الفصل الأول

تطور علم الأحياء الدقيقة

Development In Microbiology

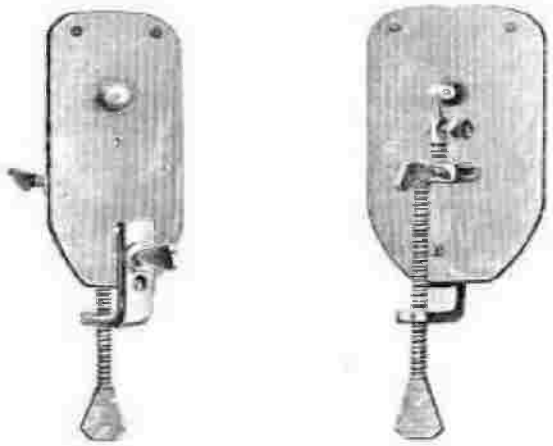
(١,١) نبذة تاريخية

يعد علم الأحياء الدقيقة فرع من فروع علم الأحياء Biology ، وقد تطور عبر السنين والأعوام حتى أصبح له تفريعات وتخصصات متعمقة توظف لخدمة الإنسان وحمايته. ويعرف علم الأحياء الدقيقة Microbiology بأنه العلم الذي يدرس الكائنات الحية المتناهية في الصغر بحيث لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة في البيئة المحيطة في اليابسة أو في الماء. ويلزم استخدام المجهر لرؤيتها أو معرفة تفاصيل تركيبها. وبذلك فعلم الأحياء الدقيقة يشمل كائنات حية دقيقة هائلة منها ما ليس له تركيب خلوي هي الفيروسات والفيرويدات ، ومنها كائنات بدائية النوى Prokaryotes هي البكتيريا والبكتيريا الزرقاء Cyanobacter ، وكائنات حقيقية النوى Eukaryotes وهذه الكائنات هي البروتوزوا Protozoa وبعض الميتازوا Metazoa والطحالب Algae والفطريات Fungi.

والحقيقة أن هذه الأعداد الهائلة من أنواع الكائنات الحية الدقيقة المنتشرة في كل مكان لم تكن معروفة من قبل. حتى تطورت صناعة العدسات وذلك لصغر حجمها ولعدم رؤيتها بالعين المجردة. والجدير بالذكر أن العالم الحسن البصري رحمه الله هو أول من اكتشف قدرة الزجاج المصقول على تكبير الأشياء الصغيرة مما يمكن من رؤيتها بوضوح. لقد اعتمد اكتشاف الكائنات الحية الدقيقة على اختراع المجهر الذي تطور خلال القرن السابع عشر. أما اكتشاف وجود الفيروسات فلم يحدث إلا بعد مرور أكثر من قرنين أي بعد اكتشاف واستعمال المجهر الإلكتروني. ويعود الفضل في اكتشاف الأحياء الدقيقة Microbes إلى المجهر الذي بدأ به تاجر الأقمشة الهولندي أنتوني فان ليفينهوك Antony van Leeuwenhoek في عام ١٦٧٢م، الذي عاش في مدينة دلفت Delft الهولندية، وكان تاجراً ذكياً يتعامل في البضائع الجافة كما كان متعدد الاهتمامات، فقد اهتم بصنع العدسات وإنتاج واستعمال المجاهر. وكان أول مجهر صنعه ليفينهوك بسيطاً جداً مكوناً من عدسة واحدة محدبة مكبرة مثبتة بين قطعتين من المعدن لفحص العينات. ومزوداً بضوابط لتوضيح المنظر وحامل للعينات والأشياء وقطرات المحاليل. وقد تمكن العالم ليفينهوك من صنع ما يقرب من مائتين وخمسين (٢٥٠) مجهراً بسيطاً تتراوح في قوة تكبيرها ما بين ٥٠-٣٠٠ مرة (Lederberg, ١٩٩٢) كما في الشكل رقم (١,١).

وهذه المجاهر التي صنعها ليفينهوك هي مجاهر بسيطة لا تقارن بالمجاهر الضوئية المستخدمة اليوم المكونة من عدسات ضوئية وعدسات شيئية يصل قوة تكبيرها إلى ألف مرة، ثم جاء بعدها المجهر الإلكتروني.

