

Chapter 2

Vectors for Gene Cloning: Plasmids and Bacteriophages

Chapter contents

CHAPTER CONTENTS

2.1 Plasmids

2.2 Bacteriophages

A DNA molecule needs to display several features to be able to act as a vector for gene cloning. Most importantly it must be able to replicate within the host cell, so that numerous copies of the recombinant DNA molecule can be produced and passed to the daughter cells. A cloning vector also needs to be relatively small, ideally less than 10 kb in size, as large molecules tend to break down during purification, and are also more difficult to manipulate. Two kinds of DNA molecule that satisfy these criteria can be found in bacterial cells: plasmids and bacteriophage chromosomes.

2.1 Plasmids

Plasmids are circular molecules of DNA that lead an independent existence in the bacterial cell (Figure 2.1). Plasmids almost always carry one or more genes, and often these genes are responsible for a useful characteristic displayed by the host bacterium. For example, the ability to survive in normally toxic concentrations of antibiotics such as chloramphenicol or ampicillin is often due to the presence in the bacterium of a plasmid carrying antibiotic resistance genes. In the laboratory, antibiotic resistance is often used as a **selectable marker** to ensure that bacteria in a culture contain a particular plasmid (Figure 2.2).

Most plasmids possess at least one DNA sequence that can act as an **origin of replication**, so they are able to multiply within the cell independently of the main bacterial

Figure 2.1

Plasmids: independent genetic elements found in bacterial cells.

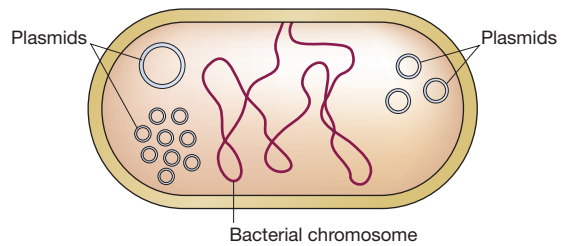
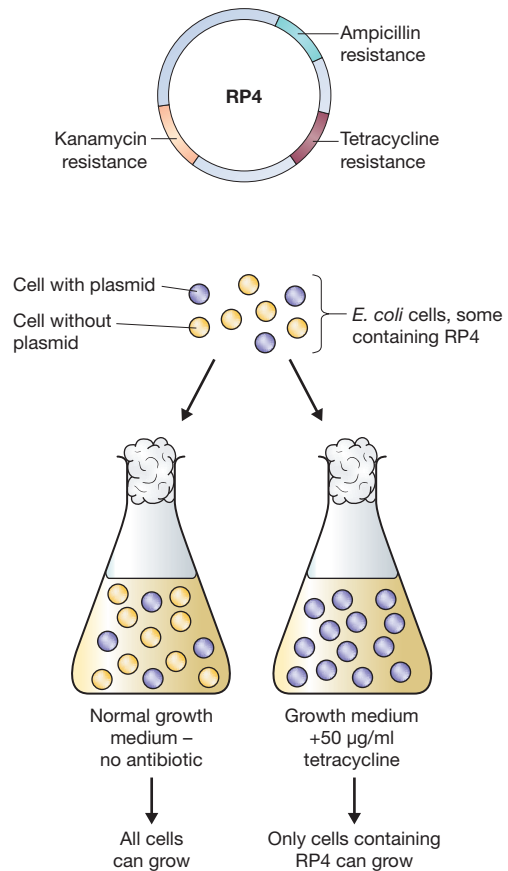


Figure 2.2

The use of antibiotic resistance as a selectable marker for a plasmid. RP4 (top) carries genes for resistance to ampicillin, tetracycline and kanamycin. Only those *E. coli* cells that contain RP4 (or a related plasmid) are able to survive and grow in a medium that contains toxic amounts of one or more of these antibiotics.



chromosome (Figure 2.3a). The smaller plasmids make use of the host cell's own DNA replicative enzymes in order to make copies of themselves, whereas some of the larger ones carry genes that code for special enzymes that are specific for plasmid replication. A few types of plasmid are also able to replicate by inserting themselves into the bacterial chromosome (Figure 2.3b). These integrative plasmids or **episomes** may be stably maintained in this form through numerous cell divisions, but always at some stage exist as independent elements.

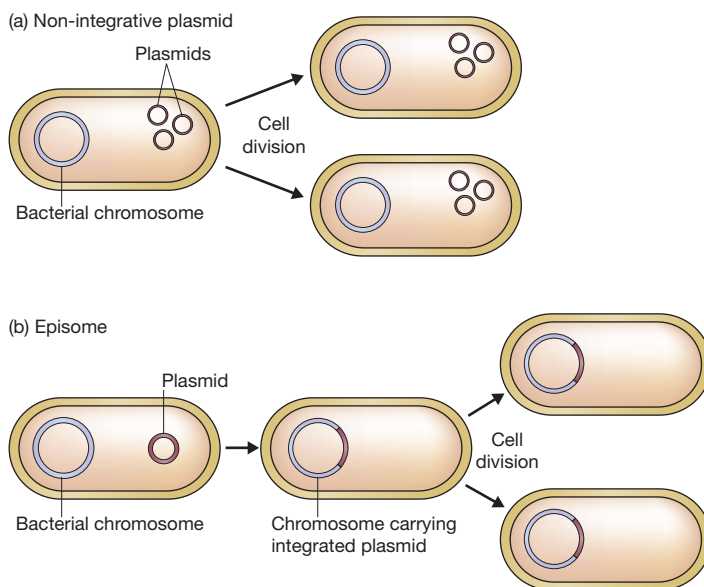


Figure 2.3

Replication strategies for (a) a non-integrative plasmid, and (b) an episome.

Table 2.1

Sizes of representative plasmids.

PLASMID	SIZE		ORGANISM
	NUCLEOTIDE LENGTH (kb)	MOLECULAR MASS (MDa)	
pUC8	2.1	1.8	<i>E. coli</i>
ColE1	6.4	4.2	<i>E. coli</i>
RP4	54.0	36.0	<i>Pseudomonas</i> and others
F	95.0	63.0	<i>E. coli</i>
TOL	117.0	78.0	<i>Pseudomonas putida</i>
pTiAch5	213.0	142.0	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>

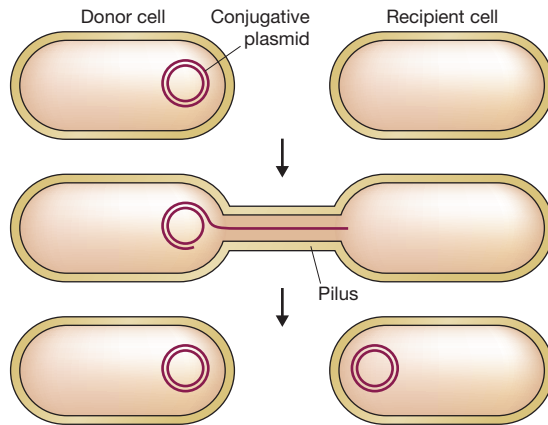
2.1.1 Size and copy number

The size and **copy number** of a plasmid are particularly important as far as cloning is concerned. We have already mentioned the relevance of plasmid size and stated that less than 10 kb is desirable for a cloning vector. Plasmids range from about 1.0 kb for the smallest to over 250 kb for the largest plasmids (Table 2.1), so only a few are useful for cloning purposes. However, as we will see in Chapter 7, larger plasmids can be adapted for cloning under some circumstances.

The copy number refers to the number of molecules of an individual plasmid that are normally found in a single bacterial cell. The factors that control copy number are not well understood. Some plasmids, especially the larger ones, are **stringent** and have a

Figure 2.4

Plasmid transfer by conjugation between bacterial cells. The donor and recipient cells attach to each other by a pilus, a hollow appendage present on the surface of the donor cell. A copy of the plasmid is then passed to the recipient cell. Transfer is thought to occur through the pilus, but this has not been proven and transfer by some other means (e.g. directly across the bacterial cell walls) remains a possibility.



low copy number of perhaps just one or two per cell; others, called **relaxed** plasmids, are present in multiple copies of 50 or more per cell. Generally speaking, a useful cloning vector needs to be present in the cell in multiple copies so that large quantities of the recombinant DNA molecule can be obtained.

2.1.2 Conjugation and compatibility

Plasmids fall into two groups: conjugative and non-conjugative. Conjugative plasmids are characterized by the ability to promote sexual **conjugation** between bacterial cells (Figure 2.4), a process that can result in a conjugative plasmid spreading from one cell to all the other cells in a bacterial culture. Conjugation and plasmid transfer are controlled by a set of transfer or *tra* genes, which are present on conjugative plasmids but absent from the non-conjugative type. However, a non-conjugative plasmid may, under some circumstances, be cotransferred along with a conjugative plasmid when both are present in the same cell.

Several different kinds of plasmid may be found in a single cell, including more than one different conjugative plasmid at any one time. In fact, cells of *E. coli* have been known to contain up to seven different plasmids at once. To be able to coexist in the same cell, different plasmids must be **compatible**. If two plasmids are incompatible then one or the other will be rapidly lost from the cell. Different types of plasmid can therefore be assigned to different **incompatibility groups** on the basis of whether or not they can coexist, and plasmids from a single incompatibility group are often related to each other in various ways. The basis of incompatibility is not well understood, but events during plasmid replication are thought to underlie the phenomenon.

2.1.3 Plasmid classification

The most useful classification of naturally occurring plasmids is based on the main characteristic coded by the plasmid genes. The five major types of plasmid according to this classification are as follows:

- **Fertility** or **F plasmids** carry only *tra* genes and have no characteristic beyond the ability to promote conjugal transfer of plasmids. A well-known example is the F plasmid of *E. coli*.

- **Resistance or R plasmids** carry genes conferring on the host bacterium resistance to one or more antibacterial agents, such as chloramphenicol, ampicillin, and mercury. R plasmids are very important in clinical microbiology as their spread through natural populations can have profound consequences in the treatment of bacterial infections. An example is RP4, which is commonly found in *Pseudomonas*, but also occurs in many other bacteria.
- **Col plasmids** code for colicins, proteins that kill other bacteria. An example is ColE1 of *E. coli*.
- **Degradative plasmids** allow the host bacterium to metabolize unusual molecules such as toluene and salicylic acid, an example being TOL of *Pseudomonas putida*.
- **Virulence plasmids** confer pathogenicity on the host bacterium; these include the **Ti plasmids** of *Agrobacterium tumefaciens*, which induce crown gall disease on dicotyledonous plants.

2.1.4 Plasmids in organisms other than bacteria

Although plasmids are widespread in bacteria they are by no means as common in other organisms. The best characterized eukaryotic plasmid is the **2 μ m circle** that occurs in many strains of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The discovery of the 2 μ m plasmid was very fortuitous as it allowed the construction of cloning vectors for this very important industrial organism (p. 105). However, the search for plasmids in other eukaryotes (such as filamentous fungi, plants and animals) has proved disappointing, and it is suspected that many higher organisms simply do not harbor plasmids within their cells.

2.2 Bacteriophages

Bacteriophages, or phages as they are commonly known, are viruses that specifically infect bacteria. Like all viruses, phages are very simple in structure, consisting merely of a DNA (or occasionally ribonucleic acid (RNA)) molecule carrying a number of genes, including several for replication of the phage, surrounded by a protective coat or **capsid** made up of protein molecules (Figure 2.5).

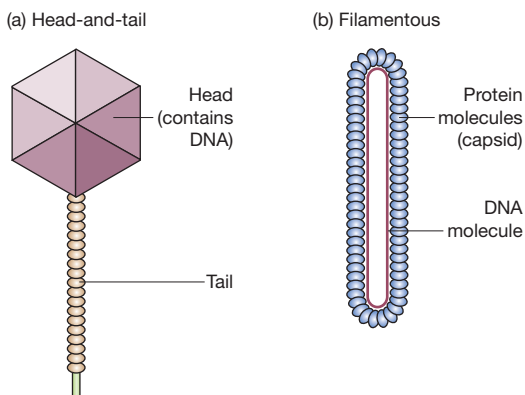


Figure 2.5

The two main types of phage structure: (a) head-and-tail (e.g. λ); (b) filamentous (e.g. M13).

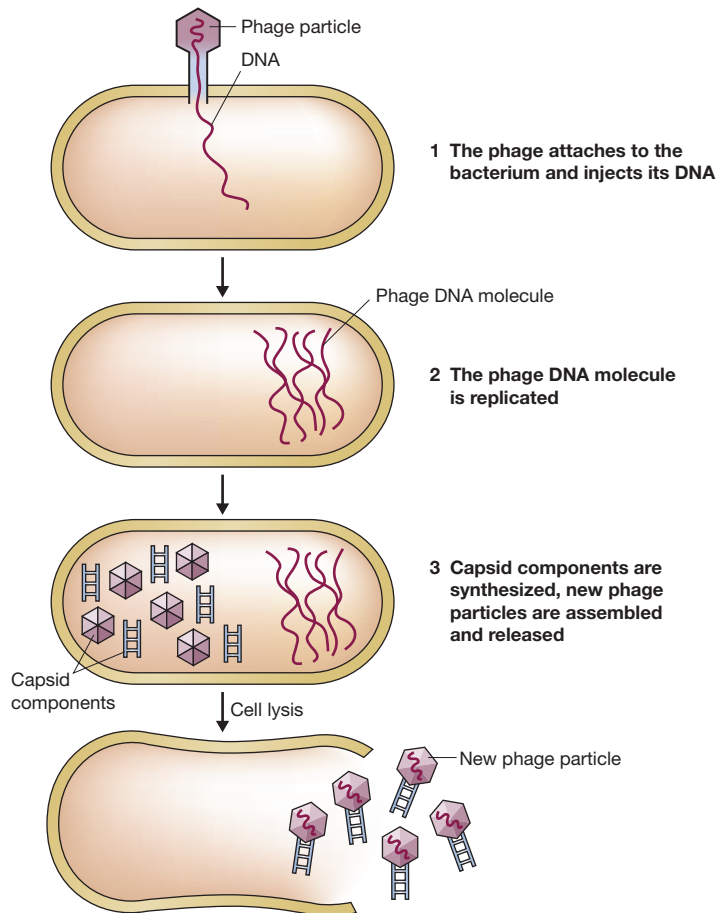


Figure 2.6

The general pattern of infection of a bacterial cell by a bacteriophage.

2.2.1 The phage infection cycle

The general pattern of infection, which is the same for all types of phage, is a three-step process (Figure 2.6):

- 1 The phage particle attaches to the outside of the bacterium and injects its DNA chromosome into the cell.
- 2 The phage DNA molecule is replicated, usually by specific phage enzymes coded by genes in the phage chromosome.
- 3 Other phage genes direct synthesis of the protein components of the capsid, and new phage particles are assembled and released from the bacterium.

With some phage types the entire infection cycle is completed very quickly, possibly in less than 20 minutes. This type of rapid infection is called a **lytic cycle**, as release of the new phage particles is associated with lysis of the bacterial cell. The characteristic feature of a lytic infection cycle is that phage DNA replication is immediately followed

by synthesis of capsid proteins, and the phage DNA molecule is never maintained in a stable condition in the host cell.

2.2.2 Lysogenic phages

In contrast to a lytic cycle, **lysogenic** infection is characterized by retention of the phage DNA molecule in the host bacterium, possibly for many thousands of cell divisions. With many lysogenic phages the phage DNA is inserted into the bacterial genome, in a manner similar to episomal insertion (see Figure 2.3b). The integrated form of the phage DNA (called the **prophage**) is quiescent, and a bacterium (referred to as a **lysogen**) that carries a prophage is usually physiologically indistinguishable from an uninfected cell. However, the prophage is eventually released from the host genome and the phage reverts to the lytic mode and lyses the cell. The infection cycle of **lambda** (λ), a typical lysogenic phage of this type, is shown in Figure 2.7.

A limited number of lysogenic phages follow a rather different infection cycle. When **M13** or a related phage infects *E. coli*, new phage particles are continuously assembled and released from the cell. The M13 DNA is not integrated into the bacterial genome and does not become quiescent. With these phages, cell lysis never occurs, and the infected bacterium can continue to grow and divide, albeit at a slower rate than uninfected cells. Figure 2.8 shows the M13 infection cycle.

Although there are many different varieties of bacteriophage, only λ and M13 have found a major role as cloning vectors. We will now consider the properties of these two phages in more detail.

Gene organization in the λ DNA molecule

λ is a typical example of a head-and-tail phage (see Figure 2.5a). The DNA is contained in the polyhedral head structure and the tail serves to attach the phage to the bacterial surface and to inject the DNA into the cell (see Figure 2.7).

The λ DNA molecule is 49 kb in size and has been intensively studied by the techniques of gene mapping and DNA sequencing. As a result the positions and identities of all of the genes in the λ DNA molecule are known (Figure 2.9). A feature of the λ genetic map is that genes related in terms of function are clustered together in the genome. For example, all of the genes coding for components of the capsid are grouped together in the left-hand third of the molecule, and genes controlling integration of the prophage into the host genome are clustered in the middle of the molecule. Clustering of related genes is profoundly important for controlling expression of the λ genome, as it allows genes to be switched on and off as a group rather than individually. Clustering is also important in the construction of λ -based cloning vectors, as we will discover when we return to this topic in Chapter 6.

The linear and circular forms of λ DNA

A second feature of λ that turns out to be of importance in the construction of cloning vectors is the conformation of the DNA molecule. The molecule shown in Figure 2.9 is linear, with two free ends, and represents the DNA present in the phage head structure. This linear molecule consists of two **complementary** strands of DNA, base-paired according to the **Watson–Crick rules** (that is, double-stranded DNA). However, at either end of the molecule is a short 12-nucleotide stretch in which the DNA is single-stranded (Figure 2.10a). The two single strands are complementary, and so can base pair with one another to form a circular, completely double-stranded molecule (Figure 2.10b).

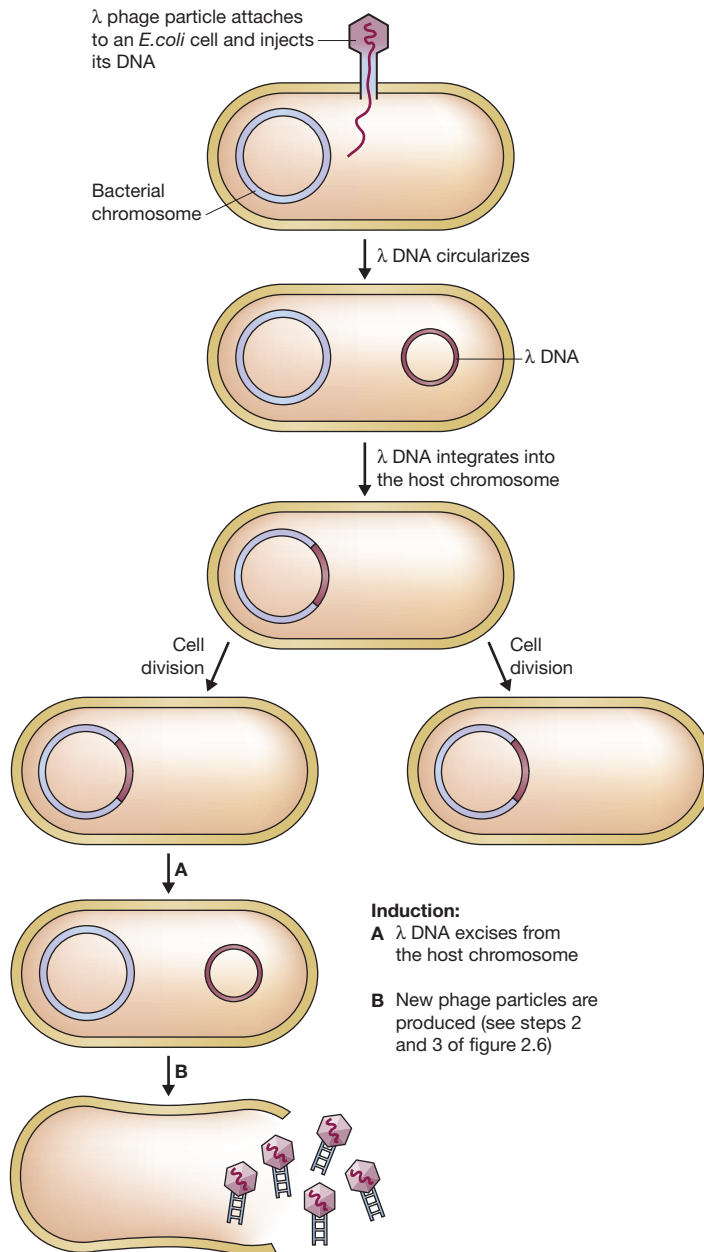


Figure 2.7

The lysogenic infection cycle of bacteriophage λ .

Complementary single strands are often referred to as “sticky” ends or cohesive ends, because base pairing between them can “stick” together the two ends of a DNA molecule (or the ends of two different DNA molecules). The λ cohesive ends are called the *cos* sites and they play two distinct roles during the λ infection cycle. First, they allow the linear DNA molecule that is injected into the cell to be circularized, which is a necessary prerequisite for insertion into the bacterial genome (see Figure 2.7).

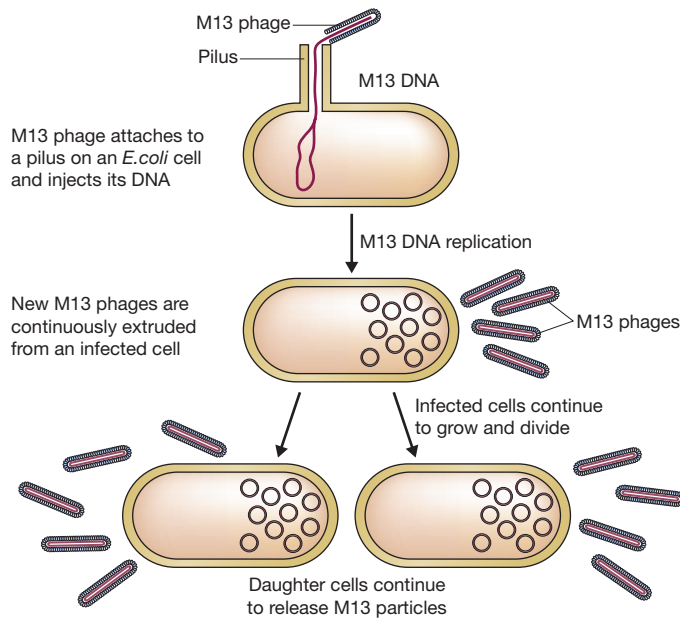


Figure 2.8

The infection cycle of bacteriophage M13.

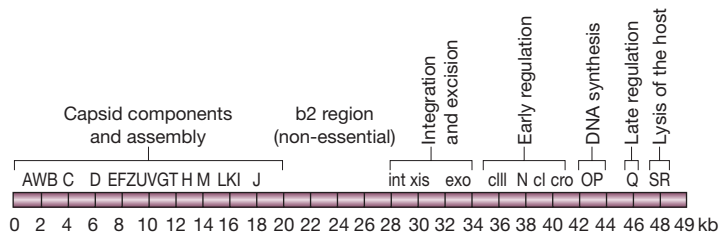


Figure 2.9

The λ genetic map, showing the positions of the important genes and the functions of the gene clusters.

The second role of the *cos* sites is rather different, and comes into play after the prophage has excised from the host genome. At this stage a large number of new λ DNA molecules are produced by the rolling circle mechanism of replication (Figure 2.10c), in which a continuous DNA strand is “rolled off” the template molecule. The result is a catenane consisting of a series of linear λ genomes joined together at the *cos* sites. The role of the *cos* sites is now to act as recognition sequences for an **endonuclease** that cleaves the catenane at the *cos* sites, producing individual λ genomes. This endonuclease, which is the product of gene *A* on the λ DNA molecule, creates the single-stranded sticky ends, and also acts in conjunction with other proteins to package each λ genome into a phage head structure. The cleavage and packaging processes recognize just the *cos* sites and the DNA sequences to either side of them, so changing the structure of the internal regions of the λ genome, for example by inserting new genes, has no effect on these events so long as the overall length of the λ genome is not altered too greatly.

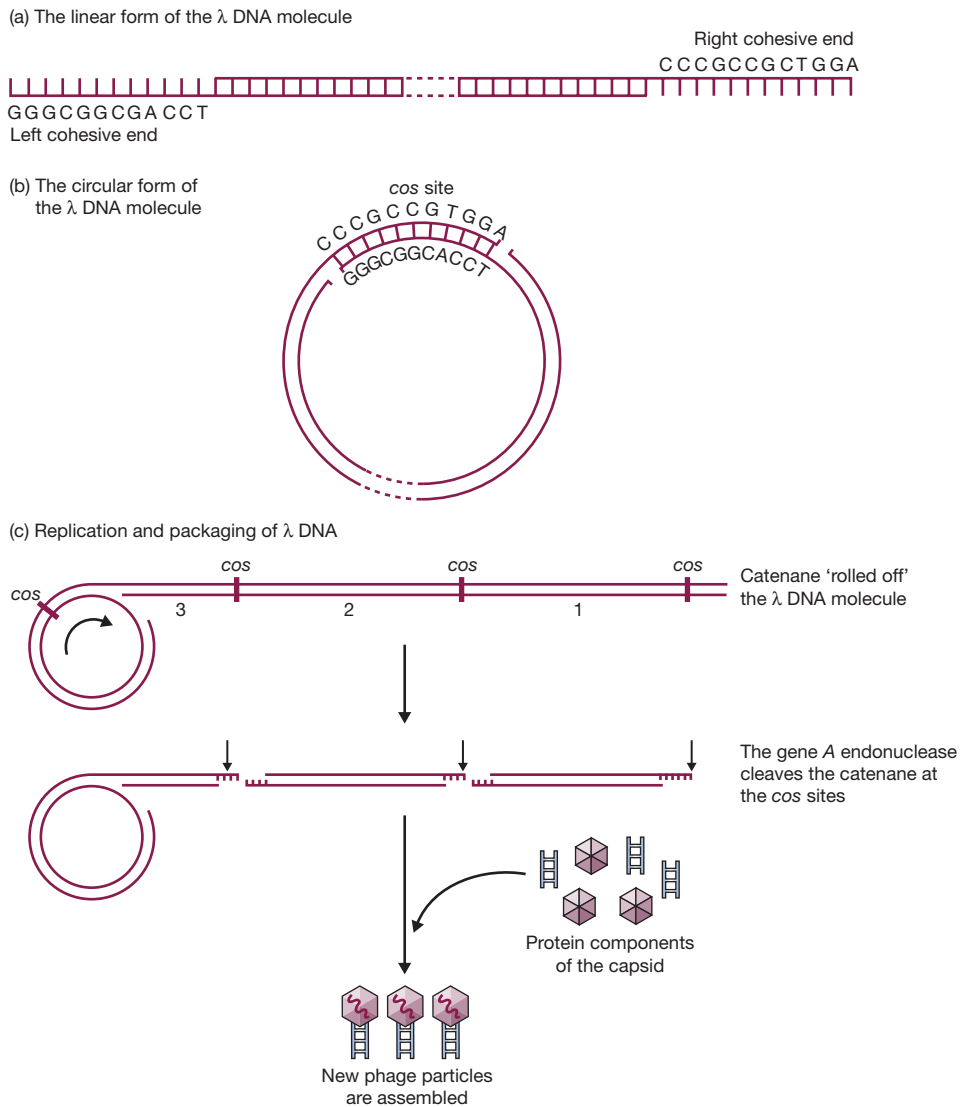


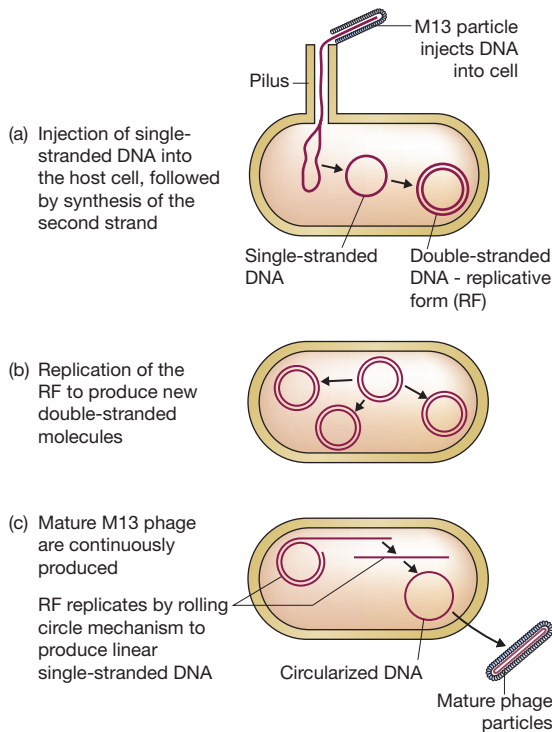
Figure 2.10

The linear and circular forms of λ DNA. (a) The linear form, showing the left and right cohesive ends. (b) Base pairing between the cohesive ends results in the circular form of the molecule. (c) Rolling circle replication produces a catenane of new linear λ DNA molecules, which are individually packaged into phage heads as new λ particles are assembled.

M13—a filamentous phage

M13 is an example of a filamentous phage (see Figure 2.5b) and is completely different in structure from λ . Furthermore, the M13 DNA molecule is much smaller than the λ genome, being only 6407 nucleotides in length. It is circular and is unusual in that it consists entirely of single-stranded DNA.

The smaller size of the M13 DNA molecule means that it has room for fewer genes than the λ genome. This is possible because the M13 capsid is constructed from multiple copies of just three proteins (requiring only three genes), whereas synthesis of the λ

**Figure 2.11**

The M13 infection cycle, showing the different types of DNA replication that occur. (a) After infection the single-stranded M13 DNA molecule is converted into the double-stranded replicative form (RF). (b) The RF replicates to produce multiple copies of itself. (c) Single-stranded molecules are synthesized by rolling circle replication and used in the assembly of new M13 particles.

head-and-tail structure involves over 15 different proteins. In addition, M13 follows a simpler infection cycle than λ , and does not need genes for insertion into the host genome.

Injection of an M13 DNA molecule into an *E. coli* cell occurs via the **pilus**, the structure that connects two cells during sexual conjugation (see Figure 2.4). Once inside the cell the single-stranded molecule acts as the template for synthesis of a complementary strand, resulting in normal double-stranded DNA (Figure 2.11a). This molecule is not inserted into the bacterial genome, but instead replicates until over 100 copies are present in the cell (Figure 2.11b). When the bacterium divides, each daughter cell receives copies of the phage genome, which continues to replicate, thereby maintaining its overall numbers per cell. As shown in Figure 2.11c, new phage particles are continuously assembled and released, about 1000 new phages being produced during each generation of an infected cell.

Several features of M13 make this phage attractive as a cloning vector. The genome is less than 10 kb in size, well within the range desirable for a potential vector. In addition, the double-stranded **replicative form (RF)** of the M13 genome behaves very much like a plasmid, and can be treated as such for experimental purposes. It is easily prepared from a culture of infected *E. coli* cells (p. 43) and can be reintroduced by **transfection** (p. 81). Most importantly, genes cloned with an M13-based vector can be obtained in the form of single-stranded DNA. Single-stranded versions of cloned genes are useful for several techniques, notably DNA sequencing and *in vitro* mutagenesis (pp. 169 and 203). Cloning in an M13 vector is an easy and reliable way of obtaining single-stranded DNA for this type of work. M13 vectors are also used in **phage display**, a technique for identifying pairs of genes whose protein products interact with one another (p. 220).

2.2.3 Viruses as cloning vectors for other organisms

Most living organisms are infected by viruses and it is not surprising that there has been great interest in the possibility that viruses might be used as cloning vectors for higher organisms. This is especially important when it is remembered that plasmids are not commonly found in organisms other than bacteria and yeast. Several eukaryotic viruses have been employed as cloning vectors for specialized applications: for example, human **adenoviruses** are used in **gene therapy** (p. 259), **baculoviruses** are used to synthesize important pharmaceutical proteins in insect cells (p. 240), and **caulimoviruses** and **geminiviruses** have been used for cloning in plants (p. 120). These vectors are discussed more fully in Chapter 7.

Further reading

FURTHER READING

- Dale, J.W. & Park, S.T. (2004) *Molecular Genetics of Bacteria*, 4th edn. Wiley Blackwell, Chichester. [Provides a detailed description of plasmids and bacteriophages.]
- Willey, J., Sherwood, L. & Woolverton, C. (2007) *Prescott's Microbiology*, 7th edn. McGraw Hill Higher Education, Maidenhead. [A good introduction to microbiology, including plasmids and phages.]

Patterning the Vertebrate Body Plan I: Axes and Germ Layers

Wolpert L, Beddington R, Jessell T, Lawrence P, Meyerowitz E, Smith J. (2001) Principles of Development. 2th ed. London: Oxford university press.
 Gilbert SF. (2003) Development Biology. 7th ed. Sunderland: Sinaure Associates Inc.

1

The vertebrate body plan

The vertebrate body plan consists of the antero-posterior axis (segmented vertebral column and skull) and the dorso-ventral axis (including the ventrally located mouth).

All vertebrate embryos pass through the phylotypic stage when the embryos are all similar in appearance.

These embryos share

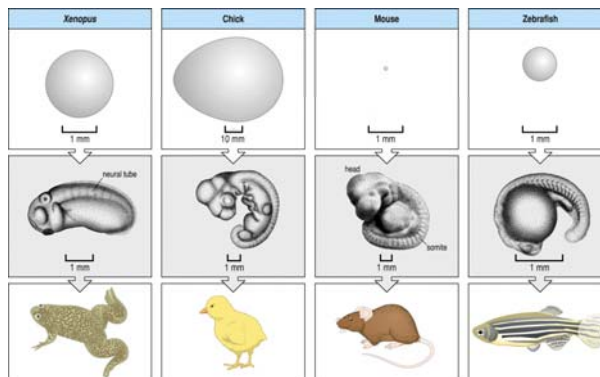
- 1) the head,
- 2) the neural tube (under which is the notochord) and
- 3) mesodermal somites (flanking the notochord) .

The large eggs of fish, frogs and bird have large yolks that provide nutrients to the developing embryo.

Mammalian eggs are small and obtain nutrients from the ovoduct then the placenta.

2

Phylotypic stage



3

The three main stages of vertebrate development (pattern formation)

- 1) setting up the main body axes (1.A/P; 2.D/V; 3.R/L, bilateral)
- 2) specification of three germ layers (endoderm, mesoderm and ectoderm)
- 3) germ layer patterning (mesoderm and early nervous system)

Maternal genes provide factor (RNA and proteins) to the egg during oogenesis (including sub-cellular localization to specific regions. It expressed in the mother during the development of the egg.

Zygotic genes are expressed by the embryo's genes.

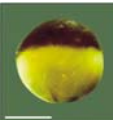
Both maternal and zygotic genes may have long term effects upon the embryo's development.

4

Animal-model, amphibian
Xenopus animal/vegetal axis is **maternally** determined

Before fertilization (in mother), the animal pole being different from the vegetal pole is clearly set up.

Animal pole: pigmented (no function), uppermost, contain nuclei
 Vegetal pole: unpigmented,



Holoblastic, displaced radial cleavage (mesolecithal)
 Cleavage of the embryo divides the contents of the egg into distinct regions.

