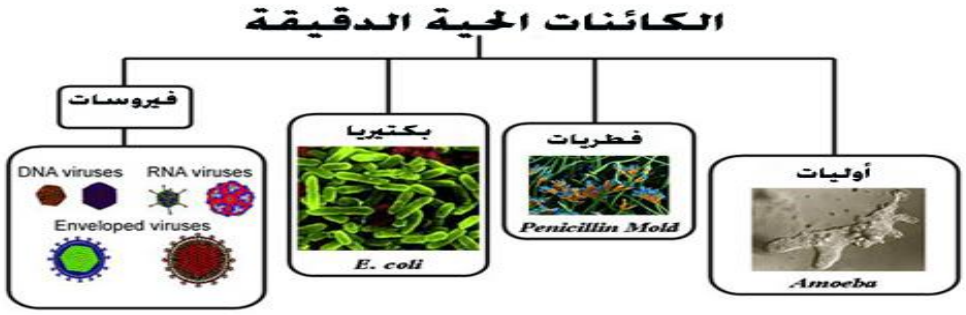
محاضرات احياء مجهرية مرحلة ثانية قسم علوم الأغذية

المحاضرة الأولى

علم الأحياء المجهرية (Microbiology)

هو احد فروع علوم الحياة ويهتم بدراسة الكائنات الحية الصغيرة جداً التي لا يمكن رؤيتها إلا بالمجهر وتشمل البكتريا والفطريات والطحالب والابتدائيات (البروتوزوا) والركتسيا والفايروسات ويهتم بدراسة اشكال هذه الكائنات وتركيبها وتكاثرها وفسلجتها وتصنيفها فضلاً عن دراسة توزيع هذه الكائنات في الطبيعة وعلاقتها ببعضها وبالكائنات الحية الاخرى كتأثيرها في الإنسان والحيوانات والنباتات وقابليتها على احداث التغيرات الفيزيائية والكيميائية في المحيط الذي تعيش فيه ومدى تأثر هذه الكائنات بالعوامل الفيزيائية والكيميائية.



أقسام المايكروبايلوجي:

1- علم الطحالب Phycology:- يهتم بدراسة الطحالب وهي كائنات بسيطة بعضها ذات خلية واحدة والبعض الاخر عبارة عن تجمع لخلايا متشابهة وبعضها ذو تركيب معقد مثل عشب البحر البني وهي تحتوي على الكلوروفيل وتقوم بعملية التركيب الضوئي وغالباً ما توجد الطحالب في المياه والتربة الرملية.

2- علم البكتريا Bacteriology:- يختص بدراسة البكتريا وهي عبارة عن كائنات بدائية النواة وتتكون من خلية واحدة او تجمعات من خلايا متشابهة وتتكاثر بالانشطار الثنائي.

3- علم الفيروسات Virology:- ويختص بدراسة الفيروسات وهي عبارة عن طفيليات صغيرة جداً غير خلوية وتسبب أمراضاً للنبات والحيوان والبكتريا.

4- علم الابتدائيات (البروتوزوا) Protozoology:- يختص بدراسة الابتدائيات وهي عبارة عن كائنات حقيقية النواة احادية الخلية يتم التمييز بينها على اساس الصفات الظاهرية والتغذوية والفسيولوجية ويختلف دورها في الطبيعة اذ ان بعضها ذو فائدة للإنسان والبعض الاخر سام يسبب امراض للإنسان والحيوان. وأحد فروع علم البروتوزوا هو علم الطفيليات (Parasitology) ويهتم بدراسة البروتوزوا الطفيلية أو المرضية وغيرها من الكائنات الحية الطفيلية.

5- علم الفطريات Mycology:- يهتم بدراسة الفطريات (الخمائر والأعفان) وهي كائنات حقيقية النواة وخالية من الكلوروفيل وتكون متعددة الخلايا وغير متخصصة الى جذور وسيقان وأوراق حقيقية وتتكاثر الفطريات بالانشطار أو التبرعم أو السبورات.

أما من الناحية التطبيقية فيقسم المايكروبايلوجي الى الأقسام التالية

1- الأحياء المجهرية للهواء Air microbiology

2- الأحياء المجهرية للمياه ومياه الفضلات Water and waste water microbiology

3- الأحياء المجهرية للأغذية والألبان Food and Dairy microbiology

4- الأحياء المجهرية للتربة Soil microbiology

5- الأحياء المجهرية الطبية Medical microbiology

6- الأحياء المجهرية الصناعية Industrial microbiology

<u>نبذة تاريخية عن تطور علم الأحياء المجهرية</u>

ساهم في تطور هذا العلم عدد كبير من العلماء منهم روجر بيكن Roger Bacon وليفنهوك وفرانسيسكو ريدي وسبالانزي وبوشيت وباستور وروبرت كوخ وايڤانوفسكي وستانلي وبوخنر وكثير غيرهم.

فقد دحض باستور (1822-1895) نظرية التولد الذاتي الى الأبد بالنتائج التي توصل اليها وقام بتجربته المشهورة عندما استعمل دورق ذا انبوبة شعرية ومعقوفة بشكل يشبه عنق الوزة حيث قام بوضع محلول مغذي في الدورق وسخنه وتركه لفترة ولم تظهر كائنات مجهرية في المحلول المغذي لأنها كانت تستقر في المنطقة المعقوفة من الانبوبة.

أما اعماله الاخرى فهي 1- اكتشافه لعملية البسترة 62.8 ْم/نصف ساعة

2- أثبت أنه بالإمكان جعل الأوساط الغذائية المعقمة خالية من المايكروبات من خلال وضع سدادات قطنية على فوهات الأوعية التي تحتويها.

3- اكتشف الأمصال الوقائية لمرض الجمرة في الماشية.

أما أعمال روبرت كوخ (1843-1910) فهي 1- اكتشف البكتريا المسببة لمرض الجمرة الخبيثة Anthrax في الماشية 2- عزل البكتريا المسببة لمرض الكوليرا ومرض السل

3- أول من عزل البكتريا بصورة نقية 4- استعمل الصبغات في تصبيغ البكتريا

5- استعمل الأكار في تصليب الأوساط الزرعية 6- كان الرائد في تطوير التقنيات المختبرية في مجال الأحياء المجهرية.

نظرية التوالد الذاتي والحيوي Biogenesis and spontaneous generation

التوالد الذاتي تعني ان الكائنات الحية تتكون بصورة ذاتية من أشياء غير حية في حين أعتقد البعض الاخر أن الكائنات الحية تتولد من أشياء حية وهذا ما يعرف بالتوالد الحيوي Biogenesis وقد ضعف مبدأ نظرية التوالد الذاتي مع مرور الزمن نتيجة لدراسات كل من فرانسيسكو ريدي و ليفنهوك ولأسباب تقنية كان من الصعب اثبات أن الأحياء المجهرية لا تنشأ ذاتياً.

خصائص الأحياء المجهرية

ان خلايا المايكروبات هي خلايا منفردة صغيرة جداً لا ترى إلا بالمجهر وليس من العملي أن نتعامل مع الكائن المجهري المنفرد لذلك تتم دراسة مزارع (cultures) الأحياء المجهرية التي تحتوي على الآلاف أو الملايين من المايكروبات. ان المزارع التي تحتوي على نوع واحد من المايكروبات تسمى بالمزارع النقية (pure cultures) وإذا كانت المزرعة تحتوي على نوعين أو أكثر من المايكروبات كما موجود في الطبيعة فتسمى بالمزارع المختلطة (mixed cultures).

ان خصائص الأحياء المجهرية التي تستخدم للتعرف على الأنواع المختلفة من المايكروبات وتشخيصها هي:-

1- الخصائص المزرعية: اي توفير الأوساط الزرعية المناسبة لنموها مع تهيئة الظروف المناسبة من درجة حرارة وأوكسجين وضبط الـ pH.

2- الفحص المجهري: وذلك لرؤية الصفات الظاهرية لخلايا المايكروب

3- الخصائص الأيضية: حيث تنمى المايكروبات على أوساط معينة ثم تجرى عليها الفحوصات البايوكيميائية لتشخيصها.

4- الخصائص الكيميائية: وتعني دراسة التركيب الكيميائي لجدار الخلية والتراكيب النووية اذ أنه هناك اختلاف في التركيب الكيميائي لجدار الخلية في مجاميع البكتريا المختلفة الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

5- الخصائص الوراثية: وتعني اقامة روابط بين المايكروبات على اساس التشابه الوراثي كمقارنة الحامض النووي DNA لأحدهما الاخر.

تسمية الأحياء المجهرية

لكل كائن حي اسم علمي متمثل باسم الجنس genus ويبدأ بحرف كبير عادة واسم للنوع Species ويبدأ بحرف صغير عادة وعند الكتابة يوضع خط تحت الاسمين أو تكتب بشكل مائل عند الطباعة، ومثال ذلك بكتريا السل Mycobacterium tuberculosis

بكتريا الخناق Corynebacterium diphtheriae

بكتريا التايفوئيد Salmonella typhi

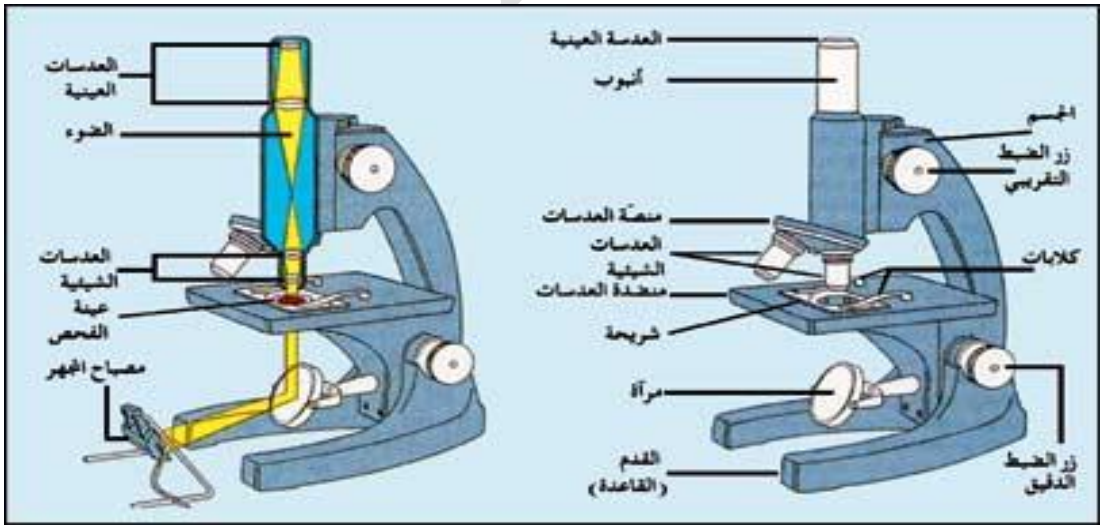
ولتصنيف الأحياء المجهرية تستخدم عدة فئات تصنيفية متسلسلة هي 1- النوع species

2- الجنس genus 3- القبيلة tribe 4- العائلة family 5- الرتبة order

6- الصف class 7- الشعبة phylum 8- المملكة kingdom

أنواع المجاهر: تقسم المجاهر الى مجموعتين على أساس القاعدة التي يقوم عليها التكبير وهي المجاهر الضوئية التي تستخدم العدسات والمجاهر الالكترونية. تشمل المجاهر الضوئية على الأنواع التالية:- 1- المجهر ذو الحقل المضئ 2- المجهر ذو الحقل المظلم 3- المجهر ذو الطور المضاد 4- المجهر ذو الأشعة فوق البنفسجية 5- المجهر المفلور.

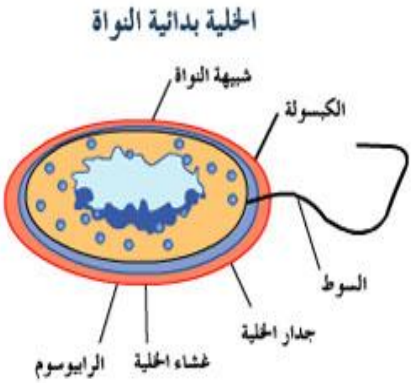
أما المجهر الالكتروني فيستعمل حزمة من الالكترونات بدلاً من الموجات الضوئية لإعطاء صورة مكبرة.

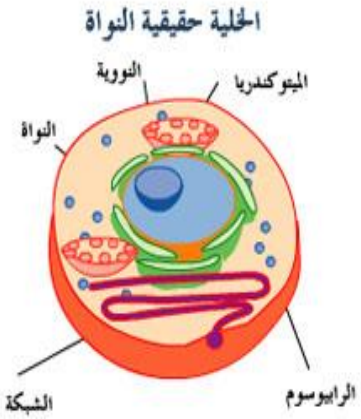


موقع الأحياء المجهرية في عالم الكائنات الحية:- وضعت الأحياء المجهرية من الناحية التصنيفية في السابق ضمن أحد المملكتين النبات أو الحيوان وذلك حسب الخصائص المعروفة لكل مجموعة آنذاك، ففي عام 1866م أقترح هيكل Haeckel مملكة ثالثة تضم الأحياء المجهرية وتشمل البكتريا والفطريات والطحالب والبروتوزوا وسماها البروتستا protista. وفي أواسط هذا القرن ومع ظهور المجهر الالكتروني واستخدامه في حقل الأحياء المجهرية

وجد هناك قسم منها ذات تكوين بدائي Prokaryotic وتضم البكتريا والسيانوبكتريا cyanobacteria وقسم منها ذات تكوين خلوي متكامل تسمى Eukaryotic وتضم البروتستا وتشمل الطحالب والبروتوزوا والفطريات.

في عام 1969م أقترح ويتكر Whittaker نظاماً تصنيفياً جديداً للكائنات الحية يعتمد على اسلوب التغذية يتكون من خمس ممالك هي :- 1- المونيرا Monera وتضم البروكاريوتا وهي البكتريا والسيانوبكتريا 2- البروتستا Protista وتشمل الأحياء المجهرية ذات الخلية الواحدة المتكاملة التركيب وهي الطحالب والبروتوزوا 3- الفطريات Fungi وتشمل الخمائر والأعفان 4- النبات 5- الحيوان.





ملاحظة/ جدول رقم (1) (الفروق بين الخلايا بدائية النواة والحقيقية النواة).

الجدول رقم (١) بعض الفروقات بين الخلايا البدائية النواة والحقيقية النواة

الصفة	Procaryotic ١ الخلايا البدائية النواة	Eucaryotic الخلايا الحقيقية النواة
	البكتريا	الطحالب ، الفطريات ، البروتوزوا ، النباتات الراقية والحيوانات الراقية ،
الحجم	١ـ ٢ × ١ـ ٤ مايكروميتر	ذات قطر او عرض اكثر من ٥ مايكروميتر
التراكيب الوراثية	المادة النووية او الجسم الكروماتيني	النواة ، الميتاكوندريا او البلاستيدات الخضراء
تركيب النواة	لا تحاط بغشاء نووي ، كروموسوم دائري واحد . الكروموسومات خالية من الهستونات (مادة بروتينية) . ليس هناك انقسام فتيلي (غير مباشر) . النوية غائبة . الجينات المتشابهة وظيفياً قد تتخذ شكل عناقيد	محاطة بغشاء نووي وتحتوي على أكثر من كروموسوم . الكروموسومات تحتوي على الهستونات . يحدث الانقسام الفتيلي للنواة . النويات موجودة ، والجينات المتشابهة وظيفيا لا تتخذ شكل عناقيد .
التناسل	اللاقحة جزئيا ذات عدد فردي او زوجي من الكروموسومات	اللاقحة ذات عدد زوجي من الكروموسومات
التراكيب السايتوبلازمية		
الميتاكوندريا	غير موجودة	موجودة
اجسام كولجي	غير موجودة	موجودة
جدار الخلية	يتكون من ببتيدوكلايكان (peptidoglycan)	لا يوجد ببتيدوكلايكان (peptidoglycan)

مفاهيم أساسية في علم الأحياء الدقيقة

عرف الإنسان منذ آلاف السنين مجموعتين رئيسيتين فقط من الكائنات الحية هما: مملكة النباتات ومملكة الحيوانات. تميزت الأولى بأنها ثابتة لا تتحرك لكنها ذاتية التغذية (تقوم بعملية التركيب الضوئي) بينما تميزت الأخيرة بأنها متحركة لكنها غير ذاتية التغذية (تحصل على غذائها من الوسط المحيط) وكلتا المملكتين تتميز بخلايا حقيقية النواة. ومع اكتشاف كائنات حية دقيقة مجهرية ظهرت بعض الصعوبات في تصنيفها.. فبعضها ثابت غير ذاتي التغذية وبعضها متحرك ويقوم بعملية التركيب الضوئي وبعضها حقيقي النواة وبعضها بدائي النواة. لذلك كان لابد من اعادة التصنيف.. لتسهيل دراسة الكائنات الحية .. تعاقبت عدة نماذج لتصنيف الكائنات الحية واختلفت فيما بينها .. ومن أبسط النماذج المقترحة لإعادة التصنيف هو النموذج الذي اقترحه العالم الالماني هيكل Haeckel الذي وضع مملكة ثالثة تسمى مملكة البروتستا وبالتالي أصبح التصنيف كما يلي:- مملكة النباتات .. مملكة الحيوانات .. مملكة البروتستا.

أن الشرط الأساس والرئيس والوحيد لقبول فرد في مملكة البروتستا هو احتواءه على نظام حيوي بسيط يمتاز بعدم تشكيله لنسيج شامل ذو وظيفة محددة

تضم مملكة البروتستا خمس مجموعات رئيسية هي (البكتريا .. الفطريات .. الطحالب .. الفايروسات .. الأبتدائيات (البروتوزوا)).

البكتريا: عبارة عن كائنات حية دقيقة مجهرية بدائية النواة غير ذاتية التغذية ذات جدار خلوي يشذ عن ذلك:- المايكوبلازما والتي لا تمتلك جداراً خلوياً بل فقط غشاءاً سايتوبلازمياً والبكتريا الخضراء المزرقة.. والتي تحصل على غذائها بعملية التركيب الضوئي.

الطحالب: كائنات حية منها مجهري ومنها عملاق حقيقية النواة ذاتية التغذية فهي تقوم بعملية التركيب الضوئي. يشذ عن ذلك الطحالب الخضراء المزرقة فهي بدائية النواة كالبكتريا.

