



جامعة الفيوم
كلية الزراعة
قسم الميكروبيولوجيا الزراعية

زمن الامتحان: ساعتان
الوقت المخصص (من ص ١٠ إلى ١٢ ظ)
تاريخ الامتحان: ٢٠١٥/١/٤

امتحان نظري مقرر " ميكروبيولوجيا عامة – لطلاب الفرقة الثانية (عام)
الفصل الدراسي الأول – العام الجامعي ٢٠١٥/٢٠١٦

أجب على جميع الأسئلة – مع الرسم كلما أمكن ذلك
السؤال الأول: (٢٠ درجة)

أ- أذكر مع شرح مبسط أهم الفروق بين الاصطلاحات الآتية:

- a- Autotrophic & Heterotrophic bacteria (٤ درجات)
b- Aerobic & Anaerobic Respiration (٤ درجات)
c- Thermal death points & Thermal death time (٤ درجات)
d- Pasteurization & Lyophilization (٤ درجات)
e- Constitutive & Adaptive enzymes (٤ درجات)

السؤال الثاني: (٢٠ درجة)

أ- اذكر الأشكال المورفولوجية المختلفة للبكتيريا، ثم أشرح نظام التجمع والتكاثر في البكتيريا الكروية.
أذكر مثال كلما أمكن. (١٠ درجات)

ب- ارسم المنحنى الطبيعي للنمو في البكتيريا (Growth curve) بمراحلها المختلفة ثم أشرح فقط طور الثبات و الهبوط (Stationary & Decline phase). (١٠ درجات)

السؤال الثالث: (٢٠ درجة)

أ- أذكر طرق الكشف عن بكتيريا القولون في عينة مياة للشرب ثم اشرح احداها بالتفصيل. و عرف مجموعة القولون. (٥ درجات)

ب- أشرح تأثير العوامل الآتية على نمو البكتيريا: (٥ درجات)

الضوء – الضغط الاسموزي – الفورمالدهيد (أشرح **عاملين فقط** من الثلاثة)

أ- أذكر أنواع الحركة في البكتيريا – ثم أشرح أحداها بالتفصيل. (٥ درجات)

د- أذكر أنواع الأنزيمات البكتيرية ثم أشرح التطبيقات العملية لأستخدامها في الاغراض المختلفة. (٥ درجات)

انتهت الأسئلة مع تمنياتنا بالتوفيق

السؤال الأول: (٢٠ درجة)

أ- أذكر مع شرح مبسط أهم الفروق بين الاصطلاحات الآتية:

f- Autotrophic & Heterotrophic bacteria (٤ درجات)

١- Autotrophic:

تستخدم CO_2 أو أملاح الكربونات كمصدر للكربون لبناء أجسامها

٢- Heterotrophic:

تستخدم الكربون العضوي المرتبط لبناء أجسامها.

g- Aerobic & Anaerobic Respiration (٤ درجات)

Strict aerobes

- بكتيريا هوائية إجباراً :

ويلزم لنموها وتكاثرها توفر الأكسجين الجوي في الوسط الذي تنمو فيه وألا توقفت عن النمو وهي تستخدم الأكسجين لأكسدة المادة العضوية والغير العضوية للحصول على الطاقة ومن أمثلتها بعض الأنواع لأجناس *Bacillus* , *Pseudomonas* , *Mycobacterium* وكذلك بكتيريا التآزت والازوتوبياكتر وقد يرجع احتياج ميكروبات هذا القسم إلى الأكسجين إلى أنها لا تحتوي على أنزيمات التنفس اللاهوائي أو إن نواتج التنفس اللاهوائي تعتبر سامة لها.

Strict anaerobes

- بكتيريا لا هوائية إجباراً :

وهذه تنمو في غياب الأكسجين الجوي حيث أن وجوده يميئها أو يوقف نموها وهذه المجموعة تحصل على الطاقة بتحويل المواد ذات الطاقة العالية إلى مواد ذات طاقة أقل أو باستخدام مواد مؤكسدة (مستقبلة للاكترونات) لأكسدة المواد العضوية.

ومن أمثلتها بعض الأنواع التابعة لأجناس *Clostridium* , *Bacteriodes* ولقد فسر الأثر الضار للأكسوجين على

الميكروبات التابعة لهذا القسم كالآتي :-

أ- أن الأكسجين سام لها.

ب- أن أنزيماتها تكون نشطة وهي في الحالة المختزلة.

ج- عدم احتوائها على أنزيم الكاتاليز (Catalase) مما يؤدي إلى تراكم فوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 في الوسط إذا نمت في وجود الأكسجين مما يؤدي إلى الأضرار بها.

h- Thermal death points & Thermal death time (٤ درجات)

i- Pasteurization & Lyphlization (٤ درجات)

البسترة وهي عملية التسخين إلى ٨٥ درجة مئوية لمدة ٢-٣ ق وهو ما يسمى بالتعقيم التجارى
التجفيف وهي طريقة من طرق حفظ العزلات الميكروبية وفيها يتم التجفيد ثم التجفيف تحت تفرغ

أذكر الأشكال المورفولوجية المختلفة للبكتيريا، ثم أشرح نظام التجمع والتكاثر في البكتريا الكروية. أذكر مثال كلما أمكن. (١٠ درجات)

الشكل العصوي – الشكل الكروي- الشكل الحلزوني- الشكل الخيطي

الشكل الكروي Spherical:

واسمه العلمي Cocci (ومفردها coccus) والبكتيريا الكروية قد تكون مستديرة تماما كما في جنس *Micrococcus Desulfococcus*، أو ليست مستديرة تماما فتأخذ الشكل البيضي Oval كما في جنس *Rhodomicrobium* أو كروية عصوية Coccobacilli كما في جنس *Acinetobacter, Moraxella* أو الشكل الكلوي Kidney shape كما في جنس *Neisseria* أو اهليجي الشكل Ellipsoidal كما في أجناس *Desulfobacter Desulfobulbus* عادة ما يكون طول الخلية الكروية مساو لعرضها.