1st cleavage - parallel to (with) the axis (Animal-vegetal) (vertical division) about sperm entry-Nieuwkoop center
 2nd cleavage - 90° to 1st cleavage (vertical division) $360/2 = 180, 90$
 3rd cleavage - 90° to both above cleavages to separate the animal from the vegetal poles (horizontal division). $2^3=8$
 Animal-vegetal axis of the egg is certainly related to the antero-posterior axis

5

Summary of the main patterns of cleavage

I. HOLOBLASTIC CLEAVAGE

A. Isolecithal

1. Radial cleavage
 Echinoderms, amphioxus

2. Spiral cleavage
 Annelids, molluscs, flatworms

3. Bilateral cleavage
 Tunicates

4. Rotational cleavage
 Mammals, nematodes

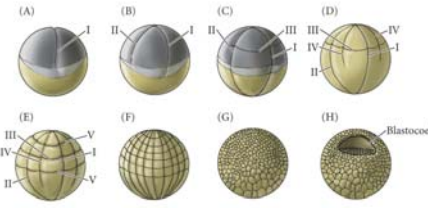
Lecithal

B. Mesolecithal

Displaced radial cleavage
 Amphibians

6

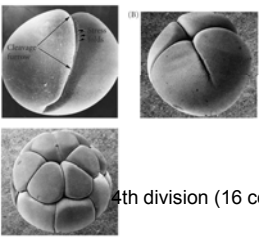
The cleavage of *Xenopus* egg



(A) Fertilization
 (B) 2-cell stage
 (C) 4-cell stage
 (D) 8-cell stage
 (E) 16-cell stage
 (F) 32-cell stage
 (G) 64-cell stage (morula)
 (H) Blastula stage with blastocoel

The 3th division, only placed in animal pole

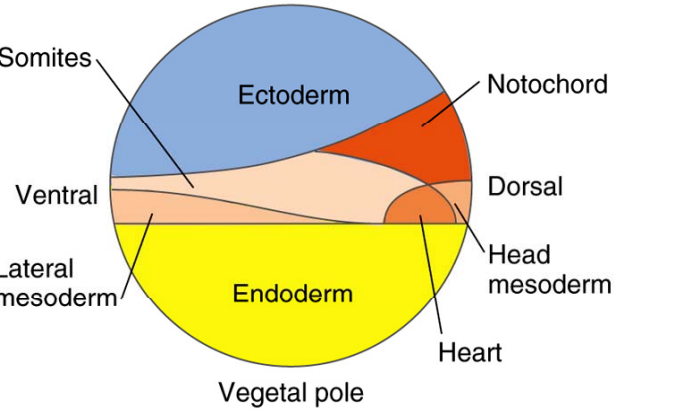
16-64 cell is called a morula; 128 cells formed blastocoel, also call blastula



4th division (16 cells)

After the 3th division, the size discrepancy between the animal and vegetal cells

Cell fate in *Xenopus*



Animal pole

Vegetal pole

Somites

Ectoderm

Endoderm

Notochord

Dorsal

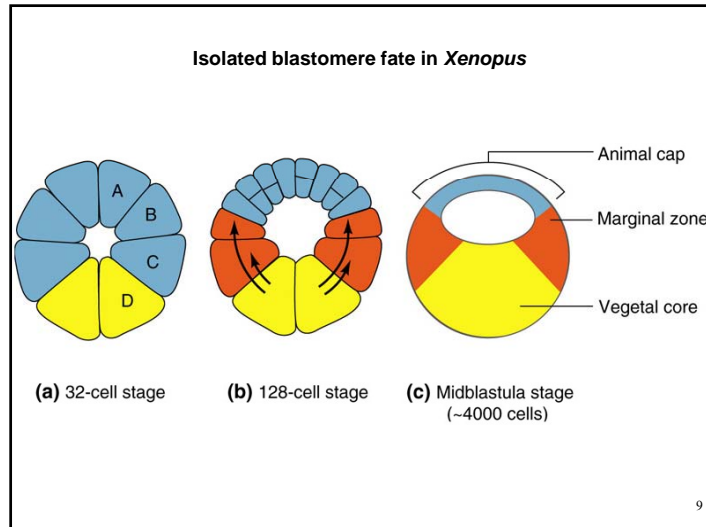
Ventral

Lateral mesoderm

Head mesoderm

Heart

8



Axis formation in *Xenopus*

Animal vegetal axis

- originates during oogenesis
- will develop into the anterior posterior axis during gastrulation

Dorsoventral

- forms after fertilization and fixed before the first cleavage

Left-right symmetry

- not recognizable until early organogenesis
- will see as internal structures are laid out

10

Xenopus animal/vegetal axis is **maternally** determined

Maternal mRNAs and proteins include:

- 1) abundant housekeeping proteins which are concerned with 'normal' cellular activities.
- 2) small amounts of mRNAs or Protein with developmental roles.

Box 3A Intercellular signal-protein

Family	Receptors	Examples of roles in development
Fibroblast growth factor (FGF) Ten mammalian FGFs; FGF-1 to FGF-10 and eFGF	Receptor tyrosine kinases	Induction of spinal cord; signal from apical ridge in vertebrate limb
Epidermal growth factors (EGF)	EGF receptor	Insect eye
Transforming growth factor-β (TGF-β) Large family, which includes activin, Vg-1, bone morphogenetic proteins (BMPs), nodal (mouse), decapentaplegic (<i>Drosophila</i>)	Receptors associated with a cytoplasmic serine-threonine protein kinase. Receptors act as dimers	Mesoderm induction in <i>Xenopus</i> ; patterning of dorso-ventral axis and imaginal discs in <i>Drosophila</i>
Hedgehog Hedgehog in insects, Sonic hedgehog and Indian hedgehog in vertebrates	Patched	Positional signal in vertebrate limb and neural tube, and insect wing and leg discs
Wingless (Wnt) Wingless in insect, various Wnt proteins in vertebrates	Frizzled	Dorso-ventral axis specification in <i>Xenopus</i> ; insect segment and imaginal disc specification
Delta and Serrate	Notch	Inhibitory signal in nervous system
Ephrins	Ephrin receptors	Vertebrate nervous system

11

Technique: *In situ* hybridization

Purpose: To determine when and where a particular gene's mRNA is present.

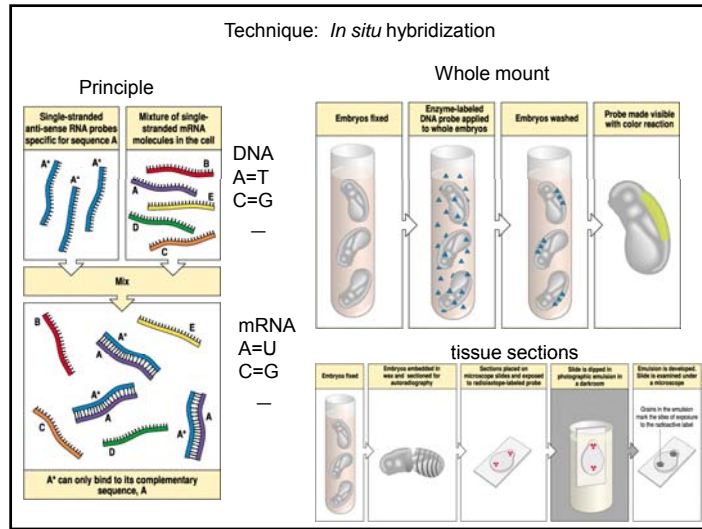
Details: Complementary single-stranded nucleic acid strands (RNA or DNA), commonly known as "probes", will bind tightly (hybridize) to a specific mRNA.

This can be visualized if the probe is labeled (or tagged) with an isotope, a fluorescent dye or an enzyme that produces a coloured substance.

When embryos (or another tissue) are fixed, permeabilized and then allowed to undergo such a hybridization the pattern of gene expression is revealed.

Whole mount and tissue sections can be visualized.

12



Xenopus animal/vegetal axis: localized mRNAs

Localized mRNAs control determination of the animal/vegetal axis in *Xenopus*.

Many are signaling molecules which specify early polarity and induction of the mesoderm.

Vg-1 of the TGF-beta (transforming growth factor) family of growth factors.

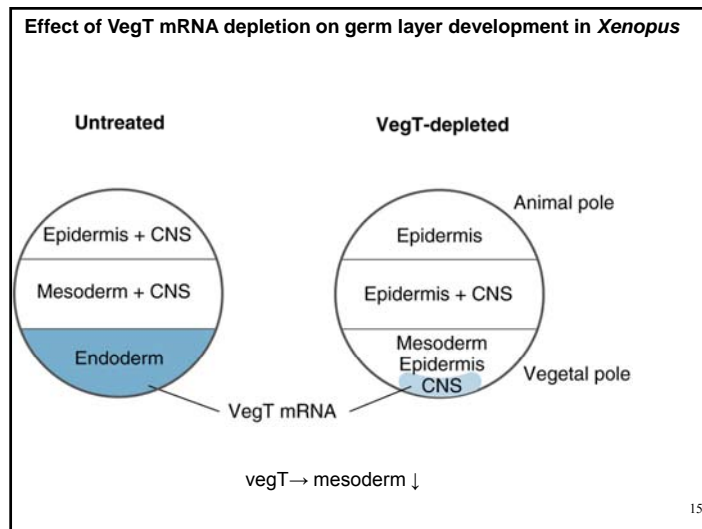
Vg-1 is synthesized during early oogenesis and is localized to the **vegetal cortex** of the oocyte. → It is maternally signaling

By early after fertilization, Vg-1 has **moved to the vegetal cytoplasm to drive animal/vegetal identity**.

The animal-vegetal axis of the egg is certainly related to the antero-posterior axis of the tadpole ,

As the head forms the animal region.

Fig. 3.2 Vg-1 distribution



Dorso-ventral axis of amphibian is determined by the site of **sperm entry**

In *Xenopus*, before fertilization, the egg has a radial symmetry.

Sperm entry sets up the D/V axis with the dorsal side of the embryo at a place opposite of the sperm entry point.

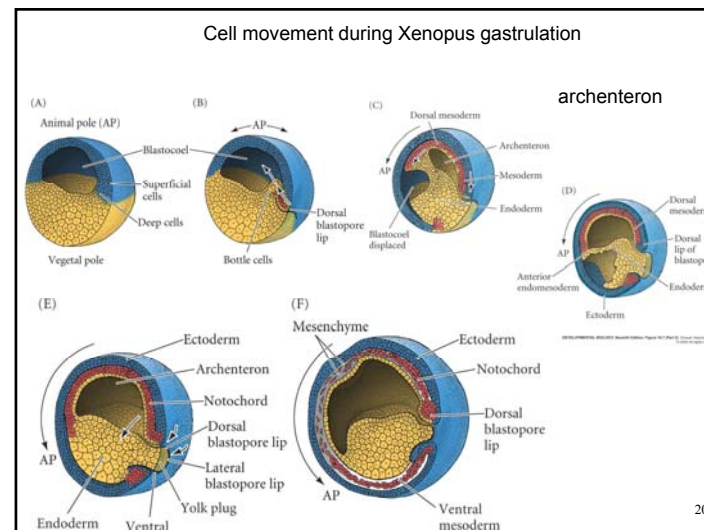
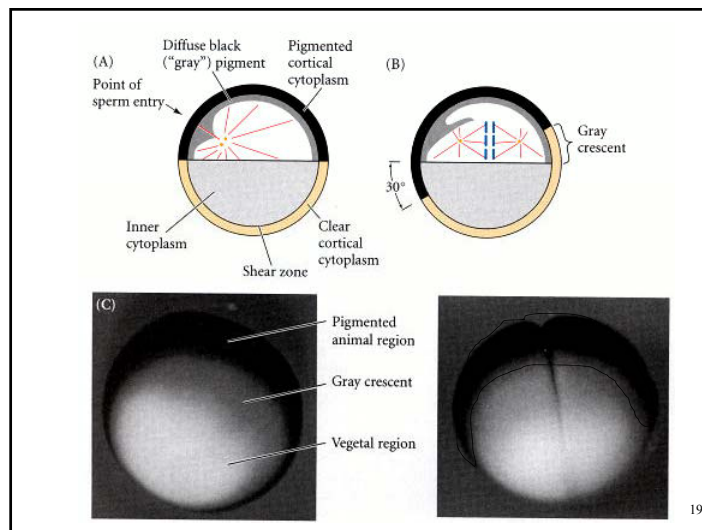
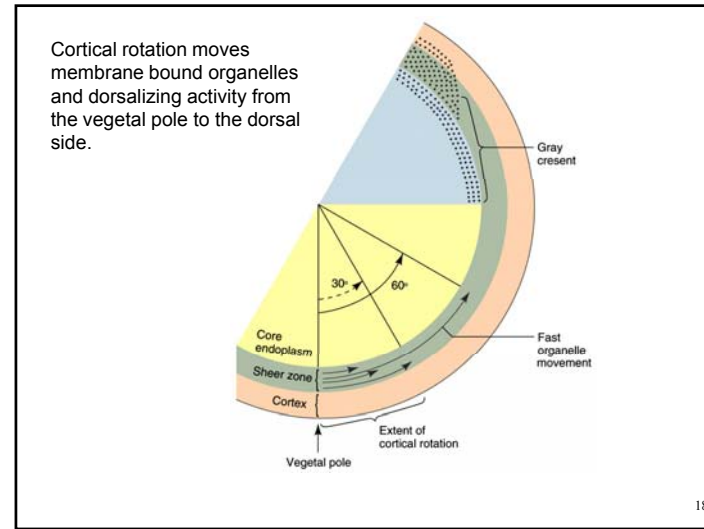
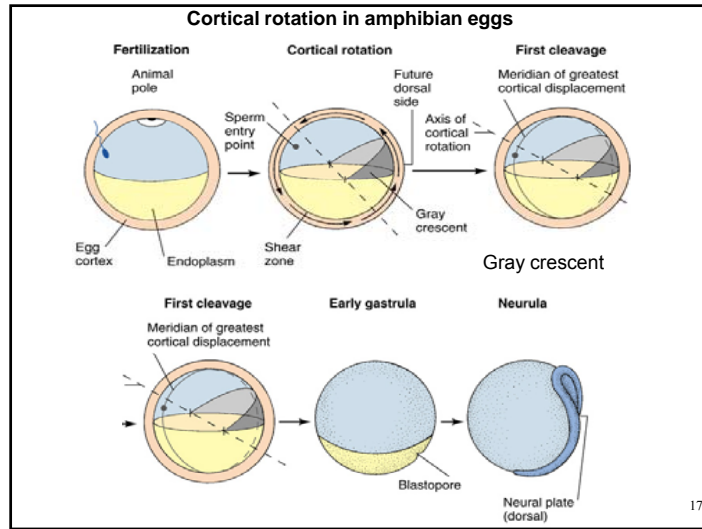
Within the first 90 minutes after fertilization, the **cortex rotates** approximately 30 degrees and is toward the site of sperm entry.

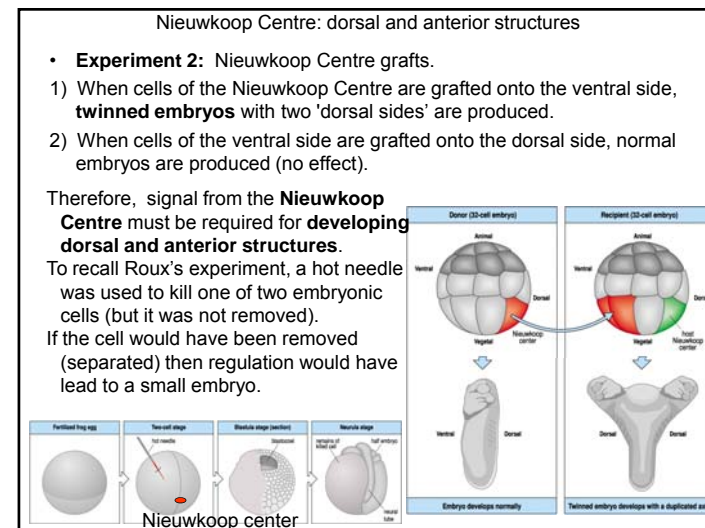
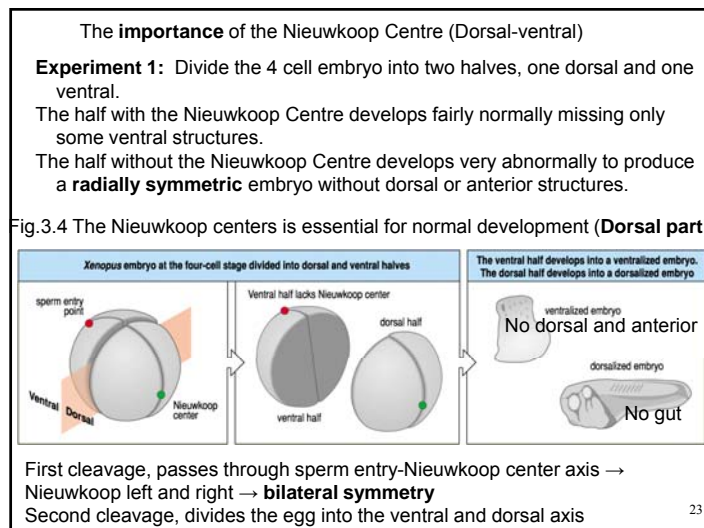
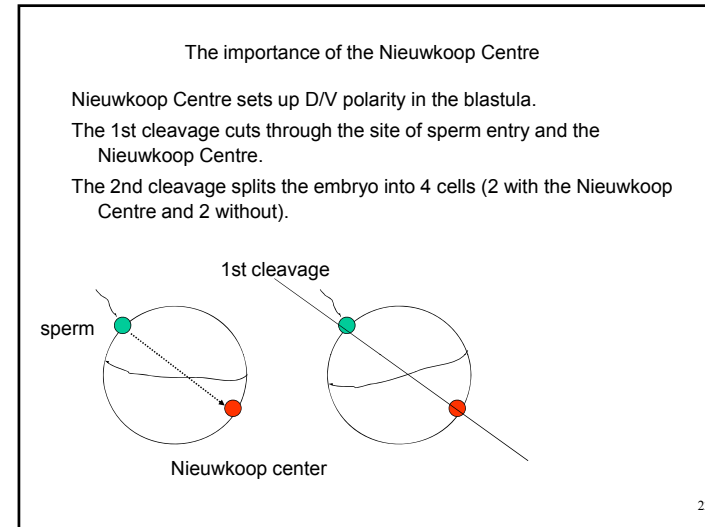
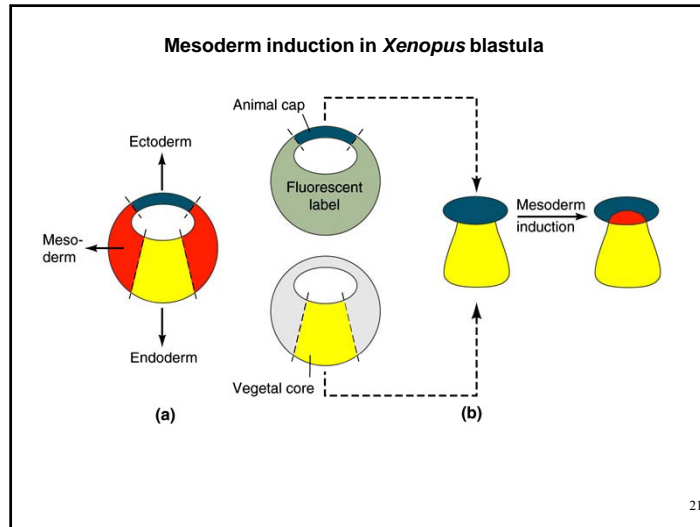
The cortex is a gel-like layer of actin filaments about 5 micrometres thick just under the membrane.

The vegetal cortex opposite the sperm entry point moves towards the animal pole.

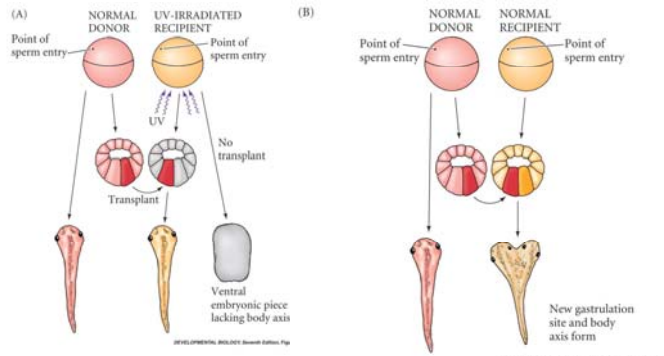
This leads to the formation of a 'signaling centre' opposite the site of sperm entry known as the **Nieuwkoop Centre**.

16





Transplantation experiments on 64-cell amphibian embryos demonstrating that the vegetal cell underlying the prospective dorsal blastopore lip region are responsible for causing the initiation of gastrulation



25

Disruption of the Nieuwkoop Centre

Blocking rotation (and Nieuwkoop Centre formation) by exposing the embryos to ultraviolet light (which disrupts microtubules) produces "ventralized" embryos which have an excess of ventral blood-forming mesoderm. (Nieuwkoop centre is important role of induction of dorsal region)

In general, an increase in U.V. light results in a decrease in dorsal and anterior structures.

The effects of U.V. can be **rescued** by:

- 1) re-orienting the eggs to mimic cortical rotation or
- 2) grafting Nieuwkoop Centre cells from other embryos.

Dorsalized embryos can arise from treatment with lithium.

Both treatments probably interfere with proteins involved in formation of the D/V axis.

26

Cortical rotation and the Nieuwkoop Centre

Cortical rotation specifies the Nieuwkoop Centre.

The signal from the sperm entry to form the Nieuwkoop Centre **is unknown**. It may be related with egg's cytoskeleton

However, formation of the Nieuwkoop Centre **depends upon rotation of the cortex**.

The rotation changes a part of the vegetal region, perhaps by more contact with the animal cytoplasm.

The factors help designate the embryo's midline. To establish the plane of bilateral symmetry of the future embryo.

The midline passes through the entry point and the Nieuwkoop Centre.

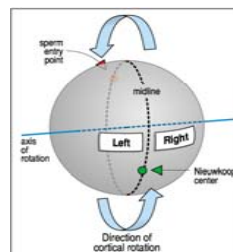


Fig. 3.6 Cortical rotation toward the point of sperm entry

27

Nieuwkoop Centre specifies the Spemann Organizer

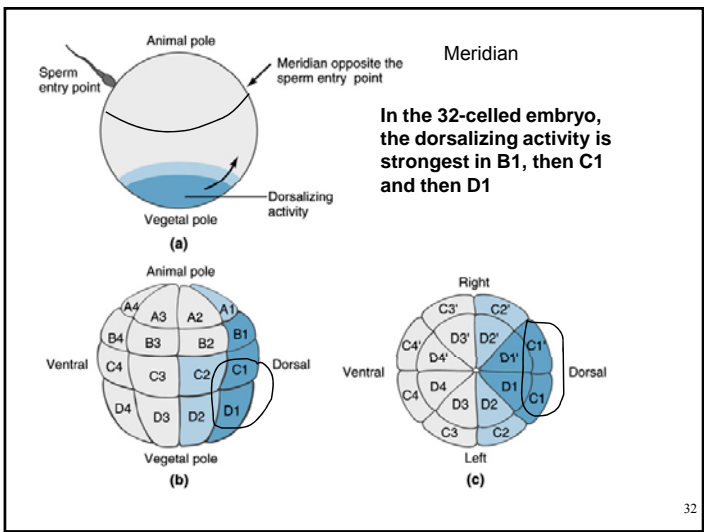
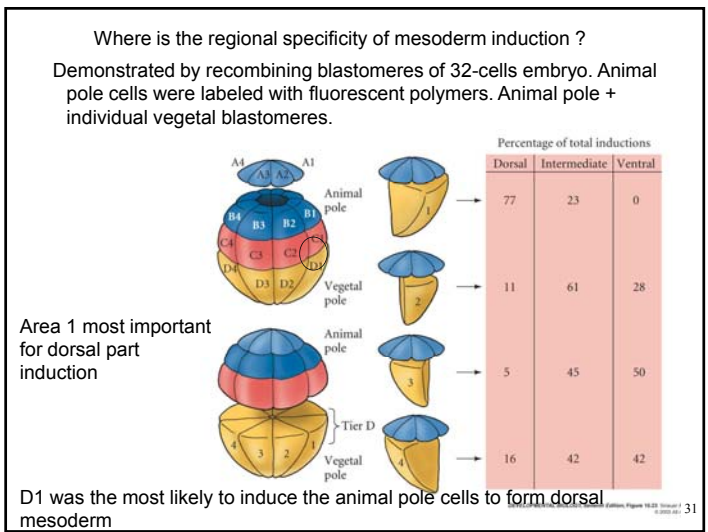
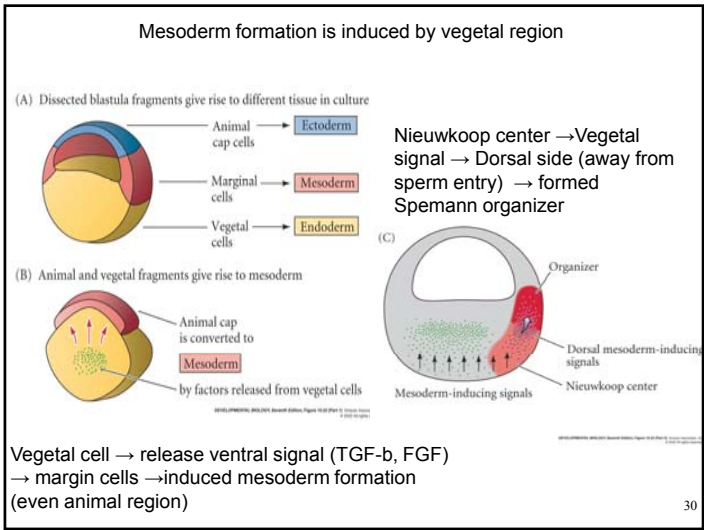
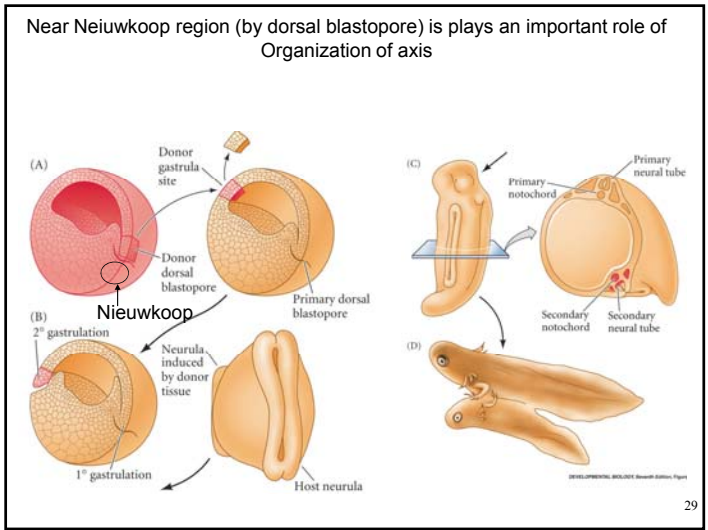
The Nieuwkoop Centre's main role is to specify another signaling centre...

the Spemann Organizer which in turn leads to the development of **A/P** and **D/V** axes.

Sperm entry results in the D/V axis and involves an external signal.

Egg structure determines the A/P and then the D/V axes by internal signals.

28



Molecular mechanisms of dorsoventral axis formation and mesodermal induction.

What are the factors that segregate to the dorsal blastomeres?

What are the inducers that persuade marginal cells to form mesoderm rather than ectoderm?

- must be present in the embryo at the required concentration
- must be present in the appropriate location
- must be maternally supplied if before MBT
- must be synthesized from embryo genome if after MBT

- if we block their action *in vivo* – should block induction
- should be able to rescue embryos depleted of the activity by adding the activity back.

MBT: mid-blastula transition

33

Beta-catenin

- leading candidate for the signal of the Nieuwkoop center

Catenins - proteins that anchor cadherins to the cytoskeleton

Cadherins - transmembrane proteins that function in cell adhesion

Beta-catenin – however

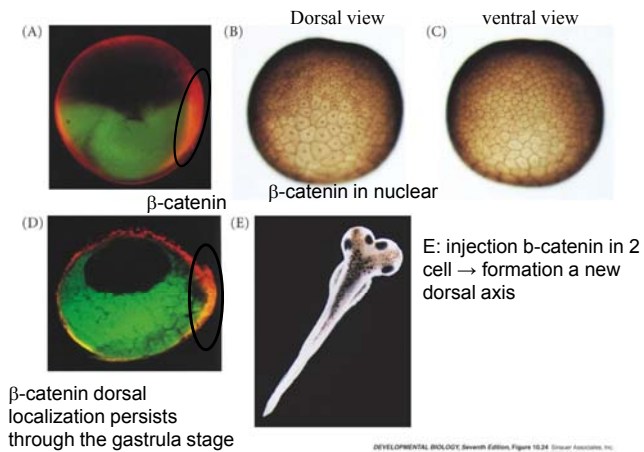
- is a cytoplasmic protein and is involved in the Wnt signaling pathway.

Wnt - soluble ligand (paracrine factor)

- binds to receptors of the frizzled family

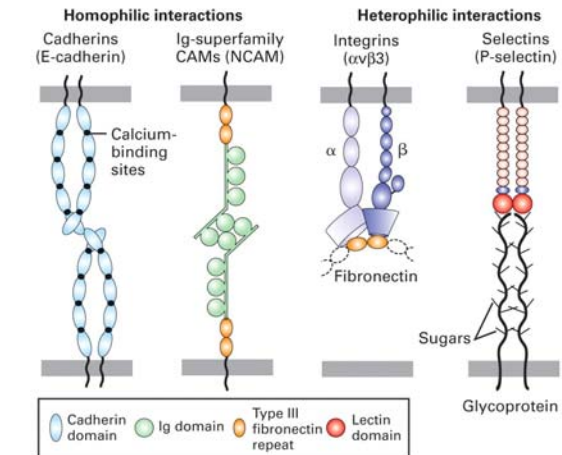
34

Specific pathway (Wnt) in dorsal-ventral axis specification

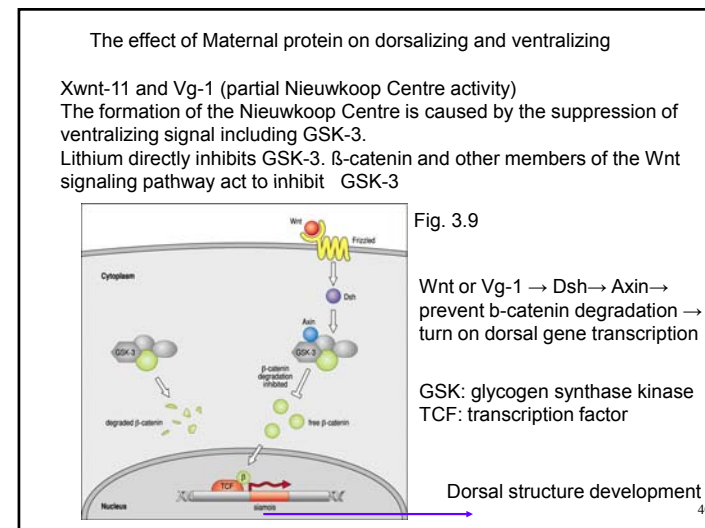
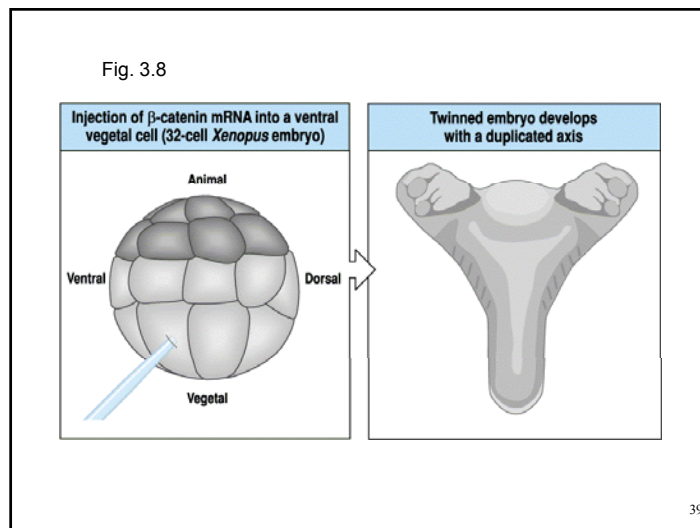
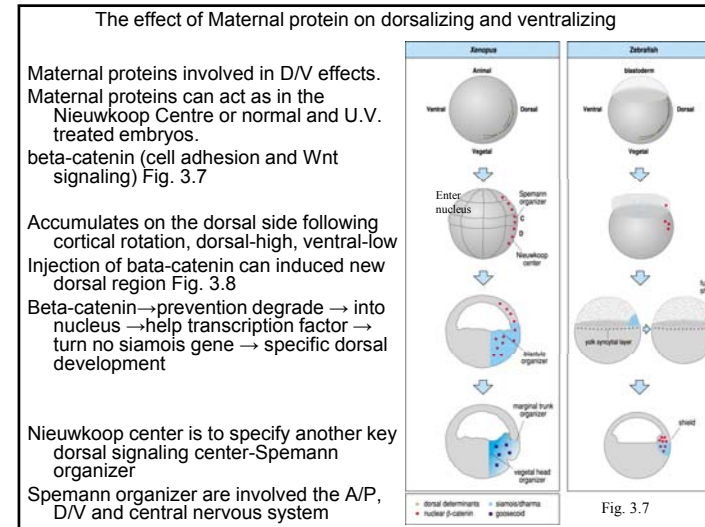
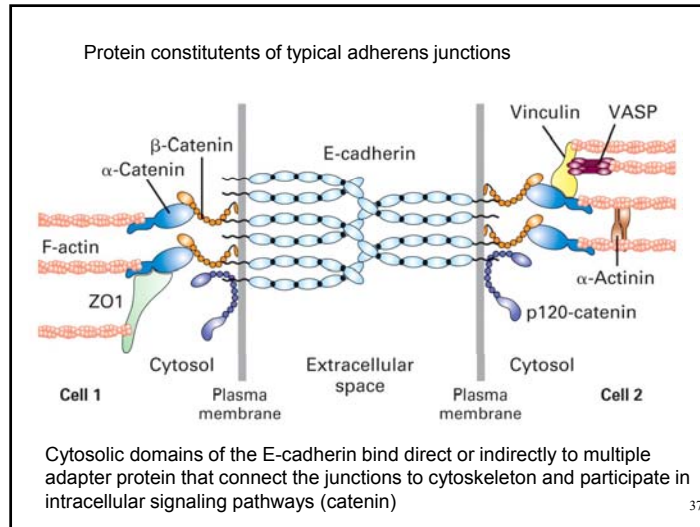


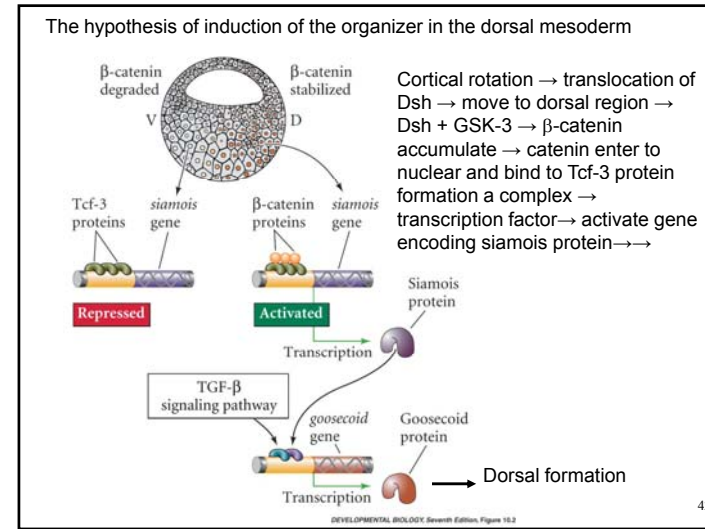
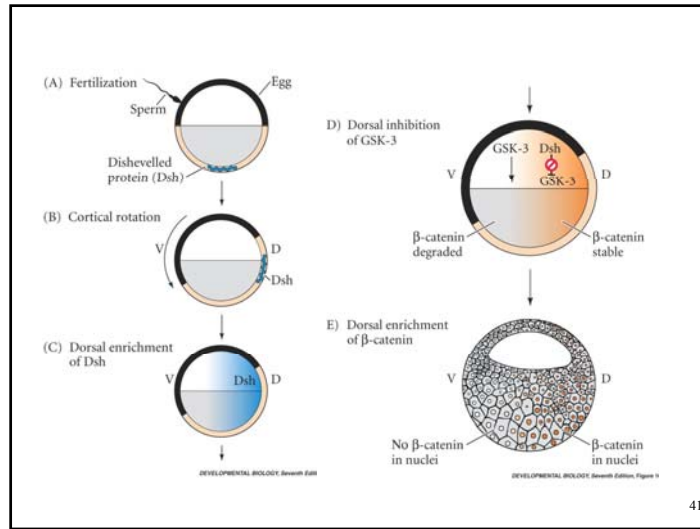
35

Ca²⁺ dependent homophilic cell-cell adhesion in adherens junctions and desmosomes is mediated by cadherins



36





Chick blastoderm: the axes depend on gravity

The blastoderm is a disc of cells which sits on top of the yolk. The D/V axis depends upon the dorsal side forming away from the yolk while the ventral side is next to it. Initially, radially symmetric after the egg is laid, dense cells form at the **posterior marginal zone (PMZ)**. The primitive streak develops from the PMZ. The egg rotates through the hen's uterus (in the oviduct) (once every 6 minutes) as the embryo develops. And cleavage has already started at this stage. Fig 3.10

The blastoderm (uppermost) contains thousands of cells when the egg is laid.