الفطريات: كائنات حية منها مفرد الخلية ومنها متعدد الخلايا وعملاقة حقيقية النواة غير ذاتية التغذية معظمها يحصل على غذائه بعملية التطفل.

أن الاشنات هي عبارة عن شراكة في الحياة بين طحلب وفطر. ان هذه العلاقة بين الفطريات والطحالب في الاشنات مثال على علاقة تبادل المنفعة حيث يستفيد كل طرف من الطرف الاخر

الفايروسات: كائنات غبر حية دقيقة مجهرية مجبرة على التطفل تتألف من غلاف بروتيني يحوي على الحامض النووي DNA أو RNA يشذ عن ذلك الفيروئيدات وهي فيروسات لاتمتلك غلاف بروتيني يحيط بها انما عبارة عن جزيء من الحامض النووي RNA حصراً

الأبتدائيات (البروتوزوا): كائنات حية أغلبها مجهري مفرد الخلية لكن جميعها حقيقية النواة وهي لاتقوم بعملية التركيب الضوئي أو غير ذاتية التغذية.

تجدر الاشارة هنا أن الانقسام الخلوي سواء الخيطي او المنصف لا يطرأ على أفراد مملكة البروتستا انما يتكاثر أفرادها بالانشطار الثنائي أو التبوغ أو التبرعم

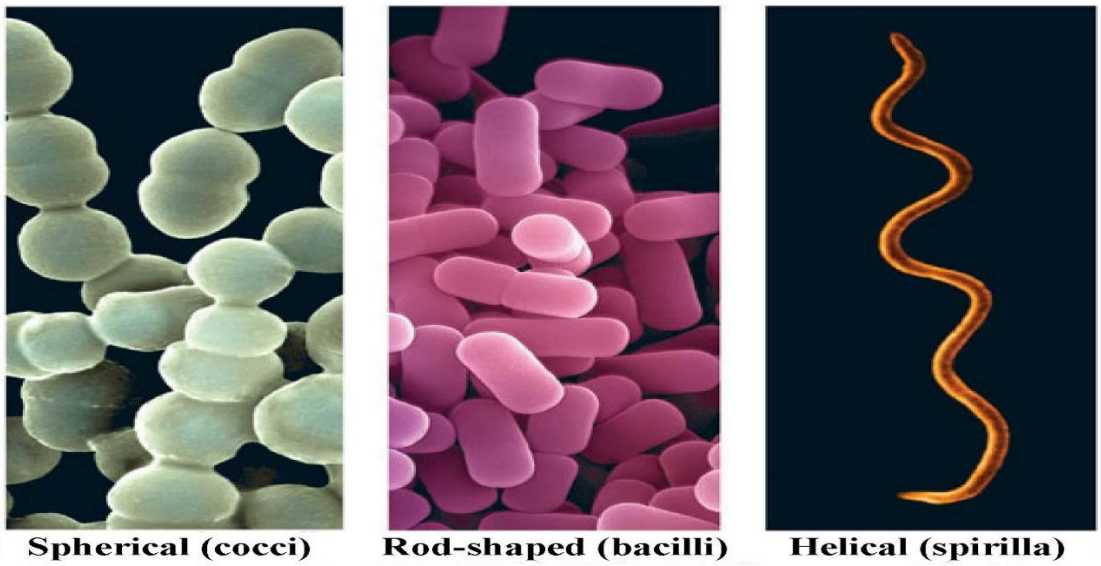
جدول (بعض الخصائص لأهم مجاميع الأحياء المجهرية)

الأحياء المجهرية	الحجم بالمايكرو ميتر µm	خصائص هامة	اهميتها التطبيقية
١ ـ البكتريا Bacteria	٠,٠٢ ـ ١٠٠ القياسية يتراوح حجمها٠,٥ ـ ١,٥ ١ × ٣	بروكاريوتا وحيدة الخلية . تركيب خلوي بسيط . تنمو في اوساط زرعية اصطناعية التكاثر لاجنسي بواسطة الانقسام البسيط .	بعضها يسبب امراض . لها دور في دورة المواد في الطبيعة التي تساهم في خصوبة التربة . تساهم في تصنيع مركبات ثمينة تساهم في تلف الاغذية وتصنيع الاغذية
٢ ـ سايانوبكتريا cyanobacteria	٥ ـ ١٥	بروكاريوتا وحيدة الخلية . تركيبها الخلوي يشبه البكتريا . تنمو في اوساط زرعية اصطناعية . التكاثر بالأنقسام البسيط او انتاج سبورات . تحتوي كلوروفيل وتقوم بعملية التركيب الضوئي .	مصدر غذاء للحيوانات المائية تساهم في تكوين وخصوبة التربة
٣ ـ الفايرس virus	٠,٠٥١ ـ ٠,٢	لاتنمو في الأوساط الزرعية الأصطناعية تنمو في السائل الحي طفيلي اجباري وتتكاثر داخل خلاياه الحية . لايرى الفايروس إلا تحت المجهر الالكتروني	يسبب امراض للأنسان وغيره من الحيوانات والنبات والأحياء المجهرية
٤ ـ الفطريات :			
الخمائر Yeasts	٥ ـ ١٠	يوكاريوتا وحيدة الخلية . تنمو باوساط زرعية اصطناعية تتكاثر لاجنسياً بانقسام الخلية او التبرعم كما تتكاثر جنسياً	تنتج الكحول وغيرها من المنتجات الصناعية تستخدم لغذاء بعضها يسبب امراض
الأعفان Molds	٢ ـ ١٠ × عدة ملمترات	يوكاريوتا متعددة الخلايا وذات خصائص تنموية متميزة . تنمو بالاوساط الزرعية الاصطناعية تتكاثر لاجنسياً وجنسياً	تلف العديد من المواد . انتاج العديد من المركبات المفيدة مثل البنسلين . تسبب امراض للأنسان وغيره الحيوانات والنبات .
٥ ـ بروتوزوا protozoa	٢ ـ ٢٠٠	يوكاريوتا وحيدة الخلية . بعضها ينمو في اوساط زرعية اصطناعية والبعض الاخر متطفل بداخل الخلايا الحية التكاثر لاجنسي وجنسي	غذاء للحيوانات المائية بعضها يسبب امراض
٦ ـ الطحالب Algae	امايكروميتر الى عدة اقدام	يوكاريوتا . وحيدة الخلية ومتعددة الخلايا . اغلبها يتواجد في المحيط المائي تحتوي كلوروفيل وتقوم بعملية التمثيل الكلوروفيلي التكاثر لاجنسي وجنسي	انتاج الأغذية في المحيط المائي لها استخدامات للأغذية والصيدلانية مصدر الاكثار في تحضيرات الاوساط الزرعية المختبرية . بعضها تنتج سموم .

المحاضرة الثانية

الصفات الظاهرية (المورفولوجية) للبكتريا

وتشمل الحجم والشكل والتركيب وطريقة التجمع والحركة. وخلايا البكتريا قد تكون كروية أو عصوية أو حلزونية بعضها قد يتجمع على هيئة أزواج أو عناقيد أو سلاسل أو خيوط وحجمها صغير جداً ويتراوح قطرها من (0.5 - 1) مايكرومتر. (المايكرومتر= 10^{-6} من المتر). الخلية البكتيرية المثالية اما أن تكون كروية coccus أو عصوية مستقيمة Bacillus أو حلزونية spirillum.



وتتجمع الخلايا الكروية في عدة خواص تجميعية تبعاً لمستوى الانقسام الخلوي فقد تكون

أ) مكورات ثنائية Diplococci ب) مكورات مسبحية Streptococci

ج) مكورات رباعية Tetrads د) مكورات عنقودية Staphylococci

ه) مكورات ثمانية Sarcinae

الخلايا العصوية لا تتجمع مثل الكروية ولكن بعضها كما في الـ Bacillus تشكل سلسلة من الخلايا تسمى Streptobacilli. بعض الخلايا العصوية يترتب بشكل مشابه لعيدان الشخاط مثل بكتريا Corynebacterium diphtheriae وبعضها يكون على هيئة خيوط متفرعة مثل Streptomyces spp.. هنالك أشكال اخرى للبكتريا مثل البكتريا الضمية Vibrio والبكتريا الحلزونية Spirilla أو ازواج من الخلايا أو خلايا عصوية ذات نهاية مرتفعة مثل Bacillus anthracis أو خلايا على شكل أقراص كما في Caryophanon.

فحص البكتريا: لفحص البكتريا هناك طريقتان:

1- طريقة القطرة المعلقة

2- طريقة الغشاء المصبوغ الثابت

مميزات القطرة المعلقة/ 1- تعطي تحديد أفضل لترتيب الخلايا وتباين أكثر وضوحاً 2- تحدد فيما اذا كانت البكتريا متحركة ام لا 3- لملاحظة التغيرات الخلوية ومشاهدة عملية تكوين السبورات 4- فحص الفجوات والمواد الدهنية.

مميزات الغشاء المصبوغ الثابت/ 1- تكون الخلايا أوضح بعد التصبيغ 2- الاختلافات بين الخلايا يمكن أن تتوضح باستخدام صبغات تفريقية أو اختيارية.

وتتلخص الخطوات المهمة في تحضير الغشاء المصبوغ الثابت في الاتي:-

1- تحضير الغشاء 2- التثبيت 3- اضافة الصبغات

الصبغات المايكروبية وأنواعها/

أ- الصبغات القاعدية/ عند تأينها يحمل الجزء الصبغي منها شحنة موجبة، وهي تصبغ مكونات الخلية الحامضية مثل ازرق المثيلين والكرستال البنفسجي وهذه مهمة لأن الخلية البكتيرية غنية بالأحماض النووية والتي تحمل شحنة سالبة لذلك تصبغ بشدة بالصبغات القاعدية.

ب- الصبغات الحامضية/ عند تأينها يحمل الجزء الصبغي منها شحنة سالبة وهي تصبغ مكونات الخلايا القاعدية مثل صبغة الفوكسين الحامضي.

ج- الصبغات المتعادلة/ هي أملاح معقدة للصبغات الحامضية والقاعدية مثل صبغة الايوسين المثيلين الازرق.

طرق تصبيغ البكتريا

1- التصبيغ البسيط Simple staining :ويتم بإضافة صبغة واحدة مثل المثيلين الازرق وستبدو الخلايا مصبغة بنفس اللون.

2- صبغة كرام Gram staining: سميت نسبة للطبيب الدنماركي كريستيان كرام عام 1884م وفيها تستخدم 1- صبغة الكرستال البنفسجي 2- اليود 3- كحول الايثانول أو الاسيتون 4- السفرانين Safranin. حيث تظهر البكتريا الموجبة لصبغة كرام بلون ازرق او بنفسجي في حين تظهر البكتريا السالبة بلون احمر او وردي. وسبب الاختلاف في اللون يعود الى اختلاف وتكوين الجدار الخلوي البكتيري حيث ان جدار الخلية الموجبة لصبغة كرام (G^+) سمكها اكثر وتكون نسبة الدهن فيها اقل على العكس من الخلية السالبة لصبغة كرام. كذلك البكتريا (G^+) يحتوي جدارها الخلوي على نسبة عالية من مركب ببتيدوكلايكان peptidoglycan ولهذا المركب دور في حجز معقد الصبغة واليود كما في حالة البكتريا (G^+).

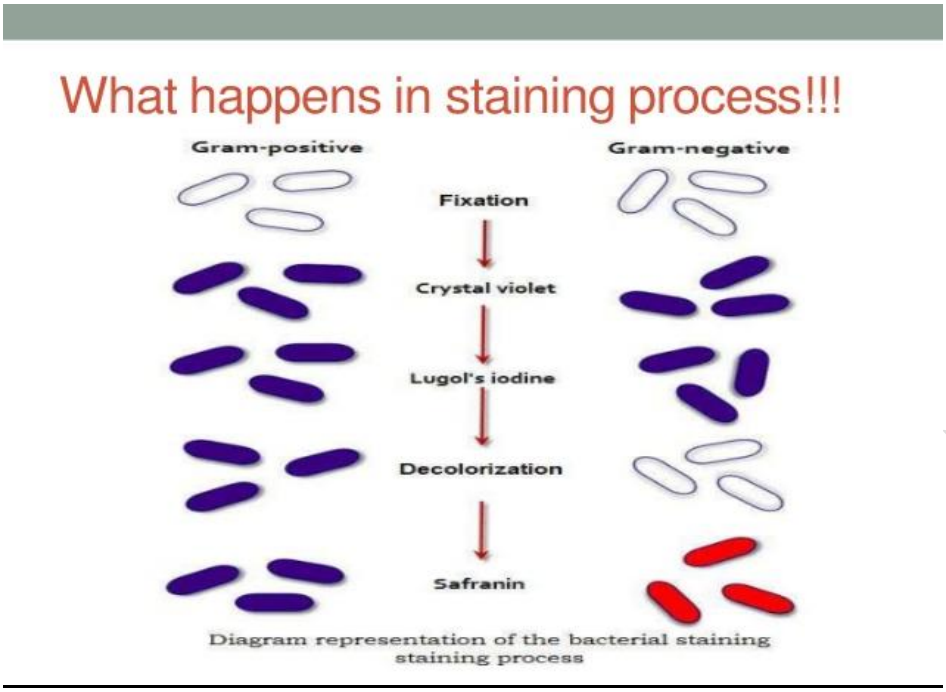


Diagram representation of the bacterial staining staining process

الصبغات التفريقية الاخرى/

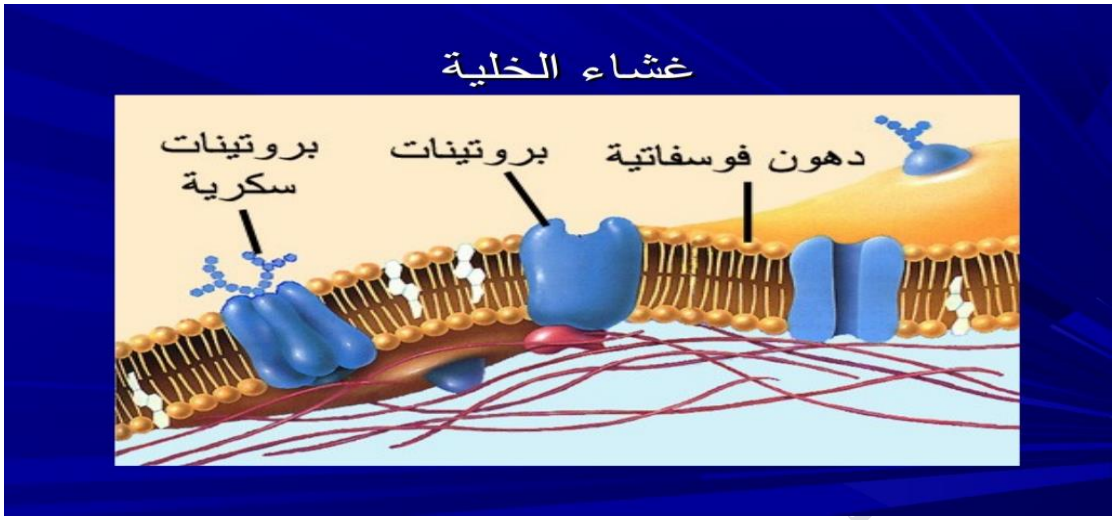
نوع التصبيغ	التطبيق
تصبيغ السبورات الداخلية الصبغ المقاوم للاحماض	لتوضيح تركيب السبور في البكتريا والسبورات الحرة للتمييز بين البكتريا التي تتقبل الحامض مثل (*Mycobacterium spp.*) وبين البكتريا التي لاتقبل الحامض .
صبغ الكبسولات صبغ الاسواط الصبغات السايتوبلازمية	لتوضيح الكبسولات المحيطة بخلية البكتريا لتوضيح وجود وترتيب الاسواط على الخلية البكتيرية تستخدم لتحديد التراكيب الداخلية في الخلية ، كحبيبات النشا ، والكلايكوجين والفوسفات المتعددة غيرها.
صبغة الـ Giemsa الصبغ السالب	تطبق هذه العملية لصبغ الركتسيا وبعض البروتوزوا وهي معاملة خلايا البكتريا بصبغة تحمل شحنة سالبة ، حيث ان خلفية الحقل المجهري تأخذ الصبغة وليست الخلايا البكتيرية نفسها لتصبح خلفية الحقل المجهري معتمة في حين تكون كبسولة الخلية البكتيرية مضيئة. وتستخدم طريقة الصبغ هذه لملاحظة كبسولات البكتريا.

تشريح البكتريا

التراكيب التي تقع خارج الجدار الخلوي.

1- جدار الخلية cell wall/ وظيفته الحد من تمدد الخلية وانفجارها نتيجة دخول الماء اليها ويتركب من مادة تسمى ببتيدوكلايكان peptidoglycan (واحياناً تسمى الميورين Murein) وهي مادة غير قابلة للذوبان، مسامية موجودة في الخلايا بدائية النواة procaryote وغير موجودة في الحقيقية النواة Eucaryote ومادة الببتيدوكلايكان تشكل 50% من الوزن الجاف لجدار الخلايا G^+ في حين تشكل 10% من الوزن الجاف لجدار الخلايا G^-. كذلك فأن الجدار الخلوي يحتوي على نسبة من الدهن بحدود 11-22% في G^- و 4% في G^+. كذلك يحتوي

على سكريات متعددة وبعضها يحتوي على حامض التكويك Teichoic acid الذي يرتبط مع ايونات المغنيسيوم ويعتقد ان هذا الحامض يعطي الخلية البكتيرية حماية من التأثيرات الحرارية.



2- الكبسولة Capsule/ وهي عبارة عن مادة لزجة تشكل طبقة او غلافاً هلامياً حول الجدار الخلوي يحيط ببعض الخلايا البكتيرية ويتركب من مركبات مختلفة منها كربوهيدرات معقدة مثل الدكستران Dextran او من خليط من السكريات والأحماض العضوية وظائفها هي:-

1- تساعد البكتريا على الالتصاق في السطوح الملساء 2- تمنع كريات الدم البيضاء من التهام البكتريا المرضية اي انها تزيد من قابلية البكتريا المرضية على احداث المرض 3- تعطي الحماية ضد الجفاف المؤقت 4- تعتبر حاجز او مانع لالتصاق لاقمات البكتريا 5- تساعد على ثباتية الخلايا في المعلق بصورة متساوية

3- الأسواط Flagella/ وهي تراكيب دقيقة جداً تشبه الشعيرات وتبرز من جدار الخلية الى الخارج وتكون مسؤولة عن حركة البكتريا. يتركب السوط من ثلاث اجزاء هي:

1- جسم قاعدي basal body يلامس نهايته السيتوبلازم من الداخل ويمتد حتى نهاية جدار الخلية. 2- الخطاف Hook 3- الخيط الحلزوني Filament/ وطوله عدة مرات بطول الخلية

موقع الأسواط في الخلية: ويعتمد ذلك على نوع البكتريا فقد يكون قطبياً (من طرف أو من طرفين) أو قد يكون جانبياً (على جوانب الخلية البكتيرية).

