362, 433
P. solanacearum ... 360, 362, 434
P. syringae ... 434
Pseudonocardia ... 409, 414, 415
P. thermophila ... 415

O

Oceanospirillum ... 448, 451
Ochrobium ... 488
Oscillatoria ... 514, 516, 518, 520
Oscillatoriales ... 389, 514, 515, 518
Oscillochloris ... 496
Oscillospira ... 400, 405
O. guillermondii ... 405

P

Paenibacillus
P. alvei ... 360, 361
Paracoccus ... 382, 397, 398
P. denitrificans ... 360, 361, 399
Pasteurella ... 432, 442, 443
P. multocida ... 443
P. pestis ... 360, 362
P. tularensis ... 359, 362
Pasteurellaceae ... 443
Pediococcus ... 391, 392, 393
P. cerevisiae ... 393
Pelobacter ... 445
Pelodictyon ... 496, 511, 512
P. clathratiforme ... 511
Peptococcus ... 391, 396
Peptostreptococcus ... 391, 396
P. elsdenii ... 360, 362
Phormidium ... 514, 518
Photobacterium ... 432, 444
P. phosphoreum ... 444
Phragmidiothrix ... 456
Phyllobacterium ... 432
Planctomyces ... 456, 463
Planococcus ... 391, 392
Plantae ... 354
Plectonema ... 514, 518
Plesiomonas ... 432
Pleurocapsa ... 514, 517, 519
Pleurocapsales ... 389, 514, 515, 517
Pneumococcus
P. pneumoniae ... 360, 362

Rickettsia (Cont.)
R. rickettsii ... 480
R. tsutsugamushi ... 480
R. typhi ... 480
Rivularia ... 514
Rochalimaea ... 359, 362, 478, 480
R. quintana ... 480, 481
Ruminobacter ... 445
Ruminococcus ... 391, 396
R. albus ... 396
R. flavefaciens ... 396
Runella ... 448, 452

S

Salmonella ... 431, 432, 439, 440, 441, 442, 450
S. enteritidis ... 442
S. paratyphi ... 442
S. typhi (typhosa) ... 442
S. typhimurium ... 442
Saprospira ... 464, 465, 473
S. albida ... 473
S. grandis ... 473
Sarcina ... 391, 392, 396
S. aurantiaca ... 360, 362
S. flava ... 360, 362, 396
S. lutea ... 360, 362, 396
S. lysodeikticus ... 360, 362
S. ventriculi ... 396
Schizomycetes ... 352
Scytonema ... 514, 518
Selenomonas ... 448, 453
S. ruminantium ... 453
S. sputigena ... 453
Seliberia ... 456
Serratia ... 368, 431, 432, 439, 440, 442
S. marcescens ... 360, 361, 442
Shigella ... 431, 432, 439, 440, 442
S. dysenteriae ... 442
S. flexneri ... 442
S. sonnei ... 442
Pyrococcus ... 524
Pyrodictium ... 524
P. brockii ... 528
P. occultum ... 528

R

Rahnella ... 432
Ralstonia ... 432
R. solanacearum ... 360, 362, 434
Renibacterium ... 406, 407
Rhizobiaceae ... 436
Rhizobium ... 382, 432, 436
R. fredii ... 360, 362
R. leguminosarum ... 437
R. leguminosarum biovar. *viceae* ... 436
R. loti ... 360, 362
R. meliloti ... 360, 362, 437
R. trifolii ... 437
Rhizoctonia
R. solani ... 538
Rhodobacter ... 496
Rhodocyclus ... 496
R. tenuis ... 508
Rhodomicrobium ... 457, 462, 496, 507, 508
R. vannielii ... 509, 510
Rhodopila ... 496
R. globiformis ... 508
Rhodopseudomonas ... 496, 508
R. acidophila ... 509
R. gelatinosa ... 510
R. palustris ... 509
R. sphaeroides ... 503, 510
Rhodospirillaceae, Rhodospirillales ... 360, 361, 388, 502, 503, 504, 507, 508
Rhodospirillum ... 496, 508
R. fulvum ... 510
R. rubrum ... 502, 503, 510
R. tenue ... 510
Rickettsia ... 388, 477, 478, 479, 480
R. akari ... 480
R. prowazekii ... 479, 480

Staphylothermus 524
Stigmatella 465, 466, 467, 468
S. aurantiaca 446, 468
Stigonema 514, 519
Stigonematales 389, 514, 515, 519
Streptobacillus 432, 444
S. moniliformis 445, 485
Streptococci 368
Streptococcus 368, 391, 392, 393, 394
S. cremoris 359, 362, 394
S. faecalis 359, 362, 393, 394
S. faecalis var. *liquifaciens* 358
S. faecium 359, 362
S. lactis 359, 362, 394
S. mutans 394
S. pneumoniae 360, 361, 362, 383, 394
S. pyogenes 393, 394
S. viridans 393
Streptomyces 360, 361, 362, 363, 382, 386, 418, 419, 420, 421, 426, 427, 428, 429
S. acrimycini 427
S. albogriseolus 428
S. alivaceus 428
S. aureofaciens 427
S. diastatochromogenes 428
S. erythraeus 427
S. fradiae 427
S. griseus 426, 427
S. kanamyceticus 427
S. nodosus 427
S. noursei 427
S. paradoxus 360, 361
S. purpurascens 428
S. rimosus 427
S. scabies 427
Siderocapsa 488, 492
S. eusphaera 492
S. treubii 492
Siderococcus 488, 492
S. limoniticus 492
Siderocystis 488
Simonsiella 465, 473
S. crassa 473
Sinorhizobium 432, 436, 437
S. fredii 360, 362, 437
S. meliloti 360, 362
S. xinjiangense 437
Sphaerotilus 382, 456, 458, 459, 488
S. natans 459
Spirillospora 419, 421, 422
Spirillum 448, 451, 487
S. minus 451
S. volutans 451
Spirochaeta 364, 382, 454, 455
S. halophila 364
S. plicatilis 455
Spirochaetaceae 364, 387, 454
Spirochaetales 364
Spirochaetes 387, 454
Spiroplasma 484, 486, 487
S. citri 487
Spirosoma 448, 452
Spirulina 514, 516, 518, 520
Sporocytophaga 465, 469, 470, 472
S. myxococcoides 470, 472
Sporolactobacillus 400, 404
S. inulinus 404
Sporosarcina 400, 403, 404
S. halophila 359, 362
S. ureae 403
Sporospirillum 448
Staphylococci 368
Staphylococcus 368, 391, 393, 395
S. albus 395
S. aureus 395
S. epidermidis 395
S. saprophyticus 395

Thermus ... 432, 438
T. aquaticus ... 438
Thiobacillus ... 488, 494
T. denitrificans ... 494
T. ferrooxidans ... 359, 362, 494
T. intermedius ... 494
T. novellus ... 494
T. thiooxidans ... 359, 362, 494
T. thioparus ... 494
Thiobacterium ... 488, 495
Thiocapsa ... 496, 505
Thiocystis ... 496, 505
T. gelatinosa ... 503, 506
T. violacea ... 503, 505
Thiodictyon ... 496, 503, 505
T. elegans ... 505, 506
Thiomicrospira ... 488, 494
T. pelophila ... 494, 495
Thiopedia ... 496, 503, 505
T. rosea ... 506
Thioploca ... 465
Thiorhodaceae ... 359, 362, 505
Thiosarcina ... 496, 505
Thiospira ... 488, 490, 495
Thiospirillum ... 496, 505
T. jenense ... 503, 505, 506
Thiospirillopsis ... 465
Thiothrix ... 464, 465, 474, 475, 476
Thiovulum ... 488, 495
Tolypothrix ... 514, 520
Treponema ... 454
T. hyodysenteriae ... 455
T. pallidum ... 455
Trichodesmium ... 514

U

Ureaplasma ... 484, 487
U. cati ... 487

Streptomyces (Cont.)
S. somaliensis ... 427
S. venezuelae ... 427
S. viridifaciens ... 427
S. viridochromogenes 429
Streptomycetaceae ... 363
Streptosporangium ... 418, 419, 421, 423
S. roseum ... 422, 423
Streptothrix ... 456
Streptoverticillium ... 360, 362, 419, 427
Succinimonas ... 448, 453
S. amylolytica ... 453
Succinivibrio ... 448, 453
S. dextrinosolvens ... 453
Sulfolobus ... 524, 528
S. acidocaldarius ... 528
Synechococcus ... 512, 513, 514, 517
S. nidulans ... 360, 361
Synechocystis ... 514, 516

T

Thallophyta ... 352
Thermoactinomyces ... 400, 419, 420, 421, 425
T. thalophilus ... 425
T. vulgaris ... 425
Thermobacteroides ... 445
Thermococcus ... 524, 528
Thermodesulfobacterium 447
Thermodiscus ... 524, 528
Thermofilum ... 524
Thermomicrobium ... 432, 438
Thermomonospora ... 419, 420, 426
T. mesophila ... 426
Thermoplasma ... 524, 529
T. acidophilum ... 529
T. volcanium ... 529
Thermoproteus ... 524
T. neutrophilus ... 528
T. tenax ... 528
Thermothrix ... 488

X

Xanthobacter 432, 438
X. autotrophicus 360, 361, 438
Xanthomonas 431, 432, 434
X. campestris 434
Xenococcus 514

Y

Yersinia 431, 432, 439, 440, 442
Y. enterocolitica 442
Y. pestis 360, 362, 442, 443

Z

Zoogloea 431, 432, 434
Z. ramigera 434, 435
Zymobacterium
Z. oroticum 359, 362
Zymomonas 432, 445
Z. mobilis 445
Zymophilus 445

V

Vampirovibrio 448, 451
Veillonella 397, 399
V. alcalescens 360, 361, 399
Vibrio 360, 361, 377, 448, 451, 452
V. anguillarum 377, 451
V. cholerae 360, 362, 377, 451
V. comma 360, 362
V. fischeri 452
V. metschnikovii 377
V. parahaemolyticus .. 452
Vitreoscilla... ... ... 465, 473, 476
V. filiformis 473

W

Weeksella 432
Westiella 514
Westiellopsis 514
Wolinella 445, 446
W. succinogenes 446

﴿الباب الثامن﴾

الوراثة البكتيرية
Bacterial genetics

المحتويـــات

الموضوع — الصفحة

الفصل الأول : الوراثة فى البكتريا .....من ٥٥٣ الى ٥٧٩
الفصل الثانى : انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا .....من ٥٨١ الى ٦١٢
الفصل الثالث : الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية .....من ٦١٣ الى ٦٣٥

مراجع الباب الثامن : ٦٣٦

﴿الباب الثامن – الفصل الأول﴾

الوراثة فى البكتريا

المحتويـــات

الموضوع — الصفحة

بداية علم الوراثة ٥٥٥
أهمية البكتريا فى الدراسات الوراثية ٥٥٦
دقة بناء الدنا DNA ٥٥٧
البلازميدات والوراثة ومقاومة العوامل المضادة ٥٥٨
تركيب ووظيفة الرنا RNA ٥٥٩
الاستنســـاخ ٥٦٠
الترجمـــة ٥٦١
الشفرة الوراثية ٥٦٣

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

الطفور والطفرات ٥٦٦
عزل الطفـــرات ٥٦٧
بعض الرموز المتداولة للطرز الجينية ..... **[جدول ٨ (١) - ٢]** ٥٦٧
التغيرات فى الطرز الشكلية التى تحدث بسبب التطفر ٥٦٨
بعض أنواع الطفرات البكتيرية ..... **[جدول ٨ (١) - ٣]** ٥٦٩
الأساس الجزيئى للطفور ٥٧٠
استبدال أزواج القواعد ٥٧٠
طفرات إنحراف إطار القراءة ٥٧٢
الطفرات الرجعية (الانعكاسية) ٥٧٣
الطفرات المتضمنة عديد من أزواج القواعد ٥٧٣
- طفرة الإزالة ٥٧٣
- طفرة الغرز ٥٧٤
- الانتقـــال ٥٧٤
- الانعكـــاس ٥٧٤
معدل الطفور ٥٧٤
المطفـــرات ٥٧٥
- المطفـــرات الكيميائية ٥٧٥
بعض المطفرات الكيميائية والفيزيائية ..... **[جدول ٨ (١) - ٤]** ٥٧٦
- الاشعـــاع ٥٧٧
المتنقلات ، الترانزبوزونات ٥٧٨
الطفرات الناتجة عن عملية إصلاح الدنا ٥٧٨

﴿الباب الثامن - الفصل الأول﴾
الوراثة فى البكتريا Genetics in Bacteria *

بداية علم الوراثة البكتيريا

تعتبر دراسة وراثة الكائنات الدقيقة وخصوصا الكائنات بدائية النواه Procaryotes ، من الدراسات العلمية الحديثة ، وهذه الدراسة رغم حداثتها ، إلا أنها أسهمت بقدر كبير فى تفهم علم الوراثة فى الكائنات الأكثر رقيا ، كما أن نتائج الدراسات فى علم الوراثة البكتيرية أحدثت تطورا كبيرا فى كل العلوم البيولوجية ، فقد أسهمت فى إرساء معالم البيولوجيا الجزيئية Molecular biology والوراثة الجزيئية Molecular genetics ، حيث ساعدت الدراسات الوراثية على البكتريا ، فى معرفة التركيب الجزيئى للجينات ، والشفرة الوراثية ، والاساس الجزيئى للطفور ، وطرق عمل العوامل المطفرة ، وبالتالى فان ظهور علم الهندسة الوراثية وتقدمه ، قام على أكتاف دراسة الوراثة فى الكائنات الدقيقة ، وخاصة فى البكتريا .

