3- الفراغ السايتوبلازمي Periplasmic space :

من خلال تقنية المجهر الالكتروني تشير الى ان هنالك فراغا ضئيلا يتوسط الجدار الخلوي والغشاء السايتوبلازمي يتوسط هذا الفراغ عدد من الانزيمات المحللة حيث يتم تبسيط الجزيئات المعقدة التي تدخل الخلية عبر الجدار الخلوي وتحولها الى سكريات وحوامض امينية ، ثم يتم تحميل هذه المواد المبسطة الى داخل الخلية بتوسط الأنظمة النشيطة .

يحتوي الفراغ السايتوبلازمي على :-

أ. بروتينات ربط متخصصة Binding protein for specific substrate

تعمل على نقل المواد التالية : amino acid , ions , vitamins , sugars

ب. الانزيمات المحللة

مثال : B-Lactamase , alkaline phosphatase ..... الخ .

4 - البروتوبلاست Protoplast

يوجد الجدار الخلوي في الاحياء بدائية النواة وبعض الخلايا الحقيقة النواة مثل الخمائر والاعفان وبعض النباتات يمكن إزالة جدران هذه الخلايا دون ان تفقد حيويتها اذا ماحفظت في ضغط تنافذي مناسب ، فالخلية في هذه الحالة تدعى ال Protoplast : وهي عبارة عن جسم مكور دائما مهما كان شكل الخلية المشتق منها وذلك بسبب غياب الجدار الخلوي ، ويبقى البروتوبلاست كما هو لبضعة ساعات في محلول ذات ضغط تنافذي عالي نسبيا مثل كلوريد الصوديوم 1% او سكر الكلوكوز 21 % او مصل الدم 21 % لكي يعادل الضغط التنافذي الذي يسلط على الغشاء السايتوبلازمي من داخل السايتوبلازم يتميز هذا الشكل بكونه غير متحرك وغير قادر على الانقسام ولا على تكوين جدار خلوي وغير معرض للإصابة بالعاثيات .

يتم الحصول على البروتوبلاست عن طريق تنمية الخلية في وسط غذائي يحتوي على البنسلين Penicillin او معاملتها بمادة Lysozyme .

مادة ال Lysozyme : انزيم موجود في زلال البيض وافرازات البشرة والاغشية المخاطية والسائل الدمعي . يهاجم الLysozyme الاواصر الكلايكوسيدية التي تربط السكريات المتعددة ضمن تركيبPeptidoglycan تتاثر البكتريا+Gاكثر من البكتريا ve-G لاحتواء الأخير على طبقة رقيقة من ال peptidoglycan بالإضافة الى وجود طبقات جدارية أخرى مثل outer membrane ومواد دهنية معقدة (عمليا يتم إزالة ال outer membrane بمادة هيدروكسيد الصوديوم NaOH المذيبة للدهون ثم تعامل بالانزيم المحلل) .

عند إزالة الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة لصبغة كرام تسمى الحالة protoplast اما إزالة طبقة ال peptidoglycan في البكتريا السالبة لصبغة كرام تسمى spheroplast مع بقاء الاغلفة

الخارجية الأخرى (outer membrane) ويمكن ان تحدث هذه الظاهرة بصورة ذاتية نتيجة تاثير المضادات الحيوية وتبقى محافظة على الخلية وتتكاثر دون ان تتاثر بفعل المضاد الحيوي مرة ثانية .

5-الجسم الوسطى Mesosome

يظهر على شكل انبعاجات معقدة متصلة بالغشاء السايتوبلازمي كما انه يختفي عند إزالة الجدار الخلوي وتحضير البروتوبلاست وهذا يعني ان الغشاء السايتوبلازمي يتمدد ليحيط بالسايتوبلازم وبذلك يأخذ معه الجسم الوسطى اثناء عملية التمدد .

وظائف ال Mesosome

أ. يساهم في تكوين الحواجز المستعرضة الخلوية المتكونه اثناء انقسام الخلية البكتيرية .

ب. يعمل على توزيع المادة النووية على شطري الخلية المنقسمة .

ت. لها علاقة ببعض الفعاليات الحيوية الأخرى مثل تفاعلات الاكسدة والاختزال ، تكوين السبورات ، التركيب الضوئي، تثبيت النتروجين ، افراز بعض الانزيمات ، تكوين بعض البروتينات ، التنفس الخلوي ... .

6- الاسواط Flagellum(s) , Flagella (p)

ان افراد العديد من المجاميع البكتيرية لاتستطيع الحركة تماما كما في جميع أنواع المكورات البكتيرية تقريبا وعدد من أنواع العصيات .

الاسواط : عبارة عن خيوط رفيعة جدا تنشا من السايتوبلازم وتبرز الى الخارج من خلال الجدار الخلوي ويبلغ طول السوط اضعاف طول الخلية البكتيرية ويصل الى(3-u20) طولا ، ويبلغ قطره (12-nm30) ويتالف من وحدات بروتينية عدة الاف من الجزيئات تسمى Flagelin تتجمع هذه الوحدات البروتينية مشكلة هيكل حلزوني helical structure واذا تمت إزالة السوط بصورة ميكانيكية تستطيع البكتريا تصنيع سوط جديد بسرعة .

تحمل الاسواط صفة مستضدية عالية (H antigen) وبعض الاستجابات المناعية للاصابات البكتيرية تكون مباشرة ضد ال Flagelin) ويختلف ال Flagelin من نوع الى اخر الا ان بروتينات الاسواط تشترك في احتوائها على الحامض الاميني Aspartic, Glutamic وتدخل مواد أخرى مثل glycoprotein .

يتالف السوط من ثلاثة أجزاء رئيسية :

أ . الجزء القاعدي basal body الذي بواسطته يرتبط السوط بالبكتريا .

ب.الكلاب Hook ويربط الجزء القاعدي بجسم السوط .

ت . جسم السوط Filament (Flagellum body) .

يختلف ترتيب الاسواط على البكتريا باختلاف الأنواع اما يكون : -

- سوط واحد قطبي ويسمى Monotrichous .
- مجموعة اسواط في قطب واحد Lophotrichous .
- سوط في كل قطب Amphitrichous .
- عدد من الاسواط حول الخلية Peritrichous) تتراوح بين 10-100 سوط .

ويعتمد موقع السوط وعدده كصفة تصنيفية للرتبة مثال على ذلك :-

order : Pseudomonales تشمل جميع البكتريا التي تحتوي على اسواط قطبية .

order : Eubacterials تشمل جميع البكتريا التي تحتوي على اسواط محيطية .

حركة البكتريا :

توجد عدة فرضيات توضح الحركة : -

1. تتقبض وتنبسط الوحدات البروتينية المكونة للاسواط منتجة بذلك ما يشبه التموجات فهي قد تسحب او تدفع الخلية.
2. الفرضية الثانية تقترح حركة دائرية يقوم بها السوط بما يشبه حركة المروحة مما يؤدي الى حركة الخلية .

تؤثر المواد الكيميائية والمحفزات الغذائية ، والوسط القاعدي ومواد أخرى في تحفيز الحركة .

تصبيغ السوط :

لايمكن رؤية السوط تحت المجهر الاعتيادي بدون تصبيغ ولكن يمكن رؤية حركة البكتريا للخلايا الحية وهي تتحرك .

تعتمد طرق التصبيغ على أساس واحد وهو معاملة الخلايا المثبتة بمادة مثبتة للالوان Mordant مثل (Tannic acid salts) وهو محلول غروي غير مستقر يترسب على شكل طبقة سميكة من مادة قابلة للصبغ على سطح الخلية وعلى امتداد سطح السوط وعند إضافة الصبغة تستطيع مشاهدة هذه المادة المترسبة عند استعمال المجهر الضوئي حيث يظهر السوط على شكل خيط رفيع .

7- الشعيرات او الاهداب Fimbriae or pili :

وهي زوائد خيطية رفيعة جدا تمتد الى خارج الخلية تتواجد في بعض الخلايا البكتيرية العصوية السالبة لصبغة كرام .

الاهداب اصغر من الاسواط بكثير واقصر منها واكثر عددا حيث يبلغ قطر الواحد منها ما بين 3-25nm وطوله بحدود 0.5-20 nm .

قد تتواجد الاسواط والاهداب على سطح الخلية البكتيرية الواحدة (لايمكن رؤية الاهداب بالمجهر الضوئي ولكن باستعمال المجهر الالكتروني فقط) تشترك مع الاسواط والمحفظة في كون هذه التراكيب لاتؤثر في حيوية الخلية في حالة ازالتها من الخلية اليا . وليس لها علاقة بحركة البكتريا ، لانها لاتحتوي على مفصل للحركة وتفتقد الجسم القاعدي الكامل .

تتكون الاهلاب من مادة بروتينية تدعى Pilin وهو يتكون من وحدات ثانوية مرتبة حلزونيا بعضها مع البعض الاخر لتشكل خيطا قويا ذا لب فارغ . وما دام البروتين هو المادة الأساسية في تركيب الاهلاب فانها تعطي للخلية مستضدات نوعية Specific antigen شانها في ذلك شان الاسواط يتاثر تكوين الشعيرات بالظروف المحيطة مثل درجة الحرارة ، الحموضة والشد الاوكسجيني .

أنواع الاهداب:-

1- (common pili) ordinary pili :

يتواجد عدد منها حول الخلية يصل الى المئات وتسمى أيضا الاهلاب اللاصقة adhesion pili التي تستخدمها بعض السلالات البكتيرية لكي تلتصق بالخلايا الحيوانية والنباتية إضافة الى السطوح الخاملة مثل الزجاج والسليلوز ، حيث تستطيع البكتريا تثبيت نفسها في بيئتها الطبيعية ليتسنى لها توفير المواد المغذية . وهذا مما يجعلها ان تكون مسببا للعدوى المرضية في الانسان من خلال التصاقها بالخلايا المبطنة للجهازين الهظمي والتنفسي وهذا الالتصاق يحد من إزاحة البكتريا بتيار حركة السوائل .

2- الهدب الجنسي sex pili :

عددها محدود يتراوح بين 1-4 لكل خلية يساعد هذا النوع من الاهلاب على انتقال المواد الوراثية بين الخلايا البكتيرية بعملية تدعى الاقتران Conjugation .

3- الهدب المستقبل receptor pili :

هذا النوع معد لاستقبال عاثيات البكتريا bacteriophage . أي ان الأنواع التي تمتلك هذا النوع من الهلب ممكن اصابتها بالفايروس او العاثي .

8- المحفظة الكبسول (Capsule) :

تركيب يحيط ببعض الخلايا البكتيرية ذو طبيعة مخاطية صمغية تنشا المحفظة وتصنع في الغشاء السايتوبلازمي ثم تفرز الى خارج الخلية من خلال ثقوب الجدار الخلوي ويتغاير سمك المحفظة حيث يتراوح بين أجزاء المايكرون الى15u او اكثر ويمكن إزالة المحفظة بتاثير الانزيمات او باحداث طفرات دون ان يؤثر على قابلية البكتريا على المعيشة والنمو.

وتختلف المحفظة فيما بينها من ناحية التركيب الكيمياوي حتى ضمن خلايا النوع البكتيري الواحد

وعلى العموم فان معظم تركيب المحفظات هو عديد السكريات Polysaccharide والقليل يتركب من حامض الكلوتامك .

ان تكوين المحفظة يرتبط ارتباطا مباشرا بالظروف البيئية المتاحة أي توفر المادة الأساسية في صناعة المحفظة ضمن مكونات الوسط ، مثال على ذلك عندما تكون المادة المكونة للمحفظة هي الليفان Levan او الدكستران Dextran . ان هاتين المادتين تصنعان من مصدر واحد وهو سكر القصب وليس من أي سكر اخر وبالتالي فان الخلايا من هذا النوع تفرز بغزارة المادة المخاطية او المحفظة ان هي نمت في وسط يحتوي على سكر القصب .

اما اذا استبدل هذا السكر بسكر اخر فان هذه البكتريا تعجز عن صنع المحفظة .

ان قيام الخلية البكتيرية بتخليق المحفظة يعد عملية وراثية يسيطر عليها جين معين وعند تعرض هذا الجين لطفرة وراثية بحيث يمكننا الحصول على خلية بمحفظة او خلية عارية من المحفظة ولنفس النوع البكتيري . فالطفرات ذات المحفظة تعطي مستعمرات ناعمة لماعية S– smooth colonies اما الخلايا عديمة المحفظة فتعطي مستعمرات خشنة R rough –colonies وعندما تحدث مثل هذه الطفرات في بكتريا مرضية ذات محفظة مثل Streptococcus pneumonia فانها تفقد قابليتها على إصابة المضيف .

وظيفة المحفظة :-

1. تقي الخلية البكتيرية من الجفاف المؤقت من خلال شد جزيئات الماء .
2. يمكن ان تساعد البكتريا على الالتصاق كما هو الحال في بكتريا المسببة لتسوس الاسنان Streptococcus mutant .
3. تمنع الالتهام وذلك بان الكبسوله توقف نشاطات الانزيمات المحللة Lysozyme أي ان المحفظة تحمي الخلايا البكتيرية من عملية الالتهام Phagocytosis بواسطة الخلايا البلعمية phagocytesP وبهذا تصبح البكتريا قادرة على احداث المرض .
4. تمتلك المحفظة صفة مستضدية عالية أي قادرة على توليد استجابة مناعية في جسم المضيف .
5. تساعد على امتصاص بعض الايونات الموجبة .
6. يمكن ان تكون حاجزا او مانعا لالتصاق عاثيات البكتريا Bacteriophage .

9- السايتوبلازم :

يضم السايتوبلازم جميع المواد والتراكيب المختلفة الموجودة داخل الغشاء السايتوبلازمي وتشمل منطقة حبيبية المظهر غنية بال RNA (الرايبوسوم) ومنطقة صبغية غنية بال DNA وان جميع التراكيب السايتوبلازمية نجدها عائمة في المحلول المائي يحتوي المحلول السائل على عدد من الايونات مثل ايون الهيدروجين+H ، الصوديوم +Na ، الكلور –Cl الفوسفات 3–Po4

ومواد ذائبة أخرى مثل الحوامض الامينية وبعض البروتينات والقواعد النتروجينية) البيورينات ، البرميدينات (والمعقدات الدهنية والفيتامينات وسكر الرايبور والكلوكوز والانزيمات ومواد ايضية مختلفة بالإضافة الى مواد مخزونة على شكل حبيبات غير ذائبة لكي لاتؤثر في الضغط التنافذي داخل الخلية .

المواد العضوية المخزونة stored organic materials

البكتريا وبقية الكائنات الحية بدائية النواة تخزن المواد العضوية الكاربونية على شكل مجموعتين مختلفتين تمثل الخزين من الكاربون والطاقة داخل البكتريا :

أ. السكريات المتعددة مثل النشا starch والكلايكوجين glycogen .

ب. الاسترات المتعددة Poly-B-hydroxybutric acid .

يتكون هذا المركب كوسيلة للتخلص من الاحماض الناتجة في الخلية وذلك عن طريق التخلص من الجزء الكاربوكسيلي الذي يتفاعل مع وحدات هذا الحامض عن طريق اصرة الاستر وبذلك نتخلص من الكاربوكسيل وتقلل الحموضة في السايتوبلازم .

المواد اللاعضوية المخزونة Is stored inorganic materia :

أ . الحبيبات المتكونة من عنصر الكبريت ، بعض البكتريا المؤكسدة للكبريت تقوم باكسدة ما يفيض عن حاجتها من كبريتيد الهيدرجين الى الكبريت الذري لكي تخزنه على شكل حبيبات داخل السايتوبلازم .

ب.الحبيبات المتكونة من تجمع الفوسفات غير العضوي وتعرف بمادة الميتافوسفات metaphosphate وتدعى بحبيبات الفوليوتين volutin او تدعى الحبيبات المختلفة اللون metachromatic granules لانها تصطبغ بلون يختلف عن لون الصبغة المضافة عليها .

تتواجد في بكتريا الخناق Corynebacteria (Bacillus diphtheria)

فعند إضافة صبغة ازرق المثلين تصطبغ الحبيبات باللون الأحمر .

الرايبوسومات Ribosmes :

وهي دقائق صغيرة جدا تنتشر في كافة انحاء السايتوبلازم تتكون الرايبوسومات بصورة رئيسية من الحمض النووي الرايبوزي الرايبوسومي rRNA (RNA Ribosomal) بنسبة 65 % مع بعض البروتينات الرايبونووية ribonucleoprotein بنسبة 35 % وهي مسؤولة عن عمليات تخليق البروتينات بضمنها جميع الانزيمات الخلوية ويصل قطر الرايبوسوم الى 20 nm ويختلف العدد باختلاف سرعة نمو البكتريا ويتراوح عددها بين 10000-15000 تتواجد الرايبوسومات على شكل مجموعتين مختلفتين وهي s30 و s50 اعتمادا على اوزانها الجزيئية وتتجمع مع بعضها مكونة رايبوسوم ذات وزن s70 (في حقيقة النواة وزن الترسيب s80 من جزيئتين s60 و s40) يعتمد قياس الوزن الجزيئي على وحدة الترسيب sedimentation

coeficients ويعبر عنه (Svedberg units (s وهي وحدة قياس سرعة الترسيب باستعمال جهاز الطرد المركزي عالي السرعة Ultracentrfuge .

(Svedberg) : اسم العالم السويدي Theodor Svedberg الذي اوجد أداة تساعد في استعمال سرعة ترسيب عالية لفصل الجزيئات الكبيرة.

الفقاعات الغازية Gas Vacuoles :

وهي عبارة عن حويصلات اسطوانية ذات نهاية مخروطية الشكل وتترتب بشكل منتظم في السايتوبلازم ، تتكون من بروتين بصورة مطلقة وبسمك مكافئا لجزيئة بروتين واحدة . توجد في بعض الاحياء بدائية النواة خصوصا التي تعيش في البيئة المائية كبعض أنواع اجناس البكتريا الزرقاء المخضرة ... حيث تساعد هذه التراكيب السايتوبلازمية المملؤة بالغاز للبكتريا ان تطفو .

10- المادة النووية – Genetic (Nuclear) Material :

ان المادة النووية في الخلايا البدائية النواة مثل البكتريا لا تحاط بغشاء نووي والنواة في هذه الاحياء لاتعاني انقسامات خيطية او اختزالية وهذا ما يميزها عن النواة الحقيقة الموجودة في الكائنات الحية الراقية . يرتبط شريط ال DNA بالغشاء البلازمي في منطقة ال mesosome ويظهر بشكل حلقة مفردة ملتفة ويطلق على هذه الحلقة الكروموسوم يصل طول شريط ال DNA لبكتريا E.coli حوالي 400 مرة أطول من المحور الطولي لخلية البكتريا ويصل طول حلقة ال DNA الى حوالي ملمتر في حين سمك هذه الحلقة A25 ويحتوي على 4 مليون قاعدة نتروجينية و 3000 جين ويعبر عن طول شريط ال DNA بـ(kbp) . Kilobase pair (كيلو زوج قاعدة) .

تحتل المادة النووية نصف حجم السايتوبلازم وهي خالية من الهستونات histones التي توجد عادة في نواة الكائنات الراقية)

الهستون : بروتينات قاعدية التفاعل غنية بالحمض الاميني القاعدي lysine , arginine التي تعمل على معادلة المجاميع الفوسفاتية في شريط ال DNA .

يتألف شريط ال DNA من عدد من النيوكلوتايدات ويتألف كل نيوكلوتايدت من :

أ. **قاعدة نتروجينية:-**

(adenine , guanine) Purines

(Cytosine, thymine) Pyrimidines

ب. سكر خماسي Deoxyribose منقوص الاوكسجين .

ت. Phosphoric acid حامض الفسفوريك.

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

يظهر قسم من ال DNA أحيانا في البكتريا خارج حلقة الكروموسوم DNA extrachromosomal على شكل حلقات وهي تستنسخ ذاتيا بعيدا عن الكرموسوم وبمعزل عنه وهي تدعي البلازميدات plasmids او أحيانا تسمى هذه البلازميدات Episome غير ضرورية لحياة البكتريا ويمكن ازالتها من البكتريا بمعاملة البكتريا بمواد كيميائية مثل , acriflavine cobalions , ethidiume bromide تحمل بعض هذه البلازميدات المعلومات المسؤولة عن تصنيع الانزيمات المسببة لمقاومة البكتريا (مقاومة المضادات الحياتية مثل البنسلين ، الكلورافينكول ، التتراسايكلين) وأيضا تحمل مسؤولية تهيئة البكتريا لعملية الاقتران بانتاجه F-pili

الجينات المنتقلة Movable genes :

هناك قطع من ال DNA في البكتريا لها القابلية على الانتقال من مكان الى اخر ضمن الجينوم (من كروموسوم الى بلازميد او بالعكس من بلازميد الى اخر او ضمن الكروموسوم من مكان الى اخر) بعملية تدعى القفز Transposition هذه القطع من ال DNA تعرف بالجينات المنتقلة (Movable genes) او العناصر القافزة Transposable elements .)