The posterior marginal zone can be thought of as an organizing center (like Nieuwkoop center in *Xenopus*), it can induce a new axis (Fig. 3.11)

43

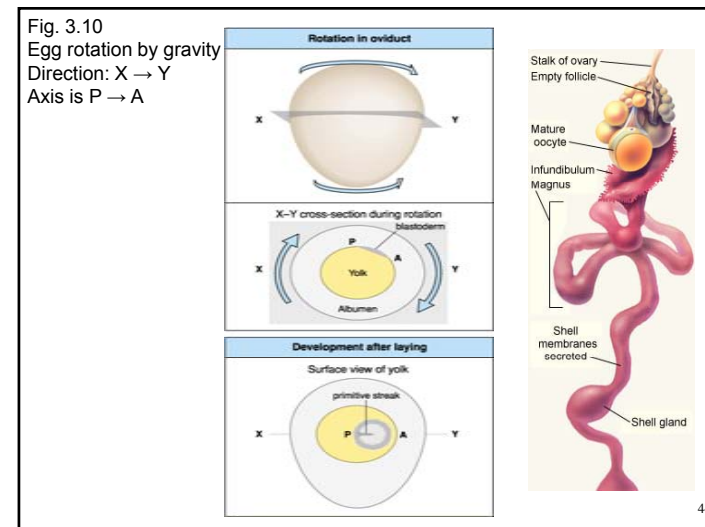
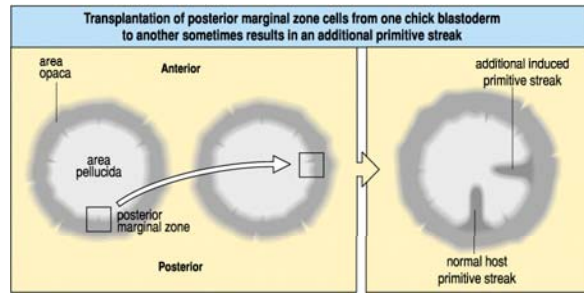


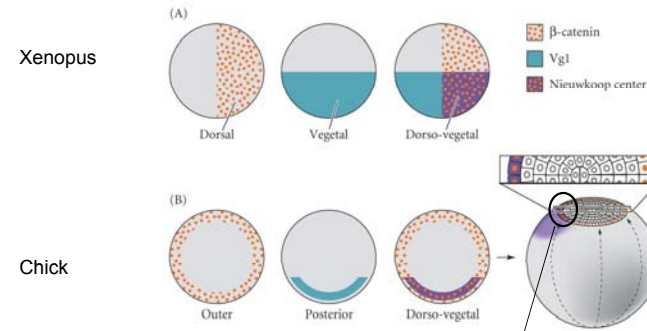
Fig. 3.11 PMZ is posterior and induced new A/P axis



posterior marginal zone (PMZ) = Nieuwkoop center

45

The different formation of the Nieuwkoop center in frogs and chicks



β -catenin is found in the outer cells of the blastobisc
Vg-1 producing cells are restricted (probably by gravity) to the presumptive posterior cells of the blastoderm.

Nieuwkoop

46

Chick blastoderm: primitive streak formation

As the egg rotates, the embryo develops depending upon the influence of **gravity**. A/P axis

The egg is directed point down, the PMZ is at the top. D/V axis

The rotation causes the blastoderm to 'tip' in the direction of rotation (somewhat like an 'off-balanced' top).

The primitive streak acts like a Nieuwkoop Centre in that it can induce a new axis if transplanted to another embryo.

Chick *Vg-1* is expressed in the primitive streak.

Cells that express *Vg-1* can induce a new primitive streak.

47

Mouse embryo axes: **cell-cell interactions** not from mother

Mouse embryos have **no apparent early polarity and no well ordered pattern of cleavage**. No evidence for localized maternal factors affecting later development. (differ chick and Xenopus)

The second polarity body and the point of sperm entry may define axes in the fertilized that are related to future axes in the blastocyst. (chick and xenopus were before fertilized)

At the 32 cell blastocyst stage, the position of the cells determine their cell fate.

Cell-cell interaction plays an important role of the development of AXIS.

Fig. 3.12

By labeling cells, it was determined that outside cells contribute to the trophoctoderm and inside cells give rise to the **inner cell mass (ICM)** that give rise to the embryo.

48

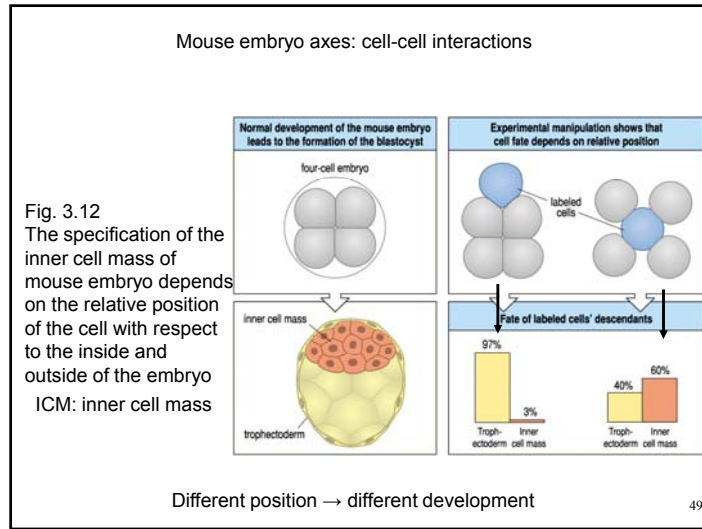


Fig. 3.12
The specification of the inner cell mass of mouse embryo depends on the relative position of the cell with respect to the inside and outside of the embryo

Mouse embryo axes: is regulative and establishment at early stage

Animal-vegetal axis in the zygote, polar body = animal pole

At 4 day, (blastocyst stage), the inner cell mass is confined to the embryonic, or dorsal, region and this defines as embryonic-abembryonic axis.

The D/V axis relates to the position of the ICM within the blastocyst.

The D/V axis runs from the embryonic pole, where the ICM attaches to the trophoblast, to the opposite end.

The D/V axis persists until gastrulation starts.

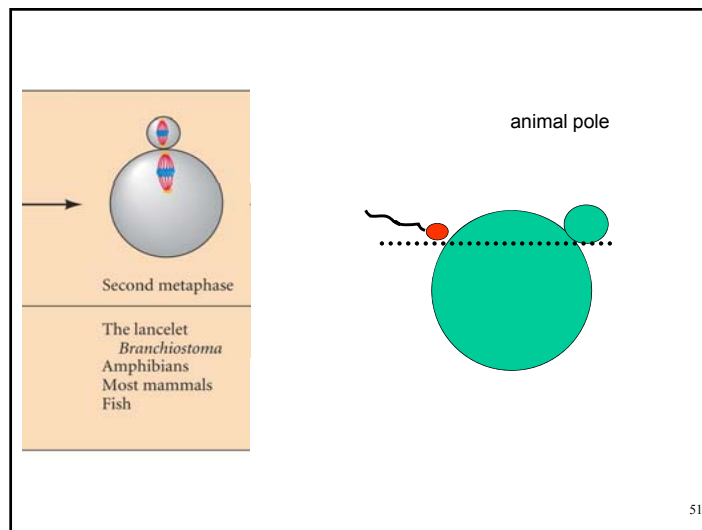
Asterisks is polar body

Embryonic pole : The blastocyst has one distinct axis running from the site where the inner cell mass is attached

Embryonic-abembryonic axis = dorso-ventral axis, it related to the site of sperm entry. The sperm entry site coming to lie on the boundary between the embryonic and abembryonic halves.

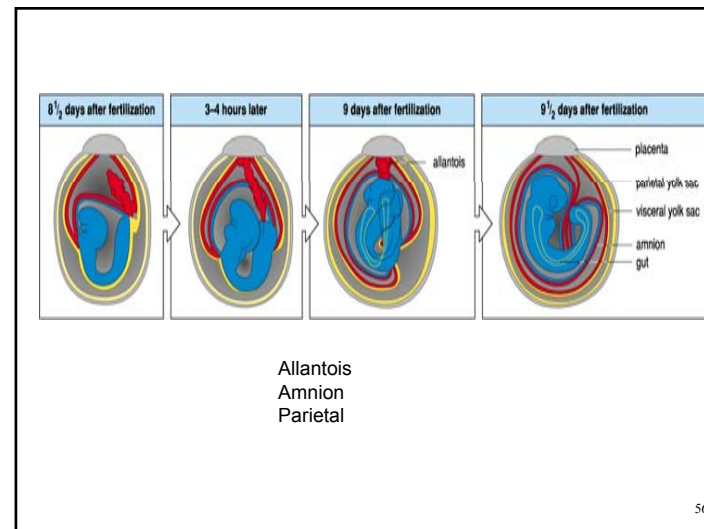
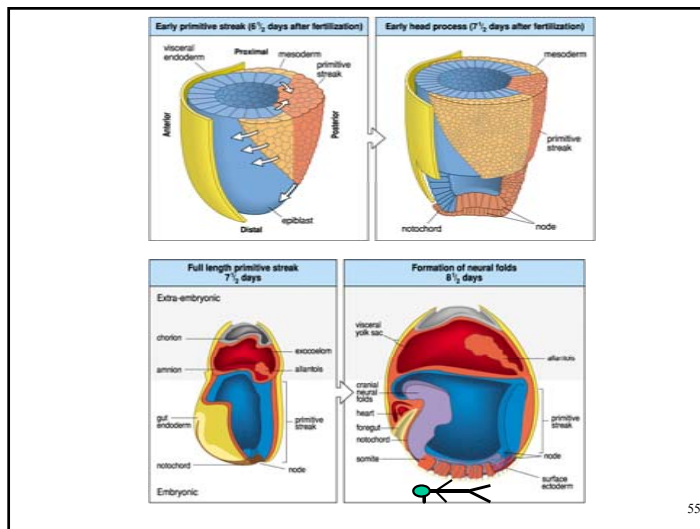
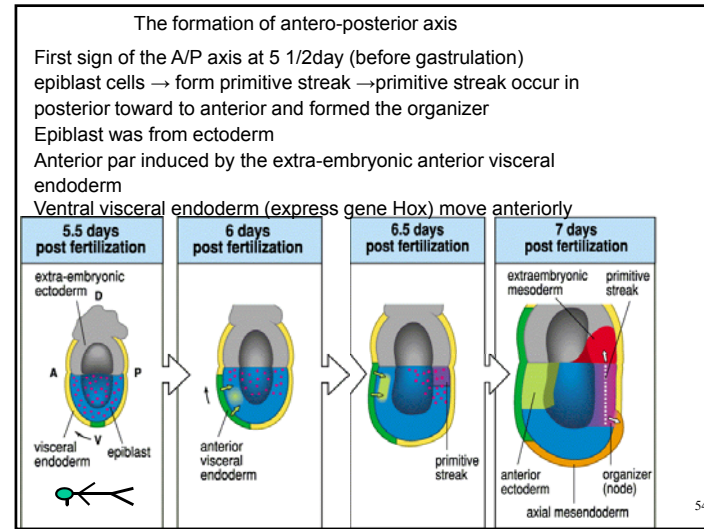
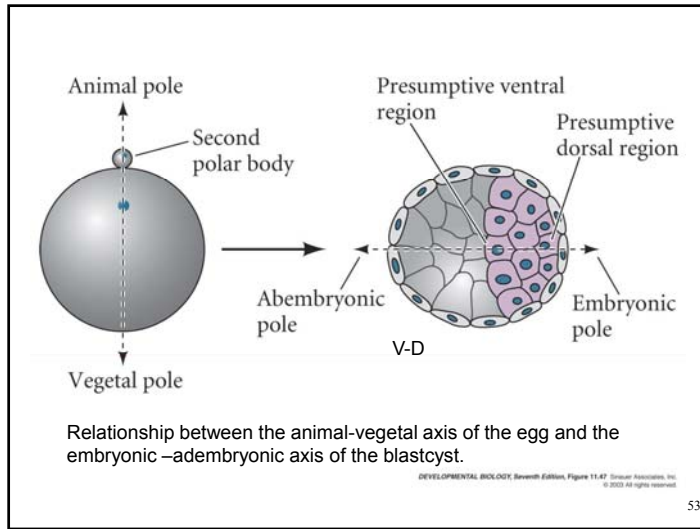
The green cell is injected with a long lasting marker RNA for trace their fate

Bilateral symmetry



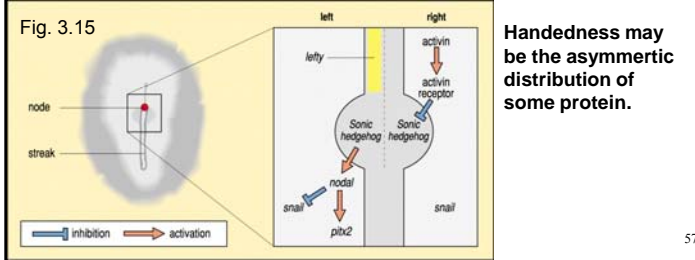
4 ½ days after fertilization, inner cell mass → differentiated to primary and primitive endoderm (on blastocoelic surface) → implant → trophoblast proliferates → produced extra-embryonic ectoderm → pushes the ICM across the blastocoel → formed proamniotic cavity → formed within the epiblast (proliferate) → epiblast grow to embryonic ectoderm → formed

52



Organ handedness in vertebrates

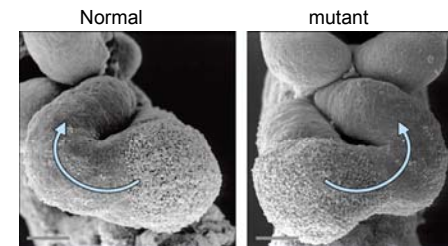
Vertebrates are bilaterally symmetric (eyes, ears....)
 Most internal organs are asymmetric in positioning.
 The condition, *situs inversus*, found in 1 in 10,000 people, is a mirror reversal of the 'handedness' of the internal organs.
 Left versus right depends upon the A/P and the D/V axes and is under genetic control.
 In chick, several genes are expressed asymmetrically with respect to Hensen's node.



57

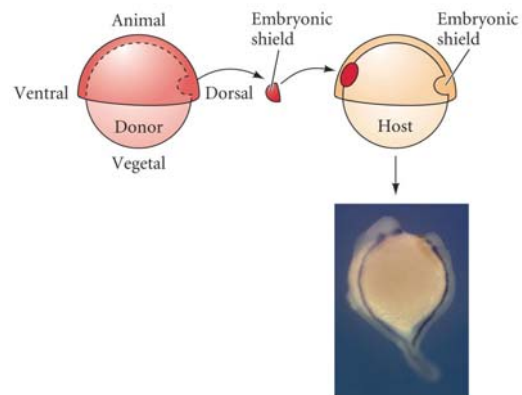
Organ handedness in vertebrates

In the mouse, the *iv* gene controls the handedness of internal organs.
 In *iv* mutants, organ handedness is random and some individuals show heterotaxis where normal and inverted organs are found in one animal.
 Heterotaxis : The organs of normal and inverted asymmetry are present in the same animal



58

Zebrafish: shield determined antero-posterior axis



DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Seventh Edition, Figure 11.8 © 2004 Sinauer Associates, Inc.

59

Summary: vertebrate axis determination

	Dorso-ventral axis	Antero-posterior axis
Xenopus	sperm entry point and cortical rotation. Dorsal side and Nieuwkoop center form on side opposite to sperm entry. Catenin on dorsal side	specified by Nieuwkoop center
Chick	axis of bilateral symmetry	gravity
Mouse	interaction between inner cell mass and trophectoderm	intercellular interactions?
Zebrafish	yolk cell specifies dorsal side	shield specifies the animal region

60

Fate of early regions of the *Xenopus* embryo

The marginal zone moves inside the embryo through the dorsal blastopore (above the Nieuwkoop Centre).

Early regions become specific types of tissues.

dorsal mesoderm → notochord

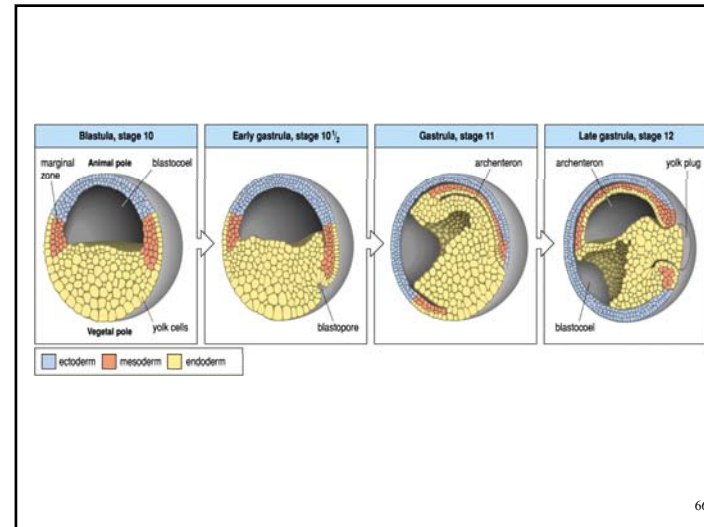
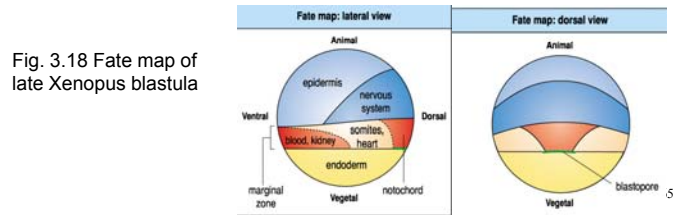
sub-dorsal mesoderm → somite (muscles)

sub-ventral mesoderm → lateral plate (heart and kidney)

ventral mesoderm → blood islands (also form in more dorsal regions)

ventral ectoderm → epidermis (covers embryo after neural tube forms)

dorsal ectoderm → nervous system



Xenopus / Zebrafish embryo: specification map

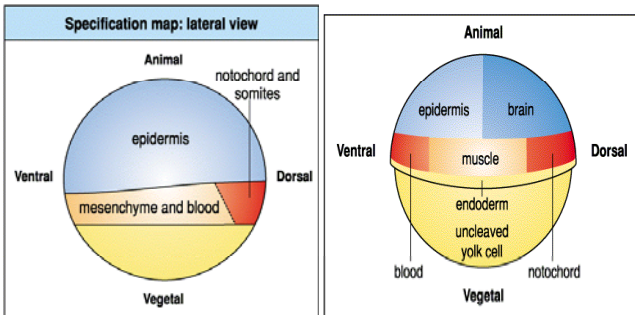


Fig. 3.19 Specification map of a *Xenopus* late blastula

Fig. 3.22 Fate map of zebrafish at the early gastrula stage

Chick embryo: specification map

In the chick, early blastoderm cannot be mapped.

As the early chicken embryo is small and there is much cell proliferation and extensive cell (differ *Xenopus*) and tissue movements, the early fates are not known.

Later, when the primitive streak forms, the three germ layers can be mapped.

Like the amphibian embryo, three germ layers (ectoderm, endoderm and mesoderm) can be identified.

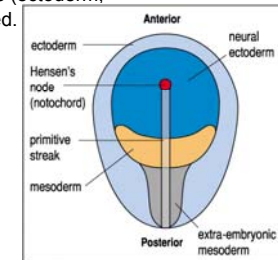
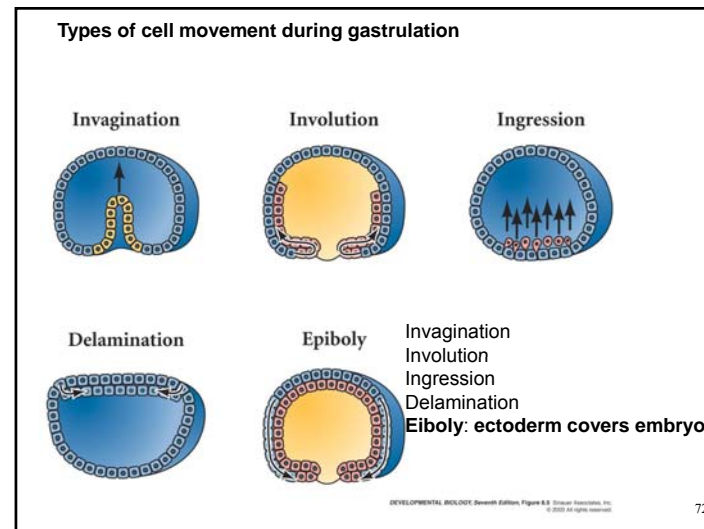
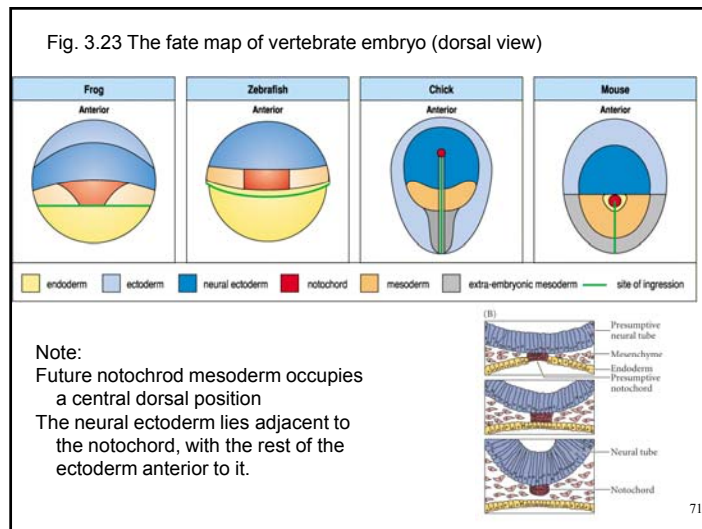
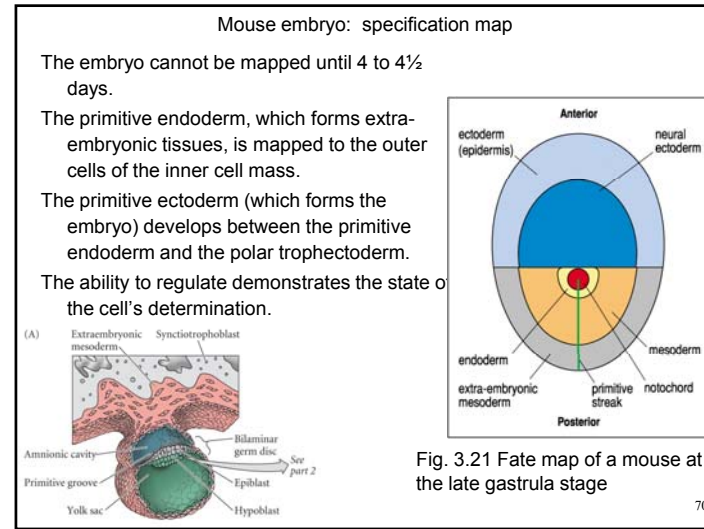
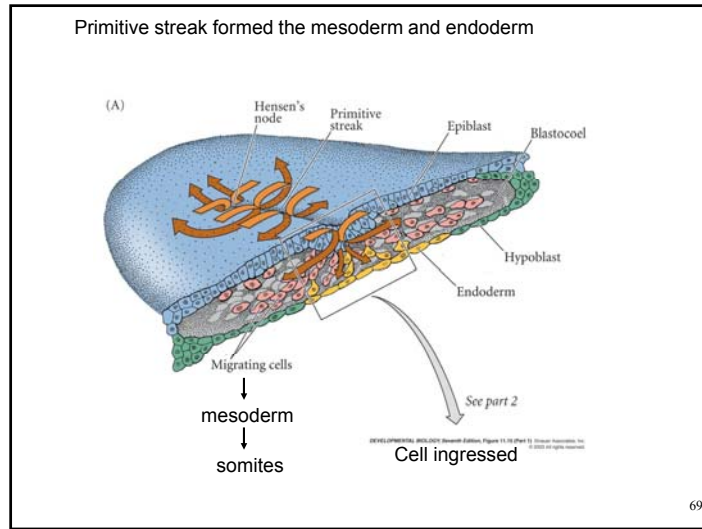


Fig. 3.20 Fate map of a chick embryo when the primitive streak has fully formed. Almost all the endoderm has already moved through the streak to form a lower layer.



Cells of early vertebrate embryo do not yet have their fates determined

Powers of regulation, parts of the embryo are removed or rearranged.
Some experiment, many cells are not yet determined or specified.
Patterning mechanism involving cell interaction

Using this characterization: for gene transfer, or chimera

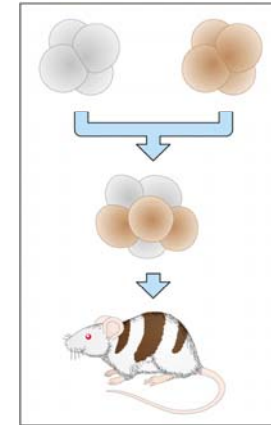
Chimera: are mosaics of cell with two different genetic constitution-by fusing two embryo

Cell-autonomous: If only the mutant cell exhibit the mutant phenotype and are not rescued by the normal cells, the gene is acting cell-autonomously; a gene product not influencing other cells. (only one mutant → affect phenotype; directly)

Non-cell autonomous: when either the mutant cells in the chimera appear to act normally or the normal cells start to show the mutant phenotype. It action typically due to a gene product that is secreted by on cell and acts on the other. (one mutant cell → affect other cell → affect phenotype)

73

Fig. 3.24
Fusion of mouse embryo gives rise to a chimera



74

Chimeric mice (Transgenic mice)

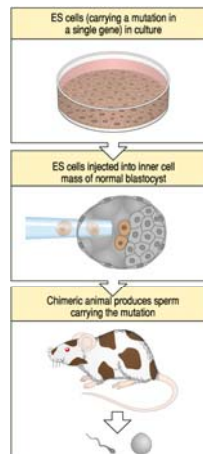
To studying the role of a interesting gene in development

Two way: 1. injection DNA into the nucleus of fertilized egg; 2. ES cell injection produced chimeric animal

Injection of inner cell mass cells from one mouse blastocyst to another will contribute to many tissues or phenomena.

Injection of genetically modified embryonic stem cells (ES cells) into a mouse blastocyst allows formation of transgenic chimeras which may breed to produce heterozygous (or homozygous) transgenic mice strains.

Homologous recombination techniques can replace a gene with a defective (deleted) version of the gene to produce a "knock-out" mutant mouse strain.



75

Induction of mesoderm in *Xenopus* from the **vegetal region and endoderm, ectoderm** is specified by maternal factors

Mesoderm: vegetal region induced; Endoderm and ectoderm is maternal determined

Early patterning involves both cell-cell interaction and localized maternal factors.

Specified by maternal factor in the egg

Animal pole explants form ectoderm.

Vegetal pole explants form endoderm.

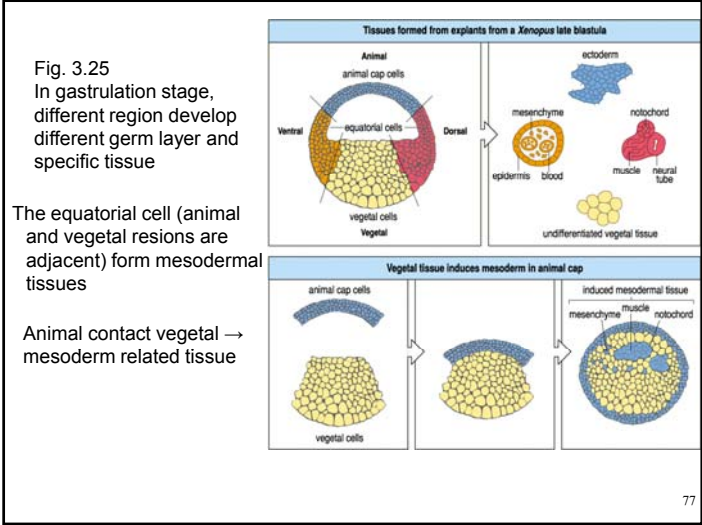
Specific maternal transcription factor VegT → endoderm development

Animal pole explants cultured in contact with vegetal tissue produces some mesodermal tissue.

Therefore, mesoderm depends upon signals from the vegetal region to turn animals pole cells from ectodermal fate to a mesodermal fate.

If animal and vegetal tissues are separated by a filter, then mesoderm develops.

76



Mesoderm induction in *Xenopus* by a diffusible signal

A diffusible signal must **travel** but **not by cell-cell contact**. (separated by filter, still induction mesoderm development)

Different ages of embryonic tissues do not induce a signal. (**Time specific**)

Tissues at specific times (only in gastrulation stage) are competent to receive signals. (Fig. 2.27, Timing effect)

Cells must be present in sufficient number (200, at least) to be induced and represents a community effect in the responding cells. (Fig. 2.26, small numbers of cell did not induce)

Several signals induce and pattern the *Xenopus* embryo. (Fig. 3.28)

After induction of the mesoderm, dorsal marginal zone explants become notochord and muscle and mimic gastrulation movements (as normal).

Ventral and lateral mesoderm become mesenchyme and blood-forming tissues but not muscle (these normally form a lot of muscle).

78

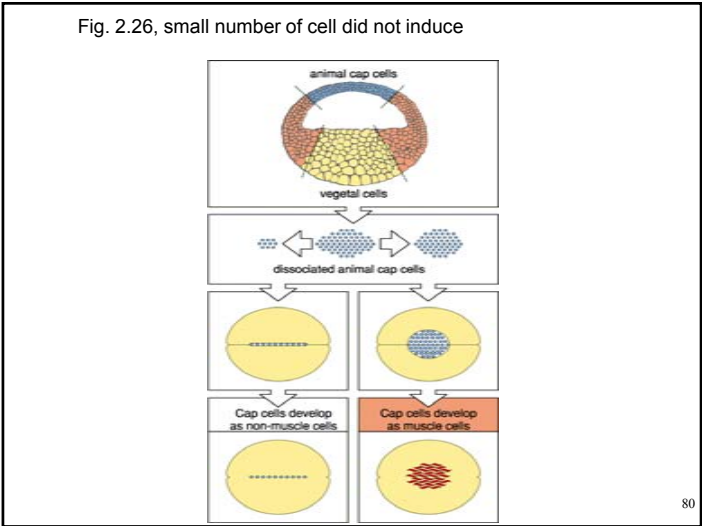
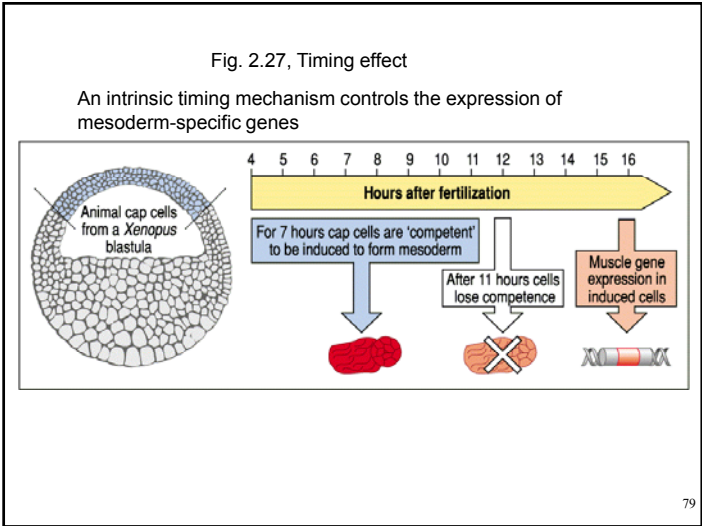
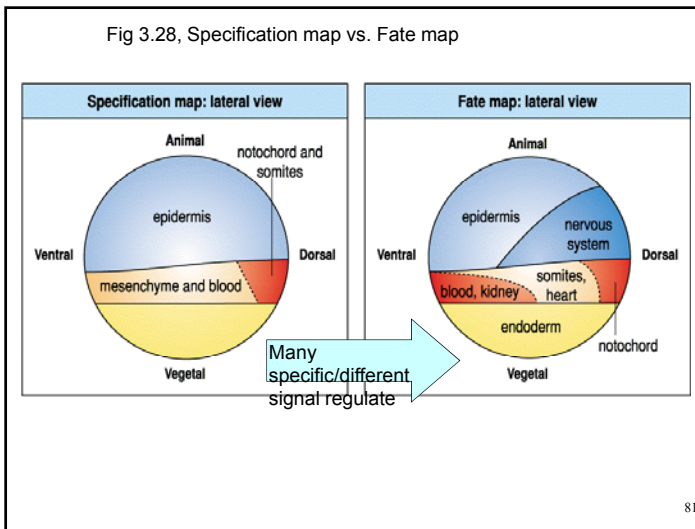


Fig 3.28, Specification map vs. Fate map



81

The four different signal involves the induction of mesoderm

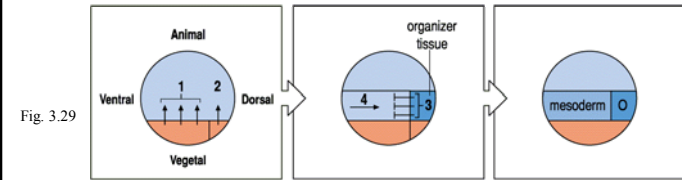
Two signal from vegetal region, two signal is related with ventral mesoderm (D/V axis)

Class 1) General mesoderm inducer from the vegetal region makes "broad" ventral mesoderm, is ground or default state.

Class 2) Dorsal mesoderm inducer from the vegetal region from the Nieuwkoop center, it generates Spemann Organizer and notochord.

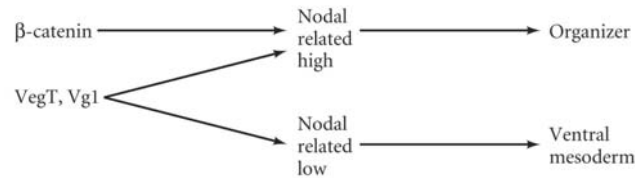
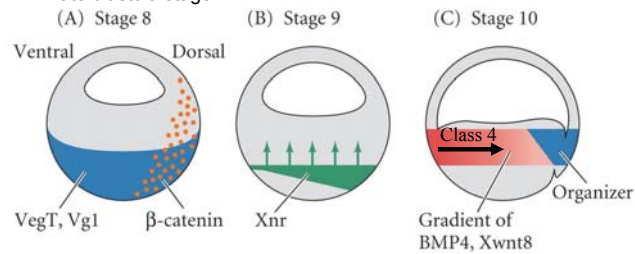
Class 4) Ventral mesoderm patterning signal (from spemann organizer), modulates the ventralizing signal (class 4), and from the ventral region subdivides muscle, kidney and blood. It also able formed a new dorsal axis. (Fig. 3.31)

Class 3) Spemann Organizer signal, and from dorsal region modifies the patterning of ventral mesoderm. Interacts with the dorsalizing signal.