وتتميز البكتيريا الكروية عن بعضها حسب قاليتهما للصبغ بطريقة جرام فمنها الموجب لجرام والسالب لجرام ، وتبعا لحركتها فمنها المتحرك والغير متحرك وبعضها ينمو تحت ظروف هوائية أو اختياريّة والبعض تحت ظروف لا هوائية ، كما تتميز عن بعضها أيضا حسب نظام تجمعها نتيجة لطريقة انقسامها ويتضح ذلك من الأشكال المختلفة للتجمعات كما يلي:-

١- إذا انقسمت الخلية الكروية مكونة خليتين ملتصقتين ببعضهما يقال أنها خلايا زوجية Diplococcus , Pairs وتكون الخلايا مفلطحة عند أماكن الاتصال Flattened أو منحنية فتظهر الخلايا بشكل الكلية Kidney ومن أمثلة الميكروبات الكروية التي تتواجد غالبا في أزواج:

أ- أزواج سالبة لجرام ممرضة للإنسان مثل *Neisseriameningitides* يسبب الالتهاب السحائي للمخ *N. gonorrhoeae* تسبب السيلان أما جنس *Azotobacter* يتميز خلاياها بأنها كروية أو بيضاوية في أزواج سالبة لجرام وتثبت أزوت الهواء الجوي تحت ظروف هوائية في حين يعتبر جنس *Veillonella* من الأزواج اللاهوائية السالبة لجرام وتسبب عدوى القناة الهضمية والتنفسية للإنسان.

ب- أزواج موجبة لجرام هوائية أو هوائية اختياريّة مثل *Leuconostoc* وهي تدخل في صناعة منتجات الألبان أما جنس *Ruminococcus* فيوجد في أزواج موجبة لجرام لا هوائية في كرش الحيوانات الميتة.

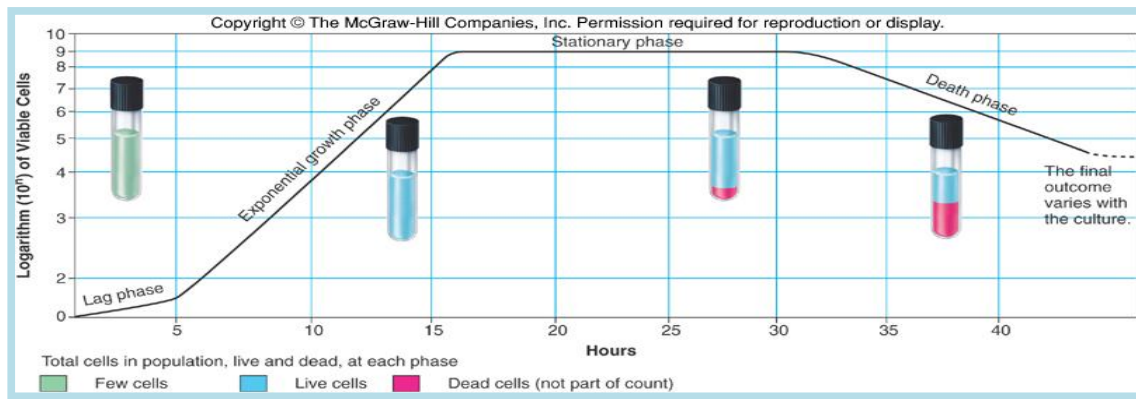
٢- إذا استمر الكائن البكتيري في الانقسام في نفس المستوى وكانت الحواجز العرضية المتكونة متوازية فإن التجمع الناتج يكون على هيئة سلسلة أو سبحة ويسمى *Streptococcus* وطول السلسلة المتكونة يعتبر من الصفات المميزة للأنواع المختلفة فقد يكون التجمع في سلاسل قصيرة مثل ميكروب *Streptococcus lactis* السبب لحموضة اللبن أما ميكروب *St. agalactiae* الممرضة فيكون سلاسل قصيرة ، وهي ميكروبات لا هوائية اختياريّة بينما يكون جنس *Peptostreptococcus* كرويات في سلاسل قصيرة أو طويلة تنمو تحت ظروف لاهوائية حتمية.

٣- وعندما تنقسم الخلية الكروية في مستوى واحد مكونة خليتين ينقسمان بدورهما في مستوى عمودي على الأول فإنه تتكون مجموعة من أربع خلايا ويسمى هذا التجمع Tetrads, Tetracoccus مثل جنس *Pediococcus* الذي يكون كبسولة تسبب للزوجة Ropy and Viscous في البيرة أما جنس *Peptococcus* فهو ممرض للإنسان حيث يصيب الأمعاء والجهاز التنفسي.

٤- إذا حدث الانقسام في ثلاثة اتجاهات متعامدة فإنه ينتج عن ذلك تجمع خلايا في شكل رزمة مكعبة Cubic Packets ويسمى هذا التجمع Octads, ومن أمثلتها أفراد جنس الـ *Sarcina* التي تنمو لا هوائية وتتواجد في التربة وهي ممرضة للإنسان حيث تصيب الأمعاء. أما ميكروب *Sporosarcina urea* من الكرويات المتوتمة ويحلل اليوريا ، كما يتميز ميكروب *Deinococcus radiodurans* بتكوين مستعمرات حمراء اللون وتم عزله من الأغذية المحفوظة الفاسدة خاصة المعاملة بالإشعاع ، أما جنس *Methanosarcina* فهو ينتج الميثان باختزال CO_2 .

