محاضرات في علم الاحياء المجهرية قسم علوم الحياة المرحلة الرابعة

المحاضرة (1) مدرس المادة: أ.م.د. محمود خلف صالح

علم الاحياء المجهرية Microbiology

يمكن تعريف علم الاحياء المجهرية بأنه العلم الذي يهتم بجميع انواع الكائنات الحية التي لا ترى بالعين المجردة وانما تحتاج الى استخدام المجهر لرؤيتها وتشمل كائنات بدائية النواة Prokaryotic مثل البكتريا Bacteria والاركيا Archaea وبعض الكائنات حقيقية النواة Eukaryotic مثل بعض انواع الطفيليات والفطريات كما تشمل الفايروسات بأنواعها المختلفة (الحيوانية والنباتية والعاثيات البكتيرية).

ساهم العديد من العلماء في تطوير علم الاحياء المجهرية وكان من ابرزهم العالم الفرنسي لويس باستور الذي كان له اكتشافات ودراسات مختلفة في مجال الاحياء المجهرية. فقد أثبت دور الاحياء المجهرية في عملية التخمر Fermentation حيث كان سائدا انذاك ان عملية التخمر هي عملية تحلل طبيعي للسكر وتحدث بوجود الخمائر فقط، الا ان العالم باستور وجد عند انتاج حامض اللاكتيك ان مزيج التخمر يحتوي على كائنات حية اخرى غير الخمائر، كما لاحظ عند تلف الشراب وتحوله الى خل وجود احياء مجهرية عصوية بالاضافة الى الخمائر وبذلك اثبت باستور – بواسطة تجارب التخمر– وجود كائنات مجهرية لا تستطيع العيش بوجود الهواء او الاوكسجين اطلق عليها الاحياء اللاهوائية.

كما ساهمت تجارب لويس باستور في دحض نظرية التوالد الذاتي للأحياء المجهرية والتي تبناها العديد من الفلاسفة والعلماء في القرن السابع عشر والثامن عشر، حيث اعتقدوا ان الكائنات الحية تتوالد ذاتيا من المواد غير الحية مثل الحيوانات الميتة او اللحوم الاعتيادية، في حين اعتقد باستور ان كل عملية تخمر تحتاج نوع معين من الاحياء المجهرية وان هذه الاحياء موجودة في الهواء، فاذا ما منع دخول هذه الاحياء المجهرية الى الوسط الغذائي او المادة الغذائية بعد تسخينه لدرجة حرارة مناسبة لقتل جميع الكائنات المجهرية، وبذلك لن يحدث نمو لهذه الكائنات المجهرية الموجودة في الهواء واثبت ذلك بتجربته المشـــهورة (حيث قام بوضع قطعة من القطن على فوهة الدورق الذي يحتوي على المرق المغذي ثم قام بتسخين الدورق فلاحظ بقاء الوسط رائقا" وهذا يدل على عدم نمو اي نوع من الاحياء المجهرية فيه، لكن عند ازالة سدادة القطن بدأ النمو وتغير لون وسط المرق المغذي).

قام بعدها باستور بتجربة اكثر تعقيدا" وذلك باستخدام دورق زجاجي برقبة طويلة منحنية حيث يتيح هذا الدورق مرور الهواء بحرية كبيرة من خلال رقبته الا ان جزيئات الغبار والاحياء المجهرية الاخرى تترسب في انحناء رقبة الدورق، وعند تسخين الدورق لمدة مناسبة ثم تركها لم يلاحظ باستور اي نمو وبالتالي لم تحدث عملية التخمر، لكن عند كسر رقبة الدورق تغير لون وسط المرق المغذي الى الضبابي بعد ان كان رائقا" لعدة ايام، وبذلك اوضح باستور بهذه التجربة ان الاحياء المسببة للتخمر موجودة في الهواء وعندما تتخذ الاحتياطات لمنع دخولها او منع سقوطها في المرق المغذي الموجود في الدورق وهكذا لن تحدث عملية التخمر.

كذلك يعود الفضل الى العالم لويس باستور في اكتشاف طريقة التعقيم بالبسترة Pasteurization والتي تستخدم لتعقيم المواد السائلة كالعصائر والحليب والمشروبات الكحولية والتي لا تزال تستخدم الى وقتنا الحاضر وتبرز اهميتها في استخدام درجات حرارة اقل من درجة حرارة الغليان مما يساعد على التعقيم بدون تغير طعم المادة الغذائية. تتم عملية البسترة بطريقتين:

- الطريقة الاولى: ذات الحرارة الواطئة Low temperature holding method (LTH) والتي تستغرق 30 دقيقة بدرجة حرارة 62.8 درجة مئوية.
- الطريقة الثانية: ذات الحرارة العالية High temperature short time method (HTST) وتستغرق 15 دقيقة بدرجة حرارة 71.7 درجة مئوية.

