تعريف علم الاحياء المجهرية

هو احد فروع علوم الحياة (Biology) يهتم بدراسة الكائنات الحية الدقيقة وتكون عادة أحادية الخلية او تحتاج في دراستها الى المجهر ويندرج ضمن هذا العنوان جميع الاحياء المجهرية المعروفة مثل البكتيريا Bacteria, الفطريات Fungi, الطفيليات والابتدائيات Protozoa والفيروسات (الرواشح) Viruses .

نظرية النشوء الذاتي Spontaneous generation

العلماء في القرنين السابع عشر والثامن عشر كانوا يعتقدون ان الكائنات الحية تتوالد ذاتيا من المواد غير الحية مثل الحيوانات الميتة او المرق المحضر من اللحوم .ويعتقد فريق اخر من العلماء في تلك الحقبة من الزمن بان الاحياء الراقية من نبات او حيوان لا تتوالد الا من بيوضها او من كائنات حية تشبه ابويها ,وفي عام 1765 ساهم العالم الإيطالي Lazzaro في دحض نظرية النشوء الذاتي ثم تبعه عالم الكيمياء الفرنسي Louis Pasteur 1861-1885 وله عدة إنجازات في هذا المجال ومنها:

1:- يعتبر مؤسس علم البكتيريا

2:-بدأ عمله على عمليات التخمر وساهم من خلال تجاربه في دحض نظرية النشوء الذاتي.

3:-عرف طريقة البسترة

4:-استنتج من خلال تجارب الغليان عند غليان المرق المغذي لمدة ساعة واحدة تكفي لقتل جميع الاحياء المجهرية (الخضريه)

5:- وصف بكتيريا المكورات العنقودية Staphyllococcus والبكتيريا المسبحية Streptococcus والبكتيريا المسببة للموات الغازي

6:-وضع مبدأ او تعريف الفوعة Virulence والاضعاف Attenuation حيث أوضح ان بإمكان المزرعة البكتيرية المضعفة ان تعمل كلقاح ,أي انها تمنح المناعة للإنسان ضد أي إصابة لاحقة بالسلالات السامة لنفس النوع البكتيري.

7:-طور علاج لطفل مصاب بفيروس داء الكلب

8:-سجل وجود احياء مجهرية لا هوائية

اما العالم البكتيريولوجي الألماني Robert Koch 1843-1910 كما يلي

1:-في عام 1876 اعطى معلومات واضحة حول مرض الجمرة الخبيثة Anthrax وشكلها وطبيعتها المرضية بطريقة الإصابة (المعزولة من الأغنام)

2:- شخص عصيات السل Mycobacterium tuberculosis .

3:-اول من صبغ المسحات البكتيرية

4:-1878 نشر مقالا حول طرق إصابة الحيوانات المختبرية.

5:- ١٨٨١ وصف تحضير المزارع البكتيريه على الأوساط الصلبة باستعمال مادة الgelatin

6:- ١٨٨٣ شخص ضمات الكوليرا

تجارب كوخ التقليدية هذه لخصت على شكل فرضية اطلق عليها فرضية كوخ Kouhs postulate والتي تعتبر لحد الان الأساس في تشخيص مسببات الأمراض وهي على النحو التالي:

1:- على الأحياء المجهرية أن تكون في جسم المريض.

2:- يتحتم عزل الأحياء المجهرية من الحيوان المريض وتنميتها في مرزعة نقية

3: -الأحياء المجهرية المأخوذة من هذه المزرعة النقية يجب أن تحدث نفس المرض عندما يلقح بها حيوان اخر غير مريض.

4:- يجب أن يحتوي الحيوان المختبري المصاب على الأحياء المجهرية قيد الدراسة

عالم الأحياء المجهرية

فيه خمس مجاميع أساسية : وهي الفايروسات ، البكتريا ، الابتدائيات ، الطحالب والفطريات.

الفيروسات هي المجموعة الوحيدة من الأحياء المجهرية غير الخلويه ، أما بقية الأحياء المجهرية الأخرى فتوجد على شكل احياء وحيدة الخلية او تتكون من مجموعة من الخلايا غير المتميزة فيما بينها) وتقسم الخلايا الى حقيقية النواة Eukaryotes والتي لا تحتوي على نواة و Prokaryotes اي المادة النووية غير محاطة بغشاء نووي.