٥- إذا حدث الانقسام في مستويات مختلفة فإنه يتكون مجموعة تشبه عنقود العنب وهذا التجمع يعرف باسم Clusters/Bunches ومن أمثلتها *Staphylococcus aureus* المسبب للدمامل والتسممات وهو من الميكروبات الموجبة لجرام ، أما جنس الـ *Methanococcus* فهو من الكرويات السالبة لجرام والتي تكون عناقيد غير منتظمة الشكل وتنتج الميثان تحت ظروف لا هوائية.

ارسم المنحنى الطبيعي للنمو في البكتريا (Growth curve) بمراعاة المختلفة ثم أشرح فقط طور الثبات و الهبوط (Stationary & Decline phase). (١٠ درجات)



Stationary Phase : - الطور الثابت :

عند نهاية الطور اللوغاريتمي يبطأ معدل التكاثر حتى يصبح عدد البكتيريا في المزرعة ثابت تقريباً وبذلك تكون الخلايا الجديدة مساوية لعدد الخلايا الميتة . أي أن الخلايا تستمر في نشاطها ولكن تكاثرها يكون بطيئاً .

وفي هذا الطور تظهر الخلايا متجانسة الحجم والشكل ، وتبدأ المواد المخزنة في الظهور بوضوح في الخلايا ، كما تظهر الجراثيم في الأنواع المتجرّمة ، وحدث هذا الطور وبالتالي عدم استمرار الطور اللوغاريتمي ينتج من نفاذ بعض المواد المغذية وتراكم نواتج التمثيل الغذائي بدرجة تضر بالميكروبات وزيادة أثر هذه العوامل الضارة يمكن أن ينتهي هذا الطور ويبدأ ما يسمى بطور الهبوط وبالتالي فإنه يمكن إطالة هذا الطور بإضافة مواد مغذية جديدة أو بمعادلة المواد التالفة أو جفاف المزرعة أو بالتخزين على درجة حرارة منخفضة لأن خفض درجة الحرارة يقلل سرعة التمثيل الغذائي ، وكلما زادت الخلايا وكلما كانت الظروف غير ملائمة كلما قصرت فترة الطور الثابت .

ويستغل من خاصية تخزين الميكروبات في الطور الثابت على درجة حرارة منخفضة عملياً لفائدة منتجي وموزعي مزارع البكتيريا العقدية . ومزارع البكتيريا المستعملة كبادئات في المنتجات اللبنية ، وفي الخميرة المضغوطة وغيرها . إذ يجب

الاحتفاظ بهذه الميكروبات في الطور الثابت لأطول مدة ممكنة لحين استعمالها . وفي بداية هذا الطور تجرى الاختبارات البكتريولوجية على الميكروب بالفحص الميكروسكوبي مثلاً .

٤- طور الهبوط Decline Phase

بعد الطور الثابت يزيد معدل موت الخلايا عن معدل تكاثرها ، فيحدث تناقص مستمر في عدد الخلايا ، ويزداد معدل التناقص تدريجياً ويصبح معدل الموت لوجاريمياً وهو عكس معدل النمو اللوجاريمى المميز للطور اللوجاريمى. وبعد طور الهبوط تموت كل الخلايا في فترة تتراوح من عدة أيام إلى عدة سنوات حسب نوع البكتيريا وبموت الخلايا فإنها تتحلل ذاتياً نتيجة لنشاط الإنزيمات الموجودة بها عقب موتها .

وفي هذا الطور تظهر الخلايا بأشكال غريبة ، غير منتظمة ، غير متجانسة في الحجم أو الشكل ويرى التحبب في البروتوبلازم واضحاً ، وتتفرد الجراثيم من الخلايا وتتحلل باقي الخلية البكتيرية (Free Spore) إذا ما لقت هذه البكتيريا في بيئة جديدة مناسبة فإنها تعيد دورة حياة الميكروب ثانية .

أذكر طرق الكشف عن بكتريا القولون فى عينة مياة للشرب ثم اشرح احداها بالتفصيل. و عرف مجموعة القولون. (٥ درجات)

اختبار صلاحية المياه للاستعمال الأدمى:

المياه النقية هى التى تتوفر فيها شروطا معينة مثل خلوها من المواد العالقة وقبولها من حيث الطعم والرائحة وخلوها من الكيماويات الضارة والميكروبات المرضية ولتقدير صلاحية المياه للإستخدام الأدمى يجرى عليها عديد من الاختبارات كالاتى:

أ-الإختبارات الكيماوية والطبيعية:

ومن هذه الإختبارات على سبيل المثال: pH, Chemical Oxygen Demand(COD), Biological Oxygen

Demand (BOD), Total Solid(T.S), nitrate, nitrite, chloride, CO_r, HCO_r, Calcium, Magnesium,

هذا بالإضافة الى الطعم واللون والرائحة وكذلك لتقدير خلو المياه من المعادن السامة ،عمومليس هناك مجال لدراسة هذه

الإختبارات

ب-الاختبارات البكتريولوجية:

لإجراء مثل هذه الاختبارات تؤخذ عينات ممثلة للمياه المراد فحصها تحت ظروف معزولة بكتريولوجيا كما يلى:

١-العدد الكلى للميكروبات:

يجب ألا تزيد أعداد الميكروبات الكلية عن ١٠٠ ميكروب / مليلتر / (سم^٣) وهذه الطريقة مبنية على أساس أن المياه الملوثة تحتوى على أعداد أكبر من الميكروبات عن المياه الصالحة للشرب نظرا لاحتوائها على نسبة من المواد العضوية والمعدنية الملائمة للميكروبات ولكن هذه الميكروبات غير مرضية وعلى العكس فقد تكون المياه محتوية على عدد أقل من

الميكروبات ولكن بعضها ميكروبات مرضية لذلك فإن قيمة مثل هذا الاختبار في الحكم على سلامة المياه للاستخدام الآدمي ضعيفة.

