الفصل الأول

تاريخ ومجالات علم الأحياء الدقيقة
History and Scopes of Microbiology

مقدمة
Introduction

يختص علم الأحياء الدقيقة "ميكروبيولوجي Microbiology" بدراسة الكائنات الحية دقيقة الحجم المجهرية والتي تشمل البكتيريا Bacteria، والفطريات Fungi، والطحالب Algae، والأوليات Protozoa، والفيروسات Viruses وغيرها من الكائنات التي لا ترى بالعين المجردة.

وكما هو الحال بالنسبة للعلوم الأحيائية، فإن علم الميكروبيولوجي مهتمٌ أيضاً بدراسة الشكل form، والتركيب structure، والتكاثر reproduction، ووظائف الأعضاء physiology، والأيض metabolism علاوة على التصنيف classification. ويتضمن هذا العلم الاهتمام أيضاً بتوزيع الأحياء الدقيقة في الطبيعة وعلاقتها ببعضها ببعض وبغيرها من الأحياء الأخرى، كما أن ذلك يمتد إلى تأثيرها على الحيوان والإنسان والنبات بشكل أكثر عمقاً، وإلى أي مدى يمكن لهذه الكائنات الدقيقة أن تُحْدث تغييرات كيميائية وفيزيائية في عالمنا، وكيف تتفاعل مع العوامل الكيميائية والفيزيائية.

وتؤثر الأحياء الدقيقة على حياة كل كائن وبصفة خاصة الإنسان والنبات والحيوان. ولذلك فنحن نلمس بعضاً من جوانبها الهامة في الحياة مثل صناعة الخبز والزبادى والجبن والكحولات وإنتاج المضادات الحيوية antibiotics، وفي العديد من تطبيقات التقنية الحيوية biotechnology وأيضاً في الهندسة الوراثية genetic engineering علاوة على فساد الأطعمة، وتطبيقات أخرى عديدة. لكن ظل هذا العلم غير معروف لقرون عديدة؛ نظراً لصغر حجم هذه الكائنات وللحاجة إلى رؤيتها بواسطة المجاهر microscopes التي لم تكن قد اخترعت بعد.

من المجهول From the Unknown

لم يكن معروفاً لدى الإنسان لماذا لا يصبح الخبز مسامياً إلا بإضافة عجينة جافة إلى العجين الجديد ..؟ ولماذا يصبح طعم اللبن الرائب مراً إذا لم (تسمط) "تسخن" آنية الحليب الفخارية ..؟ ولم يكن معروفاً لماذا تفسد الأطعمة ..؟ ولماذا يتأخر هذا الفساد بغلْي الطعام وليس بتدفئته ..؟ كل هذه التساؤلات لم تكن شيئاً يذكر عندما تصيب

البشر أهوالاً مدمرة وقاتلة من الأمراض التي في غمضة عين تمحو مدنا أو ممالك ..؟! ووقف الإنسان عاجزاً والعلم قاصراً عن تفسير هذه الأمراض مجهولة الهوية خاصة بعد أن تطورت العلوم الأحيائية والطبية وعلوم الأمراض ..؟! ورسم خيال الإنسان لهذه الطواعين plagues صوراً خرافية وميتافيزيقية ، فيما وراء الطبيعة . ومارس طقوساً وسحراً وشعوذة لطرد هذه الشياطين ..!!.

وحتى عندما نضج الفكر العلمي في القرون الوسطى وأصبح مفهوماً طبيعة الكائنات الحية فشل العلماء في تفسير ظواهر الأمراض التي تسببها الميكروبات، بل وعجزوا عن فهم طبيعة النموات الدقيقة التي تظهر في بعض البيئات أو مع فساد الأطعمة، وفسروا ذلك بنظرية التوالد الذاتي spontaneous generation أي أن هذه النموات والأعفان إنما ظهرت بحد ذاتها وبدون أي سابق أصول أو آباء. مثال ذلك ما كان يعتقده الكثيرون حول العالم بأن "دود المش منه فيه".

تأسيس علم الأحياء الدقيقة
Foundation of Microbiology

يؤرخ لاكتشاف وتأسيس علم الأحياء الدقيقة من بداية تصنيع المجاهر microscopes، فمن غير المعقول التعرف على هذه الكائنات الدقيقة والخفية إلا بمساعدة المجاهر التي تكبرها عشرات المرات حتى تصبح مرئية. لكن سبق ذلك فكر ونظريات وتجارب واكتشافات لعلماء كثيرين منهم:

١- روجر بيكون Rojer Bacon

عام (١٢٢٠ — ١٢٩٢م) الذى اقترح أن الأمراض تسببها كائنات خفية يمكنها أن تنتقل من شخص الآخر.

٢- جيرولامو فراكاستورو Girolamo Fracastoro: (من فيرونا بإيطاليا) (١٤٨٣-١٥٥٣م)

حيث نادى بما قاله بيكون لكن دون أن يقدم دليلاً عملياً.

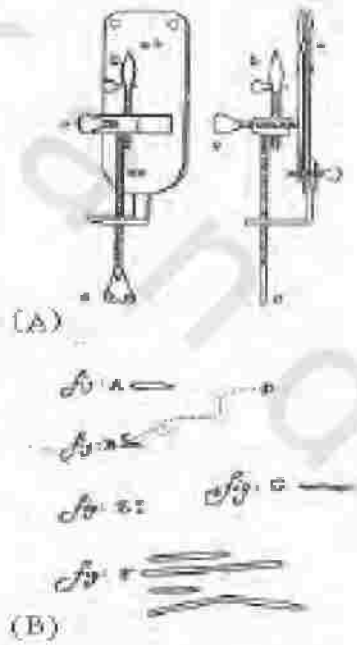
٣- أثناسيوس كيرشر Athnasius Kircher عام (١٦٠١-١٦٨٠م)

وهو راهب monk أشار الى "الديدان" غير المرئية بالعين المجردة والتي تظهر في الأجسام الممتلئة واللحوم والألبان وإفرازات الإسهال.

٤- أنتوني فان ليفينهوك Antony van Leeuwenhoek (١٦٣٢-١٧٢٣م)

وهو هولندي عاش في مدينة ديلفت Delft كان له فضلان الأول: تأسيس صناعة المجاهر والثاني: إثبات وجود الأحياء الدقيقة بما صنعه من مجاهر. وكانت ملاحظاته ودقة وصفه ورسمه للأوليات protozoa والبكتيريا bacteria التي شاهدها في قطرة ماء تطابق ما نراه اليوم. ولم يكن ليفينهوك عالم أحياء ولكن تاجراً وله هواية في قطع العدسات وصناعة المجاهر بيده، وقد صنع نحو ٢٥٠ مجهراً والتي كانت من عدسة محمولة على ساق من الفضة،

وأقصى قوة تكبير توصل إليها بلغت ما بين ٢٠٠–٣٠٠ مرة (الشكل رقم ١) وقد كان ليفينهوك ملهماً فدون ملاحظاته وبعث بها في رسائل إلى الجمعية الملكية البريطانية The British Royal Society التي لا تزال قائمة حتى الآن ولا زالت تحتفظ بكل هذه المدونات علاوة على مجهر أصلي مما صنعه ليفينهوك. وقد سمى ما رآه من أحياء دقيقة "الحيوانات الدقيقة جداً very little animalicules" والتي تشبه الأوليات. وبفحص عينات كثيرة من مياه المطر الراكدة في إناء فخاري مصقول أو من الآبار بعد وضع ثمرة فلفل، فقد وجد علاوة على الأوليات حيوانات دقيقة أخرى تشبه البكتيريا والفطريات وصوراً عديدة من الأوليات، وقد وجد منها ما تتحرك وتنجني وتسبح كثعبان الماء، ولو بحركة بطيئة لكنها كانت أيضاً للأمام والخلف. ومع أن الجمعية الملكية البريطانية قد احتفظت بهذه الذخائر إلا أنها لم تُقدَّر في حينها ولا لزمن طويل.



الشكل رقم (١). (a) رسم يوضح تركيب مجهر أنتوني فان ليفينهوك المكون من عدسه (a) وقلم تحميل (b) ومسمارين محورين c ,d لضبط الرؤية، (b) رسوم ليفينهوك للبكتيريا الموجودة في فم الإنسان (عن : Prescott, *et al.*, 1999).

٥– فرانسيسكو ريدي Francesco Redi (١٦٢٦– ١٦٩٧م)

أثبت عام ١٦٦٥م أن الديدان maggots التي تظهر في اللحم إنما هي أحد أطوار الذباب الذي وضع البيض في اللحم. وبذلك هدم نظرية التوالد الذاتي التي نادى بها أرسطو Aristotle (٧٠ – ١٩ ق.م) عندما قال بأن الحيوانات يمكن أن تنشأ تلقائياً من التربة والنباتات والحيوانات الأخرى. وفي تجربة ريدي وضع قطعة من اللحم في وعاء

مكشوف وقطعة أخرى في وعاء مغطى بالشاش فظهر الدود في الإناء الأول فقط لأن الشاش منع الذباب من وضع البيض على اللحم.

