**المحاضرة الثانية**

**الاسس المعتمدة في التصنيف**

**١-شكل الخلايا Morphology**

**من خلال الفحص المجهري يتم تشخيص ما يلي :**

**حجم الخلايا ، والشكل ، ووجود السبورات ،تفاعل صبغة كرام ، الصبغة الحامضية ، وجود المحفظة ، الاسواط ، ومتابعة حركة البكتريا خلال الفحص المباشر**

**٢-الخصائص المزرعية**

**تنمو الاحياء المجهرية في مواد مختبرية او عليها تدعى الاوساط الغذائية Culture media . وتحتوي هذه الاوساط على مغذيات مختلفة تفي بمتطلبات نمو الميكروب المعين . كوجود املاح بسيطة او مغذيات مضافة في الوسط الزرعي لتلائم نموه بالاضافة الى توفر عوامل بيئية مساعدة للنمو كتوفر الاوكسجين وثاني اوكسيد الكاربون والضوء ودرجة حرارة مناسبة منها ما ينمو في درجة ٣٧م ومنها ما لا ينمو الا في درجات حرارية اقل او اكثر من ذلك**

**٣- الخصائص الايضية**

**تنتج الخلايا البكتيرية اثناء نموها مواد ايضية وتستعمل كوسيلة لتصنيف هذه الاحياء الى اجناس مختلفة او للتمييز بين انواع تابعة لنفس الجنس فمثلا .**

**١- يتميز جنس Propionibacterium بقابليته على انتاج حامض البروبيونيك propionic acid اثناء عملية التخمر.**

**٢- التميز بين الانواع التابعة لجنس Clostridium بالاستعانة بنواتجها الايضية التخمرية التي تشمل مواد مثل Acetone , Butanol , Isopropanol , Acetic acid ,butyric acid**

**٣- ان انتاج الانزيمات والسموم الخلوية هو الاخر مهم جدا في تحديد الفروقات بين الانواع او الاجناس .فانزيم Urease مثلا يوجد في معظم انواع *Proteus* ، في حين ان بقية الاجناس التابعة لعائلة المعوية Enterobacteriaceae لا تحتوي على هذا الانزيم .وهكذا نستطيع تمييز بكتريا *Staphylococcus aureus* عن بقية انواع البكتريا العنقودية من خلال افرازها لانزيم**

Coagulase . ومن الممكن تقصي السموم البكتيرية المحللة لكريات الدم الحمراء Hemolysins باستخدام اطباق اكار الدم Blood Agar . وتتخذ هذه السموم دليلا نميز من خلاله انواع البكتريا المسبحية *Streptococcus* ، حيث ان *Streptococcus pyogenes* تنتج B-haemolysin في حين ان *Streptococcus salivarius* لا تنتج ايا من هذه السموم .

الاسس التصنيفية الاخرى

- ان 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 فبعض انواع السالمونيلا *Salmonella* تستطيع ان تسبب مرض التايفوئيد وامراض اخرى للانسان. وقد استخدمت هذه التقنية لمعرفة الانماط المصلية للسالمونيلا وقد بلغت هذه الانماط اكثر من ١٥٠٠ نمط مصلي مكتشف لحد الان.

- ان تداخل العثيات Bacteriophages مع سطح الخلية البكتيرية يعتبرا نوعيا . ومن الممكن استخدام العثيات هذه في تحديد نوع البكتريا . ومن الممكن تحديد النمط الفايروسي Phage- typing عن طريق تسمية الفايروس النوع ي الذي يحلل البكتريا قيد الدراسة .

- ومن الممكن اتخاذ مقاومة البكتريا او حساسيتها للمضادات الميكروبية معيارا اخر للتمييز بين البكتريا. فصبغة البنفسج البلوري Crystal violet تؤثر في البكتريا الموجبة لصبغة كرام فقط دون البكتريا السالبة لهذه الصبغة . اما المضادات الحيوية فهي تؤثر بصورة نوعية في بعض المجاميع او الاجناس او حتى السلالات البكتيرية دون غيرها .

التصنيف العددي Numerical Taxonomy

وقد اتفق واضعوا التصنيف العددي ان ينحوا وزنا واحدا لكل صفة او خاصية تمتلكها البكتريا قيد الدراسة وقد وضعت خصائص كثيرة لهذا الغرض. فأما ان تمتلك البكتريا هذه الخاصية او تلك وتعطي درجة واحدة في هذه الحالة ، او لا تمتلكها فتعطي صفرا . وتحسب النتائج على اساس النسبة المئوية للخصائص المتشابهة .فمثلا اذا ما اجرينا ستين فحصا مختلفا على مجموعة من البكتريا وظهرت لدينا نتائج متطابقة في قسم من هذه البكتريا اي تشابه بمقدار ١٠٠% حينئذ يصنف هذا القسم في

ركن تصنيفي واحد ولو تشابه قسم اخر من البكتريا في ٥٤ فحصا فقط اي تشابه بمقدار ٩٠% لوضع هذا القسم في ركن تصنيفي اخر .