1- الخلية التي تمتلك سوطاً قطبياً تسمى Monotrichous مثل Pseudomonas aeruginosa .

2- الخلية التي تحتوي على خصلة من الأسواط في طرف واحد فتسمى Lophotrichous مثل Pseudomonas fluorescens .

3- الخلية التي تمتلك خصلة أو سوط واحد من كلا قطبي الخلية فيطلق عليها Amphitrichous مثل Aquaspirillum serpens .

4- الخلية التي تمتلك أسواطاً تحيط بجميع جوانبها تسمى Peritrichous مثل Salmonella typhi.

5- الخلية التي لا تحتوي على أسواط يطلق عليها Atrichous مثل جميع البكتريا الكروية حيث أن الأسواط هي صفة غالباً ملازمة للبكتريا العصوية في حين تفتقر البكتريا الكروية للأسواط.

4- الأهداب Pili/ هي بروزات شعرية مجوفة وغير ملتوية تكون أدق وأقصر وأكثر عدداً من الأسواط البكتيرية، لا تستخدم في الحركة، وظائفها هي :-

1- تستخدم في نقل المادة الوراثية في عملية التزاوج بين خليتين.

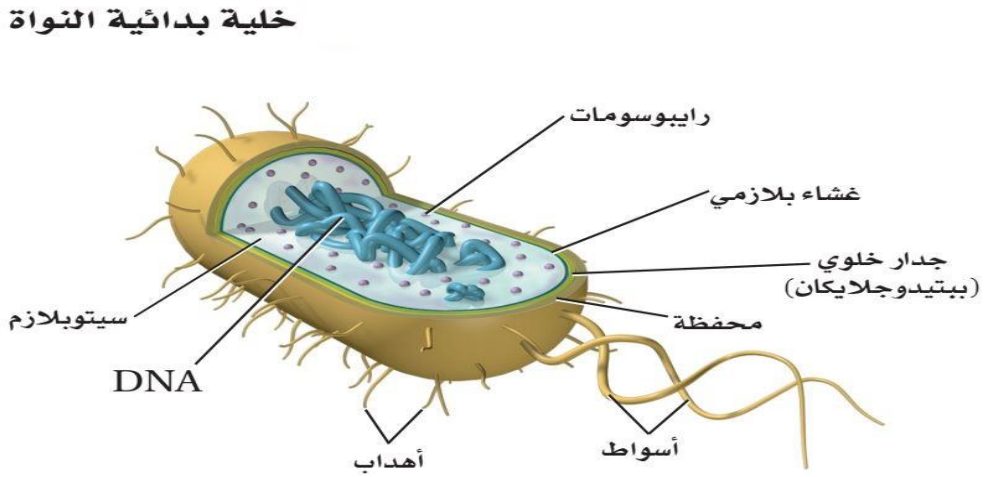
2- تساعد البكتريا المرضية على الالتصاق بالسطوح الداخلية للخلايا الطلائية المبطنة للجهاز الهضمي والتنفسي وتساعد على انتشار العدوى.

3- تستعمل الأهداب كمواقع اتصال لاقمات البكتريا عند مهاجمة اللاقمات لمضائفها البكتيرية، حيث تلتصق اللاقمات على الأهداب ومن ثم تنقل موادها الوراثية الى داخل الخلية البكتيرية.

المحاضرة الثالثة

التراكيب الداخلية يقصد بها التراكيب الموجودة داخل الجدار الخلوي وهي

الغشاء السايتوبلازمي – البروتوبلاست – السايتوبلازم – المادة النووية – حبيبات الڤوليوتين – سبورات البكتريا – الحويصلات.



1) الغشاء السايتوبلازمي Cytoplasmic membrane

وهو حاجز منفذ انتقائي يقع مباشرة تحت الجدار الخلوي ويتركب من فوسفوليبيدات 20-30% وبروتين حوالي 60-70% وظيفته الأساسية هي تنظيم مرور الجزيئات بصورة انتقائية حيث يقوم بإمرار الجزيئات الغذائية الى الداخل ويسمح للفضلات بالخروج منها. ان أي تلف لهذا الغشاء بفعل العوامل الفيزيائية أو الكيميائية يؤدي الى موت خلية البكتريا كما أنه يحتوي على

الأنزيمات المتعددة التي تشترك في تخليق بعض مكونات الجدار الخلوي كما يعد هذا الغشاء مصدراً لتوليد الطاقة (ATP) المستخدمة في أجهزة نقل المغذيات وفي حركة الأسواط.

2) البروتوبلاست Protoplast

وهو الجزء المتكون من الغشاء السايتوبلازمي وما يحتويه من مكونات خلية البكتريا الداخلية ويمكن الحصول عليه من معاملة خلية البكتريا G^+ بواسطة انزيم اللايسوزايم الذي يعمل على اذابة الجدار الخلوي فقط وما يتبقى من الخلية هو البروتوبلاست. كذلك يمكن الحصول عليه من تنمية البكتريا بوجود البنسلين الذي يمنع تكون الجدار الخلوي وفي كلتا الحالتين يجب وضع البروتوبلاست الناتج في محيط يكون فيه الضغط الازموزي متعادلاً مع ما هو موجود داخل الخلية.. ان عملية ازالة الجدار الخلوي لا يؤثر على حيوية خلية البكتريا فتقوم الخلية (البروتوبلاست) بوظائف التكاثر والوظائف الفسيولوجية الاخرى ولكن بحذر تام من ناحية الضغط الازموزي.

في حالة البكتريا G^- المعاملة بإنزيم اللايسوزايم والمضادات الحياتية تسمى سفيروبلاست Spheroplast وليس بروتوبلاست، وتمتلك السفيروبلاست غشاء خارجي لأن جدار الخلية السالبة لصبغة كرام لا يتأثر بالمعاملة فضلاً عن احتوائها على الغشاء السايتوبلازمي الموجود في البروتوبلاست.

بعض أنواع البكتريا مثل المايكوبلازما Mycoplasma لا تمتلك جدار خلوي في طبيعتها وهي تحيط نفسها بغشاء سايتوبلازمي يقوم بوظائف مشابهة للبروتوبلاست.

3) السايتوبلازم The Cytoplasm

يمكن تقسيم مواد الخلية التي يحيط بها السايتوبلازم الى ثلاث مناطق:-

أ) منطقة السايتوبلازم وتكون غنية بالرايبوسومات Ribosomes التي يتم عندها التخليق الحياتي لبروتين الخلية ويشكل الحامض النووي الـ RNA 60% منها.

ب) المنطقة الكروماتينية وتكون غنية بالـ DNA.

ج) الجزء السائل المحتوي على المواد الذائبة. وعلى عكس خلايا النبات والحيوان فإن خلايا الأحياء المجهرية وبسبب عدم وجود الشبكة الاندوبلازمية فإن الرايبوسومات تكون منتشرة بصورة طليقة في السايتوبلازم.

4) المادة النووية Nuclear Material

ليس للبكتريا نواة حقيقية ولكنها تحتوي على أجسام نووية أو نواة بدائية تتكون أساساً من الـ DNA وليس لها غشاء نووي ويطلق عليها النوية Nucleoid أو الجسم الكروماتيني أو الكروموسوم البكتيري.

5) حبيبات الڤوليوتين Volutin granules

حبيبات مخزنة في السايتوبلازم وتعد مخازن للفوسفات كما في بكتريا Corynebacterium وكذلك جسيمات poly hydroxy butyrate (PHB) وتعد مخزناً للكاربون والطاقة كما في البكتريا الهوائية. وكذلك حبيبات السكريات المتعددة والكلايكوجين وكذلك الفجوات الهوائية لمقاومة الضغط الناتج من اعماق المياه ولمنع تمزق الخلايا.

6) سبورات البكتريا Bacterial spores

السبورات عبارة عن خلايا ساكنة ذات جدران سميكة يمكنها النمو والإنبات الى خلايا خضرية عند توفر الظروف المناسبة وعادة يتكون سبور واحد في كل خلية. وتقسم السبورات الى مجموعتين وهي السبورات الداخلية والسبورات الخارجية.

أ) السبورات الداخلية Endospores

وتتكون داخل الخلية ويختلف شكلها وموقعها حسب نوع البكتريا فقد تكون في

1- مركز الخلية كما في Bacillus cereus (سبور مركزي)

2- طرف الخلية كما في Clostridium tetani (سبور طرفي)

3- قريب من الطرف كما في Clostridium subterminate (سبور قريب من الطرف)

وتتكون السبورات الداخلية عندما تكون الخلايا في نهاية طور النمو النشط. والعوامل المحفزة لنمو السبورات هي التقدم في السن والمعاملة الحرارية. والسبورات الداخلية تكون ذات مقاومة شديدة للجفاف والصبغات والمواد المطهرة والإشعاع اضافة للحرارة. وعموماً مختلف السبورات تقاوم حرارة 80 ْم لمدة 10 دقائق وان أهم العوامل المساعدة للسبورات في مقاومة الحرارة هو قلة الرطوبة في تركيب السبور واحتواء جميع السبورات الداخلية على كمية كبيرة من حامض ثنائي بيكولينيك Dipicolinic (DPA) والسبورات قادرة على الانبات بعد بقائها ساكنة لعدة سنين وتتضمن عملية الانبات مرحلتين: 1- انتهاء السكون 2- النمو

ب) السبورات الخارجية Exospores

وتتكون خارجياً (أي خارج الخلايا الخضرية) كما في التبرعم الحاصل في نهاية أحد أطراف الخلايا وتكون مقاومة للجفاف والحرارة ومقاومتها تكون أقل من السبورات الداخلية لعدم احتوائها على حامض (DPA) كما في البكتريا المؤكسدة لغاز الميثان من جنس Methylosinus .

7) الحويصلات Cysts

تراكيب ذات جدران سميكة تستخدم للسكون والسبات الحيوي وهي مقاومة للظروف الصعبة وتتشابه مع السبورات في بعض الأوجه إلا انها لا تمتلك المقاومة العالية للحرارة وتختلف في تركيبها الكيميائي عن السبورات الداخلية. مثالها الحويصلة الناتجة من جنس Azotobacter .

تنمية البكتريا

يمكن تنمية البكتريا على أوساط غذائية في المختبر وأن تنميتها تتأثر بالظروف الفيزيائية المحيطة كدرجة الحرارة والـ pH وتركيز الغازات.

العوامل اللازمة لتنمية البكتريا

أ) الاحتياجات الغذائية

1- مصدر الكاربون- بعض الأحياء تستخدم CO_2 كمصدر وحيد للكاربون وتسمى ذاتية التغذية Autotrophs وقسم يستخدم الكاربون العضوي كمصدر أساسي للكاربون وتسمى غير ذاتية التغذية Heterotrophs ولا تستطيع ان تستخدم CO_2 كمصدر وحيد للكاربون.

2- مصدر الطاقة- قسم يستفاد من الضوء كمصدر للطاقة فتسمى ضوئية التغذية Phototrophs وقسم يعتمد على المركبات الكيمائية فتسمى Chemotrophs.

3- مصدر النتروجين- بعض البكتريا تستخدم النتروجين الجوي والبعض الاخر يستخدم مركبات النتروجين غير العضوية مثل NO_2 و NO_3 وأملاح الأمونيوم (NH_4^+) وقسم يستخدم النتروجين من مصادر عضوية كالأحماض الامينية او نواتج التحلل المائي للبروتين. ان زيادة نسبة N:C تكون مناسبة لنمو الفطريات وانخفاضها مناسب لعملية تكوين السبورات وهكذا فإن اهمية النسبة تبدو متباينة.

4- عنصر S و P - تحتاج البكتريا للكبريت لتصنيع الأحماض الأمينية التي يدخل في تركيبها الكبريت مثل Cystein و Cystine و Methionin وبعض البكتريا تحصل على هذا العنصر من مصادر عضوية والآخر يحصل عليه من مصادر لاعضوية والبعض يمكن ان يستخدم الكبريت المعدني. أما عنصر P فانه يجهز بصورة فوسفات وهو مهم لتخليق الأحماض النووية والنيوكليوتيدات والفسوسفولبيدات.

5- العناصر المعدنية- مثل Fe^{+2}، Mg^{+2}، Ca^{+2}، K^+ بتراكيز متوسطة و Zn^{+2} Cu^{+2}، Mn^{+2}، Mo^{+6}، Ni^{+2}، B^+، Co^{+2} بتراكيز واطئة.

6- الماء- ضروري لإذابة الغذاء وتهيئة وسط مناسب لمختلف الفعاليات الحيوية ومقاومة التغيرات المفاجئة في درجات حرارة المحيط البيئي في الخلايا ومهم في جميع تفاعلات التحلل التي تقوم بها الخلية.

7- الفيتامينات- تحتاج لها الخلية كمرافقات انزيمية Coenzyme أو كوحدات بناء للإنزيمات نفسها، بعض البكتريا بإمكانها تخليق الفيتامينات وقسم منها لا يستطيع تخليقها لذا يجب اضافتها للأوساط الغذائية.

ب) الاحتياجات الفيزيائية للنمو

1- درجة الحرارة- وهي مهمة لأنها تتحكم بمعدل التفاعلات الكيميائية التي تحدث داخل الخلية وتقسم البكتريا حسب درجة الحرارة الى ثلاث أقسام هي:-

أ- البكتريا المحبة للبرودة Psychrophiles

لها القابلية على النمو في درجة حرارة صفر درجة مئوية أو أقل ويمكنها النمو بشكل أفضل بدرجة حرارة أعلى، حرارة نموها المثالية 15 ْم والعظمى لنموها هي 20 ْم.

ب- البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles

تنمو بمدى يتراوح بين (25-40) ْم وتضم العديد من الانواع والأجناس أكثر من المجموعتين الاخرى وإن غالبية البكتريا المرضية للإنسان والحيوان تقع ضمن هذه المجموعة حيث تنمو جيداً بدرجة حرارة الجسم 37 ْم.

ج- البكتريا المحبة للحرارة العالية Thermophiles

حرارة نموها المثالية 45 ْم ومداها الحراري 40-65 ْم.

2- الـ pH - أمثل pH للنمو هو المتعادل 6.5-7.5 والمدى هو من 5-9 وقسم قليل من البكتريا يمكنه النمو في الـ pH الحامضي المنخفض أو القاعدي المرتفع.

3- الغازات- يعد O_2 و CO_2 من الغازات المهمة التي لها تأثير كبير في نمو البكتريا وتقسم البكتريا حسب استجابتها لغاز O_2 الى أربعة مجاميع هي:

أ- البكتريا الهوائية Aerobic Bacteria وهي البكتريا التي تحتاج الى O_2 في نموها.

ب- البكتريا اللاهوائية Anaerobic Bacteria وهي البكتريا التي لا تستطيع النمو بوجود O_2 ويعد O_2 ساماً لها.

ج- البكتريا اللاهوائية الاختيارية Facultative anaerobic Bacteria تنمو بوجود أو عدم وجود O_2.

د- البكتريا المحبة للقليل من الأوكسجين Micro aerobic Bacteria تحتاج للقليل من O_2 ولا تستطيع أن تتحمل المستوى الطبيعي للأوكسجين في الهواء.

ج) الأوساط الغذائية للبكتريا Bacterial Media

وهي البيئات الحاوية على العناصر الغذائية الضرورية للنمو والتكاثر فإذا كانت هذه الأوساط معروفة التركيب سميت بالأوساط التركيبية Synthetic media وإذا كانت غير معروفة التركيب سميت بالأوساط المعقدة Complex media والأوساط الغذائية إما أن تكون سائلة أو صلبة بإضافة الاكار بنسبة 1.5-2% ، وتبعاً للغرض الذي تستخدم لأجله الأوساط الغذائية تقسم الى الأنواع التالية:-

1- الأوساط الانتقائية (الانتخابية) Selective media هي الأوساط التي تشجع على نمو وسيادة نوع معين من البكتريا دون غيره مثل الوسط المستخدم في تنمية البكتريا المحللة للسليلوز.

2- الأوساط التفريقية Differential media تستخدم للتفريق بين الأنواع المختلفة من البكتريا لاحتوائها على مركبات معينه مثل وسط أكار الدم Blood agar لتمييز البكتريا المحللة للدم دون غيرها لقدرتها على تكوين مناطق شفافة حول مستعمراتها لتحليلها الدم.

3- أوساط لعد البكتريا Enumeration media أوساط تستخدم لعد جميع أنواع البكتريا مثل Nutrient Agar.

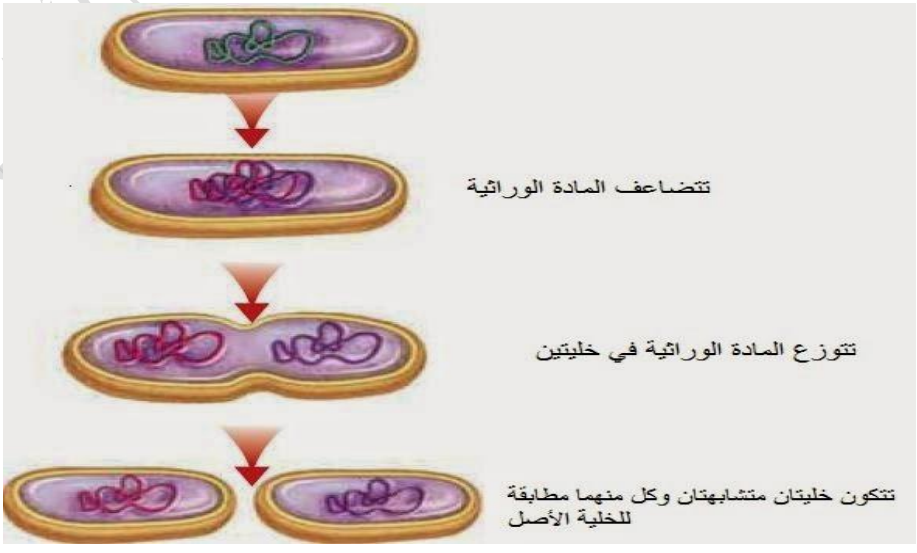
4- أوساط لتشخيص البكتريا Characterization media أوساط تستخدم للكشف عن خواص معينة في البكتريا كأن تستخدم لتحديد نوع النمو الناتج كأن يكون غازاً أو تغيير لون البيئة.