٦– جون نيدهام John Needham (١٧١٣– ١٧٨١م)

لم يكن في هذه السنوات من يستطيع أن يتحرى نظرية الخلق الذاتي، إلا أن نيدهام لاحظ في إحدى تجاربه بعد تعريض اللحم للرماد الساخن أنه لا يظهر أية أحياء على اللحم في البداية لكن بعد ذلك ظهرت نموات (البكتيريا) من اللحم أي أنها تولدت ذاتياً من اللحم وليس من كائنات كانت موجودة سابقاً.

٧– لازارو سبالانزاني Lazzaro spallanzani (١٧٢٩ – ١٧٩٩م)

قام لازارو في وقت معاصر لنيدهام بعمل تجربة فيها أنه غلى مرق لحم البقر لمدة ساعة تقريباً ثم أحكم إقفال الدورق flask المحتوي عليها، وعند تحضينها لمدة من الوقت لم تظهر أية نموات ميكروبية. وللأسف الشديد لم تقنع هذه التجارب، حتى بعد نجاح تكرارها، نيدهام الذي أصر على نظرية الخلق الذاتي والذي كان يصر أيضاً على ضرورة وجود الهواء للخلق الذاتي للأحياء الدقيقة. وعندما استبدل إغلاق فوهة الدورق عن طريق لحمها بدلاً من وضع سدادة القلين، لم يحدث أن تسرب العفن بعد فترة كما حدث في تجاربه الأولى. وقد استفاد من هذه الظاهره آنذاك فرانسوا أيبرت Francois Appert، في حفظ الأغذية وذلك بطرد الهواء من أوعية الطعام المحفوظ قبل إحكام غلقها.

٨– فرانز شولز Franz Schulze (١٨١٥–١٨٧٣م): و(تيودور شوان Theordore Schwann) (١٨١٠–١٨٨٣م)

قام شولز بتمرير الهواء خلال حامض قوي إلى دوارق بها محاليل منقوعات غذائية تغلي boiled infusions، على حين قام شوان في تجربة مماثلة بتمرير الهواء إلى الدوارق من خلال أنابيب ساخنة لدرجة الإحمرار. وفي كلتي التجربتين لم تظهر أية أحياء دقيقة على الرغم من وجود الهواء. وهذه التجارب لم تقنع أحداً وقتها.

٩– شرودر Schroder وفون دوش von Dusch (١٨٥٠م)

قاما معاً بإجراء تجربة أكثر إقناعاً مما سبقها، وذلك بالسماح بمرور الهواء من خلال قطعة قطن cotton إلى الدوارق المحتوية على المرق المغلي ومن ثم فإن القطن قد قام بحجز الميكروبات ومر الهواء معقماً إلى المرق الذى لم يظهر عليه أي نمو ميكروبى.

١٠– لويس باستير Louis Pasteur (١٨٢٢–١٨٩٥م)

يعد باستير بحق مؤسس علم الأحياء الدقيقة وهادم نظرية التوالد الذاتي والتي لم تستطيع أن تبقى أمام النظرية الميكروبية The germ (microbial theory).

وكانت أعمال باستير كثيرة وله مخترعات هامة أسست جوانب عديدة في عالم الأحياء الدقيقة والتي لا تزال لها أهميتها حتى الآن وفيما يلى سرد أهم هذه الجوانب:

أ) تأسيس النظرية الميكروبية

في عام ١٨٥٩م نشر فيلكس أرشميد بوشيه Felix Archemede Pouchet تقاريرغير مقنعة تؤكد نظرية التوالد الذاتي. وقد حدا ذلك بباستير أن يجري تجربة قوض بها هذه النظرية نهائياً وفي تجربته قام بسحب أعناق دوارق تحتوي على مرق مغلي بحيث جعلها على شكل أنابيب طويلة وضيقة وتشبه عنق الأوزة goose neck، وعندما سخن المحاليل المغذية (المرق) في الدورق كان الهواء يمر بحرية غير معامل وغير مرشح خارجاً من الفتحة أو داخلاً إلى الدورق. عندئذ لم يحدث أي نمو ميكروبي وذلك لأن الجراثيم استقرت في الجزء المنخفض من عنق الأوزة الزجاجي (الشكل رقم ٢). وفي يوم ٧ أبريل من عام ١٨٦٤م سجل باستير نتائج تجاربه في جامعة السربون Sorbonne بباريس، والجدير بالذكر أنه أثبت من خلال هذه التجربة أيضاً أن فساد المرق يكون أكثر في أحياء باريس المزدحمة وأنه أقل في الريف وأقل في المناطق الجبلية خاصة.

الشكل رقم (٢). لويس باستير يحمل أشكال دوارق لها أعناق مثل الأوز (عن: Prescott, *et al.*, 1999).

ب) التخمر Fermentation والبسترة Pasteurization

من الدهشة الشديدة العلم بأن باستير قد بدأ حياته العملية أستاذاً للكيمياء بجامعة "ليل" Lille في فرنسا. ولقد شارك بأبحاثه في صناعة النبيذ wine والبيرة beer، وهي من منتجات التخمر والتي تعد من الصناعات الهامة في فرنسا، وظل مشغولاً بأبحاثه هذه منذ عام ١٨٥٧م وحتى عام ١٨٧٦م، وكانت هذه الصناعة تعاني من مشاكل. ولقد استنتج من دراساته أن تخمر الفاكهة والحبوب لا يعطي الكحول، وأنما يحدث بواسطة الميكروبات. لقد شاهد أشكالاً مختلفة من الميكروبات في المخمرات وفي بعض القطفات batches الجيدة كان يجد نوعاً سائداً predominates، أما في المنتجات السيئة فكان يجد نوعاً آخر. وقد عرف باستير أن سبب هذه المشكلة يرجع إلى استبدال جزء من

التخمر الكحولي بنوع آخر من التخمر يعرف الآن بالتخمر اللاكتيكي. وعندما فحص بالمجهر محتويات أحواض التخمر والتي حدث بها تخمر لاكتيكي وجد أن خلايا الخميرة التي تسبب التخمر الكحولي قد حلت محلها خلايا عصوية وكروية صغيرة. وقد فكر باستير بأنه باختيار الكائن الدقيق المناسب بصناعة التخمر يمكن أن يضمن جودة وثبات نائج التخمر. ولم يكن ذلك في بادىء الأمر سهلاً لكثرة الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في عصير الفاكهة والحبوب. وقد نجح في ذلك بتسخين عصائر الفاكهة بحيث لا تغير نكهة أو طبيعة العصير وأن تكون كافية للقضاء على نسبة عالية من الميكروبات. حيث وجد أن تسخين العصير إلى درجة ٨ر٦٢°م (١٤٥ ° ف) لمدة نصف ساعة يؤدي هذا الغرض. وتسمى هذه العملية الآن البسترة pasteurization والتي لا تزال مستخدمة حتى الآن في كثير من صناعات التخمر وصناعات الألبان.

ج) أوليات دودة الحرير Silk worm protozoa

طلبت الحكومة الفرنسية مساعدة باستير في مواجهة مرض يصيب دودة الحرير يسمى بيبراين pebrine والذي يسببه نوع من الأوليات. ولقد نجح باستير في القضاء على هذا المرض عن طريق استعمال يرقات نقية خالية من الميكروب.

د) الجمرة الخبيثة Anthrax

استعان باستير بطبيب يدعى جويرت Joebert في إثبات أن مرض الجمرة الخبيثة الذي يصيب الأغنام والماشية والإنسان، إنما تسببه بكتيريا عصوية bacillus وذلك بعد حقنه في حيوانات سليمة. إلا أن باستير فشل في عمل مزرعة نقية pure culture ؛ لأن الطريقة اللازمة لذلك لم تكتشف إلا بواسطة العالم الألماني روبرت كوخ فيما بعد.

هـ) كوليرا الدجاج واكتشاف طريقة التحصين

Chicken cholera and the discovery of immunization method

نجح باستير في عام ١٨٨٠م في عزل البكتيريا المسؤولة عن كوليرا الدجاج Chicken cholera والمسماة الآن باستيريللا مالتوسيدا *Pasteurella multocida* وقد نماها في مزرعة سائلة نقية. واستخدم في تجاربه هذه افتراضات كوخ لإثبات الأصل الميكروبي للمرض أي إثبات أن البكتيريا التي عزلها من الدجاج المصاب بالكوليرا هي فعلاً التي تسبب هذا المرض. فقام بحقن دجاج سليم بالمزرعة النقية التي حصل عليها فمرضت. وأراد بعد بضعة أسابيع إعادة هذه التجارب أمام شهود عيان، لكن الدجاج المحقون لم يظهر عليه المرض هذه المرة. وبفكره العلمي الثاقب راجع خطوات التجربة فعرف أنه حقن الدجاج خطأً بمزرعة قديمة تركت لمدة أسابيع بدلاً من أن يستخدم مزرعة حديثة النمو. وبعد بضعة أسابيع أعاد التجربة باستخدام مجموعتين من الدجاج حقن المجموعة الأولى بالمزرعة القديمة فلم تمت الدواجن (أي لم يظهر عليها المرض). ثم حقن المجموعتين بيكتيريا من مزرعة حديثة النمو، في هذه المرة مرض دجاج المجموعة الثانية، أما دجاج المجموعة الأولى فقد ظل سليماً. واحتار باستير لفترة في تفسير هذه الظاهرة ولكن

أخيراً توصل إلى النتيجة، فقد عزى ذلك إلى أن البكتيريا تفقد قدرتها على إنتاج المرض أي أنها فقدت شراستها virulence عندما تركت فترة لتصبح عجوزة مما أدى إلى أنها أصبحت مضّعفة attenuated (أي غير قادرة على إحداث مرض لضعفها). لكن هذه البكتيريا المضّعفة لا زالت لها القدرة على استحثاث العائل (الدجاج) المحقون فيه على إنتاج مواد مناعية تسمى أجساماً مضادة antibodies وهي التي تحميه عند تعرضه مرة ثانية للبكتيريا الشرسة المسببة للمرض (أي تعطيه مناعة immunity).