2

Late blastula stage



DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Seventh Edition, Figure 10.27 © 2003 All rights reserved. 83

Beta-catenin

- leading candidate for the signal of the Nieuwkoop center

Catenins - proteins that anchor cadherins to the cytoskeleton

Cadherins - transmembrane proteins that function in cell adhesion

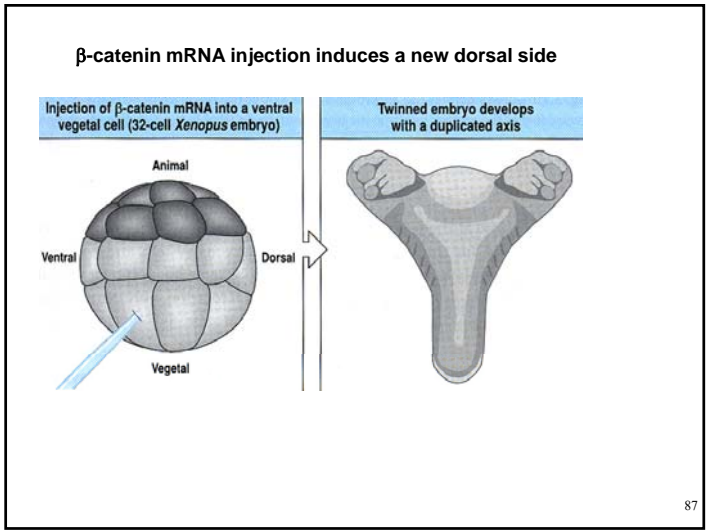
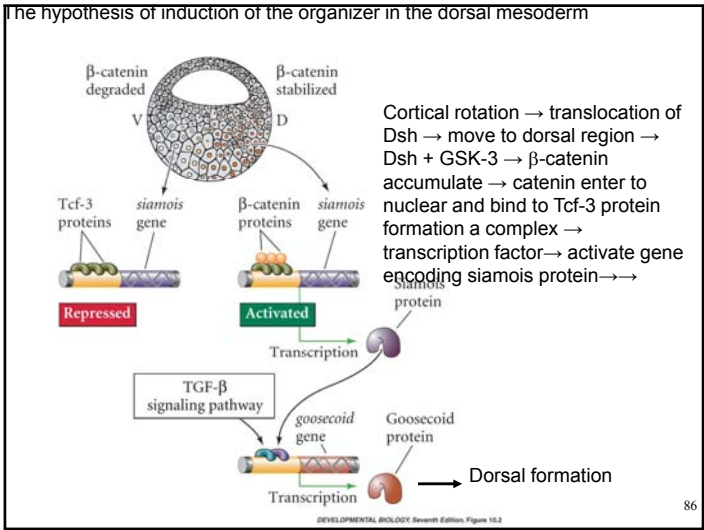
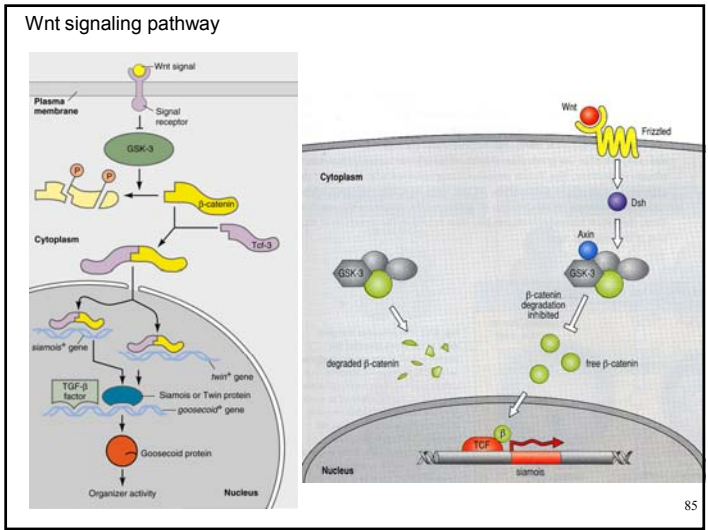
Beta-catenin – however

- is a cytoplasmic protein and is involved in the Wnt signaling pathway.

Wnt - soluble ligand (paracrine factor)

- binds to receptors of the frizzled family

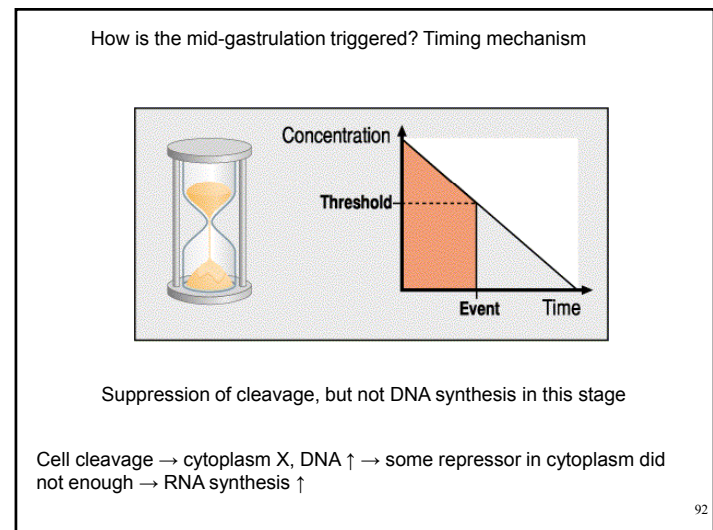
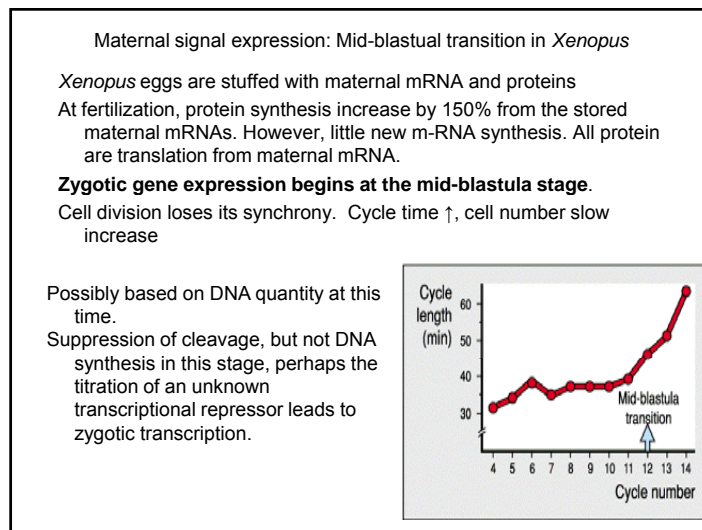
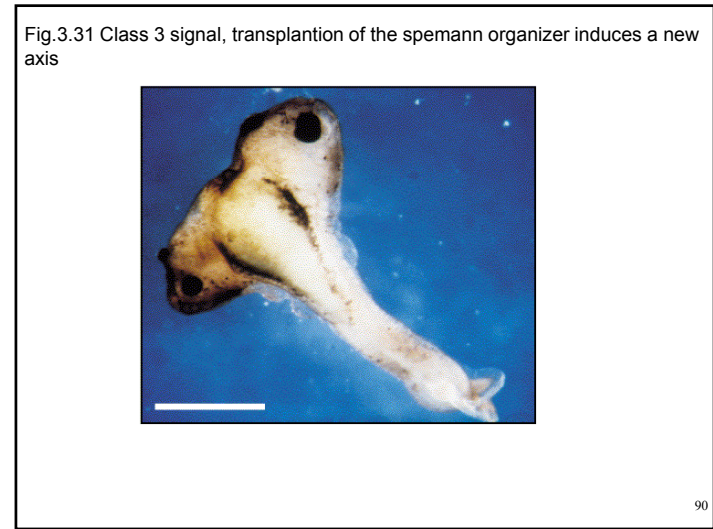
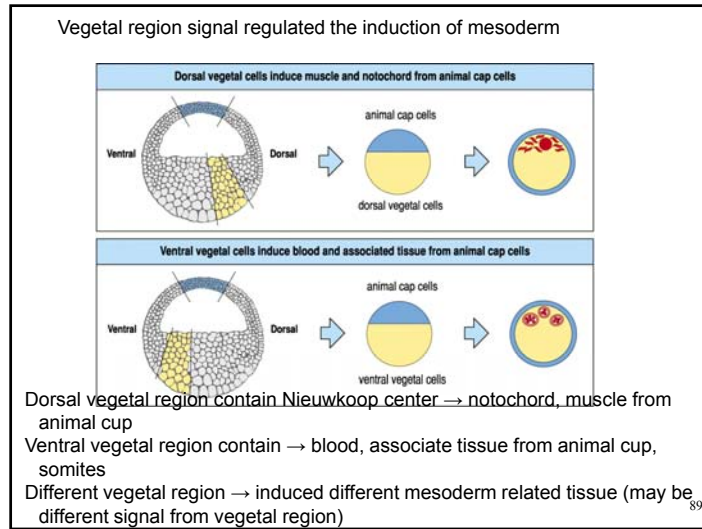
84



Summary of evidence for β-catenin being responsible for Nieuwkoop center activity?

- during cortical rotation, associated with the microtubules that move the cortical components
- UV irradiation blocks cortical rotation and traps β-catenin in vegetal pole - also, no activation of *Siamois*+ and *twin*+
- in the blastoderm stage, β-catenin is enriched in the nuclei of dorsal but not ventral blastomeres
- removal of β-catenin from eggs blocks dorsoventral axis formation
 - inject antisense oligonucleotides against β-catenin mRNA
- ventralized embryo (via UV irradiation) can be rescued by microinjection of β-catenin mRNA

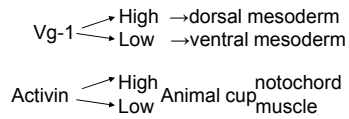
88



Candidate mesoderm **inducers** in *Xenopus*

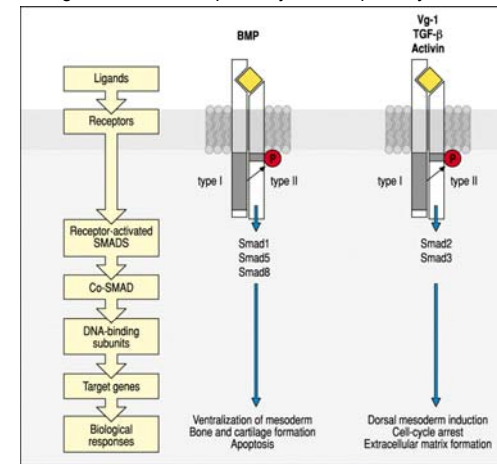
- 1) **Vg-1 (TGF- β family) precursor** must be proteolytically processed. Mature and active Vg-1 can induce dorsal mesoderm in
 - a) isolated animal caps and
 - b) ventralized (UV-treated) embryos (ventral)
 At lower concentrations it induces ventral mesoderm and may therefore be both the Class 1 and Class 2 signal.

Different concentration of maternal signal regulated development
- 2) **activin (also TGF- β family)** may also be a candidate a mutant form (**dominant negative mutant**) of the activin receptor blocks mesoderm formation. (Fig. 3.36)



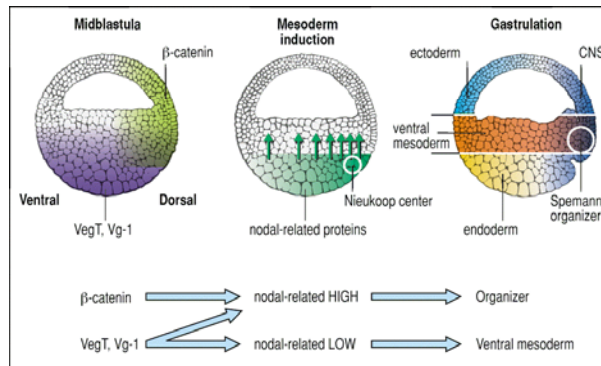
93

Fig. 3.34 Signal transduction pathway of TGF- β family



94

Fig. 3.35 A different (gradient) in the nodal-related protein may provide the class one and two signals in mesoderm induction



VegT, Vg-1, catenin and nodal related protein are important in the induction of mesoderm Activin??

95

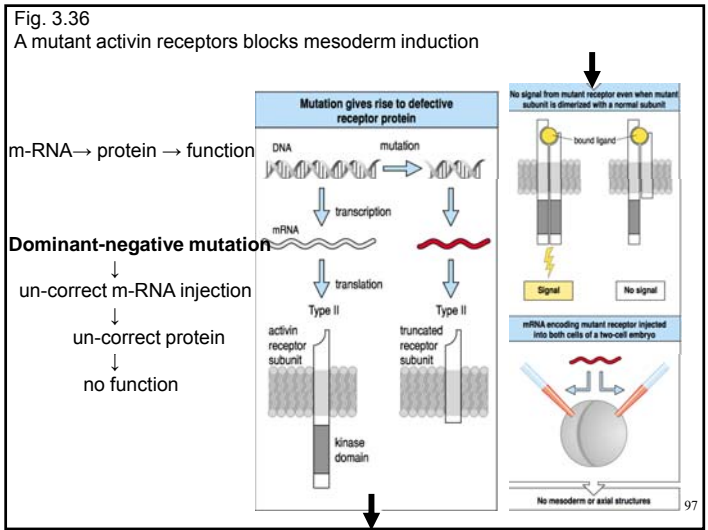


Dr. Hans Spemann

•1935 Nobel Prize for Physiology or Medicine

•It was the first time that a representative of developmental mechanics to receive Nobel award.

96



Mesoderm patterning factors in *Xenopus*

A number of protein involved in patterning the mesoderm along the dorso-ventral axis. Fig 3.37; 38

BMP-4 (also TGF- β family) induces ventral mesoderm (Class 4 signal) and is expressed throughout the late blastula.

Xwnt-8 (another diffusible factor) induces ventral mesoderm (Class 4 signal) and is expressed in the future mesoderm.

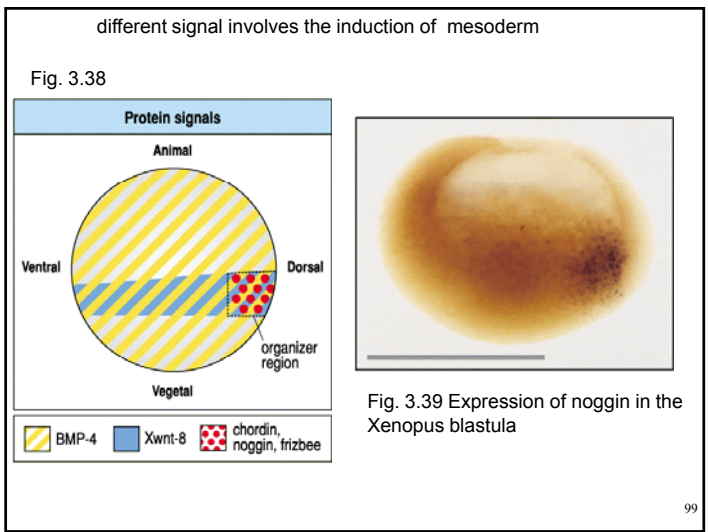
Fibroblast growth factor (FGF) also induces mesoderm.

noggin can dorsalize mesoderm tissue but can not induce mesoderm from ectoderm (Class 3 signal).

frizbee can dorsalize mesoderm (Class 4 signal).

noggin (and chordin) bind BMP-4 and frizbee binds Xwnt-8 which prevents these factors from binding to their receptors.

98



Signals in early *Xenopus* development

Factor	Protein family	Effects
Mesoderm induction		
Xnr-1	TGF- β family	
Xnr-2	TGF- β family	
Xnr-3	TGF- β family	
Derriere	TGF- β family	
Vg-1	TGF- β family	
Activin	TGF- β family	
Mesoderm patterning		
Bone morphogenetic protein (e.g. BMP-4)	TGF- β family	ventral mesoderm patterning
Xwnt-8	Wnt family	ventralizes mesoderm
Fibroblast growth factor (FGF)	FGF	ventral mesoderm induction
Noggin		dorsalizes—binds BMP-4
Chordin		dorsalizes—binds BMP-4
Frizbee		dorsalizes—binds BMP-4

100

Mesoderm induction activates genes that pattern the mesoderm

Mesoderm induction activates zygotic mesoderm patterning genes, control mesoderm differentiation.

Brachyury, a transcription factor, is expressed throughout the mesoderm then becomes confined to the notochord. (Fig. 3.40)
Brachyury → FGF family expression

Overexpression of *Brachyury* in the ectoderm induces ventral mesoderm. High dose *Brachyury* induced the formation of muscle

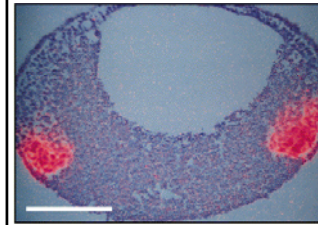
Goosecoid, a transcription factor, is expressed in the Spemann organizer (dorsal mesoderm) and can largely mimic the Spemann transplantations.

Other transcription factors that are expressed in the Organizer region include:

Pintallavis, HNF-3 β (two forkhead proteins), a gene expressed in the organizer and midline cells of frog embryos: Involvement in the development of the neural axis
Xnot and Xlim-1 (homeodomain proteins)

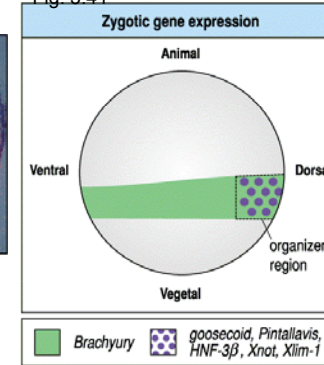
Zygotic gene expression specification map

Fig. 3.40



A cross-section through the embryo along the animal-vegetal axis shows that Brachyury (red) is expressed in the future mesoderm

Fig. 3.41



Zygotic gene expression in a late Xenopus blastula. Several transcription factors are expressed in the region of the dorsal mesoderm that corresponds to the spemann organizer

Gradients in signaling proteins and threshold response could pattern the mesoderm

Different concentration induce different/specific protein

Different [activin] → animal cap cell
Medium [activin] → animal cap → induced Brachyury expression
High [activin] → animal cap → induced goosecoid expression
Low [activin] → animal cap → induced epidermis

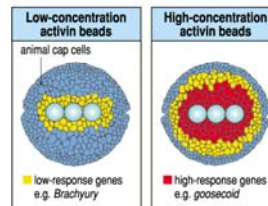
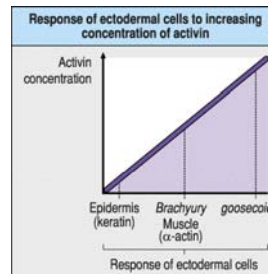
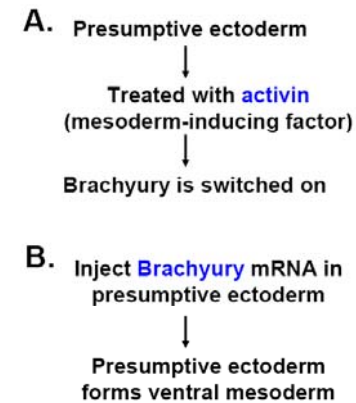


Fig 3.42

103

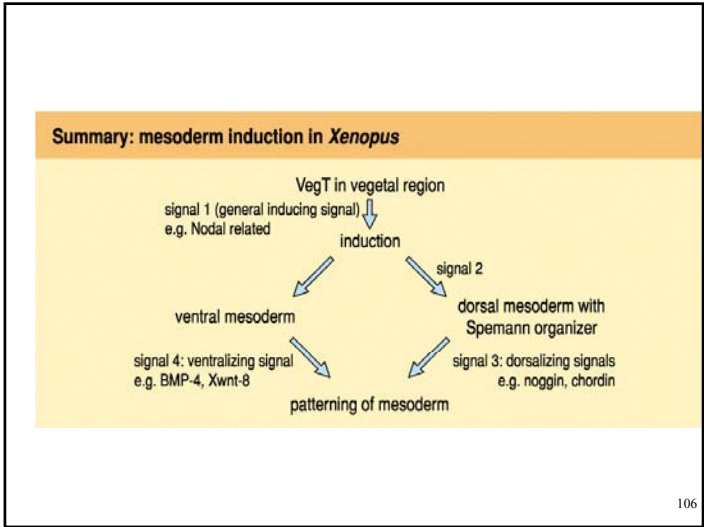


104

Summary: vertebrate axis determination

	Dorso-ventral axis	Antero-posterior axis
Xenopus	sperm entry point and cortical rotation. Dorsal side and Nieuwkoop center form on side opposite to sperm entry. Catenin on dorsal side	specified by Nieuwkoop center
Chick	axis of bilateral symmetry	gravity
Mouse	interaction between inner cell mass and trophectoderm	intercellular interactions?
Zebrafish	yolk cell specifies dorsal side	shield specifies the animal region

105



Summary: genes involved in patterning of axes and germ layers

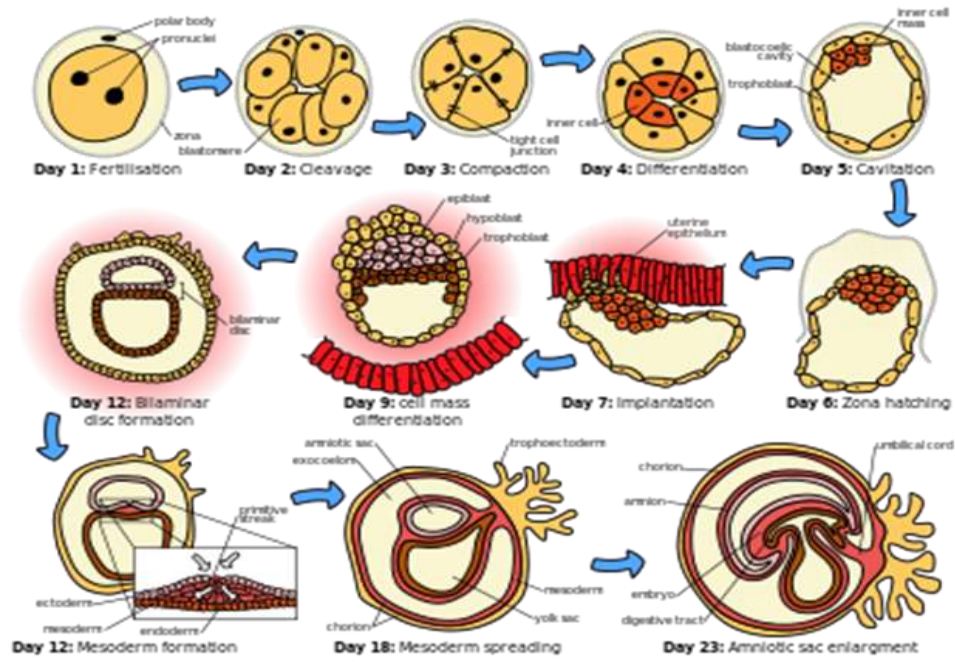
Gene	Maternal/ Zygotic	Type of protein	Where expressed	Effects
actin	Z	TGF-β family	?	mesoderm induction
BMP-4	Z	transcription factor	late blastula	ventralizes mesoderm
Brachyury	Z	transcription factor	early mesoderm	mesoderm development
β-catenin	M	gene regulatory protein	egg	dorsalizing signal
cerberus	Z	secreted	vegetal egg	mesoderm inhibition
chordin	Z	secreted signal molecule	organizer	dorsalizes mesoderm
demers	Z	TGF-β family	vegetal egg	mesoderm induction
fibroblast growth factor	Z	secreted signal molecule	blastula	ventral mesoderm induction
goosecoid	Z	transcription factor	organizer	organizer function
GSK-3	M	protein kinase	egg	suppresses dorsalizing signals
HNF-3β	Z	transcription factor	organizer	organizer development
noggin	M/Z	secreted	organizer	dorsalizes mesoderm
Pintallavis	Z	transcription factor	organizer	?
siamois	Z	transcription factor	dorsal blastula	dorsalizing signal
VegT	M	transcription factor	vegetal egg	induces endoderm and mesoderm signals
Vg-1	M	TGF-β family	vegetal egg	mesoderm induction
Xlim-1	Z	transcription factor	organizer	?
Xnot	Z	transcription factor	organizer	notochord specification
Xnr-1	Z	secreted	vegetal egg	mesoderm induction
Xnr-2	Z	secreted	vegetal egg	mesoderm induction
Xnr-4	Z	secreted	vegetal egg	mesoderm induction
Xwnt-11	M	Wnt family	vegetal egg	mesoderm induction
Xwnt-8	Z	Wnt family	propective mesoderm	ventralizes mesoderm

107

Mesoderm is induced, why?
 different signal involves the induction of mesoderm
 Nieuwkoop center vs. spammann organizer (maternal factor vs. zygotic factors)
 abembryonic-embryonic axis
 How identify maternal gene or zygotic gene
 Blastocyte vs. embryonic stem cell in mammal
 Important of mid-gastrula stage

108

Human embryonic development



Human embryonic development

Human embryonic development, refers to the development and formation of the human [embryo](#). It is characterised by the processes of [cell division](#) and [cellular differentiation](#) of the embryo that occurs during the early stages of development. It was the [development of the human body](#) entails growth from a one-celled [zygote](#) to an adult [human being](#).

[Fertilisation](#) occurs when the [sperm cell](#) successfully enters and [fuses](#) with an [egg cell](#) (ovum). The genetic material of the sperm and egg then combine to form a single cell called a zygote and the germinal stage of development commences.^[1] Embryonic development in the human, covers the first eight weeks of development; at the beginning of the ninth week the embryo is termed a [fetus](#).

Human embryology is the study of this development during the first eight weeks after fertilisation. The normal period of [gestation](#) (pregnancy) is about nine months or 40 weeks.

The germinal stage refers to the time from fertilization through the development of the early embryo until [implantation](#) is completed in the [uterus](#). The germinal stage takes around 10 days.^[2] During this stage, the zygote begins to divide, in a process called [cleavage](#).

A [blastocyst](#) is then formed and implanted in the [uterus](#). Embryogenesis continues with the next stage of [gastrulation](#), when the three [germ layers](#) of the embryo form in a process called [histogenesis](#), and the processes of [neurulation](#) and [organogenesis](#) follow. The entire process of embryogenesis involves temporal changes in [gene expression](#), [cell growth](#) and [cellular differentiation](#). A nearly identical process occurs in other species, especially among [chordates](#).

Fertilization

Fertilization takes place when the [spermatozoon](#) has successfully entered the ovum and the two sets of genetic material carried by the [gametes](#) fuse together, resulting in the zygote (a single [diploid](#) cell). This usually takes place in the ampulla of one of the [fallopian tubes](#). The zygote contains the combined genetic material carried by both the male and female gametes which consists of the 23 chromosomes from the nucleus of the ovum and the 23 chromosomes from the nucleus of the sperm. The 46 chromosomes undergo changes prior to the [mitotic division](#) which leads to the formation of the embryo having two cells.

Successful fertilization is enabled by three processes, the first is that of [chemotaxis](#) which directs the movement of the sperm towards the ovum. Secondly there is an adhesive compatibility between the sperm and the egg. With the sperm adhered to the ovum, the third process of [acrosomal reaction](#) takes place; the front part of the spermatozoan head is capped by an [acrosome](#) which contains digestive [enzymes](#) to break down the [zona pellucida](#) and allow its entry.^[3] The entry of the sperm causes calcium to be released which blocks entry to other sperm cells. A parallel reaction takes place in the ovum called the [zona reaction](#). This sees the release of [cortical granules](#) that release enzymes which digest sperm receptor proteins, thus preventing [polyspermy](#). The granules also fuse with the plasma membrane and modify the zona pellucida in such a way as to prevent further sperm entry.

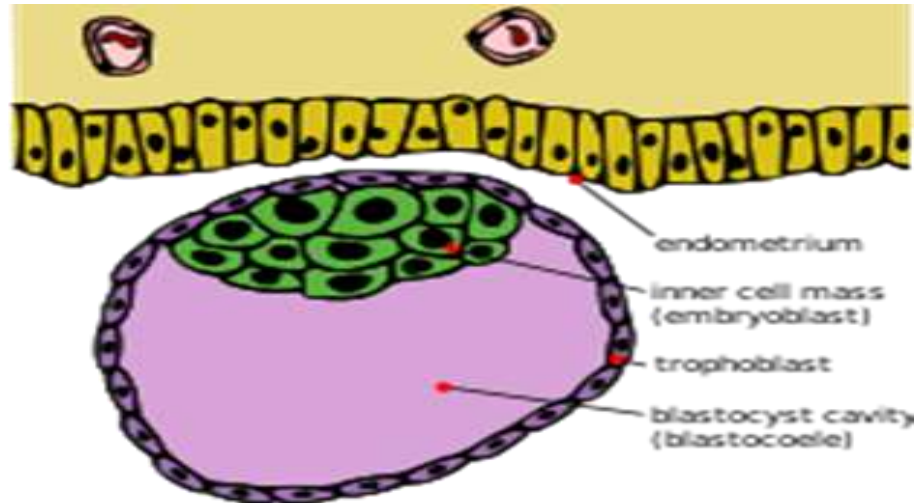
Cleavage



The beginning of the [cleavage](#) process is marked when the zygote divides through [mitosis](#) into two cells. This mitosis continues and the first two cells divide into four cells, then into eight cells and so on. Each division takes from 12 to 24 hours. The zygote is large compared to any other cell and undergoes cleavage without any overall increase in size. This means that with each successive subdivision, the ratio of nuclear to cytoplasmic material increases.^[4] Initially the dividing cells, called [blastomeres](#) (*blastos* Greek for sprout), are undifferentiated and aggregated into a sphere enclosed within the membrane of [glycoproteins](#) (termed the zona pellucida) of the ovum. When eight [blastomeres](#) have formed they begin to develop [gap junctions](#), enabling them to develop in an integrated way and co-ordinate their response to physiological signals and environmental cues.^[5]

When the cells number around sixteen the solid sphere of cells within the zona pellucida is referred to as a [morula](#)^[6] At this stage the cells start to [bind](#) firmly together in a process called compaction, and cleavage continues as [cellular differentiation](#).

Blastula



Cleavage itself is the first stage in [blastulation](#), the process of forming the [blastocyst](#). Cells differentiate into an outer layer of cells (collectively called the [trophoblast](#)) and an [inner cell mass](#). With further compaction the individual outer blastomeres, the trophoblasts, become indistinguishable. They are still enclosed within the [zona pellucida](#). This compaction serves to make the structure watertight, containing the fluid that the cells will later secrete. The inner mass of cells differentiate to become [embryoblasts](#) and [polarise](#) at one end. They close together and form [gap junctions](#), which facilitate cellular communication. This polarisation leaves a cavity, the [blastocoel](#), creating a structure that is now termed the blastocyst. (In animals other than mammals, this is called the [blastula](#).) The trophoblasts secrete fluid into the blastocoel. The resulting increase in size of the blastocyst causes it to [hatch](#) through the zona pellucida, which then disintegrates

Blastula

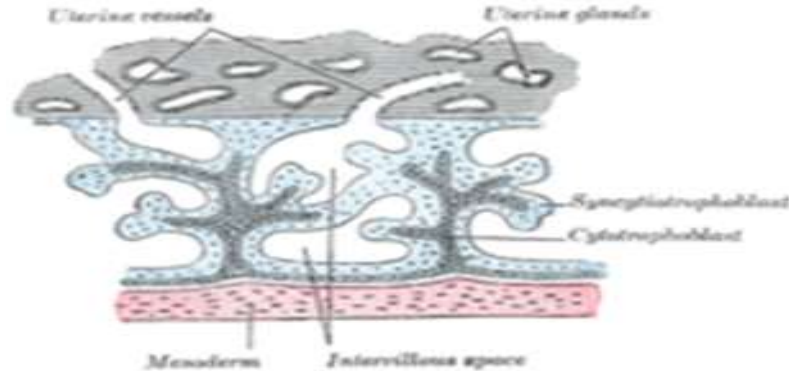
The inner cell mass will give rise to the [pre-embryo](#),^[8] the [amnion](#), [yolk sac](#) and [allantois](#), while the fetal part of the [placenta](#) will form from the outer trophoblast layer.

The embryo plus its [membranes](#) is called the [conceptus](#), and by this stage the conceptus has reached the [uterus](#). The zona pellucida ultimately disappears completely, and the now exposed cells of the trophoblast allow the blastocyst to attach itself to the [endometrium](#), where it will [implant](#).

The formation of the [hypoblast](#) and [epiblast](#), which are the two main layers of the bilaminar germ disc, occurs at the beginning of the second week.^[9] Either the embryoblast or the trophoblast will turn into two sub-layers.^[10] The inner cells will turn into the hypoblast layer, which will surround the other layer, called the epiblast, and these layers will form the embryonic disc that will develop into the embryo.^{[9][10]} The trophoblast will also develop two sub-layers: the [cytotrophoblast](#), which is in front of the [syncytiotrophoblast](#), which in turn lies within the [endometrium](#).^[9] Next, another layer called the [exocoelomic membrane or Heuser's membrane](#) will appear and surround the cytotrophoblast, as well as the primitive yolk sac.^[10] The syncytiotrophoblast will grow and will enter a phase called lacunar stage, in which some vacuoles will appear and be filled by blood in the following days.^{[9][10]} The development of the yolk sac starts with the [hypoblastic](#) flat cells that form the exocoelomic membrane, which will coat the inner part of the cytotrophoblast to form the primitive yolk sac. An erosion of the endothelial lining of the maternal capillaries by the syncytiotrophoblastic cells of the sinusoids will form where the blood will begin to penetrate and flow through the trophoblast to give rise to the uteroplacental circulation.^{[11][12]} Subsequently new cells derived from yolk sac will be established between trophoblast and exocoelomic membrane and will give rise to extra-embryonic [mesoderm](#), which will form the [chorionic cavity](#).^[10]

At the end of the second week of development, some cells of the trophoblast penetrate and form rounded columns into the syncytiotrophoblast. These columns are known as [primary villi](#). At the same time, other migrating cells form into the exocoelomic cavity a new cavity named the secondary or definitive yolk sac, smaller than the primitive yolk sac.^{[10][11]}

Implantation



After [ovulation](#), the endometrial lining becomes transformed into a secretory lining in preparation of accepting the embryo. It becomes thickened, with its [secretory glands](#) becoming elongated, and is increasingly [vascular](#). This lining of the uterine cavity is now known as the [decidua](#), and it produces a great number of large [decidual cells](#) in its increased interglandular tissue. The blastomeres in the blastocyst are arranged into an outer layer called the [trophoblast](#) which differentiates into an inner layer, the [cytotrophoblast](#), and an outer layer, the [syncytiotrophoblast](#). The cytotrophoblast contains cuboidal epithelial cells and is the source of [dividing cells](#), and the syncytiotrophoblast is a [syncytial](#) layer without cell boundaries.

The syncytiotrophoblast implants the blastocyst in the decidual [epithelium](#) by projections of [chorionic villi](#), forming the embryonic part of the placenta. The placenta develops once the blastocyst is implanted, connecting the embryo to the uterine wall. The decidua here is termed the decidua basalis; it lies between the blastocyst and the [myometrium](#) and forms the maternal part of the [placenta](#). The implantation is assisted by [hydrolytic enzymes](#) that erode the [epithelium](#). The [syncytiotrophoblast](#) also produces [human chorionic gonadotropin](#), a [hormone](#) that stimulates the release of [progesterone](#) from the [corpus luteum](#).

Implantation

Progesterone enriches the uterus with a thick lining of blood vessels and capillaries so that it can oxygenate and sustain the developing embryo. The uterus liberates sugar from stored [glycogen](#) from its cells to nourish the [embryo](#).^[13]

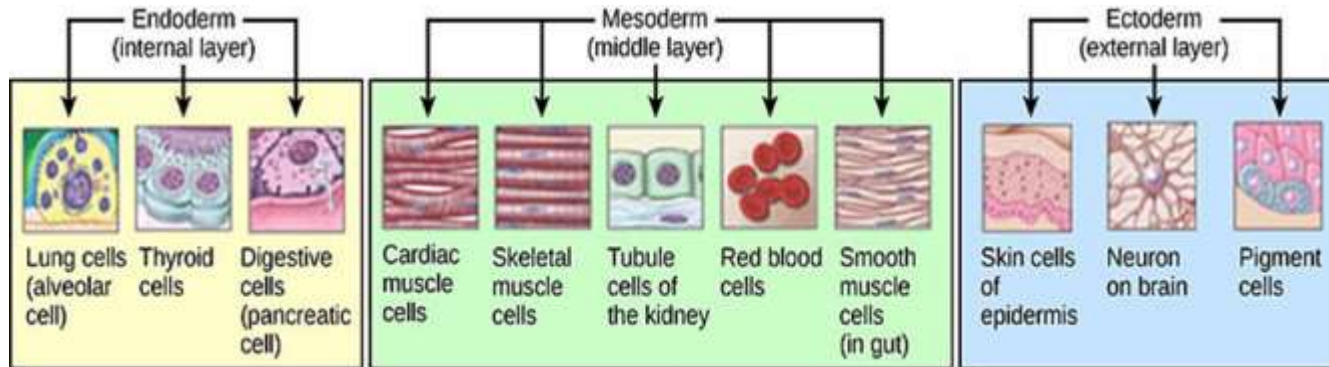
The villi begin to branch and contain blood vessels of the embryo. Other villi, called terminal or free villi, exchange nutrients. The embryo is joined to the trophoblastic shell by a narrow connecting stalk that develops into the umbilical cord to attach the placenta to the embryo.^{[10][14]} Arteries in the decidua are remodelled to increase the maternal blood flow into the intervillous spaces of the placenta, allowing [gas exchange](#) and the transfer of nutrients to the embryo. Waste products from the embryo will diffuse across the placenta.

As the syncytiotrophoblast starts to penetrate the uterine wall, the inner cell mass (embryoblast) also develops. The inner cell mass is the source of embryonic [stem cells](#), which are [pluripotent](#) and can develop into any one of the three germ layer cells, and which have the potency to give rise to all the tissues and organs.