5- أوساط الإدامة أو الحفظ Maintenance media تستخدم لإدامة وتنشيط حيوية البكتريا المخزنة مثل Nutrient Agar.

6- الأوساط المدعمة Enriched media أوساط سائلة عادة يضاف لها مركب معين لتنشيط نوع معين من الأحياء المجهرية وتثبيط بقية الأنواع مثل إضافة البترول (الهايدروكاربون) كمصدر وحيد للكاربون الى الوسط السائل لتنشيط البكتريا القادرة على تحلل مادة البترول وتثبيط بقية أنواع البكتريا.

المحاضرة الرابعة

نمو وتكاثر البكتريا يشير النمو Growth الى الزيادة في عدد الخلايا الكلي وليس الزيادة في حجم الخلية أو كتلتها، وتتكاثر البكتريا بواسطة الانشطار الثنائي (Binary fission) والذي فيه تنقسم الخلية المفردة الى خليتين متماثلتين والانشطار الثنائي هو طريقة تكاثر لاجنسي وتعد من اكثر طرق التكاثر شيوعاً.



من طرق التكاثر الاخرى هو التبرعم Budding حيث يخرج برعم صغير من احد اطراف الخلية الام ثم يبدأ هذا البرعم الصغير بزيادة حجمه حتى يصبح مماثلاً للخلية الام ثم ينفصل عنها كما في بكتريا Hyphomicrobium vulgare

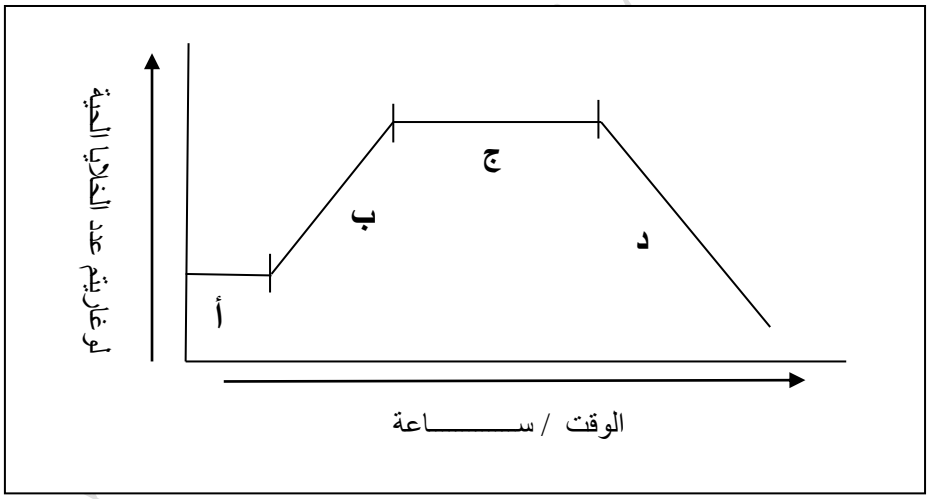
أو يمكن أن تتكاثر البكتريا بواسطة تكوين الكونيديات أو يمكن أن تتكاثر بعض أنواع البكتريا الخيطية بتجزئة الخيط Fragmentation أو في حالات نادرة تكاثر جنسي.

رسم ص 77 (الشكل 20) مراحل الانشطار الثنائي في نمو خلية البكتريا

يزداد عدد البكتريا المتكاثرة بطريقة الانشطار الثنائي تبعاً لنظام اسي كما ان الفترة اللازمة لزيادة عدد البكتريا الى الضعف تسمى وقت الجيل Generation Time (G.T)

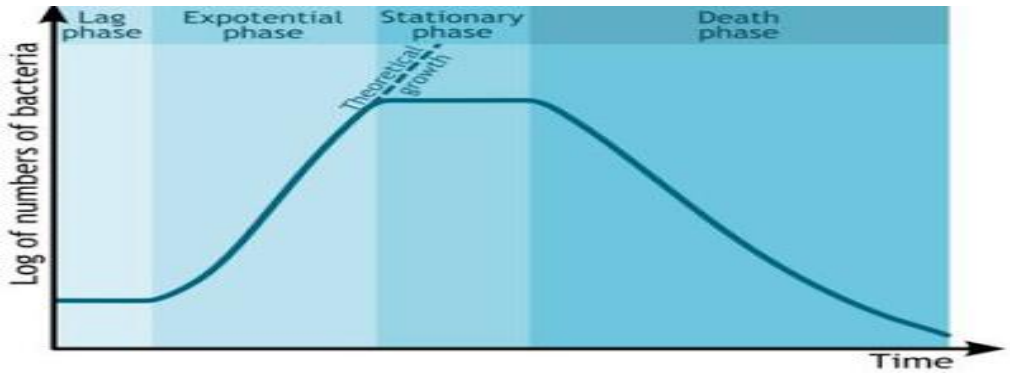
منحنى النمو الطبيعي Normal growth curve

إذا لقحت خلية بكتيرية واحدة في وسط غذائي وحضنت بدرجة حرارة مناسبة فإن الخلية البكتيرية تبدي خواص منحنى النمو والذي يتألف من أربعة أطوار.



منحنى النمو المثالي للبكتريا

أ- الطور التمهيدي ب- الطور اللوغاريتمي ج- طور الثبات د- طور الهلاك



1- طور الركود Lag phase:

في هذا الطور لا تزداد أعداد البكتريا بل يبقى ثابت مؤقتاً وهنا الخلايا ليس في دور سبات بل تتهيأ للنمو وتخليق الأحماض النووية وتصنيع الانزيمات ومرافقاتها والتي تستخدمها الخلية في عملية الانقسام.

2- طور النمو اللوغاريتمي Exponential or Logarithmic phase:

سمي بهذا الاسم لأن عدد الخلايا يزداد زيادة اسية وبمعدل عال تحت الظروف المثالية من درجة الحرارة وتوفر المواد الغذائية وهنا تكون جميع الخلايا في هذا الطور متماثلة من حيث التركيب الكيميائي والفعالية الحيوية.

3- طور النمو الثابت Stationary phase:

يتباطأ معدل تكاثر الخلايا في هذا الطور على الرغم من ان خط النمو يبقى مستقيماً إلا انه ليس هناك زيادة في معدل النمو وذلك بسبب :-

أ- قرب نفاذ أو استهلاك المواد الغذائية في الوسط

ب- احتمالية انتاج مواد ايضية سامة نتيجة النمو

ج- توقف عملية الانقسام كمحصلة لما سبق

د- تساوي معدل النمو مع معدل الموت

4- طور الموت Death phase:

بسبب نفاذ العناصر الغذائية الأساسية من الوسط تماماً وتراكم النواتج السامة المثبطة للنمو بشكل كبير يتناقص عدد الخلايا الحية في هذا الطور بمعدل اسي أو لوغاريتمي.

في نهاية هذا الطور يلاحظ ان معدل الموت للخلايا يقل بسبب قلة أعداد الخلايا الحية المتبقية بحيث تكفي المواد الغذائية المتبقية لاستمرار نمو الخلايا كما تصبح خلايا البكتريا الميتة في الوسط مصدراً غذائياً جديداً للخلايا الحية.

ويستفاد من دراسة اطوار نمو الميكروبات في التحكم في عملية حفظ الأغذية وذلك بمحاولة ابقاء الأحياء المجهرية في طور الركود Lag phase لأطول فترة ممكنه وذلك باستخدام الحفظ بالتبريد.

المحاضرة الخامسة

السيطرة على الأحياء المجهرية

السيطرة هو خفض اعداد وفعالية الحمولة الميكروبية الكلية اما الموت فهو فقدان القابلية على التكاثر.

الظروف المؤثرة على تثبيط الأحياء المجهرية:

1- ظروف المحيط: يتأثر معدل التثبيط او الموت للأحياء المجهرية كثيرا بالخواص الكيميائية والفيزيائية للوسط المحيط بها. فتأثير الحرارة يكون اشد في الوسط الحامضي من القاعدي، كذلك زيادة تركيز الكاربوهيدرات يزيد من مقاومة الميكروب للحرارة كما ان زيادة الحرارة بوجود الفينول يسرع في تحطيم الأحياء المجهرية اكثر من الفينول لوحده.

2- نوع الكائن المجهري: السبورات اكثر مقاومة للظروف المؤثرة من الخلايا الخضرية.

3- حالة الخلايا الفسلجية: الخلايا الحديثة العمر تتثبط بسهولة اكثر من الخلايا القديمة.

الكيفية التي يعمل بها العامل المثبط

1- تحطيم جدار الخلية او تثبيط عملية تخليقه مثل فعل انزيم اللايسوزايم Lysozyme الذي يحلل جدار الخلية ويبقى البروتوبلاست عاريا.

2- تثبيط نفاذية الغشاء السايتوبلازمي من خلال تخريب الغشاء نفسه بواسطة (المضاد الحيوي) (Polymyxin) او الفينول والمنظفات ومركبات الأمونيوم الرباعية.

3- تغيير في طبيعة بروتينات الخلية والأحماض النووية (دنترة).

4- تثبيط فعل الأنزيمات يؤدي الى تثبيط الفعاليات الحيوية.

5- تثبيط تخليق البروتين والأحماض النووية.

العوامل الفيزياوية

وأهمها درجة الحرارة العالية والواطئة والتجفيف والضغط التنافذي والترشيح والإشعاع.

أ- درجة الحرارة العالية

مثل استخدام التعقيم بالبخار وتحت الضغط (حرارة رطبة) كما في الأوتوكليف Autoclave ويستخدم لتعقيم الأوساط الغذائية والسوائل والمحاليل

- ❖ التعقيم بالحرارة الجافة مثل الأوفن Oven ويستخدم لتعقيم الأطباق الزجاجية والماصات وغيرها من الأدوات الزجاجية.
- ❖ التعقيم بالحرق ويستخدم لتعقيم الأبرة Needle واللوب Loop .

- البسترة وتستخدم للحليب للتخلص من ميكروب السل والركتسيا
  (البسترة البطيئة 62.8 مْ لمدة نصف ساعة)
  (البسترة السريعة 71.7 مْ لمدة 15 ثانية)
- التعقيم الجزئي بالبخار مثل التندلة (Tyndallization) والجهاز المستخدم يسمى جهاز ارنولد وبهذه الطريقة تعقم المواد الحساسة للحرارة العالية لمدة 3 أيام متعاقبة بدرجة 100مْ لمدة نصف ساعة كل يوم تتخللها فترات التحضين لإنبات السبورات الباقية على قيد الحياة ثم تقتل هذه السبورات النامية في خطوات التعقيم اللاحقة.

ب- درجة الحرارة الواطئة مثل استخدام التبريد او التجميد لإيقاف نمو الميكروبات ودرجات الحرارة الواطئة لا يمكن الاعتماد عليها في التطهير او تعقيم المواد ومن الناحية التطبيقية تعد درجة الحرارة العالية قاتلة للمايكروبات في حين تعد الحرارة الواطئة مثبطة لها.

التجفيف

يوقف الفعاليات الحيوية ويخفض اعداد الميكروبات الحية وتختلف الميكروبات في مقاومتها للتجفيف تبعا لعدة عوامل هي: 1- نوع الكائن الحي 2- المواد التي يجفف فيها او عليها الكائن المجهري 3- اكتمال عملية التجفيف 4- الظروف الفيزياوية التي يتعرض لها الكائن المجهري المجفف من حرارة وضوء ورطوبة.

الضغط الأزموزي

هو الضغط المتكون داخل الخلية نتيجة دخول الماء إليها فإذا تعرضت الخلية لمحاليل فيها تركيز اعلى من المواد المذابة فان الماء الموجود داخل الخلية يسحب الى الخارج وهذه العملية تسمى بالبلزمة Plasmolysis وإذا حصل العكس اي اذا وضعت الخلية في محلول فيه تركيز قليل للمواد المذابة (تركيز عالي للماء) فان الخلية يدخل اليها الماء وتسبب ضغطا داخل الخلية يسمى الضغط الأزموزي وتسمى هذه العملية Plasmoptysis في حالة البلزمة يحدث تجفيف للخلية ومن بعد فان الفعاليات الحياتية تتثبط كليا او جزئيا.

الترشيح

يستخدم للمواد التي تتلف بالحرارة العالية والسوائل الحياتية والأنزيمات وبعض المضادات الحياتية وتستخدم لها مرشحات خاصة.

الإشعاع

وأهمها الأشعة الكهرومغناطيسية وطاقتها تتناسب طرديا مع ترددها وهي تقسم حسب تفاعلها الى مجموعتين:-

1- الأشعة المؤينة: مثل الأشعة السينية X-Rays وأشعة كاما وسميت بالمؤينة لأنها تمتلك طاقة كافية لسحب الإلكترونات بعيدا عن الجزيئات وتعمل على تأين هذه الجزيئات وهذه

الأشعة عندما تمر من خلال الخلايا فإنها تخلق جذورا حرة للهيدروجين والهيدروكسيل وكذلك البيروكسيدات التي بدورها تسبب انواعا مختلفة من التحطيم للخلايا التي تمر بها.

والأشعة السينية تكون قاتلة للميكروبات لكنها غير عملية في استخدامها للسيطرة على الميكروبات وهي باهظة التكاليف في انتاجها وصعبة الاستعمال بكفاءة لأنها تشع الى جميع الاتجاهات وهي تستخدم في احداث الطفرات للأحياء المجهرية.

اما اشعة كاما فتعد قاتلة لجميع اشكال الحياة ومنها الأحياء المجهرية لقابليتها على الاختراق وتستخدم في التعقيم التجاري.

2- الأشعة غير المؤينة: تمتلك طاقة اشعاع اقل بحيث لا يمكنها تأين المركبات المختلفة ولهذا فأنها تمتص من قبل هذه المركبات لأنها تنشط الالكترونات وترفع مستوى طاقتها مثل الاشعة فوق البنفسجية.

العوامل الكيميائية

وأهمها المركبات الفينولية والكحولات والهالوجينات واليود والمعادن الثقيلة والمنظفات والغازات والفورمالديهايد والبيتابروبيولاكتون.

المركبات الفينولية

فعالة جدا بحيث ان محلول 5% فينول يقضي بسرعة على الخلايا الخضرية وتستخدم المركبات الفينولية اما موقفة لنمو البكتريا (Bacteriostatic) او قاتلة (مبيدة) لها (Bacteriocidal) اعتمادا على التركيز المستخدم. طبيعة عملها غير واضحة بدقة فقد يكون التأثير من خلال ترسيب بروتين الخلية او انفجار الخلايا او تثبيط الإنزيمات او تسرب الأحماض الأمينية من الخلايا ويعتقد ان التأثير القاتل يكون من خلال التحطيم الفيزياوي.

الكحولات

اشهرها الأيثانول بتركيز 70% ليعمل بكفاءة اكثر في التطهير ولا يعتمد عليه في التعقيم الكامل لعدم تأثيره على سبورات البكتريا. طبيعة عملها يكون من خلال احداث تغيرات في طبيعة بروتينات الخلية، كذلك تعمل على اذابة الدهن من جدران الخلايا كما انها تعد عوامل سحب للماء من الخلايا ومن هنا ندرك قلة تأثير الكحول المطلق في الخلايا الجافة وذلك لانعدام الرطوبة فيها من جهة ولعدم امكان الكحول ذي التركيز العالي على اختراق جدران الخلايا وبعض تأثير الكحول يكون من خلال التأثير الغاسل للأسطح بفعل ميكانيكي لإزالة الأحياء المجهرية من السطح.

الهالوجينات

- الكلور- يستخدم في تنقية وتعقيم مياه الشرب وفي مصانع الأغذية والمجالات الطبية ومعاملة مياه المجاري ومعاملة مياه السباحة. الكلور من العوامل المؤكسدة القوية ويعد عاملاً ساماً لبروتوبلازم الخلايا وهو من العوامل القاتلة للمايكروبات وفعله المضاد للمايكروبات يفوق فعل مركبات الفينول بحوالي 200 مرة.

ان طبيعة فعل الكلور ومركباته ضد المايكروبات تتمثل من خلال تكوين حامض الهايبوكلوروز (HClO) عند اتحاد الكلور الحر مع الماء، كما ان هذا الحامض يتكون نتيجة لتحلل مركبات الهايبوكلورايت والكلورامين

$$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HClO$$

يتحلل هذا الحامض المتكون بمرحلة لاحقة لينتج حامض HCl وذرة اوكسجين حرة

$$HClO \longrightarrow HCl + O$$

وتعد ذرة الأوكسجين الناتجة عاملاً مؤكسداً قوياً للمكونات الخلوية وعاملاً قاتلاً للمايكروبات ويرجع الفعل القاتل للكلور ايضاً الى اتحاده المباشر مع بروتين الخلية وأنزيماتها.

- اليود- من اكثر العناصر فعالية في قتل المايكروبات ويمتلك مدى واسع من التأثير ضد مختلف انواع الأحياء المجهرية. ان طبيعة عمل اليود في التأثير على المايكروبات غير معروفة وهو من العوامل المؤكسدة القوية التي تؤكسد وبصورة غير رجعية مركبات الخلايا وخاصة البروتين ومجاميع الكبريت المهدرجة كما يعتقد انه يرتبط مع الحامض الأميني التايروسين المهم في الانزيمات وبقية البروتينات الخلوية ويتكون مركبا يدعى ثنائي اليود والتايروسين.
- المعادن الثقيلة – كالزئبق والفضة والنحاس وتستخدم هذه المعادن على شكل املاح لاعضوية وطبيعة عملها يكون من خلال ارتباط هذه المعادن مع بروتينات الخلايا وبخاصة الانزيمات وتثبيطها.
- المنظفات - Detergent

او عوامل التنظيف كالصابون ويكمن الفعل التطهيري الحقيقي للصابون او المنظفات في عامل الإزالة الميكانيكي اكثر من التأثير المثبط او القاتل للأحياء المجهرية من خلال تقليل الشد السطحي وزيادة قوة الإذابة للماء لإزالة الاجسام الغريبة.