وفي كلتا الحالتين من التعقيم يجب علينا فظ السائل في درجات حرارة منخفضة بعد عملية البسترة مباشرة وذلك لكي لا نسمح للأحياء المجهرية التي قاومت عملية البسترة من النمو مجددا".

ومن الانجازات الاخرى للعالم باستور انه يعد من رواد علم التمنيع Vaccination وعلم الفايروسات (الرواشح) Virology ، حيث استطاع تطوير لقاح داء الكلب، كما يعد اول من وضع مبدأ السمية Toxicity و الامراضية Pathogenicity و الضراوة Virulence والتي تحدد درجة امراضية البكتريا، كذلك تمكن العالم باستور من استخدام مبدأ التوهين او الاضعاف Attenuation من خلال تحضير مزارع مضعفة Attenuated cultures للأنواع البكتيرية المرضية المعدية في تحضير اللقاحات ضدها والتي تمنح الانسان مناعة ضد اي اصابة لاحقة بالبكتريا المرضية لنفس النوع البكتيري.

كما اهتم العالم جون تيندال بالتطهير الكيميائي Chemical disinfection حيث استطاع القضاء على البكتريا المكونة للسبورات Spore forming bacteria باستخدام بعض المضادات الحيوية التي تنتجها انواع اخرى من الاحياء المجهرية، وتعد طريقة التعقيم بالتندلة Tyndalization او التعقيم الجزئي Fractional Sterilization من ابرز اكتشافات العالم تيندال، وتستخدم هذه الطريقة في بعض الحالات التي لا نستطيع فيها استخدام درجات الحرارة الاكثر من 100 درجة مئوية لأجل التعقيم كما هو الحال في بعض الاوساط الزرعية والمواد الكيميائية التي تتلف بالحرارة العالية، وتتضمن العملية تسخين المادة المراد تعقيمها لغاية 100 درجة مئوية ولمدة دقائق معدودة وعلى مدى ثلاث او اربع مراحل تفصل بينها مدة 24 ساعة تترك خلالها المادة المراد تعقيمها في درجة حرارة الغرفة وغالبا ما توضع في الحاضنة لتوفير درجة الحرارة المثلى للنمو، ان الغرض من الحضن هو تنشيط السبورات التي لم تقتل بدرجة حرارة 100 درجة مئوية وبعد مرور 24 ساعة تعاد عملية التعقيم بنفس درجة الحرارة السابقة وهكذا تكرر العملية ثلاث او اربع مرات وبذلك تقتل الخلايا الخضرية الناتجة من السبور بعد تنشيطه، ومن محاسن هذه الطريقة انها لا تحتاج الى اجهزة معقدة الا انها تستغرق مدة زمنية طويلة تتراوح بين ثلاث الى اربعة ايام.

اما العالم الالماني روبرت كوخ فكان من ابرز العلماء في علم الاحياء المجهرية فهو مكتشف بكتريا *Bacillus anthracis* التي تسبب مرض الجمرة الخبيثة او الحمى الطحالية Splenic fever التي تصيب الاغنام والمواشي، كما استخدم طريقة القطرة المعلقة لفحص ومتابعة حركة بكتريا الجمرة الخبيثة، ومن الاكتشافات الاخرى للعالم روبرت كوخ هو استخدام صبغة الانيلين في تصبيغ انواع البكتريا، كذلك يعتبر اول من استخدم الجيلاتين لتحضير الاوساط الزرعية الصلبة، كما يعد اول من اكتشف بكتريا ضمات الكوليرا *Vibrio cholerae* المسببة لمرض الكوليرا وبكتريا *Mycobacterium tuberculosis* المسببة لمرض السل او التدرن الرئوي.

وقد وضع روبرت كوخ فرضية سميت بفرضية كوخ والتي اعتمدت لتحديد امراضية انواع البكتريا المختلفة، وتتلخص فرضية كوخ بالنقاط التالية:

1- الاحياء المجهرية موجودة في جسم المريض.
2- يجب عزل الاحياء المجهرية من الكائن الحي المريض وتنميتها في مزارع نقية.
3- الاحياء المجهرية المأخوذة من المزرعة النقية يجب ان تحدث نفس المرض عندما يلقح او تحقن في حيوان اخر غير مريض.

4- يجب ان يحتوي الحيوان المختبري المصاب على الاحياء المجهرية المراد التأكد من امراضيتها.

مجاميع الاحياء المجهرية:

تتضمن الاحياء المجهرية خمس مجاميع اساسية وهي الفايروسات، البكتريا، الابتدائيات، الطحالب، الفطريات.

الفايروسات هي المجموعة الوحيدة من الاحياء المجهرية التي لا ترقى الى مستوى خلية اما المجاميع الاخرى فتوجد بشكل احياء وحيدة الخلية كما في الكائنات بدائية النواة Prokaryotic وبعض الكائنات حقيقية النواة Eukaryotic مثل الطحالب والخمائر، كما توجد بشكل متعددة الخلايا كما في غالبية الكائنات حقيقية النواة.