ولقد كانت بداية دراسة وراثة البكتريا ، وبالتالى تفسير التغيرات المختلفة التى تحدث لأى نوع منها ، هى الدراسة التى أجراها **Griffith** عام ١٩٢٨ ، والتى قام فيها بدراسة على بكتريا *Streptococcus pneumoniae* المسببة للالتهاب الرئوى . فقد لاحظ أن لهذه البكتريا طرازين ، الأول يكون مستعمراتا ناعمة Smooth (S) معلبة ، والآخر يكون مستعمراتا خشنة Rough (R) غير معلبة ، وإن الطراز الأول (الناعم) يسبب المرض ، بينما الثانى (الخشن) غير ممرض . وتختلف الأفراد من بكتريا الالتهاب الرئوى الناعمة (S) عن بعضها سيرولوجيا وكيميائيا فى تركيب العلبة ، وتقسم على هذا الأساس إلى سلالات .

وعندما حقن Griffith فئران التجارب بالسلالة A من الطراز الناعم (S) فإن الفئران ماتت ، وعندما تم حقنها بنفس السلالة المقتولة بالغليان فإنها لم تتأثر . وبالمثل ، فإنه عند حقن الفئران بالسلالة (B) من الطراز الخشن (R) فإنه لم يظهر عليها أى أعراض ، وعندما خلط السلالة (A) الناعمة المقتولة حراريا مع السلالة B الخشنة الحية ، فإن الفئران ماتت ، وعندما عزل منها البكتريا وجد أنها من السلالة (A) حية ناعمة (S) ، ومعنى هذا أن شيئا ما من السلالة (A) الميتة قد أحدث تحولا Transformation للسلالة (B) الحية الخشنة ، فحولها الى ناعمة (S) ولكن من نوع السلالة (A) . وهذه كانت أول دراسة تثبت انتقال مادة ما من سلالة ميتة ، الى سلالة أخرى حية ، وتحدث بها تحولا وراثيا .

ولقد كانت دراسة Griffith بداية لدراسات قام بها Avery, MacLeod and McCarty ، حيث تمكنوا عام ١٩٤٤ من إثبات أن المادة التى أحدثت التحول هى عبارة عن الدنا ، DNA ، وذلك من خلال فصل مكونات الخلايا (S) المقتولة إلى مكوناتها ، ودراسة كل مكون على حده لمعرفة عامل التحول ، وسوف نناقش ذلك بتفصيل أكثر فى موضوع التحول الوراثى ، بالفصل الثانى من هذا الباب .

---

* راجع المادة النووية وتضاعف النواه والبلازميدات فى باب ٥ ، فصل ٣ .

أهمية البكتريا فى الدراسات الوراثية

دراسة وراثة البكتريا كما ذكر سابقا ، فتحت الطريق لدراسة وراثة الكائنات الأخرى الأكثر رقيا ، وإعتبرت البكتريا أداة فى غاية الأهمية لفهم علم الوراثة وتطويره ، وذلك لأسباب كثيرة نذكر منها مايلى

١ - تتميز البكتريا بصغر الحجم ، مما يمكننا من جمع عدد كبير من الأفراد فى حيز صغير ، وهو مالايمكن حدوثه فى حالة استخدام النباتات أو الحيوانات أو البشر ، إذ أنه من الممكن وضع ملايين الأفراد من البكتريا مثلاً فى انبوبة اختبار لدراسة الطفرات ، ومعدل الطفور ، بينما يكون ذلك أصعب فى غير البكتريا من الكائنات .

٢ - تتميز البكتريا بأنها كائنات وحيدة الخلية ، طرق تكاثرها بسيطة ، وهذا يساعد فى تتبع أى تغيرات وراثية أو فسيولوجية ، فمثلاً اذا حدثت طفرة فى خلية من خلايا الانسان ، فإنها لاتظهر على جسمه ككل ، وقد لاتظهر أبداً فى الأجيال التالية مالم تحدث فى خلية جنسية ، وعلاوة على ذلك ، فأن حدوث طفرة لخلية جنسية لأحد الآباء ، قد لايظهر أثرها على النسل إلا فى أجيال تالية تحتاج لوقت طويل لتتبعها . أما فى البكتريا فان حدوث طفرة فى خلية ، ينعكس مباشرة على نسل هذه الخلية ، ويمكن تتبعه بسهولة وبسرعة .

٣- من السهل الحصول على خط سلالى نقى Pure line* من البكتريا للدراسات الوراثية ، وذلك بعزل خلية واحدة Single cell أو جرثومة واحدة ، وتنميتها وإكثارها فى مزرعة نقية ، بحيث لاتتداخل الاختلافات بين الأفراد فى الدراسات الوراثية ، وذلك على خلاف مايحدث فى حالة الكائنات الأرقى ، التى من الصعب الحصول منها على سلالة نقية .

٤- قصر عمر الجيل Generation time بالبكتريا ، يسهل دراسة الانعزالات ، وتفهم التغير الذى يحدث فى الصفات الوراثية ، وتتبع الطفرات الناتجة .

٥- الكائنات بدائية النواه Prokaryotes كالبكتريا ، تتميز بأن لها كروموسوما واحداً (أى أنها أحادية المجموعة الكروموسومية Haploid) ، وهذا يسهل ظهور الطفرات ، وحدوث الانعزالات .

٦- يعتبر التكاثر الخضرى هو طور التكاثر الأساسى فى البكتريا ، وهذا يمنع التداخلات الناتجة عن التكاثر الجنسى فى الدراسات الوراثية .

٧- الكروموسوم الوحيد للبكتريا (الجينوم البكتيرى Bacterial genome) دائرى ، وغير محاط بغشاء نووى ، وغير مرتبط ببروتين ، وبالتالى فإنه سهل الفصل والتنقية ، ويمكن فصله بأقل قدر من التغير والتكسير ، مما يسهل دراسة صفاته الكيميائية والفيزيائية ، ودراسة تأثير مختلف العوامل عليه ، وهذا الأمر هو الذى سهل التطور الضخم الذى حدث فى علم الوراثة الجزيئية .

---

* خط الخلايا Line of cells ، هو مجموعة من الخلايا المتماثلة ، المشتقة من خلية واحدة ، وذات نمط ظاهرى مغاير عن الأفراد الأساسية التى من نفس النوع .

٨- تتميز البكتريا الدقيقة بأنه من السهل تتبع التغيرات الكيميائية والانزيمية فيها ، كما يمكن عزل عدد كبير من المركبات الوسطية الداخلة فى أيضها الغذائى ، وعزل الانزيمات منها بسهولة ، مما يسهل تتبع التغيرات التى تحدث فى النشاط الحيوى بالبكتريا نتيجة لتغير العوامل الوراثية .

٩- يمكن بسهولة عزل الطفرات الغذائية Nutritional mutants من البكتريا ، وهى الطفرات التى تحتاج لأحد الفيتامينات أو الأحماض الأمينية أو عوامل النمو الأخرى ، والتى لم تكن السلالة الأصلية تحتاج اليها (طفرات العوز الغذائى Auxotrophic mutants ، (أنظر ص ٥٦٧) .
كما يمكن بسهولة عزل طفرات غذائية مختلفة لنفس العنصر الغذائى ، وهى الطفرات التى تحتاج لنفس العنصر الغذائى ، إلا أنها تختلف فى المنطقة من الكروموسوم التى حدثت فيها الطفرة ، ومثل هذه الطفرات ساعدت كثيرا فى تتبع المسار الأيضى Metabolic pathway لهذا المركب المدروس .
وقد أدى استخدام هذه الطفرات الى تطور ضخم فى مجال الكيمياء الحيوية ، وفى دراسة مسارات الأيض الغذائى المختلفة .

ودراسة وراثة الكائنات الدقيقة لها أهمية كبرى ، ليس فقط فى نواحى العلوم الأساسية بل وفى النواحى التطبيقية أيضا ، فالميكروبات تستخدم فى صناعات لاحصر لها ، مثل انتاج الأحماض العضوية كالستريك واللاكتيك والجلوكونيك والخليك والبروبيونيك ... الخ ، كما تستخدم فى انتاج الكحولات والفيتامينات والهرمونات ، والانزيمات ومنظمات نمو النباتات ، والمضادات الحيوية ، كما أن المجال مفتوح بلا حدود ، لانتاج مركبات جديدة ، أو لتحسين انتاج المركبات المختلفة من خلال الهندسة الوراثية .

كما أن تفهمنا لوراثة الكائنات الدقيقة ، يفيد فى المحافظة على السلالات الهامة صناعيا ، ومنع تكوين طفرات غير مرغوب فيها ، كما يمكن من خلال الاتحادات الوراثية والتهجين والانتخاب ، واستخدام العوامل المطفرة ، الحصول على سلالات ذات صفات مرغوب فيها من الناحية التطبيقية .

دقة بناء الدنا (DNA) وتصحيح أخطاء التضاعف

من المعروف أن أى خطأ يحدث فى بناء الدنا يسبب طفرة ، ومن المعروف أيضا أن معدل الطفور الذاتى فى الكائنات الحية منخفض جدا يصل الى $١٠^{-٧}$ - $١٠^{-١٠}$ خطأ بكل زوج من القواعد ، بمعدل $١٠^{-٦}$ فى الجين مع كل دورة تضاعف للخلية . وترجع هذه الدقة فى بناء الدنا ، إلى أن إنزيم DNA polymerase ، تكون أمامه فرصتين لدقة إضافة القاعدة الصحيحة .

الفرصة الأولى ، قائمة على تكامل الوحدات بين السلسلتين ، حيث A يقابلها T و G يقابلها C ، مع استخدام السلسلة الأخرى كطابعة (قالب) .

أما الفرصة الثانية ، فترجع الى وجود نشاط لنظام إنزيمى خاص يسمى نظام انزيم مراجعة خطأ القراءة Proofreading enzyme ، وهو مرتبط بانزيم DNA polymerase III . فعلاوة

على إدخال القواعد فى السلسلة المتكونة ، فإن DNA polymerase يحتوى على انزيم 5 exonuclease → 3 ، يمكنه إزالة أى نيوكليوتيده خاطئة واستبدالها بالنيوكلوتيدة الصحيحة . أما إنزيم مراجعة خطأ القراءة ، فإنه يبدأ عمله إذا ماأدخلت قاعدة غير صحيحة ، حيث أن وجود هذه القاعدة غير الصحيحة ، يخلق حالة من عدم الاستقرار فى إزدواج القواعد ، ولايسمح نظام المراجعة فى هذه الحالة ، ببقاء القاعدة غير الصحيحة فى موضع نشاط إنزيم DNA polymerase ، وهذا يعطى الوقت الكافى لإنزيم Exonuclease ليؤدى عمله فى إزالة هذه القاعدة غير الصحيحة ، وإعطاء الإنزيم فرصة ثانية لإدخال القاعدة الصحيحة .

ونظام المراجعة هذا ، يوجد فى كل من الخلايا بدائية النواة ، وحقيقية النواة ، وفى الفيروسات المكونة من DNA . وعلاوة على عمل إنزيم Exonuclease فى نظام المراجعة ، فانه يوجد أيضا إنزيم Endonuclease الذى يستطيع إزالة القاعدة الخطأ بعد أن يكون DNA polymerase قد ترك المنطقة التى بها الخطأ . وتكامل عمل Endonuclease مع Exonuclease فى نظام المراجعة، يجعل التضاعف خاليا من الخطأ تقريبا فى هذا الجزىء الطويل جدا ، وهو جزىء الدنا .

البلازميدات (*) والوراثة ومقاومة العوامل المضادة

توجد البلازميدات خارج الكروموسوم ، ملتصقة به أو بعيدة عنه ، وتحتوى البلازميدات على الدنا DNA ، ويمكن لهذه البلازميدات أن تتضاعف وأن تتكرر مستقلة عن الكروموسوم الأصلى ، وهى تحمل بعض الصفات الوراثية ، مثل جينات التحكم فى الاتحادات الوراثية ، وجينات المقاومة للمضادات الحيوية ، وغيرها من العوامل المثبطة للبكتريا ، كما أن شعيرات الجنس Six pili تعمل على انتقال بلازميدات الجنس من خلية لأخرى ، ومن الشعيرات مايعمل أيضا على انتقال بلازميدات المقاومة .

ويجب أن نشير الى أن صفة المقاومة للمضادات الحيوية عادة مايحكمها بلازميد ، وفى بعض الأحيان قد يحكمها الكروموسوم ، ولكن ميكانيكية المقاومة تختلف فى كل حالة عن الأخرى .

فالمقاومة التى يحكمها الكروموسوم ، تتم نتيجة لحدوث تعديل فى الموقع الذى يؤثر فيه المضاد الحيوى . أما المقاومة التى تعود للبلازميد ، فإنها تعود الى وجود جين بالبلازميد ، يتحكم فى إنتاج انزيم يفسد عمل المضاد الحيوى ، أو تعود الى وجود جين بالبلازميد يُكوِّن إنزيما يمنع دخول المضاد الحيوى الى داخل خلية البكتريا ، أو يعمل على ضخه إلى خارجها ، ومثالا على ذلك ، فإنه بالنسبة للمضادات الحيوية التابعة لمجموعة Aminoglycoside مثل Kanamycin, Neomycin & Streptomycin ، فإن الإنزيم الذى يحكمه البلازميد ، يؤدى الى حدوث تعديل فى جزىء المضاد ، إما بالفسفرة Phosphorylation (إضافة مجموعة فوسفات) ، أو بالأستلة Acetylation (إضافة مجموعة اسيتايل $CH_3 - CO$) أو الأدينلة Adenylation (إضافة مجموعة أدينايل N Base-Ribose-P) ، مما يثبط عمل المضاد الحيوى .

(*) راجع تركيب الخلية البكتيرية والبلازميدات بالباب الخامس ، الفصل الثالث .

وكمثال آخر ، فإن بلازميد المقاومة لمضاد البنسلين ، يحكم تكوين إنزيم البنسلينيز Penicillinase, β-lactamase ، الذى يحلل البنسلين عن طريق تحليل حلقة اللاكتام التى بالمضاد ، وكذلك بلازميد المقاومة لمضاد الكلورامفينيكول ، فإنه يحكم تكوين إنزيم يسبب حدوث أستلة لجزىء المضاد ، مما يوقف نشاطه .