Embryonic disc

It is a bilaminar disc of two layers, an upper layer called the epiblast (primitive ectoderm) and a lower layer called the hypoblast (primitive endoderm). The disc is stretched between what will become the amniotic cavity and the yolk sac. The epiblast is adjacent to the trophoblast and made of columnar cells; the hypoblast is closest to the blastocyst cavity and made of cuboidal cells. The epiblast migrates away from the trophoblast downwards, forming the amniotic cavity, the lining of which is formed from amnioblasts developed from the epiblast. The hypoblast is pushed down and forms the yolk sac (exocoelomic cavity) lining. Some hypoblast cells migrate along the inner cytotrophoblast lining of the blastocoel, secreting an extracellular matrix along the way. These hypoblast cells and extracellular matrix are called Heuser's membrane (or the exocoelomic membrane), and they cover the blastocoel to form the yolk sac (or exocoelomic cavity). Cells of the hypoblast migrate along the outer edges of this reticulum and form the extraembryonic mesoderm; this disrupts the extraembryonic reticulum. Soon pockets form in the reticulum, which ultimately coalesce to form the chorionic cavity (extraembryonic coelom).

Gastrulation

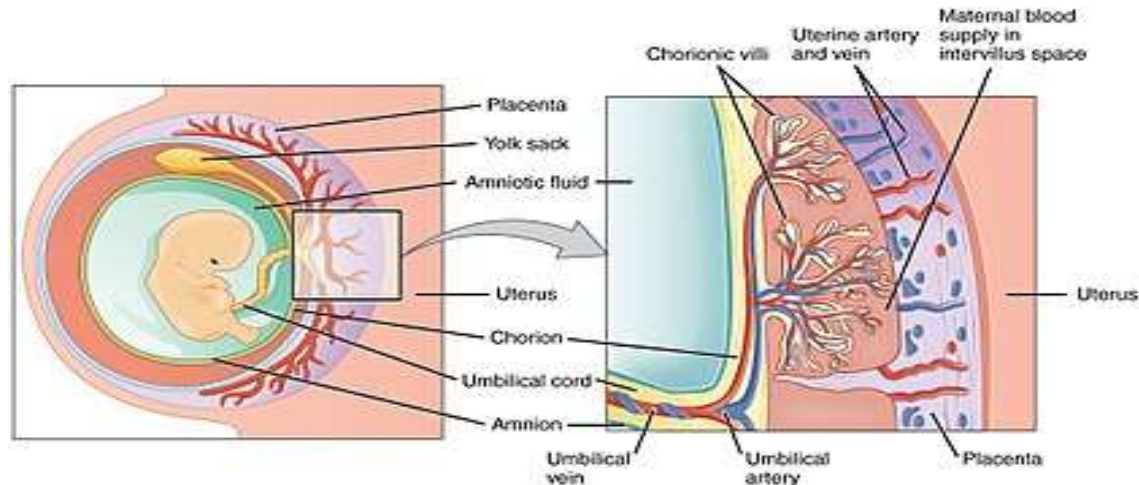


The [primitive streak](#), a linear band of cells formed by the migrating epiblast, appears, and this marks the beginning of [gastrulation](#), which takes place around the seventeenth day (week 3) after fertilisation.

The process of gastrulation reorganises the two-layer embryo into a three-layer embryo, and also gives the embryo its specific head-to-tail, and front-to-back orientation, by way of the primitive streak which establishes [bilateral symmetry](#). A [primitive node](#) (or primitive knot) forms in front of the primitive streak which is the organiser of [neurulation](#).

A [primitive pit](#) forms as a depression in the centre of the primitive node which connects to the [notochord](#) which lies directly underneath. The node has arisen from epiblasts of the amniotic cavity floor, and it is this node that induces the formation of the [neural plate](#) which serves as the basis for the nervous system.

Gastrulation



The neural plate will form opposite the primitive streak from ectodermal tissue which thickens and flattens into the neural plate. The epiblast in that region moves down into the streak at the location of the primitive pit where the process called [ingression](#), which leads to the formation of the mesoderm takes place.

This ingression sees the cells from the epiblast move into the primitive streak in an [epithelial-mesenchymal transition](#); epithelial cells become mesenchymal stem cells, [multipotent stromal](#) cells that can [differentiate](#) into various cell types. The hypoblast is pushed out of the way and goes on to form the [amnion](#). The epiblast keeps moving and forms a second layer, the mesoderm. The epiblast has now differentiated into the three [germ layers](#) of the embryo, so that the bilaminar disc is now a trilaminar disc, the [gastrula](#).

Gastrula

The three germ layers are the [ectoderm](#), [mesoderm](#) and [endoderm](#), and are formed as three overlapping flat discs. It is from these three layers that all the structures and organs of the body will be derived through the processes of [somitogenesis](#), [histogenesis](#) and [organogenesis](#).^[15] The embryonic endoderm is formed by [invagination](#) of epiblastic cells that migrate to the hypoblast, while the mesoderm is formed by the cells that develop between the epiblast and endoderm. In general, all germ layers will derive from the epiblast.^{[10][14]}

The upper layer of ectoderm will give rise to the outermost layer of skin, central and peripheral [nervous systems](#), [eyes](#), [inner ear](#), and many [connective tissues](#).^[16] The middle layer of mesoderm will give rise to the heart and the beginning of the [circulatory system](#) as well as the [bones](#), [muscles](#) and [kidneys](#). The inner layer of endoderm will serve as the starting point for the development of the [lungs](#), [intestine](#), [thyroid](#), [pancreas](#) and [bladder](#).

Following ingression, a [blastopore](#) develops where the cells have ingressed, in one side of the embryo and it deepens to become the [archenteron](#), the first formative stage of the [gut](#). As in all [deuterostomes](#), the blastopore becomes the [anus](#) whilst the gut tunnels through the embryo to the other side where the opening becomes the mouth. With a functioning digestive tube, gastrulation is now completed and the next stage of [neurulation](#) can begin.

العوامل الحياتية

Biological factors

بالاضافه للعوامل الفيزيائية والكيميائية هناك عوامل حياتيه عديده متعلقه بالاحياء الموجوده في المياه تؤثر على نشاط الميكروبات فيه , حيث تنشأ علاقات عديده ما بين الميكروبات نفسها وبينها وبين الحيوانات والنباتات المائيه , وهذه العلاقات اما تكون نافعه للميكروبات او ضاره او لاتنفع ولاتضر , واحياء الماء بصوره عامه اما ان تكون (علاقه منفعه) وهذا ما يطلق عليه بمصطلح عام هو synergism او علاقته مضره وما يطلق عليها هو antagonism وضمن هذه التسميات سنرى ان هناك تسميات عديده حسب نوع العلاقه .

والمعلومات المتوفره عن تأثير العوامل الحياتيه قليله جدا قياسا بالعوامل الفيزيائيه والكيميائيه لان الاخيره يمكن قياسها وتحديدتها في حين الاحياء قد يصعب معرفه انواعها وعددها بدقه في البيئه الطبيعيه , فمثلا عد بكتريا المياه في وقت محدد بمجرد تخمين Estimation حيث يتغير هذا العدد بالساعات بل بالدقائق وقبل ان تنتهي تجربه العد في المختبر . كذلك لاتعرف بالدقه نوع العلاقات التي تحدث في المياه لكثرتها وتعدد انواع الاحياء وارتباط ذلك بتغير العوامل الفيزيائيه والكيميائيه في المياه ولهذا فالحصول على نتائج دقيقه وثابته عن العوامل الحياتيه يصبح حاله نادره .

اولا علاقته المايكروبات ببعضها :-

: Neutralism-1

لكثير من الباحثين لا يدرج هذا المصطلح ضمن العلاقات ما بين المايكروبات لانه عمليا يصعب وجود مايكروبيين في المياه بدون نشوء علاقته بينهما او يتاثر احدهما بالآخر , فاذا لم يتنافسا من اجل الغذاء ولايغير احدهما الظروف التي تؤثر على الثاني على الاقل يتنافسا من اجل المكان .

وقد اكد الباحثين حدوث مثل هذه الحاله واستندوا على تجارب مختبريه بوضع مايكروبيين لهما نفس معدل النمو Growth rate في وسط تتوفر فيه كل العناصر الغذائيه فلم تحدث علاقته بين هذين الميكروبيين لفرته قصيره لكن بعدها حدث تغيير في الوسط ادى الى تكوين علاقته بينهما .

وقد لا يحدث علاقته بين كائنين لوجود اسباب مختلفه منها :

1- قد تتوفر الظروف والغذاء والمكان لنمو المايكروبات بدون منافسه خاصه عند وجود اعداد قليله من المايكروبات

2- وفره المواد الغذائيه

3- متطلبات كل ميكروب تختلف عن متطلبات الثاني

4- قد تتواجد المايكروبات متباعده بعضها عن بعض في الوسط لمسافات البعيده

5- قد تنتمي هذه الميكروبات لانواع متباعده تصنيفا ومتطلباتها متباينه .

وتحدث هذه الحاله عند غزو بيئه مائيه جديده من قبل مايكروبات قليله حيث المواد الغذائيه فيها وفيره ولا تتراكم المواد السامه التي تؤذي بعضها.

وعلى العموم ان حدثت هذه الظاهره في الطبيعه فهي نادره جدا ولفتره قصيره وسرعان ما تتغير البيئه وتنشأ علاقاتها بين المايكروبات الموجوده فيها .

Commensalism-2 علاقه منفعه لطرف واحد :-

هذا النوع من العلاقات شائع جدا بين الميكروبات حيث يعمل احدهما على افاده الثاني بدون ان يتضرر او يتاثر وعادة ما يطلق على الكائن المستفيد commensal ويتمكن الطرف الاول ان يفيد الطرف الثاني من خلال طرق مختلفه ومتعدده مثل :

1- تحويل المواد غير قابله للاستهلاك الى مواد قابله للاستهلاك من قبل الثاني . كما يحدث التعاون بين البكتريا والفطريات حيث تفرز الفطريات العديد من الانزيمات التي تحلل المركبات المعقده وتكوين سكريات بسيطه تستفيد منها غالبية مايكروبات المياه , كتحلل السليلوز واللكتين والبكتين والبروتين والدهون وغيرها لتتكون سكريات بسيطه واحماض دهنيه واحماض امينيه وعضويه , كما انها اي فطريات قد تساهم في تحليل مركبات معقده سامه مثل الهيدروكاربونات والمبيدات والسموم ,حيث تتجمع عليها ميكروبات متخصصه تحللها وتزيل خطرهما وتكون منها عناصر غذائيه لمايكروبات اخرى .

2- يكون الطرف الاول مواد نشطه لنمو الثاني . وتحدث هذه العلاقه بين البكتريا والطحالب , حيث تجهز الطحالب مايكروبات المياه بالمواد الغذائيه المهمه , فالطحالب تفرز مواد عديده مثل الاحماض الدهنيه والامينيه والسكريات والاحماض النوويه وحامض الكلوكونيك Gluconic acid والذي يعتبر اهم مركب يفرز من قبل الطحالب خلال عمليه التركيب الضوئي. كما وجد ان بعض المايكروبات قد تفرز فيتامينات B₁ و B₁₂ والبيوتين والرايبوفلامين و pantothenic acid و Nicotinic acid و folic acid وتستفيد من هذه الفيتامينات العديده من مايكروبات المياه . من ناحيه اخرى هو ان كثير من المايكروبات قد تفرز مواد منشطه لنمو مايكروبات اخرى كالفيتامينات وعوامل اخرى عديده Growth factors.

3- يعمل الاول على ازاله العوامل والمواد الضاره للثاني , عن طريق تغيير الظروف البيئيه كتغير قيمه ال pH او الضغط الازموزي او ازاحه الاوكسجين وحجب الضوء او تحطيم المواد السامه والمثبطه لنمو الثاني . اذ تعمل المايكروبات على تغيير الظروف البيئيه لصالح غيرها كتغيير حموضه الوسط وملوحته وظروفه الهوائيه او قد تحمي بعضها من ظروف بيئيه اخرى مثل حجبها للضوء عن البكتريا التي تتضرر كطوفان الطحالب على الماء لتحجب الضوء والحراره عن البكتريا التي تنمو تحتها

4- قد يعمل الاول كمكان بيئي ملائم للثاني بنمو الثاني على سطحه او داخله كنمو البكتريا على سطح او داخل الطحالب مثل نمو البكتريا على الطحالب اذ تلتصق بها لتحميها من الانجراف بالتيارات المائيه.

3- Mutualism علاقه منفعه للطرفين (تبادل منفعه)

تحدث هذه العلاقه عندما تتعاون كثير من المايكروبات من اجل الاستفاده من العناصر الغذائيه الموجوده , حيث تشمل الفائده كلا الطرفين كتحلل المواد العضويه المعقده والتي لاتتحلل الا بتعاون عده مايكروبات فالبقايا السليلوزيه تتحلل اسرع بوجود خليط من المايكروبات عليها مما لو وجد ميكروب واحد فقط . خاصه المواد العضويه المترابطه مع مواد اخرى مثل السليلوز الذي يوجد مترابط مع اللكتين فلا تتمكن البكتريا من تحلل السليلوز الا بعد ان تحللها الفطريات المحلله للكتين من جانب اخر معيشه مايكروبيين سويه قد يعطي واحد للثاني منشطات بنموه , فمثلا نمو Lactobacillus plantarum و Streptococcus faecalis على المواد العضويه النباتيه في المياه سويه نموها احسن مما لو عاش كل واحد لوحده.

اذ وجد ان الاول يجهز الثاني بعامل منشط هو folic acid والثاني يجهز الاول بالحامض الاميني phenyl alanine ونفس الحاله في معيشه Bacillus subtilis مع proteus vulgaris حيث تجهز البكتريا الاولى Nicotinic acid للثاني اما الثانيه فتجهز الاولى ب Biotin وهذا التعاون يكون اشده في المياه الفقيره جدا بالعناصر الغذائيه حيث تلاحظ ظاهره syntrophism ويقصد بها نمو مجموعتين من المايكروبات نموا جيدا في هذه المياه في حين تنمو كل واحده لوحدها نمو ضعيفا جدا في هذه المياه .

4- Amensalism طرف يؤدي الثاني : (التضاد)

تفرز كثير من المايكروبات مواد ضد المايكروبات الاخرى تؤثر على نموها او تقتلها والمواد المفرزه تختلف في طبيعتها وتأثيراتها ويمكن تقسيم المواد الى ثلاث مجاميع هي :

أ- مثبطات لاعضويه Inorganic inhibitors مثل كبريتيد الهيدروجين H_2S وبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 والامونيا و CO_2 وغيرها
ب- مواد عضويه مخففه السميّه Low potency organics مثل الاحماض الدهنيه البسيطه والايثانول .

ج- مواد عضويه شديده السميّه Highly toxic organics مثل المضادات الحيويه والسموم البكتيريّه

● فالنسبه للمثبطات اللاعضويه فهي تتكون في المياه نتيجه لتحلل المواد العضوي او نتيجه لعمليات الاكسده والاختزال , وتركيز هذه المواد الضاره يختلف حسب المياه ففي المحيطات والبحار مهما فرزت من سموم تخفف الحجم الكبير من الماء ويقل ضررها بينما في البرك والانهار ذات الجريان البطئ تتركز السموم ويصبح ضررها كبير . كما ان بعض الطحالب قد تفرز سموم تنمّع نمو البكتريا والفطريات خاصه اثناء موسم التزهير . كما ان الكثير من البكتريا الخيطيه تفرز المضادات الحيويه التي تؤثر على الاحياء المجهرية المتواجده معهما .

5- التطفل parasitism

وتجري هذه العلاقه بتطفل مايكروب على مايكروب اخر , وفي المياه قد تتعرض بعض المايكروبات لمهاجمه مايكروبات اخرى من الفايروسات والبكتريا وغيرها وكمثال على تطفل مايكروب على اخر هي فايروسات البكتريا Bacterio phages حيث تكثر في المياه الملوته ومياه الشواطئ والسواحل وتلتصق هذه الفاجات بالبكتريا عن طريق ذنبها tail لتحقق ماده

النوويه في راسها في الخليه البكتيرييه وتدخل الماده النوويه الى داخل البكتريا فتتوجهه فعالياتها لانتاج مثيلاتها وبذلك تتكون مئات الفاجات داخلها لتنفجر وتحرر هذه الفاجات , وتتواجد الفاجات بكثره في مياه المجاري ولهذا رمي مياه المجاري الى النهر يقضي على جزء كبير من الفلورا المايكروبيه المائيه وقد عزلت من المياه الملوثة فاجات بكتريا القولون والسالمونيلا والشجيلا اضافه الى فاجات الفلورا الطبيعه للحياه مثل فاجات بكتريا pseudomonas و Achromobacter و vibrio و Cytophaga بالنسبه لمياه البحار والمحيطات والمياه الجوفيه تكون فيها الفاجات قليله لقله البكتريا , كذلك عزلت فاجات البكتريا الخضراء المزرقه Cyanophages والتي تسبب موت فجائي لطحالب البحيرات والبرك.

وكمثال على البكتريا المتطفله فتعتبر بكتريا Bdellovibrio التي اكتشفت عام 1962 من البكتريا الطفيليه على بكتريا تتواجد معها في المياه خاصه النوع Bdellovibrio bacteriovorus . وهذه البكتريا صغيره الحجم تشبه الفارزه متحركه سوط واحد طرفي حيث تلتصق هذه البكتريا بطرفها الخالي من السوط على بكتريا اخرى ثم تدخل الى داخلها لتنهضم محتوياتها وتتكاثر داخلها ثم ينحل جدار البكتريا المضيف وتخرج الخلايا الجديده للبكتريا المتطفله لتهاجم خلايا بكتيرييه جديده ومن البكتريا التي تصاب بهذه البكتريا المتطفله هي Aerobacter و serratia و salmonella و pseudomonas . كما ان الفطريات المائيه قد تتطفل على فطريات اخرى وعلى البكتريا الخضراء المزرقه مثل الفطر Rozella marina يتطفل على فطر اخر هو chytridium polysiphonine المائيه .

العلاج بالفاجات كبديل عن العلاج بالمضادات الحيويه phage therapy

ونقصد بالعلاج بالفاجات هو استخدام الفاجات كمضادات للبكتريا بدلا من استخدام المضادات الحيويه وتستخدم هذه الطريقة عادة لعلاج البكتريا المقاومه للمضادات الحيويه Multi Drug Resistance MDR مثل علاج بكتريا Pseudomonas aeruginosa المسببه لتسمم الحروق .

دورة حياة العاثي البكتيري

1-الادمصاص.(Adsorption)

2-الاختراق.(Penetration)

3-النسخ والتضاعف.(Multiplication)

4-التجمع.(Assembly)

5-التحرر(Releasing)

تكاثر الفيروسات من خلال ما يعرف بالدورة الحالة أو الدورة المستديرة أو المولدة للتحلل، وقد تملك بعض الفيروسات القدرة على استخدام كلا الدورتين. عندما تتكاثر الفيروسات عن طريق الدورة الحالة كما في (T4 phage) فإنه يتم تحليل الخلايا البكتيرية وتدميرها بعد مضاعفة أعداد الفيروسات مباشرة. وبمجرد تدمير الخلية فإن الفيروسات الجديدة تبحث عن عائل جديد لاحتلاله واستخدام مصادره لمضاعفة أعداد الفيروس. من الجدير بالذكر إن الفيروسات التي تتكاثر عن طريق الدورة الحالة تكون مناسبة للعلاج بالعائية أكثر من تلك التي تتكاثر عن طريق الدورة المستديرة. تمر بعض العائيات خلال الدورة الحالة فيما يعرف (بتثبيط التحليل)، ويحدث ذلك بأن تتوقف سلالة كاملة من العائيات عن تحليل الخلايا البكتيرية والخروج منها عندما يكون تركيز العائيات خارج الخلية عالياً. وعادة تكون هذه العملية عكسية. من الجدير بالذكر أن هذه الآلية مختلفة عن آلية تكاثر العائيات المندرجة والتي تدخل عادة في مرحلة سبات مؤقتة. بالمقابل، فإن الدورة المستديرة لا تؤدي إلى تحلل الخلية المضيفة، حيث يندمج المحتوى الجيني لها مع المادة الوراثية للمضيف وتتكاثر بتكاثرها دون أي أضرار أو أذى ويسمى الفيروس في هذه الحالة بـ prophage أما الخلية البكتيرية فتسمى lysogenic cell. يبقى الفيروس ساكناً إلى أن تتدهور حالة المضيف – ربما بسبب نقص في المواد الغذائية- عندها تنشط هذه الفيروسات الداخلية و تبدأ دورة التكاثر التي تنتهي بتحلل خلايا المضيف. أحيانا تكون طليعة العائية ذات فائدة عظيمة للبكتيريا عندما تكون ساكنة، وذلك بإضافة خصائص جديدة للخلية البكتيرية فيما يعرف بالتحول (lysogenic conversion) ومن الأمثلة على ذلك تحول إحدى سلالات ضممة الكوليرا غير المؤذية إلى أحد أكثر أنواع البكتيريا إيذاءً والتي تسبب مرض الكوليرا. وهذا بالذات ما يجعل العائيات المندرجة غير ملائمة للعلاج بالعائيات.

إيجابيات العلاج بالفاجات

- 1- خصوصية المضيف وهذه الخصوصيه غير موجودة في المضادات الحيوية
- 2- لا تسبب اعراض جانبية
- 3- استخدام جرعة علاجية صغيرة من الفيروسات والتي تتكاثر بعدها داخل الخلايا البكتيرية
- 4- تكون غير مؤذية للخلايا الحقيقية النواة للانسان

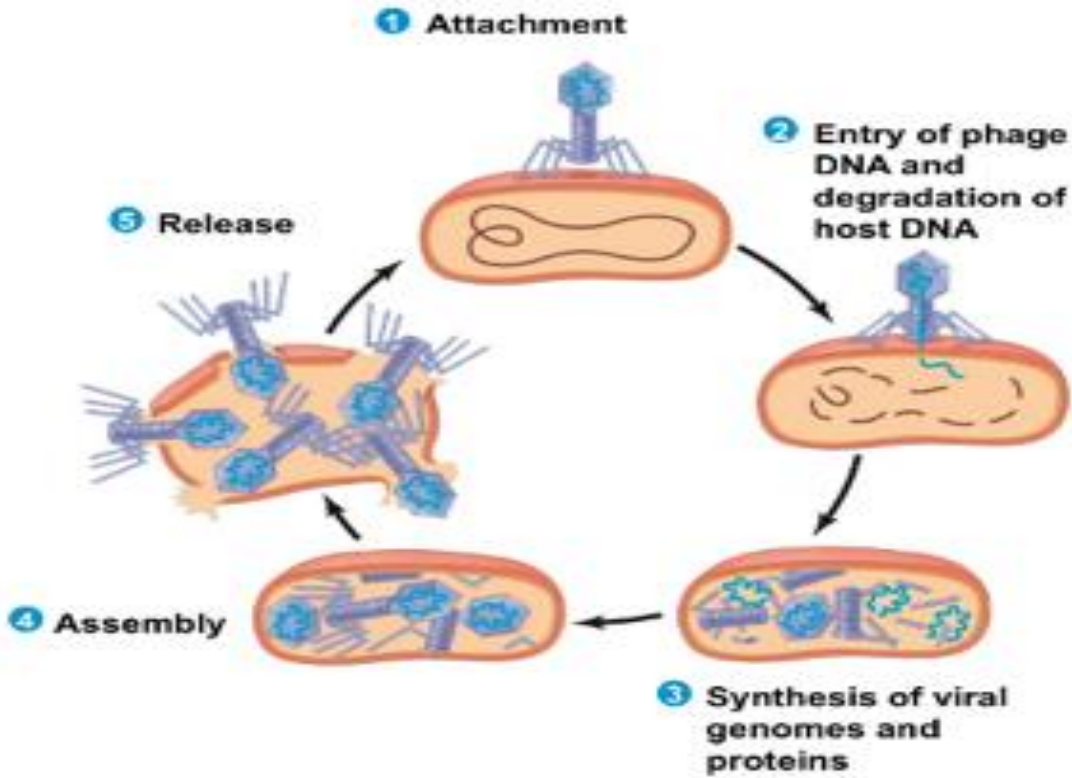
5- بعض انواع الفيروسات تنتج انزيمات مكسرة للغشاء الحيوي التي تكونه البكتريا المرضية

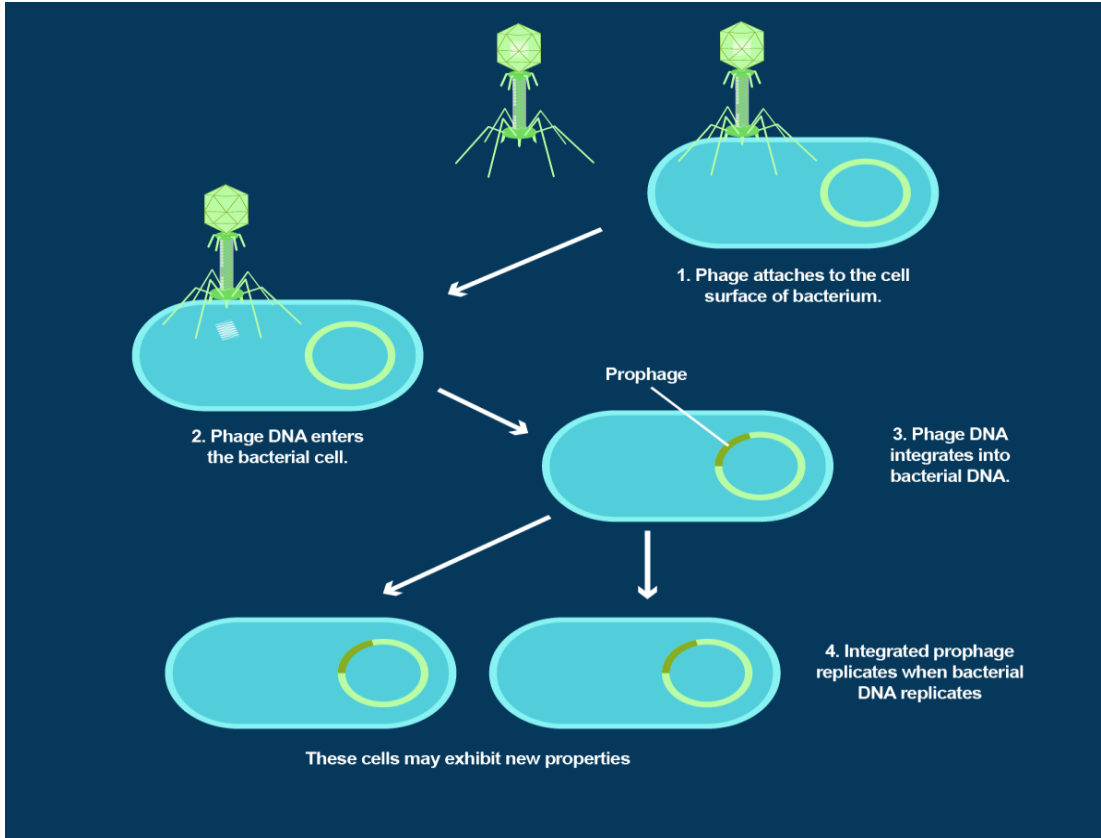
6- رخيصة الثمن

سلبيات العلاج بالفاجات

1- صعوبة اختبار الفاجات عالية الضرواة تجاه البكتريا المرضية

2- مقاومة البكتريا للفاجات المحللة





6- الافتراس predation

هي عملية افتراس كائنات حيه صغيره من قبل كائنات اكبر والمفترس يسمى predator والفريسه prey , وتعتبر الهدييات والسوطيات من اهم مفترسات البكتريا مثل اجناس paramecium و Colpidium حيث تحتاج هذه الابدائيات الى عشرات الالاف من البكتريا لتتقسم مره فمثلا paramecium caudatum تلتهم 20 الف بكتريا *Bacillus subtilis* لكي تنقسم , والاميبا تستهلك سنويا مئات الغرامات من البكتريا المائيه , وليس كل بكتريا المياه قابله للافتراس فبعض البكتريا لايمكن افتراسها لانها سامه او تكون مواد صمغيه او تكون كبسوله حولها او تتواجد على هيئه سبورات او حويصلات صعبه الافتراس او قد تكون البكتريا صعبه الهضم بسبب التركيب الكيميائي لجدارها .وقد وجد ان بكتريا *Azotobacter* صعبه الافتراس بسبب جدارها الصمغي وتركيبه الكيميائي , اما بكتريا *Diplococcus pneumoniae* المكونة للكبسول و *Bacillus anthracis* تقاوم الالتهام بسبب تكوينها capsuls وهناك بكتريا تفرز سموم وصبغات ينفر منها المفترس مثل *Pseudomonas aeruginosa* و *Serratia marcescens* .

بعض الاعفان الصمغيه slime molds مثل الجنس Dictyostelium كذلك بعض اجناس البكتريا Myxobacteria مثل الجنس Myxococcus و Chondrococcus لها صفه التهام بكتريا اخرى بافرازها انزيمات تذوب الفريسه وتتغذى عليها , كما ان بعض انواع البكتريا تذوب الفطريات والطحالب وتتغذى عليها . انا بالنسبه لالتهام ابتدائيات المياه لابتدائيات اخرى فهناك امثله عديده منها التهام اليوغلينا من قبل البيرانيما Peranema .

7- Competition المنافسه :

يحدث التنافس بين الاحياء المجهرية من اجل الغذاء او المكان او من اجل الضوء بالنسبه للمجموعات التي تحتاج الضوء كما قد يحدث التنافس من اجل الاوكسجين او CO₂ او CH₄ او H₂S اذا كانت هذه الغازات مصدر مهم لحياتها .وتبدا المنافسه بين الانواع interspecific و بعد ان يسود النوع المنتصر قد تبدا المنافسه داخل النوع نفسه intraspecific competition حيث تنتصر السلالات او الافراد الاكثر كفاءه للحصول على المتطلبات الغذائيه والضروريه للحياة .وقد ينعلم التنافس في حالات قليله , في المياه الحاره او المالحه جدا او الحامضيه او القلويه لا تنمو الا انواع قليله تستفيد من العناصر الغذائيه فتصبح مجموعه مايكروبيه شبه نقيه بلا منافس في هذه المياه , كما تستخدم المنافسه على مواد غذائيه معقده لا تتمكن الا انواع قليله من التغذي عليها مثل السليلوز واللكتين والفينول والهيدروكربونات .

وفي المنافسه هناك عوامل كثيره تجعل المنافسين يفوز على الثاني وهي :

- 1- قصر وقت الاخلاف short generation time اي معدل نمو سريع
- 2- مقاومه للتقلبات البيئيه في المياه
- 3- مقاومه للمضادات الحياتيه والسموم والمواد المثبطه
- 4- قابليه النمو والتكاثر بتوفر مواد غذائيه قليله
- 5- قابليه تمثيليه عاليه بتحويل مغذيات قليله الى مواد خليه
- 6- قابليه على تكوين مواد تخزينيه تستغل عند الجوع
- 7- قابليه للتنقل السريع من مكان لآخر وراء الغذاء .

استخدام العلاقات الحيويه بين الميكروبات في المجالات التطبيقية

كيف يمكن ان نستغل العلاقات الحيويه بين الاحياء المجهرية للاستفاده منها في مجال الصناعات فبعض الصناعات المهمه قد تعاني العديد من المشاكل التي تؤثر على حياه العاملين وتؤدي الى

خسائر اقتصاديه كبيره لها تاثير سلبي على المردود الاقتصادي للبلدان . احد اهم هذه الصناعات هي الصناعات النفطيه ومن اخطر المشاكل التي تعاني منها هذه الصناعات هي الانتاج الحيوي لغاز H_2S من قبل البكتريا المختزله للكبريت (SRB) sulfate reducing bacteria .

تعيش SRB في ظروف لاهوائيه وبعض انواعها مكون للسبورات كما ان فيها جنس يعود الى الاركيا وهو جنس Archaeoglobus كما ان هذه البكتريا يمكنها ان تستخدم المركبات الهيدروكاربونييه كمصدر للكربون والطاقيه لذلك فهي بكتريا يمكنها ان تعيش تحت ظروف متطرفه وقاسيه حيث تقوم بفعاليتها الايضيه وتنتج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S .

غاز H_2S خطر جدا وهو سام سميته تهادل سميه سيانيد الهيدروجين وهو غاز اثقل من الهواء ويتجمع في الاماكن المنخفضه بتراكيز عاليه جدا والخطر في هذا الغاز هو انه يقتل حاسه الشم عند الانسان عند تواجد بتراكيز عاليه جدا وبالتالي لايشعر الانسان بوجوده فيستنشق هذا الغاز ويموت خلال فتره قصيره تختلف باختلاف فتره التعرض وكذلك باختلاف تركيز الغاز , لذلك فان هذا الغاز يشكل خطوره على الصناعات النفطيه من خلال مايلي :

1-السميه للعاملين

2-انسداد ابار الحقن والانتاج

3-فساد الغاز والنفط المخزون (النفط المحمض Sourd oil)

4-التاكل المايكروبي للمعادن في اماكن انتاج النفط مثل خطوط النقل pipe line والخزانات tank storage والحفارات والبريمات والمعدات الاخرى المختلفه .تعالج هذه المشاكل عاده باستخدام المبيدات الحيويه Biocides وهي مركبات كيميائيه ذات تاثير قاتل او موقف للنمو البكتيري تتواجد بانواع مختلفه ومتعدده الا انها غير مرغوب بها في معالجه مشاكل انتاج ال H_2S لاسباب مختلفه منها :

1- استخدام كميات كبيره جدا من المياه اثناء عمليه استخراج النفط مما يؤدي الى تخفيف تركيز المبيدات الحيويه فيقل تاثيرها

2- المبيدات الحيويه لا تخترق طبقه الغشاء الاحيائي الذي تنمو تحته بكتريا SRB لذلك يكون تاثيره على البكتريا الهائمه .

3- صعوبه حقن المبيدات الحيويه داخل مكامن النفط

4- المبيدات الحيوية مكلفه اقتصاديا لانها غاليه الثمن

5- المبيدات الحيوية مركبات سامه وخطره على البيئه

6- تسبب المبيدات الحيويه السميّه للعاملين .

لذلك اتبعت الصناعات النفطية طريقه جديده في معالجه المشاكل الناتجه عن تحرير غاز H₂s بفعل SRB . وتعتبر هذه الطريقه الحديثه من اكفا الطرق في المعالجه وتسمى تقنيه الاقصاء بالتنافس الحيوي Bio competitive exclusion (BCX)technology . وتعتمد هذه التقنيه على اساس مبدأ المنافسه بين الاحياء المجهرية الموجوده داخل المكامن النفطية ويحدث التنافس بين البكتريا المختزله للنترات Bacteria NRB Nitrate reducing مع بكتريا SRB وتحدث المنافسه على المصادر العضويه المتماثله بالحوامض الدهنيه fatty acid والحوامض العضويه مثل الاستيت واللاكتيت والبايروفين وغيرها , فكل النوعين من البكتريا يستهلك هذه المصادر .

تتواجد ال SRB و NRB في مكامن النفط الا ان SRB تسود دائما كونها بكتريا مكونه للسبورات وتحتوي على جنس من Archaea فهي تتحمل الظروف المتطرفه اكثر من NRB ,ولكن عندما تحقن المغذيات المناسبه لنمو NRB فانها تنتعش وتنمو بشكل جيد فتتنافس ال SRB على المصادر العضويه الموجوده , كما ان NRB تنتج مواد مثبطه لنمو ال SRB مثل النترت وهو مركب سام لل SRB لانه يثبط انزيم Dissimulatory Sulfite Reductase (Dsr) وهو الانزيم الذي يحفز تحويل Sulfite (SO₃)⁻² الى Sulfide (S)⁻² كما ان NRB تثبط SRB من خلال زياده جهد الاختزال redox potential اذ ان SRB تنمو تحت جهد اختزال واطى جدا يصل الى - 100 وعندما تنمو NRB فانها تنتج مركبات ترفع من جهد الاختزال مثل N₂O و No فتثبط نمو SRB . احيانا SRB تنمو باستخدام نفس المغذيات التي تستخدمها NRB لذلك فعند حقن مغذيات NRB يصبح تركيزها عالى وبالتالي فان SRB يمكن ان تستخدم هذه المغذيات ولا تختزل الكبريتات SO₄⁻² الى كبريتيد S⁻² فيقل انتاج غاز H₂S .