نوع الخلايا	مجموعة الكائنات الحية	الخصائص المميزة
بدائية النواة Prokaryotes	البكتريا ، الطحالب الخضراء المزرقة	منطقة نووية ، كروموسوم واحد ، جدار خلوي معقد . سوط .الانقسام عن طريق الانشطار الثنائي ، التبرعم ، الرايبوسوم 70s.
حقيقة النواة Eukaryotes	الطحالب ، الابتدائيات الفطريات ، النباتات والحيوانات الراقية .	- تحاط النواة بغشاء يوجد اكثر من كروموسوم - البلاستيدات الخضر (توجد في بعض Prokaryotes. - المايتوكوندريا ، اسواط معقدة . الجدار بسيط التركيب ، الانقسام اختزالي. -جهاز كولجي ، تحتوي على *Lysosomes* . - الرايبوسوم 80 s في السايتوبلازم و 70 s في المايتوكندريا . - الشبكة الاندوبلازمية .

تصنيف الكائنات الدقيقة

تختلف أنظمة الحياة في خصائصها وميزاتها باختلاف الكائنات الحية. وقد درس علماء الحياة أوجه الاختلاف والتقارب في هذه الميزات والخصائص، وصنفوا الأحياء بموجبها الى مجاميع تشترك فيما بينها بصفات وخصائص معينة ومنذ القدم اعتمد تصنيف الأحياء الى مجموعتين رئيسية هما المملكة النباتية والمملكة الحيوانية واعتمادا على أساس وخصائص تشريحية ووظيفية متعددة (صنفت البكتريا في بداية الأمر تارة مع المملكة النباتية وأخرى مع المملكة الحيوانية).

وبعد نتائج الدراسات في القرنين الثامن عشر والتاسع عشر ذهب علماء الأحياء مذاهب متعددة في رص العدد الهائل من الكائنات الحية وحيدة الخلية ومتعددة الخلايا ضمن مجاميع تصنيفية جديدة وتغيرت مواقعها التصنيفية خلال السنوات المتعاقبة

تقسم الكائنات الحية الى اربعة عوالم تتضمن العوالم الثلاثة الأولى جميع الكائنات الحية ذات الخلايا حقيقية النواة وهي :

Kingdom plantae عالم النبات

kingdom Animalia عالم الحيوان

Kingdom Protista ويشمل جميع الكائنات المجهرية حقيقة النواة

Kingdom prokaryotes ويشمل الاحياء بدائية النواة وبصورة رئيسية البكتريا (الفايروسات وهي عوامل غير خلوية وتصنف لوحدها)

وفي عام 1969 H.R whittaker of cornell university وضع تصنيفا وكان مقبولا جدا وهو تقسيم الأحياء الى خمس ممالك, monera, Protista, fungi, plantae and animalia

وتم تعديل التصنيف من قبل whittaker and L.margnlis ١٩٧٨ باضافة المجموعتين الرئيسية , prokaryotes Eukaryotes

Superkingdom	**prokaryotes**
Kingdom	**Monera**
Superkingdom	**Eukaryotes**
Kingdom	**Protista**
Kingdom	**fungi**
Kingdom	**plantae**
Kingdom	**animalia**

تشمل البكتريا و cyanobacteria (او تسمى photosynthetic – blue green alge)
تشمل مجموعة من الطحالب و الابتدائيات protozoa وحقيقية النواة و أحادية الخلية ، وقليل منها متعدد الخلايا multicellular organismوتختلف أنواع التغذية فيها من ذاتية التغذية الى مختلفة التغذية.

تسمية الكائنات الحية

يرجع نظام التسمية الحالي للاحياء الى القرن الثامن عشر لعالم الثبات السويدي لينابوس (١٧٧٨ – ١٧٠٧) ولأول مرة باعطاء النبتت اسمين لاتينيين يمثل أولهما الجنس Genus وثانيهما النوع Species. ويشمل الجنس مجموعة من الأنواع المتقاربة في الصفات وان هذين الاسمين يشكلان التسمية الثنائية (Binomial system of nomenclature) والبكتريا شانها شان باقي الأحياء تخضع لذات نظام التسمية الثانية ومع وجود بعض الاختلافات البسيطة ضمن افراد التنوع البكتيري الواحد ولهذا يقسم النوع الى سلالات strains او ضروب varieties

Ex :

Kingdom	Prokaryotes
Divison	Gracilicutes
Class	Scotobacteriae
Family	Enterobacteriaceae
Genus	Escherichia
Species	Coli

Escherichia coli var.K12...

Streptococcus lactis var.maltigenes ذات رائحة مميزة

معرفة الكائنات الحية وتشخيصها:

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

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

تصنيف البكتريا

يقسم عالم الأحياء بدائية النواة Prokaryotes الى قسمين :

Division 1 : البكتريا الزرقاء cyanobacteria

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

Division 2: البكتيريا

يعتمد في تصنيف هذه الأحياء على :- الاشكال الظاهرة للخلايا ، فاعل صبغة كرام ، الايض المنتج للطاقة ، الحركة و تكوين بعض النواتج الأيضية ، تكوين السبورات ، والتطفل الإجباري.