وتلعب البلازميدات دورا فى زيادة القدرة الإمراضية للبكتريا المرضية ، بزيادة قدرة البكتريا على الالتصاق والنمو فى الجزء المناسب من العائل ، أو بتكوين مركبات مثل الانزيمات والتوكسينات والكوليسينات ... الخ ، التى تحدث ضررا للعائل .

وكمثالا على ذلك ، فإن قدرة بكتريا القولون الممرضة Enteropathogenic *E. coli* على استعمار (استيطان) Colonization خلايا العائل والتكاثر بها ، تتوقف على وجود بروتين سطحى بالبكتريا يسمى أنتجن عامل الاستيطان Colonization factor antigen, CFA يحكمه بلازميد بالبكتريا ، وهذا العامل يعطى خلية البكتريا القدرة على الإلتصاق بخلايا الطبقة الطلائية Epithelial cells فى الأمعاء ، وعلاوة على ذلك فإن البلازميد يحكم تكوين نوعين على الأقل من التوكسينات التى تكونها البكتريا ، وهما Hemolysin الذى يحلل كرات الدم الحمراء ، و Enterotoxin الذى يؤدى إلى تنشيط افراز المياه والأملاح من الأمعاء إلى البراز أى حدوث الإسهال . ويلاحظ أن هناك عوامل أخرى ترتبط بالضراوة الامراضية فى *E. coli* يحكمها الكروموسوم .

وفى البكتريا العنقودية *Staphylococcus aureus* المسببة للتسمم العنقودى ، فإن تكوين كل من Coagulase , Enterotoxin, Fibrinolysin & Hemolysin ، يحكمها البلازميد.

ومن ناحية أخرى ، فإن قدرة بعض أنواع البكتريا على تكوين البكتريوسينات Bacteriocins يحكمها بلازميدات . والبكتريوسينات عبارة عن عوامل تثبط أو تقتل أنواعا قريبة أو حتى سلالاتا قريبة من النوع المفرز . وهذه الصفة تميز البكترويوسينات عن المضادات الحيوية التى لها مدى تأثير أوسع ، ويحكم تكوين البكتريوسينات بلازميدات خاصة ، فمثلا الكوليسينات Colicins التى تكونها *E. coli* يحكمها Col plasmid ، والسابتلين Subtilin الذى تنتجه بكتريا *B. subtilis* يحكم انتاجه بلازميد خاص . . وهكذا .

تركيب ووظيفة الرنا RNA*

هناك ثلاثة أنواع من الرنا هى

١- **الرنا الرسول mRNA** ، Messenger RNA ، وهو الذى يحمل الرسالة الخاصة ببناء البروتين من الدنا ، من خلال عملية الاستنساخ Transcription .

٢- **الرنا الناقل tRNA** ، Transfer RNA ، وهو المسئول عن حمل الأحماض الأمينية بترتيب الرسالة التى يحملها mRNA ، ليتم بناء البروتين على الريبوسومات ، وبالطبع فان لكل حامض أمينى رنا ناقل أو أكثر خاص به ، وقد يسمى الرنا الناقل ، بالرنا الذائب sRNA ، Soluble RNA .

٣- **الرنا الرايبوسومى rRNA** ، Ribosomal RNA ، وهو المكون الأساسى للرايبوسومات التى يتم عليها بناء البروتين .

---

* أنظر أنواع حامض الرنا ، ص ٧٠٧ ومايليها .

وبصرف النظر عن نوع الرنا ، فانه يختلف فى تركيبه عن الدنا فى الآتى

١- يحتوى الرنا على سكر الرايبوز ، بدلاً من الديزوكسى رايبوز الموجود فى الدنا .

٢- يحتوى الرنا على قاعدة اليوراسيل Uracil ، بدلاً من قاعدة الثايمين Thymine الموجودة فى الدنا.

٣- فيما عدا بعض الفيروسات ، فإن الرنا لايوجد فى سلاسل مزدوجة الخيوط .

يقوم الرنا بدوره على مستويين - المستوى الأول وهو المستوى الوراثى Genetical ، والثانى وهو المستوى الوظيفى Functioinal .

بالنسبة للدور الوراثى للرنا ، فإنه (mRNA) يحمل المعلومات الوراثية من الدنا ، كما يلعب الرنا RNA فى الفيروسات المكونة من الرنا الدور الوراثى مباشرة .

أما على المستوى الوظيفى ، فيعتبر الرنا (rRNA) أحد الجزيئات المعقدة التى لها دور تركيبى فى بناء الرايبوسومات ، كما أن للـ tRNA دور كناقل للأحماض الأمينية فى بناء البروتين ، كما أن لبعض جزيئات الرنا دور انزيمى .

الاستنساخ : Transcription*

توجد علاقة بين مرحلتى النسخ والترجمة . وتتم عملية النسخ والترجمة فى البكتريا فى آن واحد لعدم وجود غشاء نووى يحيط بالمادة الوراثية ، بعكس حقيقيات النواة التى تتم فيها العمليتين على مرحلتين ، لوجود غشاء نووى يحيط بالمادة الوراثية ، ويتم نسخ الرنا الرسول من شريط الدنا فى اتجاه ٣' ← ٥' ، لتكوين الرنا الرسول فى اتجاه ٥' ← ٣' .

ويتم استنساخ المعلومات الوراثية من الدنا DNA الى الرنا RNA من خلال إنزيم RNA polymerase ، الذى ينشط تكوين روابط Phosphodiester بين الرايبونيوكليوتيدات ، ويتطلب هذا الانزيم لعمله وجود الدنا الذى يعمل كقالب للرنا . كما يتطلب توفر رايبونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات (ATP, GTP, UTP, CTP) ، وعملية البناء تشبه ميكانيكية بناء الدنا ، حيث تضاف القواعد الجديدة فى السلسلة لمجموعة OH فى الوضع 3' فى الرايبوز الذى فى القاعدة السابقة ، حيث يتحدا مع فقد مجموعتى فوسفات غنية بالطاقة , وتختلف العملية عن بناء الدنا فى أن RNA polymerase ، يمكنه بدأ تكوين السلسلة ، وبالتالى لايحتاج الى بادىء (مادة ممهدة) Primer** .

ويلاحظ أن أول قاعدة فى سلسلة الرنا دائما تكون قاعدة بيورين ، إما أدينين أو جوانين .

ورغم أن الدنا الذى يعمل كقالب لبناء الرنا يكون مزدوج السلسلة ، إلا أن سلسلة واحدة من الدنا هى التى تعمل كقالب للاستنساخ .

وتركيب إنزيم RNA polymerase فى البكتريا معقد ، يتكون من عدد من الوحدات الفرعية . وفى الإنزيم الموجود فى *E. coli* ، يوجد أربعة أنواع مختلفة من الوحدات البروتينية تسمى α و σ و β و β` والوحدة α (ألفا) يوجد منها نسختين ، وتتحد الوحدات المختلفة مع بعضها لتكوين الانزيم النشط ، بينما نجد أن الوحدة σ (سيجما Sigma) لاترتبط بشدة مع الوحدات الأخرى وتنفصل عنها بسهولة ، مما يؤدى الى وجود مايسمى بمركز الانزيم Core enzyme ($\alpha_2 \beta \beta'$) ، هذا المركز يمكنه وحده بناء الرنا ، أما الوحدة σ فإن وظيفتها هى التعرف على المكان الصحيح فى الدنا الذى يبدأ منه استنساخ الرنا .

---

* راجع التخليق الحيوى للإنزيمات بالباب التاسع - الفصل الثالث ، ص ٧٠٣ ومابليها .

** أنظر تذييل ص ٦٢٧ .

وإنزيم RNA polymerase جزىء بروتينى كبير الحجم ، ويرتبط مع الدنا فى عدة قواعد فى وقت واحد . ويتم الارتباط بين الانزيم والدنا فى موضع محدد هو منطقة الجين المعرض (البروموتور Promotor) ، ويقع البروموتور قرب الجين العامل (الأوبرون) . وعندما يتصل الإنزيم بالمنطقة الملائمة على الدنا عند البروموتر ، ينشط الأوبرون ، وينفتح اللولب المزدوج ، ومع تحرك الإنزيم ، يقوم الإنزيم بفك الدنا فى أجزاء صغيرة ، ويتم استنساخ هذه الأجزاء ثم يعاد ربط السلسلتين المزدوجتين ، وتساعد عملية الفك على تحرير القواعد ، مما يساعد على تكون رنا مكمل لها .

وهناك نظام حيوى لإنهاء عملية الاستنساخ وهو عبارة عن تركيب بروتينى يسمى عامل رو Rho factor [1]، ولايتحد هذا العامل مع RNA polymerase أو مع الدنا ، ولكنه يساعد على فصل الـ m-RNA مع انزيم RNA polymerase من الدنا ، مما ينهى عملية الاستنساخ . وفى كل الأحوال ، فإن انهاء الاستنساخ يرتبط بتتابعات خاصة فى الدنا .

ويوضح شكل [٨ (١) –١] خطوات عملية الاستنساخ .

الترجمة – بناء البروتين : Translation - Protein synthesis

تتابع الأحماض الأمينية هو الذى يحدد تركيب ودور البروتين . وعملية بناء البروتين ماهى إلا عملية وضع الأحماض الأمينية فى مواضعها المحددة فى السلسلة الببتيدية . وهذا هو عمل جهاز بناء البروتين فى الخلية .

والرايبوسومات هى مواقع بناء البروتين ، وكل رايبوسوم مكون من وحدتين ، وهاتين الوحدتين فى بدائيات النواه هما 30S & 50S ، ويكونا معا الرايبوسوم 70S [2] (مع ملاحظة أن 70S, 50S, 30S هى معامل الترسيب Sedimentation coefficient [3] عند استخدام جهاز الطرد المركزى فائق السرعة) .

وكل وحدة من وحدات الرايبوسوم عبارة عن بروتين نووى Nucleoprotein ، أى تتكون من rRNA وبروتين . وتتكون الوحدة 30S من (16S – rRNA) + (بروتين 21S) ، وتتكون الوحدة 50S من (23S - rRNA و 5S) (مع بروتين 32S . وقد وجد أن *E. coli* تحتوى على ٥٣ نوعا مختلفا من البروتين الرايبوسومى . وتلعب مكونات الرايبوسوم دورها فى بناء البروتين بطريقة معقدة .

ورغم أن عملية بناء البروتين تتم بطريقة مستمرة بالخلية ، إلا أنها تتم فى عدة خطوات محددة هى : البدء Initiation ، الاستطالة Elongation ، الانهاء والانفصال Termination-Release ، ثم التفاف السلسلة الببتيدية Polypeptide folding .

---

[1] عامل رو Rho factor : وحدة بروتينية بالخلية البكتيرية ، تساعد انزيم RNA polymerase على تحديد الموقع بحامض الدنا ، الذى ينتهى عنده استنساخ الرنا الرسول m-RNA .

[2] أنظر شكل [٥ (٢) – ٢٦] ص ٢٤٩ .

[3] أنظر وحدات سفدبرج ص ٢٥٠ .

شكل ٨ (١)-١ : خطوات عملية الاستنساخ .

أ – منطقة البروموتر فى الدنا DNA ، تليها منطقة البداية .

ب – قيام الوحدة σ (سيجما) بالتعرف على منطقة البداية .

جـ و جـ – يبدأ انزيم RNA polymerase عمله ويتحرك على سلسلة الدنا لتكوين سلسلة مكملة من الرنا الرسول m-RNA .

د – عندما يصل انزيم RNA polymerase الى كود النهاية ، يتوقف بناء الرنا الرسول حيث انتهت الرسالة .

هـ – يتم انفصال الرنا الرسول والانزيم

وعلاوة على دور كل من tRNA و mRNA والرايبوسومات فى عملية البناء البروتينى ، فإن العملية تتطلب وجود بعض البروتينات التى يطلق عليها عامل البدء ، وعامل الاستطالة ، وعامل الإنهاء ، كما تحتاج عملية البناء أيضا الى Guanosine triphosphate (GTP) كمصدر للطاقة .

البروتينات المؤثرة خارجيا

كثير من البروتينات تعمل خارج الخلية ، ولهذا فلابد أن تجد طريقها من موضع بنائها بداخل الخلية ، لتمر خلال الغشاء البلازمى الى خارج الخلية . وفى بدائيات النواة Procaryotic microorganisms فإن الإنزيمات البريبلازمية Periplasmic enzymes والإنزيمات الخارجية Extracellular تعتبر إنزيماتا مفرزة خارجيا . وفى حقيقيات النواه فإن الإنزيمات الهاضمة الموجودة باللايسوسومات [1] Lysosomes ، تعتبر أيضا ضمن هذا النوع من الإنزيمات .

كيف يمكن للخلايا أن تنقل نقلا إنتقائيا بعض البروتينات خلال الغشاء الخلوى ، بينما تبقى أغلب البروتينات الأخرى داخل السيتوبلازم ؟ . أن تفسير ذلك يتم من خلال مايعرف بافتراضية الاشارة Signal hypothesis ، حيث تقول هذه الفرضية ، أن هذه البروتينات المطلوب إفرازها خارجيا ، يتم تكوينها بداخل الخلية مع احتوائها على تتابع ببتيدى طوله ١٥-٢٠ حامض أمينى ، يسمى تتابع الإشارة Signal sequence . وفى هذا التتابع ، تسود الأحماض الأمينية الكارهة للماء Hydrophobic مما يسمح لها بالمرور الى خارج الخلية خلال الغشاء الخلوى الليبيدى الكاره للماء.