11- السبورات (Endospor) Spores :

بعض اجناس البكتريا لها القابلية على تكوين السبورات وتميز بها العصيات ويقع ضمن مجموعتين رئيسيتين للعصيات الموجبة لصبغة كرام gram-positive rods مثل العصيات الهوائية الاجبارية obligate aerobic مثل جنس bacillus والمجبرة اللاهوائية nonaerobic مثل جنسclostridium ونادرة في المكورات البكتيرية cocci مثل المكورات الموجبة لصبغة كرام . اغلب العصيات المكونة للسبورات غير مرضية وتقع في 50 species والممرضة منها المسببة للجمرة الخبيثة anthrax ، التسمم الوشيقي botulism ، الموات الغازي gas gangrene ، الكزاز tetanus .يتكون السبور نتيجة لعدم توفر ظروف جيدة للنمو : كقلة المواد الغذائية نقص المصدر النايتروجيني او المصدر الكاربوني ويظهر تكون السبورات بوضوح في نهاية الطور اللوغارتمي نتيجة نقص الغذاء واختلاف الظروف الفيزيائية والكيميائية في المزرعة .

تطرا على الخلية البكتيرية عدة تغيرات في حالة تكوين السبور بإنتاج عدد من المواد الايضية الجديدة والانزيمات وان تحددها عدد من الجينات في الخلية الخضرية حيث يتم تنشيط الجينات المسؤولة عن عملية تكوين السبورات ويتم توقف نشاط الجينات المسؤولة عن نشاط الخلية الخضرية وتختلف الفترة الزمنية التي تستغرقها الخلية البكتيرية لتكوين السبور مثال : تحتاج بكتريا B. subtilis حوالي 6 ساعات في ظروف المختبر .

يتميز السبور بكونه مقاوم للظروف البيئية القاسية مثل المواد الكيميائية المطهرات الاحماض الحرارة الضوء والجفاف . تستطيع بعض السبورات مقاومة الغليان لعدة ساعات مع العلم تقتل الخلايا الخضرية خلال 1 دقائق.

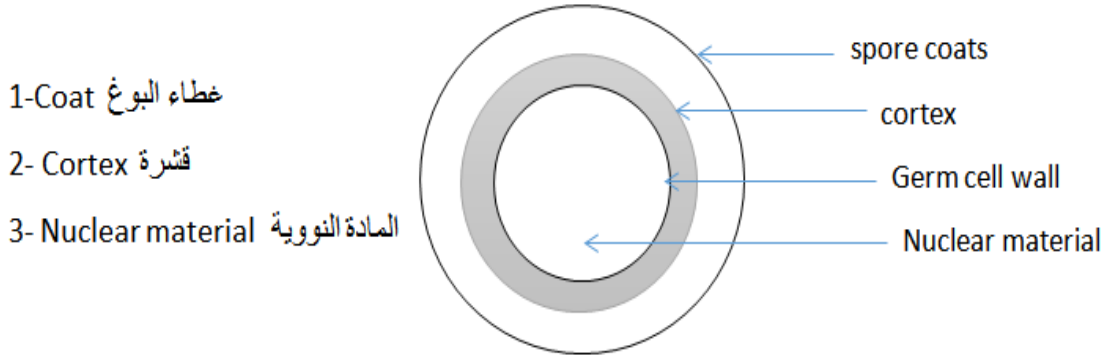
تتميز ثلاث مواقع للسبور في الخلية باختلاف الأنواع

1- Terminal spores الطرفي clostridium tetans

2- Central spores المركزي Bacillus anthracis

3- Subterminal spores قرب الطرفي Clostridium botulinum

تتميز ثلاث مناطق رئيسية في تركيب السبور وباستعمال المجهر الالكتروني :



يتميز التركيب الكيمياوي للبوغ باحتوائه على كميات كبيرة من حامض الديبكولنيك Dipicolinic acid وهي مادة غير موجودة في الخلايا الخضرية وتكون 5-10 % من الوزن الجاف للبوغ بالإضافة الى كميات كبيرة من الكالسيوم Ca^{2+} ويعتقد ان المعقد المتكون من Dipicolinic + acid+peptidoglycan +2Ca يكون طبقة القشرة وهذه الطبقة المسؤولة عن عدم نفاذية غطاء السبور . والمقاومة للحرارة ناتجة عن قلة المحتوى المائي و calcium dipicolinate .

هنالك ثلاثة عوامل تجعل السبور (البوغ) مقاوما للضروف غير المناسبة هي

1. تدني الفعاليات الحيوية (الايضية) في البوغ الى ادنى مستوى .
2. قلة المحتوى المائي في البوغ .
3. احتواء غلاف البوغ وقشرته على حامض الدايبيكولنك والكالسيوم مما يمنحانه القوة والصلادة

من البكتريا المكونة للابواغ هي : Bacillus cereus , Clostridium tetani .

تغذية الاحياء المجهرية (Nutrition of Microorganisms)

تحتاج البكتريا من اجل النمو والتكاثر (growth &multiply) الى متطلبات واحتياجات أساسية منها :

1. توفر المغذيات Nutrients وتختلف باختلاف الأنواع .
2. توفر الرطوبة Moisture
3. الحاجة للضوء جزئيا او عدم الحاجة له .
4. الحاجة الى الاوكسجين أيضا تختلف باختلاف أنواع البكتريا .
5. الدرجة الحرارية المثلى للنمو وبما يناسب النوع البكتيري .
6. توفر الدرجة المثلى من الحامضية والقاعدية .
7. التخلص من مخلفات النمو by–Products ومنع تجمعها بكميات كبيرة .

وبسبب الاختلافات الواسعة في الخصائص الفسلجية وبالتالي الاحتياجات الغذائية للاحياء المجهرية فقد صممت الاف الأنواع من الأوساط الغذائية والتي تختلف فيما بينها الى حد كبير فيما يخص المحتويات الكيمياوية .

عناصر التغذية :

يعتبر الماء دائما المادة الغذائية الرئيسية من الناحية الكمية حيث يشكل من 80–90 % من مجموع وزن الخلايا وتشكل البروتينات 50 % من الوزن الجاف للخلية ويشكل النايتروجين 10 % وتختلف نسبة تواجد الكاربوهيدرات باختلاف الأنواع البكتيرية والمركبات التي تحويها وتحتوي المواد الصلبة الخلوية على الكاربون 50 % والنايتروجين 14% والفوسفور 3% والكبريت 1%اضافة الى الاوكسجين 20 % والهيدروجين 8% وتشكل هذه العناصر حوالي 95 % من الوزن الخلوي الجاف . اما الوزن المئوي الباقي يقع فيه مابقي من العناصر الأخرى مثل عناصر البوتاسيوم والمغنيسيوم ، الزنك ، الكاليسيوم ، الحديد ، المنغنيز ، الكوبلت ، النحاس وبنسب متفاوته.

علم الاحياء المجهرية

البكتريا :

هي احياء أحادية الخلية تمتلك المواد البروتوبلازمية الأساسية اللازمة للنمو والتكاثر . تستهلك المواد الذائبة بالسوائل وتطرح الفضلات الناتجة عن العمليات الايضية بالانتشار diffusion وتنتشر بصورة واسعة بالطبيعة ولها القابلية على التكيف في مختلف الظروف تتواجد على سطوح الاجسام وفي داخلها وفي الغذاء والماء والهواء الذي نستنشقه.

تواجدها

توجد بوفرة في الطبقات العليا للتربة وفي كل مناطق الأرض عدا القمم الجبلية الثلجية ، وتوجد أيضا في طبقات الجو العليا stratosphere وفي أعماق المحيطات ocean ويصل عدد البكتريا في 1gmمن التربة الى 2.5 billion bacteria وتعرف لحد الان عدة الاف من الأنواع البكتيرية ، وحوالي مئة نوع تسبب الامراض للإنسان وبنسبة 1الى 30000 من البكتريا المسببة للامراض ، قسم من البكتريا تسبب الامراض للإنسان وأخرى للحيوانات الواطئة والنباتات والبعض الاخر لايصيب أي من الكائنات الحيه ولكنه يعيش بصورة تعايشية Commensally وقد تعيش في جسم الانسان ولاتسبب المرض normal flora تسمى البكتيريا المسببة للامراض بالـ Pathogenic والبكتريا غير المسببة للامراض non – pathogenic وتحت ظروف معينة مثل انخفاض المناعة وضعف الجهاز الدفاعي للجسم حيث تصبح ممرضات انتهازية opportunistic pathogens

الشكل :forms

تعرف للبكتريا ثلاثة اشكال رئيسية

1– Spherical coccus

ولكن يوجد اختلاف ضمن الشكل الواحد ، فليس من الضروري ان تكون كروية كاملة الشكل ولكن تكون بيضوية ellipsoidal او متطاولة elongatedاو مسطحة من احد الوجهين flattened on side one

2– Rod shaped – Bacillus

العصيات تتراوح بين طويل اسطواني (نحيف – رقيق slender) او قصير short وسميك Plump وعندما تكون العصيات قصيرة وسميكة او عصيات بيضوية مشابهه للـ cocci تعرف بالـ coccobacilli نهاية العصيات تكون عادة دائرية rounded او منبسطة square او مقعرة concave

3–spirilum

وهي عصيات منحنية تشبه الضمة COMMA كخلايا الكوليرا VIBRIO

الحجوم والاشكال SHAPE& SIZE

- يتراوح قطر المكورات COCCI بين µ 2 - 4.1 . µ مايكرون.

-اصغر العصيات smallest bacilli بين µ 5.0 طولا - وقطرها . µ 2.0

- ويصل طول اكبر العصيات المرضية largest pathogenic bacilli الى 1µ قطرا و 3µ طولا وبمعدل µ 5.0 قطرا و 2µ طولا.

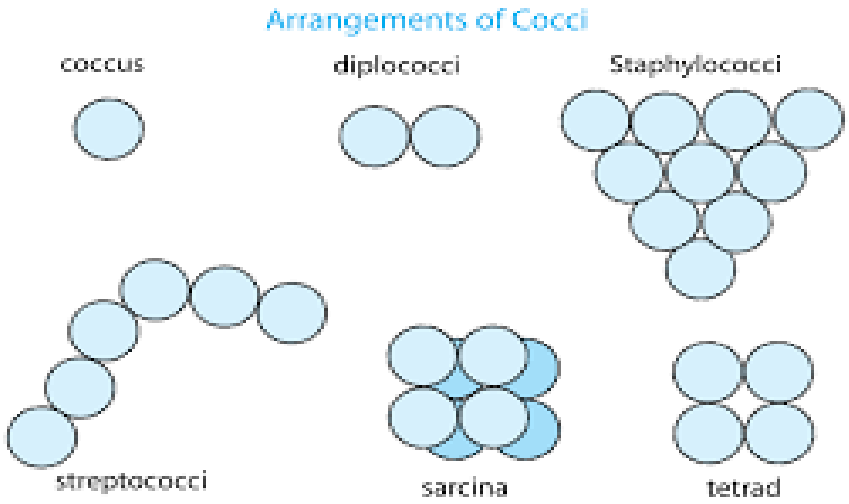
-عصيات البكتريا غير المرضية non pathogenic bacilli تكون اكثر طولا وتصل الى 20µ و 4µ قطرا.

-الحلزونيات spirilla تكون عصيات ضيقة تصل طولا من . 1-14 µ

التجمعات : cluster

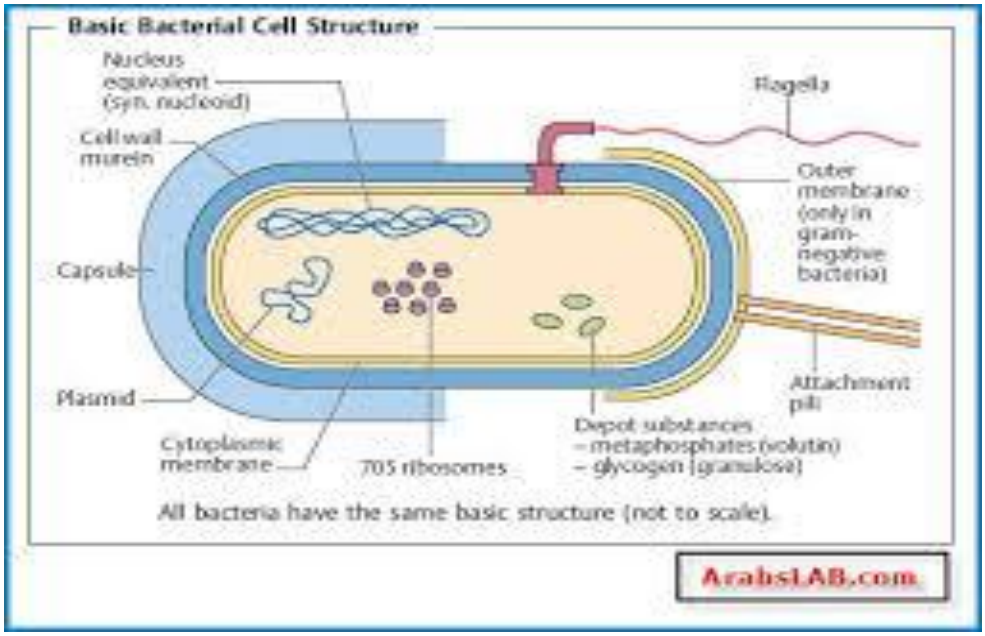
تتكاثر البكتريا عن طريق الانقسام المباشر binary fission وان الخلايا المتولدة ينفصل بعضها عن البعض الاخر بعد ان يتم الانقسام مباشرة الا انه في بعض الأنواع تبقى الخلايا المتولدة بعضها ملتصقا بالبعض الاخر بعد عملية الانقسام بحيث تكون لدينا العديد من التجمعات الخلوية فتتكون سلاسل من الخلايا كانواع البكتريا العصوية التابعة للجنس Bacillus والجنس Lactobacillus وهي تختلف عن الاحياء الخيطية المتعددة الخلايا مثل Beggiatoa التي تشترك فيها الخلايا بعضها مع البعض الاخر بصورة دائمة في جدار خلوي مشترك يغطي جميع الخلايا بحيث لايمكن فصل هذه الخلايا بعضها عن البعض الاخر دون ان تموت ، في حين ان سلاسل البكتريا يكون فيها الاتصال غير مستقر او ثابت حيث يمكن فصل الخلايا بواسطة الرج مثلا دون ان تموت هذه الخلايا وان كل خلية تمثل كائنا حيا مستقلا بذاته .

في حالة تجمع الخلايا الكروية الشكل وعندما يكون الانقسام بمستوى واحد نحصل على مكورات بكتيرية متسلسلة كما في streptococci ولايتعدى عدد خلاياها الستة او ينفصل بشكل خلايا مزدوجة مثل Diplococci او تحدث انقسامات متعاقبة في مستويات متعامدة بعضها مع البعض الاخر لتشكل مربعا بأربع خلايا فتسمى مكورات رباعية tetrads او تجمعات غير منتظمة مثل (Staphylococci عنقودية.) .



التراكيب الخلوية : Structure

تضم الخلايا البكتيرية عدد من التراكيب والعصيات يقع قسم منها خارج الخلية والقسم الاخر محاط بغلاف الخلية وقسم من هذه التراكيب تتواجد في أنواع معينة من البكتيريا دون الأنواع الأخرى لذا يعتبر صفة تصنيفية كوجود الاسواط او عدم وجودها او وجود الصبغات ..... الخ.



شكل يوضح التراكيب الخلوية

1- الجدار الخلوي Wall Cell

هو الجدار الذي يحيط بالبكتريا وقد عرفت وظيفته لأول مرة من قبل بحوث Weilball سنة 1953 حيث اجرى بحوثه على بكتريا Bacillus Megaterium عندما عامل هذه البكتريا بالـ Lysozymeوتمكن من إزالة الجدار الخلوي ودراسة صفات الخلية البكتيرية الناتجة بعد إزالة الجدار كتحول الشكل العصوي الى كروي ... الخ

وظائف الجدار الخلوي:

1- يحدد شكل الخلية البكتيرية ويعطيها الصلابة.

2- محيطا بالغشاء البلازمي وباقي محتويات الخلية .

3- مقاوما لشدة ضغط البروتوبلاست Protoplast الذي يحتويه وبهذا فهو يمنع تحلل الخلية عند وضعها في بيئة واطئة الشدة اقل من 10- 20 % .

يتكون الجدار الخلوي من نوع فريد من مادة عضوية متعددة polymer Organic تدعى الـ Murein او Peptidoglycan وهذه المادة عبارة عن مكررات متباينة Heteropolymers وتتكون من عدة أنواع مختلفة من الوحدات الفرعية مثل الكاربوهيدرات وبعض الحوامض الامينية هي خلات الكلوكوز الامينية وترتبط باواصر مستعرضة من الحامض الاميني . Alanine-L , isoglutamine-D, Alanine-D , Lysine-L .

في كل أنواع البكتريا العمود الفقري الأساسي backbone هو Muramic و glucosamine ولكن الروابط الجانبية side chaineوالروابط المستعرضة cross- bridge تختلف باختلاف أنواع البكتريا والتي تمثل الاحماض الامينية الأربعة المذكورة سابقا .

مادة البيبتيدوكلايكان مجسمة أي ثلاثية الابعاد ومن هنا تاتي قوتها ، وهي بذلك لا تعترض دخول الماء والمواد الغذائية مثل المعادن والكلوكوز والحوامض الامينية حتى المواد العضوية الأخرى ذات الجزيئات الكبيرة نسبيا ، هذا وان المواد التالفة تخرج من خلال هذا الممر .

بالإضافة الى ان صلابة تركيب Peptidoglycan تاتي من الاواصر المستعرضة التي تربط الـ Polymer وتكون اكثر عدد في جدران الخلايا الموجبة لصبغة كرام اكثر مما هي عليه في البكتريا السالبة لصبغة كرام وبالإضافة الى مادة Peptid فهنالك مواد معقدة أخرى تشكل معها مجمل هيكل هذه الجدران ففي البكتريا السالبة لصبغة كرام يكون الجدار رقيقا جدا يبلغ سمكه 10-15نانومتر وهو يشكل 10- 20% من وزن الخلية الجاف ويتكون من 5-15 % من Peptidoglycan و 35% من الدهون الفوسفاتية Phospholipids و 15% من Protein و 50% من Lipopolysaccharides .

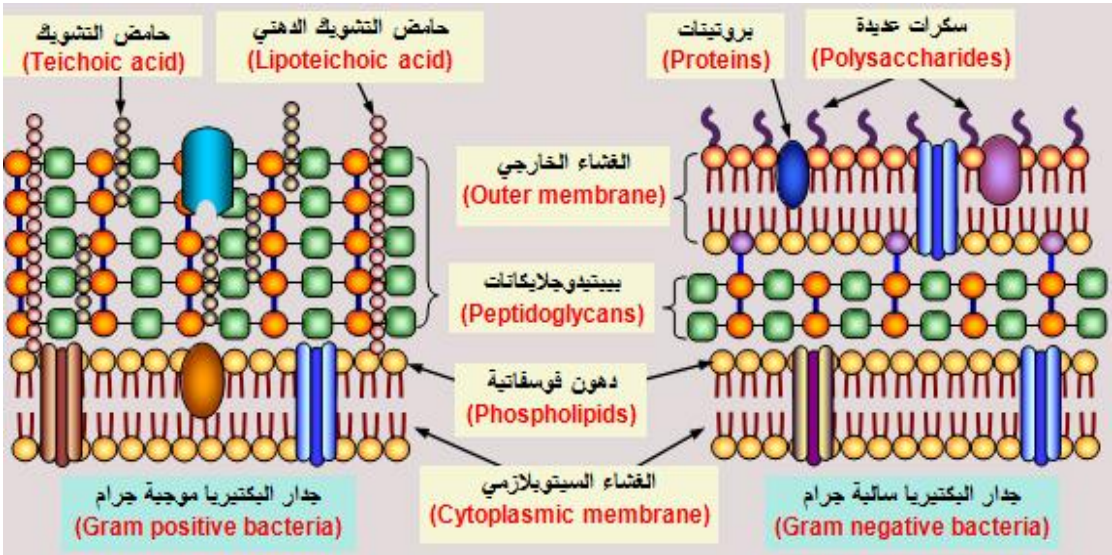
اما البكتريا الموجبة لصبغة كرام فيكون جدارها اكثر سمكا مما هو عليه في البكتريا السالبة لصبغة كرام حيث يبلغ سمكه 25-35 nm ويشكل 20- 40% من وزن الخلية الجاف ويحتوي على 20 - 80 %من مادة Peptidoglycan إضافة الى مواد اخرى مثل البروتينات والسكريات المتعددة وحامض Teichoic acid.

المكونات الخاصة بجدار الخلية للبكتريا السالبة لصبغة كرام . ve-G:

يحتوي جدار الخلية للـ ve-G على ثلاث مكونات تقع خارج طبقة Peptidologycan وهي

1- Lipoprotein يتالف من 57 حامض اميني على شكل مكرر لـ 15 حامض اميني يرتبط باصرة ابتدائية للحامض الاميني Diaminopimelic الموجود في السلاسل الرباعية الجانبية لمادة الـ Peptidologycan والدهن thioether diglyceride يرتبط بـ cysteine اما وظيفة البروتينات الدهنية فهي موازنة الغشاء الخارجي وتثبيته مع طبقات Peptidoglycan .