- الغازات- مثل أوكسيد الاثيلين ويستخدم في تطهير الادوات والأجهزة الحساسة للحرارة وطبيعة فعله المضاد يتمثل في التفاعل الالكيلي مع المركبات العضوية كالإنزيمات والبروتينات وهذا يعني احلال مجموعة الكيلية محل ذرة الهيدروجين الفعالة في مجاميع الكاربوكسيل او الامين او مجموعة الكبريت المهدرجة (SH).
- الفورمالديهايد – يستخدم في تعقيم الاماكن المغلقة ويعاب عليه قابليته على الاختراق تكون ضعيفة. طبيعة عمله تتمثل في اتحاده مع ذرات النتروجين العضوية في البروتينات والأحماض النووية ومن بعد تعطلها عن العمل الطبيعي.

المضادات الحياتية والعوامل العلاجية الكيميائية

يطلق على المواد الكيميائية المستخدمة في علاج الأمراض مصطلح Chemotherapeutic agent أما طريقة علاج الراض بهذه المواد فيطلق عليها اصطلاح العلاج الكيميائي Chemotherapy.

عموما تقسم المواد العلاجية الى قسمين

- اما مركبات كيميائية تصنع في المختبر
- او مواد طبيعية تفرزها الأحياء المجهرية وتسمى بالمضادات الحياتية Antibiotics.
- والفرق بين المواد الكيميائية والعلاجية والمواد الكيميائية المطهرة هو ان الأولى تكون عالية التخصص في السمية ضد المايكروب الطفيلي وقليلة التأثير ضد خلايا المضيف (الإنسان او الحيوان) أما المواد الكيميائية المطهرة فلا تمتلك هذه الصفة والميزة الثانية للمواد الكيميائية العلاجية هي قابليتها على ملامسة الكائن المجهري الطفيلي وذلك بواسطة نفاذها من خلال انسجة وخلايا المضيف دون تقليل تركيزها المؤثر كما انها لا تتعارض مع النظام الدفاعي للجسم (مثل انتاج مضادات الأجسام).

خواص المضادات الحياتية

1- لها مجال واسع في هلاك المايكروبات وتثبيطها.

2- ليس لها مضار جانبية على المضيف (الإنسان او الحيوان).

3- لا تؤثر في الحمولة المايكروبية الطبيعية للمضيف.

4- لها القابلية على منع نمو الطفيليات المقاومة الحديثة العمر.

طبيعة عمل المضادات الحياتية

لكل مجموعة من المضادات الحياتية تأثير معين ضد الأحياء المجهرية ولهذا قسمت المضادات الحياتية تبعاً للتأثير الذي تحدثه في خلايا المايكروبات وتأثير عملها يتمثل في واحد أو اكثر من الآتي:-

1- تثبيط تخليق الجدار الخلوي مثل البنسلين (Penicillin)

2- تحطيم الغشاء السايتوبلازمي مثل البوليماكسين

3- تثبيط تخليق البروتين والأحماض النووية مثل التتراسايكلين والكلورومفينكول والايروثرمايسين

4- تثبيط انظمة انزيمات معينة مثل مركبات السلفنمايد Sulfonamide.

المحاضرة السادسة

الفطريات Fungi

كائنات ذات نواة حقيقية ولا تحوي على الكلوروفيل ويتألف جدار الخلية من الكايتين بدلاً من السليلوز، وتشمل الخمائر والأعفان. تتكون الخمائر من خلية واحدة أما الأعفان فتتكون من عدة خلايا على هيئة خيوط تسمى هايفات.

وعلى أساس السبورات الجنسية تقسم الى مجاميع تصنيفية حيث تقسم الفطريات الحقيقية الى أربعة صفوف

1- الفطريات المائية Phycomycetes

وتكون هايفاتها غير مقسمة بجدر عرضية وتتكاثر جنسياً بواسطة السبورات الزيجية Zygospore والسبورات البيضية Oospores ويتبع هذا الصنف أعفان Rhizopus و Mucor

2- الفطريات الكيسية Ascomycetes

تكون هايفاتها مقسمة وتتكاثر جنسياً بواسطة السبورات الكيسية Ascospores وهي تتكون داخل كيس بيضوي الشكل يسمى Ascus مثل خميرة Saccharomyces cerevisiae

3- الفطريات البازيدية Basidiomycetes

هايفاتها مقسمة وتتكاثر جنسياً بالسبورات البازيدية Basidiospores والتي تتكون في داخل تركيب على شكل هراوة يمسى البازيده Basidium ، من الأنواع التابعة لهذا الصنف هو العرهون Mushroom

4- الفطريات الناقصة Deuteromycetes

طريقة التكاثر الجنسي في هذه الأعفان غير واضحة

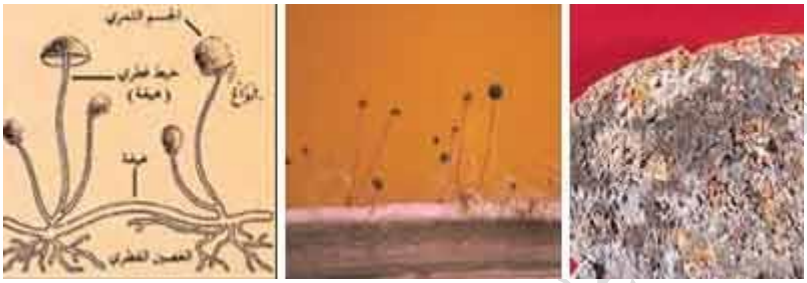
الأعفان Moulds

يتكون جسم العفن من المايسليوم mycelium وهو عبارة عن تكتل خيوط رفيعة تسمى الهايفات hyphae وتحتوي الأعفان على احد اشكال الهايفات الثلاثة الاتية

1- هايفات غير مقسمة 2- هايفات مقسمة احادية النواة 3- هايفات مقسمة متعددة النواة

ومن الناحية الوظيفية هناك نوعين من الهايفات

1- الهايفات الخضرية 2- الهايفات التكاثرية (الهوائية)



وتحتوي الأعفان على التراكيب التالية

1- المداد Stolon:- عبارة عن الهايفات التي تربط العقد والتي فيها تظهر الهايفات الاخرى واشباه الجذور.

2- اشباه الجذور Rhizoids:- وهي خيوط تشبه الجذور تمتص المواد الغذائية وتخرج من العقد وتلامس الوسط الغذائي كما في عفن Rhizopus stolonifer وهناك نوع خاص من اشباه الجذور تسمى بالهوستوريوم Haustorium في الأعفان الطفيلية تخترق الخلايا المضيفة للحصول على الغذاء.

3- الخلايا القاعدية (القدمية) Foot cells

عبارة عن خلايا مستطيلة ذات جدار ثخين تكون موجودة في أو على الوسط الغذائي والتي تخرج منها حاملات الكونيديا Conidiophore.

4- السبورات الكلاميدية Chlamydospores (الخلايا السابتة)

تتكون في بعض أنواع الأعفان وتظهر كمقاطع من الهايفات مستطيلة وذات جدار سميك ووظيفتها كخلايا للتكاثر الجنسي وتقاوم الظروف البيئية غير الملائمة.

5- الكتل الصلبة Sclerotia:- كتلة من الهايفات مرزومة بقوة ومغطاة بجدار ثخين وتساعد العفن على العيش خلال الظروف غير الملائمة للنمو.

التكاثر Reproduction

تتكاثر الأعفان جنسياً أو لا جنسياً أو بالاثنين معاً

1- التكاثر اللاجنسي:- تنتج الأعفان عدة أنواع من السبورات اللاجنسية مثل الكونيديا والسبورات الحافظية والسبورات المفصلية والاويديا Oidia.

2- التكاثر الجنسي:- ويتم بتكوين السبورات الجنسية وحسب الأنواع. فقد يتم بواسطة الزايكوسبور (سبورات زيجية) كما في الفطريات المائية أو السبورات الكيسية (ascospores) كما في الفطريات الكيسية.

الأوساط الغذائية

هنالك ثلاثة أنواع من الأوساط الغذائية

1- الأوساط الغذائية الطبيعية مثل مستخلصات الفواكه والخضر ومن الأوساط الشائعة المحضرة وسط Malt Extract Agar أو وسط Potato Dextrose Agar.

2- الأوساط الغذائية التي تحضر من الببتون مثل وسط سابورود Sabouraud Medium

3- الأوساط الغذائية التركيبية مثل وسط زابك دوكس Czapek-Dox Medium

فسلجة وتغذية الأعفان

تستطيع الأعفان النمو في تراكيز سكرية لا تستطيع البكتريا تحملها لأن الأعفان أقل حساسية للضغط الازموزي العالي من البكتريا، كذلك تفضل الـ pH الحامضي ويمكن أن تتحمل pH من (2- 9) والـ pH المثالي هو 5.6 وتفضل الأعفان الرطوبة ولكن يمكن أن تعيش في بيئات جافة والأعفان هوائية ودرجة الحرارة المثالية لها 22-30 ْم، قسم ينمو بدرجة الصفر المئوي وقسم يتحمل حرارة عالية وخصوصاً الأعفان التي تنتج الكتل الصلبة Sclerotia والتي تعد مقاومة جداً للحرارة وتحتاج الى الكلوكوز والنتروجين وعناصر معدنية وبعض الفيتامينات للنمو وللأعفان قابلية تمثيل واستخدام انواع مختلفة من المواد الغذائية.

بعض أجناس الأعفان

1- Mucor موجود بكثرة في التربة والسماد العضوي والفواكه والخضر ويسبب فساد بعض الأغذية، بعضها يستخدم في صناعة الأجبان، من أنواعه Mucor rouxii و Mucor racemosus Mucor المايسليوم غير مقسم وذو لون رمادي وهو لا يكون Rhizoids ولا Stolon.

2- Rhizopus عفن الخبز الشائع وأنواعه تسبب فساد الأغذية ومثاله Rhizopus stolonifer

هايفاته غير مقسمة وذو مظهر قطني ويكون Rhizoids وStolon .

3- Aspergillus من الفطريات الناقصة، واسع الانتشار ويوجد على الفواكه والخضر وبعضه يسبب فساد الاغذية مثل Aspergillus niger ويستخدم في انتاج حامض الستريك والكلوكونيك

Aspergillus flavus ينتج سموم فطرية والمايسليوم مقسم ومتفرع وألوانه الشائعة هي الأسود والبني والأخضر وله قابلية النمو في تراكيز عالية من السكر والملح.

4- Penicillium معظم انواعه تتبع الفطريات الناقصة وبعض انواعه يتكاثر جنسياً بتكوين السبورات الكيسية، واسع الانتشار في الطبيعة وبعض أنواعه يسبب تعفن وفساد الفواكه والخضر والحبوب والحشائش بعض أنواعه يستخدم في انضاج الأجبان مثل جبن الروكفورت والكاممبرت كذلك بعض أنواعه مثل Penicillium chrysogenum ينتج البنسلين وهذا الجنس يشابه الى حد ما جنس Aspergillus.

5- Trichoderma من الفطريات الناقصة ومن أنواعه Trichoderma viride وهو من أعفان التربة ويقوم بدور مهم في عملية النشدرة (تكوين الأمونيا) في التربة وكذلك تحلل السليلوز ويكون لون المزرعة في اطباق بتري أخضر بسبب الكونيديات المتكونة.

6- Alternaria من الفطريات الناقصة ذات لون زيتوني أو بني وذات مظهر صوفي مثاله Alternaria tenuis يوجد في التربة وعلى الأوراق والبذور والقش وقسم يسبب فساد الأغذية وهذا الجنس يسبب اثارة الحساسية للإنسان.

7- Fusarium يتبع الفطريات الناقصة، واسع الانتشار في الطبيعة وغالباً ما يسبب تلوث الأوساط الغذائية بالمختبر لان سبوراته تنتشر في التيارات الهوائية ويوجد في التربة والمواد النباتية المتعفنة والأغذية مثل Fusarium moniliforms ينتج حامض الجبريليك والذي يعد منشطاً لنمو النباتات.

قسم علوم الأغذية

المحاضرة السابعة

الخمائر Yeasts

تستخدم الخمائر في تخمير عصير الفواكه والخبز والكثير من الصناعات التخميرية وبعضها يسبب أمراض للنبات والحيوان وبعضها يسبب فساد الأغذية. معظم الخمائر عضوية التغذية ورمية وهي على هيئة كائنات وحيدة الخلية ذات أشكال مختلفة منها الكروي والبيضوي والاسطواني والمستطيل والخيطي، وتتكاثر الخمائر خضرياً بالتبرعم أو بالإنشطار وجنسياً بإنتاج السبورات الكيسية.

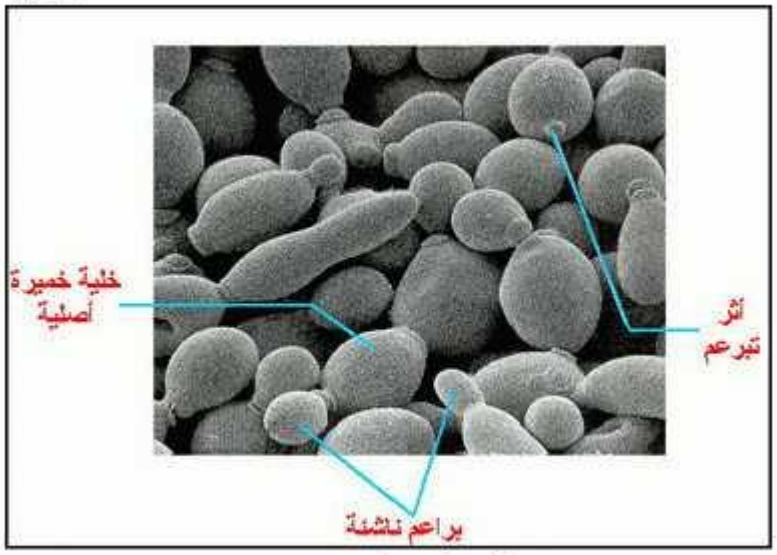
أنواع الخمائر/ كان يعتمد في تصنيف الخمائر على الصفات الظاهرية (المورفولوجية) والتي قد تختلف أحياناً في النوع الواحد عند تنميتها في ظروف بيئية مختلفة مما يؤدي الى الالتباس. التصنيف الأكثر دقة يعتمد على خصوصية عملية التكاثر الجنسي وكذلك على قابلية الخمائر على استخدام الكربوهيدرات وتخميرها.

الخمائر الحقيقية تكون السبورات الجنسية (الكيسية) مثل عائلة Saccharomycetaceae. أما الخمائر غير الحقيقية التي لا تكون السبورات الجنسية وتتكاثر خضرياً مثل Sporobolomycetaceae – Rhodotorulaceae - Cryptococcaceae

المظهر الخارجي للخمائر

الخميرة أكبر حجماً من البكتريا ويتراوح عرضها من (1-5) مايكرومتر وطولها من (5-30) مايكرومتر، الشكل الشائع لها هو البيضوي وبعضها مستطيل وقسم كروي، وحتى في المزارع النقية هناك اختلافات في الحجم والشكل اعتماداً على العمر والظروف البيئية، والخمائر خالية من الأسواط أو أية أعضاء للحركة.

شكل



فطر الخميرة (Yeast)

الفحص المجهري

جميع الخمائر G^+ ولرؤية محتويات الخلية بصورة تفصيلية وخصوصاً نواة الخلية يفضل استخدام طريقة فيولجين Feulgen وتستخدم صبغة Sudan III لرؤية كرات الدهن المخزونة حيث تظهر بلون وردي أو أحمر فاتح أما السليلوز فيظهر بلون أزرق عند صبغ الخلية بكلوريد الخارصين واليود في حين نجد انه بواسطة يوديد البوتاسيوم تظهر حبيبات النشا باللون الأزرق والكلايكوجين بلون أحمر بني.

تراكيب خلية الخميرة/ تتكون خلية الخميرة من الأجزاء التالية:-

1) الكبسولات Capsules / معظم كبسولات الخمائر تتكون من السكريات المتعددة

2) جدار الخلية Cell Wall / غلاف خارجي يتكون بصورة رئيسية من نوعين من السكريات المتعددة وهي كلوكان glucan (30-35%) ومانان Mannan (30%) ويحتوي على 6-8% بروتين منها انزيمات مثل انزيم الانفرتيز يوجد في جدار الخلية، ودهن 8.5-13.5% وكايتين وتختلف نسبته حسب جنس الخميرة، ولا يوجد الكايتين في خميرة Schizosaccharomyces spp.

في حين خميرة الخبز تحتوي على 1-2% كايتين والأجناس الخيطية تحتوي على نسبة أكثر من ذلك وكميات قليلة من الكلوكوز أمين (وهو أحد مكونات جدار خلية الأعفان).

3) الغشاء السايتوبلازمي/ وهو حاجز منفذ انتقائي يتكون من طبقتين كثيفتين من الدهن والبروتين مع الحامض النووي DNA وهو عبارة عن تركيب دهني بروتيني lipoprotein حيث أن الطبقة الداخلية تتكون من الدهن والخارجية من البروتين.

4) المحتويات البروتوبلازمية/ السايتوبلازم ويحتوي على الرايبوسومات وهي مركز تصنيع البروتينات

5) النواة/ وتسيطر على عمليات الايض والتكاثر في الخلية.

6) المايتوكوندريا/ بيوت الطاقة بالنسبة للخلية لأنها تحتوي على الأنزيمات التنفسية.

7) الفجوات/ تستخدم لخزن المواد الغذائية ومواد اخرى.

8) محتويات متنوعة/ مثل الڤوليوتين والصبغات مثل صبغة الكاروتين ذات العلاقة بفيتامين A.

تكاثر الخمائر

الخمائر الحقيقية التابعة لعائلة Saccharomycetaceae تتكاثر جنسياً بتكوين السبورات الجنسية وخضرياً (لا جنسياً) بالتبرعم أو الانشطار.

1- التبرعم Budding

طريقة تكاثر لا جنسي أكثر شيوعاً، وتتم عملية التبرعم بإرسال انبوب من فجوة النواة في الخلية الام باتجاه نقطة قريبة من فجوة البرعم ويتكون نتوء صغير على السطح الخارجي للخلية ثم يمر الانبوب من خلال جدار الخلية الى هذا النتوء الذي يكبر ويمتلئ بالمادة النووية والسايتوبلازمية من الخلية الام وعندما يكبر البرعم ويصبح تقريباً بحجم الخلية الام يعاد ترتيب الجهاز النووي في كلتا الخليتين، وتنفصل الخلية الام عن الخلية الجديدة ويتكون برعم جديد. ولا يتكون جدار عرضي بين الخلية الام والخلية الجديدة في حالة التبرعم الحقيقي ولكن يتكون هذا الجدار في بعض الحالات التي تبدأ فيها عملية التكاثر بالتبرعم وتنتهي بالانشطار. خلال فترة حياة خلية الخميرة الكاملة نجد انها قد تنتج في المتوسط 24 جيلاً من الخلايا الجديدة بواسطة عملية التبرعم ويكون تعاقب تكون البراعم دائماً في أماكن مختلفة من سطح الخلية.