وفى كثير من الأحوال ، فإن الرايبوسومات التى تقوم ببناء البروتينات المفرزة خارجيا تكون ملاصقة للغشاء السيتوبلازمى ، بحيث يتم تكوين هذه البروتينات وإفرازها خارجيا فى وقت واحد ، وبعد إفراز البروتين خارجيا تتم مباشرة إزالة تتابع الإشارة منه إنزيميا ، ويعتبر هذا نموذجا لتعديل البروتين بعد عملية الترجمة Posttranslational modification .

وتعتبر دراسة إفراز البروتين خارج الخلية موضوعا هاما من الناحية التطبيقية ، فاذا ماتم إجراء هندسة وراثية لبكتريا بغرض إنتاج بروتين غريب ، فإنه من الضرورى إدخال تتابع إشارة فى بناء هذا البروتين ، ليتم إفرازه خارجيا بسهولة .

الشفرة الوراثية : Genetic code

قواعد الشفرة الوراثية هى القواعد النتروجينية التالية A: Adenine, G: Guanine, C: Cytosine, U: Uracil ، وللسهولة ، فإنه يتم دائما دراسة الشفرة على الحامض النووى حامل الرسالة mRNA وكما يعرف ، فأن الشفرة ثلاثية القواعد [جدول ٨ (١) - ١] ، وعلاوة على تلك الشفرات التى تحدد أنواع الأحماض الأمينية ، فإن هناك شفرات لها وظائف خاصة ، منها شفرة بداية البناء AUG ، وشفرات الإيقاف (UAA, UAG, UGA) .

قد يكون لكل حامض أمينى أكثر من شفرة ثلاثية ، وهذا له اهمية علمية وتطبيقية ، حيث أن معرفة الحامض الأمينى لايعنى تلقائيا معرفة الشفرة ، أو معرفة موقع الحامض الأمينى فى عملية بناء البروتين ، وتسمى ظاهرة وجود أكثر من شفرة للحامض الأمينى الواحد Degeneracy ، وتعنى هذه الظاهرة اما :

---

[1] Lysosome ، ليسوسوم ، جسيم حال

جسم حبيبى مغلف بغشاء ، يوجد بسيتوبلازم الخلايا حقيقية النواة ، وهو يحمى الكتوبلازم من الإنزيمات المحللة مائيا .

ويلعب الليسوسوم دورا رئيسيا فى عمليات الهضم داخل الخلية .

جدول ٨ (١) - ١ : الشفرة الوراثية كما يعبر عنها بتتابع ثلاث قواعد نتروجينية فى حامض رنا الرسول m-RNA[١]

[٢] Codon	Amino acid	Codon	Amino acid	Codon	Amino acid	Codon	Amino acid
UUU	Phenylalanine	CUU	Leucine	GUU	Valine	AUU	Isoleucine
UUC	Phenylalanine	CUC	Leucine	GUC	Valine	AUC	Isoleucine
UUG	Leucine	CUG	Leucine	GUG	Valine	AUG (start)[٣]	Methionine
UUA	Leucine	CUA	Leucine	GUA	Valine	AUA	Isoleucine
UCU	Serine	CCU	Proline	GCU	Alanine	ACU	Threonine
UCC	Serine	CCC	Proline	GCC	Alanine	ACC	Threonine
UCG	Serine	CCG	Proline	GCG	Alanine	ACG	Threonine
UCA	Serine	CCA	Proline	GCA	Alanine	ACA	Threonine
UGU	Cysteine	CGU	Arginine	GGU	Glycine	AGU	Serine
UGC	Cysteine	CGC	Arginine	GGC	Glycine	AGC	Serine
UGG	Tryptophan	CGG	Arginine	GGG	Glycine	AGG	Arginine
UGA	None (stop signal)	CGA	Arginine	GGA	Glycine	AGA	Arginine
UAU	Tyrosine	CAU	Histidine	GAU	Aspartic	AAU	Asparagine
UAC	Tyrosine	CAC	Histidine	GAC	Aspartic	AAC	Asparagine
UAG	None (stop signal)	CAG	Glutamine	GAG	Glutamic	AAG	Lysine
UAA	None (stop signal)	CAA	Glutamine	GAA	Glutamic	AAA	Lysine

[١] القواعد المذكورة بهذا الجدول مكملة للقواعد الموجودة في حامض الـ DNA بالخلية ، بمعنى أن U فى الجدول مكملة لـ A بحامض DNA الخلية ، C مكملة لـ G و G مكملة لـ C و A مكملة لـ T .

[٢] A : أدينين ، G : جوانين ، C : سيتوزين ، U : يوراسيل

[٣] تشفر القاعدة AUG إلى N-formyl methionine ، الموجودة فى بداية حامض m-RNA بالبكتريا .

١ – أن حامض tRNA الواحد يمكنه أن يتحد مع أكثر من شفرة واحدة .
٢ – أو إنه يوجد أكثر من نوع واحد من tRNA لكل حامض أمينى .

ولقد وجد بالدراسة أن كلا الاحتمالين صحيحا ، فمثلا وجد أن بعض الأحماض الأمينية لها أكثر من tRNA (الحامض الأمينى Leucine فى *E. coli* له ٦ أنواع من tRNA) ، ومع هذا فإنه ليس بالضرورة وجود tRNA لكل مقابل شفرة . ففى بعض الأحيان يكون لجزىء tRNA ازدواج مع قاعدتين فقط فى الشفرة ، مما يجعله لايتأثر بالقواعد غير الطبيعية فى القاعدة الثالثة ، وهذه الظاهرة تسمى ظاهرة Wobble [شكل ٨ (١) – ٢] .

شكل ٨ (١) – ٢ : ظاهرة Wobble الخاصة بتزاوج القواعد ، مع ملاحظة وجود مرونة فى تزاوج القاعدة الثالثة بالشفرة .

لوجود شفرة البداية أهمية كبيرة ، فمع وجود الشفرة الثلاثية فإنه من الضرورى أن تبدأ عملية الترجمة من الموضع الصحيح ، لأنه لو حدث خلاف ذلك ، فان كل إطار القراءة سوف يحدث به إنحراف ، مما يُكوِّن بروتينا مختلفا ، أو حتى لايتكون بروتين بالمره .

وتوجد الشفرات الخاصة بأى بروتين على جزء من الدنا DNA ، وأن هذا الجزء يتم استنساخه الى mRNA ، وأن عملية الاستنساخ تتطلب وجود الجين المحرض (منشط الاستنساخ) Promoter عند نقطة بداية الاستنساخ ، وللتأكد من أن الـ mRNA يحمل الرسالة الخاصة ببناء البروتين ، فلابد أولا أن يبدأ البناء بشفرة البداية AUG ، يليها تتابعات طويلة قبل وجود شفرة الإيقاف ، مثل هذه التتابع فى الـ mRNA يسمى اطار القراءة المفتوح Open reading frame (ORF) ، حيث أن شفرة البداية تبدأ إطار القراءة السليم لعملية الترجمة، وأن شفرة الإيقاف سوف تنتهى الترجمة .

وبتعبير آخر ، فان وجود إطار القراءة المفتوح ORF بالتتابع الشفرى بالدنا وبالتالى فى mRNA ، يعنى أن الجزء الذى تم استنساخه ، ناتج عن جين يحكم بروتين ، إما إذا لم يوجد بالدنا إطار ORF ، فإن ذلك يعنى أن الجزء المستنسخ لايشفر لبروتين ، وكما نعرف فإن الخلايا الراقية تحتوى على أجزاء كبيرة من الدنا لاتحمل شفرة معينة ، ، وتسمى هذه الأجزاء إنترونات Introns (Interventing DNA sequence) ، وهى أجزاء من حامض الدنا ، تنسخ الى حامض دنا نووى ، ولكنها لاتترجم الى أى حامض أمينى أو بروتين .

الطفور والطفرات : Mutations and Mutants

فى بعض الأحيان ، قد يحدث تغيرا فى بعض الصفات ، عند انتقال العوامل الوراثية من الاباء Parents الى النسل Progeny . وترتبط هذه التغيرات بنوعين أساسيين من خصائص الخلية البكتيرية ، هما الطرز (النمط) الجينى Genotype ، والطرز الشكلى Phenotype .

ويرتبط الطرز الجينى للخلية بتركيبها الوراثى ، أى أنه يرتبط بجميع الصفات الموروثة بالخلية ، أما الطرز الشكلى فإنه يعبر عن تأثير الطرز الجينى الذى يظهر على صفات وخصائص الخلية المختلفة ، ويظل الطرز الجينى ثابتا من جيل لآخر ، مالم يحدث له تطفر ، فإذا ماحدث تطفر ، فإن هذا يؤدى إلى حدوث تغير يمكن ملاحظته فى الطرز الشكلى للخلية .

والطفور هو تغير موروث فى تتابع القواعد فى دنا الكائن الحى ، ويسمى التغير الحادث فى ذلك التتابع بطفرة Mutant ، وتسمى السلالة التى حدث فيها هذا التغير بسلالة طافرة Mutant strain ، والسلالة الطافرة بالتالى تختلف عن السلالة الأصلية فى الطرز الجينى Genotype فى منطقة محددة بالجينوم . وحدوث الطفرة يؤدى لظهور الطرز الشكلى Phenotype الذى قد يكون طرزا مختلفا عن طرز السلالة الأصلية أيضا ، وتسمى السلالة الأصلية المعزولة من الطبيعة بالطرز البرى Wild-type , ويلاحظ أن الطفرة قد ينتج عنها أو لاينتج عنها تغيرا فى الطرز الشكلى .

ولتسهيل تسمية وتمييز الطفرات ، فإن الطرز الجينى يرمز له بثلاثة حروف صغيرة متبوعة بحرف كبير (Capital) وكلها حروف مائلة (Italics) ، محددة للجين الذى حدث فيه التغير ، وعلى هذا فإن الطفرة *his C* فى *E. coli* ، تعنى حدوث تطفر فى الجين الرامز للحامض الأمينى الهستدين Histidine فى الموقع الجينى C . وفى بعض الأحوال قد تسمى الطفرة *his C1, his C2* ، والرقم فى هذه الحالة يحدد ترتيب عزل هذه الطفرات .

أما الطرز الشكلى فيحدد بحرف كبير يتبعه حرفين صغيرين مع + أو − ، لتحدد هل الصفة موجودة أم غائبة ، فعلى سبيل المثال فان السلالة His^+ ، تعنى إنها سلالة قادرة على تكوين الهستيدين بنفسها .

قد يحدث تغيرا فى الطرز الشكلى للخلية البكتيرية ، ليس بسبب حدوث تغير فى الطرز الجينى ، ولكن بسبب حدوث تغير فى تركيب البيئة النامية بها الخلايا ، أو فى ظروف نموها ، وهذه التغيرات لاتورث ، لأنها ليست ناتجة عن تغير بالطرز الجينى ، إذ أن الخلية تعود الى طرزها الأصلى ، عند العودة الى ظروف النمو الأصلية .

وجدول [٨ (١) − ٢] يوضح بعض الاختصارات المتداولة الخاصة بالطرز الجينية .

جدول ٨ (١) - ٢ : بعض الرموز المتداولة للطرز الجينية .

الطرز الجينى	الطفـــور	الطرز الجينى	الطفـــور
ala	احتياج الألانين	*met*	احتياج المثيونين
azi	مقاومة الأزيد	*pro*	احتياج البرولين
div	انقسام الخلية	*pur*	تخليق البيورين
fla	تخليق الأسواط	*str*	مقاومة الاستربتومايسين
gal	استخدام الجالاكتوز	*thi*	احتياج الثيامين
his	احتياج الهستيدين	*uvr*	حساسية للأشعة فوق البنفسجية
lac	استخدام اللاكتوز		

عزل الطفرات

يجب أن نفرق بين نوعين من الطفرات ، الطفـــرات الانتقائيـــة Selective mutants ، والطفرات غير الانتقائية Non-selective mutants ، وكمثال للطفرات غـــير الانتقائيـــة تلـــك الطفرات التى تفقد البكتريا الملونة القدرة على تكوين اللون ، ومثل هذه الطفرات ليس لـــها أيـــة ميزة تختلف فيها عن الآباء الملونة عند تنميتها على بيئة الأجار ، وعلى هـــذا فـــإن الطريقـــة الوحيدة للتعرف على هذه الطفرة هى فحص عدد كبير من المستعمرات للوصول الى المســتعمرة الطافرة ، وبهذا فإن الطفرات غير الانتقائية يمكن الوصول إليها بفحص عدد كبير من الأفـــراد ، والطرز الشكلى لها قد لايمكن ملاحظته بسهولة .

أما الطفرات الانتقائية ، فإنها تعطى الطفرة ميزة خاصة عندما تنمو تحـــت ظـــروف معينة فى الوسط ، وعلى هذا فإن نسل هذه السلالة الطافرة يمكن أن يتميز فى النمـــو ، ويحـــل محل السلالة الأصلية . ومن أمثلة الطفرات الانتقائية طفرات المقاومة للمضادات الحيوية ، فـــإن الطفرة المقاومة للمضادات الحيوية ، يمكنها النمو فى وجود المضاد الحيوى عند تركيز مثبط أو قاتل للسلالة الأصلية ، وعلى هذا ، فإنه من السهل التعرف علـــى الطفـــرة وعزلـــها باختيـــار الظروف الملائمة فى وسط النمو . ويعتبر وجود عامل انتقائى ، أمـــر هـــام فـــى الدراســـات الوراثية ، حيث يسمح بعزل الطفرة حتى ولو كانت على مستوى خلية واحدة ، من بين الملايين من خلايا السلالة الأصلية .

وعلى هذا ، فإنه مالم تكن الطفرة انتقائية ، فإن التعرف عليها يصبح صعبا ، وتحتاج إلى مـــهارة كبيرة لتتبعها وعزلها .