و) تأسيس الجانب التطبيقي لعلم المناعة The establishment of the applied aspect of immunology

لم يكن في عصر باستير ولا بعده لسنين طويلة قد عرف علم المناعة، لكنه أسس الجانب التطبيقي منه. وقد استغل باستير هذا الاكتشاف العظيم في تحصين immunization الماشية ضد مرض الجمرة الخبيثة باستعمال الطعم vaccine المضّعف. وكذلك اكتشافه لظهور المناعة ضد كوليرا الدجاج علاوة على كشفه للتطعيم ضد السعار.

ز) اكتشاف تطعيم ضد مرض السعار The discovery of a vaccine against rabies

كان باستير موهوباً: فقد استطاع أن يأخذ مخ الكلاب المسعورة rabid dogs والمصابة بفيروس السعار rabies، ذلك الفيروس الذي ينتقل مع لعاب الكلب المسعور عند عضه للإنسان فيصيبه بالسعار ويؤدي إلى موته. وكانت تنتشر في باريس وفرنسا كلاب ضالة مسعورة أخذ باستير منها اللعاب وعمل منه معلقاً suspension حقنه في مخ الأرانب فماتت ثم أخذ مخ الأرانب الميتة وأجرى منه تمريرات passages وأخيراً أخذ المادة الممررة في مخ الأرنب labinized وصحنها في هاون وجهز منها معلقاً مخلوطاً بالجيليسرين ثم حقنه في الكلاب السليمة التي لم تصب بالسعار، علماً بأن باستير لم يكن يعرف أن سبب المرض عبارة عن فيروس. وذاع صيت باستير في علاج الأمراض ولأنه كان كيميائياً وليس طبياً فقد واجهته مشاكل في علاج أمراض الإنسان. وقد واجهه هذا التحدى عندما أصيب طفل يدعى جوزيف ميستر Joseph Meister والذى عضه ذئب مصاب بمرض الكلب وحاولت عائلته الاستنجاد بباستير لعلاج إبنها بالطُعْم vaccine فإستكتب أهله موافقة على علاجه لأنه لم يكن طبياً. وعندما حقن باستير الطُعْم تحت جلد بطن الطفل ٢١ مرة نجا الطفل من السعار، وأصبحت هذه هي الطريقة التي يُحصَّن بها ضد السعار. وقد كرمت فرنسا عالمها الفذ وذلك بإنشاء أعظم معاهد العالم وهو معهد باستير بباريس والذى توجد له فروع في دول أخرى.

١١- روبرت كوخ Robert Koch (١٨٤٣-١٩١٠م)

أ) مؤسس علم البكتيريا: هو طبيب ألماني شهير، ساهم في تأسيس النظرية الميكروبية وأسس علم البكتيريا Bacteriology (١٨٤٣-١٩١٠م) (الشكل رقم ٣). وقد كان طبياً هادئاً متواضعاً لكنه كان كثيراً ما يهمل ممارسة الطب لينصرف لدراسة البكتيريا وإجراء الأبحاث. وإليه يرجع الفضل في اكتشاف البكتيريا العصوية المثالية typical bacilli ذات النهايات المربعة squarish في دم ماشية ماتت من الجمره الخبيثة anthrax. وقد نمّى هذه البكتيريا في مزارع

(لم يكن له معملاً ولكنه كان يجري تجاربه بالمنزل) وعند فحص النمو الناتج بالمجهر تأكد أنها نوع واحد نقي من البكتيريا العصوية. وعندما حقن من هذه المزرعة في الفئران الصغيرة أظهرت الأعراض الإكلينيكية لمرض الجمرة الخبيثة. ومن هذه الحيوانات المحقونة والمصابة استطاع أن يعزل ميكروبات تشبه الميكروبات الأصلية في الماشية والأغنام المصابة والتي ماتت من الجمرة الخبيثة. وكان هذا أول إثبات بأن البكتيريا تسبب مرضاً في الحيوانات. كما أمكنه ذلك من نقل المرض خلال سلسلة من ٢٠ فاراً عن طريق التلقيح المتوالي، ولاحظ نفس الأعراض المميزة كل مرة. ثم حاول زراعة البكتيريا وذلك عن طريق خلط قطع صغيرة من طحال حيوان مصاب بقطرات من مصل معقم serum sterile، وباختبار هذا المصل مجهرياً كل ساعة، شاهد نمو البكتيريا، في هذه البيئة على صورة عصويات متصلة في خيوط طويلة ثم ظهر بها بعد مدة أجساماً لامعة بيضية الشكل اتضح له فيما بعد بأنها جراثيم spores فكانت ملاحظة جديدة. وعندما نقل جزءاً من بيئة بها جراثيم إلى نقطة من بيئة معقمة، وجد أن الجراثيم تنبت وتعطي خلايا عصوية أخرى وتسمى هذه البكتيريا الآن باسيللاس أنثراسيز *Bacillus antheracis*. وقد قام كوخ بعد ذلك بوضع ما يسمى الآن فروض كوخ Koch's postulates لإثبات أصل المرض الميكروبي etiology وهي فيما يلي:

١- يجب أن يكون الكائن الحي الدقيق مصاحباً دائماً in association في كل حالة للمرض المعين أو لعرض مرض symptom معين.

٢- يجب أن يعزل الكائن الحي الدقيق من العائل المريض وينمى في مزرعة نقية isolation in a pure culture.

٣- يجب أن يظهر هذا المرض المعين مرة أخرى عند حقن inoculation مزرعة نقية منه في العائل السليم القابل للإصابة.

٤- يجب إعادة عزل نفس الكائن الحي الدقيق مرة أخرى من العائل المعد تجريبياً.

الشكل رقم (٣). روبرت كوخ يفحص عينة في معمله (عن : Prescott, *et al.*, 1999).

• **عزل البكتيريا في مزارع نقية:** تعرف المزرعة النقية pure culture بأنها تلك المزرعة التي تحتوي على نوع واحد من الكائنات الحية الدقيقة. ويفضل استعمال مصطلح axenic culture ؛ لأن هذا المصطلح يعني وجود نوع وحيد single species من كائن حي دقيق في بيئة خالية من أي كائنات حية أخرى بغض النظر عن النقاء الوراثي للنوع. أما مصطلح pure culture فإنه يعني النقاء الوراثي للمزرعة — بمعنى أن المزرعة تحتوي على سلالة وحيدة نقية من نوع مفرد single species لسلالة مفردة single strain.

أ) جوزيف ليستر يمهد لكوخ

إن أول من حصل على مزارع بكتيرية نقية هو جوزيف ليستر Joseph Lister عام ١٨٧٨م. وذلك عن طريق استخدام سلسلة من التخفيفات serial dilutions في الأوساط السائلة إذ صمم حقنة خاصة استخدمها لتخفيف لبن يحتوي على مخلوط من البكتيريا إلى أن حصل على كائن مفرد في وعاء به لبن معقم. وبعد التحضين incubation ، كانت كتلة النمو الناتج عبارة عن خلايا لنفس النوع وكانت كلها مطابقة تماماً لخلية الأبوين ، وقد سمى ليستر هذا الكائن باكتيريام لاكتيس *Bacterium lactis*.

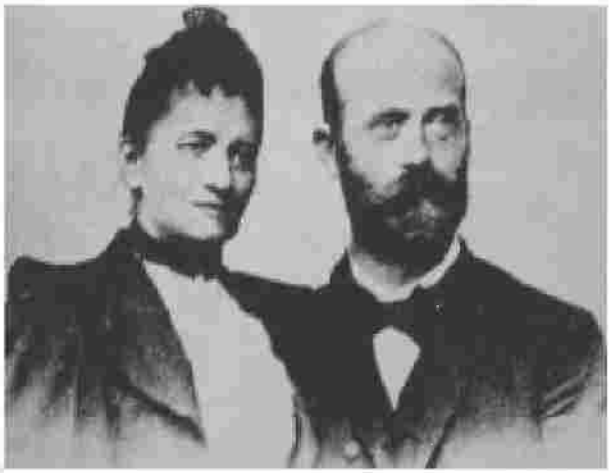
ب) تطوير كوخ لعزل المزارع النقية

كان كوخ مشغولاً بتطوير طريقة ليستر في عزل البكتيريا نقية ، فقد وجد أنه بمسح smearing البكتيريا على شريحة زجاجية ثم بإضافة بعض أنواع من الصبغات dyes فإنه يمكن رؤية وفحص الخلايا المفردة وذلك باستعمال المجهر. علاوة على ذلك ، فإنه قام بإضافة الجيلاتين gelatine وغيره من المواد الصلبة إلى البيئات السائلة حتى يتصلب solidified قوامها ومن ثم لاتنتشر النموات في الوسط السائل ولا تختلط ببعضها عندما تزرع متفرقة على سطح هذا الوسط المتصلب.