امثله على البكتريا SRB

Desulfosporosinus orientis

Desulfotomaculum nigrificans

Archaeoglobus fulgidus

امثله على بكتريا NRB

Thiomicrospira

Arcobacter

Citrobacter

Pseudomonas stutzeri

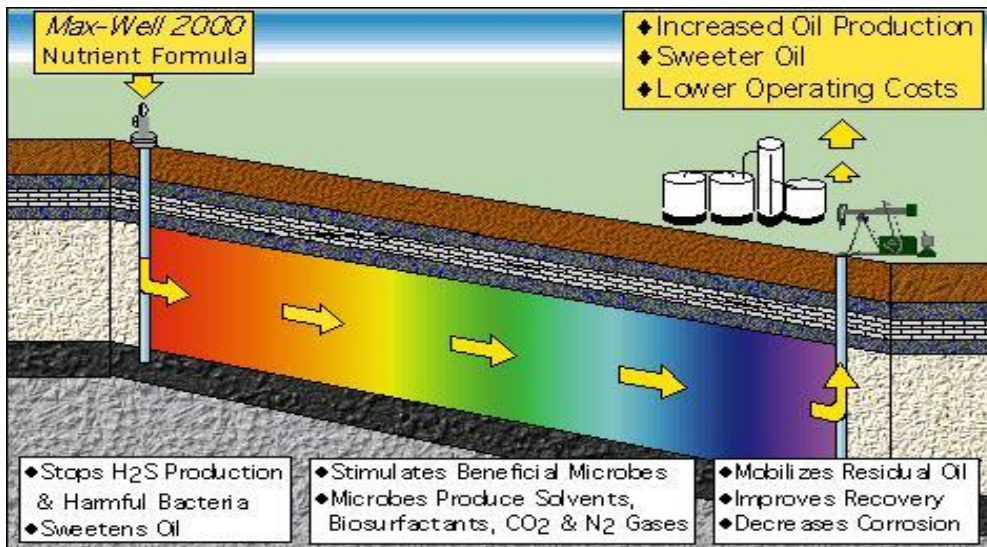


Figure (1. 9): BCX process (Latagroup, 2002).

BCX technology	Biocide treatment
<ul style="list-style-type: none">- Non hazardous inorganic salts- Grows selectively beneficial populations- Lower cost- Continuous in-situ cell production	<ul style="list-style-type: none">- Toxic and hazardous chemicals- Tries for complete kill- Relatively expensive- Biocidal action reduced by dilution

<ul style="list-style-type: none">- Microbial actions within pore matrix- Penetrates throughout reservoir- Sulfide prevention- Sulfide removal- Environmentally safe	<ul style="list-style-type: none">- Biocide resistance develops- Depleted action by absorption- Partially successful sulfide control- No sulfide removal- Environmentally hazardous
--	---

Bacteriological examination of water

الكشف عن الادله البكتريولوجيه لتلوث المياه

تعد المياه واسطه لنقل كثير من مسببات الامراض الخطره فوجود البكتريا والكائنات المسببه للامراض في المياه مؤشر خطوره ويعتبر الماء غير امن للشرب والاحياء المجهرية المرضيه تسبب مجموعه من الامراض مثل الاصابات المعويه Hepatitis و Intestinal infection و Typhoid و Cholera و Dysentery .

غالبا ماتكون فضلات الحيوانات والانسان هي المصدر الاساس للبكتريا في مياه الشرب ويمكن ان تدخل الفضلات الى الابار التي تكون مفتوحه وغير مغطاه باحكام ممايؤدي الى تلوثها .

مصادر تلوث المياه

1-المصادر الصناعيه:

تشكل مياه المصانع وفضلاتها 60% من مجموع المواد الملوثة للبحار والبحيرات والانهار ، ويصدر اغلب الملوثات من مصانع مثل مصانع الدباغه والرصاص والزئبق والنحاس ومصانع الدهانات والاسمنت والزجاج والمنظفات ومصانع تعقيم الالبان والمسالخ ومصانع تكرير السكر بالاضافه الى التلوث بالهيدروكربون الناتج عن التلوث النفطي. ان معظم المصانع في الدول المتقدمه والناميه لاتلتزم بضوابط الصرف الصناعي بل تلقي بفضلاتها في المياه . وتجدر الاشاره الى ان الطرق التقليديه لتنقيه المياه لاتقضي على الملوثات الصناعيه مثل الهيدروكربونات والملوثات غير العضويه والمبيدات الحشريه والمركبات الكيميائيه المختلفه وقد يتفاعل الكلور المستخدم في تعقيم المياه مع الهيدروكربونات مكونا مواد كربوهيدراتيه كلورينيه مسرطنه .

ونوع اخر من التلوث الصناعي هو استخدام بعض المصانع الماء للتبريد وبذلك يلقي الماء الساخن في الانهار او البحيرات مما يزيد حرارتها ويؤثر على الحياه الحيوانيه والنباتيه بها .

2-مصادر الصرف الصحي

تعتبر مياه المجاري واحده من اخطر المشاكل على الصحه العامه في معظم دول العالم الثالث ، لان اغلب هذه الدول ليس لديها شبكه صرف صحي متكامله تحتوي مياه المجاري على كميه كبيره من المركبات العضويه واعداد كبيره من الكائنات الحيه الدقيقه الهوائيه و اللاهوائيه

3-مصادر زراعيه:

ان استخدام المبيدات الحشريه والاسمده الكيميائيه في الزراعه يتسبب في تلوث الماء وذلك عند سقوط الامطار حيث يجرف تلك المواد الى الانهار او البحيرات وايضا الري قد ينقل تلك المواد الى المياه الجوفيه .

الفحص الميكروبي للمياه

بما ان المياه واسطه لنقل الكثير من مسببات الامراض الخطره لذلك لا بد من وضع الطرق المختبريه للتحري عن هذه المايكروبات وعن المايكروبات الداله على تلوث المياه اذ بدأت عدّه دراسات حول التحليلات البكتريولوجيه للحياه كانت اهمها دراسه العالم Howton الذي ميز ثلاث مجاميع للبكتريا الداله على تلوث المياه بالمجاري والتي مازالت تستعمل الى يومنا هذا وهي بكتريا القولون **Coliform (E Coli)** والمسبقيات البرازيه **Streptococcus faecalis** وبكتريا **Clostridium perfringens** المكونه للغاز (Gas producing Clostridia) وعلى اعتبار ان مصدر هذه المجاميع البكتيرية هو براز الانسان والحيوان والطيور لهذا تواجدها في الماء يدل على التلوث البرازي او احتماليه التلوث بالبكتريا الممرضة.

اهداف الفحص البكتريولوجي للمياه

وبذلك اتفق من قبل الهيئات الصحيه على القيام بفحوصات بكتريولوجيه لمياه الشرب والمياه الخام المجهزه للاساله وتهدف الفحوصات البكتريولوجيه للمياه الى مايلي :

1-التحري عن **التلوث البرازي** لمصدر المياه الذي يجهز الاساله من اجل تحديد الطريقه الملائمه لمعالجه هذه المياه.

2-التأكد من دقه **المعاملات التي تجري** على المياه

3-التأكد من **صحة الماء** قبل توزيعه على المستهلكين

4-بالفحوصات البكتريولوجيه المتكرره والمنتظمه يمكن الابقاء على الماء داخل انابيب التوزيع سليم وليس فيه **خطوره على المستهلك**.

5-التقليل من **التكلفه الاقتصاديه** في معامله المياه والتخلص من المشاكل في انابيب التوزيع، حيث بمعرفه نوع البكتريا الملوته يمكن اجراء معاملات تحد من نموها في انابيب التوزيع.

لذلك محطات **معامله المياه** تنتوع في التحليلات البكتريولوجيه فلا تشمل **البكتريا المرضيه** بل بكتريا **اخرى كبكتريا الحديد والكبريت والفطريات والطحالب** من اجل منع نموها وحدوث مشاكل في انابيب التوزيع او تغير من طعم ولون وحتى جريان المياه في الانابيب .

وهناك العديد من **بكتريا الامعاء** تصل للمياه والتي قد **تدل على تلوثه بالبراز**

Coliforms (Citrobacter , Enterobacter ,Klebsiella)Streptococcus faecalis (human)

Str. equines (non human) و Str. durans (nonhuman)

Pseudomonas aeruginosa, Clostridium prerfringens

وغير هذه البكتريا ، بعض الباحثين يقترح التحري عن جميع هذه البكتريا في المياه في حين الهيئات الصحيه تؤكد ليس بالضروره الكشف عن جميع هذه الانواع بل حددت مجاميع منها للكشف عنها من اجل الاستدلال على احتماليه تلوث المياه ببكتريا ممرضه تكون موافقه لهذه البكتريا في الامعاء .

ويكشف عن البكتريا **الداله على التلوث (Coliform)** بدلا عن الكشف المباشر عن البكتريا الممرضه للأسباب التاليه :

1-تواجد هذه البكتريا باعداد هائله اكثر من الممرضه

2-تكون اكثر مقاومه من الممرضه لظروف المياه والمعاملات الجاريه عليه

3-سهوله الكشف عنها وتميزها

4-تواجدها يكون ملازم لتواجد البكتريا الممرضه في الامعاء.

وبمعرفة **اعداد البكتريا** الداله على التلوث يمكن بحسابات افتراضيه تخمين عدد البكتريا الممرضه في المياه . فعند وضع المواصفات البكتريولوجيه الاميركيه للمياه ثم افتراض انه يجب ان لاتحوي المائه مليتر من الماء على اكثر من بكتريا واحده من **بكتريا القولون** على افتراض ان في مجاري البيوت عدد البكتريا الممرضه مثلا بكتريا التيفوئيد اقل من واحد لكل مليون بكتريا قولون ومتوسط عدد الفايروسات المعويه واحد لكل مائه الف بكتريا قولون :

$$\frac{\text{Salmonella typhi}}{\text{coliforms}} = \frac{1}{10^6}$$

In Domestic wast-water

$$\frac{\text{Enteric viruses}}{\text{coliforms}} = \frac{1}{10^5}$$

المفروض لايحتوي على اي بكتريا ممرضه احصائيا واحتماليه لكن ليس بالضروره دائما الفرضيات والاحتمات مطابقه للواقع ولهذا ظهرت اعتراضات وتبعه لهذه الفرضيات الماء الذي فيه اقل من بكتريا قولون واحده لكل مائه مليتر هذه الفرضيات ولذلك الاسالات التي تتبع شروط صحيه جيده بالاضافه الى التحري عن ادله **التلوث تتحرى عن البكتريا الممرضه** نفسها خاصه عنده حدوث وباء او انتشار امراض سببها الماء بل الاكثر من هذا بعض الاسالات تتحرى عن الفايروسات ايضا .

جمع وتكرار العينات للفحوصات البكتريولوجيه :

تعد الدقه في اخذ العينات مهمه جدا لان اي خطأ مهما كان صغيرا او اي تلوث للعينه خلال جميعها ونقلها وفحصها قد يؤدي الى اعطاء نتائج واتخاذ اجراءات غير صحيحه تؤدي الى خسائر اقتصاديه وتعطيل العمل وتجهيز المياه للمستهلكين كما يجب اخذ العينات بحيث تمثل كل المياه ولهذا تحدد نقاط مسبقه على نظام التوزيع لتمثيل كل نظام التوزيع كذلك تحدد عدد المكررات واورقاتها بحيث تعطي صورته صحيحه ودقيقه عن حاله الصحيه للحياه .

وعند اخذ العينات تعمل كل الاحتياطات لمنع تلوثها فتستعمل زجاجات ذات فوهات واسعه بحدود ربع لتر ويجب ان تقفل العينه جيدا بسداده زجاجيه واذا كان الماء معامل بالكلور يوضع في الزجاجه المعقمه كميته من ماده ثايوسلفات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ من اجل ازاله تأثيره الكلور Dechlorination على الاحياء المجهرية في العينه خلال فتره الفحص اما المياه التي فيها كميته كبيره من المعادن الثقيله مثل الزنك والنحاس فتضاف ماده EDTA Ethylene diaminetetra acetic acid لتقليل سعه هذه المعادن على بكتريا المياه .

عند اخذ المياه من الحنفية يجب التأكد بان الحنفية تاخذ ماءها مباشره من انابيب الاساله وليس من خزان المياه في البنايه او البيت حيث تعقم فوهه الحنفية ويترك الماء يجري لدقائق ثم تؤخذ العينه . من مياه النهر تدخل القنينة بصوره مقلوبه الى تحت سطح الماء ثم غرف فوهتها باتجاه معاكس لتيار الماء وتقفل تحت الماء وهناك اجهزه خاصه لاخذ العينه من مياه النهر water sampler تفتح وتعلق القنينة تحت سطح الماء اتوماتيكيا .

يفضل فحص العينه مباشره لان المحتوى الكيميائي والميكروبي والغازي في العينه يتغير خاصه عند حفظها عند درجه حراره عاليه ، حيث تتكاثر المايكروبات وتتحلل ماده العضويه ويحدث اختلاف في كميته الاوكسجين وثاني اوكسيد الكربون وتناكسد الامونيا لذلك عند تاخير التحليل لمدته اكثر من ست ساعات يجب حفظ العينه في صندوق ثلج عند درجه حراره (4) درجه مؤويه وذلك لان الست ساعات تعتبر بصوره عامه معدل تكاثر البكتريا في المياه .

بالنسبه لحجم العينه يتراوح ما بين عشره ومائه مليلتر 100ml يختلف حسب درجه تلوث المياه كلما كان اشد تلوثا كلما كان حجم العينه اصغر وبصوره عامه تفضل الاحجام الكبيره التي تمثل الواقع بدرجه افضل وفي حاله استخدام طريقه الترشيح بالاغشيه يكون حجم العينه كبير قد يصل إلى عدة التار.

اما بالنسبه لتكرار العينات فكلما زاد عدد العينات كلما كانت النتائج ادق وتكرار اخذ العينات ومواعيدها يختلف من اساله الى اخرى وعاده يعتمد على عدد المستهلكين الذين يجهزون من قبل الاساله . وفي الاسالات الصغيره تؤخذ العينات على شهر او شهرين ، اما عند فتح اساله جديده تكرر الفحوصات بدرجه اكبر لمدته سنه بعدها يعطي نظام ثابت لاخذ العينات ومعدلها بعد التأكد من تقلبات صفات المياه البكتريولوجيه في مصدر تجهيز الاساله .

اما في حاله حدوث وباء مائي فالعينات تكون متكرره جدا والفترات متضاربه جدا وقد تعمل بالساعات على المياه لحين زوال الوباء.

اولا:- الفحوصات البكتريولوجية:**1-Total bacterial count****-1 : العدد الكلي للبكتريا**

وتتم بعد البكتريا الهوائية واللاهوائية اختياريا ذاتيه التغذية في المياه بطريقه العدد الاطباقات **Standard plate count** والعدد هذا يكون تقريبي لانه لايمكن توفير وسط غذائي وظروف ملائمه موحده لكل بكتريا المياه ولهذا فالبكتريا التي تحوي الاطباق هي اقل بكثير من عددها الواقعي في الماء. ولهذا يجب تحضير وسط ملائم قدر الامكان لأكبر عدد من بكتريا المياه مثلا تحضير الوسط من نفس المياه المفحوصه وليس في ماء مقطر حيث لوحظ ان الوسط المحضر مثلا بماء البحر يعطي اعداد بكتريا اكثر من الوسط المحضر بماء مقطر في حاله عد البكتريا البحريه .

واجراء هذا الفحص يمكن ان يعطينا صورته عامه ومبدئيه من تكون ماده باعتبار كلما زاد عدد البكتريا في الماء زادت احتماليه تلوثه وتنوعت مصادر تكونه ودل ذلك على ان الماء فيه كميه وافيه من ماده العضويه بحيث تسمح لذلك العدد بالنمو وتظهر اهميه هذا الفحص عند استخدام هذه المياه في الصناعات الغذائيه و تصنيع العصائر لان زياده العدد يؤدي الى تلفها . كما ينفع هذا الفحص في تقييم المعاملات الجاريه على المياه كالترسيب والتلازن والترشيح والتعقيم .

كما يمكن استخدام طريقه الترشيح بالاغشيه **Membrane filter technique** لعد البكتريا الكلي في المياه وذلك بترشيح كميه كبيره من المياه اذا كانت غير ملوثه او كميه قليله في حاله الشك بانها جدا ملوثه من خلال المرشح الغشائي .

2- بكتريا القولون Coliforms**3 - بكتريا القولون البرازية Fecal -coliform**

بلا شك الافضل الكشف عن البكتريا المرضيه **التي مصدرها امعاء الانسان** مثل بكتريا التيفوئيد والزحار والكوليرا الا انه يكشف عاده عن بكتريا القولون المرافقه لها في الامعاء وذلك لان عددها اكبر وبقاءها في المياه اطول و الكشف عنها اسهل لذلك **تم اعتمادها كدليل على تواجد البكتريا المرضيه المعويه في المياه .**

وبكتريا القولون هي مجموعه من البكتريا الهوائية واللاهوائية اختياريه **سالبه لصبغه كرام** غير مكونه للصبغات مخمره لسكر اللاكتوز مع تكوين غاز وحامض خلال فتره 24 - 48 ساعه بدرجه حراره 35+2 درجه مئوية وبالرغم من ان الكشف عن بكتريا القولون : **E coli** معمول به عالميا في جميع المختبرات كدليل لتلوث المياه وعدم صلاحيتها للشرب لكن يجب ملاحظه ان **E coli** ليس بالضروره مصدرها امعاء الانسان فهي ايضا توجد في امعاء الحيوانات ذات الدم الحار.

2-طريقه الانابيب المتكرره

تتمثل بطريقه (MPN) Most Probable Number

3-طريقه الترشيح Membrane Filter Method

تتم باستخدام غشاء سليلوزية Porous Cellulose Acetate Membrane قطر ثقبها 0.45 مايكرومتر

4-المسبحيات البرازيه fecal streptococci

المجموعه الثانيه من البكتريا البرازيه التي يكتشف في الفحوصات البكتريولوجيه للمياه هي المسبحيات البرازيه وهي بكتريا كرويه تتصل فيما بينها لتكوين مسبحه تكوين موجب لصبغه كرام بعض انواعها تتوطن امعاء الانسان والبعض الاخر امعاء الحيوانات وتوجد فيها العديد من السلالات والانواع منها

Streptococcus bovis, Streptococcus faecalis, Streptococcus faecium,

Streptococcus equines

وقد تفضلها بعض محطات الاسالات على بكتريا E.coli حيث يمكن معرفه مصدر التلوث فمثلا اذا كانت الانواع الشائعه في المياه هي St. bovis , St. equines يمكن الاستدلال على ان المصدر الرئيسي لتلوث المياه هي حقول الحيوانات خاصه الابقار والخيول وليست مجاري البيوت او فضلات الانسان وفعلى كثير من الدراسات لاسالات المياه يتتبع مصادر التلوث وجد ان حقول تربيه الخيل والابقار والخنزير وغيرها وبكتريا القولون يمكن ان يكون مصدرها الانسان او الحيوانات ذات الدم الحار او البارد ، لكن لاتوجد اختيارات تميز التي مصدرها من الانسان حيوانات الدم الحار . الا في حاله تتبع حوض النهر الى ان نصل الى المصدر التلوث هي تربيه الحيوانات ام فضلات مجاري البيوت الحاويه على مخلفات الانسان .

وهناك عده طرق عالميه ومعتمده للتحري عن بكتريا القولون Standard method وهي الطريقه الاكثر شيوعا وتعتمد في كل انحاء العالم مع بعض التحويرات الطفيفه من بلد لآخر وتعتمد هذه الطريقه على ثلاث مراحل لاجراء الاختبارات وهي :

الاختبار الافتراضي Presumptive test

الاختبار التأكيدي Confirmed test**الاختبار التكميلي Completed test**

الاختبار الافتراضي يشير الى وجود مجموعه coli-aevogenes بينما الاختبار التأكيدي والتكميلي للتأكد من وجد *E. coli* ، وقد اجريت بعض التحويلات على هذه الاختبارات من اجل البحث عن *E coli* التي مصدرها الانسان والحيوانات ذات الدم الحار لذلك يعمل اختبار Eijkman test بتحضين وسط اللاكتوز الملقح في حمام ما في على **درجه حراره 44.5 درجه** مؤويه لانه في هذه الدرجه لاتتمو الا *E coli* النمط البرازي fecal type والتي مصدرها الانسان والحيوانات ذات الدم الحار . حيث تكون الحوامض والغاز عند هذه الدرجه .

مصانع الالبان واللحوم تلقي مع فضلاتها اعداد هائله من هذين النوعيتين وبما ان هذين النوعيين يعيشان فتره قصره خارج احشاء الحيوانات لهذا وجودهم باعداد كبيره يدل على حدائه التلوث ، واهم نوعيين مصدرهما امعاء الانسان هما *St. faecalis* و *St. faecium* ولهذا سياده هذين النوعيين في الماء دلالة على ان المصدر الرئيسي للتلوث هي المجاري وفضلات الانسان .

ويتم الكشف عن المسبقيات البرازيه بنفس الطرق السابقه والتي ذكرت لعد بكتريا القولون وهي

1-استخدام طريقه MPN

باستخدام وسط **Azide_dextrose broth**

2-طريقه الترشيح

باستخدام اوساط متعدده مثل وسط **Tyrosine Sorbitol Thallous Acetate**

5-Clostridium perfringens**البكتريا السيوريه**

وهذه البكتريا عباره عن عصيات **موجبه لصبغه** كرام تكون سبورات وهي ايضا تستوطن امعاء الانسان والحيوانات ذات الدم الحار ولهذا وجودها ايضا يدل على التلوث البرازي او سبورات هذه البكتريا كما تبقى فتره طويله في المياه ولهذا **وجودها قد يدل على ان التلوث قديم** كما انها **مقاومه للظروف الغير ملائمه**، ولا يتم الكشف عنها لوحدها بل مع بكتريا القولون والمسبقيات من اجل تاكيد التلوث.

الميكروبات المعززة لانتاج النفط (MEOR) microbial enhanced oil recovery

تحسين انتاج النفط ميكروبياً (MEOR) يمثل استخدام الكائنات الحية الدقيقة لاستخراج النفط المتبقي من المستودعات. هذه التقنية لديها القدرة فعالة في استخراج النفط المحاصر في المسام الشعرية الصخرية أو في المناطق التي لا ينفذ معها طرق استخراج النفط الكلاسيكية أو الحديثة مثل الاحتراق، والتهجير وقابلة للامتزاج والبوليمرات الخ وهكذا، وضعت MEOR كطريقة بديلة لاستخراج الثانوي والعالي من النفط من المكامن، منذ بعد الأزمات النفطية في عام 1973، أصبحت أساليب الاستخلاص المعزز للنفط أقل ربحية. تبدأ حتى من مرحلة رائدة من MEOR تم تشغيل (s1950) الدراسات على ثلاثة مجالات واسعة، وهي حقن، والتشنت، وانتشار الكائنات الحية الدقيقة في مكامن البترول. التحلل الانتقائي لمكونات النفط لتحسين خصائص التدفقات. و الأيض الإنتاج من قبل الكائنات الحية الدقيقة وآثارها .

في عام 1926، اقترح بيكمان للمرة الأولى أن الكائنات الدقيقة يمكن أن تستخدم لإطلاق سراح النفط من الاماكن التي يسهل اختراقها. بين 1926 و 1940 قد تم معرفة القليل حول هذا الموضوع. ثم، في 1940s، بدأت ZoBell وفريقه البحثي (1947) سلسلة من الفحوص المختبرية المنهجية. تميزت نتائجها بداية لحقبة جديدة من الأبحاث في علم الأحياء الدقيقة البترولية مع تطبيق استخراج النفط. وأوضح ZoBell الآليات الرئيسية المسؤولة عن إطلاق النفط من الأوساط المسامية التي تنطوي على عمليات مثل انحلال كربونات غير العضوية من قبل الأيض البكتيرية التي تقلل من لزوجة النفط، وبالتالي تعزيز تدفقه. المنتجات البكتيرية مثل الغازات والأحماض والمذيبات، ومواد النشطة سطحياً ، والكتلة الحيوية.

رغم التطور الكبير الذي تحقق في مجال استكشاف و**استخراج النفط** الخام من باطن الارض، فإن جزءاً كبيراً من هذه الثروة الطبيعية المكتشفه تبقي دون استخراج بسبب لزوجتها العاليه والتصاقها بالصخور والتجاويف السفليه.

ويقدر ان نصف كميته النفط المكتشفه تبقي في ابار النفط ويتعذر استخراجها بالطرق التقليديه والاستفاده منها. وقد طورت عدة تقنيات للاستخلاص المعزز للنفط ولرفع الضغط في الابار، ومن هذه الطرق المعالجه الحراريه وضخ الماء وبخاره واضافه بعض المواد الكيميائيه، وهي

تهدف الي تقليل لزوجه النفط الخام المتبقي في البئر. وقد اثبتت هذه الطرق نجاحها وقدرتها علي زياده الانتاجيه.

رغم اهميه وفعاليه الطرق السابقه المعززه لاستخراج النفط الخام، فانه تتبقي كميات ضخمة من النفط الخام في الابار يتعذر استخراجها، وهذا شجع الباحثين علي البحث عن طرق جديده لتعزير الانتاجيه واستخراج النفط الثقيل والنفط الشديد الثقل اللذين يتميزان بلزوجتهما العاليه، كما هو الحال في بعض الابار في كاليفورنيا بالولايات المتحده وفي البرتا الكنديه وحزام اورينوكو الفنزويلي وفي بعض حقول النفط بالشرق الاوسط.

ومن الطرق الحديثه المعززه لاستخراج النفط الخام والتي حظيت باهتمام كبير، استخدام بعض سلالات البكتيريا، حيث يتم استغلال نشاط هذه الميكروبات لتحرير النفط الثقيل العالق بالصخور وتقليل لزوجته، مما يؤدي الي استئناف ضخ النفط من الابار التي توقف انتاجها.

وفي العاده، تستخدم بعض سلالات البكتيريا الموجوده في الاوحال النفطيه المترسبه في اعماق الارض، او يتم استنباط انواع جديده من البكتيريا المعدله وراثيا، وهي تعمل علي تحلل النفط الثقيل او النفط الشديد الثقل العالي اللزوجه لتحويله الي نفط اقل لزوجه يمكن استخراجه من الابار بسهوله.

ويلجا الباحثون الي تشجيع نمو تلك البكتيريا في مختبرات خاصه، ثم تحقق في بئر النفط مع ماء الحقن المزود بالعناصر الغذائيه اللازمه لنمو تلك الكائنات المجهرية والاكسجين في بعض الاحيان، ثم يقفل البئر لعدة ايام وقد تمتد الي عده اسابيع، وخلال تلك الفتره تتكاثر البكتيريا علي سطوح الصخور وفي المسامات والشقوق الدقيقه العالق فيها النفط الثقيل. كما تفرز تلك الكائنات الدقيقه بعض الاحماض العضويه والغازات التي تختلط مع زيت البترول، مما يؤدي الي تقليل لزوجه النفط الثقيل، وهذا يسهل حركته وخروجه من طبقه المصدر الي طبقه المستودع لاستخراجه من البئر.

هذا، وتستخدم في العاده طريقتان لتعزير انتاجيه النفط باستخدام البكتيريا: **الاولي عن طريق حقن البكتيريا في المكمن مع محاليل المواد المغذيه** لكي تنمو في طبقه المصدر وتنتج المواد الحيويه التي تعمل علي دفع النفط الثقيل نحو البئر، **والثانيه بحقن المحاليل التي نمت فيها البكتيريا بشكل جيد داخل المكمن لاستخلاص النفط الخام.**

لقد اجريت عده تجارب منذ ستينيات القرن الماضي، وقد استخدم في بعضها بكتيريا لاهوائيه، وفي البعض الاخر بكتيريا هوائيه مع مواد حمضيه مائيه. وهذه التجارب اجريت في اميركا

وهولندا، وقد توصل الباحثون الي انه بعد ستة اشهر من الحقن، حدثت زياده واضحه في الانتاجيه في عدد من الابار.

وتعد طريقه استخدام الميكروبات لتعزيز انتاج النفط (MEOR) من احدث الطرق المتبعه حالياً لزياده انتاجيه الابار التي قل انتاجها بشكل كبير، او التي تم هجرها من قبل الشركات المستخرجه للنفط.

ويرتبط نجاح هذه التقنيه الحيويه علي مدي قدره الهندسه الوراثيه علي تعديل بعض سلالات البكتيريا لتصبح قادره علي تحسين ورفع انتاجيه ابار النفط، ومدي قدره تلك الكائنات المجهرية علي تحمل درجات الحراره العاليه في الاعماق والضغط المرتفع والملوحه العاليه داخل الابار، وهذا يستدعي من الباحثين تزويد تلك الكائنات بجينات خاصه تمكنها من تحمل تلك الظروف القاسيه.

هذا، وتتميز تقنيه استخدام البكتيريا لتعزيز انتاج النفط الخام بانها امنه حيث لا تستخدم فيها مواد كيميائيه ضاره كما في بعض الطرق الاخرى الخاصه بتعزيز الانتاجيه، اذ ان تلك المواد المستخدمه قد تشكل خطرا علي القائمين علي صناعه استخراج النفط، وقد تلحق اضرارا كبيره بمعدات الحفر والانابيب والبيئه.

لقد اثبتت التجارب التي اجريت علي عده انواع من بكتيريا الاوحال النفطيه قدرتها علي زياده انتاجيه ابار النفط القديمه، الا ان نجاح هذه الطريقه مرتبط -وبشكل وثيق- بمدي قدره الخبراء علي توفير الظروف المناسبه لنمو وتكاثر تلك الكائنات المجهرية داخل الابار.

في إطار التطورات الكثيرة التي شهدتها صناعة البترول خلال العقود الأخيرة، قد يكون ضمن أبرزها ما هو أبعدنا عن البصر وأقلها إثارة للضجيج الإعلامي، ألا وهو استخدام البكتيريا الحية في هذه الصناعة التي تبدو في ظاهرها كيميائية ومعنوية بحتة. إذ باتت البكتيريا تلعب أدواراً أساسية في مختلف مراحل هذه الصناعة بدءاً بالآبار ومروراً بالمصافي وصولاً إلى أنابيب النقل. فعلى سبيل المثال، كشفت الدراسات عن كائنات دقيقة قادرة على تطوير وإنتاج موادها الحيوية، تحسّن إنتاج النفط في الآبار وخطوط الأنابيب، ومصافي التكرير، وتقوم بعمليات كيميائية ضرورية كإزالة كل من الكبريت والنيتروجين والمعادن من النفط، إضافة الى تقليل اللزوجة. فقد بات من الممكن استخلاص الإنزيمات والمواد الحيوية من خلايا تلك الكائنات، وإنتاجها بكميات كبيرة من خلال زراعة جيناتها في ميكروبات تتكاثر بسرعة عالية، لتنتج هذه

المواد بوفرة تجعل توظيفها في مصافي التكرير وخطوط إنتاج البترول أمراً ممكناً. وكما هو معروف، فإن النفط هو خليط معقد من الهيدروكربونات، كما أن الغاز الطبيعي أيضاً هو خليط من غاز الميثان وغازات أخرى، وكلاهما يشكلان مواد قيمة لعدد من الكائنات الحية الدقيقة.

هناك أكثر من وسيلة من الوسائل الحيوية للمساعدة في تحسين إنتاج النفط ميكروبياً منها :

استعمال الاحياء المجهرية

واهمها البكتريا اذ تعد هي وأنزيماتها لها القابلية على ازالة الكبريت من مركبات او اصر تؤدي الى تلوث البيئة وخاصة الجوية نتيجة لتكوين أكاسيد الكبريت وتكون السبب في المرشح الأول لتحسين عمليات الانتاج وتحسين نوعية النفط المنتج، وذلك لان الفطريات والطحالب والابتدائيات لا تسعف في هذه العمليات لأنها كبيرة الحجم وقليلة القابلية على النمو تحت ظروف متطرفة، فبعض الآبار يرتفع فيها تركيز كلوريد الصوديوم الى 8%. كما تتطرف الظروف الاخرى في الآبار لتصل درجة الحرارة الى 70 – 90م° لذلك يمكن استعمال الانواع المحبة للحرارة وخصوصا الاركيا المحبة لحرارة متطرفة التي تكون مثالية لهذه العمليات لان البعض منها ينمو بحرارة مثالية 80 – 110م° ، والبعض منها يعيش تحت ضغط 2000 – 2500 باوند / انج² وعليه تكون البكتريا تكون لا هوائية لذلك تلاؤم الظروف الموجودة في قعر البئر. اضافة الى ان للبكتريا امكانيات النمو بشكل ملائم للظروف في آبار النفط مثل البكتريا *B. licheniformis* يمكن ان تنتج كتلة حيوية بشكل خاص تسمى الكتلة التجارية التي تؤدي الى غلق المسامات في البئر مما يساعد في زيادة الاستخلاص.

ومن الاحياء بدائية النواة المشمولة الاحياء التي تعيش بنمط تغذية ذاتية على الكبريت او الهيدروجين وثنائي اوكسيد الكربون بطريقة توليد الميثان. وتوجد أنواع متباينة التغذية التي تنمو على المواد العضوية وتحصل على الطاقة من تنفس الكبريتات او التخمر اللاهوائي. كما ان العديد من البكتريا تنتج المشتتات الحيوية والبوليمرات الخارجية التي تساهم في استخلاص النفط الخام، اضافة الى امكانيات اخرى يمكن ملاحظتها من الجدول (1)

جدول 1 : المنتجات الميكروبية المختلفة المستعملة في استخلاص واسترجاع النفط

استعمال المادة	الكائن المنتج	المادة المنتجة
<ul style="list-style-type: none"> • عمليات غلق خاصة في البئر • تقليل اللزوجة • تفكيك النفط 	<i>Bacillus licheniformis</i>	كتلة حيوية
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
	<i>Xanthomonas campestris</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • استحلاب • تقليل الشد السطحي عند تلاقي الاطوار • تقليل اللزوجة 	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	مشتتات حيوية
	<i>Arthrobacter paraffineus</i>	
	<i>Bacillus licheniformis</i>	
	<i>Clostridium pasteurianum</i>	
	<i>Corynebacterium fasciens</i>	
	<i>Pseudomonas rubescens</i>	
السيطرة على حركة الاطوار السائلة	<i>Bacillus polymyxa</i>	مكوثرات حيوية
	<i>Brevibacterium viscogenes</i>	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
	<i>Xanthomonas campestris</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • اذابة النفط • تقليل اللزوجة 	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	مذيبات
	<i>Clostridium pasteurianum</i>	
	<i>Zymomonas mobilis</i>	
الاستحلاب ووظائف اخرى	<i>Clostridium spp.</i>	حوامض عضوية
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • زيادة الضغط • تقليل الشد السطحي عند تلاقي الاطوار • تقليل اللزوجة 	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	غازات CO ₂ , CH ₄ , H ₂
	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
	<i>Methanobacterium sp.</i>	

استعمال الانزيمات

يمكن استعمال عدد من الانزيمات في الصناعات النفطية وذلك لان الانزيمات تتميز بتخصص عالي *Regiospecificity*، *Stereospecificity* لإنتاج مركبات نقية، كذلك يمكن للبعض منها العمل في أطوار لا مائية والذي يزيد من مدى مواد الأساس التي تعمل عليها وخاصة مركبات النفط الكارهة للماء. كل هذه الأسباب شجعت استعمالها في صناعات النفط.

ومن الانزيمات المستعملة *Cyt.P₄₅₀ – dependent monooxygenases*، *Lipoxygenases*، *Dioxygenases* وإنزيمات تحليل البيروكسيد. ومن الأمثلة (NDO) *Naphthalene dioxygenase* يمكن ان يشارك في العديد من عمليات الاكسدة ونظرا لوسع مدى مواد الأساس التي يعمل عليها فهو يستعمل في إنتاج *Chiral petrochemicals* وهي طلائع لإنتاج مواد ذات فعالية حيوية.

وتساعد هندسة البروتينات وتوفر امكانيات تحويل الانزيمات لجعلها ملائمة للعمل تحت ظروف مختلفة خاصة بالنسبة للإنزيمات التي تفرز الى خارج الخلايا مما شجع على ادخالها الى الصناعات النفطية، اذ ان اجراء التغييرات الهندسية عليها ترمي الى اضافة الثباتية الحرارية وتحرير مدى تخصصها للمواد التي تعمل عليها وذلك اما باستبدال وحدة إنزيمية فرعية او ازلتها او التلاعب بالحوامض الامينية في الواقع الفعالة للإنزيمات لزيادة سرعة التفاعلات خاصة وان التفاعلات الانزيمية في الأوساط اللامائية تكون بطيئة مقارنة بالأوساط المائية وهو ما حد من استعمالها في الصناعات المعتمدة على المواد الكارهة للماء (الهيدروكربونات).