ومن الناحية النظرية ، فإن أى صفة فى الكائن يمكـــن تغيرهـــا بـــالطفور ، ويمكـــن ملاحظة الطفرات الغذائية باستخدام طريقة الاستنســـاخ بواســـطة الأطبـــاق Replica plating technique ، حيث تستخدم قطعة مستديرة من قماش القطيفة لعمل طابعـــة مـــن المســـتعمرات النامية بالطبق الأساسى Master plate ، ثم يطبع منها على طبق أجار خال من المـــادة الغذائية المراد معرفة الطفرة الغذائية الخاصة بها ، فبينما تنمو مستعمرات السلالة الأصلية طبيعيا ، فإن مستعمرة السلالة الطافرة لاتنمو ، ويظهر مكانها خاليا من النمو فى الطبق الخالى مـــن المـــادة الغذائية ، وبالتالى يمكن تحديد موضعها على الطبق الأصلى وعزلها ، والطفرة الغذائيـــة التـــى تحتاج لمركب غذائى معين ، تسمى طفرة زائدة الاغتذاء Auxotroph ، بينما السلالة البريـــة

التى لاتحتاجه تسمى أولية التغذية Prototroph .

وعادة مايسبق اسم سلالة الطفرة زائدة الاغتذاء ، رمز من ثلاث حروف يدل على المادة التى فقدت السلالة الطافرة القدرة على تمثيلها نتيجة التطفر ، وأصبحت تحتاج اليها بالبيئة لكى تنمو ، مثل *E. coli* lac⁻ ، وهذا الرمز يعنى أن هذه البكتيرة فقدت القدرة على تخليق انزيم اللاكتيز .

وهناك طريقة تستخدم بكثرة لعزل الطفرات الغذائية التى تحتاج إلى أحماض أمينية أو عوامل نمو Growth factors ، وهى طريقة الانتخاب بالبنسلين Penicillin-selection method . فمن المعروف أن الطفرات الغذائية تكون أقل قدرة من السلالة الأصلية ، حيث لاتستطيع الطفرات أن تتنافس مع السلالات الأصلية عند التنمية العادية . ولكن نظرا لأن البنسلين يقتل الخلايا النامية فقط ، فإنه إذا أضيف البنسلين للبكتريا النامية فى البيئة الخالية من المادة الغذائية المطلوب عزل الطفرات الخاصة بها ، فإن الخلايا العادية تنمو فيقتلها البنسلين ، أما الطفرة فإنها لاتنمو فى غياب المادة الغذائية وبالتالى لاتتأثر بالبنسلين ، وعلى هذا فإنه بعد التحضين فى وجود البنسلين ، يتم التخلص من السلالات الأصلية ، وتجرى التنمية فى وجود المادة الغذائية فتنمو الطفرات التى لم يؤثر عليها البنسلين ، وبالتالى فإن البنسلين يعتبر عامل انتقائى سلبى حيث إنه لايعمل كعامل انتقائى للطفرات ، وإنما كعامل مضاد للسلالة الأصلية .

التغيرات فى الطُرُز الشكلية التى تحدث بسبب التطفر

تحدث التغيرات فى الطُرُز الشكلية للبكتريا ، نتيجة للتطفر الذى حدث بالطرز الجينى للخلية ، **ومن مظاهر الطُرُز الشكلية للطفرات الناتجة مايلى**

١ – طفرات ذات مقاومة عالية للعوامل المثبطة لنموها ، مثل الطفرات المقاومة للمضادات الحيوية والعقاقير الكيميائية ، ولهذه الطفرات أهمية من الناحية المرضية والعلاجية .

٢– طفرات ذات قدرات تخميرية عالية ، يمكنها أن تزيد (أو تنقص) من نواتج التخمر النهائية لبعض المواد ، ولهذه الطفرات أهمية من الناحية الصناعية .

٣– طفرات فقدت القدرة على انتاج بعض انزيمات الأيض الغذائى .
ولهذه الطفرات أهمية فى دراسة عمليات التمثيل الحيوى ، وتتابع عمليات الأيض الغذائى .

٤– طفرات زائدة الاغتذاء Auxotrophic mutants عن السلالة البرية .

٥– طفرات ذات تركيب سطحى (أو تركيب خلوى) مغاير مما يعطيها صفاتا أنتجينية خاصة ، وتسمى طفرات أنتجينية Antigenic mutants .

٦– طفرات فقدت بعض مكوناتها التركيبية ، مثل فقد الأسواط ، أو الكابسول ، أو القدرة على التجرثم .

٧– طفرات قادرة على انتاج سلالات ذات طَرْز شكلى يرى تحت شروط مزرعية معينة ، وإنتاج سلالات ذات طرز شكلى مغاير تحت ظروف أخرى ، وتسمى هذه الطفرات ، بالطفرات التى تعبر عن نفسها تحت شروط معينة Conditionally expressed mutants .

٨– طفرات قادرة على إنتاج صبغات .

٩– طفرات حساسة للحرارة المرتفعة أو للبرودة .

١٠– طفرات مقاومة للبكتريوفاج .

ويبين جدول [٨ (١)–٣] ، بعض أنواع الطفرات البكتيرية .

جدول ٨ (١) - ٣ : بعض أنواع الطفرات البكتيرية .

الصفـــة	نوع التغيـــر	طريقة التعرف على الطفرة
عدم التحرك	عدم تكوين أسواط أو تكوين أسواط غير نشطة	المستعمرات منضغطة بدلا من مسطحه أو منتشرة
غير معلبة	عدم تكون العلبة أو حدوث تغير فى تكوين العلبة	تكون مستعمرات خشنة صغيرة بدلا من ناعمة كبيرة
مستعمرات خشنة	عدم تكون أو حدوث تغيـر فـــى السكريات المعقدة على السطح	تكون مستعمرات محببة غير منتظمـة بدلا من المستعمرات الناعمة اللامعة
غذائيـــة	فقد أحد الإنزيمات فى المسار الأيضى	عدم القدرة على النمو فى البيئة الخالية من المادة الغذائية
عدم تخمير السكر	فقد القدرة على تكوين الإنزيم المحلل للسكر	عدم حدوث تغير فى بيئة السكر المحتوية على دليل
المقاومة للأدوية	إما عدم نفاذية الدواء الى داخل الخلية أو حدوث تغير فى الموقع الذى يؤثر فيه الدواء أو إكتساب القدرة على إفقاد فعاليه الدواء	النمو فى بيئة تحتوى على تركيب مؤثر من المادة
المقاومة للفيروس	فقد مواضع الاستقبال للفيروس	النمو فى وجود الفيروس بتركيز عالى
الحساسية للحرارة	حدوث تغير فى بروتين أساسى يجعله حساس للحرارة	عدم القدرة على النمو فى درجات حرارة عادة ماتنمو عليها السلالة الأصلية (٤٠°م مثلا) ، بينما مازال قادرا على النمو على درجة حرارة أقل
الحساسية للبرودة	تغير فى بروتين أساسى بحيث يحدث له تثبيط بإنخفاض الحرارة	عدم القدرة على نمو فى درجات الحرارة المنخفضة التى ينمـــو عليها عادة
عدم تكون الصبغة	فقد إنزيم فى المسار الأيضى يؤدى إلى عدم تكون الصبغة	الملاحظة بالرؤية لإختلاف اللون عن الأصل

الأساس الجزيئى للطفور : Molecular basis of mutation

يحدث الطفور نتيجة تغير موروث فى تتابع القواعد فى الدنا ، حيث نجد فى أغلب الأحوال أن تغير القواعد فى كروموسوم الكائن ، يحدث تغيرا فى الكائن ، وهذه التغيرات عادة ماتكون ضارة ، رغم حدوث تغيرات مفيدة فى بعض الأحوال .

والطفرات إما ذاتية Spontaneous (أى تحدث بشكل طبيعى) أو مستحثة Induced (أى تحدث بتأثير عامل مطفر) . ويفترض أن الطفرات الذاتية تحدث لوجود الاشعاع الطبيعى (مثل الأشعة الكونية) ، أو تحدث أثناء التكاثر لخطأ فى ازدواج القواعد ، مما يؤدى الى تغير فى الدنا المتضاعف . وهذه الأخطاء الذاتية تحدث بنسبة ضعيفة جدا بين الكائنات ، وبمعدل طفور منخفض جدا ، يتراوح من $١٠^{-٧}$ الى $١٠^{-١٠}$ لكل زوج من القواعد فى كل دورة تضاعف للخلية ، ولما كان الجين العادى يتكون من حوالى ١٠٠٠ زوج من القواعد ، فإن المزرعة الميكروبية المحتوية على $١٠^{٨}$ خلية/ مل ، سوف تتكون فيها طفرة واحدة لكل ملليلتر من المزرعة .

والطفرة التى تتضمن واحدا أو عددا قليلا جدا من أزواج القواعد (أى تحدث فى نقطة محددة بالكروموسوم) تسمى طفرة نُقَطِيَّة Point mutation ، وهى تحدث نتيجة استبدال فى زوج من القواعد فى الدنا ، أو بسبب حدوث غرز دقيق Microinsertion ، أو إزالة دقيقة ، لزوج من القواعد Microdeletion . وكما هو الحال مع كل الطفرات ، فإن الطرز الشكلى الذى يظهر نتيجة هذه الطفرة النقطية ، يعتمد على أى موقع حدثت فيه تلك الطفرة فى الجين ، وأى نوع من التغير حدث فى القواعد ، وأى مركب يحكمه هذا الجين .

استبدال أزواج القواعد : Base pair substitution

إذا ماحدثت الطفرة النُقَطِيَّة (المُحدَّدة) Point mutation فى جين يحكم بروتين ، فإن أى تغير فى الطرز الشكلى للخلية ، لابد وأن يكون ناتجا عن التغير الذى حدث فى تتابع الأحماض الأمينية فى البروتين الناتج ، ويوضح الشكل التالى [٨ (١) - ٣] ، أزواج القواعد المستبدلة ، التى يمكن أن تحدث فى منطقة صغيرة من الدنا فى الجين الذى يحكم تكوين البروتين . وقد تم استنساخ الخطأ فى الـ mRNA ، وهذا الـ mRNA المحتوى على الخطأ سوف يستخدم كطابعة (قالب) للترجمة فى تكوين البروتين .

ويلاحظ أن أحد سلسلتى الدنا هو الذى يستخدم كطابعة لتكوين mRNA ، وأن الاستنساخ من زوج T ← A ، يختلف عما إذا تم الاستنساخ من T → A ، وتغير أى قاعدة فى mRNA ، سوف يتبعه تغير فى كود ثلاثى خاص بوجود حامض أمينى معين فى جزىء البروتين ، مما قد ينتج عنه خطأ فى تتابع الأحماض الأمينية .

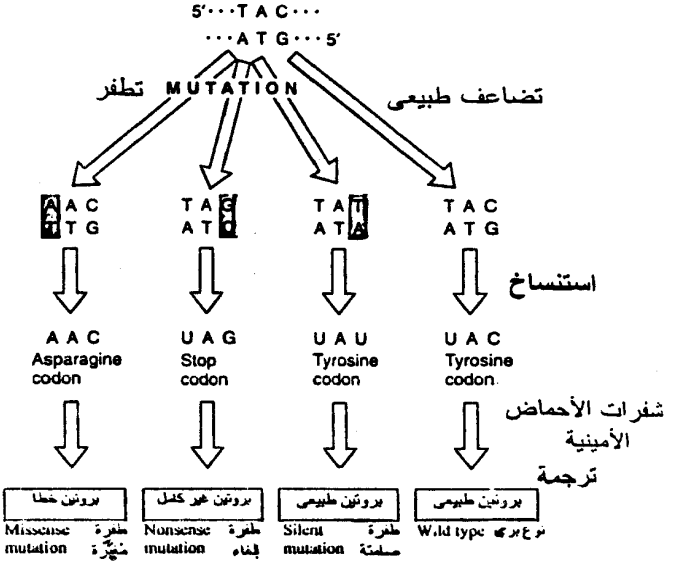
ويجب أن نلاحظ أن وجود أكثر من كود للحامض الأمينى ، قد يؤثر على ناتج تغير القواعد ، كما أنه ليست كل طفرة فى جين تؤدى إلى تغير فى بناء البروتين .

ويوضح الشكل [٨ (١) - ٣] الاحتمالات المختلفة ، التى تنتج نتيجة لتغير كود يحكم الحامض الأمينى تيروسين Tyrosine ، كما نجد أن التغير فى الـ mRNA من UAC الى UAU ليس له أثر ، حيث أن الكود الثلاثى الجديد هو أيضا كود للتيروسين ، ومثل هذه الطفرة

فى القواعد تسمى طفرة صامتة Silent mutation [1] ، ويلاحظ أن الطفرات الصامتة تحدث غالبا فى القاعدة الثالثة فى كود الأحماض الأمينية ، بيتما فى كل من الأرجنين والليوسين ، تحدث الطفرة الصامتة من وقوع تغير فى القاعدة الأولى .

وتغير القاعدة الأولى أو الثانية فى كود التيروسين ، يؤدى الى حدوث تغير كبير فى البروتين الناتج ، فمثلا تغير قاعدة واحدة من UAC إلى AAC ، تؤدى الى تغير التيروسين الى اسباراجين . وتسمى مثل هذه الطفرة (طفرة مُغَيِّرَة) [2] Missense mutation لأن تتابع الأحماض الأمينية قد تغير ، فإذا ماحدث هذا التغير فى منطقة هامة فى السلسلة الببتيدية للبروتين ، فقد يصبح البروتين الناتج غير فعال أو على الأقل يقل نشاطه .

والنتيجة المحتملة الأخرى لتغير قاعدة ، هى احتمال تكون شفرة توقف Stop codon ، وهذا يؤدى إلى إيقاف عملية الترجمة قبل اكتمالها مكونة بذلك بروتينا غير كامل ، وبالتالى غير فعال ، والطفرة من هذا النوع تسمى طفرة إلغاء ، أو طفرة عديمة المعنى Nonsense mutation ، ويكون التغير من تأثير شفرة إلغاء Nonsense codon .