2- membrane Outer : وهي طبقة ثنائية من دهون فوسفاتية يتكون من أرضية سائلة تحتوي على بروتينات خاصة موجودة في مادة بينية مكونه من دهون فوسفاتية . يعمل هذا الغشاء على منع تسرب البروتينات الموجودة في space Periplasmic ويحمي البكتريا المعوية من الاملاح والانزيمات المحللة الموجودة في بيئة المضيف .



شكل (6- 24): رسم تخطيطي يبين الفرق بين تركيب الجدار الخلوي في البكتيريا سالبة جرام، والبكتيريا موجبة جرام.

تختلف نفاذية الغشاء الخارجي من نوع لاخر ففي البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* تكون نفاذية هذا الغلاف اقل من 1000 مرة من نفاذية غلاف بكتريا *E. coli* ولهذا تكون البكتريا الأولى شديدة المقاومة للمضادات البكتيرية antibacterial agents يحتوي الغشاء الخارجي على مجموعة من البروتينات تسمى البروتينات الثانوية Minor protein لها علاقة بنقل الجزيئات الصغيرة مثل فيتامين B12proteases, protein ,phospholipase، penicillin binding

3- Lipopolysaccharid : تتكون من دهن معقد يسمى A Lipid يرتبط بـ سكريات متعددة يتكون A Lipid من سكريات ثانوية مكونة من كلوكوز امين مفسفر amine glucose Phospho مرتبطة مع الاحماض الشحمية ذات السلاسل الطويلة . تكون السكريات المتعددة ثابتة للانواع البكتيرية وتتغاير بقية الاحماض الشحمية .

فائدتها :

1- تعمل هذه الطبقة الدهنية على موازنة الغشاء وتكون حاجزا يمنع دخول بعض الجزيئات المحبة للماء . Hydrophilic molecules

2- تكون هذه الطبقة سامة جدا للحيوانات تدعى endotoxin) الذيفان الداخلي (لانها توجد ضمن جسم خلية البكتريا وعندما تتحلل هذه الدهون الى A Lipid والسكريات المتعددة تكون جميع سميتها عائدة الى الجزء الأول في حين تمثل السكريات المتعددة المستضدات السطحية الرئيسية المسماة O Antigen ويكون عدد المستضدات هذه كثيرا فهناك اكثر من 1000 نوع من المستضدات في بكتريا الـ Salmonella لوحدها .

2-الغشاء السايتوبلازمي membrane Cytoplasmic :

يتالف الغشاء السايتوبلازمي من شحوم فوسفاتية Phospholipids وبروتينات Proteins . ويقع تحت الجدار الخلوي مباشرة ، يمثل الجزء البروتيني الطرف المحب للماء hydrophilic والشحوم الفوسفاتية تمثل الجزء غير المحب للماء hydrophobic وهي طبقة شبه سائلة semifluid تتحرك بين طبقتي بروتين دون ان تنزلق .

الغشاء السايتوبلازمي ، تركيب يمكن عزله عن بقية التراكيب الخلوية فعند إزالة الجدار الخلوي عن طريق استخدام lysozyme. ثم انفجار الـ Protoplast وعند وضعه في محلول واطىء الشد تندلع محتويات الغشاء البلازمي او مادة السايتوبلازم للخارج ويبقى الغشاء السايتوبلازمي على شكل كيس رقيق حيث ينظف بغسله بالماء ومن ثم طرده مركزيا.

وظيفة الغشاء البلازمي :

1- موقع مهم للانزيمات التنفسية respiratory enzyme system (enzyme cytochrome) التي تتواجد في الخلايا حقيقة النواة ضمن عضيات المايتوكندريا mitochondria .

2- ينظم مرور المواد الغذائية والمنتجات الايضية بين الخلية والمحيط الخارجي .

3- يعمل حاجزا تنافذيا barrier osmotic يعمل على مرور جزيئات معينة دون غيرها ، حيث لايسمح بمرور المواد ذات حجم جزيئي يزيد على حجم الكليسيرين ، وبهذا فهو يسمح بتكوين ضغط تنافذي داخل الخلية ويحافظ عليه .

4- السماح بمرور الجزيئات الايضية الكبيرة ضمن أنظمة النقل النشيط system transport Active وتدعى أيضا بانزيمات النضوح او Permeases حيث يتخصص كل نظام من هذه الأنظمة لمادة معينة او مجموعة مواد تتقارب بتركيبها الكيمياوي .

5- يحمل المستقبلات receptors وبروتينات متخصصة تعمل كمحفزات مناعية .

6- يقوم بتكوين انزيمات خارجية enzyme extracellular .

الية انتقال المواد عبر الغشاء السايتوبلازمي :

1- النقل السلبي Passive transport:

وهو نقل المواد من خارج الخلية الى داخلها بصورة بطيئة وبمساعدة Specific protein system والقوة المحركة للجزيئات المارة خلال الغشاء هي الفرق بين تركيز الجزيئات او المادة على جانبي الغشاء البلازمي ، ويتم انتقال الماء وبعض المواد القابلة للذوبان في الدهون مثل الكليسيرولglycerol

1- النقل الفعال active transport :

تحتاج عملية النقل هذه الى طاقة ناتجة عن الأفعال الحيوية للبكتريا metabolic energy بالإضافة الى الوسيط البروتيني carrier protein وبمعنى اخر تنتقل المواد الغذائية بغض النظر عن تركيزها ولكن يتم النقل بواسطة الطاقة .

مثال على ذلك : انتقال السكريات سداسية الكاربون Hexoses عبر الغشاء السايتوبلازمي وتجهز الطاقة لهذا النقل عبر اصرة الفوسفات الغنية بالطاقة والموجودة ضمن جزيئة ال Phosphoenol pyruvate(PEP) وبوجود البروتين الحامل للطاقة carrier protein وانزيم يحفز التفاعل ، ثم يقوم هذا البروتين الحامل للطاقة بفسفرة السكر السداسي الموجود خارج الغشاء السايتوبلازمي من خلال تفاعل اخر تنتقل فيه الفوسفات الى السكر بتوسط انزيم معين :

$$\text{PEP+Protein} \xrightarrow{\text{Enzyme 1}} \text{Pyruvate +protein phosphate}$$

$$\text{Protein phosphate + sugar} \xrightarrow{\text{Enzyme II}} \text{sugar-6-phosphate +protein}$$

علم الفطريات Mycology

التعريف

علم الفطريات هو العلم الذي يهتم بدراسة وتركيب وتصنيف وطرق تكاثر الفطريات كذلك اهميتها الاقتصادية بالنسبة للانسان بطريقة مباشرة وغير مباشرة. ومن هنا جاءت التسمية اللاتينية العلمية Mykes تعني فطر و Logos تعني علم ودراسة.

ولقد اتسع علم الفطريات منذ بداية القرن الحالي وبالتالي اصبح من الصعب دراستة كعلم واحد وقسم الى عدة علوم منها:

Fungal Ecology

Fungal Physiology

Fungal Genetics

Industrial Mycology

Medical Mycology

أما فيما يتعلق بعلم الامراض التي تسببها الفطريات وغيرها من الكائنات الدقيقة للنباتات فهو ما نسمية Phytopathology.

تصنيف الفطريات Classification of Fungi

الفطريات تعتبر من اقدم الكائنات حقيقية النواة والحفريات القديمة التي تم تصنيفها على أنها فطريات تدل على أن الفطريات ظهرت قبل حوالي 900 مليون سنة ولكن أقدم الحفريات التي تم التأكد من كونها فطريات يرجع عمرها الى حوالي 400 مليون سنة. وعلى هذا تعتبر الفطريات من اقدم الكائنات حقيقيات النواة .

بناء على بعض الصفات العامة للفطريات وخصوصا احتواء خلاياها على جدار خلوي فقد تم تصنيفها ضمن المملكة النباتية، ولقد كانت هي والطحالب (Algae) والاشنات (Lichens) في مجموعة واحدة يطلق عليها إسم الثالوسيات Thallophyta وهذه الكلمة اللاتينية مشتقة من كلمة Thallus وهي تعني فرعا منبطحا غير متمايز الى اجزاء مختلفة وهو حال الفطريات والاشنات و الطحالب.

ولقد بقي هذا التصنيف ساري المفعول حتى عام 1969 حيث قام العالم Whittaker بوضع الفطريات في مملكة مستقلة استنادا منه الى كون هذه الكائنات تمتلك صفات اساسية تختلف عن غيرها من الكائنات حقيقيات النواة الاخرى.

ولكن مازال هناك الكثير من العلماء الذين يعتمدون على التصنيف القديم واضعين النباتات والفطريات في مملكة واحدة.

في السنوات العشرة الاخيرة تم تأكيد المملكة المستقلة واعتماد عدد من الاقسام كفطريات حقيقية (True Fungi) في حين وضعت بعض الاقسام الاخرى ضمن مملكة الطلائعيات (Protista) نظرا لكونها تمتلك صفات بدائية كثيرة بالإضافة لاختلافها في بعض الصفات الاساسية عن الفطريات الحقيقية وخصوصا التركيب الخلوي للجدار، وسميت بالكائنات شبيهة الفطريات (Organism like fungi).

الجدول التالي يبين تصنيف الفطريات الحقيقية والكائنات شبيهة الفطريات

(Kingdom Protista (organism like fungi)	
Division Oomycota	Water Mold
Division Acrasiomycota	Cellular slim mold
Division Chytridomycota	Chytrides
Division Myxomycotcota	Plasmodium slim mold
Kingdom Fungi True Myceteae	
Division Zygomycota	
Division Ascomycota	
Division Basidiomycota	
Division Deuteromycota	

السبب الاساسي التي دفع العلماء الى وضع الاقسام الاولى Oomycota، Acrasiomycota و Myxomycota في مملكة الطلائعيات وفصلهم عن مملكة الفطريات هي كونهم يفتقدون لصفات كثيرة تميز الاقسام الرئيسية للفطريات وخاصة تركيب الجدار الخلوي

الصفات العامة للفطريات

الفطريات عبارة عن كائنات متعددة الخلايا (Multicellular) ونادرا ما نجد فطريات وحيدة الخلية(Unicellular) ، ومن أشهر الفطريات وحيدة الخلية نجد الخميرة (yeasts) بالاضافة لمعظم فطريات قسم ال Endomycetales وهي جميعها تابعة للفطريات الكيسية (Ascomycota).

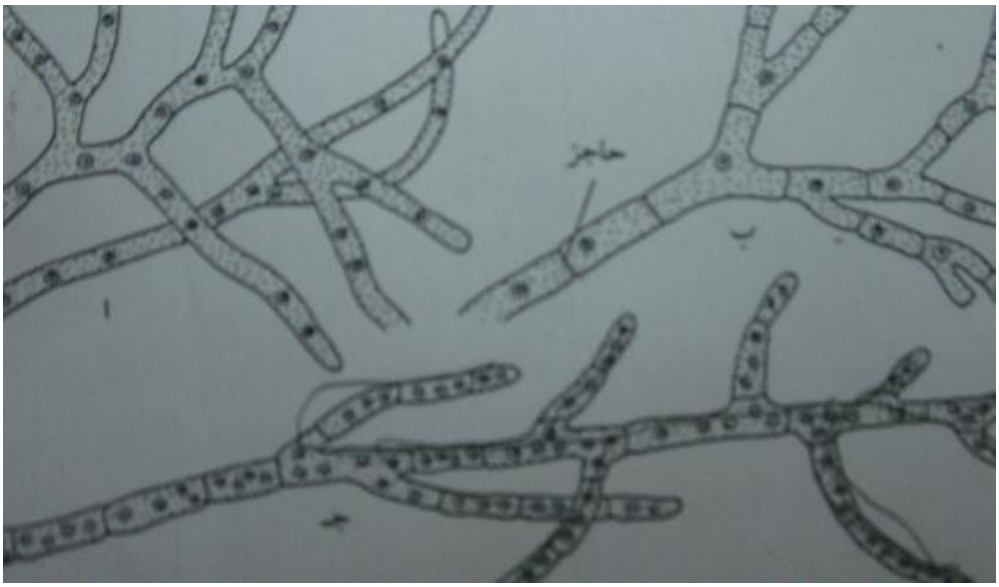
تحتوي الخلايا الفطرية تقريبا على جميع العضيات التي تميز خلايا الكائنات حقيقية النواة (Eukaryote) حيث نجد اجهزة جولجي Golgi Apparatus والفجوات العصارية (Vacuols) والشبكة الاندوبلازمية Endplasmic reticulum وايضا الميتوكوندريا Mitochondria ومعظم الاجزاء الاخرى، ولا تحتوي الخلية الفطرية مقارنة مع الخلية النباتية على النشاء النباتي (Starch) ولكن تحتوي على النشاء الحيواني (Glycogen) ولكن وكما سبق وذكرنا تتميز الخلايا الفطرية كمثيلاتها النباتية بإحتوائها على جدار خلوي يتركب اساسا من مادة الكيتين (Chitin) وهي المادة الاساسية في تركيب جدر خلايا الفطريات الحقيقية. (لاحظ الجدول).

Cell Wall Composition	Division
Cellulose – Glucan	Oomycota
Non– Like animal	Myxomycota
Cellulose – Glucan	Acrasiomycota
Chitin – Glucan	Chytridiomycota
Chitin – Chitosan	Zygomycota
Chitin – Glucan	Ascomycota
Chitin – Glucan	Basidiomycota
Chitin – Glucan	Deuteromycota

الجدول يبين التركيب الاساسي لجدر خلايا المجموعات الفطرية المختلفة

أهمية الجدار الخلوي عند الفطريات تأتي من كونة حاجزا بين الوسط الخارجي و مكونات الفطر الداخلية حيث ان الفطر يتصل بوسطه البيئي بكامل هيكلة ووجود الجدار هنا هو الحماية اللازمة التي يلجأ إليها الفطر، هذا بالاضافة لكون الجدار الخلوي يعمل كمنظم لدخول الجزيئات الضخمة. عند بعض الفطريات يحتوي الجدار الخلوي على صبغات مثل الميلانين (Melanin) ومثل هذه الصبغات تحمي الفطر من الاشعاعات مثل الاشعة الفوق بنفسجية وكذلك ضد بعض انزيمات الكائنات المحللة.

الخلية الفطرية عندما تبدأ بالنمو والانقسام تكون خيطا يطلق علية إسم Hypha ومجموعة الهيفات المتكونة يطلق عليها إسم ميسيليومMycelium والميسيليوم هو الفطر بحد ذاته.

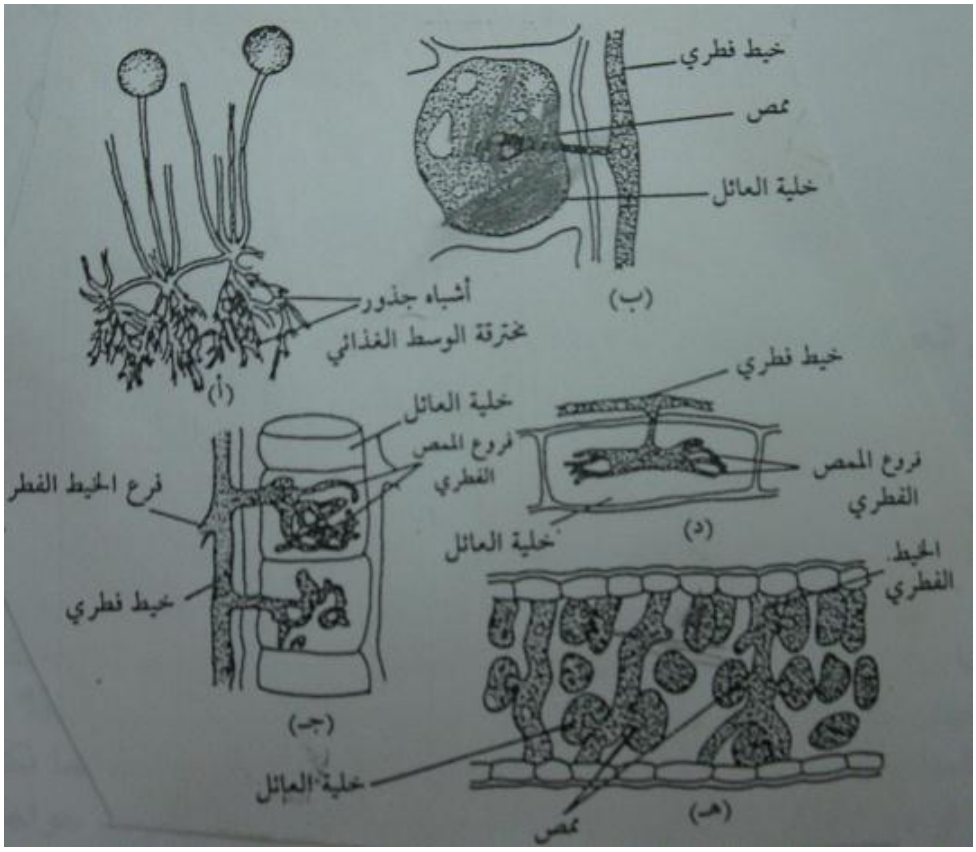


ثلاثة انواع من الخيوط الفطرية: -أ خيط فطري غير مقسم (مدمج خلوي) -ب خيط فطري مقسم خلاياة احادية النواة -ج خيط فطري غير مقسم خلاياة عديدة الانوية

الفطريات مهما بلغ حجمها فإن جسمها لايتكون إلا من هذة الهيفات فقط ولا تتميز في تركيبها الى انسجة ويتراوح طول الغزل الفطري مابين عدة ميكرونات الى عدة امتار في الطول اما قطر الهيفا فيتراوح بين 5 الى 100 ميكرون. غالبا ما تكون الخيوط الفطرية متفرعة والفروع الجانبية لا تختلف في بنيتها عن الخيوط الاصلية ولكن احيانا، في حالة بعض الفطريات المتطفلة تتحول هذة الخيوط الى ممصات عندما تخترق جسم العائل لكي تستطيع امتصاص غذائها وهذا ما نشاهدة عند الفطريات مثل تلك التي تسبب مرض البياض الزغبي للعنب Plasmopara viticola. وكذلك ما يحدث عند فطر .Rhizopus sp عندما تخترق خيوطة الوسط الغذائي فتتحول الى اشباة جذور.

وتختلف الفطريات عن بعضها البعض في شكل وتركيب الخيط الفطري نفسة فنجد الآتي:

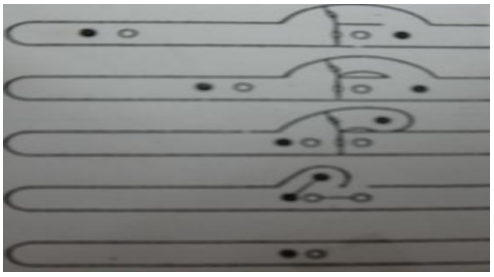
1- الفطريات التابعة لقسم Zygomycota تكون خيوطها غير مقسمة داخليا حيث تغيب الحواجز (Septa) بين الخلايا ويصبح الخيط مدمجا خلويا ويطلق علية اسم Coneocytic mycelia حيث يتحرك السيتوبلازم ومحتوياتة بما فيهم الانوية من خلية الى اخري.



تحورات تحدث في الخيوط الفطرية المتفرعة تجعلها تختلف شكلا عن الخيط الفطري الاصلي

2- فطريات ال Ascomycota و ال Deuteromycota تتكون خيوطهم الفطرية بنفس الطريقة التي تتكون فيها خيوط فطريات ال Zygomycota ولكن هذة الخيوط مقسمة بحواجز عرضية Septa وهذة الحواجز مثقوبة بثقوب يطلق عليها اسم Pores من خلال هذة الاخيرة يمر الستوبلازم والنواة.

3- فطريات ال Basidiomycota تتكون من خيوط تحتوي هي الاخرى على حواجز عرضية مثقوبة ولكن الاختلاف هنا يكمن في ان هذة الثقوب لاتسمح للأنوية بالمرور عبرها وبالتالي لاتعتبر هذة الخيوط مدامج خلوية وبناء على هذة الخاصية تميزت الفطريات البازيدية بوجود الصفة الاساسية لها والتي تميزها عن غيرها من الفطريات في الاقسام الاخرى، وهي الروابط الكلابية التي تكونها هذة الفطريات من اجل نقل أنويتها الى الخلايا الجديدة الناتجة من إنقسامات النمو.



شكل يبين لنا الروابط الكلابية وعملية انتقال النوية خلالها بعد عملية الانقسام.

طرق الحياة المختلفة عند الفطريات

التغذية

تنتشر الفطريات بشكل اساسي في العشرين سنتيمتر العلوية من سطح الكرة الارضية وخصوصا في المناطق الزراعية والغابية حيث تنتشر المواد العضوية وهي تنمو بغزارة في الظلام او بالاحرى في الضوء الضعيف وفي المناطق الرطبة لانها تحتاج بشكل كبير للرطوبة المرتفعة حيث أن الحد الادنى الذي يمكن ان تتحملة هو ما يقرب من 20% رطوبة ، ولكنها توجد في المناطق الباردة و الحارة ايضا وتنتشر الفطريات في التربة كما ذكرنا ولكن نجدها في الهواء او في المياة كانت بحار او انهار ويمكن القول انة لاتوجد حواجز جغرافية تقف امام توزعها.