2- تكوين السبورات Sporulation

جميع الخمائر الحقيقية تنتج السبورات الكيسية وهي عملية تكاثر جنسية لذلك تصنف الخمائر الحقيقية ضمن الفطريات الكيسية، وتنتج بعض الأجناس التابعة للعائلة Saccharomycetaceae السبورات الكيسية بسهولة مهما كانت الظروف البيئية.

يحتوي الكيس على 1-4 سبورات أو 8 أو أكثر وتتكون السبورات نتيجة لانقسامات متكررة للنواة وكل نواة تتكون نتيجة لهذه الانقسامات تحاط بالمادة السايتوبلازمية ثم بجدار الخلية.

3- الانشطار Fission

طريقة الانشطار الثنائي هي احد طرق التكاثر الخضرية أو اللاجنسية وتشابه تلك التي تحدث في البكتريا، حيث تنتفخ أو تستطيل خلية الخميرة وتنقسم النواة وتتكون خليتين جديدتين كما في حالة الخمائر التابعة لجنس Schizosaccharomyces

4- التبرعم والانشطار المشترك Combined budding and fission

عبارة عن طريقة وسطية بين الانشطار والتبرعم، وفي هذه الطريقة تتكون البراعم في نهايات الخلايا ويتكون جدار عرضي بين الخلية الام والخلية الجديدة، تحدث هذه الطريقة في الخمائر التابعة لجنس Saccharomyces، أما الخمائر الناقصة (الكاذبة) لا تتكاثر جنسياً (ولا تكون سبورات) كما في عائلة Cryptococcaceae وتتكاثر هذه الخمائر بالتبرعم وفي بعض السلالات بواسطة الارثروسبور.

<u>فسلجة الخمائر</u>

تمثيل السكريات (مثل الكلوكوز) قد يتم بطريقة لا هوائية (التخمر) او بطريقة هوائية (التنفس) والشائع هو التخمر (التخمر الكحولي)

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ C_2H_5OH + 2\ CO_2$$

عند الأكسدة الكاملة للكلوكوز يتكون CO_2 و H_2O، في حين الاكسدة الكاملة يرافقها تكوين الاحماض وبعض المنتجات الوسطية واحد طرق الأكسدة التي تسلكها الخميرة هو دورة TCA

(دورة كربس Krebs cycle). للخمائر قابلية تحمل تراكيز عالية من السكر والملح وتتحمل مدى حراري واسع (0-47) مْ والحرارة المثالية للنمو (20-30) مْ ، والخمائر المرضية تنمو بصورة جيدة على حرارة (30-37) مْ .

تتحمل مدى واسع من الـ pH يتراوح من (2-8) وحسب نوع الخميرة وتفضل الـ pH الحامضي 3.5-3.8 . توفر كميات كبيرة من الاوكسجين يشجع نمو الخمائر.

من الاوساط المستخدمة في تنمية الخمائر هي Malt Extract Agar

Potato Dextrose Agar

الخمائر المرضية

بعضها يسبب أمراض للنبات (كالفواكه والخضر) مثل خميرة Nematospora coryli ، الخمائر يعيش عدد منها مع الحيوانات ذات الدم الحار لا تسبب لها أمراض أو أمراض بسيطة لسيطرة بكتريا القناة الهضمية الطبيعية على نمو الخمائر، في حالة استخدام المضادات الحياتية بكثرة أو لفترة طويلة ستقضي على هذه البكتريا ويصبح المجال مفتوحاً للخمائر لأنها لا تتأثر بالمضادات الحياتية فتسبب الاصابة بالأمراض.

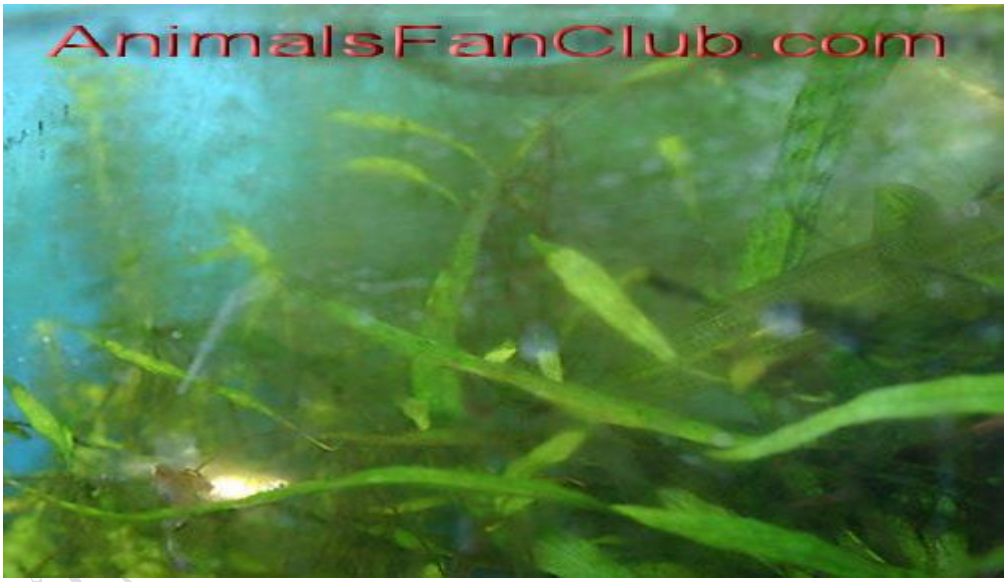
أمراض الخمائر أما أمراض جلدية أو أمراض للجهاز التنفسي والهضمي للإنسان فخميرة Candida albicans تصيب الجلد والأظافر والأغشية المخاطية والرئتين وشعيبات القصبة الهوائية. وعدد قليل يسبب امراض للنبات كالقطن والحمضيات ويسبب خسائر اقتصادية أو تبقع أوراق البقوليات.

المحاضرة الثامنة

الطحالب Algae

تشابه الطحالب (البكتريا والخمائر والأعفان) في كونها لا تحتوي على جذور او سيقان او اوراق حقيقية وتختلف عنها باحتوائها على الكلورفيل وتختلف الطحالب بالحجم وطريقة التكاثر وأماكن معيشتها وهي موجودة في كل مكان (اليابسة/المحيطات/البحيرات/الترب الرطبة والصخور وقلف الأشجار وفي النباتات والحيوانات/ الثلوج/ الينابيع الحارة).

تسبب مشاكل في مشاريع اسالة المياه لأنها تنتج طعماً ورائحة غير مرغوب فيها كما ان نموها بشكل كثيف في المياه الطبيعية يؤثر على استخدام هذه المياه لأغراض الاستحمام كما يسبب ذلك حجب وصول O_2 الى الماء ومنع عملية التركيب الضوئي من خلال حجب الضوء كما قد تسبب اختناق الأسماك والحيوانات المائية الاخرى. ومن جانب اخر انتشار الطحالب في المياه الطبيعية يزيد من تركيز O_2 من خلال عملية التركيب الضوئي التي تقوم بها والنمو الكثيف لبعض الطحالب يقلل من عسرة المياه وذلك بإزالة الأملاح عنها.



الصفات المورفولوجية للطحالب Morphology of Algae

تختلف بالحجم والشكل بعضها كروي، عصوي، حلزوني، أو على شكل هراوة أو على هيئة مستعمرات متعددة الخلايا أو مجموعة من الخيوط منفردة أو عناقيد أو على شكل انابيب وتشابه خلايا الطحالب خلايا النباتات والحيوانات وبعضها يشابه البكتريا من حيث الشكل والتجمعات.

في اغلب انواع الطحالب يكون جدار الخلية رقيقاً وصلباً وجدار خلية طحلب الدياتوم diatom يحتوي على السليكا مما يجعله سميكاً وقوياً جداً. أما جدار خلايا الطحالب الخضراء المزرقة فيحتوي على مادة ببتيدوكلايكان peptidoglycan وحامض ثنائي امينوبايميليك diaminopimelic كما في خلية البكتريا. والطحالب المتحركة مثل اليوغلينا تحتوي على

اغشية خلوية مرنة تسمى البيريبلاست periplasts، يحاط جدار عدد من الطحالب بمادة جيلاتينية مرنة وتسمى Outer matrix تفرز من خلال جدار الخلية وتشابه الكبسولات في البكتريا، وهذه الطبقة الخارجية Outer matrix غالباً ما تصبح ملونة وتكون على شكل طبقات عند تقدم الطحالب في العمر.

تحتوي الطحالب ما عدا الطحالب الخضراء المزرقة على نواة حقيقية واضحة وكذلك على محتويات بروتوبلازمية مختلفة مثل حبيبات النشا وقطرات زيتية وفجوات ويوجد الكلوروفيل والصبغات في أعضاء محاطة بأغلفة تسمى البلاستيدات ما عدا الطحالب الخضراء المزرقة حيث لا توجد الصبغات داخل البلاستيدات بل تكون منتشرة في البروتوبلاست.

تحتوي الطحالب المتحركة (السابحة) على اسواط (اعضاء للحركة) وقسم لايحتوي على ذلك وتنتقل بواسطة المد والجزر والأمواج والتيارات. وفي انواع اخرى تكون فقط السبورات الخضرية المستعملة في التكاثر متحركة. يوجد في الطحالب جسم صغير أحمر أو برتقالي يسمى البقعة العينية eye spot اذ يوجد غالباً قرب النهاية الأمامية للطحالب المتحركة.

هنالك تراكيب اخرى في انواع معينة من الطحالب مثل البروزات او النتوءات على سطحها الخارجي وسويقاتها جيلاتينية تثبت الطحالب نفسها على بعض الاشياء.

التكاثر Reproduction

يكون جنسياً أو لا جنسياً أو الاثنين معاً

1- التكاثر اللاجنسي

يشتمل على الطريقة الخضرية لانقسام الخلية والتي هي نفس طريقة تكاثر البكتريا حيث أن مستعمرة أو خيط طحلب جديد قد يتكون حتى من قطعة صغيرة مكسورة من طحلب قديم متعدد الخلايا، واغلب طرق التكاثر اللاجنسي تتضمن انتاج سبورات خضرية وحيدة الخلية تحتوي على الأسواط وتكون متحركة وخاصة في أنواع الطحالب المائية وتسمى هذه السبورات السابحة Zoospore والسبورات غير المتحركة تسمى aplanospores وإنها تتكون على الأغلب من الطحالب التي تعيش على اليابسة والخلايا التي تنتج هذه السبورات تسمى الحوافظ السبورية sporangia.

2- التكاثر الجنسي

جميع أشكاله موجودة في الطحالب وتتضمن اندماج (اقتران) الخلايا الجنسية التي تسمى امشاجاً لتكون اتحاداً تندمج فيه المادة الوراثية قبل أن يتكون الجيل الجديد. ان اتحاد الأمشاج يكون البويضة المخصبة (اللاقحة) فإذا كانت الأمشاج متشابهة فتسمى اتحاد امشاج متشابهة isogamous وعند اندماج امشاج مختلفة (ذكر وانثى) تسمى العملية اتحاد الأمشاج المختلفة heterogamous.

في الطحالب الراقية قد يكون هناك خلية ذكرية وأخرى انثوية على الرغم من تشابههما الظاهري فأنهما مختلفان جنسياً حيث ينتج احداهما الأمشاج الذكرية والأخرى الأمشاج الأنثوية ومثل هذه الطحالب تسمى ثنائية المسكن dioecious والطحالب التي تقوم بإنتاج النوعين من الأمشاج تسمى احادية المسكن monooecious.

عزل وتنمية الطحالب

وسط العزل الأساسي هو وسط بولد الأساسي Bold's basal medium ، يثبت الـ pH على 8 ودرجة حرارة الحاضنة على 22 ْم ومزودة بمصابيح فلورسنت لاعطاء 12 ساعة ضوء يعقبها 12 ساعة ظلام. ويمكن عزل الطحالب من المصادر الطبيعية باستخدام طريقة الأطباق أو التخطيط.

تصنيف الطحالب Classification of Algae

تصنف الطحالب على أساس الصبغات التي تحتويها ونوع الغذاء المخزون ونوع وترتيب الأسواط وتركيب جدار الخلية بالإضافة الى التراكيب الدقيقة للبلاستيدات الملونة وأقسامها هي:

1- Bacillariophyta 2- Charophyta 3- Chrysophyta 4- Chlorophyta

5- Cryptophyta 6- Dinophyta (Pyrrophyta) 7- Euglenophyta

8- Haptophyta 9- Phaeophyta 10- Preasinophyta 11- Rhodophyta

12- Xanthophyta

فضلاً عن الطحالب الخضراء المزرقة (Cyanophyta) والتي تصنف ضمن الكائنات البدائية النواة.

فكرة موجزة عن أهم أقسام الطحالب

1- الطحالب الخضراء Chlorophyta

تنمو في المياه العذبة والترب الرطبة والمياه المالحة والثلوج وقمم الجبال، قسم منها على هيئة خلايا منفردة وبعضها يكون على شكل خيوط طويلة من الخلايا المنفردة أو على شكل عناقيد كروية أو على شكل صفائح تشبه أوراق الخس مثالها Spirogyra و Chlamydomonas تحتوي على نوعين من الكلوروفيل أ و ب وتخزن المواد الغذائية على هيئة نشا.

2- الطحالب اليوغلينية Euglenophyta

طحالب احادية الخلية لها بعض الصفات النباتية (احتوائها على الكلوروفيل) وبعض الصفات الحيوانية، تتحرك بالماء بواسطة الأسواط وتقوم بعملية التركيب الضوئي ولها نقطة حساسة للضوء تمكنها من الحركة باتجاه الضوء أو بعيداً عنه. لا تحتوي على جدار خلوي واغلبها يعيش بالماء العذب والترب الرطبة مثالها طحلب اليوغلينا Euglena.

3- الطحالب الدياتومية Bacillariophyta

توجد في المياه العذبة والبحار واليابسة وتكون وحيدة الخلية وبعضها يكون مستعمرات وبعضها يكون خيوط مثل .Melosira spp وجميع انواعها يحتوي على كلوروفيل A و C والبيتا كاروتين والزانثوفيل ولأن الدايتوم صغيرة جداً ولها قوام يشبه بودرة التالك لذلك تستعمل في تلميع المعادن، اذ ان جدار خلية الدايتوم له قابلية حجز الدقائق الصغيرة من الشوائب الموجودة في السوائل لذا يمكن استخدامها كمرشحات وكذلك يمكن استخدامها كمادة عازلة لتحملها درجات الحرارة العالية.

4- Pyrrophyta

تأتي بعد الدايتوم من حيث الأهمية في تغذية الحيوانات البحرية وخاصة المحيطات مثالها طحلب Gonyaulax والذي يكون ما يشبه الأزهار الصغيرة جداً وتوجد بغزارة في المحيطات بحيث تلوث المياه وتسمى ايضاً بالأمواج الحمراء وهذا الجنس ينتج سموماً قاتله للأسماك والكائنات الحية الصغيرة والإنسان.

5- الطحالب البنية Phaeophyta (brown algae)

اغلبها يعيش في المياه المالحة، تتكون من عدة خلايا وتحتوي على صبغات بنية تعطيها اللون البني مثل عشب البحر Kelp وبعض أنواعه يستخدم كغذاء للإنسان والأسماك أو سماد أو مصدر لليود والأملاح المعدنية.

6- الطحالب الحمر Rhodophyta

تنمو في المياه المالحة وعلى الصخور وعلى امتداد سواحل البحار أغلبها يكون مغموراً بمياه البحر ويتراوح طول هذه الطحالب بين 3-4 أمتار وعدد من أنواعها ذو أهمية اقتصادية مثل طحلب Gelidium الذي يعد مصدراً لمادة الاكار.

7- الطحالب الخضراء المزرقة Cyanophyta (blue green algae)

تعد من ابسط الكائنات الحية وأقدمها. توجد في المياه العذبة ومياه البحار واليابسة، كائنات ذات نواة بدائية، المادة النووية DNA ليست محاطة بأغلفة نووية، لا تحتوي على البلاستيدات،

الصبغات منتشرة في السايتوبلازم، والناتج الرئيسي لعملية التركيب الضوئي في هذه الطحالب هو نشا سيانوفايكين Cyanophycean starch

الأهمية الاقتصادية للطحالب

1- خصوبة التربة – تثبت النتروجين الجوي أو حماية البكتريا المثبتة للنتروجين من الجفاف وتجهيزها بالكاربوهيدرات كمصدر للطاقة أو تستعمل كأسمدة.

2- تخليق الفيتامينات مثل A، D، B_1، C، K

3- الطحالب كمواد غذائية حيث يزرع اليابانيون طحلب Porphyra (من الطحالب الحمراء) كمحصولاً غذائياً أو استخدام طحلب الكلوريلا chlorella

4- استخلاص الأكار كمصلب للأوساط الغذائية

5- استخدام منتجات الطحالب الحمراء (الكاراجينان) كمادة مثبتة للحفاظ على المواد الصلبة معلقة في السوائل كما في حالة تعليق الكاكاو في الحليب لإنتاج الحليب المطعم بالكاكاو

6- استخدام الالجينات Alginate كمادة مثبتة في الصناعات الغذائية

7- استخدامات مختلفة كاستخدام الالجينات كمواد مثخنة او مانعة للصلابة في الادوية والعقاقير او استخدام الطحالب كغذاء للاحياء المائية او كمصدر غني بالعناصر المعدنية كاليود والبروم والبوتاسيوم.

المحاضرة التاسعة

الأبتدائيات (البروتوزوا) Protozoa

وهي مجموعة كائنات حية ذات نواة حقيقية تعود لمحللة البروتستا protista وتحتاج الى بيئة رطبة لمعيشتها، توجد في البحيرات والأنهار والمياه الراكدة والترب الطينية، توجد خلاياها كوحدات منفردة وبعضها يعيش في مستعمرات صغيرة مميزة ويكون بعضها ذو لون ابيض او اصفر او ذهبي ولكنها لا تحتوي على الكلوروفيل.