والجدول ادناه يبين اهم الاختلافات بين الكائنات بدائية النواة وحقيقية النواة:

ت	بدائية النواة	حقيقية النواة
1	لا تحتوي على غلاف نووي يحيط بالنواة وبذلك تكون المادة النووية مبعثرة وغير منتظمة	تكون النواة محاطة بغلاف نووي مميز يفصلها عن السايتوبلازم
2	تحتوي على كروموسوم واحد وبعض انواعها يحتوي على اكثر من كروموسوم مثل بكتريا *Vibrio cholerae* و *Borrelia burgdorferi*	تحتوي على عدة كروموسومات تختلف من كائن الى اخر
3	تتكاثر عن طريق الانقسام الثنائي او التبرعم او التجزؤ	تتكاثر بالانقسام الاختزالي
4	لا تحتوي على العضيات الخلوية	تحتوي على عضيات خلوية مثل المايتوكوندريا ومعقد كولجي والشبكة الاندوبلازمية
5	الرايبوسومات تكون من نوع 70S والتي تتكون من جزأين: جزء كبير 50S الذي يتكون من الحامض النووي الرايبوسومي 23srRNA و 5srRNA بالاضافة الى 34	الرايبوسومات تكون من نوع 80S والتي تتكون من جزأين: جزء كبير 60S الذي يتكون من الحامض النووي الرايبوسومي 28srRNA و 5srRNA بالاضافة الى اكثر من 34 بروتين، اما الجزء

	بروتين، اما الجزء الصغير 30S فيتكون من الحامض النووي 16srRNA بالاضافة الى 21 بروتين	الصغير 40S فيتكون من الحامض النووي 18srRNA بالاضافة الى اكثر من 21 بروتين.

تسمية الكائنات الحية:

ان جميع الكائنات الحية تخضع الى نظام التسمية الثنائية Binomial system of nomenclature الذي وضعه عالم النبات السويدي كارلوس لينايوس والذي يتضمن اعطاء الكائن الحي اسمين لاتينيين اولهما هو اسم الجنس Genus والثاني هو اسم النوع Species ويضم الجنس مجموعة من الانواع المتقاربة في الصفات.

ومن المميزات الاخرى لنظام التسمية الثنائي ان الاسم العلمي يكتب بصورة مائلة، ويكتب الحرف الاول من اسم الجنس بحرف كبير Capital اما بقية الاحرف فتكتب بأحرف صغيرة Small ، واحيانا يكتب المقطع .sp او .spp محل اسم النوع في حالة كون النوع غير مشخص ويدل المقطع .sp على ان الجنس يحتوي على نوع واحد، بينما يدل المقطع .spp على ان الجنس يحتوي على اكثر من نوع واحد.

ومن الجدير بالذكر ان بعض الانواع البكتيرية تختلف في صفاتها وطرق تشخيصها مع بعضها البعض لذا يقسم النوع البكتيري الى سلالات Strains او ضروب Varieties ، فمثلا بكتريا *Streptococcus lactis* بعض انواعها تنتج رائحة تشبه رائحة مستنبت الشعير لذا اضيف الى تسميتها اسم السلالة maltigenes للدلالة على قدرتها على انتاج مستنبت الشعير واصبحت تكتب بالشكل *Streptococcus lactis Var. maltigenes* .

المجموعة الاولى: البكتريا Bacteria

الاسس المعتمدة في تصنيف البكتريا:

هناك عدة اسس يتم الاعتماد عليها في تصنيف البكتريا وهي:-

1- **شكل الخلايا:**

يعتمد بشكل اساسي على تحديد شكل الخلايا البكتيرية كخطوة اولى في تشخيص البكتريا بأشكالها الثلاثة الشائعة وهي (الشكل الكروي والشكل العصوي والشكل الحلزوني)من خلال تفاعلها مع صبغة كرام، وعلى ضوء تحديد شكل البكتريا بواسطة الفحص المجهري للبكتريا بعد تصبيغها نستطيع ان نميز انواع البكتريا الموجبة عن انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام.

2- الصفات الزرعية:

يقصد بها توفير الاوساط الزرعية Culture media التي تحتوي على المتطلبات الغذائية المتنوعة لتوفير ظروف مثلى لنمو البكتريا مثل العناصر المعدنية والفيتامينات والمركبات الكيميائية الاخرى كمصادر للكاربون، بالإضافة الى توفير متطلبات اخرى مثل درجة الحرارة المثلى وهي 37 درجة مئوية، توفير الاوكسجين للبكتريا الهوائية، توفير الضوء لأنواع البكتريا التي تقوم بعملية البناء الضوئي Photosynthesis وبعض انواع البكتريا تحتاج الى متطلبات اضافية للنمو مثل الاملاح او السكريات وغيرها من المتطلبات.

3- **الخصائص الايضية:**