الخلية الفطرية تختلف عن مثيلتها النباتية بعدم احتوائها على بلاستيدات وبالتالي فإن الفطريات تعتبر كائنات غير ذاتية التغذية (Heterotrophe) اي انها تعتمد على غيرها في الحصول على الغذاء.

وتنقسم الفطريات من حيث طبيعة المعيشة الى اربع اقسام رئيسية هي:

أولا:- الفطريات الطفيلية Parasitic Fungi

وهي الفطريات التي تنمو على عوائل مختلفة نباتية كانت ام حيوانية وتسبب لعائلها ضررا قد يؤدي الى اضعافة او عدم نموة او عدم تكاثرة وموتة، وهناك نوعين:

A - فطريات اجبارية التطفل Obligate parasites

وهي الفطريات التي لاتستطيع العيش إلا متطفلة على عوائل اخرى وإن لم يوجد العائل فإنها تمر بفترة سكون حتى تجدة أو انها تموت، وهي تقسم الى قسمين:

1- متطفلة اجبارية وحيدة العائل Autoecious obligate parasites

مثل فطر Plasmopara viticola الذي يسبب مرض البياض الزغبي للعنب

2- متطفلة اجبارية عديدة العوائل Hetroecious obligate parasites

مثل فطر Puccinia graminis الذي يسبب مرض الصدأ للمحاصيل كالقمح والشعير والذرة ...الخ، حيث يكمل الفطر دورة حياتة على عائل آخر كنباتات البربري عند انتهاء موسم القمح.

B - فطريات اختيارية التطفل Facultative parasites

وهي تعيش في الظروف الطبيعية مترممة اي على المواد العضوية فإذا لم تجدها فإنها تتقلب

ثانيا:- الفطريات الرمية Saprophytic Fungi

وهي فطريات تعيش على المواد الرمية المتحللة او بالاحرى على المواد العضوية الميتة المختلفة وهناك نوعان:

1- مترممة اجبارية obligate Saprophytic

هي الفطريات التي لاتستطيع العيش إلا مترممة ومن امثلتها، الفطريات التي تتغذى على السكر والاحماض الامينية البسيطة ومثال ذلك بعض انواع فطريات البنسيليوم (Penicillium) وهناك الفطريات الاخرى ذات القدرة الانزيمية الكبيرة والتي تستطيع تحطيم مواد معقدة كالسيلولوز و اللجنين مثل بعض انواع جنس ال Trichoderma وغالبية الفطريات التي تستعمل صناعيا هي فطريات اجبارية الترمم.

2- مترممة اختيارية Facultative Saprophytic

وهي فطريات تعيش عادة متطفلة ولكنها إن لم تجد عائلها المناسب تلجأ للترمم ويمكن زراعتها مخبريا مثل فطريات التفحم (Smuts) التابعة للفطريات البازيدية

ثالثا:- الفطريات التكافلية Symbiotic Fungi

وهي فطريات تعيش بطريقة تكافلية مع عائل آخر وينتج عن هذة العلاقة تبادل منفعة ومن اشهر الامثلة على هذة العلاقة هي عملية التكافل بين الفطريات والطحالب والذي ينتج عنها الاشنات Lichens.

ومن اهم العلاقات التكافليه للفطريات هي ما يحدث بين جذور النباتات والفطريات والتي يطلق عليها ظاهرة ال Mycorrhization اي الجذر الفطري. ويقوم الفطر من خلال هذة العلاقة بإمداد النباتات بالمواد المعدنية التي تعذر عليها الوصول اليها وثل النيتروجين والفسفور --الخ ويقوم النبات بإمداد الفطر بالمواد الكربوهيدراتية التي يعجز الفطر عن تصنيعها نظرا لإفتقادة للبلاستيدات الخضراء.

رابعا:- الفطريات النيكروتروفيه Necrotrophic Fungi

وهي الفطريات التي تبدأ طفيليه وتستمر رميه بعد موت عائلها

التكاثر

تستطيع الفطريات ان تتكاثر بعدة طرق مما يزيد من قدرتها على الإنتشار والبقاء فهي تعتمد على تغير طرق تكاثرها متأقلمة بذلك مع التغيرات الموسمية والمفاجئة.

الطرق التكاثرية المتعددة هي:

1- التكاثر اللاجنسي Asexual reproduction

جوهر التكاثر اللاجنسي هو عدم اتحاد بين انوية و خلايا او اعضاء ذكرية و انثوية وهو يعتبر اكثر شيوعا من التكاثر الجنسي حيث ان دورة الحياة اللاجنسية تتكرر اكثر من مرة خلال موسم النمو عكس التكاثر الجنسي الذي يحدث مرة واحدة في نهاية دورة الحياة.

طرق التكاثر اللاجنسي الشائعة عند الفطريات:

1. الطريقة الخضرية او تجزئة الميسليوم Vegetative reproduction Fragmentation

عن طريق تفتت الخيوط الفطرية الى اجزاء صغيرة قد تكون خلية او عدة خلايا سليمة وإذا تهيئت لها الظروف المناسبة فأن هذة الاجزاء تعطي غزلا فطريا كاملا وتستخدم هذة الطريقة لزيادة وعزل الفطريات في المعامل على الاوساط الغذائية المناسبة.

2. الانشطار المستعرض Transverse fission

غالبا مايحدث عند الفطريات وحيدة الخلية مثل الخميرة حيث تأخذ كل خلية في الاستطالة وتنقسم نواتها الى نواتين وتتخصر الخلية وتنقسم الى خليتين كل خلية تحتوي على نواة

3. التبرعم Budding

وهو خروج بروز خارجي من الخلية الام يسمى برعم Bud حيث يليه انقسام النواة الام الى قسمين ينتقل احدهما داخل البرعم الذي ينفصل فيما بعد مكونا خلية جديدة. هذا التكاثر يحدث غالبا عند فطريات الخميرة Yeastsوالتفرينيا Taphrinales والتفحمSmuts وقد ينتج احيانا سلسلة من التبرعم ليكون غزلا فطريا يسمى بالغزل الكاذب Pseudomycelia

4. تكوين الاجسام الحجرية Sclerotia

بعض الفطريات وخاصة الفطريات الكيسية Ascomycetes تتجمع فيها الهيفات لتكوين جسم صلب محكم يسمى بالجسم الحجري Slerotium. وتمتلئ خلايا هذا الجسم بالمواد الغذائية وهذة الاجسام ماهي إلا تركيبات مخصصة لكي يتحمل الفطر الظروف البيئية الصعبة حيث تنبت هذة الاجسام عندما تتحسن الظروف مثال على هذة الاجسام مايكونة فطر Claviceps purpurea

5. تكوين الجراثيم الكلاميدية Chlamidiospores

عند بعض الفطريات تغلف الخلايا بجدار سميك قبل ان تنفصل عن بعضها البعض مع تخزين مواد غذائية وتسمى بالجراثيم الكلاميدية، وهي إما ان تكون منفردة او على شكل سلاسل او بينية واحيانا تكون طرفية وتلجأ الفطريات الى مثل هذا النوع من التكاثر من اجل ان تتجاوز الظروف البيئية الصعبة، حيث تبنت هذة الجراثيم حال تحسن الظروف المناخية حولها معطية خيوطا فطرية جديدة. من امثلة ذلك فطريات العفن الاسود Mucor sp.

6. تكوين الجراثيم اللاجنسية (الابواغ) Spores

تعد الجراثيم اللاجنسية او الابواغ اكثر الطرق التي تلجأ اليها الفطريات من اجل تكاثرها وتختلف هذة الجراثيم في شكلها ولونها وحجمها وعدد خلاياها بين فطر وآخر، فقد تكون شفافة او غامقة اللون ويتفاوت طولها بين اقل من ميكرون حتى 1 ملمتر واكثر قليلا، وتوجد إما منفردة او على شكل تجمعات .

وتنقسم الجراثيم حسب الكيفية التي تحمل بها وطرق تكوينها الى قسمين:

1- الجراثيم الداخلية Endospoes

وهي جراثيم تتكون داخل حافظة او كيس ومن امثالها:

A - الجراثيم السابحة Zoospoes

وتتكون مثل هذة الجراثيم (Zoospoes) داخل حوافظ جرثومية يطلق عليها إسم Sporangium وهي جراثيم تخص عادة الفطريات المائية أوالتي تعيش في وسط رطب. الجراثيم عبارة عن كتلة بروتوبلازمية عارية ذات أشكال مختلفة ومزودة بسوط أو اكثر يساعدها على العوم والسباحة ويختلف عدد الاسواط ومكانها فقد تكون امامية أو خلفية أو جانبية.

B- الجراثيم الحافظية Sporangiospores

وتتكون داخل اكياس او حوافظ جرثومية Sporangia وهي تفتقد للاسواط وبالتالي غير متحركة وتحاط عادة بجدار خلوي حيث تنطلق خارج الحافظة حال تمزقها بعد ان تنضج الجراثيم ويتم نقلها بواسطة الرياح وتحمل الحوافظ الجرثومية عادة على هيفا متخصصة تسمى حامل الحافظة Sporangiophore كما هو الحال عند فطريات عفن الخبز مثل فطر Rhizopus stolonifer

2- الجراثيم الخارجية Exospoes

ويطلق عليها إسم Conidiospores او الجراثيم الكونيدية واحيانا الكونيديات Conidia وهي جراثيم غير متحركة وتنتظم خارجيا على التراكيب المولدة لها او بمعنى آخر على الحوامل الكونيدية Conidiophores. ومن اشهر الامثلة على ذلك فطري Aspergillus و Penicillium و Phtophthora وتختلف الجراثيم الكونيدية في الشكل والتركيب وعدد الخلايا وهي توجد إما منفردة مثل فطريات جنس Phytophthora او على شكل سلاسل كما في فطريات البنسيليوم و الاسبرجيلس او في مجاميع تبقى متعلقة داخل قطرة مخاطية كما هو الحال عند فطريات جنس Cephalosporium ومعظم الفطريات تنتج اشكالا مختلفة من الجراثيم ونادرا ماتنتج شكلا واحدا وقد نجد في بعض الفطريات اكثر من اربعة اشكال مختلفة.

يعتمد تصنيف الفطريات بشكل كبير على شكل وحجم هذة الجراثيم ولونها وطريقة انقسامها، وهذة الجراثيم تكون احيانا مقسمة بحواجز عرضية الى عدد من الخلايا كما هو الحال عند العديد من فطريات جنس Fusarium او قد تظهر مقسمة بحواجز طولية وعرضية كما هو الحال عند بعض فطريات جنس Alternaria .

تقسيم الاحياء حسب حاجتها للاوكسجين

تقسم الاحياء حسب حاجتها للاوكسجين الى :-

1. الاحياء الهوائية الاجبارية Obligate aerobes

وهي تلك الاحياء التي يجب ان تحصل على ال O2الجزيئي لكي تشبع احتياجها للطاقة حيث يقوم ال O2هنا بعملية الاكسدة النهائية ضمن التفاعلات الايضية محررا بذلك الطاقة .

2. الاحياء غير الهوائية الاجبارية Obligate anaerobes :

وهي تلك الاحياء المجهرية التي تحصل على الطاقة عن طريق تفاعلات معينة لايدخل فيها O2 الجزيئي عاملا مؤكسدا ولهذا لايدخل هذا العنصر ضمن المتطلبات الغذائية لهذا النوع من الاحياء ويتوقف نمو هذه الاحياء او تقتل اذا ما تعرضت لهذا العنصر وان سمية O2 لهذه الاحياء تعد معقدة او غير مفهومة حيث بعضها يحتوي على انزيمات يجب ان تبقى في حالة اختزال لكي تعمل بحالة طبيعية وبذلك فان وجود O2 سيعطل هذه الانزيمات ويتوقف نموها .

عند نمو البكتريا في ظروف تحتوي على الاوكسجين تنتج مادتين سامتين وهي :

أ. Superoxide ion O2− ب. Hydrogen peroxide H2O2

وعند وجود انزيم Superoxide dismutase يعمل على إزالة Superoxide ion مما يساعد على تكوين زيادة من مادة بيروكسيد الهيدروجين H2O2 السامة للخلية

$$2O2+2H2 \xrightarrow{\text{Superoxide dismutase}} H2O2+O2$$

ويعمل انزيم اخر يسمى Catalase بإزالة سمية H2O2

$$2H2O2 \xrightarrow{\text{catalase}} O2+H2O$$

O2H2 يسبب تلفا او ضررا في شريط ال DNA في rec gene .

عدا ال Lactic acid bacteria وهي من نوع aerotolerant anaerobes حيث لا تحتوي على انزيم ال Catalase ولكن انزيم اخر يسمى ال Peroxidases الذي يعمل على اختزال H2O2 الى H2O بوجود مواد عضوية مؤكسدة .

ومعظم الاحياء اللاهوائية الاجبارية لاتمتلك انزيم Catalase الذي يفلق جزيئة H2O2 الى O2 وماء الا انها أيضا لاتمتلك الانزيمات التي تستطيع ان تحول O2− الى H2O2 وقد اقترح العلماء ان موت الاحياء بوجودO2 يعود الى تكوين H2O2 وتجمعه فيما بين الخلايا ويعتبر مادة سامة جدا .

3.الاحياء اللاهوائية الاختيارية Facultative anaerobes :

وتدعى أحيانا بالاحياء الهوائية الاختيارية F.aerobes وهي احياء تستطيع ان تنمو بوجود او غياب O2 ومن الناحية الفسلجية نستطيع ان نميز مجموعتين من الاحياء :

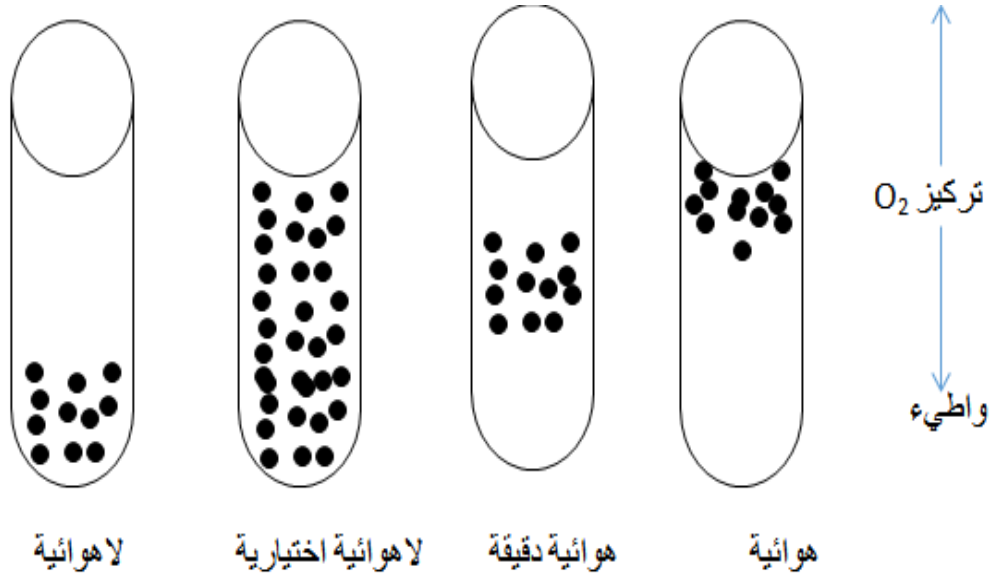
أ. مجموعة تعتمد على عمليات التخمر في الحصول على الطاقة الضرورية للنمو الا انها لا تتاثر بوجود ال O2 وتضم هذه المجموعة العديد من الخمائر وبكتريا القولون تستطيع ان تغير فعالياتها الايضية من التخمر الى التنفس.

ب. مجموعة هذه الاحياء تستخدم O2 ان وجد ليقوم بتفاعلات الاكسدة وتحرير الطاقة وهي تحصل على الطاقة عن طريق تفاعلات التخمر ان لم تجد الاوكسجين .

4.الاحياء الهوائية الدقيقة Microaerophilic organisms :

وهي الاحياء التي يتوقف نموها او قد تقتل بوجود O2 بتركيزه الموجود في الهواء الا انها تنمو بشكل جيد ان توافر لهاO2 بتركيز ضئيل قد يبلغ اقل من 0.2 من الضغط الجوي وقد تعود هذه الحالة الى وجود انزيمات حساسة لوجود عامل مؤكسد قوي ولكنها تعمل بصورة اعتيادية بوجود ضغط جزئي لل O2 مثل البكتريا التي تحصل على طاقتها عن طريق اكسدة الهيدروجين واستغلال الهيدروجين يتطلب تدخل انزيم nase Hydroge الذي يتعطل بوجودO2 .

استجابة نمو الاحياء الدقيقة المختلفة لل O2 في مزرعة شبه صلبة ان اعلى تركيز لل O2 يوجد في اعلى الانبوب في حين ينخفض التركيز الى أوطأ مستوى في قعر الانبوب.



نمو البكتريا وتكاثرها Bacterial growth and population :

يمكن تعريف النمو في الكائنات الحية عموما بانه الزيادة الحاصلة في عموم المكونات الكيميائية للكائن الحي ، وان الزيادة في مجموع الكتلة لا تعني بالضرورة نمو الكائن الحي فهي قد تكون نتيجة تخليق وتجميع مادة تخزينية خلوية مثل النشأ الحيواني دون ان يرافق هذه العملية تخليق المواد الحيوية الأساسية المتمثلة بالبروتينات والحوامض النووية ويحدث النمو عادة نتيجة الانقسام الخلوي وهذا يؤدي الى زيادة في حجم الكائن الحي المتعدد الخلايا اما في الاحياء وحيدة الخلية فانه يؤدي الى زيادة في عدد الافراد .

الانقسام الخلوي Cell Division :

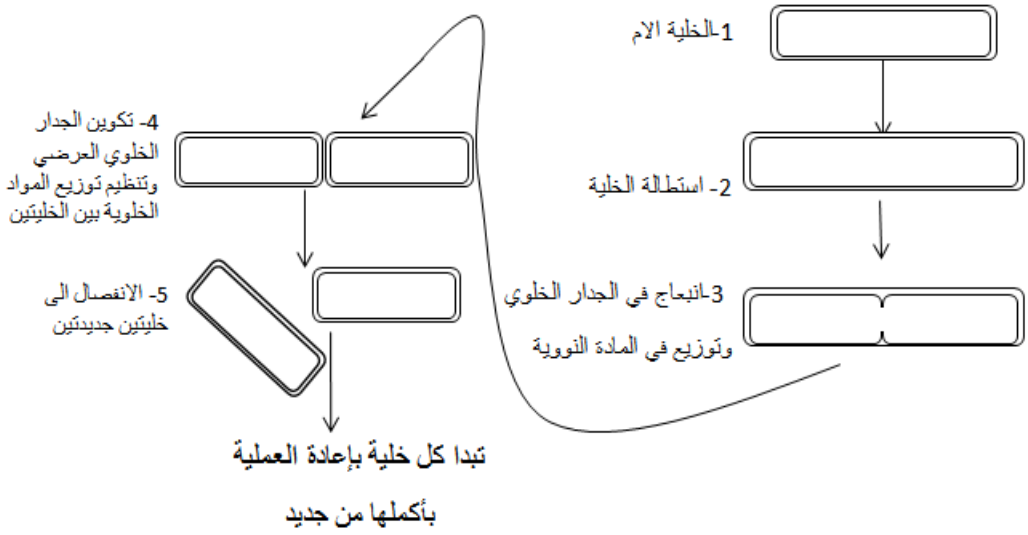
تتضاعف جميع الخلايا الخضرية Vegetative cell حيوانية كانت ام نباتية او التي تمثل كائنا حيا بذاتها عن طريق الانقسام الخلوي غير الجنسي (الا ان هذا التقسيم لا يسري على الفيروسات) وينتج الانشطار عن انقسام الخلية الى خليتين او اكثر وان كلا من هذه الخلايا المتولدة تستمر في الانشطار او الانقسام غير الجنسي الى ما لانهاية بشرط توافر الغذاء والطاقة اللازمين لديمومة النمو والتكاثر فضلا عن توفر الظروف البيئية المناسبة من الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة الى كمية الاوكسجين وتتكاثر معظم البكتريا عن طريق الانشطار الثنائي العرضي transverse binary fission وتشمل عدة مراحل :

1- استطالة الخلية cell elongation وتضاعف المادة النووية جزئيا .

2- انبعاج في الجدار الخلوي وتوزيع المادة النووية .

3- تكوين الجدار الخلوي العرضي وتنظيم توزيع المواد الخلوية بين الخليتين .

4- تبدأ كل خلية بإعادة العملية بأكملها من جديد .