٢- الكشف عن الميكروبات المعوية باستخدام كاشفات التلوث (Bioindicators):

سبق أن أشرنا إلى أن المصدر الرئيسي للتلوث الميكروبي للمياه هو مصادر المجارى القريبة منها، مما يجعلها عرضة للتلوث بالميكروبات المرضية الموجودة في المجارى ولما كان الكشف عن الميكروبات المرضية في المياه صعب نظرا لقلّة عددها واحتياجها لظروف خاصة لتتميتها... فإنه يجرى الكشف عن تلوث المياه بمياه المجارى بفحصها بكتريولوجيا لوجود مجموعة القولون **Coliform group** وتعرف بكاشفات التلوث الحيوية **Bioindicators** وهذه المجموعة تتكون أساسا من ميكروب **Escherichia. coli** و **Enterobacter aerogenes** والسبب في اختيار هذه المجموعة في الكشف عن تلوث المياه أن ميكروب **E. Coli** موطنه الأصيلي الأمعاء الغليظة للإنسان والحيوان بينما ميكروب **Enterobacter aerogenes** وهو يتشابه في كثير من صفاته مع **E. coli** ولكن يوجد أساسا في التربة وفي الحبوب والنباتات، ولذلك فإن تواجد **E. coli** بالمياه يكون دليلا على تلوثه بمياه المجارى ويجب أن نلاحظ أن ميكروب **E. coli** ميكروب غير مرضى ولكن وجوده في المياه يستخدم فقط كدليل على تلوثها بمياه المجارى واحتمال احتوائها على ميكروبات مرضية وتتميز مجموعة القولون بأنها ميكروبات عصوية قصيرة سالبة لجرام غير متجربة تخمر سكر اللاكتوز مع إنتاج حامض وغاز وهي متحركة واختيارية للهواء.

خطوات الكشف عن مجموعة القولون في المياه كالاتى (الطريقة الأمريكية):

أ-الاختبار الاحتمالي: Presumptive test

ويجرى هذا الاختبار بتلقيح عينة الماء في بيئة بيون اللاكتوز والتحصين على درجة ٣٧مفإذا تكون حامض وغاز بعد ٢٤ ساعة اعتبرت العينة ملوثة أما إذا تكون حامض وغاز بعد ٤٨ ساعة اعتبرت العينة مشكوك فيها فإذا لم يتكون حامض وغاز بعد ٤٨ ساعة اعتبرت العينة غير ملوثة.

ب-الاختبار التحقيقي: Confirmatory test

ويجرى على العينات المشكوك فيها من الاختبار السابق ويجرى هذا الاختبار بالنخطيط على أطباق بيئة آجار Eosine methylene - blue وهذه البيئة عبارة عن بيئة آجار اللاكتوز تحتوى على مخلوط من صبغتي Eosin methylene - blue والأولى صبغة حامضية والثانية صبغة قاعدية وعند اختلاط الصبغتين مع بعضها تتكون صبغة مركبة لا تذوب إلا في الوسط الحامضى.

بعد تلقيح الأطباق بالنخطيط تحضن على درجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة فإذا كان الميكروب من مجموعة القولون فإنه يخمر سكر اللاكتوز الموجود في البيئة وينتج حامض مما يساعد على ذوبان الصبغة المركبة وبذلك تتلون المستعمرات النامية فإذا كانت الميكروبات الموجودة **E.coli** فإنها تعطى مستعمرات مستديرة مرتفعة على سطح البيئة لونها غامق وذات مركز أسود ولمعان معننى. أما إذا كانت الميكروبات الموجودة هي **Enterobacter aerogenes** فتظهر المجاميع ذات

مركز بنى ولونها محمر وليس لها لمعان معدني، أما إذا كانت الميكروبات الموجودة ليست من مجموعة القولون فإنها تظهر على الأطباق غير ملونة.

ج- الاختبار التكميلي : Completed test

وفيه تلقح أنابيب بيون لاكتوز من أطباق الاختبار السابق فإذا تكون حامض وغاز بعد ٢٤ ساعة نكون قد تأكدنا من أن العينة المشكوك فيها تحتوي على مجموعة القولون كما يلزم عمل شريحة من الميكروب وصيغه بطريقة جرام للتأكد من وجود الميكروبات العصوية القصيرة السالبة لجرام غير المتجرثمة والمتحركة مع عمل مزرعة على الآجار المائل.

أشرح تأثير العوامل الاتية على نمو البكتريا: (٥ درجات) الضوء – الضغط الاسموزي – الفورمالدهيد (أشرح عاملين فقط من الثلاثة)

تأثير ضوء الشمس :

الأشعة المؤينة في الطبيعة ليست بذات أهمية لأن أغلبيتها يمتص في طبقات الجو العليا ولا يصل إلينا ، والأشعة التي تصل إلينا تقع في منطقة الأشعة فوق البنفسجية والأشعة المرئية والأشعة تحت الحمراء والتأثير القاتل لضوء الشمس على البكتيريا يرجع إلى احتوائه على الأشعة فوق البنفسجية ذات الطول الموجي الأقل من ٣٠٠٠ Å غير أن أشد موجاتها قتلاً هي ذات الطول ٢٥٣٧ Å لأن أقصى امتصاص لهذه الأشعة بواسطة الـ DNA ، وبالتالي تلفه ، يحدث عند هذا الطول الموجي ويحتوي ضوء الشمس على كمية قاتلة من الأشعة المهلكة للميكروبات (حوالي ٠,١ %) إذا مر ضوء الشمس خلال الضباب والسحب والدخان والزجاج أيضا فان هذه تحتجز الأشعة فوق البنفسجية ولكن إذا وصل ضوء الشمس مباشرة إلى الميكروبات فإنها تهلك جزءاً كبيراً منها .

وجراثيم الخلايا البكتيرية والفطر تتأثر أيضا بالأشعة البنفسجية . ولكنها أكثر مقاومة من الخلايا الخضرية ، ولقد وجد أن الجراثيم يلزم لقتلها على الأقل ضعف كمية الأشعة التي تقتل الخلايا الخضرية كما أن البكتيريا الموجبة لجرام أكثر مقاومة من تلك السالبة .