وبالفعل نجح في الحصول على سطح الجيلاتين المتصلب ، على مستعمرات colonies واضحة للعين المجردة كل واحدة تمثل ملايين الخلايا البكتيرية الناتجة من خلية واحدة مفردة. ومن هذه المستعمرات النقية وبعد اكتشاف المزارع الصلبة أمكن النقل إلى بيئات أخرى ، وبعد اكتشاف بيئة الزرع الصلبة من أهم اكتشافات كوخ.

ج) فانى هيس تحسن طريقة الأستاذ Fannie hesse

على الرغم من اكتشاف عمل البيئات الصلبة بواسطة الجيلاتين وهو مادة بروتينية تتصلب عند درجة الحرارة المنخفضة وتبدأ في الانصهار عن درجات حرارة ٢٥°م فأكثر ، إلا أنه عند انصهارها تختلط المستعمرات وفي عام ١٨٨٣م تمكنت فانى هيس Fannie Hesse وهي زوجة لأحد طلاب كوخ ، من استعمال مادة الأجار آجار Agar Agar كعامل تصليب solidifying بدلاً من الجيلاتين (الشكل رقم ٤).



الشكل رقم (٤). فاني هيس وزوجها والفرهيس (عن : Prescott, et al., 1999).

ويتميز الآجار بأنه مادة كربوهيدراتية لا تهاجم بالميكروبات ولا تنصهر عند درجات الحرارة العادية لكنها تظل صلبة بعد صهرها وخلطها بالبيئات الغذائية خاصة عند درجات الحرارة الوسطى حتى درجة ٤٢°م ، ومن ثم يمكن الحصول على مستعمرات منفصلة بعد تنمية البكتيريا عند درجة حراره ٣٧°م .

د) كوخ يعزل بكتيريا السل

استطاع كوخ أن يستفيد من إضافة الآجار إلى البيئات الغذائية في الحصول على مزرعة نقية من البكتيريا التي تسبب مرض السل "الدرن" tuberculosis ، وبذلك حصل على مزارع نقية من بكتيريا السل المسماة مايكوباكتيريام تيوبركيولوزيس *Mycobacterium tuberculosis*. وأثناء حياة باستير وكوخ كانت قد حدثت تطورات علمية ساهمت في ترسيخ وتأسيس علم الأحياء الدقيقة كان منها :

١- تطوير المجاهر المركبة.

٢- تطوير طرق عزل الأحياء الدقيقة ودراستها.

٣- تطوير استخدام الصبغات لتوضيح الأحياء الدقيقة أو بعض خصائصها.

٤- تطوير صناعة الحاضنات incubators والمعقّمات sterilizers والمرشحات البكتيرية bacterial proof filters.

آفاق جديدة للأحياء الدقيقة

New Horizons of Microbiology

١- الأحياء الدقيقة الطبية Medical Microbiology

إن نجاح كلاً من لويس باستير وروبرت كوخ قد قوبل بالتشريف والتكريم والتقدير من دولهم ومن كافة العالم فقد أصبح كوخ أستاذاً للصحة ومديراً لمعهد للأمراض المعدية الذي أسس له في جامعة برلين. أما فرنسا فقد

كرمت لويس باستير بتأسيس معهد باستير في باريس عام ١٨٨٦م وقد جاء لهذين العالمين طلاباً يدرسون على أيديهم من كل أنحاء العالم.

ومنذ ذلك الحين تسارعت الأبحاث في مجال الأحياء الدقيقة وتم اكتشاف أنواع جديدة من البكتيريا وقدرتها على إحداث الأمراض وذلك بتطبيق فرضيات كوخ. فقد أعقب اكتشاف كل من إدوين كليبس Edwin Klebs وفريدريك لوفلر Fredrick Loffler عام ١٨٨٤م لبكتيريا الدفتيريا العصوية وبيانهما بأنها تنتج السموم عند تنميتها في دوارق في المعمل ، جاء إميل فون بهرنج Emiel von Behring وشيباساييورو كيتاساتو Shibasaburo Kitasato ليكتشفا طريقة لإنتاج مناعة immunity ضد الأمراض التي تسببها هذه الكائنات عن طريق حقن سمومها poisons (toxins) في الحيوانات التي تنتج ضدها مضاداً للسم antitoxin (أي مادة تعادل السم). وبالمثل استطاع كيتاساتو وفون بهرنج von Behring صنع سم ضد بكتيرة كلوستريديام تيتاني *Clostridium tetani* المسببة لمرض الكزاز (التيتانوس: الفك المقفول lock Jaw)، وذلك من أجل منع وعلاج المرض. ولقد استطاع فون بهرنج أن يستخدم المصل المتكون فيه مضادة سم التيتانوس لعلاج البشر ووقايتهم من تكشف المرض عند إكتسابهم للعدوى. وقد منح بهرنج جائزة نوبل عام ١٩٠١م عن هذا العمل. وأثناء هذه الفترة بين كل من سالمون Salmon وليوبولد سميث Leobold Smith أن المناعة ضد العديد من الإصابات المعدية يمكن أن تنتج عن طريق حقن مزارع مقتولة من الأحياء الدقيقة.

أثناء ذلك استطاع الطبيب الروسى إيلي ميتشنيكوف Eli Metchnikoff تلميذ باستير والذي كان يعمل في معمله (١٨٤٥–١٩١٦م)، أن يصف قدرة بعض خلايا الدم البيضاء على ابتلاع ingesting البكتيريا المسببة للمرض، وقد سمى هذه العملية الابتلاع الخلوي phagocytosis. وقد استنتج ميتشنيكوف نظرية مفادها أن الابتلاع الخلوي هو أول خط دفاعي في الجسم وأنه أهم خطوط الدفاع ضد العدوى ويبين (الشكل رقم ٥) إيلى ميتشنيكوف يعمل بمعمل باستير.

الشكل رقم (٥). إيلي ميتشنيكوف يعمل بمعمل باستير (عن: Prescott, *et al*., 1999).

وفي ألمانيا كان لبعض تلاميذ كوخ مفهوماً آخر عن الكيفية التي يدمر بها الجسم البكتيريا المُعْدية: حيث بين بول إيرليك Paul Ehrlich (١٨٥٤–١٩١٥م، حاصل على جائزة نوبل) أن مناعة الجسم تعتمد على مواد معينة ذائبة في الدم. وهذه المواد هي ما نعرفها الآن بالأجسام المضادة antibodies. كما استطاع إيرليك أيضاً أن يثبت اكتشافاً هاماً فتح الباب على مصراعيه في المستقبل لتطوير مركبات العلاج الكيميائي chemotherapy والمضادات الحيوية antibiotics، إذ أنه من بين ٦٠٦ مركبات كيميائية تم اختيارها نجح مركب عضوي يحتوي على الزرنيخ arsenic في القضاء على ميكروب مرض الزهري syphilis. ولقد كانت الفترة ما بين أعوام ١٨٨٠م حتى ١٩٠٠م العصر الذهبي لعلم الأحياء الدقيقة إذا استطاع العلماء اكتشاف العوامل المسببة للأمراض البكتيرية التي أصابت البشرية بالطواعين والأوبئة عبر القرون الماضية.

أ) اكتشاف البكتيريا المسببة للأمراض المُعْدية Discovery of infectious bacteria

لقد تم إكتشاف العديد من العوامل البكتيرية المسببة لأمراض معدية في الإنسان مابين أعوام ١٨٧٧م و١٨٩٨م (الجدول رقم ١) ويرجع الفضل في هذا لفرضيات كوخ في إثبات وجود عامل مُعْدي مسبب للمرض، وكذلك أيضاً إلى تقنية المزرعة النقية pure culture. إن معرفة العامل المسبب لم يكن كافياً لمنع المرض، فبعض الأمراض البكتيرية يمكن منعها عن طريق التحكم في انتشار العامل المُعْدي. فمثلاً، أظهر جون شو John Show عام ١٨٥٣م أن الكوليرا تنتشر عن طريق الماء الملوث بالبراز البشري، وأنه يمكن التحكم في وبائيات الكوليرا بمنع استخدام هذه المياه الملوثة. وكان المدخل الآخر للتحكم في الأمراض المعدية عن طريق تحصين immunization الناس بسموم مثبطة (توكسويدات) inhibited toxins: toxoids أو بيكتيريا مضعفة attenuated غير قادرة على إحداث مرض (أي لقاح vaccine). وقد كانت الدفتيريا (الخَنَاق) والكزَّاز (التيتانوس) هما أول مرضين مولدين للسم toxogenic يتم مكافحتهما بالتحصين immunization.

الجدول رقم (١). اكتشاف الأحياء الدقيقة (البكتيريا) المسببة للأمراض.