شكل يوضح تضاعف الخلية البكتيرية عن طريق الانشطار الثنائي

معدل النمو للمايكروبات أحادية الخلية ذات مدى واسع ومتباين ويكون قصير جدا عند توفر الظروف الملائمة للنمو ويمكن مشاهدة اعلى سرعة للتضاعف تصل الى عشرة دقائق (بكتريا E.coli تتضاعف كل 10 دقائق) وقد تصل الى 24 ساعة للاحياء المجهرية او اكثر للابتدائيات بطيئة النمو Slow-growing protozoa وبصورة عامة فترة تضاعف الغالب من البكتريا يتراوح بين 30-60 دقيقة حيث يصل عدد البكتريا المتضاعف من خلية واحدة الى بليون خلال 24 ساعة وهذا يفسر قدرة مشاهدة المزارع البكتيرية في الأوساط السائلة او الصلبة خلال فترة حضانة تتراوح بين 24-48 ساعة . ان النمو في الاحياء المجهرية يصل نتيجة الانقسام الخلوي الا انه في بعض الأحيان يحصل النمو دون الانشطار مثل بعض البكتريا العصوية التي لا تستطيع القيام بعملية الانشطار بسبب تاثير عوامل خارجية كثيرة ، فهي تحت هذه الظروف تعاني من استنساخ المادة النووية ونمو الجدار الخلوي والغشاء السايتوبلازمي والمحتويات الخلوية الا انها لا تنشطر وانما تطول وتنمو الى خيوط طويلة غير مجزئة اما العوامل المانعة للانشطار فهي كثيرة منها الصابون واملاح الصفراء والاشعة فوق البنفسجية وبعض المضادات الحيوية بالإضافة الى النقص في المواد المغذية او حدوث الطفرات .

ان البكتريا تستطيع ان تتكاثر بطرق أخرى غير الانشطار الثنائي العرضي ففي بعض الأنواع مثل رتبة الاكتينومايستات يحصل نمو خيطي يتبعه تجزؤ Fractionation هذه الخيوط الى وحدات صغيرة تنمو الى خلايا بالحجم الاعتيادي وهنالك أنواع أخرى مثل الاحياء التابعة لرتبة ال Hyphomicrobiales تتكاثر عن طريق التبرعم Budding حيث ينفصل البرعم من الخلية الام بعد ان يصل الى حجم معين وينمو بعدها الى خلية كاملة .

قياس النمو البكتيري Measurement of bacterial Growth :

يتم حساب التجمعات البكتيرية بصورة كمية في الوسط السائل Fluid culture او بحساب المستعمرات البكتيرية في الوسط الصلب ويتم ذلك بحساب :

عدد الخلايا Cell count ، كثافة الخلايا Cell density ، او كتلة الخلايا Cell mass

ويتم تعداد الخلايا بطريقتين رئيستين وهي :

1- العدد الكلي total count 2- التعداد الحي viable count

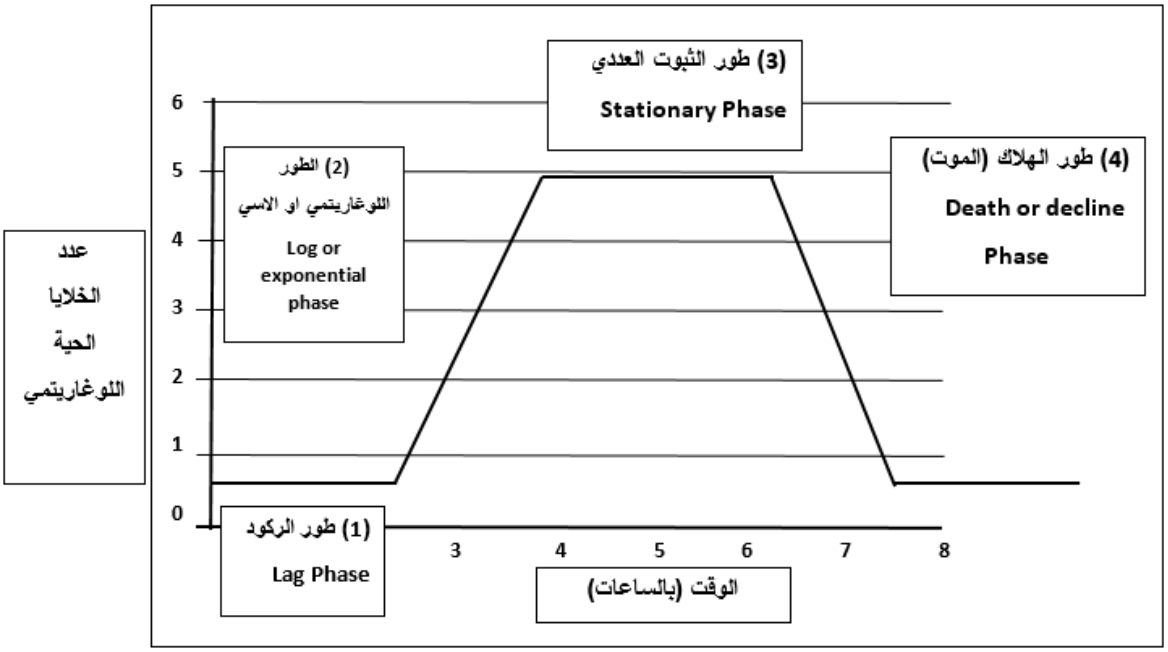
منحنى النمو البكتيري Growth curve :

مثال لحساب منحنى النمو البكتيري : نفترض ان لدينا مزرعة سائلة لبكتريا القولون Escherichia coli وقد وفرنا لها كل مستلزمات النمو من درجة حرارة ورقم هيدروجيني ومواد مغذية وغيرها ... عندها نتوقع ان خلايا هذه المزرعة ستنمو وتنقسم او تتضاعف بمعدل ثابت .

ويمكن الاستمرار في الحساب لمدة 24 ساعة ان العدد الخلوي قد يصل الى عدة ملايين من الخلايا في الملتر الواحد (لهذا ترسم العلاقة على ورقة بيانية شبه لوغاريتمية) .

مراحل النمو البكتيري :

منحنى النمو يحتوي على عدة أجزاء تبدا بمرحلة ابتدائية لا يظهر فيها أي نمو يتبعها مرحلة نمو سريعة ثم مرحلة توقف في النمو يليها تناقص في العدد الحي وهنالك مراحل انتقالية تتوسط المراحل الأربعة الرئيسية :



شكل يوضح منحنى النمو البكتيري Bacterial growth phases

1- طور الركود Lag phase او الطور الكامن Latent phase :

هي الفترة التي تحتاجها خلية معمرة مزروعة في وسط غذائي طازج تحت ظروف بيئية مناسبة تبقى مؤقتا كما هي لا تتغير ولا تنقسم لمدة قد تطول او تقصر اعتمادا على نوع البكتريا وهذا لا يعني ان الخلايا خاملة او ساكنه بل يزداد حجمها بشكل ملحوظ لتجمع الحامض النووي وتخليق الانزيمات والانزيمات المساعدة coenzyme وبكميات مناسبة لعمليات التمثيل الغذائي التي تحدث داخل الخلية .

2- الطور اللوغاريتمي Exponential or Logarithmic phase :

تقوم الخلايا في هذا الطور بالانشطار بصورة منتظمة وبمعدل ثابت وان الخط البياني الذي يربط لوغاريتم العدد البكتيري والوقت هو خط مستقيم والعلاقة بينها هي علاقة طردية .

مميزات الطور :

أ. تكون الخلايا خلال هذا الطور متساوية تقريبا من ناحية المكونات الكيميائية والفعاليات الايضية والخصائص الايضية الأخرى .

ب. عدد الخلايا الحية يتساوى مع العدد الكلي وذلك لان نسبة الخلايا الميتة تكون واطئة جدا وان الخلايا جميعها خلايا فتية نشطة .

ت. ان حجم الخلايا في هذا الطور يكون في حده الأدنى .

ث. الغشاء السايتوبلازمي او الجدار يرق بشكل ملحوظ وان فعالية الخلية الايضية تكون في اوج نشاطها .

ج. الخلايا في هذا الطور اكثر حساسية للمؤثرات البيئية الخارجية وللمضادات الحيوية .

ويدعى الوقت اللازم لانشطار الخلية الواحدة الى خليتين اثنين بعمر او زمن الجيل Generation Time وهو ثابت بالنسبة للنوع البكتيري اذا ما ثبتت الظروف البيئية فاذا بدانا بخلية واحدة فستتضاعف خلال مدة معينة من الوقت الى خليتين ثم الى اربع خلايا لنفس المدة من الوقت وهكذا الى ثمانية ... ستة عشر ... وان المدة الفاصلة بين كل انشطارين تبقى ثابتة وبذلك يمكن حساب عدد الخلايا الناتجة بعد فترة معينة من الزمن (زمن التجربة) وحساب عمر الجيل ضمن المعادلة الرياضية التالية :

$$\text{ح (عمر الجيل)} = \frac{\text{ن(المدة الزمنية لإنجاز التجربة)}}{\text{ع (عدد الأجيال)}}$$

ع= 3,3 لو ب \ أ

أ = عدد الخلايا المزروعة التي بدانا بها عند الوقت صفر .

ب= عدد الخلايا بعد مدة معينة من الوقت .

3- طور الثبوت والاستقرار Stationary phase :

يمثل ثبوت العدد البكتيري نتيجة التوقف التام للانشطار الخلوي او ربما نتيجة التوازن بين معدل الانشطار ومعدل الموت للخلايا وذلك نتيجة قلة المواد المغذية ، تجمع المواد التالفة والسامة وتغير الاس الهيدروجيني .

4- طور الموت Decline or death phase :

في هذا الطور يتغلب معدل موت الخلايا على معدل انشطارها ويكون موت الخلايا لوغاريتميا اي ان الخلايا تموت بمعدل ثابت ويحدث موت الخلايا نتيجة نفاد المواد الغذائية الرئيسية وتجمع:

المواد التالفة والسامة مثل الحوامض .

5- المراحل الانتقالية بين اطوار النمو : الملاحظ عند انتقال المزرعة تدريجيا من طور الى اخر وهذا يعني ان الخلايا ليست جميعا في حالة عضوية واحدة متماثلة عند اقتراب المزرعة من الطور التالي .

النمو التزامني Synchronous growth :

وهي المزرعة التي تنقسم فيها جميع الخلايا في ان واحد وتستعمل هذه المزارع في نواح بحثية كثيرة . ويحدث التزامن بالنمو عند نقل خلية بكتيرية واحدة من مزرعة لوغاريتمية الى وسط غذائي طازج جديد ومن نفس مكونات الوسط الغذائي المستخدم وبنفس درجة حرارة الحضن المستخدمة ففي هذه الحالة تنشطر الخلية هذه الى خليتين متشابهتين تقريبا وبسبب هذا التشابه التقريبي بين الخليتين فان انشطارهما التالي يكون متزامنا الا ان هذا التزامن لا يكون مطلقا وهكذا يستمر التزامن التقريبي في النمو لبضعة أجيال حيث تدخل الخلايا في طور الانقسام العشوائي بسبب تراكم الفروقات الفسلجية الطفيفة جدا بين الخلايا .

الزرع المستمر Continuous Culture :

هي الطريقة الزرعية التي يتم بها السيطرة على توفير المواد الغذائية بصورة مستمرة وإزالة المواد الضارة المفرزة من قبل الاحياء المجهرية اثناء النمو بذلك يتم المحافظة على الزرع في الطور اللوغاريتمي دون الدخول بطور الثبات .

القياس الكمي للنمو البكتيري :

اولا : الطرق المباشرة :

ان دقة هذه الطريقة تقل كثيرا اذا ما كان العدد البكتيري عاليا جدا او منخفضا جدا ففي الحالة الأولى تتراكم الخلايا بعضها فوق البعض الاخر وبذلك نجد هنالك خلايا لا تحسب .اما في الحالة الثانية فان الخلايا قد تتجمع في بقعة معينه هذا فضلا عن ان الخطا ان وجد فهو يتضخم وهذا غير مقبول احصائيا .

1- حساب عدد الخلايا باستخدام المجهر .

أ) طريقة بريد Breed method:-

يتم حساب عدد الخلايا او البكتريا بعد ان ناخذ حجما معينا من النموذج وتوزعه على مساحة معروفة من شريحة مجهرية ومن ثم تصبغ هذه المساحة وتفحص بالمجهر وعند معرفتنا لمساحة

الحقل المجهري تحسب عدد الخلايا فيه لكي نعرف العدد البكتيري في الملتر الواحد من النموذج كتقدير عدد الخلايا البكتيرية في الحليب .

ب) Petroff –Hausser counting chamber or hemocytometer

وتستعمل هذه الشريحة لحساب عدد خلايا الدم الحمراء وهي عبارة عن شريحة خاصة مجزئة الى مربعات تبلغ مساحة المربع1/400 ملم^2 وتغطى الشريحة بغطاء رقيق يستند اليها تاركا مسافة 1/50 ملم بينه وبينها وبذلك يكون لدينا حجم1 / 20000 ملم^3 فوق كل مربع من مربعات الشريحة ويتم حساب عدد الخلايا في الملتر الواحد

2- العد بواسطة اغشية الترشيح :

وتستعمل اغشية خاصة بثقوب صغيرة جدا ومنتظمة بحيث تمنع مرور البكتريا اذا ما رشح السائل من خلالها تمرر كمية معروفة الحجم من السائل المراد حساب عدد الخلايا فيه من خلال غشاء الترشيح . فتحجب البكتريا من عبور الغشاء وتبقى محبوسة عليه ويمكن عدها وهي على الغشاء باستخدام المجهر حيث تصبغ البكتريا وثم يضاف زيت التغطيس (immersion oil) على الغشاء لجعله شفافا لكي تستطيع فحصه بالمجهر . تستعمل هذه الطريقة لتحديد عدد البكتريا في الهواء او الماء او أي حجم نموذج كبير وذات محتوى بكتيري واطيء جدا .

3- العد بواسطة العدادات الالكترونية :

تستطيع هذه الأجهزة عد او حساب الاف الخلايا الحية والميتة خلال مدة قصيرة جدا من الوقت قد لا يتجاوز بضع ثوان وتعتمد هذه الأجهزة على مبدا العين الالكترونية حيث ان هنالك اشعة الالكترونية تعبر من قطبين في هذه العين او الفتحة فاذا مرت الخلايا من خلال هذه الأقطاب اعترضت مرور الاشعة هذه وبذلك تقطع الدائرة الكهربائية ويترجم هذا القطع الكهربائي بواسطة أجهزة معينة الى ارقام تمثل عدد الخلايا البكتيرية التي مرت خلال العدادات .

ثانيا : الطرق غير المباشرة :

1) الطرق الكيمياوية :

هنالك مواد معينة توجد بكميات ثابتة تقريبا في الخلايا الحية ومن الممكن عند التقييس الكمي لهذه المواد ان تحدد تقريبا كمية او كتلة الخلايا التي تحتويها وتعتمد هذه الطريقة في مجال الصناعات حيث يكون نمو الاحياء المجهرية كثيفا ويعد النايتروجين احد هذه المواد المعتمدة .ويوجد النايتروجين بحدود ثابتة في البروتينات عموما ولقياس النمو بهذه الطريقة تجمع الخلايا وتغسل جيدا ونتخلص مما علق بها من وسط غذائي ويتم القياس الكمي للنايتروجين بطريقة كلدال Kjeldhal method وكذلك قياس كمية البروتين في الخلية باستخدام كشاف فولن Folins reagents حيث يعطي لونا بتفاعله مع الحوامض الامينية التايروسين tyrosin

والتربتوفان tryptophan وهي حوامض توجد دائما في البروتينات بكميات ثابتة تقريبا . ويمكن قياس مؤشرات أخرى للنمو مثل تحديد المجاميع الامينية الحرةfree amino– group او الحوامض النووية DNA , RNA او كمية الفسفور في هذه الحوامض .

2) تحديد وزن الخلايا الجاف :

ان الوسيلة المباشرة الوحيدة لقياس كتلة الخلايا هي عملية الوزن الجاف للخلايا البكتيرية في مزرعة ذات حجم معروف وتستعمل هذه الطريقة في المجالات الصناعية والبحثية .

3) قياس العتمة Turbidity Measurment :

وهي طريقة شائعة جدا في مجال تحديد كتلة الخلايا للاحياء الوحيدة الخلية وهي طريقة ضوئية حيث تحدد فيها كمية الضوء المنتشر في معلق من الخلايا وتعتمد هذه التقنية على حقيقة انه عندما تعلق الاجسام الصغيرة جدا في سائل ما فان قدرة هذه الاجسام على امتصاص الضوء ونشره في السائل تتناسب مع تركيزها وضمن حدود معينة فعندما تمرر حزمة ضوئية خلال احد هذه السوائل فان الاختزال الحاصل في كمية الضوء الخارجة من السائل يؤخذ مؤشرا لكثافة الخلايا وتدعى كمية الضوء المختزلة هذه بالكثافة الضوئية وهي تقاس باستخدام أجهزة قياس المطياف الضوئي Spectrophotometer .

4) طريقة التخفيف المتسلسل Serial Dilution :

وتستخدم هذه الطريقة لتقدير اعداد البكتريا الحية في السوائل مثل الحليب، الماء او المزارع السائلة حيث يخفف مللتر واحد من النموذج السائل عشرة اضعاف في كل تخفيف ولغاية أربعة تخفيفات او خمسة حسب ما يناسب كثافة الخلايا في النموذج وتجرى التخفيفات باستعمال المرق المغذي مخففا وفي انابيب اختبار مناسبة حيث تحضن هذه الانابيب بعد ان ترج رجا جيدا ويسجل ان كان هناك نمو او لا يوجد .

طريقة عد المستعمرات Colony count :

وتستخدم هذه الطريقة لتحديد عدد البكتريا في الحليب والماء ومواد أخرى ، وفي هذه التقنية يصب حجم معروف من المزرعة السائلة او النموذج السائل في طبق بتري ، ثم يضاف بعدها وسط الاكار المغذي السائل تحت درجة حرارية لاتزيد على 45 درجة مئوية ثم يحرك الطبق بلطف لمزج النموذج وتوزيعه جيدا ضمن وسط الاكار وبعد فترة حضانة مناسبة تحسب المستعمرات النامية حيث ان حساب عدد المستعمرات يعني عدد الخلايا الحية في النموذج ان عدد المستعمرات التي تستطيع العين البشرية عدها تعطينا اقل خطا احصائي ، تنحصر ما بين50 مستعمرة الى 200 مستعمرة ولهذا علينا تخفيف النموذج ليعطينا عدد من المستعمرات يقع ضمن هذه الحدود .

زراعة الاحياء المجهرية Cultivation of Microorganism :

بناء الوسط الزرعي :

ان الهدف الأساسي في بناء الأوساط الزرعية هو توفير خليط متوازن من المواد الغذائية التي تحتاجها الاحياء المجهرية وبتراكيز تسمح بنمو جيد على ان لا تزيد تراكيز هذه المواد المغذية في الوسط الزرعي ولأسباب كثيرة منها :

1. لان العديد من المواد المغذية تتقلب الى مواد مانعة للنمو او قد تصبح سامة اذا ما ازداد تركيزها .
2. حتى لو حدث النمو في الوسط الزرعي عالي التركيز فان الطبيعة البيئية ستتغير نتيجة الفعاليات الايضية للاحياء المجهرية النامية فتصبح هذه البيئة غير مناسبة وتتغير الحالة الفسلجية لهذه الاحياء او قد تموت وقد يكون هذا بسبب التغير الشديد في تركيز الايون الهيدروجيني او بتجمع المواد العضوية السامة او لنفاد الاوكسجين في حالة الاحياء الهوائية الاجبارية .

ان عملية تحضير الوسط الزرعي تعتمد على توفر :

1.مجموعة الفلزات المهمة التي تناسب أي كائن دقيق 2.مصدر كاربوني ومصدر نيتروجيني وعوامل النمو الأخرى .

ومن الطبيعي ان تختلف المكونات الغذائية باختلاف الكائن الدقيق المراد تنميته فبعضها يكون نحسا او شرهاfastidious ويحتاج الى عوامل نمو خاصة في حين لا تحتاج الكائنات ذاتية التغذية الى وجود مركبات عضوية بل تحتاج الى ثاني أوكسيد الكاربون ولهذا تقسم الأوساط الزرعية الى :

أ. الوسط الصناعي Synthetic medium : هو الوسط الزرعي المعروفة مكوناته كما ونوعا من الناحية الكيمياوية .

ب. الوسط المعقد Complex medium : هو الوسط الزرعي الذي لا تعرف مكوناته الكيمياوية كما ونوعا وذلك بإضافة بعض المواد مثل خلاصة اللحم او خلاصة الخميرة لتزويد الوسط الزرعي بالمركبات الكيمياوية العضوية واللاعضوية المختلفة .