تأثير الضوء والأشعة على البكتيريا :-

مجموعة قليلة من البكتيريا وهي البكتيريا الممثلة للضوء مثل البكتيريا الخضراء والحمراء تتطلب وجود الضوء المرئي لكي تنمو وتتكاثر . وتتميز هذه المجموعة من البكتيريا بوجود مواد ملونة – تشبه الكلورفيل النباتي – تمكنها من امتصاص الضوء وبذا تحول الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية عن طريق التمثيل الضوئي. ولكن أغلب أنواع البكتيريا لا تحتوي على مثل هذه المواد الملونة وبالتالي فإنه ليس لها القدرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة وبذلك فإن الأشعة المرئية وغير المرئية تكون عديمة الفائدة لها أو يكون لها تأثير ضار .

- ونفاذ الأشعة داخل الخلية يتناسب عكسياً مع طول الموجه وكلما قصر طول الموجه كلما أصبحت أكثر نفاذية وأشد قتلاً ، فالأشعة الحرارية Heating Radiation كالأشعة تحت الحمراء Infrared طول موجتها 10^3 A (نانوميتر) ذات موجات طويلة وذبذبة منخفضة ولها طاقة غير قادرة على أحداث تفاعل كيميائي ولذا فإنها تتحول سريعاً إلى الحرارة. وتأثيرها المباشر على البكتيريا قليل وهذا يفسر استعمال لمبات الأشعة تحت الحمراء كمصدر للحرارة.
- أما الأشعة التي طول موجتها من 10^2 A إلى 10^3 A وهي الأشعة فوق البنفسجية Ultra Violet وهي أشعة غير مؤينة Non – Ionizing فإنها ذات موجات أقصر وذبذبة أعلى تحتوي على طاقة تكفي لأحداث تفاعل كيميائي.
- أما الأشعة المؤينة Ionizing Radiation ذات الموجة الأقل من 10^2 A ، ومنها أشعة أكس ، أشعة جاما وأشعة كوزميك فإنها ذات موجات قصيرة وذبذبتها عالية والطاقة المنبعثة منها كبيرة جداً لدرجة أن الجزيئات التي تتعرض لها تتأين ولذا سميت مؤينة.
- وعندما تموت الخلايا البكتيرية بتأثير هذه الأشعة فإن ذلك يحدث بدون رفع درجة الحرارة ولذا فإن التعقيم في هذه الحالة يسمى التعقيم البارد Cold Sterilization ويحدث التأثير الضار للأشعة عندما تمتص بواسطة الخلايا البكتيرية وامتصاص الطاقة الإشعاعية بواسطة الخلايا ينتج عنه أما تأثير مميت طبقاً لنظام لوغاريتمي أو حدوث طفرات Mutations نتيجة تغير في التركيب الوراثي في الخلايا التي قد تنجو من التأثير المميت.
- ويرجع التأثير القاتل للأشعة على الميكروبات إلى أن الطاقة الإشعاعية الممتصة تحدث تغيير في التركيب الجزيئي لمكونات الخلية خاصة في مناطق الخلية الحساسة كالإنزيمات والمحتويات النووية ويسمى هذا التأثير المباشر وقد يرجع التأثير إلى أحداث تفاعلات كيميائية تسبب أفساد جزيئات السيتوبلازم والأجسام النووية بالخلية ويسمى هذا التأثير غير المباشر.

الضغط الأسموزي : Osmotic pressure

• يؤثر الضغط الأسموزي تأثيراً كبيراً على سرعة واتجاه تيار الماء من البيئة إلى الميكروب وبالعكس وبذا يؤثر على مقدار استفادة الميكروب من الرطوبة وعموماً فإن تحرك المحاليل إلى خارج الخلية ودخول الماء إليها تبدو محكومة بالغشاء السيتوبلازمي والجدار الخلوي للخلية . ويلاحظ أن درجة تأثر البكتيريا بالضغط الأسموزي أقل من تأثر الخلايا النباتية والحيوانية.

• إذا وضعت الخلية البكتيرية في بيئة وكان الضغط الأسموزي لمحلول البيئة مماثل لضغط الأسموزي داخل الخلية سمي المحلول سوى الأسموزية **Isotonic**.

وفي هذه الحالة لا يحدث انكماش في الخلية . إما إذا كان للضغط الأسموزي لمحلول البيئة أعلى من الضغط الأسموزي للخلية سمي بالمحلول عالي الأسموزية **Hypertonic** وفي هذه الحالة فإن معدل خروج الماء من الخلية أسرع من معدل دخوله إليها مما يؤدي إلى انكماش البروتوبلازم وحدوث بلزمه للخلية أي انكماش أسموزي **Plasmoptisis** وهذا يؤدي إلى وقف نمو الخلية وقد يسبب موتها.

إما إذا كان الضغط الأسموزي لمحلول البيئة أقل من الضغط الأسموزي للخلية سمي المحلول ناقص الأسموزي **Hypotonic** وفي مثل هذا المحلول فإن الماء يندفع إلى داخل الخلية بنسبة أكبر من معدل خروجه منها مما يؤدي إلى انتفاخها أي انتفاخ أسموزي **Plasmolysis** ومثل هذا المحلول غير مناسب لنمو البكتيريا وقد يؤدي إلى هلاكها.

• تحتاج معظم الخلايا البكتيرية أثناء نموها إلى محاليل سوية الضغط الأسموزي **Isotonic** وتختلف البكتيريا في درجة تحملها للتركيزات الزائدة من الأملاح المختلفة والتركيز المعوق للنمو يختلف باختلاف نوع الملح المستعمل وباختلاف الكائن نفسه . وقد وجد أن بكتيريا البحيرات الملحية العظمى بأمريكا تتحمل تركيز ٣٨% ملح ، كما أن البكتيريا المحبة للملحة **Halophiles** تنمو على الجلود المملحة ويمكن عزلها من الأغذية المملحة ومن غيرها من المواد ذات التركيز المرتفع من ملح الطعام.