شكل ٨ (١)-٣ : التأثيرات المختلفة لعملية استبدال القواعد فى بناء البروتين الناتج .
لاحظ وجود ثلاث حالات لتأثر البروتين ، ناتجة عن حدوث طفرة فى كود واحد فقط بالدنا

---

[1] طفرة صامتة Silent mutation : طفرة جينية ليس لها تأثير على الطرز الظاهرى .

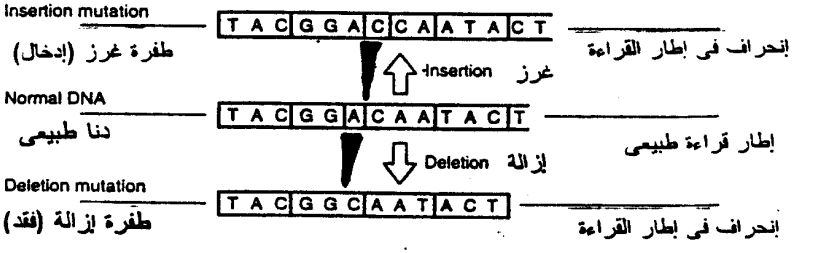
[2] طفرة مُغيِّرة ، طفرة خاطئة التعبير Missense mutation : طفرة تحدث تغييرا بوحدة التشفير الثلاثية (الكودون) الموجودة فى mRNA ، فتوجهها لتكوين حامض أمينى مغاير .

ويجب أن نلاحظ أن الطفرات التى تسبب تغيرا فى تتابع الأحماض الأمينية ، ليس من الضرورى أن تسبب تكون بروتين غير فعال ، فالناتج يتوقف على أين يحدث التغير فى السلسلة الببتيدية ، وكيف يؤثر ذلك على إلتفاف الجزىء ، والدور التنشيطى للبروتين . وأن الطفرة المغيرة Missense mutation التى تغير التتابع ، يمكن أن تؤدى الى تكون إنزيم حساس للحرارة مثلا ، ومثل هذه الطفرة تسمى طفرة الحساسية للحرارة Temperature-sensitive mutation ، وتحدث مثل هذه الطفرات فى البكتريا المعروف عنها أنها تعمل طبيعيا عند درجة ٣٠°م ولكنها لاتنمو عند درجة ٤٠°م ، بينما النوع البرى ينمو جيدا عند درجتى الحرارة المذكورتين. ومثل هذه الطفرة تسمى أيضا طفرة مشروطه Conditional mutation ، حيث أن البكتريا لايمكنها أن تنمو فى ظروف معينة ، ولكن يمكنها أن تنمو فى ظروف أخرى . وتحدث هذه الطفرة نتيجة أن البروتين الناتج عن الطفرة يستطيع أن يحافظ على شكله الفراغى فى درجة حرارة معينة ، بينما يحدث فك جزئى لالتفافه عند درجة حرارة أعلى .

طفرات انحراف اطار القراءة* : Frame-shift mutations

لما كان الكود الوراثى المكون من ثلاث قواعد ، يتم قراءته من أحد الطرفين ، فإن غرز أو إزالة زوج من القواعد يؤدى الى حدوث تغير فى إطار القراءة ، وبالتالى فإن الترجمة للجين تتغير تماما [شكل ٨ (١) - ٤] . ومن الممكن أن يتم استعادة عمل الجين جزئيا لو تم إدخال قاعدة أخرى بدلا من القاعدة المفقودة بعد التعديل ، ومع الأخذ فى الاعتبار مدى الأحماض الأمينية التى يتم تكونها بالجزء الذى لازال خاطئا ، فإن البروتين الناتج قد يكون فعالا جزئيا ، وقد يكون عاديا .

ومن المهم أن نتذكر أن الغرز (الإدخال) الدقيق Microinsertion أو الإزالة (الفقد) الدقيقة Microdeletion يسبب طفرة فى إطار القراءة فقط ، إذا ماحدث ذلك فى الجزء من الجين الذى يشفر للبروتين . بينما إدخال قاعدة واحدة فى البروموتر Promoter من الممكن أن تؤدى الى حدوث تأثير شديد على قدرة الجين على العمل ، ولكنه لايعتبر طفرة فى إطار القراءة ، وبالمثل فإن استبدال القواعد خارج منطقة إطار القراءة ، لايسبب حدوث طفرة مغيرة Missense (تسبب تغيرا فى تتابع الأحماض الأمينية) ، أو حدوث طفرة إلغاء Nonsense .



شكل ٨ (١) ٤ : الإنحراف فى إطار القراءة عند الاستنساخ ، نتيجة حدوث طفرة غرز (إدخال) أو طفرة إزالة (فقد) ، لقاعدة واحدة .

* طفرة إنحراف إطار القراءة : طفرة تنتج عن إزالة (فقد) أو غرز (ادخال) ، عدد من القواعد فى جين بخيوط الدنا .

الطفرات الرجعية (الإنعكاسية) : Back mutation, Reversion mutation

من المعروف أن الطفرة النُقَطِيَّة Point mutation طفرة رجعية ، وتعرف الطفرة الرجعية بأنها الطفرة التى تحدث فى جين طافر تعيده الى حالته الطبيعية ، بمعنى أنها الطفرة التى تجعل السلالة تستعيد الطرز الشكلى الخاص بالطرز البرى .

والطفرة الرجعية على نوعين

الأول النوع الانعكاسى ، الذى يحدث فى نفس الموضع Same-site revertants ، حيث تحدث الطفرة فى نفس الموقع الذى حدثت فيه الطفرة الأولى ، ويلاحظ أنه إذا حدثت الطفرة الرجعية فى نفس الموقع واستعادت تتابع الطرز البرى فإنها تسمى إرتجاع حقيقى True revertant .

أما النوع الثانى من الطفرات الرجعية فهو الانعكاسى الذى يحدث فى موضع ثانى ، غير الموقع الذى حدثت فيه الطفرة الأولى ، حيث تحدث الطفرة فى موقع أخر فى الدنا .

قد تؤدى الطفرة التى من النوع الثانى إلى استعادة الطرز الشكلى للطرز البرى ، نتيجة لحدوث عدد من أنواع الطفرات الكابتة Suppressor mutations* ، مؤدية لتكوين الطرز الشكلى الأصلى ، والطفرات الكابتة هى طفرات جديدة تعادل أثر الطفرة السابقة .

وهناك عدد من الطفرات الكابتة منها

١- طفرة تحدث فى موقع آخر فى نفس الجين تعيد له نشاطه ، مثل مايحدث فى طفرات إطار القراءة

٢ - طفرة تحدث فى جين أخر ، تؤدى الى استعادة الطرز الشكلى البرى .

٣- طفرة قد تؤدى إلى تكوين إنزيم أخر يحل محل الأنزيم الذى تأثر بالطفرة الأولى ، وذلك نتيجة لإحداث مسار أيضى بديل لذلك الذى كان يستخدم فى حالة الإنزيم الذى تطفر .

الطفرات المتضمنة عديد من أزواج القواعد

تشمل هذه الطفرات عدة أنواع ، منها

أ - طفرة الإزالة (الفقد) Deletion mutation

وهى الطفرة التى يتم فيها إزالة جزء من الدنا ، **والإزالة الدقيقة Microdeletion** هى التى يتم فيها إزالة قاعدة واحدة أو عدد قليل جدا من القواعد، والتى تؤدى الى طفرات فى إطار القراءة .

أما الإزالة الكبيرة Macrodeletion ، فهى التى تتضمن فقد المئات أو الآلاف من أزواج القواعد ، ويؤدى هذا الفقد الكبير من الدنا إلى فقد تام لعمل الجين الذى حدثت فيه تلك الطفرة . وحالات الفقد قد تكون كبيرة ، لدرجة إنها تتضمن عددا من الجينات ، فإذا ماكان أى من هذه الجينات أساسيا للحياة ، فإن الطفرة تصبح مميتة .

---

* طفرة الكابت (الكابح) Suppressor mutation

الكابت جين بالدنا يمنع جين آخر من إظهار طرزه الشكلى ، وحدوث طفرة بالكابت ، تعيد كليا أو جزئيا وظيفة الكابت التى فقدت بسبب طفرة سابقة .

ومثل هذا الفقد لايمكن استعادته بطفرات أخرى ، ولكن يمكن استعادته فقط بواسطة الإتحادات الوراثية .

وفى الحقيقة ، فإن احدى الطرق التى يمكن بها التمييز بين الطفرة المحدودة الموقع (النقطية) ، وبين طفرات الإزالة ، هى أن الأولى يمكن استعادة حالتها الأصلية بالطفرة الرجعية بعكس طفرات الإزالة .

ب – طفرة الغرز (الادخال) Insertion mutation

ويتم الغرز عندما تضاف قواعد جديدة للدنا ، وكما ذكر فى طفرة الإزالة ، فإن الغرز قد يكون دقيقا **Microinsertion** ، أى يتضمن قاعدة واحدة أو يتضمن جزءا صغيرا من القواعد ، ويحدث ذلك نتيجة خطأ فى التضاعف .
أو قد يحدث الغرز بنسب كبيرة **Macroinsertion** ، أى بإضافة المئات أو الآلاف من أزواج القواعد ، ويحدث ذلك كنتيجة لخطأ أثناء الاتحادات الوراثية .

بالإضافة إلى ماسبق ، فان هناك أنواعا أخرى من الطفرات الكبيرة الحجم ، التى تنتج عن إعادة ترتيب القواعد ، نتيجة وقوع أخطاء فى الاتحادات الوراثية . وتتضمن هذه الطفرات

١ – الانتقال Translocation

والذى يتم فيه تحرك جزء كبير من الدنا الكروموسومى من موقعه الى موقع آخر جديد بنفس الكروموسوم ، بل قد تنتقل إلى كروموسوم آخر فى حقيقيات النواة .

٢– الانقلاب ، الانعكاس Inversion

والذى يتم فيه حدوث كسر فى نقطتين على الدنا الكروموسومى ، ثم تدور القطعة المكسورة بين نقطتى الكسر ١٨٠ درجة ، وتتحد نهايتى القطعة المكسورة بالدنا فى عكس موضعها السابق ، وبذلك ينعكس وضع القطعة المكسورة من الدنا ، بالنسبة لباقى الجزىء ، مما يؤدى إلى إنعكاس النسق الجينى .

معدل الطفور : Rate of mutation

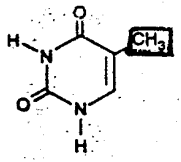
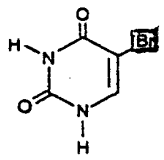
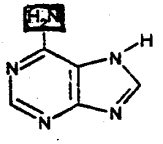
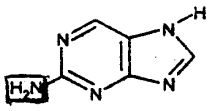
معدل الطفور هو متوسط عدد الطفرات التى تنتج من الخلية فى الانقسام الخلوى الواحد ، ويقدر هذا المعدل عادة بالخلايا البكتيرية وهى فى طور النمو السريع تحت ظروف مزرعية مثلى .
ويوجد اختلاف كبير فى معدل الطفور بين مختلف الطفرات ، فبعض الطفرات تكون نادرة جدا، لدرجة يكون من المستحيل ملاحظتها ، بينما تحدث بعض الطفرات الأخرى بكثرة ، لدرجة تجعل من الصعب على الباحث إمكانية المحافظة على ثبات المزرعة .
وعموما ، فإن معدل الطفور الذاتى فى أى جين يصل فى المتوسط الى $١٠^{-٦}$ لكل جيل . وهذا يعنى أن هناك فرصة واحدة فى المليون ، لحدوث طفرة فى موقع ما فى الجين مع كل دورة تضاعف للخلية . أما طفرات الإلغاء Nonsense فإنها تكون بمعدل أقل (من $١٠^{-٦}$ الى $١٠^{-٨}$) ، حيث أن عددا قليلا من القواعد يمكن أن يحدث فيها شفرة إلغاء Nonsence codon، وأيضا فإن الطفرات المُغَيِّرة Missense mutations ، تحدث بنفس المعدل أيضا .
ويلاحظ أنه يمكن زيادة معدل الطفور ، باستخدام المطفرات .

المطفرات : Mutagens

المطفرات الكيميائية

كثير من المطفرات الكيميائية عبارة عن مشابهات للقواعد النتروجينية Base analogs، حيث تتشابه هذه المطفرات مع قواعد البيورين والبريميدين فى تركيبها مع اختـــلاف ضئيـــل ، ويؤدى وجود المطفرات الكيميائية بالوسط الى حدوث أخطاء فى ازدواج القواعد النتروجينيـــة ، بازدواجها مع المطفرات الكيميائية بدلا من ازدواجها مع القاعدة الأصلية ، مما يؤدى لحـــدوث طفرة ، [شكل ٨ (١) – ٥] .

ويوضح جدول [٨ (١) – ٤] بعض المطفرات وتأثيرها المطفر.

المطفرة الناتجة	القاعدة الأصلية	القاعدة المشابهة
تزاوج ٥- بروموبورا سيل مع جـ ا ين محولا تزاوج A-T الى G-C	 Thymine	 5-Bromouracil (a)
تزاوج ٢- أمينوبيورين مع سيتوزين محولا تزاوج A-T الى G-C	 Adenine	 2-Aminopurine (b)

شكل ٨ (١)- ٥ : التطفر لوجود مشابهات للقواعد النتروجينية
(a) مادة مشابهة لقاعدة الثايمين (b) مادة مشابهة لقاعدة الأدينين .

جدول ٨ (١)- ٤ : بعض المطفرات الكيميائية والفيزيائية ونظام تأثيرها .