أ) السيطرة على الرقم الهيدروجيني (PH) :

يتاثر نمو الاحياء المجهرية في الأوساط الزرعية وبشكل ملحوظ بالتغيرات الكيمياوية التي تطرا على المزرعة نتيجة الفعاليات الايضية للاحياء النامية فمثلا تتكون الحوامض العضوية نتيجة الفعاليات التخمرية التي تقوم بها البكتريا النامية في وسط الكلوكوز الزرعي . وقد يتوقف نمو هذه البكتريا نتيجة تكون هذه الحوامض واحيانا تتكون القواعد بدل الحوامض اثناء النمو نتيجة قيام الاحياء المجهرية النامية بتهديم او استخدام الايونات السالبة الموجودة في الوسط الزرعي

وان التفاعلات الايضية التي تجري على البروتينات والحوامض الامينية قد تغير الرقم الهيدروجيني الى القاعدة نتيجة تكون الامونيا .

تنمو معظم البكتريا عند الرقم الهيدروجيني (PH)المتعادل (PH=7) مع انها تتحمل العيش ما بين 1حامضي 8 قاعدي لذلك ال (PH) الذي يشهد نشاطا للانزيم يسمى ال PH المثالي او المفضل Optimum PH اما اذا زاد ال PH فيبدا نشاط الانزيم بالتراجع لان نشاط الانزيم يمثل معدل النمو .

قسمت البكتريا على أساس نشاطها بحسب الرقم الهيدروجيني الى :

1. البكتريا المحبة للحامضية العالية (PH) منخفض Acidophilic .
2. البكتريا المحبة للحامضية المعتدلة Neutrophilic وهذا يمثل معظم أنواع البكتريا مابين PH (6.5 – 7.5) .
3. البكتريا المحبة للقاعدية (PH) عالي Alkalophilic وهذه تفضل ال PH الأكثر من 8 مثل بكتريا الكوليرا .

ويحدث التغير في الرقم الهيدروجيني نحو القاعدية او الحامضية بصورة تدريجية وبكلام اخر فان الأوساط الزرعية تقاوم هذا التغيير نتيجة الفعل الدارئ لبعض مكونات الوسط واهمها الحوامض الامينية والبروتينات حيث تمتلك هذه المواد جذر

الأمين القاعدي $-NH_2$ وجذر الكاربوكسيل COOH الحامضي وبذلك تستطيع هذه المواد ان تتحد مع الحامض او القاعدة في ان واحد ولهذا يقال عن هذه المواد بانها امفوتيرية amphoteric ويستعان ببعض المواد الدارئة واهمها املاح الفوسفات والكاربونات الدارئة .

Soil Microbiology

تعرف التربة من الناحية الميكروبولوجية بأنها بيئة أو نظام ملئ بمجاميع من الأحياء المجهرية وان هذه الأحياء مسؤولة عن العديد من الفعاليات التي تحدث . قسم من هذه التفاعلات تكون ذات تأثير ايجابي مثل تحلل المخلفات العضوية والحيوانية والنباتية ومخلفات الإنسان التي تصل إلى التربة مع تحرر العناصر الغذائية المختلفة وبشكل جاهز للنبات .

والأخرى ذات تأثير سلبي في حياة النبات أي التي تحول الصورة الجاهزة للنبات إلى الصورة غير الجاهزة إضافة إلى الأمراض المختلفة التي تسببها .

تطور علم الأحياء المجهرية :

لقد تطور علم الأحياء المجهرية وخاصة علم أحياء التربة المجهرية لدرجة الفهم الواضح لدور الأحياء المجهرية في عملية تكوين التربة وتحولات العناصر الغذائية وتأثير ذلك في نمو النبات .

1- اكتشاف دور الأحياء المجهرية في تحلل المادة العضوية :

في نهاية القرن السابع عشر كانت حرب علمية بين المختصين في علم الكيمياء والفسلجة والأحياء المجهرية فقد كان قسم منهم يعتقد بأن تحول العناصر الغذائية داخل التربة عملية كيميائية بحتة ليس للأحياء المجهرية أي دور فيها والقسم الآخر كان يعتقد العكس .

العالم الفرنسي Louis Pasteur (1822-1895) أول من تطرق لعلم الأحياء المجهرية في التربة ، إذ بين بأن الأحياء الدقيقة تسبب التخمر والتعفن والانحلال . وأشار إلى معدنة المخلفات العضوية ذات المصدر الحيواني والنباتي إذ تتحول العناصر الغذائية إلى أشكال جاهزة للنبات أو بالعكس وان هذه العملية تعتمد على الظروف المحيطة ونوع الأحياء المجهرية .

فعند توفر الأوكسجين سوف تتحلل الكربوهيدرات إلى CO_2 وعند عدم توفر O_2 سوف لا تكتمل عملية التحلل ، إذ بالإضافة لغاز CO_2 تتكون غازات أخرى كالهيدروجين والميثان والكحولات وأحماض عضوية بعملية تسمى Fermentation .

2- علم أحياء التربة المجهرية Soil Microbiology

يعد هذا العلم أحد فروع علم الأحياء المجهرية الذي يدرس المجاميع الموجودة في التربة ودورها في التحولات المختلفة فهو يدرس أعداد الأحياء المجهرية وتصنيفها والطرق المستعملة في مقاييس نشاطاتها في التربة .

3- اكتشاف عملية النترجة Nitrification

وهي عبارة عن عملية تأكسد الامونيوم إلى نترات . رصد العالمان Schloesing و Munt 2 (1877) . عند مرور مياه المجاري ببطء خلال عمود زجاجي مليء بالرمل وكربونات الكالسيوم فأن الامونيوم الموجود في المياه يتأكسد بمرور الزمن إلى نترات وعند إضافة كمية قليلة من نجار الكلوروفورم تتوقف العملية تماماً . وإضافة كمية قليلة من معلق التربة (كلقاح بكتيري) تبدأ عملية التحول ثانية . وبذلك ثم إثبات إن هذه العملية حيوية ولا يمكن أن تتم إلا بوجود الأحياء المجهرية .

جاء العالم Warrington واثبت إن الامونيا الناتجة من تحلل المادة العضوية تتأكسد بالتربة حيوياً إلى نترات بمرحلتين الأولى تأكسدها إلى نتريت NO_2 والمرحلة الثانية تأكسد النتريت إلى نترات NO_3 .

وأكمل هذا العمل العالم الروسي Winogradsky (1891) ليعزل البكتريا المسؤولة عن مرحلتي أكسدة الامونيوم وسمى البكتريا المسؤولة عن المرحلة الأولى Nitrosomonas والبكتريا المسؤولة عن المرحلة الثانية Nitrobaeter .

4- اكتشاف البكتريا المثبتة للنتروجين N- Fixation

منذ القدم عرفت أهمية البقوليات في اغذاء خصوبة التربة ، فقد أشار العالم Boussingault (1838) إلى إن أهمية البقوليات يعود لتثبيتها للنتروجين الجوي . وفي عام (1858) اكتشف العالم Lachmann العقد الجذرية على جذور النباتات البقولية . في عام (1879) وجد العالم Frank إن هذه العقد الجذرية تتكون نتيجة التلقيح بالأحياء المجهرية (البكتريا) ، وفي عام (1885) اثبت العالمان Hellriegel و Wllfarth إن البقوليات تأخذ النتروجين من الجو بواسطة البكتريا الموجودة في داخل العقد الجذرية وتحوله إلى مركبات نتروجينية . وأخيرا استعمل العالم الهولندي المشهور Beijerinck (1851-1931) الأوساط الغذائية الغنية المنتخبة للحصول على مزرعة نقية من البكتريا المسؤولة عن عملية التثبيت وسماها Bacillus radicicola وحالياً تعرف Rhizobium spp وسمى هذه العملية بالتثبت التعايشي للنتروجين Symbiotic N2-Fixation .

يوجد نوع آخر من التثبت لغاز النتروجين بالتثبت اللاتعايشي Non symbiotic N2 Fixation وكان للعالمان Beijerinck و Winogradsky الفضل في اكتشافه . إذ استخدم Winogradsky وسطاً غذائياً معقماً خالياً من أي مصدر من مصادر النتروجين وبعد تلقيحه بكمية قليلة من التربة وتحضينه في ظروف ملائمة لمدة من الزمن لاحظ نمو خلايا بكتيرية في أسفل الدورق الحاوي على الوسط الغذائي وخلايا أخرى نامية على السطح ، واستنتج بأن النامية على السطح هي بكتريا هوائية والتي نمت في الأسفل هي بكتريا لاهوائية ، واثبت لاحقاً بأنها تابعة للجنس Clostridium كما اثبت بأن النمو البكتيري الذي حصل في الدورق جاء نتيجة لتثبيت النتروجين لاتعايشياً. وجاء العالم Beijerinck وعزل البكتريا النامية على السطح وسماها Azotobacter .

مما تقدم يمكن القول إن الفضل في تطور علم الأحياء المجهرية في التربة يعود إلى العالمان Winogradsky و Beijerinck اللذان يوصفان في نفس الصف من العالمان Robertkoch و Louis Pasteur إذ اهتم الأخيران في دراسة الأحياء المجهرية المرضية ، اما العالمان الأوليان فقد اهتما بدور الأحياء المجهرية في الطبيعة وبالتربة بالذات لذا يمكن أن نعدهما الأبوين لعلم أحياء التربة المجهرية Fathers of Soil Microbiology .

5- المضادات الحيوية Antibiotics

أول من اكتشف المضادات الحيوية هو العالم Fleming (1929) إذ اكتشف المضاد الحيوي البنسلين الذي ينتجه الفطر Penicillun notatum .

اما المضادات الحيوية المكتشفة في الوقت الحاضر فتعود للعالم الامريكي Waksman (1888-1973) إذ عزل الكثير من اجناس الاكتينومايتات المنتجة للمضادات الحيوية من التربة ولعل من أشهرها المضاد الحيوي Streptomycin .

6- اكتشافات أخرى

Loch head عالم كندي درس طرق تغذية بكتريا التربة واهتم بدراسة الأحياء المجهرية في منطقة Rhizosphere (المنطقة المحيطة بالجذور) .

Thom عالم امريكي (1872-1951) برز في مجال فسلجة فطريات التربة وتصنيفها .

في عام (1962) قام العالمان الالمانيان Peterson و Jensen بعزل الجنس Derixia ، وفي عام (1966) وصف العالم Dobereiner النوع البكتيري المثبت للنتروجين بصورة حرة A2otobacter .
وفي عام (1976) عزل العالم نفسه بالاشتراك مع العالم Day بكتريا حلزونية لها القدرة على تثبيت النتروجين وهي بكتريا Spirillium Lipoferum .

مفاهيم مهمة يجب أن يطلع عليها الطالب لما لها أهمية في فهم المواضيع اللاحقة والمتعلقة بعلم أحياء التربة المجهرية .

1- مفهوم النمو Growth concepts

تتميز الأحياء المجهرية بفترة حياة محدودة جداً في الظروف الطبيعية ويؤدي انقسام الخلية وتكاثرها عادة إلى تكوين عدد كبير من الخلايا في ظروف الحضن الملائمة على الأوساط الصناعية المناسبة . يكون مجموعها مستعمرة clony ويبلغ عدد خلايا بعض الأنواع الجرثومية الحد الأقصى خلال 24 ساعة أو اقل بكثير .
نمو الأحياء المجهرية يعني زيادة عدد الخلايا أي التكاثر ولذلك يستعمل اصطلاح النمو في المايكروبيولوجيا مكافئاً لهذا الازدياد .

2- النمو الخلوي Cell Growth

تمثل الخلية الجرثومية عملياً الفرد الحي فتنمو وتتكاثر بطرائق مختلفة :

أ- الانقسام الثنائي Binarry Fission

طريقة لاجينية للتكاثر شائعة في الظروف البيئية المناسبة . إذ تنقسم الخلية غالباً إلى خليتين تحصل كل منهما على نصف المكونات الأصلية للخلية الام . ويتكون غشاء سايتوبلازمي عرضي ثم يظهر جدار خلوي ينقسم بدوره إلى جدارين . وتنفصل الخليتان الوليدتان عن بعضهما مباشرة .

ب- التبرعم Budding

طريقة لاجنسية للتكاثر إذ تستطيل إحدى نهايات الخلية ثم يتكون جدار عرضي قرب النهاية ويتكون نتوء صغير يمتد خارج الخلية الام مكوناً خلية وليدة Daughter cell يزداد حجمها وتنفصل عن الخلية الام كالخميرة .

ج- الاقتران Conjugation

احد انماط التكاثر الجنسي تنتقل فيه صفات الخلايا الأبوية المختلفة في إحدى الصفات الوراثية الثابتة على الأقل إلى الأجيال اللاحقة .

د- التفتت (التجزؤ) Fragmentation

كما يحصل في الشعاعيات إذ يحصل تجزأ في الخيوط الفطرية إلى وحدات صغيرة جداً وتنمو مرة ثانية . وهذا يدعى النمو الخيطي Filamentous .

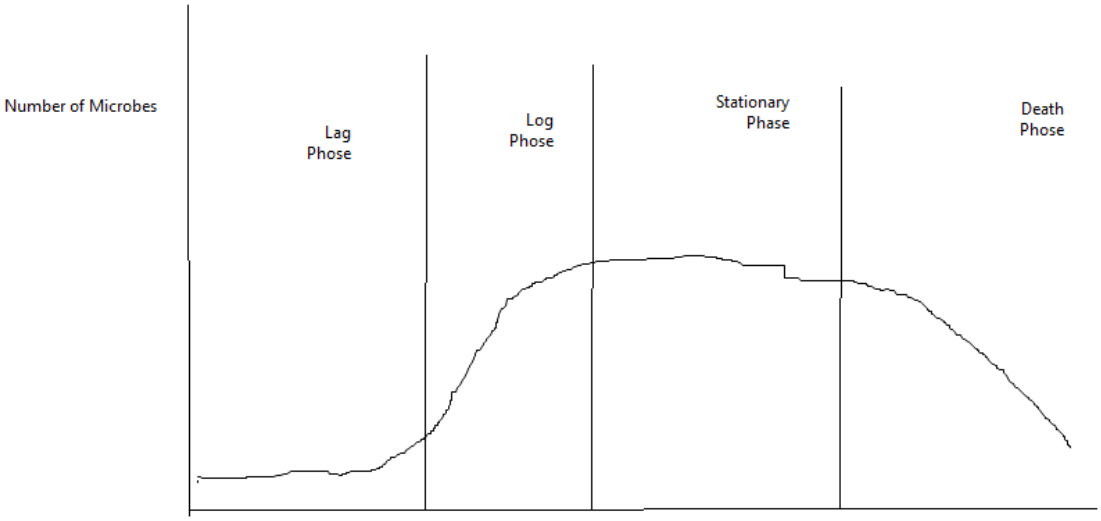
3- نمو الجماعات Population Growth

يمثل الجيل Generation الفاصل بين نشوء الخلايا الأصلية وانقسام كل منها إلى أثنين ويتضاعف فيه عدد الخلايا وكتلتها الحيوية ويدعى الزمن اللازم لاتمام دورة الانقسام الخلوي وتضاعف الخلايا زمن الجيل Generation time ويدعى احياناً زمن التضاعف

Doubling time ويختلف زمن الجيل باختلاف أنواع الأحياء المجهرية قد يكون 1-3 ساعة أو 30 دقيقة أو أيام .

4- دورة النمو Growth cyele

تتضاعف الجماعة الجرثومية النامية بالمختبر في الظروف المناسبة خلال فواصل منتظمة ولا يكون ازدياد العدد الخلوي فيها ازدياداً حسابياً بل يكون النمو اسياً Exponential Growth ويرتبط زمن الجيل في الجراثيم بعوامل مختلفة ، السلالة ، تركيب الوسط الغذائي ، درجة الحرارة ، عمر المزرعة .



المنحنى الافتراضي للنمو الجرثومي في الظروف المثالية

1- Lag Phase (طور الركود)

عند تلقيح الوسط الغذائي بالخلايا الجرثومية فأن هذه الخلايا تمر في فترة سبات ، يتضاعف حجم الخلية من 2-3 مرات ويزداد محتوى الخلية من RNA في حين يبقى محتوى الخلية من DNA ثابت .

2- Log Phase (طور الانفجار)

سرعان ما يبلغ معدل الانقسام الخلوي درجة يثبت فيها زمن الجيل ويزداد معدل التنفس الخلوي وتدعى هذه الفترة بفترة النمو السريع الطور الأسي أو اللوغارتيمي Exponential or Logarithmic .

3- Stationary Phase (طور الثبات)

يحدث توازن بين عدد الخلايا المنقسمة وعدد الخلايا الميتة ويتباطأ معدل التكاثر وتزداد فترة زمن الجيل ويثبت العدد الإجمالي .
ويتوقف نمو المزرعة الجرثومية عاجلاً ام آجلاً للأسباب التالية :

- **نفاذ المواد الغذائية من الوسط الغذائي .**

- **زيادة تركيز المواد الناتجة عن النشاط الخلوي التي تؤدي إلى ضعف PH إلى الحد الذي يحد من عملية الانقسام .**

4- Death Phase (طور الموت)

يتجاوز عدد الخلايا الميتة عدد الخلايا المنقسمة ويبدأ طور الانحدار Decline Phase بسبب اختلال التوازن في تعويض معدل الموت بتكوين خلايا جديدة في الجماعة الجرثومية إلا انه ينتهي بالموت .

علم الاحياء المجهرية

البكتريا :

هي احياء أحادية الخلية تمتلك المواد البروتوبلازمية الأساسية اللازمة للنمو والتكاثر . تستهلك المواد الذائبة بالسوائل وتطرح الفضلات الناتجة عن العمليات الايضية بالانتشار diffusion وتنتشر بصورة واسعة بالطبيعة ولها القابلية على التكيف في مختلف الظروف تتواجد على سطوح الاجسام وفي داخلها وفي الغذاء والماء والهواء الذي نستنشقه.

تواجدها

توجد بوفرة في الطبقات العليا للتربة وفي كل مناطق الأرض عدا القمم الجبلية الثلجية ، وتوجد أيضا في طبقات الجو العليا stratosphere وفي أعماق المحيطات ocean ويصل عدد البكتريا في 1gmمن التربة الى 2.5 billion bacteria وتعرف لحد الان عدة الاف من الأنواع البكتيرية ، وحوالي مئة نوع تسبب الامراض للإنسان وبنسبة 1الى 30000 من البكتريا المسببة للامراض ، قسم من البكتريا تسبب الامراض للإنسان وأخرى للحيوانات الواطئة والنباتات والبعض الاخر لايصيب أي من الكائنات الحيه ولكنه يعيش بصورة تعايشية Commensally وقد تعيش في جسم الانسان ولاتسبب المرض normal flora تسمى البكتيريا المسببة للامراض بالـ Pathogenic والبكتريا غير المسببة للامراض non – pathogenic وتحت ظروف معينة مثل انخفاض المناعة وضعف الجهاز الدفاعي للجسم حيث تصبح ممرضات انتهازية opportunistic pathogens

الشكل :forms

تعرف للبكتريا ثلاثة اشكال رئيسية

1– Spherical coccus

ولكن يوجد اختلاف ضمن الشكل الواحد ، فليس من الضروري ان تكون كروية كاملة الشكل ولكن تكون بيضوية ellipsoidal او متطاولة elongatedاو مسطحة من احد الوجهين flattened on side one

2– Rod shaped – Bacillus

العصيات تتراوح بين طويل اسطواني (نحيف – رقيق slender) او قصير short وسميك Plump وعندما تكون العصيات قصيرة وسميكة او عصيات بيضوية مشابهه للـ cocci تعرف بالـ coccobacilli نهاية العصيات تكون عادة دائرية rounded او منبسطة square او مقعرة concave

3–spirilum

وهي عصيات منحنية تشبه الضمة COMMA كخلايا الكوليرا VIBRIO

الحجوم والاشكال SHAPE& SIZE

– يتراوح قطر المكورات COCCI بين µ 2 – 4.1 . µ مايكرون.

–اصغر العصيات smallest bacilli بين µ 5.0 طولا – وقطرها . µ 2.0

– ويصل طول اكبر العصيات المرضية largest pathogenic bacilli الى 1µ قطرا و 3µ طولا وبمعدل µ 5.0 قطرا و 2µ طولا.

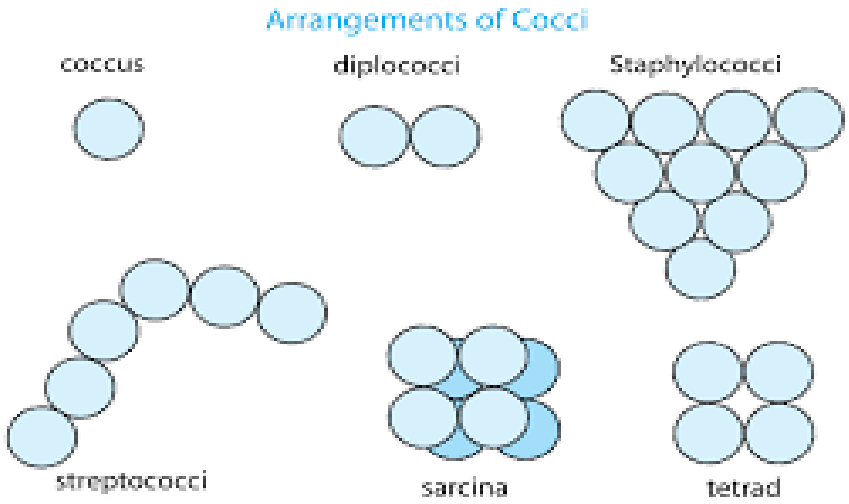
–عصيات البكتريا غير المرضية non pathogenic bacilli تكون اكثر طولا وتصل الى 20µ و 4µ قطرا.