وقد تمكن العالم الهولندي ليفينهوك من اكتشاف عدد كبير من الأحياء الدقيقة بواسطة مجاهره البسيطة كما في الشكل رقم (١,٢) ولكنه لم يكن يعرف عنها شيئا.



الشكل رقم (١,١). مجهر ليفينهوك البسيط.

الشكل رقم (١,٢). كائنات حية دقيقة مختلفة.

وقد وظف هذا المجهر البسيط في فحص العديد من العينات التي جمعها من مياه الأمطار ومياه الآبار والأسنان والفم والبذور والنباتات وغيرها، ورسم أشكال هذه الكائنات الحية الدقيقة التي لاحظها أثناء فحص العينات وأرسلها في الفترة من ١٦٧٣م حتى موته عام ١٧٢٣م في عدة تقارير تجاوزت مائتي رسالة إلى الجمعية الملكية في لندن Royal Society in London.فهي الهيئة العلمية الأولى الموجودة في ذلك العصر وقد اهتمت برسومات وتقارير ليفينهوك اهتماماً كبيراً ونشرتها بين الباحثين والعلماء على الرغم من عدم إدراك الكثيرين لأهمية هذا الاكتشاف العظيم وما يترتب عليه من تطبيقات وبحوث. وتمكن ليفينهوك من نشر كتاب بعنوان ميكروجرافيا Micrographia وذلك في عام ١٦٦٥م، احتوى هذا الكتاب على رسوم ووصف لما فحصه بالمجهر من كائنات حية راقية وفطريات خيطية بما فيها العفن Molds والأصداء Rust (Brock and Madigan, ١٩٩١).

إن اكتشاف الأحياء الدقيقة الذي سجله ليفنهوك فتح الباب أمام الباحثين ولفت نظرهم إلى وجود كائنات حية دقيقة لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة تنتشر في بيئة الإنسان في كل مكان من حوله. ومن أشهر علماء ذلك العصر العالم شوان Schwann الذي اكتشف في عام ١٨٣٧م أن خلايا الخميرة هي المسئولة عن التخمر الكحولي في المحاليل السكرية وإنتاج الكحول وثاني أكسيد الكربون، وهذا ما يعرف بالنظرية الميكروبية Germ Theory التي أيدها ليفينهوك وعارضها كثير من العلماء الكيميائيين آنذاك المؤيدين لنظرية التوالد الذاتي Spontaneous Generation Theory.

(١,١,١) نظرية التوالد الذاتي Spontaneous Generation Theory

نشر العالم جون نيدهام John Nedham في عام ١٧٤٨م نتائج تجربة أثبت فيها من خلال المجهر أن البكتيريا نشأت بأعداد كبيرة ذاتياً في مكان لم يوجد فيه أي كائن حي من قبل، حيث قام بوضع مرق اللحم في دورق أحكم قفله بالفلين وقام بتسخينه إلى الغليان لضمان قتل جميع الكائنات التي قد توجد فيه والتأكد من خلوه منها. فشاهد كائنات دقيقة لم تكن موجودة من قبل في مرق اللحم.

وفي عام ١٧٦٥م جاء العالم إسبالنزاني Spallenzani وأدخل بعض التعديلات التحسينية على تجارب نيدهام. حيث قام بغلي مرق اللحم لمدة ساعة بدورق زجاجي قفل فوهته بإحكام بواسطة اللهب وليس بقطعة فلين وذلك قبل غلي محتوياته. وأثبت من خلال تكرار هذه التجربة أن الفحص المجهري للعينات لم يلاحظ به فيما بعد أي كائنات دقيقة وظل المرق رائقاً أمام العين المجردة. وظل هناك جدل كبير بين العلماء والباحثين وانقسموا بين معارض ومؤيد لمدة وصلت إلى حوالي سبعين سنة. فمنهم من يرى أن مرور الهواء لابد منه لنشوء الكائنات الدقيقة من المرق نفسه. ثم قام كل من شرودر Schroeder ودتش Dutch في عام ١٨٥٠م بإجراء تجربة أكثر إقناعاً للعلماء،

حيث مرروا الهواء خلال أنبوبة محتوية على كمية من القطن قبل تمريرها في المرق المغلي لحجز الأحياء الدقيقة من الهواء القادم من الخارج (Wistriech and Lechtman, ١٩٨٨).