الأسس المعتمدة في تصنيف البكتريا

1:- شكل الخلايا Morphology

ومن خلال الفحص المجهري يتم تشخيص ما يلي :

حجم الخلايا ، الشكل ، وجود السبورات ، تفاعل صبغة كرام ، الصيغة الحامضية ، وجود المحفظة ، الأسواط ومتابعةحركة البكتريا خلال الفحص المباشر

٢. الخصائص المزرعية

تنمو الاحياء المجهرية في مواد مختبريه تدعى الأوساط الزراعية Culture media وتحتوي هذه الأوساط على مغذيات مختلفة تفي بمتطلبات نمو الميكروب المعين ، كوجود املاح بسيطة او مغذيات طبيعية مضافة الى الوسط بالاضافة الى توفر عوامل بيئية مساعدة للنمو كتوفر الأوكسجين ، ثاني أوكسيد الكاربون ، الضوء ، حرارة مناسبة (منها ما ينمو في ٣٧ م ومنها من تحتاج حرارة اقل او اكثر من ذلك).

٣. الخصائص الأيضية :

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

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

٢- التمييز بين الأنواع التابعة لجنس ال clostridium بالاستعانة بنواتجها الأيضية التخمرية التي تشمل مواد Acetone , Butanol , Isopropanol , Acetic acid ,butyric acid.

٣- انتاج الانزيمات والسموم الخلوية هو الأخر مهم في تحديد الفروقات بين الأنواع او الاجناس كانتاج انزيم urease من قبل معظم أنواع الجنس

وافراز انزيم coagulase من قبل النوع Staphylococcus aureus لتميزه عن بقية أنواع نفس الجنس وافراز انزيم الB haemolysin اللبكتريا المسببة لالتهاب اللوزتين streptococcus pyogenes (تعمل على التحلل الكامل لكريات الدم الحمراء في الوسط اكار الدم Blood Agar).

4. الأسس التصنيفية الأخرى

أ. عملية تحديد النمط المصلي serotyping تعطينا صورة واضحة عن الفروقات بين التراكيب السطحية للعزلات البكتيرية وذلك عن طريق وجود او غياب المستضد النوعي specific antigen مثال : (في معرفة النمط المصلي serotypes للسالمونيلا حيث يبلغ عدد الأنماط الى اكثر من ٢٠٠٠ نمط مصلي).

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

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

5:– التصنيف العددي Numerical Taxonomy ويعرف أيضا بال Computer taxonomy :

يعتمد أساس هذا العمل على استعمال عدد كبير من العينات (المكررات) يصل الى ١٠٠ او اكثر وعدد كبير من الاختبارات مثلا استعمال ٩٠ اختبار او فحص (تشمل النشاطات الأيضية ..) فاذا ظهرت نتائج متطابقة في قسم من هذه الاختبارات أي تشابه ١٠٠% حينئذ يصنف هذا القسم في ركن تصنيفي واحد ولو تشابه قسم اخر من البكتريا في 54 فحص فقط أي آن مقدار التشابه ٩٠% يوضع هذا القسم في ركن تصنيفي اخر.