التاريخ	المرض	العامل المسبب للمرض	المكتشف
١٨٧٦م	الجمرة الخبيثة Anthrax	*Bacillus anthracis*	روبرت كوخ Koch
١٨٧٩م	السيلان Gonorrhea	*Neisseria gonorrhoae*	ألبرت نيسر A. Neisser
١٨٨٠م	حمى التيفويد Typhoid fever	*Salmonella typhi*	ألبرث Elberth
١٨٨٠م	الملاريا Malaria	*Plasmodium spp.*	لافيران Laveran
١٨٨١م	الإصابات القيحية Pyogenic infections	*Staphylococcus aureus*	أوجستون Ogston
١٨٨٢م	السل Tuberculosis	*Mycobacterium tuberculosis*	روبرت كوخ
١٨٨٢م	الرغام Glanders	*Pseudomonas mallei*	لوفلروشوتز Loffler & Shutz
١٨٨٣م	الكوليرا Cholera	*Vibrio cholerae*	روبرت كوخ
١٨٨٣م	الدفتيريا (الخناق) Diphtheria	*Corynebacterium diphtheriae*	ثيودور كليبس

تابع الجدول رقم (١).

التاريخ	المرض	العامل المسبب للمرض	المكتشف
١٨٨٤م	الكزاز Tetanus (تيتانوس)	*Clostridium tetani*	آرثر نيكوليس A. Nicholzies
١٨٨٥م	الالتهاب الرئوي البكتيري pneumonia	*Streptococcus pneumoniae*	فرينكل Fraenkel
١٨٨٧م	الحمى المالطية Malta fever	*Brucella mallitensis*	ديفيد بروس D. Bruce
١٨٨٨م	التهاب المعدة والأمعاء Gastritis	*Salmonella entritidis*	جورج جافكي G. Gaffky
١٨٩٢م	غرغرينا غازية Gas gargarene	*Clostridium perfringens*	وليام ويلش W. Welch
١٨٩٤م	الطاعون Plague	*Yersinia pestis*	الكسندر يرسين A. Yersin
١٨٩٨م	الزحار (الدوسنتاريا) Dysentry	*Shigella dysentriae*	كيوشي شيجا K. Shiga

ب) اكتشاف الأمراض الفيروسية Discovery of viral diseases

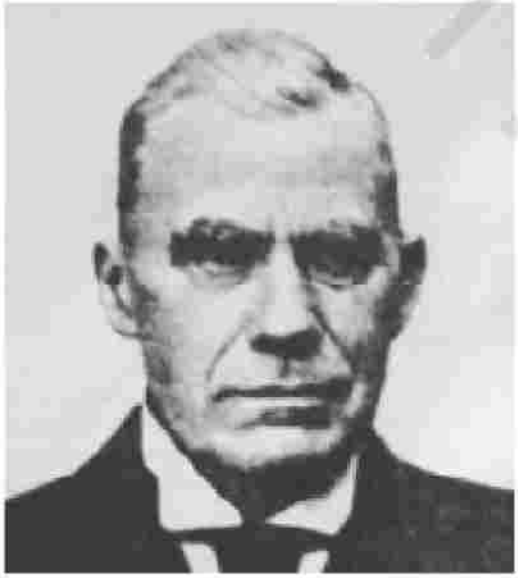
لقد استعصت بعض الأمراض البشرية على مدخل كوخ وفرضياته لإثبات العامل المسبب للمرض لأنها كانت تنتج عن فيروسات viruses والتي كانت صغيرة جداً بحيث لا يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي أو تنميتها وزراعتها على أوساط غذائية صناعية artificial media. فالفيروسات عبارة عن أحياء دقيقة غير خلوية، وهي وحدات entities أو دقائق particles لا ترى بالمجهر الضوئي، والتي تنمو فقط داخل خلايا (عوائل) حية. ففي عام ١٨٨٦م استطاع أدولف ماير Adolf Mayer أن يصف الطبيعة المُعْدية للمرض الفيروسي، فقد بين أن تبرقش التبغ tobacco mosaic هو مرض مُعْدي للنباتات. وفي عام ١٨٩٢م استطاع ديمتري إيفانوفسكي Dimetri Iwanowski إثبات أن فيروس تبرقش التبغ tobacco mosaic virus (TMV) يمكن أن يمر من المرشحات العالية ultra filters، التي كانت تستخدم آنذاك لإزالة البكتيريا من المحاليل. وبهذا فقد تم وصف الفيروسات بأنها عوامل فوق قدرة الترشيح العالي ultra filter. ولكن هذا الراشح العالي لا يحتوى على أية ميكروبات يمكن زراعتها على الأوساط الغذائية ولا يمكن مشاهدة أية أحياء دقيقة فيه تحت المجهر لذا سمي فيروس virus وهو باللاتينية يعنى سم poison. وقد استطاع مارتيناس بيجيرينك Martinus Beijerinck عام ١٨٩٨م أن يثبت أن فيروس تبرقش التبغ حي ويتكاثر داخل الخلايا وأنه يبقى حياً في الأوراق الجافة وفي التربة. كما استطاع لوفلر Loffler وفروسك Frosch بألمانيا إثبات أن مرض الحمى القلاعية foot and (FMD) mouth disease يسببه عامل فوق قدرة الترشيح العالي. وفي أوائل أعوام ١٩٠٠م تم التعرف على العديد من أمراض الإنسان التي تسببها عوامل تمر من الترشيح العالي مثل الحمى الصفراء yellow fever والسعار rabies والحصبة measles وشلل الأطفال poliomyelitis. وفي نحو نفس الفترة (١٩١٠م) استطاع بيتون راوس Pyton Rous أن يثبت أن نوعاً من السرطان في الدجاج يسببه عامل يمر من الترشيح العالي والذي عرف فيما بعد بفيروس ساركوما راوس Rous sarcoma virus. ولقد تأخرت دراسة الفيروسات كثيراً إلى ما يربو على ٥٠ عاماً؛ لأنها كانت في حاجة إلى تقنيات وأجهزة أدق، خاصة اكتشاف المجهر الإلكتروني والمواد المشعة والمزارع الخلوية والتقنيات الكيموحيوية المختلفة.

٢- المزارع المثراة تفتح مجالات الأحياء الدقيقة العامة والتطبيقية

Enrichment Cultures Open Fields of General and Applied Microbiology

حتى من قبل أن يطور روبرت كوخ تقنية المزرعة النقية فقد تعرف فرديناند كون Ferdinand Cohn عام ١٨٧٥م على أن الأشكال المختلفة للبكتيريا من عصويات أو كرويات أو ضميات أو حلزونيات ما هي إلا أطواراً في دورة حياة كائن واحد. وبمجرد أن بدأ علماء الأحياء الدقيقة في التعرف على الأنواع species البكتيرية وتنميتها في مزارع نقية فقد أدركوا أن هذه الكائنات تلعب أدواراً فسيولوجية مختلفة في البيئة.

فقد ساهم كلٌ من مارتيناس بيجيرينك Martinus Beijerinck (١٨٥١-١٩٣١م) (الشكل رقم ٦) وسيرجى فينوجرادسكى Sergei Winogradsky (١٨٥٦-١٩٥٣م) (الشكل رقم ٧) في تطوير تقنيات إثراء enrichment المزرعة، وإلى فهم علم الأحياء الدقيقة العام general microbiology. ففي عام ١٨٨٨م بين بيجيرينك بأن البكتيريا الموجودة في العقد الجذرية root nodules للنباتات البقولية (مثل البسلة والبرسيم والفاصوليا) كانت التربة مصدرها وعلى الرغم من أن الدور الفسيولوجى لهذه البكتيريا ظل غامضاً، إلا أنه أدرك أن العقد تحتوي على مزارع نقية من بكتيرة bacterium مفردة وكانت على نفس القدر الدراسات التي أجراها فينوجرادسكى على أيض metabolism الكبريت بواسطة بكتيريا بيجياتوا *Biggiatoa*. فقد أظهر فينوجرادسكى أن حبيبات الكبريت sulfur التي توجد واضحة في سيتوبلازم بيجياتوا كانت مشتقة من كبريتيد الهيدروجين (H_2S) الموجود في الوسط. وغاز كبريتيد الهيدروجين عبارة عن ملوث pollutant طبيعي في البيئة وفي النهاية تتحول حبيبات الكبريت داخل الخلايا إلى كبريتات sulfate (So_4^{-2})، التي تتحرر في الوسط، وتساهم هذه الكائنات في التدوير cyeling الطبيعي للكبريت كما أن فينوجرادسكى قد صنع أيضاً اكتشافات عظمى تتعلق بدور البكتيريا في دورة النيتروجين.



الشكل رقم (٦). مارتيناس بيجيرينك (عن: Pelczar, *et al*., 1993).

الشكل رقم (٧). سيرجي فينوجرادسكي (عن: Pelczar, *et al.*, 1993).