ثم جاء العالم لويس باستير Louis Pasteur الذي عاش في الفترة من ١٨٢٢ - ١٨٩٥م ويعتبره العلماء الأب الحقيقي لعلم الأحياء الدقيقة. وقد تمكن باستير من نشر نتائج أبحاثه في جامعة السوربون في فرنسا، وبدأ أبحاثه في ذلك الوقت على التخمر الكحولي. ويعد باستير أول من ربط بين أمراض الإنسان والكائنات الحية الدقيقة المسببة لها. في عام ١٨٦٤م قضى باستير على نظرية التوالد الذاتي قضاءً تاماً، حيث صمم تجربتين قدم من خلالهما دليلاً قاطعاً على عدم صحة هذه النظرية. ففي التجربة الأولى وضع المرق في دورق له عنق طويلة وملتوية وضيقة الفتحة وكانت محتويات الدورق في غليان مستمر مما حدث عنه تفريغ جزئي وطرد لهواء الدورق وما فيه من الأحياء الدقيقة ثم أحكم الإغلاق باللهب، وفي هذه التجربة لم يظهر في المرق أي من الميكروبات كما في الشكل رقم (١,٣). وفي التجربة الثانية أثبت أن الكائنات الحية الدقيقة لا توجد من لا شيء أو من اللحم المتحلل أو مادة أخرى، حيث قام بفحص الأجسام العالقة في سدادات القطن فوجد فيها أجساماً ومكونات تشبه تلك التي رسمها ونشرها ليفينهوك من قبل.

الشكل رقم. (١,٣) تجربة لويس باستير.

والجدير بالذكر أن العالم لويس باستير هو من جاء بعملية البسترة Pasteurization وسميت باسمه وتتلخص في تسخينه للعصير إلى ٦٥ درجة مئوية لمدة نصف ساعة. فهي عملية تسخين السائل إلى درجة حرارة ٦٥- ١٠٠م° لفترة قصيرة حيث تقتل الخلايا الخضرية للميكروبات الملوثة ولكن معظم الجراثيم لا تتأثر بعملية البسترة. وهذه الطريقة شائعة الاستعمال في اللبن لتجنب فساد الطعام الذي يمكن أن يحدث عند استخدام درجة حرارة أعلى من ذلك. وبعد ذلك شاع استعمال عملية البسترة في الألبان وعصائر الفاكهة الطازجة لمنع تلوثها وانتشار الأمراض من خلالها بين الناس. ثم درس باستير بعد نجاحه في حل مشاكل التخمر في فرنسا مرض ديدان الحرير ومرض الجمرة الخبيثة Anthrax ، وقد أطلق كلمة تخمر Fermentation على تحليل السكريات لا هوائياً بواسطة الكائنات الحية الدقيقة. والجدير بالذكر أن باستير هو من وضع أسس علم المناعة Immunology مستفيداً في ذلك من فروض العالم كوخ Koch المعاصر له الذي عاش في الفترة من ١٨٤٣م- ١٩١٠م ووضع الفروض الأربعة التي

عُرِفَت باسم فروض كوخ Koch's postulates وبها كانت الانطلاقة الفعلية وبدأ العصر الذهبي لعلم الميكروبيولوجيا الطبية Medical Microbiology منذ ذلك التاريخ.