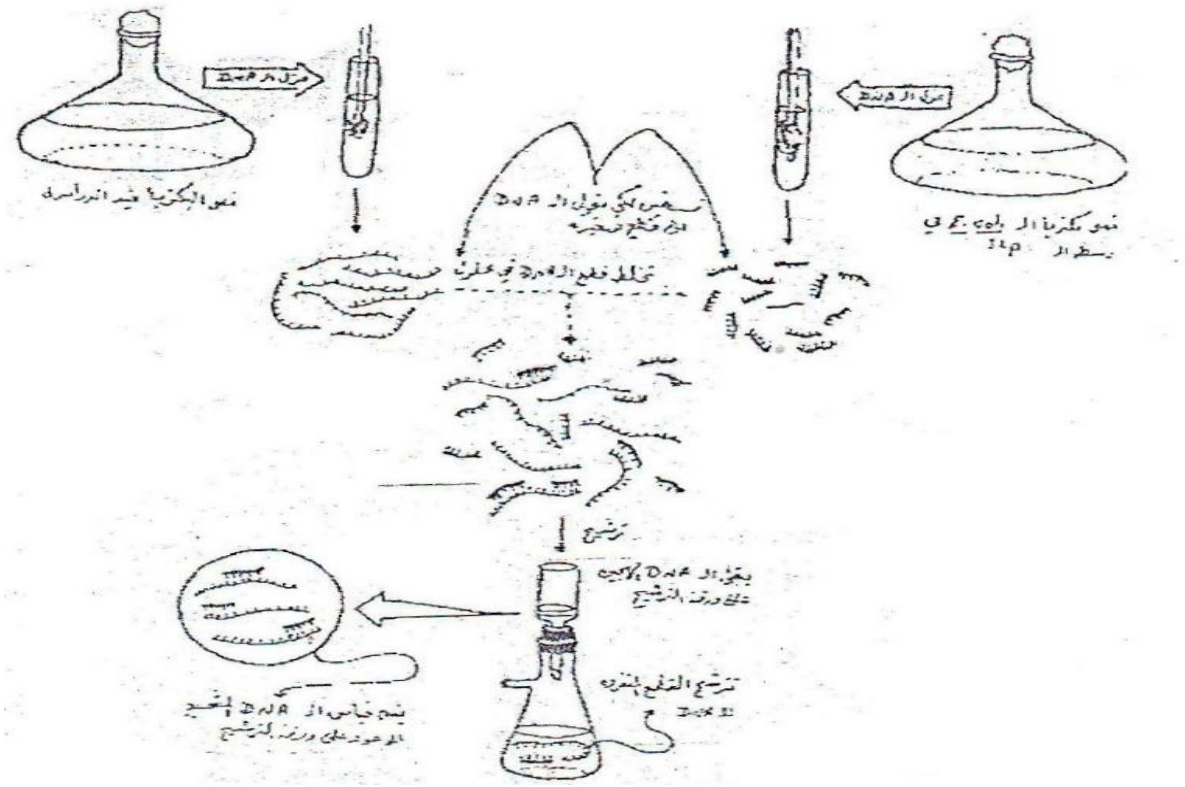
6. التقنية الجزيئية في التصنيف : أن الصفات والخصائص التي يحملها الكائن تحددها الجينات الخلوية وهذا يعني أن درجة التشابه في تسلسل او تعاقب القواعد النايتروجينية في الحوامض النووية الى DNA لخليتين بكتريتين تعد قياسا لعلاقتها التطورية . الأحياء المنحدرة من أصل واحد تتشابه في تسلسل قواعد ال DNA

أ. نسبة الجزيئات : يعتمد أساس هذه التقنية هو تحديد نسبة القاعدتين النايتروجينية Guanine الكوانين والسايتوسين cytosing الى بقية القواعد النتروجينية الأربعة ، وان النسبة المئوية لل C+G من البكتريا تتراوح ما بين الا ٢١ الى ٧٠ % (من الثابت في التحليل الكيميائي تبقى نسبة الكوانين الى السايتوسين دائما متساوية وأيضا لل الأدنين Adenine والثايمين Thymine).

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

وعندما تخلط الشرطة منفردة من ال DNA لكائنتين مختلفين وتترك هذه الأشرطة لتتعدل أو تترسخ فان مدى تكون ال DNA الثنائي الشريط يعتمد بدرجة كبيرة على درجة تشابه تسلسل او تعاقب القواعد النايتروجينية بين الحامضين النووين المختلفين .وان ال DNA الثنائي الشريط الحاوي على اشرطة مختلفة المصدر يدعى الهجين(Hybrid) وعملية تكوين الحامض النووي الهجين تدعي بعملية التهجين ال DNA((DNA Hybridization)

وتستخدم النظائر المشعة في هذه التقنية بغية تقصي عملية الترسيخ هذه ومن الممكن وصف درجة التشابه في تعاقب القواعد النيتروجينية على شكل نسبة مئوية) ١٠٠% ، ٩٠.(.... %



٧ .علم التصنيف الكيمياويchemotaxonomy

فبدلا من أن تحدد وجود آنزيم معين أو عدم وجوده أصبحت الدراسة تتجه نحو تخصيص هذا الانزيم بمواصفات كيمياوية وفيزيائية ومحتواة من الحوامض الأمينية وتسلسل هذه الحوامض فيه فقد نجد فعاليتين آنزيميتين متشابهتين في كاننين حيين الا ان هذين الانزيمين يختلفان تماما تركيبيا.

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

المصادر:-

كتاب علم الاحياء المجهرية البيطرية, الدكتور فاروق خالد حسن والدكتور خليفة احمد خليفة والدكتور حامد حسن طنطاوي والدكتور جاسم محمد العبد الله 1982 ,جامعة بغداد

كتاب مبادئ الاحياء المجهرية ,الدكتور غازي موسى الخطيب والدكتور وهاب امين حسن 1990 ,جامعة بغداد

كتاب علم الاحياء المجهرية البيطرية,الدكتور جاسب جاسم حداد 1991 ,جامعة الموصل