تتغذى البروتوزوا على المواد الحية وغير الحية الموجودة في بيئتها ويوجد في البروتوزوا تركيب مقاوم جدا هو الكيس Cyst وظيفته مشابه للسبور لكن لا يتكون بنفس الطريقة التي تتكون فيها السبورات في البكتريا واغلب انواع البروتوزوا يتحرك ذاتيا ويستخدم نوع الحركة اساسا في تصنيفها.

تصنيف البروتوزوا

1- صف اللحميات Sarcodina

مثل جنس Amoeba ومثالها Entamoeba histolytica الذي يسبب الزحار الاميبي للإنسان كما قد تسبب الوفاة عندما يكون ماء الشرب ملوثاً والظروف الصحية سيئة.

2- صف السوطيات Mastigophora

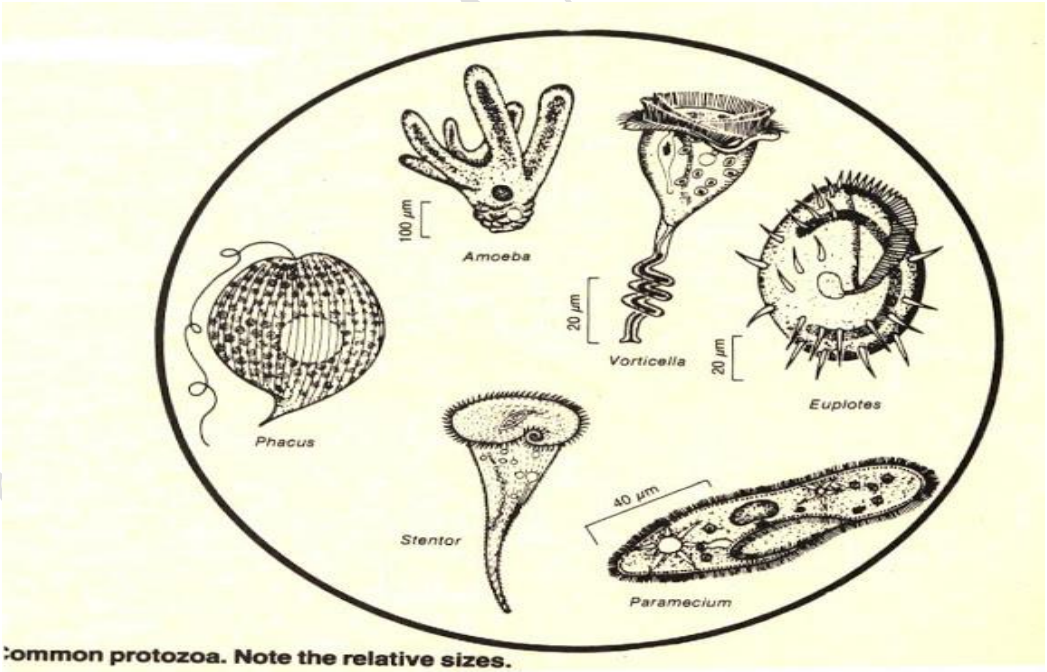
تتحرك بالأسواط ومثالها جنس Hexamita وكذلك مسبب مرض النوم الأفريقي African sleeping المسمى Trypanosoma gambiense

3- صف الهدبيات Ciliata

من اكبر الصفوف تتحرك بواسطة الأهداب Cilia ومثالها Paramecium و Balantidium والأخير مرضي اهمها Balantidium coli الذي يصيب القولون ويسبب الإسهال وأحيانا التقيؤ والغثيان.

4- صف البوغيات (السبوريات) Sporozoa

جميع افراد هذا الصف طفيلية ومثلها جنس Plasmodium مثل plasmodium malaria الذي يسبب مرض الملاريا للإنسان وتنتقل هذه الأنواع من شخص الى اخر عن طريق البعوض والبرغوث والقراد.



common protozoa. Note the relative sizes.

الركتسيا Rickettsia

الخواص العامة / كائنات مجهرية غير متحركة، G^- متطفلة اجبارا داخل خلايا المضيف، وقديما كان يعتقد بأنها فايروسات وبعد ذلك اخذت موضعا بين الفايروسات والبكتريا وبزيادة الدراسات عليها مؤخرا صنفت ضمن البكتريا لكونها تشترك مع البكتريا في جميع الصفات المميزة، اشكالها متعددة الطبقات، تحتوي على DNA و RNA وتنقسم بالأنشطار الثنائي البسيط وهذا ما يميزها عن الفايروسات ويربطها بالبكتريا.

سميت بذلك نسبة لمكتشفها هوارد ريكتس عام 1909 م

<u>اقسامها واهميتها:-</u>

تصنف الركتسيا الى 4 عوائل وتعد العائلة Rickettsiaceae اهمها وتضم ثلاث قبائل هي:-

1- القبيلة Rickettsieae وهي مرضية للأنسان

2- القبيلة EhrLichieae مرضية للفقريات ما عدا الإنسان

3- القبيلة Wolbachieae تصيب الحشرات وليست مرضية للفقريات

القبيلة Rickettsieae

وهذه اهم قبيلة وتضم ثلاث اجناس

1- الجنس <u>Rickettsia</u>/ ويتصف بانتقاله للإنسان من خلال الحشرات (القمل والقراد والبراغيث) ويتكاثر داخل السايتوبلازم وأحيانا داخل نواة خلية المضيف.

2- الجنس <u>Rochalimaea</u>/ يشبه جنس الريكتسيا باستثناء انه يمكن زراعته في المختبر على اكار الدم كما انه ينمو ويتكاثر على سطح خلايا المضيف وليس في السايتوبلازم او النواة.

3- الجنس <u>Coxiella</u> ويتصف هذا الجنس بما يلي:-

أ- ينمو داخل الفجوات الغشائية في خلية المضيف وليس في السايتوبلازم او النواة.

ب- له مقاومة عالية لدرجة الحرارة (يمكن ان يقاوم درجة 62مْ لمدة نصف ساعة)

ج- يمكن ان ينتقل للفقريات (الإنسان) باستنشاق الغبار او شرب الحليب غير المبستر فضلا عن عامل النقل بالحشرات. (حيث يسبب حمى Q نتيجة تناول الإنسان لمنتجات المواشي المصابة من خلال عضات القراد لها والمسبب هو <u>Coxiella burnetii</u>)

<u>اوساط التكاثر والتنمية:-</u>

تتكاثر اما في السايتوبلازم او في النواة وأحيانا على سطح خلية المضيف او في الفجوات الموجودة في الخلايا وتتطفل الركتسيا تطفل اولي على الحشرات والتطفل الثانوي على الإنسان

وبقية الثدييات وبذلك تكون الحشرات عامل ناقل للأمراض الريكتسية في الحيوان الى الإنسان او من حيوان الى اخر.

في المختبر يمكن تنمية الركتسيا على مزارع خلوية مشابهة لمزارع الفايروسات وخصوصا الأكياس المحبة للدجاج وينفرد النوع Rickettsia quintana بإمكان تنميته على مزارع اكار الدم.

من الأمراض التي تسببها الركتسيا للأنسان

1- حمى التايفوس المستوطنة والمسبب هو R. typhi

2- حمى الخندق والمسبب هو R. quintana

3- حمى كوينزلاند (حمى Q) والمسبب هو Coxiella burnetii

المحاضرة العاشرة

الفايروسات Viruses

هي دقائق جينية تحتوي على حامض نووي واحد أما RNA أو DNA وليس كليهما كما في البكتريا وهي طفيلية اجبارا في معيشتها، اكتشفها العالم الروسي ايفانوفسكي عام 1892 م والفايروسات بإمكانها المرور من خلال المرشحات التي تحجب اصغر انواع البكتريا وهي تصيب الحيوان والإنسان والنبات والبكتريا، وتسمى الفايروسات البكتيرية بالعاثيات او (البكتريوفاج Bacteriophages

خصائص الفايروسات/ يتراوح حجم الفايروس من (20 – 350) نانومتر ووجد ان جسيمة الفايروس تتناوب بين حالتين منفصلتين.

الحالة الأولى/ خارج الخلية وتكون جسيمة خاملة تسمى Virion (فريون) وتحتوي على حامض نووي RNA أو DNA وهذا الحامض محاط بغلاف بروتيني يسمى بالكابسد Capsid واحيانا في بعض انواع الفايروسات يغلف الكابسد بغلاف بروتيني دهني (Lipoprotein)، ولهذه الجسيمة الخاملة القدرة على احداث الإصابة وكذلك فأن وظيفتها هي نقل المادة الوراثية للفايروس الى خلايا العائل حيث تبدأ الحالة الثانية

الحالة الثانية/ داخل الخلية حيث يكون الفايروس على هيئة حمض نووي في حالة تضاعف، ويعد ذلك اشارة وراثية لتخليق البروتينات الفايروسية وإنضاجها من خلال تسخير امكانيات الخلية المضيفة.

يتكون الكابسد الفايروسي من وحدات فرعية (subunits) من البروتينات كل واحد منها يدعى كابسومير capsomere قد يصل عددها الى مئات الوحدات والأنواع البسيطة تحتوي على (60) جزيئة بروتينية متشابهة تترتب بخمس كابسوميرات متماثلة ومتناظرة.

بناء جسيمة الفايروس:-

وتتخذ اشكال مختلفة:-

1- متعدد السطوح مثل فايروسات الهيربز ومعظم الفايروسات الحيوانية

2- حلزونية الشكل مثل فايروس تبقع التبغ والأنفلونزا

3- معقد التشكيل مثل العاثيات (البكتريوفاج)

تصنيف الفايروسات

صنفت قديما الى :- أ- فايروسات حيوانية (تصيب الحيوان والإنسان)

ب- فايروسات نباتية (تصيب النباتات)

ج- فايروسات بكتيرية (تصيب البكتريا)

وهنالك خواص اخرى لتصنيف الفايروسات هي :-

1- الطبيعة الكيميائية للحامض النووي، قسم يحتوي على DNA وقسم يحتوي على RNA وكذلك فأن هذه الأحماض يمكن ان تكون احادية الشريط Single strand أو مزدوجة الشريط Double strand.

2- تركيب الفريون، شكل الفريون (جسيمة الفايروس) فقد يكون لولبيا او متعدد الأسطح او مغلفا او عاريا بالإضافة الى عدد الكابسوميرات.

3- مكان تضاعف الفايروس قد يتضاعف في النواة او في السايتوبلازم.

تضاعف الفايروس:-

يتضاعف الفايروس عندما يدخل داخل الخلية العائل المتخصص لها او يتضاعف بروتين الفايروس والحامض النووي الفايروسي والخطوات الرئيسية للتضاعف هي:-

1- الأدمصاص Adsorption:- ويتم بخطوتين

أ- الاتصال المبدئي بين جسيمة الفايروس وموقع الاتصال على الخلية المضيفة يرافقه تغير في الـ pH وتركيز الأملاح في منطقة الاتصال.

ب- تحكيم الاتصال بصورة اقوى من خلال التفاعل بين بروتين الكابسد للفريون وسطح الخلية المضيفة.

2- الأختراق Penetration:- ويختلف بأختلاف انواع الفايروسات

أ- الفايروسات البكتيرية- تفرز انزيم اللايسوزايم Lysozyme الذي يحلل جدار خلية المضيف في المكان الذي يقع عليه الفايروس.

ب- الفايروسات الحيوانية- ويحصل الأختراق بأحدى الطريقتين :-

1- دخول كامل جسيمة الفريون العارية بعملية تسمى الألتهام phagocytic وبعد دخول الفريون الى داخل الخلية المضيفة ينزع عنه الغلاف بفعل انزيمات محللة للبروتين.
2- وتحصل مع الفايروسات المغلفة فيذوب الغلاف الدهني البروتيني عند ملامسة سطح خلية المضيف، حيث تدخل جسيمة الفايروس المحتوي على الكابسد، يعقب ذلك نزع الكابسد داخل الخلية.

ج- الفايروسات النباتية- يحصل الاقتران من خلال ثقوب خاصة تسمى (ectodesmata) توجد على سطح الجدار الخلوي. وان وظيفة هذه الثقوب افراز المواد الشمعية واحيانا تستخدم لأخذ الماء والمغذيات وتدخل كل جسيمة الفايروس من هذه الثقوب.

كذلك يمكن ان تقوم الحشرات بإدخال الفايروسات الى داخل خلايا النبات المضيف اثناء تغذية هذه الحشرات.

3- تضاعف الحامض النووي Replication:-

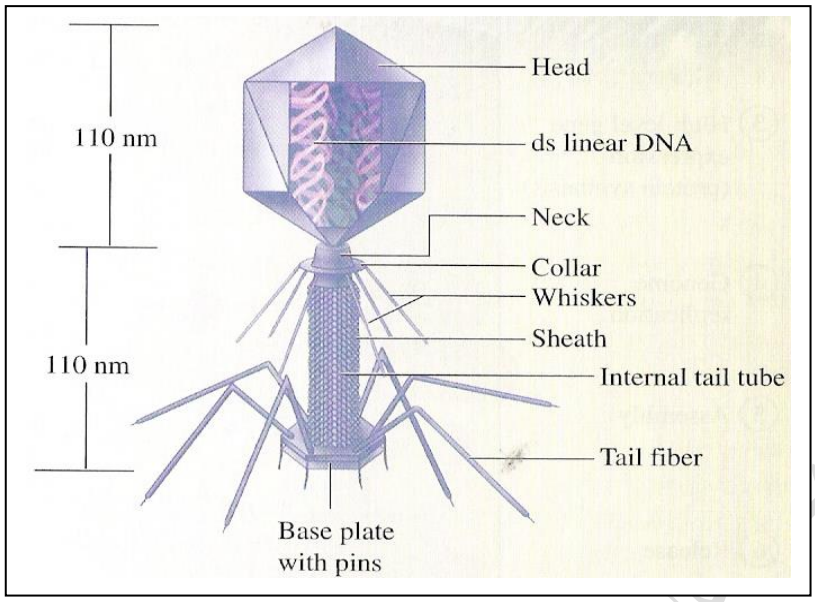
يتضاعف اما في النواة او السايتوبلازم تبعا لنوع الفايروس. وفي الخطوة الأولى للتضاعف يتحول RNA الى mRNA اذا يترجم بواسطة رايبوسومات الخلية المضيفة لاستنساخ الحامض النووي الفايروسي الجديد والخطوة الثانية تخليق بروتين الفايروس (الكابسد).

4- النضج Maturation:- تنضج فايروسات النوع RNA في السايتوبلازم اما فايروسات النوع DNA فتنضج في النواة.

ان ناتج عمليتي استنساخ الحامض النووي وتخليق البروتين هو تجميع للعديد من جزيئات الحامض النووي للفايروس وكثير من وحدات الكابسد الفرعية للفايروس وتنتج عملية البناء عند اتحاد هذه المجاميع بعضها مع بعض ذاتيا لتكوين جسيمة الفايروس الناضجة والناقلة للعدوى.

5- التحرر Release:- تتحرر الفايروسات البالغة بطرق مختلفة ففي الفايروسات البكتيرية والحيوانية العارية يفرز انزيم يحلل جدار الخلية المضيفة لتنتشر الفريونات بعكس عملية الالتهام اما الفايروسات الحيوانية المغلفة فإنها تتحرر عن طريق تكوين براعم في مناطق من

جدار خلية المضيف لتنفجر لاحقا وتحرر الفايروسات، وبعدئذ تتحرر هذه الفايروسات حيث يمكنها اصابة الخلايا الحساسة المجاورة لتعيد دورة حياتها.



رسم تخطيطي للفايروس

المحاضرة الحادية عشر عوائل البكتريا

أ- رتبة البكتريا الحقيقية Eubacterial

وتضم عدة عوائل

A- العوائل التي تضم البكتريا العصوية G^- غير المكونة للسبورات متحركة على وجه العموم وهي:-

1- عائلة Azotobacteriaceae مثل Azotobacter

2- عائلة Rhizobiaceae مثل Rhizobium

3- عائلة Enterobacteriaceae مثل Escherichia coli و Enterobacter

4- عائلة Achromobacteriaceae مثل Alcaligenes

5- عائلة Brucellaceae مثل Brucella

B- العوائل التي تضم البكتريا العصوية G^+ غير المكونة للسبورات وعموماً غير متحركة

1- عائلة Brevibacteriaceae مثل Brevibacterium

2- عائلة Lactobacillaceae مثل Lactobacillus

3- عائلة Propionibacteriaceae مثل Propionibacterium

4- عائلة Corynebacteriaceae مثل Corynebacterium

C- العوائل التي تضم البكتريا العصوية G^+ المكونة للسبورات ومتحركة عموماً

1- عائلة Bacillaceae مثل Bacillus و Clostridium

D- العوائل التي تضم البكتريا الكروية G^+ غير مكونة للسبورات وغير متحركة

1- عائلة Micrococcaceae مثل Micrococcus

2- عائلة Streptococaceae مثل Streptococcus

E- العوائل التي تضم البكتريا الكروية G^- غير المكونة للسبورات وغير متحركة

1- عائلة Neisseriaceae مثل Neisseria

ب- رتبة البكتريا الخيطية Actinomycetales

وتتميز باحتوائها على خيوط متفرعة لا تكون سبورات كالبكتريا الحقيقية ولكن قد تنتج سبورات مشابهه للسبورات التي تنتجها الأعفان وتسمى الكونيديا، هذا وان النمو الخيطي المتفرع (المايسليوم) والكونيديات (سبورات خاصة) جعل من هذه البكتريا ان تكون ذات علاقة بالأعفان لذلك تسمى بالبكتريا المشابهه للأعفان (البكتريا الخيطية) وهي تشابه البكتريا كونها G^+ ، غير مكونة للسبورات وأهم عوائلها هي:-

1- عائلة Mycobacteriaceae مثل Mycobacterium

2- عائلة Actinomycetaceae مثل Actinomyces

3- عائلة Streptomycetaceae مثل Streptomyces

4- عائلة Actinoplanaceae وتضم بكتريا خيطية مائية تختلف في طريقة تكوينها للسبورات فضلاً عن طبيعة السبور حيث تكون علبة السبورات (سبورانجيا Sporangia) وتحرر سبورات (سبورانجيا سبور Sporangiospores)

ج- رتبة Pseudomonadales

شكلها قد يكون عصوي أو حلزوني أو ضمي أو بيضوي، أغلبها G^+، متحركة، اسواطها قطبية، غير منتجة للسبورات، بعضها طفيلي وبعضها مرضي وأهم عوائلها هي:-

1- عائلة Nitrobacteriaceae مثل Nitrobacter

2- عائلة Thiobacteriaceae مثل Thiobacillus

3- عائلة Pseudomonadaceae مثل Pseudomonas

البكتريا البدائية Archaeobacteria

وتعد هذه المجموعة مهمة من ناحية التطور والنشوء وتختلف من البكتريا الحقيقية في عدد من الصفات مثل البنية الوراثية وتركيب جدار الخلية وأهم عوائلها هي:-

1- عائلة Methanobacteriaceae مثل Methanobacterium

2- عائلة Halobacteriaceae مثل Halococcus

المحاضرة الثانية عشر

علاقة الأحياء المجهرية بالأمراض

لحدوث الإصابة بالأمراض عن طريق الأحياء المجهرية يجب أن يتحقق الاتي:

1- ان يدخل جسم المضيف 2- ان يتكاثر وينمو داخل نسيج المضيف 2- أن يقاوم الجهاز الدفاعي للمضيف.