(١,١,٢) النظرية الميكروبية Germ Theory

تقوم النظرية الميكروبية على أساس الافتراض الذي أثبته لويس باستير وهو أن الكائنات الحية الدقيقة تنشأ من أصول مشابهة لها في الصفات والخواص ولا تأتي من العدم. وقديماً كان يرى الأطباء الرومانيون والإغريقيون بأن هناك عوامل دقيقة غير مرئية تعمل على نقل المرض بطريقة أو بأخرى من شخص إلى آخر. وكان هناك افتراض سائد لدى علماء العصور الوسطى مفاده أن الأمراض تنشأ نتيجة لوجود عامل حي معدٍ أو ما يعرف ببذور المرض Seeds of disease. والجدير بالذكر أن العالم روبرت كوخ Koch (١٨٤٣-١٩١٠م) يعد أول من أشار إلى أن البكتيريا هي المسئولة عن إحداث الأمراض (النخال، ١٩٩٨م)، حيث بين في عام ١٨٧٦م أن بكتيريا *Bacillus anthrax* هي إحدى مكونات الأبواغ المسببة لمرض حمى الجمرة الخبيثة Anthrax التي كانت منتشرة بشكل وبائي كبير بين حيوانات الماشية والإنسان. وتوصل العالم كوخ إلى أن هناك عصيات حية Living bacilli دقيقة تمكن من تنميتها في مزارع متتالية وحقنها في حيوانات التجارب التي أصيبت بنفس المرض، وهذا دليل عملي قاطع أثبت من خلاله العالم كوخ العلاقة بين المرض والكائن الحي الدقيق المسبب له. ثم توالت جهود العلماء واكتشافاتهم في مجال الأحياء الدقيقة امتداداً لما قدمه العالم لويس باستير وغيره، مثل العالِمَين كلبس ولوفر Klebs and Loeffler اللذين تمكنا في عام ١٨٨٤م من اكتشاف ميكروب الدفتيريا. واكتشف الباحثون الميكروبات المسببة للكثير من الأمراض، وسبل الوقاية منها، وميكانيكية جسم الإنسان الدفاعية ضد

الميكروبات. وعلى الرغم من ذلك، فإنه لم يثبت أن الأمراض تتسبب عن الميكروبات إلا بعد انقضاء القرن التاسع عشر الميلادي.

وقد وجد العلماء أن هناك جوانب أخرى تتعلق باكتشافات الأحياء الدقيقة ولا تقتصر على قدرتها على إحداث الأمراض فقط. فقد اكتشف العالم وينوجرادسكي Winogradsky في عام ١٨٠٥م أن الكائنات الحية الدقيقة تلعب دوراً هاماً في عملية تثبيت غاز النيتروجين الجوي وتحويله إلى صورة نيتريت Nitrate يستطيع النبات امتصاصها مع الماء وتوظيفها في تغذية النبات. ثم في عام ١٩٠٠م جاء العالم بايرينيك Beijerinck الذي سجل اكتشافاً لأنواع أخرى من الكائنات الحية الدقيقة القادرة على تثبيت النيتروجين الجوي وأكسدته ليصبح صالحاً لتغذية النبات (أبو زنادة، ١٤٠٣هـ؛ Brock and Madigan, ١٩٩١).

إذا كان المجهر هو القائد والمعين بعد الله للعلماء في اكتشاف الأحياء الدقيقة وأشكالها المختلفة، فإن اكتشافات طبيعة الأحياء الدقيقة وتراكيبها وخصائصها من بكتيريا وفيروسات لم يتم إلا بعد اكتشاف المجهر الإلكتروني Electronic microscope في منتصف القرن العشرين الميلادي. فبعد المجهر الإلكتروني تمكن العلماء من إجراء أبحاث دقيقة ودراسات تفصيلية عن الأحياء الدقيقة، وطبيعتها، وطرق معيشتها، وتصنيفها، وتقسيمها إلى ذات نواة بدائية شملت البكتيريا، والبكتيريا الزرقاء، وأخرى ذات نواة حقيقية مثل الفطريات والطحالب.

كما تم نقل الفيروسات من المملكة النباتية لكونها غير خلوية- أي ليس لها خلايا محددة بجدار خلوي- بل هي عبارة عن جسيمات Particles متناهية في الصغر تمر من المرشحات البكتيرية، وتحتوي على حَمض نووي مغلف بغلاف بروتيني. وفي الثمانينيات من القرن العشرين اكتشف العلماء كائنات أصغر من الفيروسات، وهي: الفيرويدات Viroids، تسبب أمراضاً متنوعة للنباتات والحيوانات. وهي مجرد سلسلة

منفردة من الحَمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين Single stranded RNA تحتوي في بعض أجزاء منها على سلسلة مزدوجة Double stranded وليس له غلاف بروتيني كما هو الحال في الفيروسات.