–الحلزونيات spirilla تكون عصيات ضيقة تصل طولا من . µ 14–1

التجمعات : cluster

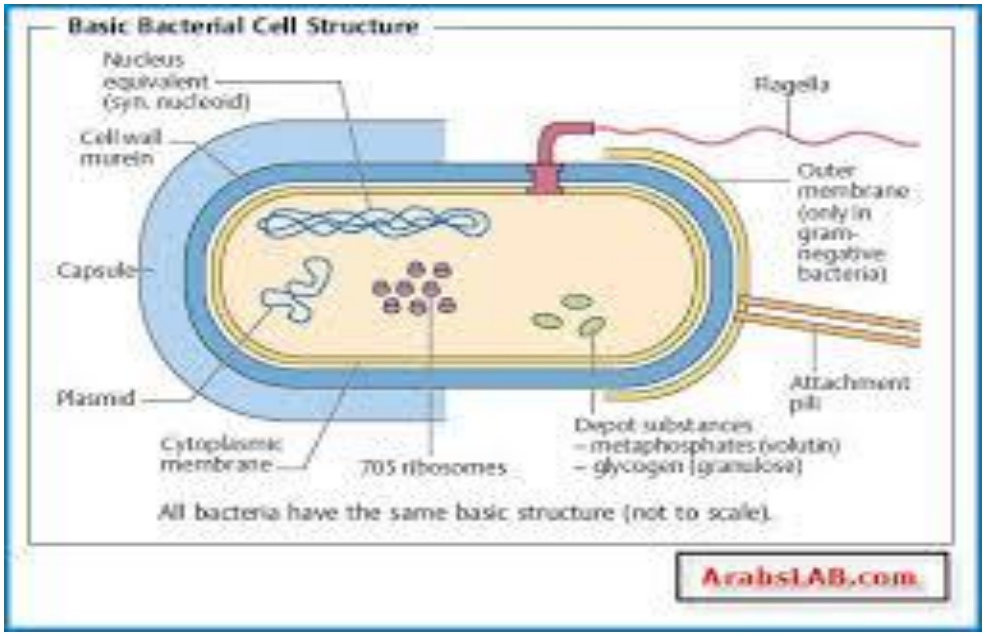
تتكاثر البكتريا عن طريق الانقسام المباشر binary fission وان الخلايا المتولدة ينفصل بعضها عن البعض الاخر بعد ان يتم الانقسام مباشرة الا انه في بعض الأنواع تبقى الخلايا المتولدة بعضها ملتصقا بالبعض الاخر بعد عملية الانقسام بحيث تكون لدينا العديد من التجمعات الخلوية فتتكون سلاسل من الخلايا كانواع البكتريا العصوية التابعة للجنس Bacillus والجنس Lactobacillus وهي تختلف عن الاحياء الخيطية المتعددة الخلايا مثل Beggiatoa التي تشترك فيها الخلايا بعضها مع البعض الاخر بصورة دائمة في جدار خلوي مشترك يغطي جميع الخلايا بحيث لايمكن فصل هذه الخلايا بعضها عن البعض الاخر دون ان تموت ، في حين ان سلاسل البكتريا يكون فيها الاتصال غير مستقر او ثابت حيث يمكن فصل الخلايا بواسطة الرج مثلا دون ان تموت هذه الخلايا وان كل خلية تمثل كائنا حيا مستقلا بذاته .

في حالة تجمع الخلايا الكروية الشكل وعندما يكون الانقسام بمستوى واحد نحصل على مكورات بكتيرية متسلسلة كما في streptococci ولايتعدى عدد خلاياها الستة او ينفصل بشكل خلايا مزدوجة مثل Diplococci او تحدث انقسامات متعاقبة في مستويات متعامدة بعضها مع البعض الاخر لتشكل مربعا بأربع خلايا فتسمى مكورات رباعية tetrads او تجمعات غير منتظمة مثل (Staphylococci عنقودية.) .



التراكيب الخلوية : Structure

تضم الخلايا البكتيرية عدد من التراكيب والعصيات يقع قسم منها خارج الخلية والقسم الاخر محاط بغلاف الخلية وقسم من هذه التراكيب تتواجد في أنواع معينة من البكتيريا دون الأنواع الأخرى لذا يعتبر صفة تصنيفية كوجود الاسواط او عدم وجودها او وجود الصبغات ..... الخ.



شكل يوضح التراكيب الخلوية

1- الجدار الخلوي Wall Cell

هو الجدار الذي يحيط بالبكتريا وقد عرفت وظيفته لأول مرة من قبل بحوث Weilball سنة 1953 حيث اجرى بحوثه على بكتريا Bacillus Megaterium عندما عامل هذه البكتريا بالـ Lysozymeوتمكن من إزالة الجدار الخلوي ودراسة صفات الخلية البكتيرية الناتجة بعد إزالة الجدار كتحول الشكل العصوي الى كروي ... الخ

وظائف الجدار الخلوي:

1- يحدد شكل الخلية البكتيرية ويعطيها الصلابة.

2- محيطا بالغشاء البلازمي وباقي محتويات الخلية .

3- مقاوما لشدة ضغط البروتوبلاست Protoplast الذي يحتويه وبهذا فهو يمنع تحلل الخلية عند وضعها في بيئة واطئة الشدة اقل من 10- 20 % .

يتكون الجدار الخلوي من نوع فريد من مادة عضوية متعددة polymer Organic تدعى الـ Murein او Peptidoglycan وهذه المادة عبارة عن مكررات متباينة Heteropolymers وتتكون من عدة أنواع مختلفة من الوحدات الفرعية مثل الكاربوهيدرات وبعض الحوامض الامينية هي خلات الكلوكوز الامينية وترتبط باواصر مستعرضة من الحامض الاميني . Alanine-L , isoglutamine-D, Alanine-D , Lysine-L .

في كل أنواع البكتريا العمود الفقري الأساسي backbone هو Muramic و glucosamine ولكن الروابط الجانبية side chaineوالروابط المستعرضة cross- bridge تختلف باختلاف أنواع البكتريا والتي تمثل الاحماض الامينية الأربعة المذكورة سابقا .

مادة البيبتيدوكلايكان مجسمة أي ثلاثية الابعاد ومن هنا تاتي قوتها ، وهي بذلك لا تعترض دخول الماء والمواد الغذائية مثل المعادن والكلوكوز والحوامض الامينية حتى المواد العضوية الأخرى ذات الجزيئات الكبيرة نسبيا ، هذا وان المواد التالفة تخرج من خلال هذا الممر .

بالإضافة الى ان صلابة تركيب Peptidoglycan تاتي من الاواصر المستعرضة التي تربط الـ Polymer وتكون اكثر عدد في جدران الخلايا الموجبة لصبغة كرام اكثر مما هي عليه في البكتريا السالبة لصبغة كرام وبالإضافة الى مادة Peptid فهنالك مواد معقدة أخرى تشكل معها مجمل هيكل هذه الجدران ففي البكتريا السالبة لصبغة كرام يكون الجدار رقيقا جدا يبلغ سمكه 10-15نانومتر وهو يشكل 10- 20% من وزن الخلية الجاف ويتكون من 5-15 % من Peptidoglycan و 35% من الدهون الفوسفاتية Phospholipids و 15% من Protein و 50% من Lipopolysaccharides .

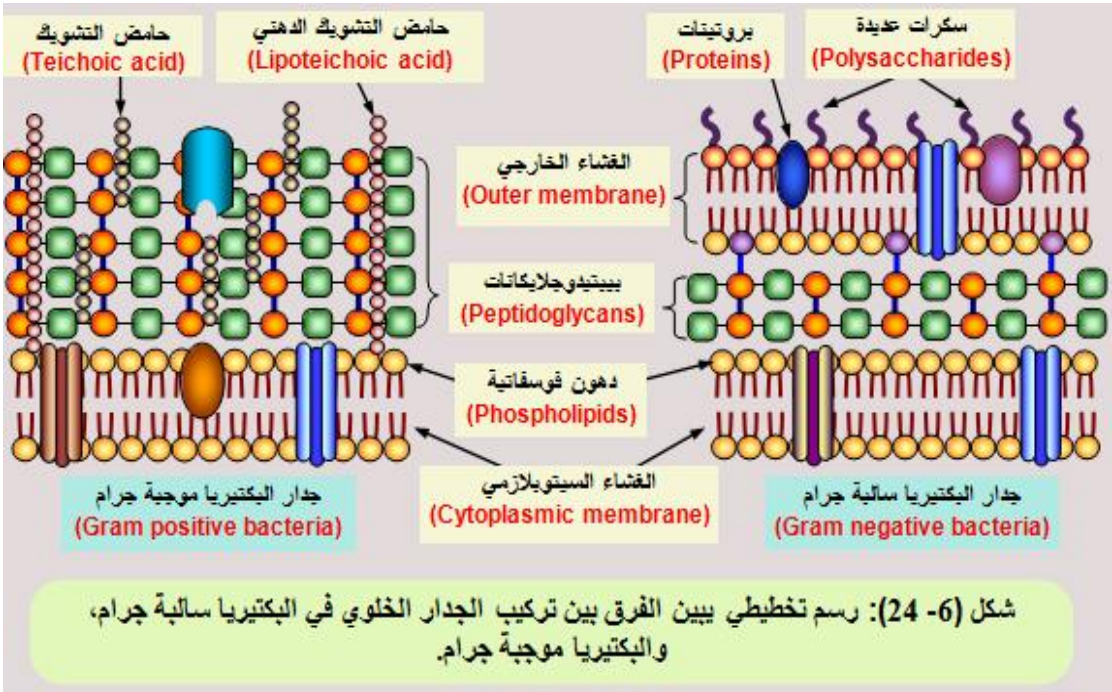
اما البكتريا الموجبة لصبغة كرام فيكون جدارها اكثر سمكا مما هو عليه في البكتريا السالبة لصبغة كرام حيث يبلغ سمكه 25–35 nm ويشكل 20– 40% من وزن الخلية الجاف ويحتوي على 20 – 80 %من مادة Peptidoglycan إضافة الى مواد اخرى مثل البروتينات والسكريات المتعددة وحامض Teichoic acid.

المكونات الخاصة بجدار الخلية للبكتريا السالبة لصبغة كرام . ve–G:

يحتوي جدار الخلية للـ ve–G على ثلاث مكونات تقع خارج طبقة Peptidologycan وهي

1– Lipoprotein يتالف من 57 حامض اميني على شكل مكرر لـ 15 حامض اميني يرتبط باصرة ابتدائية للحامض الاميني Diaminopimelic الموجود في السلاسل الرباعية الجانبية لمادة الـ Peptidologycan والدهن thioether diglyceride يرتبط بـ cysteine اما وظيفة البروتينات الدهنية فهي موازنة الغشاء الخارجي وتثبيته مع طبقات Peptidoglycan .

2– membrane Outer : وهي طبقة ثنائية من دهون فوسفاتية يتكون من أرضية سائلة تحتوي على بروتينات خاصة موجودة في مادة بينية مكونه من دهون فوسفاتية . يعمل هذا الغشاء على منع تسرب البروتينات الموجودة في space Periplasmic ويحمي البكتريا المعوية من الاملاح والانزيمات المحللة الموجودة في بيئة المضيف .



شكل (6- 24): رسم تخطيطي يبين الفرق بين تركيب الجدار الخلوي في البكتيريا سالبة جرام، والبكتيريا موجبة جرام.

تختلف نفاذية الغشاء الخارجي من نوع لاخر ففي البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* تكون نفاذية هذا الغلاف اقل من 1000 مرة من نفاذية غلاف بكتريا *E. coli* ولهذا تكون البكتريا الأولى شديدة المقاومة للمضادات البكتيرية antibacterial agents يحتوي الغشاء الخارجي على مجموعة من البروتينات تسمى البروتينات الثانوية Minor protein لها علاقة بنقل الجزيئات الصغيرة مثل فيتامين B12 ،penicillin binding ،phospholipase, proteases, protein

3- Lipopolysaccharid : تتكون من دهن معقد يسمى A Lipid يرتبط بـ سكريات متعددة يتكون A Lipid من سكريات ثانوية مكونة من كلوكوز امين مفسفر amine glucose Phospho مرتبطة مع الاحماض الشحمية ذات السلاسل الطويلة . تكون السكريات المتعددة ثابتة للانواع البكتيرية وتتغاير بقية الاحماض الشحمية .

فائدتها :

1- تعمل هذه الطبقة الدهنية على موازنة الغشاء وتكون حاجزا يمنع دخول بعض الجزيئات المحبة للماء Hydrophilic molecules .

2- تكون هذه الطبقة سامة جدا للحيوانات تدعى endotoxin) الذيفان الداخلي (لانها توجد ضمن جسم خلية البكتريا وعندما تتحلل هذه الدهون الى A Lipid والسكريات المتعددة تكون جميع سميتها عائدة الى الجزء الأول في حين تمثل السكريات المتعددة المستضدات السطحية الرئيسية المسماة O Antigen ويكون عدد المستضدات هذه كثيرا فهناك اكثر من 1000 نوع من المستضدات في بكتريا الـ Salmonella لوحدها .

2-الغشاء السايتوبلازمي membrane Cytoplasmic :

يتالف الغشاء السايتوبلازمي من شحوم فوسفاتية Phospholipids وبروتينات Proteins . ويقع تحت الجدار الخلوي مباشرة ، يمثل الجزء البروتيني الطرف المحب للماء hydrophilic والشحوم الفوسفاتية تمثل الجزء غير المحب للماء hydrophobic وهي طبقة شبه سائلة semifluid تتحرك بين طبقتي بروتين دون ان تنزلق .

الغشاء السايتوبلازمي ، تركيب يمكن عزله عن بقية التراكيب الخلوية فعند إزالة الجدار الخلوي عن طريق استخدام lysozyme. ثم انفجار الـ Protoplast وعند وضعه في محلول واطىء الشد تندلع محتويات الغشاء البلازمي او مادة السايتوبلازم للخارج ويبقى الغشاء السايتوبلازمي على شكل كيس رقيق حيث ينظف بغسله بالماء ومن ثم طرده مركزيا.

وظيفة الغشاء البلازمي :

1- موقع مهم للانزيمات التنفسية respiratory enzyme system (enzyme cytochrome) التي تتواجد في الخلايا حقيقة النواة ضمن عضيات المايتوكندريا mitochondria .

2- ينظم مرور المواد الغذائية والمنتجات الايضية بين الخلية والمحيط الخارجي .

3- يعمل حاجزا تنافذيا barrier osmotic يعمل على مرور جزيئات معينة دون غيرها ، حيث لايسمح بمرور المواد ذات حجم جزيئي يزيد على حجم الكليسيرين ، وبهذا فهو يسمح بتكوين ضغط تنافذي داخل الخلية ويحافظ عليه .

4- السماح بمرور الجزيئات الايضية الكبيرة ضمن أنظمة النقل النشيط system transport Active وتدعى أيضا بانزيمات النضوح او Permeases حيث يتخصص كل نظام من هذه الأنظمة لمادة معينة او مجموعة مواد تتقارب بتركيبها الكيمياوي .

5- يحمل المستقبلات receptors وبروتينات متخصصة تعمل كمحفزات مناعية .

6- يقوم بتكوين انزيمات خارجية enzyme extracellular .

الية انتقال المواد عبر الغشاء السايتوبلازمي :

1- النقل السلبي Passive transport:

وهو نقل المواد من خارج الخلية الى داخلها بصورة بطيئة وبمساعدة Specific protein system والقوة المحركة للجزيئات المارة خلال الغشاء هي الفرق بين تركيز الجزيئات او المادة على جانبي الغشاء البلازمي ، ويتم انتقال الماء وبعض المواد القابلة للذوبان في الدهون مثل الكليسيرولglycerol

1- النقل الفعال active transport :

تحتاج عملية النقل هذه الى طاقة ناتجة عن الأفعال الحيوية للبكتريا metabolic energy بالإضافة الى الوسيط البروتيني carrier protein وبمعنى اخر تنتقل المواد الغذائية بغض النظر عن تركيزها ولكن يتم النقل بواسطة الطاقة .

مثال على ذلك : انتقال السكريات سداسية الكاربون Hexoses عبر الغشاء السايتوبلازمي وتجهز الطاقة لهذا النقل عبر اصرة الفوسفات الغنية بالطاقة والموجودة ضمن جزيئة ال Phosphoenol pyruvate(PEP) وبوجود البروتين الحامل للطاقة carrier protein وانزيم يحفز التفاعل ، ثم يقوم هذا البروتين الحامل للطاقة بفسفرة السكر السداسي الموجود خارج الغشاء السايتوبلازمي من خلال تفاعل اخر تنتقل فيه الفوسفات الى السكر بتوسط انزيم معين :

$$PEP + Protein \xrightarrow{\text{Enzyme 1}} Pyruvate + protein\ phosphate$$

$$Protein\ phosphate + sugar \xrightarrow{\text{Enzyme II}} sugar\text{-}6\text{-}phosphate + protein$$

تسمية الكائنات الحية

يرجع نظام التسمية الحالي للاحياء الى القرن الثامن عشر لعالم النبات السويدي لينايوس ولأول مرة باعطاء النباتات اسمين لاتينيين يمثل أولهما الجنس Genus وثانيهما النوع Species.

ويشمل الجنس مجموعة من الأنواع المتقاربة في الصفات وان هذين الاسمين يشكلان التسمية الثنائية والبكتريا شانها شان باقي الاحياء تخضع لذات نظام التسمية الثنائية ومع وجود بعض الاختلافات البسيطة ضمن افراد النوع البكتيري الواحد ولهذا يقسم النوع الى سلالات strains او ضروب varieties

Ex :

Kingdom prokaryotes

Divison Gracilicutes

Class scotobacteriae

Family Enterobacteriaceae

Genus Escherichia

Species coli

...Escherichia coli var.K12

ذات رائحة مميزة Streptococcus lactis.var maltigenes

معرفة الكائنات الحية وتشخيصها

يعتمد في تصنيف البكتريا على مصدر رئيسي يعمل به في كل انحاء العالم :

1974 Bergeys manual of Determinative bacteriology ويراجع هذا الكتاب دوريا وعلى مر السنين لمتابعة ما يضاف من خصائص وصفات جديدة تكتشف وتضاف للنوع البكتيري المعين وما تحدثه هذا الصفات الجديدة من تغيير في المواقع التصنيفية للبكتريا .

تصنيف البكتريا

يقسم عالم الاحياء بدائية النواة Prokaryotes الى قسمين :

Division I : البكتريا الزرقاء cyanobacteria

وتشمل الاحياء البدائية النواة والتي تقوم بعملية التخليق الضوئي وتنتج الاوكسجين oxygen Prokaryotes photosynthetic وتكون احياء غير متحركة ولكن حركتها انزلاقية motility Gliding وحيدة الخلية منتشرة في البيئة المائية .

Bacteria: Division II

يعتمد في تصنيف هذه الاحياء على :- الاشكال الظاهرة للخلايا ، تفاعل صبغة كرام ، الايض المنتج للطاقة ، الحركة و تكوين بعض النواتج الايضية ، تكوين السبورات ، والتطفل الاجباري .

الأسس المعتمدة في تصنيف البكتريا

1. شكل الخلايا Morphology.

ومن خلال الفحص المجهري يتم تشخيص ما يلي :

حجم الخلايا ، الشكل ، وجود السبورات ، تفاعل صبغة كرام ، الصبغة الحامضية ، وجود المحفظة ، الاسواط ومتابعة

حركة البكتريا خلال الفحص المباشر .

2. الخصائص المزرعية :

تنمو الاحياء المجهرية في مواد مختبريه تدعى الأوساط الزراعية Culture media وتحتوي هذه الأوساط على مغذيات مختلفة تفي بمتطلبات نمو الميكروب المعين ، كوجود املاح بسيطة او مغذيات طبيعية مضافة الى الوسط بالإضافة الى توفر عوامل بيئية مساعدة للنمو كتوفر الاوكسجين ، ثاني أوكسيد الكاربون ، الضوء ، حرارة مناسبة، منها ما ينمو في 36 م ومنها من تحتاج حرارة اقل او اكثر من ذلك.

3. الخصائص الايضية :

تنتج الخلايا البكتيرية اثناء نموها مواد ايضية مختلفة ، وتستعمل لتصنيف الاحياء الى اجناس مختلفة وللتميز بين أنواع تابعة لنفس الجنس فمثلا :

1- يتميز جنس propionibacterium على انتاج حامض البروبونيك propionic acid اثناء عملية التخمر.