العوامل المؤثرة في شدة الإصابة (الضراوة)

1- قابلية الكائن على الاستيطان في انسجة المضيف والتكاثر فيه

2- قابلية الكائن المجهري على افراز السموم

السموم Toxins

هي مواد ذات اوزان جزيئية عالية تعرقل عمل الخلايا الطبيعي وعموما تحطم خلايا المضيف وأنسجته وقوة هذه السموم تحدد شدة الإصابة بالمرض وتقسم السموم البكتيرية الى مجموعتين رئيسيتين هي:

أ- السموم الداخلية Endotoxins

وهي السموم التي تطرح من خلايا البكتريا الحية والميتة السالبة لصبغة كرام G^- بصورة اساسية نتيجة تحلل خلايا البكتريا بالأنزيمات او بعوامل فيزياوية وهذه السموم هي لبيدات سكرية موجودة في الغشاء الخارجي من الجدار الخلوي لها مقاومة عالية للحرارة ومن امثلة البكتريا المنتجة لها Salmonella و Brucella و Neisseria وهذه السموم تسبب حمى، إسهال، احتقان الأنسجة وانخفاض ضغط الدم.

ب- السموم الخارجية Exotoxins

سموم تفرز خارج الخلايا البكتيرية الحية وهي مواد بروتينية سامة تخلق في السايتوبلازم وتنتج اساساً من البكتريا الموجبة لصبغة كرام G^+ ويمكن الحصول عليها من تنمية البكتريا في وسط مناسب ثم فصل السم عن الخلايا بالترشيح او بالطرد المركزي.

مقاومة السموم الخارجية للحرارة يكون متغير حسب نوع السم فتتراوح حساسيتها من 65°C الى ما فوق الغليان ومثال عليها السم البوتيوليني botulism والكزاز Tetanus وسم الدفثريا والمكورات العنقودية

وتقسم السموم الخارجية الى ثلاثة اقسام هي:-

1- Neurotoxin

سموم تؤثر في عمل الجهاز العصبي مثل سموم Clostridium botulinum

2- Cytotoxin

سموم تؤثر في خلايا المضيف وتثبط تخليق البروتين من خلال تعطيل عمل الأنزيمات مثل سموم Corynebacterium diphtheria

3- Enterotoxin

السموم المعوية وفعلها يكون من خلال تحفيز خلايا القناة الهضمية بطريقة غير اعتيادية فبعضها يسبب اسهال كما في بكتريا Escherichia coli وبعضها يسبب ايقاف تخليق البروتين في الخلايا المبطنة للأمعاء الدقيقة كما في Shigella dysenteriae

بعض الأمراض الميكروبية التي تصيب الإنسان

- الأنفلونزا Influenza : المسبب هو فايروس Myxovirus influenza
- التهاب الرئة Pneumonia : المسبب هو Streptococcus pneumonia

- الخناق diphtheria : المسبب هو بكتريا Corynebacterium diphtheria
- السعال الديكي : المسبب هو Bordetella pertussis
- السل الرئوي Tuberculosis : المسبب هو Mycobacterium tuberculosis
- التسمم البوتيوليني Botulism : المسبب هو بكتريا Clostridium botulinum
- التسمم العنقودي : المسبب هو Staphylococcus aureus
- التسمم البرفرنجي : المسبب هو بكتريا Clostridium perfringens
- الكوليرا Cholera : المسبب هو بكتريا Vibrio cholera
- الأصابة بالجيارديا Giardiasis : الجيارديا هي نوع من الطفيليات (من صنف السوطيات) التي تصيب القناة الهضمية والمسبب هو Giardia lamblia
- الزحار الأميبي : المسبب هو Entamoeba histolytica
- السيلان : المسبب هو بكتريا Neisseria gonorrhoeae
- الزهري (السفلس) Syphilis : المسبب هو Treponema pallidum
- الأيدز AIDS : المسبب له هو فيروس (HIV) Human Immunodeficiency Virus

المحاضرة الثالثة عشر

الأحياء المجهرية التطبيقية

أحياء التربة المجهرية

ان وجود الأحياء المجهرية في التربة يعمل على تحلل الجزيئات والمركبات المعقدة ويجعلها جاهزة للاستعمال من قبل الكائنات الحية الأخرى وعن طريق تحلل المركبات او تحويرها تحرر الاحياء المجهرية عدداً من المركبات المفيدة الى التربة على هيئة اسمدة وكذلك تعمل الاحياء المجهرية على تحلل المركبات السامة التي تسبب في حالة تراكمها اذى للحيوانات والنباتات والإنسان.

مجاميع الاحياء المجهرية في التربة

فضلا عن الاحياء المجهرية تحتوي التربة على عدة انواع من الكائنات الحية التي تساهم جميعها في الحفاظ على خصوبة التربة، وان اكثر الاحياء المجهرية عدداً في التربة هي البكتريا وتليها البكتريا الخيطية ثم الفطريات والطحالب ثم الإبتدائيات.

وان اكثر انواع البكتريا الموجودة في التربة هي الأنواع التابعة لجنس Arthrobacter وتشكل 5- 35% من مجموع البكتريا والباقي هي انواع البكتريا التابعة لأجناس Pseudomonas ، Clostridium ، Bacillus ، Micrococcus ، Flavobacterium، Chromobacterium ، Mycobacterium ومعظم البكتريا الخيطية الموجودة في التربة

تعود لأجناس Streptomyces ، Nocardia وان رائحة التراب المميزة تعود لوجود بعض المركبات المتطايرة التي تنتجها احد انواع البكتريا الخيطية وهي Streptomyces griseus والمعروفة بإنتاجها للمضادات الحياتية.

واغلب الفطريات الموجودة في التربة تعود الى اجناس Aspergillus و Penicillium و Trichoderma و Mucor بالإضافة الى اجناس اخرى.

توجد الطحالب والابتدائيات ايضاً في التربة وخاصة الترب الرطبة بأعداد وأنواع مختلفة فمثلاً الطحالب الخضراء المزرقة تزداد اعدادها بصورة ملحوظة بعد فصل الربيع ذي الأمطار الغزيرة.

ان فعالية جميع الأحياء المجهرية تؤثر في خصوبة التربة بطرق مختلفة وهي:-

1- انتاج الدبال humus نتيجة لتحلل المواد الحيوانية والنباتية الميتة

2- تحرر العناصر الغذائية مثل Ca ، Mg ، Fe من المركبات العضوية لغرض اعادة تدوير العناصر.

3- تحليل المواد السامة الى مواد غير ضارة.

اعداد المايكروبات في التربة

15 مليون بكتريا / 700 الف Actinomycets (بكتريا خيطية) / 400 الف فطريات /

50 الف طحالب / 30 الف بروتوزوا.

الأحياء المجهرية للمياه ومياه الفضلات

بعد استعمال المياه للشرب والاستحمام والغسل او في بعض العمليات الكيميائية وفي التبريد والصناعة نجد انها تتلوث ثانية بالأحياء المجهرية المرضية او بالمواد الكيميائية الضارة. وفي حالة وصول مثل هذه الملوثات الى البيئة فأنها تسبب العديد من المشكلات لذلك فقد طورت العديد من الطرق لمعاملة مياه الفضلات بقصد التخلص من هذه المواد الضارة قبل طرح هذه المياه الى البيئة، لذا فان فرع الاحياء المجهرية للمياه ومياه الفضلات يعد من اكثر فروع علوم الحياة اهمية من الناحية التطبيقية.

النوعية القياسية للمياه

اعتمد المختصون في الاحياء المجهرية طريقة تشخيص الاحياء المجهرية الدالة وهي عادة توجد الى جانب الاحياء المجهرية المرضية في القناة الهضمية للإنسان.

ان وجود الاحياء المجهرية الدالة في المياه يعد مؤشراً على التلوث بالبراز مما يزيد من احتمال وجود مسببات الأمراض التي تنقل بواسطة المياه وتستعمل (Coliform bacteria) بكتريا القولون مثل E. coli عادة كدلالة على تلوث المياه بالبراز وذلك لعدة أسباب:-

1- ان هذه البكتريا هي من المجاميع المايكروبية الطبيعية للجهاز الهضمي في الإنسان ووجودها بكميات كبيرة في الماء يعني على الأكثر التلوث بمخلفات الإنسان.

2- تعد بكتريا القولون من البكتريا المقاومة للظروف وهي تستطيع العيش فترات طويلة خارج مضيفها، وهذا يسمح بعزلها وتشخيصها بعد فترة من تركها جسم المضيف.

3- سهولة زراعة هذه البكتريا مختبرياً حيث انها لا تحتاج الى مواد وخبرة كثيرة.

4- وجود هذه البكتريا بأعداد كبيرة وكافية في المياه الملوثة يساعد على اعطاء حسابات او تقديرات معنوية من الناحية الإحصائية.

ان المجموعة الاخرى من البكتريا الدالة التي تستعمل في تشخيص تلوث المياه هي بكتريا المسبحيات البرازية Fecal Streptococci وهذه البكتريا تكون موجودة عادة في الجهاز الهضمي للحيوانات ذوات الدم الحار ومن ضمنها الإنسان ووجودها في المياه دليل واضح على التلوث ببراز الإنسان وتختلف عن بكتريا القولون في كونها غير موجودة في الطبيعة، وعادة المياه التي تحتوي بصورة طبيعية على اعداد من بكتريا القولون اعلى من تلك التي تنص عليها المواصفات القياسية فإن عد بكتريا المسبحيات البرازية يعد الفحص الاكثر ملائمة لمثل هذه المياه.

معاملة مياه الفضلات العامة

تجرى معاملة لمياه الفضلات لغرض خفض (Biochemical Oxygen Demand (BOD (وهي كمية الاوكسجين اللازمة لأكسدة المواد القابلة للتحلل الحيوي) وعند طرح مياه الفضلات غير المعاملة وذات ال BOD العالي في مياه الانهار والبحيرات فإنها تقوم بأخذ كميات كبيرة من ال O_2 من مياه الانهار ومن بعد تصبح هذه المياه تحت الظروف اللاهوائية مما يؤدي الى اختناق الاسماك والكائنات المائية الاخرى التي تحتاج الى كميات كبيرة من الاوكسجين الذائب.

تتم معاملة مياه الفضلات بجمع هذه المياه من المناطق السكنية والصناعية بواسطة انابيب تذهب الى دورات التصفية، وتمر عملية معالجة مياه الفضلات بثلاث مراحل هي :-

1- المرحلة الاولية – ترسيب او غربلة للفضلات الصلبة

2- المرحلة الثانوية – تستعمل مرشحات الوشل لوحدها (أو مع خزانات التهوية) وان عملية الاكسدة الكيميائية والبيولوجية (بواسطة الاحياء المجهرية) التي تحدث خلال المعاملة الثانوية تزيل حوالي 90% من المواد العضوية العالقة من مياه الفضلات.

3- المعاملة الثالثة – والغاية منها ازالة او تحليل ما تبقى من المواد العضوية او غير العضوية في الماء ويستعمل لذلك عدة طرق طبيعية او اصطناعية منها البرك/الارض/الترسيب والتخثير/الإدمصاص/الديلزة/التنافذ الغشائي(Electrodialysis).

أحياء الاغذية والألبان المجهرية Food & Dairy microbiology

يفقد العالم حوالي ثلث موارده الغذائية نتيجة للفساد الذي تسببه الاحياء المجهرية وتأثير الحشرات وسوء التوزيع، وللمحافظة على المواد الغذائية فقد نشأ علم احياء الأغذية المجهرية للقيام بالوظائف التالية:-

1- منع فساد الأغذية وفقدها بسبب فعالية الاحياء المجهرية.

2- تطوير احسن الطرق لحفظ المواد الغذائية ضد الأحياء المجهرية.

3- استخدام الأحياء المجهرية المفيدة لتحسين القيمة الغذائية وطعم الأغذية وقوامها.

4- التقليل من الإصابة بالأحياء المجهرية والتسمم نتيجة لتناول الأغذية الملوثة.

ومن أهم الأحياء المجهرية:-

1- البكتريا

Pseudomonas	تسبب فساد اللحوم وتكوين مواد لزجة على سطح اللحوم
Staphylococcus	تسبب فساد وإنتاج سموم في الأغذية الكاربوهيدراتية
Alcaligenes	تسبب فساد منتجات الألبان
Clostridium	تسبب تسمم الأغذية المعلبة
Lactobacillus	تستعمل في صناعة الألبان

2- الأعفان

Aspergillus	بعض أنواعه تنتج السموم الفطرية
Penicillium	يستخدم في صناعة أنواع معينة من الأجبان
Rhizopus	يسبب تعفن الخبز

3- الخمائر

Saccharomyces	تستخدم في انتاج الخبز وتخمير عصائر الفواكه
Candida	بعض أنواعها مرضي وأنواع اخرى تسبب فساد الزبد
Torulopsis	تسبب فساد الحليب وعصير الفواكه

الأحياء المجهرية الصناعية Industrial Microbiology

ويعني استخدام الأحياء المجهرية في انتاج منتجات مختلفة مفيدة مثل خميرة الخبز، البروتين احادي الخلية، المضادات الحياتية، الإنزيمات، المشروبات الكحولية، الأحماض العضوية والفيتامينات.

1- **الانزيمات المايكروبية:-** مثل انتاج انزيمات البروتيز (المحللة للبروتين) من بكتريا Bacillus subtilis و Aspergillus oryzae.

2- **الأحماض الأمينية والفيتامينات:-** مثل انتاج حامض الكلوتاميك بواسطة بكتريا Corynebacterium glutamicum وإنتاج الفيتامينات النقية بتنمية انواع معينة من بكتريا Streptomyces و Bacillus و Propionibacterium.

3- **الأحماض العضوية:-** انتاج حامض الستريك من عفن Aspergillus niger

4- **المضادات الحياتية:-** انتاج البنسلين من عفن Penicillium chrysogenum

5- **خميرة الخبز:-** الانتاج التجاري لخميرة الخبز Sccharomyces cerevisiae

6- **بروتين احادي الخلية Single cell protein**

وهو عبارة عن انتاج خلايا انواع معينة من الأحياء المجهرية لاستعمالها في تغذية الإنسان والحيوان كمصدر للبروتين بصورة رئيسية فضلاً عن احتوائها على الفيتامينات والدهون والعناصر الغذائية الاخرى، ولسرعة نمو الأحياء المجهرية وقصر زمن اخلافها ومحتواها البروتيني العالي اضافة لقابليتها على استخدام مواد عضوية رخيصة لذلك يعتقد العلماء بأنها احد الحلول المطروحة لمواجهة ازمة الغذاء في العالم وخاصة النقص في مصادر البروتين.

أحياء الهواء المجهرية Air Microbiology

لا يعد الهواء وسطاً جيداً لنمو الأحياء المجهرية وإنما وسط حامل وناقل لكونه يحمل ذرات الغبار والقطرات التي قد تحتوي على احياء مجهرية، وبعض الأحياء المجهرية تنتقل الى الهواء بواسطة سعال وعطاس الإنسان او من التربة. والأحياء المجهرية في الهواء ممكن ان تنتقل لعدة أمتار أو كيلومترات وبعضها يموت في ثواني وبعضها الاخر يبقى حياً لعدة اسابيع او شهور.

ان بقاء الأحياء المجهرية حية في الهواء يتأثر بصورة رئيسية بالظروف الجوية مثل الرطوبة النسبية والشمس ودرجة الحرارة وحجم الدقائق أو الذرات التي تحمل الأحياء المجهرية وطبيعة الكائن المجهري من حيث مدى حساسية أو مقاومة نوع معين من الأحياء المجهرية للظروف الفيزيائية الجديدة، ويحتوي الهواء على أنواع عديدة من الأحياء المجهرية وبأعداد مختلفة، فبالنسبة للهواء الداخلي يعتمد مدى تلوث الهواء الداخلي على عدة عوامل مثل معدل التهوية والازدحام وطبيعة ودرجة فعالية الافراد الذين يشغلون مكاناً معيناً.

ان بقاء الأحياء المجهرية فترة طويلة حية في الغبار يشكل مصدر خطر وخاصة في المستشفيات فقد عزلت عصيات السل من الغبار الموجود في المصحات كما وجدت ايضاً بكتريا الخناق في غبار الارض القريب من المرضى أو الأشخاص الحاملين لهذه البكتريا، كذلك فإن جو مختبرات الأحياء المجهرية يكون مليئاً بالأحياء المجهرية التي تتعامل بها تلك المختبرات لذلك تؤخذ عدة احتياطات فيها، منها استخدام غرفة خاصة و لعمليات الزرع والعزل والفحص يدخل لها الهواء من خلال مرشحات ويعدم الهواء الخارج حرارياً وذلك للقضاء على الأحياء المجهرية التي تخرج من الغرفة. ويمكن التقليل من تلوث الهواء أو تعقيمه حسب الحاجة باستخدام الطرق الفيزيائية أو الكيميائية كاستخدام الأشعة فوق البنفسجية والمطهرات الكيميائية التي ترش في الهواء او استخدام المرشحات للسيطرة على احياء الهواء المجهرية ويتبع ذلك خصوصاً في المستشفيات ومختبرات الأحياء المجهرية وكذلك الصناعات القائمة على الأحياء المجهرية الصناعية.

د. سرمد غازي / قسم علوم الأغذية