(١,١,٣) الوضع التقسيمي للأحياء الدقيقة Classification in Microbiology

لقد قام علماء الأحياء منذ زمن بعيد بتقسيم الكائنات الحية إلى مملكتين هما: مملكة النبات Plantae، ومملكة الحيوان Animalia، إلا أنه بقيت بعض الكائنات الحية وحيدة الخلية التي لا يمكن وضعها ضمن المملكة النباتية أو المملكة الحيوانية، لذا اقترح البيولوجي الألماني إرنست هيكل Ernest Haeckel في العام ١٨٦٦م وضع مملكة ثالثة تقتصر على الكائنات وحيدة الخلية أطلق عليها اسم مملكة الطلائعيات Protista.

و في العام ١٩٤٢م وضع العالم تيبو Tippo تحت مملكة النباتات الثالوسية (الخيطية) Subkingdom Thallophyta جمع فيها كلاً من الطحالب Phycophyta والفطريات Mycophyta. ثم لاحظ الباحثون أن البكتيريا Bacteria، و البكتيريا الزرقاء Cyanobacteria هي كائنات وحيدة الخلية تفتقر إلى نواة حقيقية Nucleus، ولذلك فإنه لا يمكن جمعها مع الكائنات وحيدة الخلية حقيقية النوى، لذا اقترح كوبلاند Copeland في العام ١٩٥٦م وضع مملكة رابعة أطلق عليها اسم البدائيات Monera، تضم الكائنات الحية بدائية النوى (البكتيريا، والبكتيريا الزرقاء). أما العالم وايتكر Whittaker فقد لاحظ عدم التجانس في مملكة الطلائعيات، فقام في عام ١٩٦٩م بفصل الفطريات في مملكة مستقلة، ووضع الطحالب مع النباتات الراقية ضمن مملكة النبات، ونشر تصنيفه الجديد الحاوي على خمس ممالك كما هو مبين بإيجاز فيما يلي، (Whittaker,١٩٦٩):

أ- مملكة البدائيات	A-Kingdom: Monera
- البكتيريا	- Bacteria
- البكتيريا الزرقاء	- Blue-green-bacteria
ب- مملكة الطلائعيات	B- Kingdom: Protista
- وحيدات الخلية الحيوانية	- Protozoa
- الطحالب الذهبية	- Chrysophytes
- الفطريات اللزجة	- Slime molds
ج - مملكة النبات	C- Kingdom: Plantae
- الطحالب الخضراء	- Green algae
- الطحالب البنية	- Brown algae
- الطحالب الحمراء	- Red algae
-النباتات الحزازية	- Bryophytes
- النباتات الوعائية	-Tracheophytes
د - مملكة الفطريات	D- Kingdom: Fungi
- الفطريات الحقيقية	- True fungi
هـ - مملكة الحيوان	E - Kingdom: Animalia
- الحيوانات عديدة الخلايا	- Multicellular animals

يعتبر تقسيم وايتكر أكثر التصنيفات قبولاً واستخداماً في الوقت الراهن، إلا أنه لم يخل من بعض التناقضات التي أقرها وايتكر بنفسه، والتي دفعت بعض الباحثين إلى إدخال بعض التعديلات عليه. لقد وجد العالم مارجيليس Margulis في عام ١٩٧١م

أنه من غير المقبول توزيع الطحالب التي تشترك مع بعضها في كثير من الصفات في مملكتين (مملكة الطلائعيات و مملكة النباتات) لذا قام بإدخال بعض التعديلات على النظام التقسيمي الذي وضعه وايتكر، حيث قام بضم جميع الطحالب إلى مملكة الطلائعيات، وقام أيضاً بنقل بعض المجموعات من مملكة الفطريات ومن مملكة الحيوان إلى مملكة الطلائعيات، وذلك كله وفقاً للمخطط المختصر التالي (Margulis, ١٩٧١) :

١- مملكة البدائيات (Monera): بقيت كما هي في تصنيف وايتكر.

٢- مملكة الطلائعيات (Protista):

- الطحالب Algae
- الحيوانات الأولية Protozoa
- الفطريات الأولية (كالفطريات اللزجة Myxomycota، والفطريات البيضية Oomycota، والفطريات الكتيريدية Chytridiomycota ، والفطريات البلازمودية Plasmodiophoromycota ،...)