• وتستطيع بعض أنواع الخمائر والفطريات أن تنمو في محاليل بها نسبة عالية من السكر كالعسل الأبيض والمربي وقد تسبب فسادها وتسمى مثل هذه الميكروبات محبة للضغط الأسموزي المرتفع **Osmophilic** حيث أنها تفضل النمو في الوسط العالي الأسموزية عن التركيزات العادية ويلاحظ أن الكائنات الحية الدقيقة التي تتحمل الضغط الأسموزي المرتفع تستطيع أن تنمو في بيئة ذات نشاط مائي قليل ، فعلى سبيل المثال:-

فإن الحد الأدنى من (**aw**) اللازم لنمو البكتيريا المحبة للملحة **Halophilic** هو ٠,٧٥ .

فإن الحد الأدنى من (**aw**) اللازم للفطريات المحبة للجفاف **Xerophilic** هو ٠,٦٥ .

فإن الحد الأدنى من (**aw**) اللازم للخمائر المحبة للضغط الأسموزي **Osmophilic** هو ٠,٦٠ .

• والمجموعات الثلاث السابقة رغم أنها ذات أسماء مختلفة إلا أنها تتحمل الضغط الأسموزي المرتفع.

• وتستخدم خاصية الضغط الأسموزي في حفظ الأغذية باستعمال محاليل ذات ضغط أسموزي مرتفع تعيق البكتيريا والخمائر والفطريات عن النمو مثل إضافة السكر إلى المربيات والجلى والألبان المكثفة وغيرها ومثل إضافة الملح إلى اللحوم والأسماك والمخللات وغيرها من الأغذية.

- الألدهيدات (R-CHO) والمواد المختزلة :

أهمها الفورمالدهيد (HCHO) وتأثيره القاتل يعود إلى قدرته الاختزالية واتحاده مع المجموعات الأمينية (NH_2) لبروتين الخلية فيتوقف نشاطها ورغم أن الفورمالدهيد من العوامل الفعالة في الإبادة والتطهير إلا أن استعماله محدود لما له من تأثير سام ورائحة نفاذه غير مقبولة ، وتأثير الفورمالدهيد على الفطر أشد من تأثيره على البكتيريا وتأثيره على الخلايا الخضرية أكبر من تأثيره على الجراثيم . ومحلول الفورمالدهيد العادي يسمى فورمالين وهو عبارة محلول مائي يحتوي على ٣٢-٤٠% فورمالدهيد بالإضافة إلى قليل من الميثانول . ومحلول ٥-١٠% فورمالدهيد له قوة قاتلة حتى في وجود مواد عضوية ومحلول (١,١-٠,٥%) يوقف نمو الميكروبات ويستعمل الفورمالين أيضا في حفظ العينات النباتية لمدة طويلة وكذلك النماذج النباتية. ومن الاستعمالات الهامة للفورمالدهيد تحويل التوكسين السام Toxin إلى توكسين غير سام Toxoid الأخير يستخدم بحقنه في جسم الإنسان أو الحيوان ليكون مضادات التوكسين Antitoxin وهي أجسام مضادة تحمي الجسم من المرض - ومن الميكروبات المشهورة التي تقاوم بهذه الطريقة ميكروب الدفتريا والتتانوس المسبب عن :

Corynebacterium diphtheria , Cl. tetani

بعض المواد المختزلة الأخرى :

بالإضافة إلى الفورمالدهيد فإن بعض المواد المختزلة الأخرى لها تأثير قاتل على البكتيريا مثل حامض الكبريتوز وأملاح الكبريتيت.

أذكر أنواع الحركة في البكتريا - ثم أشرح أحداها بالتفصيل. (٥ درجات)

حركة البكتريا: " Motility "

لبعض الأنواع البكتيرية القدرة على الحركة فنجد أن معظم الأنواع العصوية والحلزونية متحركة بينما معظم الأنواع الكروية غير متحركة مثل *Staphylococcus , Thermomicrobium , Flavobacterium , Micrococcus* ويمكن مشاهدة الحركة في البكتريا في تحضيرات النقطة المعلقة.

أنواع الحركة :

١- حركة سباحة بواسطة الأسواط (الفلاجلات) **Swimming by flagella**.

٢- حركة انزلاقية **Gliding**.

٣- حركة بريمية أو ثعبانية **Rotary**.

أولا : الحركة بالأسواط:

تتم الحركة بواسطة أسواط خاصة تسمى أعضاء الحركة وتعرف باسم الأسواط (الفلاجلات) *Flagilla* ومفردتها *Flagellum* وتوجد الفلاجلات بكثرة في البكتيريا العصوية والحلزونية وبقلة في البكتيريا الكروية وعلى ذلك فإن البكتيريا التي لها أسواط لها القدرة على الحركة بنفسها بقوتها الذاتية أي أنها تتحرك حركة حقيقية.

والفلاجلات عبارة عن خيوط رقيقة ورفيعة جدا (كما هو موضح بالشكل) وعادة أطول عدة مرات من الخلية الخارجة منها . وسمك الفلاجلات تتراوح ما بين ٠,٠٢-٠,٠٥ ميكرومتر والطول ما بين ٦ - ٩ ميكرومتر وقد يصل في بعض الأنواع الحلزونية إلى ٩٠ ميكرومتر . وقد أوضحت التحضيرات الحية أن الأسواط تكون مجعدة أو ملتوية ونادرا ما تكون مستقيمة تماما . ويمكن مشاهدتها بالميكروسكوب العادي باستخدام طرق خاصة بالصبغ تتضمن ترسيب مادة غير شفافة

عليها تزيد من سمكها بدرجة تسمح برؤيتها بعد الصبغ وعادة ما يستخدم **حامض التانيك** مع بعض الأملاح المعدنية . وتتركب الفلاجلات من مواد بروتينية معقدة تختلف في مكوناتها البروتينية حسب نوع الميكروب أو السلالة . وتتسأ الفلاجلات من داخل الخلية (كما هو موضح بالشكل) من جسم حبيبي دقيق يقع ما بين الجدار الخلوي والغشاء السيتوبلازمي وتتمر في الجدار ثم تمتد خارج الخلية.