إن مدخل بيجيرينك وفينوجرادسكي لدراسة البكتيريا نتج عنه مفهوم الإثراءات الانتخابية selective enrichments. وفي عام ١٩٠١م وصف بيجيرينك المزارع المثراة بأنها تلك التي تحاكي mimic ظروف الطبيعة بحيث أن كائناً واحداً يكون محظوظاً بدرجة كافية ليتفوق في النمو على غيره ممن معه. وبمجرد أن يصبح الكائن المستهدف هو السائد predominant فمن الممكن الحصول على مزرعة نقية منه بواسطة عزل المستعمرات المفردة isolating individual colonies. ولقد استخدمت المزارع المثراة الإنتخابية لعزل آلاف الأجناس وأنواع البكتيريا من البيئة الطبيعية.

٣- علم الأحياء الدقيقة الزراعية والصناعية والغذائية

Agricultural, Industrial and Food Microbiology

على الرغم من أن اكتشافات علم الأحياء الدقيقة قد بدأت وتركزت وتوسعت في دراسة البكتيريا لأنها تسبب الكثير من الأمراض للإنسان، وبذلك سبقت دراسة علم الأحياء الدقيقة الطبية ما عداها من الفروع الأخرى، إلا أن علم الأحياء الدقيقة للتربة soil microbiology قد تم اكتشافه بنهايات أعوام ١٨٠٠م بواسطة سيرجي فينوجرادسكي الذي بين أهمية البكتيريا في أخذ النيتروجين من الغلاف الجوي وشبكه مع عناصر أخرى لتجعله متاحاً كغذاء للنبات ومن ثم كغذاء للحيوان. وفي عام ١٨٨٨م تم تأسيس العلاقة النفعية التبادلية symbiotic، بين البكتيريا والنباتات البقولية، مثل البرسيم والفول والبرسيم الحجازي، وذلك بواسطة إتش هيلريجيل H. Hellregel وديليو ويلفارث W. Wilfarth. وفي عام ١٩٠١م استطاع مارتيناس ويلليم بيجيرينك Martinus Wellem Beijerinck (١٨٥١-١٩٣١م)، عالم الأحياء الدقيقة الهولندي المشهور، أن يجد البكتيرة حرة المعيشة free-living المثبتة للنيتروجين nitrogen-fixing أزوتوباكتر *Azotobater* ووصف فوائدها في حفز خصوبة التربة.

أما إميل كريستيان هانسين Emil Christian Hansen وهو دنماركي فقد فتح الطرق لدراسة التخمرات الصناعية industrial fermentations. إذ أنه طوّر دراسة المزرعة النقية للخميرة yeast وللبكتيريا المستخدمة في صناعة الخل vinegar، وكذلك المزارع النقية المعروفة باسم البادئات starters والتي استخدمت بسرعة لتنشيط دراسة عمليات التخمر لكلٍ من إم.دبليو.كون M.W. Conn الأمريكي وإتش فيجمان H. Weigmann في ألمانيا اللذين نجحا في عزل بادئات المزارع النقية لإنتاج الزبد (١٨٩٠-١٨٩٧م).

وبنهاية القرن العشرين وجد تي.جيه.بيوريل T.J. Burrill (الشكل رقم ٨) الأمريكي مرضاً في البسلة يعرف باللفحة النارية fire blight كانت تسببه بكتيرة. وقد فتح هذا الاكتشاف الطريق لمجال جديد في علم الأحياء الدقيقة وهو علم أمراض النباتات plant pathology، أي دراسة أمراض النباتات. وفي عام ١٨٩٨م وصف أدولف ماير Adolf Mayer الألماني، مرض التبرقش mosaic في نبات التبغ (الدخان) ونقله إلى نباتات سليمة عن طريق حقن عصير النباتات المصابة. وفي نفس الوقت استطاع إروين سميث Erwin Smith (الشكل رقم ٩) الأمريكي من نقل مرض إصفرار الخوخ من النباتات المصابة إلى السليمة بواسطة التطعيم grafting. وهذا ما بينه دمتري إيفانوفسكي من وجود فيروسات تسبب هذه الأمراض في التبغ أو الخوخ. كما اقترح انتقال الأمراض الفيروسية عن طريق الحشرات بواسطة فلاح ياباني يدعى هاشيموتو عام ١٨٩٤م. وفي عام ١٩٠٧م أثبت ذلك بول Paul، ادامز Adams وشو Show بأمريكا. ولم يتم إثبات أن الفيروسات يمكن أن تنتقل بالحشرات من النباتات المصابة للسليمة إلا في عام ١٩١٥م وذلك بواسطة سميث Smith وبونوكيه Bunquet.

الشكل رقم (٨). بيوريل مكتشف مرض وبكتيرة اللفحة النارية (عن: Pelczar, *et al*., 1993).

الشكل رقم (٩). إدوين سميث مكتشف مرض إصفرار الخوخ وبكتيريا إروينيا (عن: Pelczar, et al., 1993).

وقد تمكن ويندل ستانلي Wendell Stanley في عام ١٩٣٥م من تنقية فيروس تبرقش التبغ والحصول عليه في صورة متبلورة. وقد شاركه في ذلك جون نورثروب John Northrup وحصلا معاً على جائزة نوبل في الكيمياء عام ١٩٤٦م عن هذا العمل. مما سبق فإننا نرى أن علم الأحياء الدقيقة قد نما وتوسع وترسخ في أقل من نصف قرن.

وقد أدت الدراسات على الأحياء الدقيقة للتربة إلى اكتشاف أن لبعضها القدرة على إنتاج المضادات الحيوية antibiotics والكيماويات الصناعية. وقد أدى هذا عقب الحرب العالمية الثانية في عام ١٩٤٠م إلى تأسيس علم الأحياء الدقيقة الصناعية.

كما مهد علم الأحياء الدقيقة للتربة إلى تأسيس دراسات عن العمليات الميكروبية في أماكن المياه مثل البحيرات والأنهار والمحيطات وهذه الدراسات هي ما يطلق عليها علم الأحياء الدقيقة للمياه Aquatic Microbiology. ويتعامل أحد فروع علم الأحياء الدقيقة للمياه مع تطوير عمليات لتوفير مياه مأمونة للمجتمع البشري. كما أن التعامل مع فضلات الإنسان، خاصة الصرف الصحي المنزلي domestic sewage قد تطلب تطوير عمليات هندسية على نظام واسع لمعاملة مياه الصرف الصحي sewage treatment. بناءً عليه، فقد تطور مجال علم الأحياء الدقيقة الصحي Sanitary Microbiology، والذي يعد تخصصاً مهماً ليس فقط بالنسبة لعلماء الأحياء ولكن أيضاً للمهندسين الذين تكون من مسؤولياتهم تصميم هذه العمليات الضخمة. ولتوفير مياه شرب آمنة، فإن الطرق المستخدمة لإزالة البكتيريا والفيروسات من مصادر المياه تم تطويرها، وهذه الطرق تنتمي لمجال يسمى علم الأحياء الدقيقة لمياه الشرب Drinking Water Microbiology. وبنهاية القرن العشرين اندمجت كل التخصصات الفرعية لعلم

الأحياء الدقيقة التطبيقية Applied Microbiology في مجال واحد سمي علم بيئة الأحياء الدقيقة Environmental Microbiology.

وبالإضافة للنواحي التطبيقية لعلم الأحياء الدقيقة والتي وفرت تطويرات وتقدمات مهمة للمجتمع البشري، فإن التطويرات الشاملة قد حدثت في فهمنا للقواعد الأساسية لوظائف الأحياء الدقيقة، ففي الجزء الأول من القرن العشرين اشتملت التطويرات المهمة في علم الأحياء الدقيقة الأساسي Basic Microbiology اكتشاف أنواع جديدة من البكتيريا وتقسيمها المضبوط proper classification وهو علم تصنيف البكتيريا Bacterial Taxonomy. إن تصنيف البكتيريا يتطلب دراسة المواد المغذية التي تستهلكها البكتيريا والمنتجات التي تصنعها، وهي دراسات تضم جزءاً من مجال فسيولوجي البكتيريا Bacterial physiology وهو أحد أجزاء علم الفسيولوجي والذي أصبح ذو أهمية عظمى. مع التقدم الحادث في القرن العشرين، شمل ذلك دراسة التركيب الفيزيائي والكيميائي للبكتيريا والتي يضمها مجال علم الخلية البكتيرية Bacterial cytology. وأحد التطورات الأخرى من علم الفسيولوجي كانت دراسة الإنزيمات البكتيرية والتفاعلات الكيميائية التي تقوم بها في مجال يسمى علم الكيمياء الحيوية البكتيرية Bacterial Biochemistry.