العامل المطفر	نظام التأثير	نتيجة التأثير
مشابهات القواعد Base analogs		
5-Bromouracil	- تعمل مثل القاعدة T - وإزدواج خاطىء مع G	A-T pair → G-C pair
2- Amino purine	- تعمل مثل القاعدة A - وإزدواج خاطىء مع القاعدة C	A-T → G-C
كيميائيات تتفاعل مع حامض الدنا مثل		
Nitrous acids (NHO_2)	- نزع مجموعة الأمين فى قواعد A,C	A-T → G-C & G-C → A-T
Hydroxylamine (NH_2OH)	- التفاعل مع القاعدة C	G-C → A-T
عوامل مؤلكلة Alkylating agents		
أ - أحادية التأثير مثل Ethyl methane sulfonate	- وضع مجموعة مثايل على القاعدة G - وازدواج خاطىء مع T	G-C → A-T
ب - ثنائية التأثير ، مثل Mitomycin Nitrogen mustards Nitrosoguanidine	- تقاطع مع خيوط الدنا - وقطع خاطىء لمنطقة بواسطة DNase	طفرات نقطية ، وإزالة
ج - صبغات مقحمة للمواد ، Intercalactive dyes ، مثل Acridines Etlidiun bromide	غرز بين زوجين من القواعد	غرز دقيق ، وإزالة دقيقة
اشعاع Radiation		
أشعة فوق بنفسجية ٢٦٠ نانومتر طول موجى	تكوين أزواج من قواعد البريميدين	قد يؤدى امتصاص الأشعة إلى حدوث ازدواج خاطىء ، أو حدوث إزالة
أشعة مؤينة مثل X-rays ٥ نانومتر طول موجى	مهاجمة الشقوق الكيميائية الحرة لحامض الدنا ، وتأينها	قد يؤدى التأين الى حدوث خطأ أو حدوث ازالة

وهناك العديد من المواد الكيميائية [جدول ٨ (١) - ٤] ، التى تتفاعل مع الدنا محدثة تغيرا كيميائيا فى واحدة أو أكثر من القواعد ، مما يؤدى إلى حدوث خطأ فى ازدواج القواعد ، من هذه المواد ، تلك التى تضيف مجاميع الكيل وتسمى عوامل مؤلكله Alkylating agents مثل النتروزوجوانيدين Nitrosoguanidine ، وهو من المطفرات القوية ، حيث يحدث نسبة عالية من الطفرات أكثر مما تحدثه مشابهات القواعد . وتختلف هذه المواد المؤلكله عن مشابهات القواعد ، من حيث إنها تتفاعل مع الدنا محدثة تغيرا حتى لو لم يكن الدنا فى حالة تضاعف ، بينما مشابهات القواعد تعمل من خلال دخولها فى تركيب الدنا أثناء التضاعف .

وهناك مجموعة أخرى هامة من المطفرات وهى مركبات الاكريدين Acridines ، وهذه المركبات تدخل بين القواعد فى الدنا لتباعد بينها ، وأثناء التضاعف يؤدى ذلك التباعد إلى إدخال قواعد جديدة فى الدنا المعامل ، مما يزيد من طوله ، ويؤدى إلى حدوث تغيير فى إطار القراءة .

الإشعاع : Radiation

كثير من أنواع الإشعاع لها تأثير مطفر ، ويمكن تقسيم هذه المطفرات إلى قسمين ، هما الأشعة المؤينة والأشعة غير المؤينة ، ورغم أن كلا النوعين من الأشعة يستخدمان فى احداث الطفرات ، إلا أن الأشعة غير المؤينة (فوق البنفسجية) هى الأكثر استخداما .

فمن المعروف أن قواعد البيورين والبريميدين فى الأحماض النووية تمتص الأشعة فوق البنفسجية بشدة ، ويقع أقصى امتصاص لها عند طول موجى ٢٦٠ نانومتر ، والبروتين أيضا يمتص الأشعة فوق البنفسجية ولكن أقصى امتصاص له يكون عند ٢٨٠nm (ويرجع هذا الامتصاص العالى للبروتين ، الى الأحماض الأمينية الحلقية من التربتوفان ، الفينايل ألانين ، التيروزين ، الداخله فى تركيبه) .

والأثر القاتل للأشعة فوق البنفسجية يرجع لأثرها على الدنا ، ويقع أقصى تأثير قاتل لهذه الأشعة عند طول ٢٦٠ nm ، وللأشعة فوق البنفسجية عدد من التأثيرات على الدنا ، من أهمها إحداث ازدواج لقواعد البريميدين (Pyrimidine dimers) المتجاورة بروابط تساهمية Covalent bands . وعلى هذا ، فإنه عند تضاعف الدنا فمن المحتمل بدرجة عالية أن يُدخِل إنزيم DNA polymerase ، قاعدة خاطئة فى هذا الموقع .

ولإحداث الطفرات بواسطة الأشعة فوق البنفسجية ، فإنه يستخدم لهذا الغرض لمبات الأشعة فوق البنفسجية المستخدمة فى قتل الميكروبات ، حيث تعطى نسبة عالية من الإشعاع عند ٢٦٠nm ، وتستخدم جرعة من الاشعاع تؤدى الى قتل ٩٠ - ٩٥% من خلايا المزرعة ، ويتم البحث عن الطفرات فى الخلايا الحية الباقية .

وإذا ماأستخدمت جرعة أقل ، فإن نسبة الطفرات تقل نتيجة نقص الأثر الضار على الخلايا ، وتعتبر الأشعة فوق البنفسجية من أكثر الأشعة غير المؤينة استخداما فى الطفور .

أما بالنسبة للأشعة المؤينة ، فإنها تعتبر مصدرا قويا ومؤثرا ، وهى تضم الأشعة قصيرة الموجة مثل أشعة اكس X-rays ، والأشعة الكونية Cosmic rays ، وأشعة جاما Gamma rays ، وتؤدى الأشعة المؤينة إلى إحداث تأين فى الماء وغيره من المواد .

ويحدث التأثير المطفر للأشعة المؤينة بطريقة غير مباشرة نتيجة لماتسببه من تأين ، ومن أكثر التأثيرات لهذا التأين تكون الشقوق الكيميائية الحرة Free radicals وأهمها مجاميع الهيدروكسيل HO^- ، وتتفاعل الشقوق الحرة مع الجزيئات البيولوجية الكبيرة Macromolecules وأهمها الدنا ، وليس معنى هذا أن الدنا أكثر حساسية للأشعة المؤينة عن غيره من الجزيئات الكبيرة ، ولكن نظرا لأن كل جزىء دنا يحتوى عادة على نسخة واحدة من كل جين ، فإن التفاعل معه وتثبيطه يكون ذو تأثير شديد . وعند الجرعات المنخفضة من الأشعة المؤينة فإن ماتسببه من أضرار للدنا يكون قليلا ، بينما عند جرعات أعلى فإنها تحدث أضرارا متعددة مؤدية الى موت الخلايا .

وعلى عكس الأشعة فوق البنفسجية ، فإن الأشعة المؤينة لها قدرة على إختراق الزجاج رغيره من المواد ، وعلى هذا فإن الأشعة المؤينة تستخدم بكثرة فى إحداث الطفرات فى النبات والحيوان ، حيث أن قدرتها العالية على الاختراق تجعل من الممكن أن تصل إلى الخلايا الجنسية لهذه الكائنات ، ولكن يجب أن نلاحظ أنه نظرا لخطورة الأشعة المؤينة وصعوبة توفيرها ، فإنها أقل استخداما فى عمل الطفرات فى الكائنات الدقيقة ، خصوصا وأن قدرة الاختراق المحدودة للأشعة فوق البنفسجية ليست مشكلة تعيق إستخدامها .

المتنقلات ، الترانزبوزونات : Transposons

من مسببات الطفور أيضا ، مايعرف بالمتنقلات Transposons ، واختصارها Tn ، وهذه عبارة عن وحدات من الدنا ، قادرة على الانتقال من جزىء دنا إلى آخر ، أو من جزىء دنا الكروموسوم الى البلازميد أو بالعكس ، وتتفرز بالجزىء المنقولة إليه .

وتوجد هذه المتنقلات فى خلايا بدائيات النواة ، وفى خلايا حقيقيات النواة ، ومنها مايحمل عوامل جينية هامة مثل جينات تخمر بعض السكريات ، كما أن المتنقلات قادرة على إحداث تغيرات فى الدنا ، بالإزالة Deletion ، أو بالانعكاس Inversion* ، ومن أمثلة هذه المتنقلات ، مايأتى من الفاج المسمى Mu ، المعتبر كعامل مطفر Mutagen .

انطفرات الناتجة عن عمليات إصلاح الدنا : Mutations arising from DNA repair

نعلم أن الطفرات هى تغيرات موروثة فى الدنا ، وعلى هذا فإذا ماحدث أى خطأ فى تكوين الدنا وأمكن إصلاحه قبل انقسام الخلية ، فان هذا يؤدى الى عدم حدوث طفرات ، وعلاوة على ذلك فإن الدنا قد يحدث ضررا لايمكن أن يتضاعف ، وبهذا لايمكن إعتباره طفرة، فعلى سبيل المثال ، اذا حدث فى جزىء دنا ازدواج لقاعدتى بريميدين ، فإنه لايمكن أن يتضاعف ليعطى جزيئين من الدنا بكل منهما هذا الازدواج ، فإذا لم يتم إصلاح هذا الخلل فإن الخلية تموت .

---

* أنظر الطفرات المتضمنة عديد من أزواج القواعد ص ٥٧٣ و ٥٧٤ .

وتحتوى أغلب الخلايا على عدد من نظم إصلاح الدنا لتصلح الأخطاء أو الضرر الذى حدث بالدنا ، ورغم أن أغلب نظم الإصلاح لايحدث بها أخطاء . إلا أن بعض عمليات الاصلاح يكون بها ميل لحدوث أخطاء ، بحيث أن نظام الإصلاح نفسه يؤدى لحدوث طفرات .

ولذلك ، فإن هناك العديد من الطفرات التى تتكون ، نتيجة لوقوع خطأ فى عمليات إصلاح إضرار الدنا التى تحدث نتيجة لعوامل مختلفة . وهناك ميكانيكية فى الخلية ، تسمى نظام الطوارىء الخاص بالاصلاح SOS repair system * ، تنشط عند حدوث ضرر فى الدنا مما يؤدى الى نشاط ميكانيكيات عمليات الإصلاح ، ونظرا لأنه نظام طوارىء ، فان بعض نظم الإصلاح تعمل بدون قالب Template ، مما يؤدى لحدوث بعض الأخطاء ، وبالتالى إلى حدوث بعض طفرات .

وفى نظام الطوارىء ، نجد أن الضرر فى الدنا يعمل كمنبه للخلية ، حيث يؤدى إلى تنشيط عدد من الأنشطة الخلوية التى تعمل على إصلاح الدنا . ويلاحظ أن نظام الطوارئ فى الظروف العادية يتم تثبيطه بواسطة بروتين يسمى LexA protein ، ولكن عند وجود ضرر ، يتكون إنزيم بروتييز يسمى RecA يثبط عمل LexA ، مما ينشط نظام الطوارئ .

ونظرا لأن بعض نظم الإصلاح يوجد بها ميل لحدوث أخطاء ، فإن هذا يؤدى إلى تكوين طفرات عديدة ، ومن هنا يتضح بإنه من خلال نظام الطوارىء ، فإن إصلاح الضرر فى الدنا ، الناتج عن تأثير بعض العوامل مثل الكيميائيات أو الاشعاع ، قد ينتج عنه طفرات فى بعض الحالات .

ويجب أن نشير الى أن عمليات إصلاح الدنا لاتتم كلها فى غياب توجيه من القالب Template ، فالخلية عادة مايوجد بها كثير من نظم الإصلاح التى تعمل بتوجيه من القالب ، وبالتالى فإن ذلك يؤدى الى إصلاح منضبط للدنا ، وهذه الأنظمة تعمل أغلب الوقت ، ومع ذلك ، فإنها تكون غير كافية لإصلاح الأضرار الكبيرة ، التى تحدثها بعض العوامل المطفرة التى سبق ذكرها .

---

* Save Our Souls : SOS

نداء استغاثة يستعمله البحارة ، عند مخاطبة السفن المجاورة لموقع تواجدهم ، لإنقاذهم من الغرق ، أو من كارثة ستصيبهم ، ويستعمل نفس التعبير على سبيل المجاز ، لاصلاح الأضرار التى تحدث بدنا الخلية .

﴿الباب الثامن – الفصل الثانى﴾

انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة
مقدمـــــة	٥٨٣
طرق انتقال المادة الوراثية فى البكتريا ..... [شكل ٨ (٢) – ١]	٥٨٤
أولا : التحول الوراثى	٥٨٥
تجارب جريفث	٥٨٥
إثبات أن الدنا DNA هو المسئول عن التحول الوراثى	٥٨٧
ظاهرة القدرة على التحول الوراثى	٥٨٩
أخذ الخلايا للدنا فى عملية التحول الوراثى	٥٩٠
اندماج الدنا فى جينوم الخلايا المستقبلة	٥٩١
تلازم الصفات فى التحول الوراثى	٥٩٢
أهمية عملية التحول الوراثى	٥٩٣
حدوث التحول الوراثى فى الطبيعة	٥٩٤
ثانيا : الاستقطاع ، الانتقال الوراثى عبر الفاج.....	٥٩٥
ظاهرة البكتريا الليسوجينية	٥٩٥
طبيعة الفاج الأولى	٥٩٦
تعريف الاستقطاع	٥٩٩
أنواع الاستقطاع	٥٩٩
١ – الاستقطاع العام	٥٩٩
٢– الاستقطاع المتخصص	٦٠٢
ثالثا : التزاوج وانتقال الكروموسوم	٦٠٤
التزاوج بين الخلايا البكتيرية	٦٠٤
عامل الجنـــس	٦٠٥
شعيرات (بيلات) الجنس	٦٠٦
طريقة انتقال الدنا أثناء التزاوج	٦٠٦
تتبع التزاوج	٦٠٨

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

سلوك وصفات السلالات عالية التكرار للإتحادات الجينية ٦٠٨
انتقال جينات الكروموسوم الى بلازميد الجنس ٦٠٩
التزاوج المتقطع ٦٠٩

الخريطة الجينية فى البكتريا ٦١٠
الخريطة الجينية لبكتريا *E. coli* ..... ٦١٠ ، ٦١١
الناقل الجينى وخريطة الجينوم البشرى ٦١٢

﴿الباب الثامن – الفصل الثانى﴾

انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا ، الاتحاد الجينى فى البكتريا

Recombination in Bacteria

مقدمـــة

يعنى مصطلح Recombination ، انتقال جزء من المادة الوراثية من خلية مانحة الـى خلية أخرى مستقبلة ، واندماج المادة المنقولة مع كروموسوم الخلية المستقبلة . ويعتـبر انتقـال العوامل الوراثية بين الخلايا البكتيرية ، أحد الوسائل التى تساعد البكتريا على التغـير والتكيـف مع الأوساط التى تعيش فيها .