توزيع الفلاجلات :

أن عدد الأسواط وتوزيعها في الخلية البكتيرية وإن كان يختلف من جنس إلى آخر إلا أنه ثابت بالنسبة لكل نوع ويعتبر من الصفات المميزة لهذا النوع.

وبالنسبة لتوزيع الفلاجلات فإن البكتيريا تقسم حسب الجدول التالي :

أمثلة	الاسم العلمي	توزيع الفلاجلات
<i>Lactobacillus sp.</i>	Atrichous	١ - عديمة الفلاجلات
<i>Vibrio cholera</i> , <i>Campylobacter sp</i> , <i>Bdellovibrio sp.</i>	Monotrichous (monoplor mono – Trichous)	٢ - ذات سوط واحد
<i>Alcaligenes faecallis</i> <i>Pseudomonas sp</i> . <i>Chromatium sp.</i>	Lophotrichous (monopolar polytrichous)	٣ - ذات خصلة واحدة من الفلاجلات في طرف واحد من الخلية
<i>Spirillum volutans</i> <i>Aquaspirillum sp.</i> <i>Oceanospirillum sp.</i>	Amphitrichous (bipolar polytrichous)	٤ - ذات خصلة واحدة من الفلاجلات على كل طرف من الخلية
<i>E.coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Rhodmicrobium sp.</i> <i>Salmonella sp.</i>	Peritrichous (polytrichous)	٥ - ذات فلاجلات موزعة بانظام على محيط الخلية
	Cephalotrichous (bipolarmonotrichous)	٦ - ذات سوطين واحد في كل ناحية

طبيعة الحركة عن طريق الأسواط :

يمكن تشبيه حركة الفلاجلات مثل مروحة رفاص السفينة (كما هو موضح بالشكل) حيث تتحرك حركة دائرية مسببة تحريك السائل مما يؤدي إلى حركة الخلية في الاتجاه العكسي وفي الظروف المثالية تتحرك الخلية البكتيرية بسرعة قد تصل إلى مدى من ٥٠-٢٠٠ um / ثانية (ميكرون).

ثانياً : الحركة الانزلاقية : Gliding (الدودية) (الشعبانية)

الحركة في هذه الأفراد حركة انزلاقية gliding وهذه البكتيريا لا تحمل أعضاء معينة للحركة ويتميز هذا النوع من الحركة بأنه يكون مصحوبا بذبذبات وتموجات لجسم الخلية البكتيرية نفسها ، وتحدث هذه الحركة الانزلاقية فوق الأسطح الصلبة فقط ولا تحدث في البيئات السائلة.

وأمثلة البكتيريا التي تتحرك هذه الحركة الأفراد التابعة للأتي :

Cyanobacteria , Myxobacteriales , Beggiatoales , Cytophagales , Chloroflexaceae , Desulfonema

ثالثاً : الحركة البريمية : Rotary

تتم هذه الحركة في أفراد الـ **Spirochaetes** ويلاحظ هنا أن الخلايا خالية من الأسواط والحركة بريمية أو ثعبانية في أغلب أجناس هذه الرتبة وتتم الحركة نتيجة التوائتات ثانوية تتداخل مع الالتواءات الأصلية بالخلية مؤدية إلى تقدم الخلية وتأخرها وتحدث هذه الحركة البريمية في الوسط السائل.

أذكر أنواع الأنزيمات البكتيرية ثم أشرح التطبيقات العملية لأستخدامها في الاغراض المختلفة. (٥ درجات)

تعريف الإنزيمات: Enzymes

وتعرف الإنزيمات عبارة عن مواد بروتينية تفرزها الخلايا الحية بغرض إحداث التفاعلات الحيوية المختلفة في الخلية الحية ، أو الإسراع من معدلات التفاعلات الحيوية المختلفة بدون أن تستهلك أثناء التفاعل وتخرج من التفاعل بحالتها الطبيعية لتستطيع أن تقوم بنفس التفاعل مرة أخرى بنفس الكفاءة، لذلك يلزم كمية ضئيلة جدا من الإنزيم لإحداث التفاعل بكميات كبيرة في المادة الداخلة في التفاعل.

تقسيم الإنزيمات :

تقسم الإنزيمات إلى ٦ مجاميع رئيسية على أساس نوع التفاعل الذي تقوم به كما يلي

- ١- إنزيمات الأكسدة والاختزال Oxidoreductases
- ٢- إنزيمات نقل المجاميع Transferases
- ٣- إنزيمات التحلل المائي Hydrolysis
- ٤- إنزيمات النزع أو الإضافة Lyases
- ٥- إنزيمات التشابه Isomerases
- ٦- إنزيمات التخليق Ligases (synthetases)

على الرغم من أن البكتيريا تنتج عددا كبيرا جدا من الإنزيمات إلا أن كل نوع من البكتيريا ينتج أنواعا معينة من الإنزيمات مميزة له وكذا فإن كميات الإنزيمات التي تكونها البكتيريا تختلف من نوع لآخر .

وتقسم الإنزيمات البكتيرية على أساس إفرازها في وجود أو غياب مادة التفاعل Substrate إلى :

١- إنزيمات بنائية أساسية: Constitutive enzymes

وهي الأنزيمات التي تفرزها الخلايا البكتيرية في وجود أو غياب مادة التفاعل ويتحكم في إنتاج هذا النوع من الأنزيمات التركيب الوراثي للبكتيريا.