2- التمييز بين الأنواع التابعة لجنس الـ clostridium بالاستعانة بنواتجها الايضية التخمرية التي تشمل مواد Acetone , Butanol , Isopropanol , Acetic acid ,butyric acid

3- انتاج الانزيمات والسموم الخلويه هو الاخر مهم في تحديد الفروقات بين الأنواع او الاجناس كانتاج انزيم urease من قبل معظم أنواع الجنس Proteus وافراز انزيم coagulase من قبل النوع Staphylococcus aureus لتميزه عن بقية أنواع نفس الجنس وافراز انزيم B-haemolysin . للبكتريا المسببة لالتهاب اللوزتين Streptococcus pyogenes) تعمل على التحلل الكامل لكريات الدم الحمراء في الوسط اكار الدم Blood Agar.

4. الأسس التصنيفية الأخرى :

أ . عملية تحديد النمط المصلي Serotyping تعطينا صورة واضحة عن الفروقات بين التراكيب السطحية للعزلات البكتيرية وذلك عن طريق وجود او غياب المستضد النوعي antigen specific مثال : في معرفة النمط المصلي serotypes للسالمونيلا حيث يبلغ عدد الأنماط الى اكثر من 2111 نمط مصلي .

ب. تداخل العاثيات Bacteriophages مع سطح الخلية البكتيرية ويعتبر نوعيا أي من الممكن استخدام العاثيات – الفايروسات – في تحديد نوع البكتريا (ومن الممكن تحديد النمط الفايروسي Phage typing – عن طريق تسمية الفايروس النوعي الذي يحلل البكتريا قيد الدراسة.

ج . مقاومة البكتريا او حساسيتها للمضادات الميكروبية يمكن اتخاذها معيارا اخر للتميز بين البكتريا ، فمثلا صبغة البنفسج البلوري violet Crystal تتفاعل مع البكتريا الموجبه لصبغة كرام دون البكتريا السالبة ، وتاثير المضادات الحيوية على مجموعة او جنس او حتى السلالات البكتيرية دون غيرها .

5. التصنيف العددي Taxonomy Numerical ويعرف أيضا بالـ taxonomy Computer :

يعتمد أساس هذا العمل على استعمال عدد كبير من العينات)المكررات (يصل الى 511 او اكثر وعدد كبير من الاختبارات مثلا استعمال 71 اختبار او فحص) تشمل النشاطات الايضية .. (فاذا ظهرت نتائج متطابقة في قسم من هذه الاختبارات أي تشابه 511% حينئذ يصنف هذا القسم في ركن تصنيفي واحد ولو تشابه قسم اخر من البكتريا في 14 فحص فقط أي ان مقدار التشابه 11% يوضع هذا القسم في ركن تصنيفي اخر .

6. التقنية الجزيئية في التصنيف :

ان الصفات والخصائص التي يحملها الكائن تحددها الجينات الخلوية وهذا يعني ان درجة التشابه في تسلسل او تعاقب القواعد النايتروجينية في الحوامض النوويه الـ DNA لخليتين بكتريتين تعد قياسا لعلاقتها التطورية .

الاحياء المنحدرة من اصل واحد تتشابه في تسلسل قواعد الـ DNA.

أ . نسبة الجزيئات : يعتمد أساس هذه التقنية هو تحديد نسبة القاعدتين النايتروجينية Guanine الكوانين والسايتوسين Cytosine الى بقية القواعد النتروجينية الأربعة ، وان النسبة المئوية للـ C+G من البكتريا تتراوح ما بين الـ 25 الى 61 %) من الثابت في التحليل الكيميائي تبقى نسبة الكوانين الى السايتوسين دائما متساوية وأيضا للـ الادنين Adenine والثايمين Thymine

ب. تهجين ال Hybridization of DNA of . DNA :

أساس هذه الطريقة يعتمد على فك او تفريق الحامض النووي لـ DNA ثنائي الشريط الى اشرطة منفردة عندما تسلط عليه حرارة مناسبة ، وتحت ظروف معينة فان التبريد البطيء يعيد الاواصر الهيدروجينية الرابطة للشريطين المتتامين وبذلك يعاد تكوين الـDNA الثنائي الشريط من جديد وتدعى هذه العملية تعديل او ترسيخ الـ DNA of Annealing (DNA) .

وعندما تخلط اشرطة منفردة من الـ DNA لكائنين مختلفين وتترك هذه الأشرطة لتتعدل او تترسخ فان مدى تكون الـ DNA الثنائي الشريط يعتمد بدرجة كبيرة على درجة تشابه تسلسل او تعاقب القواعد النايتروجينية بين الحامضين النووين المختلفين . وان الـ DNA الثنائي الشريط الحاوي على اشرطة مختلفة المصدر يدعى الهجين) Hybrid (وعملية تكوين الحامض النووي الهجين تدعى بعملية التهجين الـDNA (DNA Hybridization) .وتستخدم النظائر المشعة في هذه التقنية بغية تقصي عملية الترسيخ هذه ومن الممكن وصف درجة التشابه في تعاقب القواعد النايتروجينية على شكل نسبة مئوية . 100%و 90% .....)

7.التقنيات الحديثة واهميتها التصنيفية :

اكتشفت في السنوات القليلة الماضية العديد من الأجهزة والتقنيات التي قدمت خدمة مهمة الى علم تصنيف الاحياء ومن هذه الأجهزة اكتشاف وتطوير استخدام المجهر الالكتروني الذي افاد بشكل كبير في معرفة تراكيب وجزيئات الخلية ومكوناتها المختلفة والتي تختلف او تتشابه اعتمادا على نوع الكائن كما ان استخدام تقنية الترحيل الكهربائي للمكونات البروتينية الخلوية أعطت إشارة وفائدة كبيرة في تمييز الاحياء اعتمادا على نوع بروتيناتها او انزيماتها وقد اعتمد مؤخرا على الدراسات التصنيفية الكيمياوية من خلال دراسة المكونات الكيمياوية للاحياء ومعرفة نوع الانزيمات وما تحتويه من احماض امينية وتسلسلها كما ان اكتشاف تقنية الـ PCR (Polymerase chain reaction) الفضل الكبير في تحديد تسلسل وتعاقب القواعد النتروجينية للاحماض النوويه والتي من خلالها يمكننا التمييز بين الاحياء

8. علم التصنيف الكيمياوي chemotaxonomy

فبدلا من ان تحدد وجود انزيم معين او عدم وجوده أصبحت الدراسة تتجه نحو تخصيص هذا الانزيم بمواصفات كيمياوية وفيزيائية ومحتواة من الحوامض الامينية وتسلسل هذه الحوامض فيه فقد نجد فعاليتين انزيميتين متشابهتين في كائنين حيين الا ان هذين الانزيمين يختلفان تماما تركيبيا.

Soil Microbiology

تعرف التربة من الناحية الميكروبولوجية بأنها بيئة أو نظام ملئ بمجاميع من الأحياء المجهرية وان هذه الأحياء مسؤولة عن العديد من الفعاليات التي تحدث . قسم من هذه التفاعلات تكون ذات تأثير ايجابي مثل تحلل المخلفات العضوية والحيوانية والنباتية ومخلفات الإنسان التي تصل إلى التربة مع تحرر العناصر الغذائية المختلفة وبشكل جاهز للنبات .

والأخرى ذات تأثير سلبي في حياة النبات أي التي تحول الصورة الجاهزة للنبات إلى الصورة غير الجاهزة إضافة إلى الأمراض المختلفة التي تسببها .

تطور علم الأحياء المجهرية :

لقد تطور علم الأحياء المجهرية وخاصة علم أحياء التربة المجهرية لدرجة الفهم الواضح لدور الأحياء المجهرية في عملية تكوين التربة وتحولات العناصر الغذائية وتأثير ذلك في نمو النبات .

1- اكتشاف دور الأحياء المجهرية في تحلل المادة العضوية :

في نهاية القرن السابع عشر كانت حرب علمية بين المختصين في علم الكيمياء والفسلجة والأحياء المجهرية فقد كان قسم منهم يعتقد بأن تحول العناصر الغذائية داخل التربة عملية كيميائية بحتة ليس للأحياء المجهرية أي دور فيها والقسم الآخر كان يعتقد العكس .

العالم الفرنسي Louis Pasteur (1822-1895) أول من تطرق لعلم الأحياء المجهرية في التربة , إذ بين بأن الأحياء الدقيقة تسبب التخمر والتعفن والانحلال . وأشار إلى معدنة المخلفات العضوية ذات المصدر الحيواني والنباتي إذ تتحول العناصر الغذائية إلى أشكال جاهزة للنبات أو بالعكس وان هذه العملية تعتمد على الظروف المحيطة ونوع الأحياء المجهرية .

فعند توفر الأوكسجين سوف تتحلل الكربوهيدرات إلى CO_2 وعند عدم توفر O_2 سوف لا تكتمل عملية التحلل , إذ بالإضافة لغاز CO_2 تتكون غازات أخرى كالهيدروجين والميثان والكحولات وأحماض عضوية بعملية تسمى Fermentation .

2- علم أحياء التربة المجهرية Soil Microbiology

يعد هذا العلم أحد فروع علم الأحياء المجهرية الذي يدرس المجاميع الموجودة في التربة ودورها في التحولات المختلفة فهو يدرس أعداد الأحياء المجهرية وتصنيفها والطرق المستعملة في مقاييس نشاطاتها في التربة .

3- اكتشاف عملية النترجة Nitrification

وهي عبارة عن عملية تأكسد الامونيوم إلى نترات . رصد العالمان Schloesing و Munt 2 (1877) . عند مرور مياه المجاري ببطء خلال عمود زجاجي مليء بالرمل وكربونات الكالسيوم فأن الامونيوم الموجود في المياه يتأكسد بمرور الزمن إلى نترات وعند إضافة كمية قليلة من نجار الكلوروفورم تتوقف العملية تماماً . وإضافة كمية قليلة من معلق التربة (كلقاح بكتيري) تبدأ عملية التحول ثانية . وبذلك ثم إثبات إن هذه العملية حيوية ولا يمكن أن تتم إلا بوجود الأحياء المجهرية .

جاء العالم Warrington واثبت إن الامونيا الناتجة من تحلل المادة العضوية تتأكسد بالتربة حيوياً إلى نترات بمرحلتين الأولى تأكسدها إلى نتريت NO_2 والمرحلة الثانية تأكسد النتريت إلى نترات NO_3 .

وأكمل هذا العمل العالم الروسي Winogradsky (1891) ليعزل البكتريا المسؤولة عن مرحلتي أكسدة الامونيوم وسمى البكتريا المسؤولة عن المرحلة الأولى Nitrosomonas والبكتريا المسؤولة عن المرحلة الثانية Nitrobaeter .

4- اكتشاف البكتريا المثبتة للنتروجين N- Fixation

منذ القدم عرفت أهمية البقوليات في اغذاء خصوبة التربة , فقد أشار العالم Boussingault (1838) إلى إن أهمية البقوليات يعود لتثبيتها للنتروجين الجوي . وفي عام (1858) اكتشف العالم Lachmann العقد الجذرية على جذور النباتات البقولية . في عام (1879) وجد العالم Frank إن هذه العقد الجذرية تتكون نتيجة التلقيح بالأحياء المجهرية (البكتريا) , وفي عام (1885) اثبت العالمان Hellriegel و Wllfarth إن البقوليات تأخذ النتروجين من الجو بواسطة البكتريا الموجودة في داخل العقد الجذرية وتحوله إلى مركبات نتروجينية . وأخيرا استعمل العالم الهولندي المشهور Beijerinck (1851-1931) الأوساط الغذائية الغنية المنتخبة للحصول على مزرعة نقية من البكتريا المسؤولة عن عملية التثبيت وسماها Bacillus radicicola وحالياً تعرف Rhizobium spp وسمى هذه العملية بالتثبت التعايشي للنتروجين Symbiotic N2- Fixation .

يوجد نوع آخر من التثبت لغاز النتروجين بالتثبت اللاتعايشي Non symbiotic N2 Fixation وكان للعالمان Beijerinck و Winogradsky الفضل في اكتشافه . إذ استخدم Winogradsky وسطاً غذائياً معقماً خالياً من أي مصدر من مصادر النتروجين وبعد تلقيحه بكمية قليلة من التربة وتحضينه في ظروف ملائمة لمدة من الزمن لاحظ نمو خلايا بكتيرية في أسفل الدورق الحاوي على الوسط الغذائي وخلايا أخرى نامية على السطح , واستنتج بأن النامية على السطح هي بكتريا هوائية والتي نمت في الأسفل هي بكتريا لاهوائية , واثبت لاحقاً بأنها تابعة للجنس Clostridium كما اثبت بأن النمو البكتيري الذي حصل في الدورق جاء نتيجة لتثبيت النتروجين لاتعايشياً. وجاء العالم Beijerinck وعزل البكتريا النامية على السطح وسماها Azotobacter .

مما تقدم يمكن القول إن الفضل في تطور علم الأحياء المجهرية في التربة يعود إلى العالمان Winogradsky و Beijerinck اللذان يوصفان في نفس الصف من العالمان Robertkoch و Louis Pasteur إذ اهتم الأخيران في دراسة الأحياء المجهرية المرضية , اما العالمان الأوليان فقد اهتما بدور الأحياء المجهرية في الطبيعة وبالتربة بالذات لذا يمكن أن نعدهما الأبوين لعلم أحياء التربة المجهرية Fathers of Soil Microbiology .

5- المضادات الحيوية Antibiotics

أول من اكتشف المضادات الحيوية هو العالم Fleming (1929) إذ اكتشف المضاد الحيوي البنسلين الذي ينتجه الفطر Penicillun notatum .

اما المضادات الحيوية المكتشفة في الوقت الحاضر فتعود للعالم الامريكي Waksman (1888-1973) إذ عزل الكثير من اجناس الاكتينومايتات المنتجة للمضادات الحيوية من التربة ولعل من أشهرها المضاد الحيوي Streptomycin .

6- اكتشافات أخرى

Loch head عالم كندي درس طرق تغذية بكتريا التربة واهتم بدراسة الأحياء المجهرية في منطقة Rhizosphere (المنطقة المحيطة بالجذور) .

Thom عالم امريكي (1872-1951) برز في مجال فسلجة فطريات التربة وتصنيفها .

في عام (1962) قام العالمان الالمانيان Peterson و Jensen بعزل الجنس Derixia , وفي عام (1966) وصف العالم Dobereiner النوع البكتيري المثبت للنتروجين بصورة حرة A2otobacter .
وفي عام (1976) عزل العالم نفسه بالاشتراك مع العالم Day بكتريا حلزونية لها القدرة على تثبيت النتروجين وهي بكتريا Spirillium Lipoferum .

مفاهيم مهمة يجب أن يطلع عليها الطالب لما لها أهمية في فهم المواضيع اللاحقة والمتعلقة بعلم أحياء التربة المجهرية .

1- مفهوم النمو Growth concepts

تتميز الأحياء المجهرية بفترة حياة محدودة جداً في الظروف الطبيعية ويؤدي انقسام الخلية وتكاثرها عادة إلى تكوين عدد كبير من الخلايا في ظروف الحضن الملائمة على الأوساط الصناعية المناسبة . يكون مجموعها مستعمرة colony ويبلغ عدد خلايا بعض الأنواع الجرثومية الحد الأقصى خلال 24 ساعة أو اقل بكثير .
نمو الأحياء المجهرية يعني زيادة عدد الخلايا أي التكاثر ولذلك يستعمل اصطلاح النمو في المايكروبيولوجيا مكافئاً لهذا الازدياد .

2- النمو الخلوي Cell Growth

تمثل الخلية الجرثومية عملياً الفرد الحي فتنمو وتتكاثر بطرائق مختلفة :

أ- الانقسام الثنائي Binarry Fission

طريقة لاجينية للتكاثر شائعة في الظروف البيئية المناسبة . إذ تنقسم الخلية غالباً إلى خليتين تحصل كل منهما على نصف المكونات الأصلية للخلية الام . ويتكون غشاء سايتوبلازمي عرضي ثم يظهر جدار خلوي ينقسم بدوره إلى جدارين . وتنفصل الخليتان الوليدتان عن بعضهما مباشرة .

ب- التبرعم Budding

طريقة لاجنسية للتكاثر إذ تستطيل إحدى نهايات الخلية ثم يتكون جدار عرضي قرب النهاية ويتكون نتوء صغير يمتد خارج الخلية الام مكوناً خلية وليدة Daughter cell يزداد حجمها وتنفصل عن الخلية الام كالخميرة .

ج- الاقتران Conjugation

احد انماط التكاثر الجنسي تنتقل فيه صفات الخلايا الأبوية المختلفة في إحدى الصفات الوراثية الثابتة على الأقل إلى الأجيال اللاحقة .

د- التفتت (التجزؤ) Fragmentation

كما يحصل في الشعاعيات إذ يحصل تجزأ في الخيوط الفطرية إلى وحدات صغيرة جداً وتنمو مرة ثانية . وهذا يدعى النمو الخيطي Filamentous .

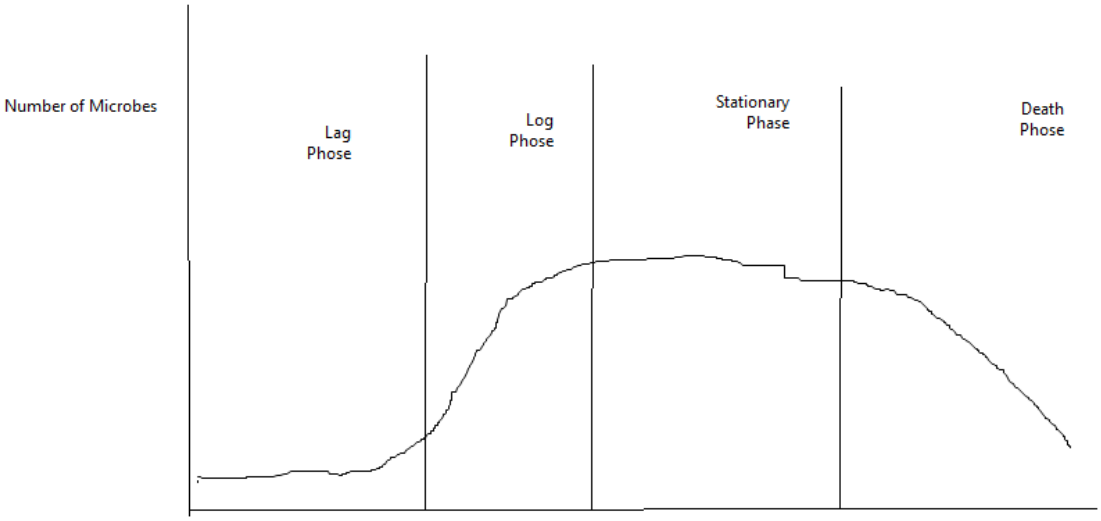
3- نمو الجماعات Population Growth

يمثل الجيل Generation الفاصل بين نشوء الخلايا الأصلية وانقسام كل منها إلى أثنين ويتضاعف فيه عدد الخلايا وكتلتها الحيوية ويدعى الزمن اللازم لاتمام دورة الانقسام الخلوي وتضاعف الخلايا زمن الجيل Generation time ويدعى احياناً زمن التضاعف

Doubling time ويختلف زمن الجيل باختلاف أنواع الأحياء المجهرية قد يكون 1-3 ساعة أو 30 دقيقة أو أيام .

4- دورة النمو Growth cyele

تتضاعف الجماعة الجرثومية النامية بالمختبر في الظروف المناسبة خلال فواصل منتظمة ولا يكون ازدياد العدد الخلوي فيها ازدياداً حسابياً بل يكون النمو اسياً Exponential Growth ويرتبط زمن الجيل في الجراثيم بعوامل مختلفة , السلالة , تركيب الوسط الغذائي , درجة الحرارة , عمر المزرعة .



المنحنى الافتراضي للنمو الجرثومي في الظروف المثالية

1- Lag Phase (طور الركود)

عند تلقيح الوسط الغذائي بالخلايا الجرثومية فأن هذه الخلايا تمر في فترة سبات , يتضاعف حجم الخلية من 2-3 مرات ويزداد محتوى الخلية من RNA في حين يبقى محتوى الخلية من DNA ثابت .

2- Log Phase (طور الانفجار)

سرعان ما يبلغ معدل الانقسام الخلوي درجة يثبت فيها زمن الجيل ويزداد معدل التنفس الخلوي وتدعى هذه الفترة بفترة النمو السريع الطور الأسي أو اللوغارتيمي Exponential or Logarithmic .

3- Stationary Phase (طور الثبات)

يحدث توازن بين عدد الخلايا المنقسمة وعدد الخلايا الميتة ويتباطأ معدل التكاثر وتزداد فترة زمن الجيل ويثبت العدد الإجمالي .
ويتوقف نمو المزرعة الجرثومية عاجلاً ام آجلاً للأسباب التالية :

- **نفاذ المواد الغذائية من الوسط الغذائي .**

- **زيادة تركيز المواد الناتجة عن النشاط الخلوي التي تؤدي إلى ضعف PH إلى الحد الذي يحد من عملية الانقسام .**

4- Death Phase (طور الموت)

يتجاوز عدد الخلايا الميتة عدد الخلايا المنقسمة ويبدأ طور الانحدار Decline Phase بسبب اختلال التوازن في تعويض معدل الموت بتكوين خلايا جديدة في الجماعة الجرثومية إلا انه ينتهي بالموت .