ومن الأماكن الأخرى المهمة جداً للأبحاث الأساسية تلك التي تضمنت دراسة الوراثة Hereditary والتباين Variation في البكتيريا التي تحدث أثناء نموها وتكشفها والدراسات التي تقع تحت هذا المجال تعرف بالوراثة البكتيرية Bacterial Genetics والتي تطورت فيما بعد لتشمل وراثة الأحياء الدقيقة Microbial Genetics. وعلى الرغم من أن بعض الأفكار كانت معروفة سابقاً في بدايات القرن العشرين عن التباين البكتيري، لكن لم يكن قبل اكتشاف التبادل الوراثي genetic exchange في البكتيريا في نحو عام ١٩٥٠م حين أصبحت الوراثة البكتيرية حقيقة مجالاً رئيساً للدراسة. إنما هي الدراسات على الفاجات (فيروسات البكتيريا) واستخدام النظائر المشعة والمزارع الخلوية (نوعاً واحداً من الخلايا) وكذلك الكيمياء الحيوية والفسيولوجي، كل ذلك أدى في الخمسينيات ١٩٥٠م وبداية الستينيات (١٩٦٠م) للتطور في فهم د.ن.أ = ح ن د (DNA) د.ن.أ = الحامض النووي منزوع الأوكسيجين — و ح ن ر (RNA) د.ن.أ وهو الحامض النووي الريبوزي، وتصنيع البروتين وهو مجال الأحياء الجزيئية Molecular biology خاصة بالنسبة للفيروسات والبكتيريا، مما فتح الباب بشكل واسع لتعميق هذه الدراسات التي أوضحت كيفية حدوث العمليات الفسيولوجية والأيضية والتعبير عن الجين (الموروثة) gene expression.

ومن التطورات المهمة الأخرى في القرن العشرين التي سهلت دراسة الفيروسات خاصة اختراع المجهر الإلكتروني. فعلى الرغم من أن الفيروسات المسببة للأمراض قد تم اكتشافها لأول مرة بنهاية القرن التاسع عشر إلا أنها ظلت من دون فهم لطبيعة الفيروسات حتى منتصف القرن العشرين. وكانت أهم هذه الدراسات قد أجريت

على الفيروسات التي تصيب البكتيريا والمسماة بكتيريوفاجات Bacteriophages. وكان أهم تطور هو التحقق من أن الإصابة الفيروسية كانت مناظرة analogous للنقل الوراثي genetic transfer كما جاءت العلاقات بين الفيروسات والعناصر الوراثية الأخرى من العمل أساساً بأبحاث عن البكتيريوفاجات.

وفي بداية سنوات ١٩٧٠م كانت المعرفة بالعمليات الأساسية للفسيولوجي والكيمياء الحيوية والوراثة بالنسبة للبكتيريا وللفيروسات، قد تقدمت بشكل كبير وعظيم لدرجة أنه أصبح من الممكن تجريبياً تناول المادة الوراثية للفيروسات وللبكتيريا ولأنواع عديدة من الكائنات الخلوية. وأصبح من الممكن تقديم المادة الوراثية (ح ن د = DNA) = د ن أ من مصادر غريبة إلى البكتيريا أو الخميرة حيث تتحكم في تكاثرها وخواصها. وقد أدى هذا إلى تطوير مجال التقنية الحيوية Biotechnology. وعلى الرغم من أن التقنية الحيوية قد نشأت أصلاً من البحوث الأساسية إلا أن استخدامها في رخاء الإنسان تطلب تطبيقاً لأساسيات الفسيولوجي ولعلم الأحياء الدقيقة الصناعية؛ وهذا مثال جيد يبين كيف تعمل الأبحاث العلمية الأساسية (البحتة) والتطبيقية للتقدم معاً. وأنه في نحو هذا الوقت تم إنجاز عمل تتابعات للحامض النووي nucleic acid sequencing واستخدامه كأداة لتأكيد علاقات الأواصر الوراثية phylogenetic relationships بين الكائنات بدائية النواة prokaryotes والتي أدت إلى مفاهيم ثورية جديدة في مجال التقسيم الأحيائي biological classification وللفهم الحقيقي لأول مرة لطبيعة التاريخ التطوري evolutionary history للأحياء الدقيقة.

٤- علم الأحياء الدقيقة والمستقبل Microbiology and the Future

على الرغم من أنه من المستحيل التنبؤ بالمستقبل لأن الغيب في علم الله سبحانه وتعالى جل شأنه وتعالت قدرته إلا أن العديد من المسالك المثيرة لعلم الأحياء الدقيقة وأبحاثه قد غيرت بشكل مثير طرق تفكيرنا عن العالم أو ربما ينتج عنها تطبيقات ثورية مثيرة في المستقبل. وفيما يلي بعض من المنظورات المدهشة لعلم الأحياء الدقيقة:

أ) التقنية الحيوية Biotechnology

إن التقدم في الهندسة الوراثية Genetic engineering قد خلق بالفعل أدوية medicines ولقاحات vaccines ومنتجات صناعية جديدة وتقنيات جديدة ثورية في مجالات متنوعة مثل علم الإجرام Criminology والزراعة. وتعد الأبحاث الجارية انتصارات مثيرة كثيرة في هذه المجالات التطبيقية وتوفر أدوات فحص جديدة من شأنها أن تفتح الأبواب واسعة على أبعاد جديدة في فهم كيف تعمل الكائنات. فمثلاً، يمكننا الآن أن نستخدم الإنزيمات البكتيرية لتضخيم amplify كمية دقيقة جداً من ح ن د (د.ن.أ = DNA) من خلية واحدة لتعطي نسخاً copies تكفي لعمل بصمة وراثية finger printing جزئية لإثبات الاتهام guilt والبراءة innocence من جريمة مشتبه فيها، ولتنسيل (إستنساخ) cloning جينات مهمة اقتصادياً أو طبياً، وحتى لعمل تتابع sequencing للشفرة الوراثية الكاملة. وقد

أدى الانتصار الهائل في دراسة الذخيرة الوراثية (الجينوم — المورِّث = genome) في البشر والأحياء الدقيقة إلى القدرة على الفهم الدقيق لعمل ونقل وزراعة وتوصيف الجينات (الموروثات genes). وتساعد الناقلات vectors من الفيروسات في زراعة الجينات البشرية المعطوبه أو المنقوصة أو التي تسبب أمراضاً.

ب) النظرية التطورية Evolutionary theory

إن بعض الأدوات الجديدة التي طوَّرها علماء الأحياء الدقيقة ألقت الضوء على العلاقات التطورية evolutionary relationships بين الأنواع species، وعلى تاريخ الحياة على الأرض بما في ذلك الكيفية التي نشأت بها الحياة أصلاً من المكونات غير الحية.

ج) الأحياء الدقيقة لمحاربة التلوث Microorganisms for fighting pollution

إن الأبحاث التي تمت والتي لا تزال تجرى بشأن صنع creating أو عزل isolating أحياء دقيقة (ميكروبات microbes) من شأنها أن تأكل (تحلل = تهضم) الزيت oil (النفط) والملوثات pollutants ربما توفر لنا العلاجات التقنية لاثنتين من المشاكل المقلقة التي تواجه الحضارة الحديثة: وهي كيف يمكن التخلص من الفضلات الخطرة؟ وكيف يمكن أن تُنظَّف الملوِّثات pollutants التي يقذف بها عرضاً في البيئة!

د) انتصارات مناعية Immunological breakthroughs

إن تحسين الفهم عن كيفية استجابة الجسم ضد المواد والميكروبات الغريبة وعما يمكن أن يحدث خطأً من تلك الاستجابة وما نتج عن ذلك من تطبيقات عملية حسنت قدرتنا على صنع عقاقير وعلاج هذه الأمراض الراهنة التي لا تشفى مثل الأيدز AIDS والتصلب المتعدد mutiplesclerosis والسرطان cancer.

هـ) التقدمات في الحرب ضد الأيدز Advances in the war against AIDS

فبالإضافة للبحث عن عقاقير تقتل الفيروس الرهيب الذي يسبب مرض الأيدز، توجد احتمالات جديدة في علاج ومنع الإيدز بما في ذلك إستراتيجيات جديدة لتحصين قدرة الجهاز المناعي كي يهاجم بفاعلية الفيروس. كما أن البحث عن لقاح vaccine فعال مازال مستمراً ومدعماً بالمداخل الجديدة مثل العلاج بالجين Gene therapy في خلايا المريض لتحسين قدرته على قتل الفيروس.

الجدول رقم (٢). بعض الأحداث المهمة في تطور علم الأحياء الدقيقة (عن بريسكوت وزملاؤه، ١٩٩٦م).

التاريخ	المكتشف	الاكتشاف
١٥١٦م	فراكاستورو Fracasyoro	اقترح أن كائنات غير مرئية تسبب أمراضاً
١٥٩٠-١٦٠٨م	جينسين Jensen	طوَّر أول مجهر مركب مفيد لأول مرة
١٦٧٦م	ليفينهوك Leewenhoek	اكتشف الحيوانات الدقيقة (الأحياء الدقيقة animalicules)

تابع الجدول رقم (٢).