والمعروف أن انتقال الصفات الوراثية فى الكائنات الراقية يتم بطريقة منظمـة خـلال الدورة التزاوجية ، أما فى الكائنات بدائية الخلايا Procaryotes ، فان هذا الانتقال يتم عشـوائيا، ويتم انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا بعدة طرق ، كلها تتضمن انتقال جزء (Fragment) من دنا خلية تسمى الخلية المانحة Donor ، الى خلية أخرى تسمى الخليـة المسـتقبلة Recipient، وهذا الجزء المنقول ، يندمج مع جينوم Genome الخلية المستقبلة حاملا معه الصفات الجديدة .

والجينوم أى الجهاز الوراثى للكائن ، كما ذكـر سـابقا (ص ٢٦١) ، هـو مجمـوع الجينات التى تحملها جميع الكروموسومات الفردانية 1N ، الموجودة بخلية الكائن ، وهى جينات منقولة من الخلية الأبوية الى الخلية البنوية .

ويختلف حجم الجينوم كثيراً من كائن لآخر ، وفى المتوسط فإن عدد القواعد بـالمليون ، التـى توجد بالجينوم ، تبلغ حوالى (٥,٠) فى الكولاى ، و (١٥) فى خميرة الخبـاز ، و (١٨٠) فـى ذبابة الدروسوفيلا و (٣٠٠٠) فى الإنسان .

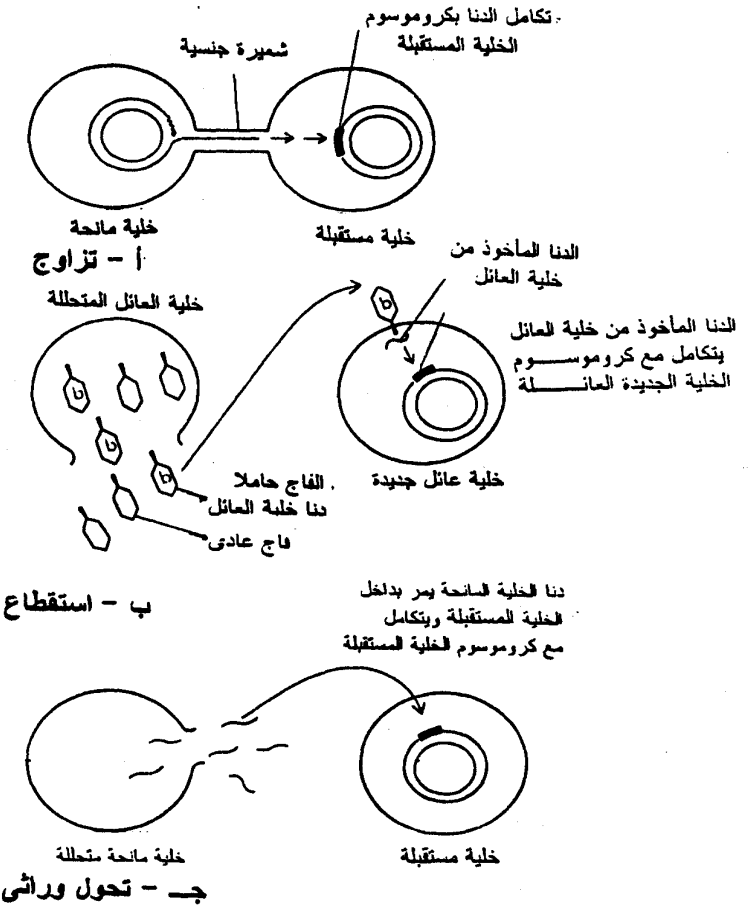
وطرق انتقال المادة الوراثية ثلاثة [شكل ٨ (٢)-١] ، هى

١- **التحول الوراثى Transformation** ، وفيه يتم انتقال جزء من دنا خلية مانحة ذات طـرز جينى معين ، إلى الخلية المستقبلة التى من نفـس النـوع ، ولكنـها مـن طـرز جينـى اخر . وينتقل ذلك الجزء من الدنا فى صورة حرة ذائبة .

٢- **الاستقطاع (أو الانتقال عبر الفاج) Transduction** ، وفيه ينتقل جزء من المادة الوراثيـة من خلية مانحة ، الى خلية أخرى مستقبلة محمولا على الفاج .

٣- **التزاوج Conjugation** ، وفيه تنتقل المادة الوراثية من خلية مانحة لأخـرى مسـتقبلة ، نتيجة لاتصال حقيقى يحدث بين الخليتين Cell to cell contact ، وغالباً مايتم ذلـك عـن طريق شعيرة جنسية .

وعلى العموم ، فإن انتقال العوامل الوراثية بين خلايا البكتريا ليسـت عمليـة شـائعة الحدوث مثل الكائنات الراقية ، ولكنها تحدث فى عدد محدود من الخلايا البكتيريـة التـى فـى المزرعة ، ولذلك فان تتبع حدوث هذا الانتقال بأنواعه المختلفة ، يحتاج لطرق خاصة ، ويكون فيه من الضرورى أيضا ، استخدام خلايا مستقبلة من سلالة تؤدى عملية التزاوج فيـها ، الـى ظهور صفة جديدة مميزة ، توضحها عن باقى الخلايا البكتيرية الأخرى الموجودة فى المزرعـة حتى يمكن تتبعها .



شكل ٨ (٢)-١ : طرق انتقال المادة الوراثية فى البكتريا

أ - التـــــــزاوج : إنتقال المادة الوراثية بين خليتين ملتصقتين ببعضهما غالبا عن طريق شـــميرة جنسية .

ب - الاستقطـــــاع : إنتقال المادة الوراثية بين الخليتين بواسطة البكتريوفاج .

جـــ - التحول الوراثى : انتقال المادة الوراثية الحرة المستخلصة من خلية مانحة إلى خلية مستقبلة

أولاً : التحول الوراثى : Transformation

تجارب جريفث

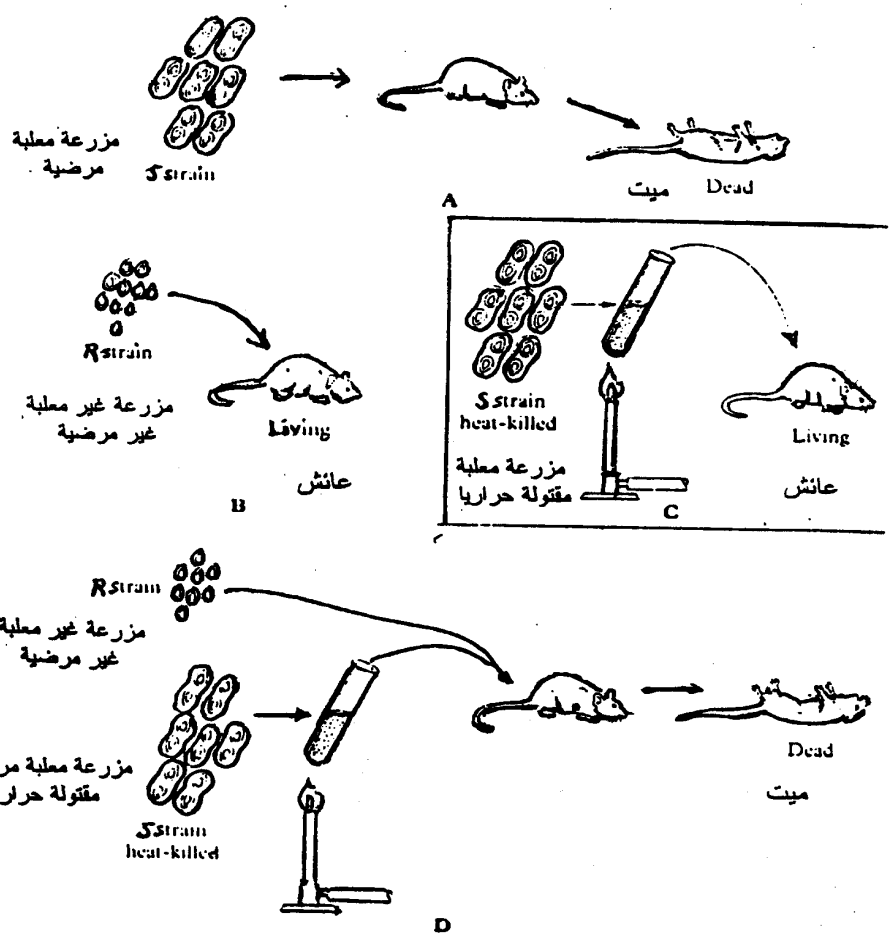
يعتبر اكتشاف وتفهم عملية التحول الوراثى ، من أهم التطورات التى حدثت فى السنين الأخيرة فى مجالات العلوم البيولوجية ، وبالأخص فى مجال الوراثة ، وهذا الإكتشاف هو الذى أعطى إثباتاً كبيرا على أن الدنا هو الحامل للصفات الوراثية ، ونتيجة لذلك ، فقد ظهر مايعرف بعلم البيولوجيا الجزيئية Molecular biology (*) .

ولقد بدأت قصة إكتشاف التركيب الكيميائى للجينات منذ عام ١٩٢٨ ، عندما قام **Griffith** عام ١٩٢٨ ، بتجربته المشهورة عن عدوى الفئران ببكتريا *Streptococcus pneumoniae* المسببة للالتهاب الرئوى فى الانسان ، كما أنها بكتريا شديدة العدوى للفئران ، وتلقيح الفأر بجزء من بصاق المريض يسبب موت الفأر خلال ٢٤ ساعة ، وعند موت هذا الفأر نجد أن البكتريا موجودة بكثرة فى قلب ودم الحيوان . والمعروف أن الضراوة الامراضية لبكتريا الالتهاب الرئوى ، ترتبط بوجود العلبة Capsule ، التى تحمى الميكروب من أثر الجهاز المناعى للجسم ، ومعروف أيضا أنه يتم تقسيم بكتريا النيمونيا الى سلالاتها المختلفة التى تصل الى أكثر من ٨٠ سلالة ، طبقاً للخواص السيرولوجية لمادة العلبة . وعادة ماتتكون سلالات بدون علبة نتيجة التطفر ، تسمى طفرات ذات سلالات خشنة R- type mutants, Rough form ، وهى سلالات فاقدة للقدرة الامراضية ، بينما السلالات المعلبة تسمى سلالات ناعمة S-type, Smooth form ، وهى سلالات عالية القدرة الامراضية ، وصفة تكون العلبة صفة وراثية مرتبطة بالسلالة .

بعد معرفة هذه الخصائص لبكتريا النيمونيا نعود لتجربة جريفث ، فقد حقن جريفث سلالة (أ) حية غير معلبة (R) غير مرضية فى فأر ، ومخلوط معها سلالة (ب) أخرى مرضية معلبة (S) ، ولكنها مقتولة حراريا ، وكانت النتيجة مدهشة حيث مات الفأر ، وعندما عزلت السلالة المسببة للموت من دم الحيوان ، وجد أنها سلالة معلبة من النوع (ب) ، وهذا الذى حدث لايتأتى إلا بتفسير واحد ، وهو أن السلالة المعلبة الميتة (ب) أحدثت تحولاً وراثياً Transformation للسلالة (أ) غير المعلبة الحية ، وأعطتها صفة القدرة على تكوين العلبة ، وبالتالى صفة الضراوة الامراضية ، ونظرا لأن السلالة (أ) إكتسبت علبة من النوع (ب) ، فأنها تحولت من النوع (أ) غير المعلب ، غير الممرض ، الى النوع (ب) المعلب الممرض ، حيث أن تمييز السلالات يكون عن طريق العلبة ، والشكل[٨ (٢) -٢] يوضح ملخصا لهذه التجربة .

ولقد أثبتت التجارب التى أجريت بعد ذلك لمدة ثلاث سنوات ، أن الفأر لم يكون إلا دليلاً أمكن به تتبع وإثبات التحول ، وأن الفأر ليس ضرورياً لحدوث هذا التحول الوراثى ، وأن مثل هذا التحول يمكن أن يحدث فى أنبوبة الاختبار فى المعمل ، وذلك بتنمية مزرعة R فى

(*) البيولوجيا الجزيئية Molecular biology ، هو العلم الذى يدرس مكونات الخلية على أقل مستوى جزيئى ، حيث يبحث التركيب الجزيئى للجينات وخواصها ووظائفها ، والفعاليات الحيوية الجزيئية التى تتم فى الجسم الحى .



شكل ٨ (٢)-٢ : تلخيص لتجربة جريفث التى كانت بداية لاثبات عملية التحول الوراثى فى البكتريا .

A : موت الفار المحقون ببكتريا النيمونيا (S) ذات العلبة .

B : عدم موت الفار المحقون ببكتريا النيمونيا (R) عديمة العلبة .

C : عدم موت الفار المحقون ببكتريا النيمونيا (S) ذات العلبة المقتولة حراريا .

D : موت الفار المحقون ببكتريا النيمونيا المحولة وراثيا .