المشتتات والبوليمرات الحيوية

هناك بعض المواصفات لهذه المواد التي يجب ان تتصف بها لتلائم الصناعات النفطية ومنها :

- ان تكون ذات ثباتية عالية لقوى القص.
- ان تكون محاليلها ذات لزوجة عالية، وان تكون اللزوجة ثابتة على مدى واسع من الارقام الهيدروجينية والحرارة والضغط.
- ان تكون مقاومة لعمليات التحلل الحيوي التي تحصل في بيئة البئر.

وأهم المستحلبات او المشتتات الحيوية التي تنتجها الاحياء المستعملة في مجالات الصناعات النفطية موضح بعضها في الجدول (2)

جدول 2 : اهم المشتتات الحيوية المستعملة في الصناعات النفطية

المشتت الحيوي	الاحياء المنتجة
واطئة الوزن الجزيئي	
دهون الرامينوز	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
دهون التريهايوز	<i>Arthrobacter paraffineus</i>
	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
	<i>Mycobacterium spp.</i>
	<i>Candida lipolytica</i>
دهون السيفيروز	<i>Torulopsis bombicola</i>
Viscosin	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Surfactin	<i>Bacillus subtilis</i>
Polymixins	<i>Bacillus polymyxa</i>
Gramicidin S	<i>Bacillus brevis</i>
دهون فوسفاتية	<i>Acinetobacter spp.</i>
	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>
بيبتيدات دهنية	<i>Bacillus pumilis</i>
	<i>Bacillus licheniformis</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	<i>Rhodotorula glutinis</i>
(Polyol lipids) دهون كحولية	<i>Rhodotorula graminis</i>
Serrawettin	<i>Serratia marcescens</i>
حوامض دهنية	<i>Corynebacterium lepus</i>
	<i>Arthrobacter paraffineus</i>
	<i>Penicillium spiculispurum</i>
	<i>Talaromyces trachyspermus</i>
	<i>Capnocytophaga spp.</i>
	<i>Lactobacillus fermentii</i>
عالية الوزن الجزيئي	
Alasan	<i>Acinetobacter radioresistens</i>
Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
Mannan-lipoprotein	<i>Candida tropicalis</i>
مستحلبات اغذية	<i>Candida utilis</i>
مستحلبات المبيدة	<i>Pseudomonas tralucida</i>
سكريات مكوثره حاوية على الكبريت	<i>Halomonas eurihalina</i>
سكريات مكوثره متباينة	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>

ان تقليل لزوجة النفط الخام يسهل من ضخه الى مسافات طويلة. وتقل لزوجة النفط الخام بواسطة الحوامض العضوية الناتجة من التخمرات ولكن هذه تؤثر على نضوحه جدران البئر. اما المشتتات الحيوية فهي تساعد في استحلاب النفط وفك ارتباط اغشيته من الصخور وبالتالي المساعدة في زيادة كفاءة الاستخلاص فمثلا Emulsan يمكن ان يقلل من لزوجة النفط الثقيل من

200000 سنتي بويز (cp) الى 100 مما يسهل ضخه الى مسافات بعيدة. وعند اختيار المشتتات سواء الكيماوية او الحيوية لا بد ان تكون ضمن مواصفات محددة :

- نوعية الشحنة اذ توجد مشتتات لا أيونية وأخرى سالبة او موجبة ولذا تنتخب وفق النظام الذي ستعمل فيه.
- تحديد مقياس محبة الدهون والذي يتم من قياس التوازن المحب للماء والكاره للماء $\text{Hydrophile - Lipophile Balance (HLB)}$ ، فالمشتتات ذات التوازن بين 3 – 6 تكون مستحلبات ينتشر فيها الماء في الزيت، اما القيم بين 8 – 15 فهي تكون مستحلبات للزيت في الماء.
- تحديد CMC وهو التركيز الحرج الذي يصل فيه الشد السطحي الى أوطأ نقطة وتتكون الفتيئات Micelle .

ويجب مراعاة ان اضافة المشتتات لا يؤدي دائماً الى نتائج ايجابية وذلك لأن :

- قد تكون المشتتات المضافة خاصة عند التراكيز العالية سامة للخلايا.
- قد تقوم الاحياء باستهلاك المشتتات تاركة المواد الهيدروكربونية.
- يمكن ان تتداخل المشتتات مع وظائف الأغشية الخلوية مؤدية الى عرقلة قبط المواد.
- قد تقلل من الجاهزية الحيوية لفتيئات الهيدروكربونات المتكونة.

لذلك هناك حدود مثالية للمشتتات المستعملة لإزالة ملوثات التربة 1-2% ، التي تختلف عن الانظمة المائية التي تكون التراكيز الملائمة لها 0.1 – 0.2 % ، لان المضافة الى التربة تتعرض الى عمليات امتزاز على سطوح حبيبات التربة. وأفضل المشتتات التي وجدت تطبيقات عملية جيدة في الحقل هي التي يكون لها توازن صفة كراهية ومحبة الماء بحدود 13 . ومن فهم دور المشتتات الحيوية يمكن استعمال الهندسة الوراثية لانتاج مشتتات ملائمة لكل حالة في معالجة التلوث النفطي.

3.4.1 الكتلة الحيوية

ومن المعروف أن البكتيريا تنمو بسرعة جدا حيث يتم الإبلاغ عن بعض لمضاعفة 20 مرات تحت الظروف الهوائية. آلية الكتلة الحيوية الميكروبية في MEOR ينطوي على السد الانتقائي

للمناطق النفاذية العالية حيث سوف تنمو الخلية الميكروبية في الطبقة المسامية للحد من تدفق المياه غير مرغوب فيها من خلال المسام. وهذه القوة المياه تشريد لتحويل مساره إلى المسام أصغر حجماً، وبالتالي تشريد النفط الامم المتحدة واجتاحت وزيادة استخراج النفط.

3.4.2 المسطحات الحيوية

وهذه هي الجزيئات متقابلة الزمر مع كل أجزاء ماء والكارهة للماء التي تنتجها مجموعة متنوعة من الكائنات الحية الدقيقة. لديهم القدرة على الحد من السطحية والتوتر السطحي من خلال تجميع في واجهة من سوائل قابلة للامتزاج وزيادة القابلية للذوبان والتنقل من المركبات العضوية مسعور أو غير قابلة للذوبان. بيو السطحي هي المنتجات ذات القيمة العالية أنه نظرا لخصائص متفوقة على مثل سمية منخفضة، وسهولة التطبيق، التحلل البيولوجي عالية والتسامح حتى في ظل الظروف القاسية من PH ودرجة الحرارة والملوحة هي بدائل فعالة لتصنيعه كيميائيا سطح عناصر نشطة مع إمكانية تطبيقها في صناعة النفط.

3.4.3 البوليمرات الحيوية

هذه هي السكريات التي تفرز من قبل العديد من سلالات البكتيريا أساسا لحمايتهم من جفاف مؤقت والاقتراس وكذلك للمساعدة في الالتصاق بالأسطح (سين، 2003) 4 و (براون، 1992) 21. العمليات المقترحة من البوليمرات الحيوية هي يسد أساسا الانتقائي للمناطق نفاذية عالية وهذا نفاذية تعديل خزان لإعادة توجيه الفيضانات المياه إلى قنوات الغنية بالنفط (السناتور 2008) 3. آخر عملية هامة من البوليمرات الحيوية هي المحتملة وكلاء تحكم التنقل من خلال زيادة لزوجة الماء تشريد بالتالي تحسين نسبة التنقل واكتساح الكفاءة (اقبت وآخرون، 1989)

3.4.4 المذيبات الحيوي

أحيانا المذيبات يمكن أن تنتج واحدا من نواتج الأيض من الميكروبات. وتشمل هذه الايثانول والأسيتون، والبيوتانول التي كتبها الكربوهيدرات التخمر خلال مرحلة النمو الأولى من عملية الإنبات. سلالات من البكتيريا اللاهوائية مثل كلوريد هي المسؤولة عن إنتاج مكونات الدم خلال مرحلة النمو ثابتة لعملية العرض. هذه-المذيبات الحيوية قد يساعد أيضا في الحد من اللزوجة النفط ويمكن أن تساهم أيضا السطحي (المشارك السطحي) للحد من التوتر السطحي (IFT) بين الزيت والماء (يوسف وآخرون، 2005) 23.

3.4.5 الأحماض الحيوية

بعض أنواع البكتيريا، وفقا لبعض المواد الغذائية يمكن أن تنتج الأحماض مثل الأحماض اللبنية، وحامض الخليك وحمض زبدي (مكينيري وآخرون، 2005) 24. ويمكن لهذه الأحماض تكون مفيدة في خزانات كربونات أو تشكيل الحجر الرملي تقع من الكربونات، لأن بعض هذه قضية حل صخرة كربونات، وبالتالي تحسين المسامية والنفاذية (مكينيري وآخرون، 1990) 25. إنتاج الأحماض العضوية من قبل البكتيريا هي مرحلة طبيعية من تشكيل اللاهوائي للسكر. بكتيريا *Clostridium*، على سبيل المثال يمكن أن تنتج 0.0034 مولات للكيلوغرام الواحد حمض دبس السكر.

3.4.6 الغاز الحيوي

يمكن للبكتيريا تخمر الكربوهيدرات لإنتاج الغازات مثل غاز ثاني أكسيد الكربون والهيدروجين والميثان. هذه الغازات يمكن استخدامها لتعزيز استخراج النفط عن طريق استكشاف آليات خزان إعادة الضغط وخفض اللزوجة النفط الثقيل. يمكن للغازات تساهم في تراكم الضغط في ضغط المنضب خزان (براون، 1992) 21. انهم (الغازات) قد حل أيضا في النفط الخام وخفض اللزوجة (رامزي، 1987) 27 و (مكينيري وآخرون، 1990) 25 بعض من البكتيريا المنتجة للغاز ذكرت هي كلوستريديوم، منتزعة الكبريت، الزائفة وبعض methanogens (Behlulgil و Mehmetoglu، 2003) 5. Methanogens تنتج نحو 60٪ من الميثان وثنائي أكسيد الكربون بنسبة 40٪ حيث الميثان والتقسيم بين مرحلة النفط والغاز بينما ثاني أكسيد الكربون والتقسيم إلى مرحلة المياه وكذلك تحسين وبالتالي تنقل النفط.

Bioremediation

" المعالجة الحيوية "

يعتبر النفط (البترول) من اهم مصادر الطاقه حيث يعتمد العالم على النفط في الكثير من المجالات وتعد مواقع الصناعات البتروكيميائيه ومصافي النفط مصدر خطير من مصادر التلوث اذ تطرح كميات كبيره من الفضلات الخطيره على البيئه كذلك عمليات استخراج النفط ونقل النفط تؤدي الى مشاكل بيئيه كبيره .

غالبا ما تتم معالجه التلوث النفطي باستخدام الطرق الفيزيائيه او الكيميائيه او البايولوجيه ، استخدام الطرق الفيزيائيه والكيميائيه في المعالجه قد يؤدي الى تفاعل المواد المستخدمه مع النفط الخام مما يؤدي الى تكون مركبات سامه كما ان الطرق الفيزيائيه و الكيميائيه لا تنظف البيئه من مركبات النفط الخام بشكل كامل ولذلك تستخدم عاده الطرق البايولوجيه كبديل عنها تلعب المركبات المزيله او المخفضة للشد السطحي Biosurfactants تلعب دورا مهما في عمليه المعالجه الحيويه وذلك لفعاليتها في تشتيت ومعالجه المركبات النفطيه وهي مركبات صديقه للبيئه كما ان سميتها قليله وتساعد على تكسير المركبات النفطيه بشكل كبير ولهذه المركبات العديد من التطبيقات فهي تستخدم في معالجه او تنظيف النفط المتسرب ، وفي ازاله بقايا النفط من خزانات الخزن وفي تحسين انتاج النفط وفي معالجه الحيويه للترب والماء كما تدخل في العديد مثل الصناعات الدوائية ومضادات الاورام والصناعات الغذائيه والتجميلية .

ما هي المركبات المخفضة للشد السطحي: Biosurfactant

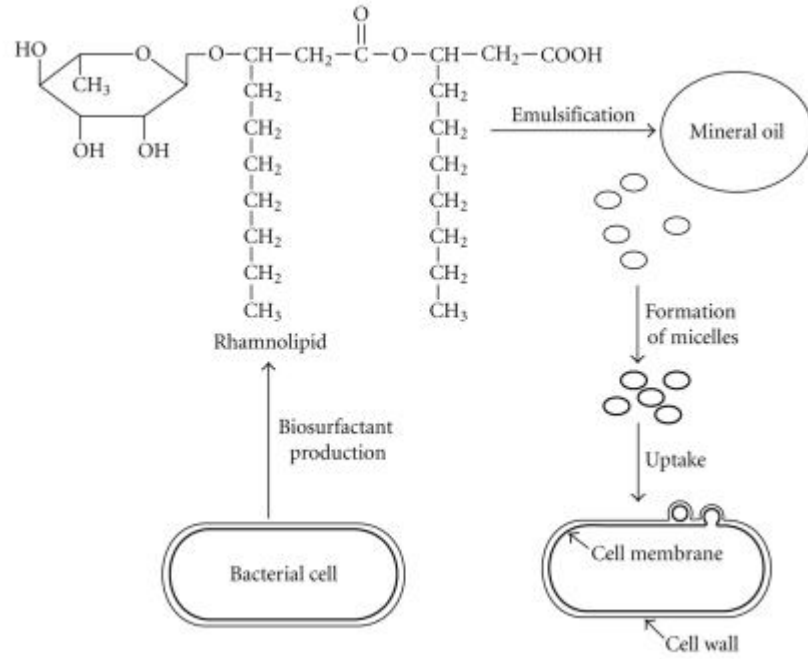
الشد السطحي أو التوتر السطحي : كما ذكرنا هو خاصية لسطح السائل إذ يعمل كغشاء مشدود تقف عليه الحشرات وتطفو عليه الإبرة أو الشفرة الفلزية أو حتى قطعة نقدية مع أن كثافتها أكبر من كثافة السائل.

ترتبط بين جزيئات المادة المتجانسة قوى تسمى قوى الجذب الجزيئية (قوى التماسك) تعمل على تماسك جزيئات هذه المادة بعضها ببعض، إن قيمة هذه القوى في السوائل تكون أقل مما عليه في الأجسام الصلبة وهذا ما يفسر تغير شكل السائل بتغير الإناء الموجود فيه، بالإضافة إلى تلك القوى توجد قوى تؤثر بين جزيئات السائل وجزيئات الأوساط الأخرى التي تلامسها سواء أكانت (حالة تلك الأوساط صلبة أو سائلة أو غازية تدعى هذه القوى ب (قوى التلاصق).

تقدم ظاهرة الشد السطحي تفسيراً لكثير من الظواهر الشائعة في حياتنا. فعلى سبيل المثال تأخذ قطرات السوائل أشكال شبه كروية بسبب ظاهرة الشد السطحي، وذلك لأن الكرة هي الشكل الهندسي ذو مساحة السطح الأقل. كما أن تباين مدى قوة قوى تماسك جزيئات السائل وقوى الالتصاق بالمادة المحيطة بالسائل يفسر لنا لماذا قد يبيل سائل معين بعض المواد في حين أنه لا يبيل مواد أخرى. فعلى سبيل المثال فإن الماء لا ينتشر على الأسطح النايلونية أو الأسطح المغطاة بالشمع وذلك لأن قوى تماسك جزيئات الماء مع بعضها البعض أكبر من قوى التصاق الماء بالسطح المشمع، وبالتالي تتجمع قطرات الماء فوق ذلك السطح على شكل قطرات يمكن أن تسقط بسهولة دون أن تبلل السطح.

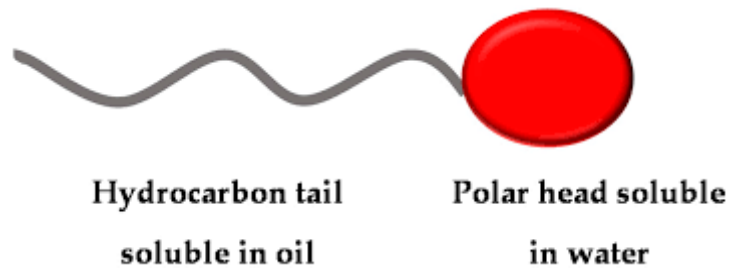


تنتج المركبات المخفضة للشد السطحي من قبل الاحياء المجهرية وبعض الاحياء الراقية كالنباتات والحيوانات ، وغالبا ما تنتجها الاحياء المجهرية الهوائية في الاوساط السائلة الحاوية على مصادر كربونية كالكاربوهيدرات او الهيدروكربونات او الدهون او الزيت وتنتجها هذه الاحياء حتى تساعد على النمو حيث انها تسرع وتسهل من دخول المواد غير الذائبة عبر الغشاء الخلوي .



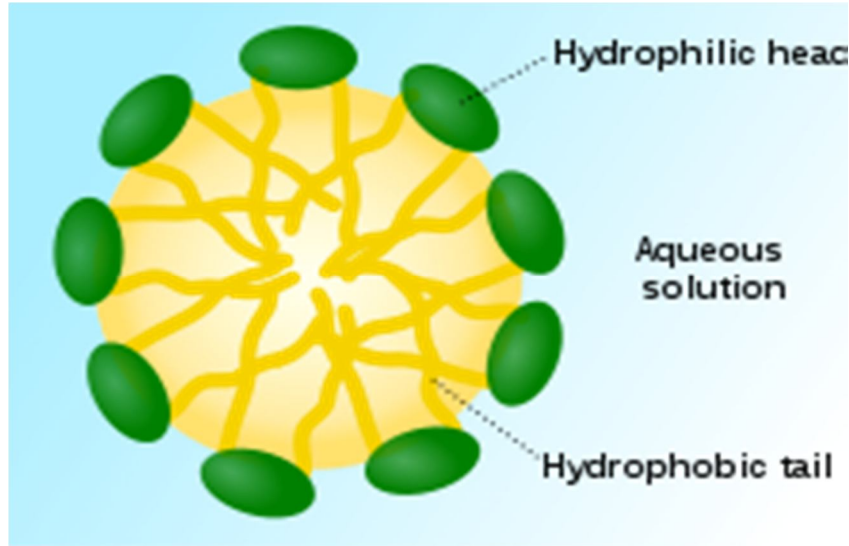
شكل يوضح انتاج المركبات المخفضة للشد السطحي من قبل البكتريا

Biosurfactant : وهي مركبات تخفض او تقلل من الشد السطحي Surface tension بين سائلين او بين سائل وماده صلبه وهي تعمل اما كمنظفات detergents او مستحلبات emulsifiers او عوامل مرطبه wetting agent او عوامل رغوه Foaming agents او مشتات dispersants وهي مركبات عضويه ثنائيه القطب amphiphilic بمعنى انها تحتوي او تتكون من مجموعتين ، مجموعه كارهه للماء hydrophobics (وشكل الزيول) ومجموعه محبه للماء hydrophilic (الرؤوس) اي انها تتكون من جزئين (مكونات غير ذائبه في الماء لكنها ذائبه في النفط ومكونات ذائبه في الماء)

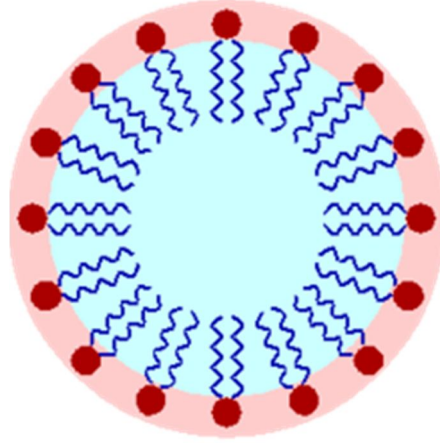


تنتشر المسطحات في الماء وتدمص في الفراغ البيني بين الهواء و الماء او بين النفط والماء وفي هذه الحاله يختلط الماء مع النفط تكون المجموعه الكارهه للماء الغير ذائبه في الماء (الرؤوس) تبقى متصله مع الماء . تكون المسطحات عندما تكون في محيط سائل تجمعات تسمى المذيلات

Micelles تمثل الذبول الكارهه للماء لب هذه التجمعات في حين الرؤوس المحبه للماء تكون باتصال مع الماء ان نوع التجمعات التي قد تتكون مختلفه قد تكون دائريه الشكل او اسطوانيه او على هيئة دهون ثنائيه الطبقة lipid bilayers ان شكل هذه التجمعات يعتمد على التركيب الكيميائي للمساحات يعني على التوازن في الحجم بين الرؤوس المحبه للماء والذبول الكارهه للماء . كما مبين في الشكل التالي :



مخطط يوضح المذيله Micelle وميكانيكيه الارتباط حيث ترتبط الذبول الكارهه للماء باتجاه النفط لانها تتفاعل مع النفط اكثر من الماء بينما الرؤوس المحبه للماء تحيط او تغلف المذيله باتجاه الماء لانها تتفاعل مع الماء اكثر وسوف تكون طبقه محبه للماء خارجيه تكون حاجز بين المذيلات . هذا سوف يثبط تقطر النفط (اي يمنع رجوع النفط ليكون قطره) ، ان المركبات التي تحيط بالمذيله تكون ثنائيه القطب وهذا يعني ان المذيلات قد تكون ثابتة على هيئة قطرات تسمى aprotic solvent مثل وجود النفط في الماء ، او قد تتواجد بهيئه pratic solvent كوجود الماء في النفط ، وعندما تكون القطرات aprotic فانها تسمى المذيله العكسية.



شكل يوضح المذيلات

الاحياء المجهرية المنتجه للمشتتات :

عدد كبير من الاحياء تنتج المشتتات مثل الفطريات والخمائر والبكتريا وهي تنتج عادة من قبل الاحياء المجهرية المكسره للهيدروكاربونات النفطية ومثال عليها بكتريا Pseudomonas التي تمتاز بقدرتها على انتاج كميات كبيره من مركبات glycolipids كذلك بكتريا Bacillus subtilis وهي معروفه بانتاجها لمركبات lipopeptide كذلك الخمائر مثل Candida lipolytica و Candida bombicola.

التطبيقات المختلفة للمركبات المخفضة للشد السطحي Biosurfactants

1- التلوث بسبب تسرب النفط واستخدام المشتتات في المعالجه :-

يحدث التلوث نتيجة لتسرب النفط او المنتجات النفطية الى البيئه ويعتبر التلوث النفطي احد اخطر المشاكل البيئيه التي تعاني منها الكره الارضيه ، ان مصادر التلوث بالمشتتات النفطيه متعدده منها

1- الحوادث اثناء عمليه نقل الوقود بواسطه السفن او الناقلات

2- التسرب من الخزانات الموجوده تحت الارض حيث تتعرض هذه الخزانات للتآكل والتلف

3- عمليه استخراج النفط الخام

4- تحرر مشتتات النفط من معامل ومصانع البلاستيك والادويه والمذيبات ومواد التجميل وغيرها

واخطر مصادر التلوث هي حوادث الناقلات والتي تؤدي الى تلوث النظام البيئي البحري بكميات كبيره من النفط الخام وهنا ياتي دور المشتقات الحيويه Biosurfactant التي تعمل على تشتيت النفط وتزيد من قابليه استهلاكه من قبل الاحياء المجهرية وبالتالي التخلص من هذه الملوثات بسبب تكسيرها بفعل البكتريا والاحياء المجهرية الاخرى .

2- استخدام المشتقات في تحسين انتاج النفط:

تستخدم المشتقات في مجال الصناعات النفطية حيث انها تحسن صناعه او انتاج النفط Microbial –enhanced oil Recovery (MEOR) من خلال ماياتي :

A- استخراج النفط الخامن المكامن النفطية :

تستخدم العديد من الطرق لاستخراج النفط من المكامن كالطرق الفيزيائية والكيميائية والحراريه وجميع هذه الطرق غاليه الثمن كما انها مؤذيه للبيئيه ولذلك تستخدم المشتقات الحيويه كونها رخيصه الثمن وصديقه للبيئيه وتقوم هذه المشتقات بتحسين انتاج النفط من خلال تحسين حركه الهيدروكربونات مما يؤدي الى زياده انتاج النفط ، حيث انه في مراحل الانتاج الثالثي للنفط tertiary recorer of oil تقوم الاحياء المجهرية او منتجاتها الايضيه المتمثله بالمشتقات biosurfactant او البوليمرات التي تعمل على استخراج الكميات المتبقية من النفط داخل المكامن من خلال تقليل الشد السطحي للنفط المتواجد بين الصخور عن طريق خفض القوه الشعريه التي تعيق حركه النفط عبر مسامات الصخور . مما يسهل اندفاع النفط نحو ابار الانتاج كما ان المشتقات تساعد على استحلاب وتكسير غشاء النفط في الصخور ، اما تطبيق استخدام المشتقات الحيويه فيتم بعده طرق منها حقن الاحياء المجهرية المنتجه للمشتقات الى داخل مكامن النفط حيث تبدأ هذه الاحياء بالنمو والانتشار او تتم من خلال حقن المغذيات الى مكامن النفط لتحفيز نمو الجراثيم المنتجه للمشتقات او العمل على انتاج المشتقات في مفاعلات ثم تحقن داخل المكامن ، هذه الطرق تستخدم عاده في المكامن النفطية التي تم استنفاد النفط منها لذلك فهي تطيل من عمر المكامن وبالتالي فهي تحسن انتاج النفط بكلفه قليله مقارنة مع تحسين انتاج النفط كيميائيا

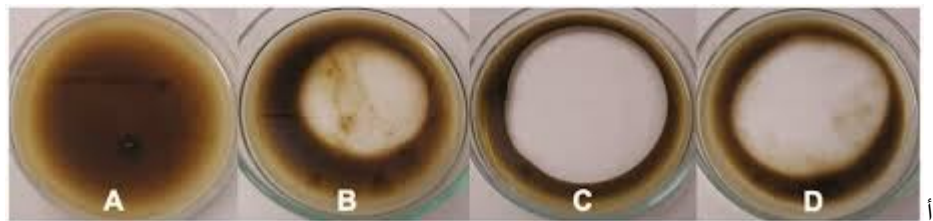
B-نقل النفط الخام عبر انابيب النقل :

عاده ما يتم نقل النفط الخام من مواقع الانتاج الى المصافي عبر مسافات طويله ، ويكون نقل النفط الثقيل heavy oil صعبا جدا والسبب يكون في صعوبه سيلان هاو جريانه بسبب لزوجته العاليه ومحتواه العالي من ماده الاسفلتين والبرافين وانخفاض الضغط الذي يؤدي بدوره الى

مشاكل الانسداد في خطوط انابيب النقل . عندما يترسب الاسفلتين في انابيب نقل النفط المعدنيه وبوجود ايونات الحديد تتفاعل مع الاسفلتين تحت ظروف حامضيه مكونه يسمى طين الاسفلتين asphaltene mud الذي يترسب في انابيب النقل ويسد جريان النفط تستخدم عاده مذيبات كيميائيه مثل التلوين والزايلين لاذابه هذا النوع من الطين وهذا يزيد من كلفه الانتاج كما انها اي (التلوين والزايلين) يولدان مواد عاليه السميّه . التقنيات الحديثه تستخدم المستحلبات الحيويه (bioemulsifiers) او Biosurfactant – based emulsifiers التي تكون مناسبه لحل هذه المشكله ، اذا ان المستحلبات الحيويه مركبات او مسطحات ذات اوزان جزيئيه عاليه وذات خصائص مختلفه عن الكلايكوليد glycolipids والليبوببتايد lipopeptides وظيفتها ليس التقليل من الشد السطحي لكن لها قدره العاليه على تكوين مستحلبات زيتيه ذائبه في الماء بسب وجود عدد كبير من المجاميع الفعاله في الجزيئه ، وترتبط المستحلبات الحيويه بقوه مع قطرات النفط او الزيت وتكون حاجز فعاله يمنع امتزاج القطره ويستخدم المستحلب الحيوي Emulsan بكثره في مجال الصناعات النفطيه لغرض تقليل اللزوجه العاليه في خطوط انابيب النقل .

C- تنظيف خزانات خزن النفط : Oil storage tank cleaning

تستخرج كميات كبيره من النفط يوميا ، بعضه ينقل الى المصافي والبعض الاخر يخزن في الخزانات tanks وللحفاظ على هذه الخزانات يجب ان تغسل بين فتره واخرى ، الفضلات والنفط الثقيل المترسب في قعر الخزان وعلى الجدران يكون لزج جدا ويصبح على هيئه ترسبات صلبه لايمكن ازلتها باستخدام المضخات التقليديه ، ازاله مثل هذه الترسبات تحتاج غسل بالمذيبات وتنظيف يدوي الذي يكون خطر ويستهلك وقت وجهد كبير كما انها عمليات مكلفه وغلبيه الثمن ، عمليات التنظيف تتضمن احيانا ضخ الماء الساخن او باستخدام المذيبات التي تصهر او تذيب هذه الترسبات وهذا يؤدي الى طرح متكرر للفضلات الى البيئه وخصوصا التربه .تستخدم المسطحات الحيويه كطريقه بديله لكل الطرق التي ذكرناها لتقليل اللزوجه للوحل وترسبات النفط من خلال تكون النفط المستحلب في الماء والذي يسهل ضخ الفضلات . كما ان هذه العمليات تتيح من اعاده استخراج النفط او الاستفاده من النفط الموجود في هذه الفضلات .



شكل يوضح تأثير Biosurfactants على غشاء النفط.

3-الاستخدامات الطبية للمركبات المخفضة للشد السطحي

العديد من المركبات المخفضة للشد السطحي تستخدم كمضادات حيوية ضد الممرضات التي تصيب الانسان بمختلف انواعها الفيروسات والبكتريا والطفيليات وحتى الاورام والسرطانات كما ان لها فعالية قوية على البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية والغشاء الاحيائي Biofilm للبكتريا المرضية.

Lipopeptides -1

مثل عليه Surfactin وهو من المركبات الفعالة جدا ضد البكتريا والفيروسات والاورام اذ ان له فعالية على فيروس الايدز وفيروس الانفلونزا ويؤثر على الفيروسات من خلال التداخل الفيزيوكيميائي بين المركب والدهون الموجودة في الغشاء الخلوي للفيروس.

Daptomycin -2

ينتج هذا المركب من بكتريا Streptomyces له فعالية ضد البكتريا المسببة للاصابات الجلدية Staphylococcus aureus المقاومة للمثيسيلين.

Glycolipids -3

مثل sophorolipids تنتج من قبل الخمائر مثل Candida و Rhamnolipids تنتج من قبل البكتريا مثل Pseudomonas لها فعالية على البكتريا الموجبة لصبغة كرام والفطريات.

Arthrofactin -4

ينتج من قبل بكتريا Arthrofactin وهو مركب فعال جدا وتتداخل او تتفاعل جزيئات هذا المركب مع phospholipid الموجود في جدار الخلايا البكتيرية مما يؤثر على خصائص الغشاء.

التطور

هناك عدة تعاريف للتطور قد نكرت في متون الكتب العلمية وكما مبين أدناه:-

- (١) هو الانحدار المصاحب للتحويل في الأنواع القريبة وذات العلاقات التي تجمعها مع بعضها البعض اذ تكون متماثلة وهذا الامر يعود الى الجذور الوراثية المشتركة.
 - (٢) على انه اشتقاق أنواع جديدة من الكائنات الحية وهذا الاشتقاق مرتبط بالانتخاب الطبيعي وحدث الطفرات الجينية والتي تضيف تغيرات تتراكم مع الزمن منتجة أنواع جديدة بخطوط تطورية، مما يؤدي الى نشوء الانواع الجديدة.
 - (٣) على انه تغيير بطيء جداً وتدرجي يستمر لسنوات طويلة جداً تقود الى انتاج انواع جديدة بخطواتها التطورية .
 - (٤) كما يعرف التطور البايولوجي على أنه عبارة عن تغيير جيني في التجمع من جيل الى اخر .
 - (٥) يُعرّف التطور على أنه التغيير في البنية الوراثية والتي تستمر مع الزمن في الأجيال المتعاقبة. إن التطور عبارة عن تغيير منظم Systematic في التركيب الوراثي للأفراد نتيجة التزاوج في التجمع السكاني Population.
- وان من مسببات التطور هي :

1. Genetic drift
2. Gene flow
3. Non-random mating

عادة ما يتداول مصطلح اخر يرافق التطور يعرف بالرقى، والرقى : هو تغيير يؤدي كي يصبح العضو اكثر قدرة على أداء كل وظائفه وان الرقى يختلف اختلاف جذري عن التطور. وعليه فأن الرقى ينشأ عن التطور ولكن ليس كل تطور يعبر عن الرقى.

تتشترك كل نماذج الحياة المعاصرة بصفات أساسية مشتركة. فعلى سبيل المثال يلاحظ ان جسم الكائن الحي يتكون من لبنة أساسية تعرف بالخلية ، والخلية تمتلك صفات أساسية تمكنها من أداء وظيفتها الأساسية. وان كل الاحياء تمتلك هذه الخاصية، وهي ان الخلية هي وحدة البناء الأساسية سواء كانت الاحياء نباتية او حيوانية .

وبالرغم من التباين الكبير بين احياء الممالك المختلفة (الحيوانية أو النباتية) الا أنه يلاحظ وجود تماثل بالصفات العامة الرئيسية للخلية بين تلك الاحياء متمثلة بوجود النواة والساييتوبلازم فضلاً عن التركيب العام .

أن كل الاحياء تشترك، على الرغم من وجود الاختلافات الرئيسية، مع اصل واحد يمثل المسار المعقد للمادة عبر الزمن. على سبيل المثال فأننا اذا تمكنا من تتبع مسار تطور الانسان سنصل الى تلك المفارق التي باعدت بين الانسان والافراد الرئيسة في رتبة المقدمات (O: Primitive) المتمثلة بالقردة .

فعلى سبيل المثال يلاحظ ان الشمبانزي يحتوي على ٤٨ كروموسوم بينما الانسان يحتوي على ٤٦ كروموسوم ، ويعتبر العلماء ان اتحاد كروموسوم ١٣ و ١٤ في الشمبانزي قد قاد الى نشوء الانسان الغاب ومنه تطور بعد عديد من السنين الإنسان العاقل (*Homo sapiens*) الذي ساد و أنتشر بسبب تطور قدراته العقلية. وإذا ما مضينا الى أبعد من ذلك فأنا سنصل الى النقطة التي افترقت فيها اللبائن عن الزواحف خلال المسيرة الطويلة لتطور الانواع. من خلال الرحلة الطويلة للحياة يمكن الاستنتاج، أن هناك ثلاث جوانب رئيسية:-

أ- تغيير الرسائل الجينية للمادة الوراثية من حين الى آخر ، وتغيرت بشكل تدريجي.

ب- تنشق خطوط الاستمرارية الوراثية من حين وآخر وتبتعد عن بعضها .
ج- لما كان الافراد زائلون فإن عملية التغيير تحصل عند مستوى عالي من التنظيم أعلى من مستوى الكائنات المفردة.

هناك ثلاث اعتبارات مستخدمة من قبل الأنسان والتي قادته للسيطرة والإستيلاء على الطبيعة:-

١- القدرة على الفهم أو نفاذ البصير.

٢- البديهية أو الحدس.

٣- المنطق.

وعادة ما يُشار الى عمليات التطور في التأريخ الى سلسلة من الثورات الكبرى على مستوى التطور العلمي أو التطور العضوي، فبدأت السلسلة بعلماء كبار مثل أرسطو و كاليو و نيوتن و انتهت بالتطور الحالي الذي وصل الى قمته.

The Origin of life

اصل الحياة

أن دراسة الكائنات الحية كالنباتات والحيوانات والبكتريا و الفطريات... الخ تعد الحيز الفعال لعلم الأحياء.

تعرف الحياة على أنها قدرة الكائن الحي على التكاثر و النمو وأنتاج الطاقة من خلال التفاعلات الكيميائية وذلك من خلال الاستفادة من المركبات الخارجية.

تشير الدلائل للافتراض على أن الأرض و بقية الكواكب في النظام الشمسي قد أتت الى الوجود بحدود ٤- ٥ مليار سنة ماضية.

تتكون الأرض في الأصل من مكونين رئيسيين هما :-

١- الكتلة اليابسة و الغلاف الغازي المحيط بها Lithosphere & Atmosphere

Hydrosphere

٢- المحيط المائي

ماهي المتطلبات الأساسية للحياة على الأرض ؟

هناك العديد من الظروف على الأرض هي التي دعمت الحياة وهي على النحو الآتي:-

١- تميزت الأرض عند النشوء بقلّة او انعدام O_2 اذ كانت الأرض بيئة مختزلة نتيجة لوجود H_2 والمركبات الهيدروجينية مع الماء مثل (CH_4 و NH_3). ونتيجة لقوة الجاذبية فهذه الغازات قد بقيت ضمن الغلاف الغازي في الأرض عند النشوء. ان البيئة المختزلة للأرض في تلك الحقبة التاريخية قد ساعدت على تخليق المركبات العضوية من خلال تداخل المركبات اللاعضوية.