التاريخ	المكتشف	الاكتشاف
١٦٨٨م	ريدى Redi	ينشر بحثاً عن التوالد الذاتي للديدان maggots
١٧٦٥–١٧٧٦م	سبالانزاني Spallanzani	يهاجم التوالد الذاتي spontaneous generation
١٧٨٦م	ميللر Muller	يضع أول تقسيم للبكتيريا
١٧٩٨م	جينر Jenner	ينتج لقاحاً جدرى البقر cawpox للتطعيم ضد جدري الإنسان
١٨٣٨–١٨٣٩م	شوان Schwan وشليدن Schleiden	نظرية الخلية
١٨٣٥–١٨٤٤م	باسّي Bassi	اكتشف مرض دودة الحرير الذى يسببه فطر واقترح أن العديد من الأمراض أصلها ميكروبات
١٨٤٧–١٨٥٠م	سيمّيلويس Semmilweis	أظهر أن حمى الفراش في الأطفال تنتقل بواسطة الأطباء وأدخل استخدام المطهرات antiseptics لمنع المرض
١٨٤٩م	سنو Snow	درس وبائيات epidemiology وباء الكوليرا في لندن
١٨٥٧م	باستير Pasteur	يثبت أن تخمر حامض اللاكتيك ينتج عن كائن حي دقيق (ميكروب)
١٨٥٨م	فيرشو Virchow	يقرر أن الخلايا تأتي من خلايا
١٨٦١م	باستير Pasteur	يظهر أن الأحياء الدقيقة لا ينشأ بواسطة الخلق الذاتي
١٨٦٧م	ليستر Lister	ينشر أعماله عن الجراحة المعقمة antiseptic surgery
١٨٦٩م	ميشير Miescher	اكتشف الأحماض النووية Nucleic acids
١٨٧٦–١٨٧٧م	كوخ Koch	يبيّن أن الجمرة الخبيثة anthrax تسببها باسيللاس أنثراسيز *Bacillus anthracis*
١٨٨١م	كوخ Koch	يزرع البكتيريا على جيلاتين
	باستير Pasteur	يطوّر لقاح الجمرة الخبيثة anthrax vaccine
١٨٨٢م	كوخ Koch	اكتشف عصوى الدرن tubercle bacillus
١٨٨٤م	كوخ Koch	ينشر فرضيات كوخ Koch's postulates
	ميتشنيكوف Metchnikoff	يصف الابتلاع الخلوي phagocytosis واكتشاف الأوتوكلاف autoclave وتطوير صبغة جرام Gram stain
١٨٨٥م	باستير Pasteur	اكتشف لقاح السعار Rabies vaccine
١٨٨٧م	ريتشارد بترى Richard Petri	طور طبق بترى Petri plate (dish)
١٨٨٧–١٨٩٠م	فينوجرادسكى Winogradsky	يدرس بكتيريا الكبريت sulphur والنيترة nitrifying
١٨٨٨م	بيجيرينك Bejerinck	يعزل بكتيريا العقد الجذرية root nodule bacteria
١٨٩٠م	فون بهرنج von Behring	تحضير مضادات السموم antibodies – antitoxins ضد الدفتيريا والتيتانوس
١٨٩٢م	إيفانوفيسكى Ivanowsky	قدم دليلاً على أن مرض تبرقش التبغ يسببه فيروس
١٨٩٥م	بورديت Bordet	اكتشف المكمّل complement وهو مكوّن في المصل يلعب أدوارا مهمة في المناعة

تابع الجدول رقم (٢).

التاريخ	المكتشف	الاكتشاف
١٨٩٧م	بوخنر Buchner	حضر مستخلصاً من الخميرة يستطيع التخمير
	روس Ross	أظهر أن طفيل الملاريا يحمله البعوض
١٩٠٠م	ريد Reed	يثبت أن الحمى الصفراء تنتقل بواسطة البعوض
١٩٠٢م	لاندشتاينر Landsteiner	يكتشف مجموعات الدم
١٩٠٣م	رايت وآخرون Wright and others	اكتشفوا الأجسام المضادة في دم الحيوانات
١٩٠٦م	شودين وهوفمان Schaudin and Hauffmann	اكتشفا تريبونيما بالليدام *Treponema pallidum* مسببة الزهري syphilis
	وازارمان Wassermann	طوّر إختبار تثبيت المكمّل للكشف عن الزهرى
	ريكتيس Ricketts	أظهر أن حمى الجبل الصخري المنقطة ينقلها القراد
١٩١٠م	إيرليك Ehrlich	طور عامل العلاج الكيميائي ضد الزهري
١٩١٥–١٩١٧م	دييريل d'Herelle وتورت Twort	اكتشفا فيروسات البكتيريا (البكتيريوفاجات)
١٩٢١م	فليمنج Fleming	اكتشف الإنزيم المحلل الهادم (لايسوزايم lysozyme)
١٩٢٣م	بيرجي Bergey	أول طبعة من كتاب بيرجي
١٩٢٨م	جريفيث Griffith	اكتشف التحول transformation في البكتيريا
١٩٢٩م	فليمنج Fleming	اكتشف البنيسيللين
١٩٣٣م	راسكا Ruska	يطوّر أول مجهر إلكتروني نفاذ
١٩٣٥م	ستانلي Stanley	بلور فيروس تبرقش التبغ TMV
	دوماك Domagk	اكتشف عقاقير السلفا
١٩٣٧م	تشاتون Chatton	قسم الكائنات الحية إلى بدائيات النواة وحقيقيات النواة
١٩٤١م	بيدل وتاتام Beadle and Tatum	فرضية جين واحد — إنزيم واحد
١٩٤٤م	آفري Avery	بين أن ح ن د (د.ن.أ = DNA) يحمل معلومات أثناء التحول
	واكسمان Wakaman	اكتشف ستربتومايسين
١٩٤٦م	ليدربرج Lederberg وتاتام Tatum	وصفا التزاوج (الإقتران) البكتيرى
١٩٥٠م	لوف Lwoff	يستحث البكتيريوفات مولّدة التحلل lysogenic
١٩٥٢م	هيرش Hershy ومارثاتشيس Martha Chase	أظهرا أن البكتيريوفاج يحقن د.ن.أ (DNA) في خلية العائل وأن د.ن.أ هو المادة الوراثية وليس البروتين
	زيندر Zinder وليدربرج Lederberg	اكتشفا التوصيل العام general transduction
١٩٥٣م		تطوير مجهر تباين الطور phase-contrast
	ميداوار Medawar	اكتشف التحمل المناعي immune tolerance

تابع الجدول رقم (٢).

التاريخ	المكتشف	الاكتشاف
	واطسون Watson وكريك Crick	اقترحا تركيب الحلزون المزدوج د.ن.أ (DNA) بناء على دراسات على المادة الوراثية الفيروسية
١٩٥٥م	جاكوب Jacob وولمان Wollman	اكتشفا أن عامل الخصوبة F عبارة عن بلازميد plasmid
	جيرن Jerne وبرنيت Burnet	اقترحا نظرية الإنتخاب النسيلي clonal selection
١٩٥٩م	يالو Yalow	طور تقنية المعايرة المناعية الإشعاعية
١٩٦١م	جاكوب Jacob و مونو Monod	اقترحا نظام المُشَغِّل (أوبيرون operon) لتنظيم عمل الموروثات (الجينات genes)
١٩٦١–١٩٦٦م	نيرنبرج Nirenberg وخوراما Khorana وغيرهم	اكتشفوا الشفرة الوراثية the genetic code
١٩٦٢م	بورتر Porter	اقترح التركيب الأساسي للجلوبيولين المناعي ج
	مجموعة	أول مخلق للمضاد الميكروبي الكينولوني (حامض ناليديكسيك nalidixic acid)
١٩٧٠م	آرثر Arthur وسميث Smith	اكتشاف الإنزيمات النووية التحديدية
	تيمين Temin وبالتيمور Baltimore	اكتشاف إنزيم النسخ العكسي
١٩٧٣م	إيمز Ames	طور معايرة بكتيرية للكشف عن المواد المطفرة والمسرطنة
١٩٧٥م	كوهلر Kohler ومايلشتاين Milstein	طورا تقنية إنتاج الأجسام المضادة وحيدة النسيلة monoclonal antibodies
	مجموعة	اكتشاف مرض لايم Lyme
١٩٧٧م	مجموعة	التعرف على البكتيريا القديمة أركيا كمجموعة ميكروبية مستقلة
١٩٧٩م	مجموعة	تخليق الإنسيولين بإستخدام تقنية معاودة ارتباط د.ن.أ DNA
١٩٨٢م	مجموعة	تطوير لقاح فيروس التهاب الكبد – ب معاود الارتباط
١٩٨٢–١٩٨٣م	كاش Cech وألتمان Altman	اكتشفا ر.ن.أ المساعد الحيوي catalytic RNA
١٩٨٣–١٩٨٤م	مونتانيه Montagnier وجالو Gallo	عزل والتعرف على فيروس نقص المناعة البشري إتش أي في HIV المسبب لمرض إيدز AIDS
	ميوليز Mullis	طور سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة Polymerase chain reaction PCR
١٩٨٦م	مجموعة	إنتاج لقاح فيروس الالتهاب الكبدي – ب لأول مرة بواسطة الهندسة الوراثية للاستخدام البشري
١٩٩٠م	مجموعة	بدء أول استخدام علاج جيني gene-therapy للإنسان
١٩٩٥م	مجموعة	أنتج لقاح الجدري المائي (العنقز chickenpox)
	مجموعة	عمل تتابعاً كاملاً sequencing لجورث هيموفيلاس إنفلونزي *Haemophilus influenzae*
١٩٩٦م	مجموعة	عمل تتابعاً كاملاً لجورث ميثانوكوكاس جانالشاي *Methanococcus jannaschii*

بتصرف عن Prescott. *et al.*, 1999.