٣- مملكة الفطريات (Fungi) :

- الفطريات الزيجوتية Zygomycota
- الفطريات الزقية Ascomycota
- الفطريات البازيدية Basidiomycota

٤ - مملكة النبات (Plantae) :

- النباتات الحزازية Bryophyta
- النباتات الوعائية Tracheophyta

٥ - مملكة الحيوان (Animalia) :

- الحيوانات عديدة الخلايا.

يتوافق تعديل العالم شترن، مع التعديل المطروح من قبل مارجليس (Margulis, ١٩٩٠ , ١٩٧٤ , ١٩٧١) إلى حد كبير، إلا أنه وبناءً على نتائج التقنيات العلمية الحديثة قام شترن (Stern ٢٠٠٠) بإدخال بعض التعديلات على نظام الممالك الخمس كإدخال تحت ممالك ضمن مملكتي البدائيات والطلائعيات، وكذلك تقسيم مملكة الفطريات إلى أربعة أقسام بدلاً من ثلاثة، وتقسيم مملكة النبات إلى ١٢ قسماً بدلاً من اثنين.

اقترح جيفري في عام ١٩٨٣م (Jeffrey, ١٩٨٣) فصل الكائنات الحية إلى فوق مملكتين: فوق مملكة بدائيات النوى Prokaryotes، وفوق مملكة حقيقيات النوى Eukaryotes، بدلاً من تقسيمها إلى نباتات وحيوانات. وقام بتقسيم فوق مملكة حقيقيات النوى إلى ثلاث ممالك هي الفطريات والنباتات والحيوانات، حيث اعتبر الطلائعيات تحت مملكة تم ضمها إلى مملكة النبات. وقام بتقسيم فوق مملكة بدائيات النوى إلى مملكتين هما البكتيريا والأركيوبكتيريا. ويبدو تقسيم جيفري والتقسيمات المشابهة له (Cavalier- Smith, ١٩٨١) مثار جدل كبير في الوقت الراهن، إلا أنه قد أجمعت آراء كثيرة على الفصل بين بدائيات وحقيقيات النوى، وإذ يبدو الأمر سهلاً إلى حد ما بالنسبة للمجموعات المنطوية تحت حقيقيات النوى، يظهر الاختلاف الكبير في الآراء في عدد المجموعات المكونة لحقيقيات النوى.

يُلاحظ في جميع التصنيفات السابقة أنه لم يتم إدراج الفيروسات Viruses في أي من ممالك الكائنات الحية، حيث إنه لا يزال هناك نقاش كبير بين العلماء بشأن اعتبار الفيروسات كائنات حية، فهي عبارة عن تراكيب خلوية لها صفات الجماد أحياناً ولها صفات الكائنات الحية أحياناً أخرى (مقدرتها على التضاعف وزيادة العدد داخل أجسام الكائنات الحية)، كما أن مادتها النووية لا تتبع في تركيبها لبدائيات النوى ولا إلى حقيقيات النوى. لذلك يتم التطرق إلى الفيروسات كمجموعة مستقلة خارج أنظمة

تقسيم الكائنات الحية، وهذا ما سأتبعه عند عرض الفيروسات والحديث عنها ضمن الأحياء الدقيقة.

نستخلص من مجمل ما تقدم أن عدد أنواع الكائنات الحية التي تعمر الأرض أكبر من أي تصور، ولقد حاول علماء التصنيف منذ البدء حصر الكائنات الحية في مجموعات محدودة يسهل فهمها؛ ولذا كان الفصل أولاً بين النباتات والحيوانات، إلا أن الدراسات الحديثة سواء الكيميائية منها أو تلك التي تستخدم المجهر الإلكتروني، أو تلك التي في مجال علم الوراثة الجزيئية Molecular genetics جعلت من تصنيف الكائنات الحية عملية ديناميكية متغيرة باستمرار نتيجة زيادة الدقة العلمية يوماً بعد يوم ورؤية الحقائق بصورة أكثر شمولية. ونظراً للتناقض بين أنظمة التصنيف المختلفة في كثير من الأحيان، وعدم كفاية أي منها منفرداً في إيصال المعلومة بالشكل الذي نرجوه، يخطئ المرء إن اعتقد أن نظاماً ما هو الأمثل لتقسيم الكائنات الحية.