ب- إنزيمات تنتج بالحث : Inducible (Adaptive enzymes)

وهي الأنزيمات التي تفرزها البكتيريا في وجود مادة التفاعل فقط ويتحكم في إنتاجها عوامل أربعة هي :

١- التركيب الوراثي لسلالة البكتيريا.

٢- وجود مادة التفاعل.

٣- توفر الأحماض الأمينية اللازمة لتكوين بروتين الإنزيم.

٤- مصدر الطاقة الملائم لتخليق الإنزيم.

ويلاحظ أن الخلية البكتيرية تحصل على غذائها بالانتشار الغشائي لذلك فلا بد أن تكون المواد الغذائية على صورة ذائبة لكي تتمكن من الدخول إلى داخل الخلية وحيث أن كثير من المواد الغذائية للبكتيريا توجد على حالة غير ذائبة أو على صورة جزيئات كبيرة معقدة لا يمكنها اختراق الغشاء السيتوبلازمي للخلايا لذلك فإن الخلية البكتيرية تفرز نوعين من الإنزيمات :

١- إنزيمات خارجية: Extracellular enzymes

وهي الإنزيمات التي تفرزها الخلايا خارجها في الوسط أو البيئة التي تنمو فيها وتؤثر هذه الإنزيمات على المواد الغذائية المعقدة وتحولها إلى مواد بسيطة ليسهل دخولها إلى الخلية مثل الإنزيمات المحللة للنشا والبروتين والسليولوز.

٢- إنزيمات داخلية: Intracellular Enzymes

وهذا الإنزيمات الموجودة أو تفرز داخل الخلية ولا تخرج خارج الخلية.

التطبيقات العملية للإنزيمات الميكروبية :

تستعمل الإنزيمات عموما في كثير من الصناعات الهامة وكذا في كثير من الأغراض الطبية وتجدر الإشارة إلى أن معظم الإنزيمات ذات التطبيق العلمي من إنزيمات التحلل المائي وجدير بالذكر أن الإنزيمات الميكروبية (خصوصا البكتيريا والفطر) تتفوق كثيرا على إنتاج نفس الإنزيمات وبنفس القدر من المصادر النباتية أو الحيوانية ، حيث أن هذه المصادر لها عيوب كثيرة في إنتاج الإنزيمات منها :

١-ان المساحات اللازمة لتنمية النبات أو الحيوان كبيرة جدا ومكلفة للغاية وخاصة بالنسبة للحيوانات ٢-في الكائنات الحية الراقية (نبات - حيوان) يكون هناك تخصص عضوي لإنتاج الإنزيمات أي أنكل مجموعة إنزيمية تفرز في الأعضاء الخاصة بها.

٣- هناك صعوبة في استخلاص وتنقية الإنزيمات الناتجة من المصادر النباتية أو الحيوانية نظرا لاختلاطها بمكونات العضو المنتج لهذه الإنزيمات

أما إنتاج الإنزيمات من الميكروبات فلا يقابل نفس الصعوبة حيث

١- تحتاج تنمية الميكروبات إلى مساحات صغيرة أو أدوات بسيطة نسبيا

٢- إمكانية الحصول على العديد من الإنزيمات من خلية ميكروبية واحدة وذلك لعدم وجود تخصص عضوي في الخلية الميكروبية

٣- كفاءة الإنتاج من الميكروبات تساوي مئات الأضعاف من كفاءة الخلية الحيوانية أو النباتية.

٤- غالبا ما تفرز الإنزيمات الميكروبية ذات الاستخدام العلمي خارج الخلية وبذلك يسهل الحصول عليها واستخلاصها من البيئة التي يمكن التحكم في مكوناتها حتى يصبح الاستخلاص والتنقية للإنزيم الناتج بطريقة سهلة وغير مكلفة كما تتميز

الميكروبات بانتشارها الواسع في الطبيعة مما جعل لها القدرة الطبيعية على إنتاج مجموعات كبيرة من الإنزيمات والتي لا تستطيع الحيوانات أو النباتات إنتاجها.

٥- إمكانية إنتاج العديد من الإنزيمات من ميكروب واحد Enzyme system

❖ الأغراض التي تستخدم فيها الإنزيمات الميكروبية:

تستخدم الإنزيمات الميكروبية في المجال الصناعي في أغراض كثيرة منها:

١- صناعة الجلود والجلين وكثير من الصناعات الغذائية (الإنزيمات المحللة للبروتين مثل البروتياز أو البروتينيز (Protease or protinase).

٢- صناعة النسيج وزيادة حلاوة الأغذية النشوية وترويق عصير الفاكهة والنيبيذ (الإنزيمات المحللة للمواد الكربوهيدراتية مثل الاميليز البكتيري والفطري) كما يستخدم إنزيم جلوكوز اوكسيديز Glucose Oxidase في إنتاج حامض الجلوكورونيك من سكر الجلوكوز وفي معاملة مسحوق البيض المجفف لمنع فساده.

٣- ومن استخدامات الإنزيمات الميكروبية في المجال الطبي استخدامها في صناعة الأقراص الهاضمة المحتوية على أنزيمات محللة للكربوهيدرات والدهون والبروتينات

٤- كما استخدمت حديثاً في إزالة التشوهات الناتجة عن الحروق وتجدر الإشارة إلى أن الأنزيمات الميكروبية

تستخدم على نطاق واسع في معامل التحليل الطبي البكتريولوجي للمساعدة في تشخيص كثير من الأمراض كاستخدام إنزيم الجلوكوز أو كسيديز في تقدير نسبة الجلوكوز في بول مرضي السكر ، كما تستخدم في صناعة المنظفات الصناعية (ايريل، سافو).