التقنية الجزيئية في التصنيف

ان الصفات والخصائص التي يحملها الكائن الحي تحددها الجينات الخلوية .وهذا يعني ان درجة التشابه في تسلسل او تعاقب القواعد النايتروجينية في الحوامض النووية ال DNA لخليتين بكتيريتين تعد قياسا لعلاقاتها التطورية .هذا ويجدر الاشارة هنا الى ان الاحياء المنحدرة من اصل واحد تتشابه في تسلسل قواعد ال DNA

١- نسبة الجزيئات

تعتمد على تحديد نسبة القاعدتين النايتروجينيتين الكوانين Guanine والسايتوسين Cytosine وينطبق هذا على الادنين Adenine والثايمين Thymine

ان النسبة المئوية G+ C في البكتريا تتذبذب ما بين ال ٢١ وال ٧٥ فاذا ما وجدنا هناك خليتين بكتيريتين لهما قيم مختلفة لنسبة G +C نستطيع ان نستنتج بان هاتين الخليتين لا تمتان بعضهما للاخرى بصلة .

٢- تهجين ال DNA (Hybridization of DNA )

اساس هذه الطريقة يعتمد على فك الحامض النووي DNA الثنائي الشريط، الى اشرطة منفردة عندما نسلط عليه حرارة مناسبة. وتحت ظروف معينة فان التبريد البطيء يعيد الاواصر الهيدروجينية الرابطة للشريطين المتتامين ، وبذلك يعاد تكوين DNA الثنائي الشريط من جديد . وتدعى هذه العملية تعديل او ترسيخ DNA(( Annealing of DNA )) .وعندما تخلط اشرطة منفردة من ال DNA لكائنين حيين مختلفين وتترك هذه الاشرطة لتتعدل أو تترسخ ، فان مدى تكون DNA الثنائي الشريط يعتمد الى درجة كبيرة على درجة تشابه تسلسل او تعاقب القواعد النايتروجينية بين الحامضين النووين المختلفين وان DNA الثنائي الشريط الحاوي على اشرطة مختلفة المصدر يدعى الهجين (Hybrid ) وعملية تكوين الحامض النووي الهجين يدعى بعملية تهجين ال DNA DNA ) Hybridization)

وتستخدم النظائر المشعة في هذه التقنية بغية تقصي عملية الترسيخ هذه ومن الممكن وصف درجة التشابه في تعاقب القواعد النايتروجينية على شكل نسبة مئوية فالتشابه اما ان يكون ١٠٠% حيث يكون التسلسل واحد كما هو الحال في

ترسيخ الحامض النووي لكائن حي واحد او صفر بالمئة عندما لا يكون هناك اي تشابه او ما بين هذين الرقمين حيث كلما ازداد التشابه ، ازدادت النسبة المئوية وبهذا يمكننا الحصول على القياس الكمي لمجموع العلاقات الوراثية باستخدم هذه الطريقة .

المعلومات الحديثة الاخرى في خدمة التصنيف :

لقد تطور العلم والتقنية في السنين القلائل الماضية تطور سريعا ومذهلا .وهناك العديد من المعلومات ذات قيمة تصنيفية اصبحت في متناول ايدي علماء التصنيف .

- باستخدام تقنية المجهر الاليكتروني حيث شملت المعلومات النواحي المورفولوجية وتفصيلاتها الدقيقة ونخص بالذكر منها الدراسات التي جرت على الجدار والسطح الخلوي حيث شملت التركيب الكيمياوي وهيكل الجدار الخلوي والدهونات البكتيرية وانماط الهجرة الكهربائية للبروتينات الخلوية او الانزيمات .

- ان التطور العلمي الذي طرأ على العلوم ادى الى نشوء علم التصنيف الكيمياوي Chemotaxonomy حيث يعتمد التصنيف هنا على المعلومات الكيمياوية المستقاة من الاحياء فبدلا من ان نحدد وجود انزيم معين او عدمه اصبحت الدراسة تتجه نحو تخصيص هذا الانزيم بمواصفات كيمياوية فيزياوية ومحتواه من الحوامض الامينية وتسلسل هذه الحوامض فيه . فقد نجد فعاليتين انزيميتين متشابهتين في كائينين حيين ، الا ان هذين الانزيمين يختلفان تماما اذا ما اخذنا بنظر الاعتبار اطار هذه المعلومات .