٢- المركبات اللاعضوية، المادة الخام لأصل الحياة:-

لقد تفاعلت المواد اللاعضوية في الأرض لتكوين المواد العضوية الأساسية لإنتاج الحياة.

٣- مصدر الطاقة:- يأتي مصدر الطاقة عند نشوء الأرض من المصادر التالية :

(الطاقة الشمسية – التفريغ الكهربائي – انفجار البراكين – حرارة باطن الأرض – تحلل المواد المشعة)

٤- الوقت غير المحدد Infinite time

أن هذه عملية الخلق والنشوء قد أنجزت على مدى طويل من الزمن قد قارب المليار سنة، وأن هذا الوقت الطويل قد كان مهماً لإنجاز التفاعلات الكيميائية دون الحاجة لمساعدة الأنزيمات.

كيف نشأت الحياة على الأرض؟... هناك ست نظريات قد تم اقتراحها لتوضيح أصل الحياة على الأرض.

١- نظرية الخلق الخاص Theory of Special creation

يؤمن أصحاب هذه النظرية أن الحياة على الأرض قد خلقت بواسطة قوى خارقة للطبيعة وذلك بالاعتماد على القدرة الإلهية. أن هذه المفاهيم راسخة في الأديان السماوية الثلاث الرئيسية (اليهودية والمسيحية والاسلامية). وأن هذه النظرية تؤمن بالمفاهيم التالية:-

أ – إن الحياة قد تم خلقها في شكلها الحالي (بمعنى أنه لا يوجد أي اثر للتطور)

ب – إن جميع الكائنات الحية قد تم خلقها في نفس اليوم (لا يوجد تباين في تواريخها)

ج - إن الأجسام والأعضاء قد بلغت مرحلة متقدمة من التطور لمواجهة متطلبات الحياة (لا يوجد تطور).

الاعتراضات على هذه النظرية

- ١- تستند هذه النظرية بشكل أساسي على الاعتقاد الديني .
- ٢- لا يوجد أدلة تجريبية تقدم إسناد لهذا الغرض .
- ٣- إن عمر العديد من المتحجرات تقدم البراهين على أن ظهور الكائنات الحية على الأرض كان في أوقات مختلفة .

٢- نظرية النشوء الذاتي (Spontaneous generation)

تعرف أيضا بـ (abiogenesis) وتفترض هذه النظرية إن المواد غير الحية في النمط الذاتي Spontaneous manner قد أثرت في الحياة وهناك العديد من المشاهدات التي استند عليها في حينها وكانت من وجهة نظر العلماء داعمة لهذا النظرية.

- أ – عند غطس شعرة ذيل الحصان في الماء فإنها تعطي دودة ذيل لحصان *Gordius*
- ب – ان يرقات الذباب تتطور من اللحم الفاسد .
- ج - هناك اعتقاد في مصر القديمة ان التماسيح والضفادع والافاعي تنشأ من الطين عند تسخين نهر النيل بواسطة الشمس .

وقد ادعى فان هلمونت Fan Helmont بأنه يستطيع إنتاج الفأرة من قميص قذر وقبضة من حبوب القمح التي تخزن في خزانة مظلمة لمدة ثلاث أسابيع .

الأدلة المناهضة لهذه النظرية

أن الدراسات العلمية قد أثبتت بطلان هذه النظرية من خلال إظهار الحقائق التالية:-

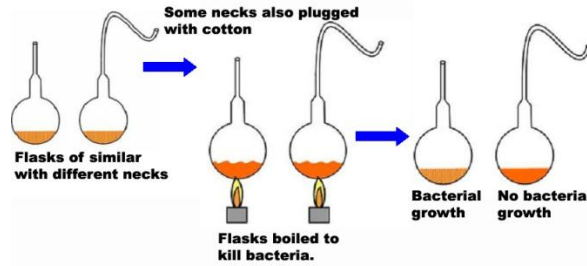
١- تجارب ريدي (Redi)

أثبتت هذه التجربة بطلان الإتيان بيرقات الذباب من اللحم الفاسد واثبت أن اللحم الفاسد المكشوف يكون عرضه لنشوء اليرقات بسبب أن الأنثى قد وضعت بيوضها هناك.

ب- تجربة العالم سباليانزي (Spalianzani)

استخدم هذا العالم الحرارة القاتلة في تعقيم النباتات والحيوانات الميتة ولعدة ساعات وقد ترك بعضها مفتوح والآخر كان مغلق. عند استخدام الحرارة القاتلة فإنه قد قتل جميع الميكروبات واثبت ان الحياة لا يمكنها أن تظهر على النبات والحيوانات بعد التسخين .

ج- تجربة لويس باستور Louise Pasteur لقد أنجز العالم باستور تجربته في التعقيم، والتي سميت باسمه لاحقاً (البسترة)، من خلال تصنيعه الفلاسك الزجاجي الموضح أدناه والذي يحوي أنبوب زجاجي على شكل حرف (S).



فقد وضع النبيذ في الفلاسك بعد تنقيعه بالماء قام بغليه عدة دقائق. وبعد تبريد الفلاسك ومحتوياته فإن البخار قد تكثف في الجزء السفلي من الانبوب وعمل كحاجز لمنع البكتريا من الدخول. لم يظهر أي نمو في الفلاسك بعد فترة طويلة . أن تحليل الماء المكثف قد أشار لوجود أحياء مجهرية في رقبة الانبوب.

٣ - نظرية الكوارث:- Theory of Catastrophism

وهي امتداد لنظرية الخلق وتفترض هذه النظرية ان الحياة قد نشأت بواسطة الخلق، ثم اعقبها كارثة نتيجة اضطرابات جيولوجية. ان كل كارثة قد دمرت الحياة بشكل كامل. والدليل الذي استندت عليه هذه النظرية هو ان كل شكل من اشكال الحياة يختلف عن سابقة. ومن وجهة نظر العلماء المروجين لهذه النظرية ، فان كل دورة في الحياة عبارة عن كارثة يعقبها خلق جديد وهي المسؤولة عن تواجد الحياة بأنواعها المختلفة على سطح الكوكب.

أن النقد الموجه لهذه النظرية هو نفسه الموجه الى نظرية الخلق، إذ لا توجد تجارب علمية تدعم هذه الفرضية وتبقى هذه النظرية موهلة بالقدم.

٤ - النظرية الكونية:- Theory of Cosmozoic

وضعت هذه النظرية من قبل Richter وتفترض هذه النظرية على ان الحياة قد وجدت على هيئة سبورات/ أبواغ (Spores) مقاومه قد ظهرت على سطح



الارض وهي قادمة من كواكب اخرى. وبسبب أن الارض سائدة للحياة، فقد نمت هذه الابواغ وتطورت الى انواع مختلفة.

وتعرف هذه النظرية بنظرية الابواغ (Spores or pansperma theory). لقد استحصلت هذه النظرية علي الدعم الاولي من حقيقة وجود متحجرات للحياة المجهرية على ظهر المريخ والتي اكتشفت عام ١٩٦١. النقد الموجه لهذه النظرية والذي أدى الى انهيارها:-

أ- لا توجد آلية لانتقال هذه الابواغ من كوكب الى كوكب اخر.

ب- كيف استطاعت تلك الابواغ البقاء حية خلال تلك الرحلة الطويلة في الفضاء بظل درجات الحرارة والاشعة الكونية القاتلة.

ت- كما ان غياب اشكال الحياة في اي كوكب باستثناء الارض يُضعف هذه النظرية.

ث- لا توجد تفاصيل عن اصل هذه الابواغ والية ظهورها في الفضاء أول مرة.

ج- لا توجد تجارب علمية سائدة لهذه النظرية.

Theory of Eternity

٥ - النظرية السرمدية:-

تفترض هذه النظرية ان الحياة ليس لها بداية وليس لها نهاية. تعتقد هذه النظرية ان الحياة قد بدأت حيث وجدت وسوف تستمر الى الأبد. وتعتقد هذه النظرية انه لا يوجد سؤال حول اصل الحياة متى بدأت وكيف انتهت. وتعرف هذه النظرية بنظرية الحالة المستقرة **Steady State**.

الاعتراض على النظرية

أ أن الاعتراض على هذه النظرية يتمثل ب

أ- عدم قدرتها على توضيح الادلة السائدة لظهور الحياة والتي وفرتها الظروف السائدة في الارض عند النشوء.

ب- أن كانت الحياة ليس لها بداية، فأين كانت قبل تكوين الارض؟

Modern Theory

٦- النظرية الحديثة :

Chemical theory

تعرف بالنظرية الكيماوية

أو النشوء اللاحيوي الأولية Theory of primary abiogenesis أو
نظرية الحساء الاساسي Primordial Soup Theory

تنص هذه النظرية ان المواد غير الحية يمكن ان تمهد لظهور الحياة، وذلك في ظروف نشوء الارض . يفترض أصحاب هذه النظرية ان الظروف الاولى للأرض تختلف عن الظروف الحالية والتي لا تسمح للنشوء اللاحيوي.

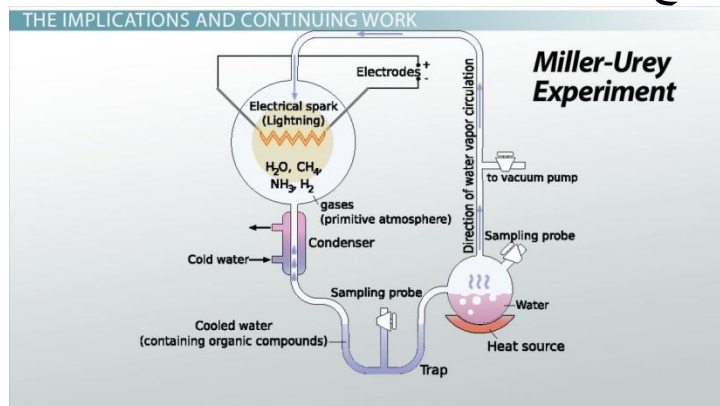
ان فكرة هذه النظرية قد طرحت من قبل العالمان (اوبرين و هالدين Oparin & Haldin). أدناه الافتراضات المتعلقة بهذه النظرية:-
١- ان الخلق الذاتي للحياة هو غير ممكن في ظل البيئة الحالية.
٢- ان الغلاف الحيوي في الارض قبل مليار سنة يختلف كلياً عن الظروف الحالية.

٣- ان الغلاف الحيوي للأرض عند نشوئها كان مختزلاً لوفرة الهيدروجين و اضمحلال الاوكسجين.
٤- تحت هذه الظروف فإن الجزيئات الكيماوية (اللاعضوية) قد تفاعلت مع بعضها في سلسلة من التفاعلات أدت لتكوين المواد الكيماوية وبعض الجزيئات المعقدة.

٥- تم الاعتماد على الطاقة الشمسية والاشعة فوق البنفسجية لإنجاز التفاعلات الكيماوية ابتداءً.

ماهي الادلة التجريبية التي تدعم هذه النظرية ؟

ان الفرضية المقترحة من قبل (Oparin & Haldin) لم تجد الدعم الكافي بدون التجربة العلمية. ولإيجاد الدعم القاطع للنظرية الكيماوية، فقد أجرى الباحثان مايلر و يوري (Miller & Ury) عام ١٩٥٣ م في شيكاغو تجربة تحاكي البيئة السائدة عند نشأة وكما مبين بالمخطط الموضح أدناه:-



يتكون المخطط من فلاسك زجاجي و مكثف و دورق سائل يرتبط مع انبوب ومصدر للشرارة الكهربائية للتزويد بالطاقة المطلوبة لإنجاز التفاعلات المفترضة.

- تم اضافة خليط من Methane (CH₄) ,Ammonia (NH₃) Hydrogen (H₂) , بنسب (CH₄:NH₃:H₂) (2:2:1) فضلا عن اضافة الماء. تم تسخين المكونات وسمح بتدوير المزيج في هذا الجهاز الزجاجي المغلق لمدة 18 يوم متواصلة. تم التجهيز بالطاقة على هيئة شرارة عن طريق التجهيز بكهرباء مقدارها 7500 فولت من خلال قطبين كهربائيين.
 - ان الشرارة الكهربائية تحاكي الاضاءة في الغلاف الجوي للأرض عند النشوء.
 - تعمل الغازات المارة خلال ورق السائل على تحفيز التفاعل البركاني بشكل يحاكي الظروف الأولى التي كانت سائدة عن النشوء.
- بعد انتهاء التجربة، تم جمع المزيج وتحليله باستخدام تقنية (Chromatography) و (Colorimetric). فقد اشار تحليل المزيج وجود الأحماض الأمينية المبينة أدناه:-
1. Glycine
 2. Alanine
 3. Aspartic acid
- ٤-فضلاً لوجود القواعد النيتروجينية (Adenine & Ribose) بالإضافة الى السيانيد (HCN) والفورمالديهايد (HCHO).

الخطوات المفترضة في اصل الحياة:-

بناءً على النظرية الكيميائية لأصل الحياة، فإن هناك سلسلة من التفاعلات أدت لنشوء الحياة بأربع خطوات رئيسية :-

- ١- تكوين الجزيئات اللاعضوية :-

أن الحرارة العالية للأرض بعد النشوء لم تسمح لتكثيف الذرات. وعندما حصل انخفاض في درجات الحرارة لاحقاً، فقد أدى ذلك الى تكثيف مختلف الذرات لتكون جزيئات أبسط. أن العناصر الأكثر وفرة كانت (C,N₂,O₂&H₂). أن تفاعل هذه المركبات أدى لإنتاج ثاني اوكسيد الكربون CO₂ والميثان CH₄ والامونيا NH₃ وبخار الماء. إن طاقة هذه التفاعلات مُجهزة من قبل ضوء الشمس والإضاءة الناتجة من الانفجارات البركانية.

٢- التكوين التلقائي Spontaneous للمركبات العضوية البسيطة

- أ- أن التفاعلات بين الجزيئات اللاعضوية أدى لتكوين جزيئات عضوية بسيطة (Monomeric) وذلك في ظروف الاختزال للبيئة داخل المحيط.
- ب- تتفاعل المركبات العضوية البسيطة مع بعض لتكوين الجزيئات البسيطة (السكريات والأحماض الأمينية والأحماض الدهنية والكليسرول Glycerol والقواعد العضوية Purine/Pyrimidine)).
- ج- تتكثف الجزيئات اللاعضوية بشكل امطار عند هبوط حرارة الأرض لذا فإن كلا المركبات البسيطة والمركبات اللاعضوية تتواجد في المحيط البدائي القديم.
- ٣-التكوين التلقائي للمركبات العضوية المعقدة
أن المركبات الأصغر والأبسط تتفاعل لتكوين المركبات المعقدة. مثلا تتفاعل الأحماض الأمينية لتكوين سلسله Poly-peptides ، ويتفاعل السكر ليكون جزيئات السكر الأكبر. أما الأحماض الدهنية والكليسرول فتتحد مع بعض لتعطي الدهون. يستفاد من حرارة الشمس لتجهيز تلك التفاعلات بالطاقة.
- ٤-التكوين التلقائي لجزيئات المتجمعة

Spontaneous formation of molecular aggregates

تأتي الجزيئات الكبيرة مجتمعة لتكوين التجمع الغروي الكبير colloidal والذي يعرف ب Coacervates (المركبات العضوية الغنية بالقطيرات Droplets). أن طبقه جزيئه الماء المتكونة حول جزيئات البروتين تكوّن ال Coacervates. يقوم الغشاء بحمايه الجزيئة عن طريق جذب التراكيز العالية ليعزز التفاعلات الكيمياوية. اذ يقوم بالتجمع الغروي colloidal بامتصاص البروتينات وبقية الجزيئات الموجودة بالمحيط. وهذا يؤدي الى نمو Coacervates بالإضافة الى التراكيب المعقدة. تقسم Coacervates الى عدة اجزاء صغيرة ومتعددة. أن التراكيب الأولية ل Coacervates متواجدة في المحيط للبدأ في تكوين خلايا أولية ، وإن هذه الآلية تنجز بخطوتين:-

أ- البروتوسيل Protocell

يعرف البروتوسول على أنه تنظيم ذاتي و هو عبارته عن اوامر داخلية تقود للتجمع الكروي للدهون، والتي تعد الخطوة الالهة المقترحة كنقطة إنطلاق نحو أصل الحياة.

ب- تكوين الخلايا الأولى First cells

آليات التطور (ميكانيكية التطور) :

وضعت عدة نظريات بهذا الخصوص، وكانت لها ضجه كبيره في بادئ الامر . تبقى النظرية العلمية المعنية بتفسير الظواهر المعينة، الاولى طالما أنها تستطيع تفسير جميع الظواهر القائمة. فاذا عجزت عن تفسير ظاهره جديده وجب تعديلها او إلغائها وذلك من مستلزمات البحث العلمي. فالوقائع العلمية والحقائق عادة ما تكون نسبيه وغير مطلقه.

وضعت العديد من النظريات لتفسير ظاهره التطور في الاحياء خلال العصور المختلفة، وان اقدم النظريات هي:

١- نظريه لامارك Lamarck

وهو عالم فرنسي ولد عام ١٧٤٤ وتوفي عام ١٨٢٩ بدأ حياته كعالم نبات ثم تحول لدراسة الحيوان. ولقد ركز دراسته على تصنيف الحيوان وان اهتمامه في تصنيف الحيوان (الانواع) أقنعت ان النوع غير ثابت وهو مشتق من عدة انواع سابقة

ملخص نظريه لا مارك :

أ- ان الكائنات الحيه عباره عن اجزاء تستمر في النمو والزيادة في الحجم وهو في الحالة الطبيعية ويكون النمو ناتج عن عوامل الايض والتغذية.
ب- ان نشوء اعضاء جديده ناتج من الحاجة الجديدة التي تلح عليها تلك الكائنات الحيه

ت- لقد استخدم هذا العالم قانون الاستعمال والاهمال ومن وجهة نظره ان اي عضو يستخدم بشكل مستمر فإنه سينمو بشكل جديد اما العضو الذي يهمل فائده يكون ضعيف وغير ثابت بشكل جيد.

ث- ان اي تطورات قد تطرأ خلال دوره حياه الكائن الحي سوف تورث للأجيال اللاحقة وهذا يقود الى الاختلاف في الانواع على مر السنين نتيجة تجمع هذه الاختلافات.

ولقد أستند لامارك في نظريته على العديد من الأمثلة:-

١- الزرافة

يعتقد لامارك إنه في الزمن السحيق قد وُجد حيوان يشبه الزرافة يأكل أوراق النباتات وكان يضطر لمد رقبته بشكل مستمر لاسيما في موسم الجفاف، كي يفتت على الاوراق العليا في النباتات. ولقد وُرثت هذه الصفة- استطالة الرقبة- للأجيال اللاحقة وتم مناقلة هذه الصفة في الذرية مما أدى الى زيادة في طول رقبتها وإن هذا التغيير يحدث باستمرار وبتدرج خلال فترات زمنية طويلة الى أن ظهرت الزرافة الحالية المتطورة من الأصل القديم (شكل...) والتي تميزت بظهور الرقبة الطويلة، علماً إن عدد الفقرات العنقية في الزرافة هو سبعة وهو مماثل لعددتها في جميع الحيوانات اللبونة.

٢- الحوت

وهو من اللبائن التي تأقلمت للمعيشة المائية، وبسبب اعتماده في حركته على ذيله القوي المتكيف للمعيشة المائية، فقد طرأ تحور كبير أدى الى اختفاء الأطراف الخلفية الناتج من الإهمال وعدم أستخدامها في التنقل.

٣- الثعبان

يعتقد لامارك احتواء الثعبان على الأطراف في بداية خلقها ثم تلاشت تلك الأطراف بسبب عدم استخدامها، وقد انتقلت هذه الصفة الى الأجيال المتعاقبة لتصبح صفة رئيسية متجذرة. وقد برر لامارك تلك التحويلات بأن الأفاعي كانت تعتمد بشكل رئيسي على الزحف كي تهرب من الأعداء بالدخول في الجحور. ،ان أهمالها للأطراف أدى الى زوالها.

النقد الموجه لنظرية لامارك:

قُدمت عدة اعتراضات على نظرية لامارك أهمها، أن الصفات المكتسبة لا يمكن توريثها وهناك أدلة كبيرة تؤيد هذا الرأي. فعلى سبيل المثال تتميز عضلات الحداد بكونها مفتولة وقوية نتيجة استخدامه للمطرقة. كما إن عضلات ساق العداء تكون مفتولة، وإن تلك الصفات لا يمكن أن تورث إلى الأجيال اللاحقة.

أما وجهة النظر العلمية، فإن الصفات التي يرثها الكائن الحي من الأبوين، تأتي من خلال الخلايا الجنسية Germ cells والتي تحتوي على نصف العدد الكروموسومي (N).

قام العالم الألماني فايزمان عام ١٨٨٧ بتفنيد نظرية لامارك لاسيما المبدأ المتعلق بالاستعمال والأهمال.

فقد أجرى تجربة تضمنت قطع الذنب للفئران و تزويجها مع بعض. فقد استمر هذا العالم بقطع أذنان الفئران الناتجة لثمانية أجيال، وفي كل مرة يتم الحصول على فئران حاوية على ذنب. أن وجود الذنب في الذرية، رغم تكرار قطعه من الأبوين، يدل على أن هذه الصفة موجوده في الجينات ويتم توريثها للأبناء.

Darwin theory

(٢) نظريه دارون

عالم بريطاني عاش في القرن التاسع عشر، و قام برحلة علمية حول العالم مموله من قبل ملك بريطانيا. أذ قام بجمع عينات حيوانيه و نباتيه من مناطق مختلفة باستخدامه الباخرة (Begal). ركز في دراسته على جزر جالا باكوس Galapagos الواقعة في شواطئ امريكا الجنوبية، و قام بتحليل تلك البيانات لاحقاً والتي أثمرت عن صياغته لنظريته والتي ألقاها في الجمعية الملكية البريطانية. و على ضوء البيانات الغزيرة التي جمعها خلال رحلته حول العالم، فقد ألف كتابه الشهير والمثير للجدل "أصل الانواع The origin of species".

ألقي دارون محاضراته في الجمعية البريطانية والتي تزامنت مع محاضره العالم والاص ١٨٥٩ Wallace. فقد توصل الى نفس الاستنتاجات، علما أن والاص قد جمع بياناته من جنوب اسيا. وبسبب هذا التزامن في طرح البيانات و غياب الاسبقية، فقد نُسبت هذه النظرية لكليةا و عُرُفت بنظرية " دارون و والاص".

يتلخص رأي دارون في هذه النظرية بأن التغيير في الانواع يحدث في الانواع الضعيفة التي لا تستطيع ان تواجه الظروف الصعبة و متى ما انقرضت تلك الأنواع فلا مجال لتوريث صفاتها. اما تلك الأنواع المزودة بصفات تلائم ظروف البيئة فتتمكن من الاستمرار بمسيرة الحياة و الازدهار وبالتالي فهي تمتلك القدرة على توريث تلك الصفات الى الاجيال اللاحقة.

يعتقد دارون ويشاطره الرأي والاص إن استمرار عملية الانتخاب الطبيعي يؤدي بالضرورة لنشوء انواع جديدة تمتاز بقدرتها على التكيف مع الظروف ويعتمد رأي دارون في التطور على العديد من العناصر :-

١-الانتاج المتزايد

تمتاز الحيوانات بقدرة هائلة على التكاثُر ولو قدر لنسلها البقاء حتى النضج و التكاثُر لِامتَلئت الأرض بما رحبت بتلك الأحياء. وهذا غير ممكن من الناحية العلمية. أن التكاثُر غير المنضبط يقود لما يُعرف بالصراع من أجل البقاء "struggle for survival"

٢- التباين والاختلاف

لا يوجد فردان متشابهان بالشكل حتى لو كانا توأمين، حتى في بذور النباتات الموجودة في ضمن الثمرة الواحدة يُلاحظ وجود اختلاف واضح. ويرى دارون ان الفروقات قد تكسب بعض الافراد ميزه على غيرها في البقاء و هذا ما يعرف مبدأ البقاء للأصلح "survival for fittest"

٣- ظاهرة التحول والتغيير

اهتم كل من دارون و لامارك بهذه الظاهرة، الا ان هنالك تباين في التفسير فيما بينهم. فعلى سبيل المثال لقد اختلف الباحثان في تفسير طول عنق الزرافة. يعتقد دارون ان هذا الامر مرتبط بالانتخاب الطبيعي خلال الاجيال المتعاقبة بدءاً من أسلاف الزرافة الاولى التي انفردت برقبة طويلة نسبياً وانها قد اتيح لها الحصول على الغذاء في اوراق الاشجار العالية مما ادى الى استمرارها في البقاء ومواجهه ظروف الجفاف.

واصبحت هذه الزرافة تمثل الاباء للجيل الثاني والذي انتقلت اليه صفات الرقبة الطويلة وراثياً. وبتكرار هذه العملية لأجيال طويلة ولسنين تم انتاج الزرافة ذات الرقبة الطويلة.

٤. الانتخاب الطبيعي

ان الافراد في الانتخاب الطبيعي مزودين بصفات خاصه وعندما يتكاثرون فان هذه الصفات تنتقل للأجيال اللاحقة، وهذا ما يجعلها تفوز في الصراع الدائم من أجل البقاء. وفي كل مرة فإن الافراد الضعيفة تسقط ولا يمكنها ان تستمر. وبالتالي تبتعد عن مسرح الحياه. ولا يواصل المسير إلا الاقوياء، وبهذه الطريقة تنشأ اشكال جديده تلائم ظروف البيئه. وهذا المبدأ مرتبط بما يعرف بأصل الانواع. وهناك امثله عديده على الانتخاب الطبيعي.

أ- الفراشة *Biston betularia*

يغلب على هذه الفراشة اللون الابيض الفاتح وهي تعيش في بريطانيا. وكانت هذه الفراشات هي السائدة في البيئه البريطانية ما قبل الثورة الصناعية، وهناك سلالات قليلة ذات لون أسود تنشط ليلاً وتسبب نهاراً فتسكن في جذوع الاشجار المغطاة بالإشنيات. وقبل الثورة الصناعية كانت الفراشات ذات اللون الفاتح بمأمن عن الاعداء الطبيعيين. بمعنى ان الانتخاب كان بجانب تلك الفراشات خلافاً للفراشات ذات اللون الاسود. ولكن بعد الثورة الصناعية وانتشار الدخان وتراكمه على النباتات ادى هذا التحول في تغيير اعداد سلالات الفراشات المختلفة، واصبح هذا الظرف ضد استمرار وزيادة اللون الفاتح وأصبح بجانب الفراشات ذات

اللون الأسود والتي تختفي من عيون الأعداء الطبيعيين. اكتشفت هذه الظاهرة من قبل العالم Kettlewell.

ب- القوقع *Cepean nomirales*

يتميز هذا القوقع بألوان وخطوط تحددتها مجموعة من الجينات الخاصة و الصفات الوراثية. وقد لوحظ ان زيادة اعدادها مرتبط بالطرز المظهرية الذي يُضاهي شكل الارض وبذلك تحمي نفسها من الطيور كأعداء طبيعيين. اما الافراد التي لا تمتلك تلك الصفة فتكون مُعرضة للاستهلاك من قبل الطيور. وهذا ادى الى اضمحلال اعدادها.

ث- تأقلم جمجمة الافاعي

أن اغلب الفقريات البرية لها عظام جمجمة تكون صلبه ومترابطة مع بعضها. إلا ان الافاعي لها خصوصية مميزة، أذ تكون عظام جمجمتها غير مترابطة بشكل كامل، وهذا يمكنها من ابتلاع الفرائس الكبيرة حتى وان كانت اكبر من حجم الرأس. من خلال تلاعبها بحركة الفكين أذ يتم فصل الفك السفلي طولياً كما ان عظم المربعي Quadrate bone قابل للحركة والدوران للأسفل. لذا فإن الفك السفلي يهبط بعيداً عن الجمجمة. كما ان نصفي الفك السفلي غير ملتصقين مع بعضهما فضلاً عن وجود الاسنان المعقوفة الى الخلف والتي تساعد مسك الفريسة بشكل محكم. وتتميز الانياب بكونها مجوفة وهي مرتبطة بالغدد السمية. أن الغدد السمية هي عبارة عن غدد لعابية قد تحورت لتكون سامه. كل تلك الصفات المتغيرة هي عباره عن انتخاب طبيعي قد أصبح لصالح هذا النوع.

Orchid

ح- السحلبيات

السحلبيات هي نباتات وحيدة الفلقة تضم من ١٥ - ٢١ ألف نوع، ولها تحويرات وأليات مدهشه للتلقيح. أذ تتبع مبدأ أليات التلقيح الكاذب. فينمو جزء من الزهور بما يشبه أنثى الحشرات، وتقوم الزهرة بطرح رائحة تحاكي الفرمونات الجنسية الجاذبة لإناث النحل او الدبور. فتقوم بجذب هذه الحشرات والتي تقوم بعملية التلقيح من خلال نقل اللقاح بين الاجناس المختلفة. تعرف هذه العملية بالتلقيح الكاذب.

الاستنتاجات من هذا العملية:

- ١- ان التكيف موجود أيضا في النباتات مثلما موجود في الحيوانات.
- ٢- أن شكل زهور النبات ورائحته تعد تكيفات تشجيع تكاثر النبات من خلال استقطاب الحشرات لغرض إنجاح التلقيح، مما يساعد على بقاء النوع.
- ٣- النباتات تنجز التكاثر بواسطة الخداع او باستغلال احياء اخرى فالحشرات لا تكسب اي شيء من تفاعلها مع النباتات بينما النباتات هي المستفيدة من هذه العملية.

خ - التغيير بتجمعات سمكة الكوبي

إن معدل حجم اسماك الكوبي عادة ما يكون كبيراً ويأخذ وقت اطول للوصول إلى النضج الجنسي وهذه الظاهرة شائعة في البرك الي تعيش فيها المفترسات الصغيرة التي تتغذى على يافعات سمكة الكوبي. اما اسماك الكوبي التي تعيش في برك حاوية على اسماك الكراكي (Pike) الشديدة الافتراس للأسماك الكبيرة حصراً، فقد طورت آلية انتخابها من خلال تغيير استراتيجيتها تكاثرها للحفاظ على نوعها من الانقراض. أذ عمّدت على تعجيل نضجها الجنسي بعمر أصغر لتلافي الافتراس قبل وصولها احجام كبيرة تكون عرضة للافتراس.

ر- السلوك الانتحاري

يعد هذا السلوك شائع في نوع من انواع العناكب بسبب ان الذكور نادراً ما تأخذ الفرصة للتزاوج بأكثر من انثى، والسبب ان الانثى تقوم بافتراس الذكر بعد اتمام عملية التكاثر. ان الذكر المفترس هو الذي يُعَقَّبُ (يتناسل)، خلافاً للذكور التي تبقى في الحياة فأنها تكون عديمة النسل.

قامت الباحثة الألمانية Maydianne بإجراء تجربة عن طريق اختبار هذه الفرصة من خلال تقديم الاناث مع ذكرين بالتعاقب، وقامت بتسجيل فترة الجماع ومن ثم استخدمت جهاز PCR لتحديد ابوة نسل الاناث ولقد وجدت ان النسل المنتج يعود إلى الذكر الاول الذي قام بمجامعة الأنثى وتم افتراسه بعد اتمام عملية التزاوج.

لقد استنتجت ان الاناث التي تتزاوج مع ذكرين، فإن النسل المنتج يكون من الذكر المأكول. وأن نظرية "الانتحار الجنسي يعزز النجاح التكاثري".

ز- المقاومة ضد سمية المعادن

ان بعض الطحالب تلتصق وتنمو على بدن وقاع السفن وان هذه الظاهرة تسبب مشاكل اقتصادية كثيرة لأصحاب تلك السفن. اذ يتطلب ذلك توقف الباخرة في المسفن ورفعها عن سطح الماء لغرض قشطها. وهي عملية مكلفه مادياً كما تستوجب استئجار المسفن ودفع تكاليف رفع السفينة ومن ثم عملية قشط الأحياء الملتنقة على البدن الغاطس بالماء فضلا عن توقف الباخرة لعدة ايام. وللتغلب على تلك المشكلة يُطلى بدن الغاطس بالماء للباخرة بطلاء Antifouling حاوي على مركبات النحاس السامه لقتل الاحياء.

لوحظ ان الطحلب جنس *Ectocarpus sp.* يستمر في النمو بعد الطلاء وإن مقاومته تكون عالية لتراكم النحاس أكثر من عشر مرات من نفس الطحلب الذي يعيش ملتصق على الصخور الساحلية. لذا فإن تأثير سمية ذلك الطلاء تم تقليله خلال فتره زمنية قصيره بواسطة الانتخاب الطبيعي لذلك الجنس.

النقد الموجه الى نظرية دارون ؟

أثيرت عدة اعتراضات على نظرية دارون:-

- ١- ان غالبية التغيرات هي جسمية، أي غير وراثية. كما انها ضعيفة او ذات ضرر بالغ وهي ليست كافية لتؤدي الى اختيار الاتجاه الأصح.
- ٢- ان تنازع البقاء ليس عاماً وهو غير كافي لزوال الأنواع، فلو فرضنا ان حيوان يتغذى على حيوان اخر فهذا يؤدي الى ندرته، لا هلاكه. وبالتالي فان الحيوان المفترس يبحث عن مصادر أخرى للتغذية، مما يتيح للحيوان النادر ان يتكاثر ويعيد توازنه الطبيعي وهذا يعرف بالتوازن الحيوي.
- ٣- لا يفسر تنازع البقاء الاختفاء المفاجئ للزواحف العملاقة المتمثلة بالديناصورات، وهي حيوانات قوية وسائدة في بيئتها. وان اختفائها لا يفترض انها تعرضت للافتراض، إلا انها بنهاية المطاف قد تعرضت الى الاختفاء بشكل مفاجئ. فهذه الحيوانات العملاقة قد اختفت بسبب تغيرات كونية عظمية خصوصاً ان الانقراض كان شاملاً.
- ٤- لا تفسر نظرية دارون الظهور الفجائي للصفات.
- ٥- لو ان نظرية دارون كانت تفسر تنوع الحياة، لوجب ان يستمر هذا التطور الى الان، وبوسع المرء ان يرى انه ليس مستمراً.
- ٦- ان الله قادر على خلق الحياة في نظام مترابط كمجموعات
- ٧- حتى اذا اعتبرنا ان التطور حاصل فلابد من وجود مُوجِّه، وهذا ما يعرف بالمصمم الذكي. لقد رد أنصار التطور على هذه النقطة "لا بد ان يسير التطور ببطأ شديد وبذلك لا يمكن رؤيته بالعين المجردة. لأنه مرتبط بالحُقب التاريخية، التأريخية Era والحقبة تُقاس بالآلاف السنين.

٣-نظرية الهولندي Hugo de vires

وهو عالم نبات هولندي أيد العالم مندل في آرائه حول الطفرة الوراثية (mutation). وقبل طرح آراء العالم هوكو دي فيرز لابد من تو

الطفرة Mutation هي أي تغير يحدث في المعلومات الجينية أي المعلومات الوراثية المشفرة في تسلسلات DNA، أو في تسلسلات RNA في حال بعض الفيروسات.

و DNA هو بمثابة سلسلة، والأجزاء المكونة لهذه السلسلة هي النيوكليوتيدات. ويمكن أن تُحدث الطفرة تغييرات في هذه السلسلة بطرق مختلفة، فقد تغير من ترتيب تسلسل النيوكليوتيدات.

ويمكن توضيح كيفية حدوث الطفرة وفقاً للتصور الذي ساد طوال القرن العشرين على النحو التالي:

١- كل كائن حي يحمل في خلاياه الشفرة الوراثية التي تترجم صفاته، وهذه الشفرة تكون محملة على شريط الحامض النووي DNA لكل فرد من أفراد النوع.

٢- الطبيعي هو أن تتم ترجمة هذه الشفرة الوراثية بشكل سليم ما يظهر صفات متنوعة لكل الكائنات الحية، ولكن بما لا يخرج أي كائن حي عن الصفات المحددة لنوعه.

٣- كل صفة وراثية في الإنسان خصوصاً يتم توريثها عن طريق عدد من الجينات وليس جين واحد كما كان التصور القديم في ضوء الوراثة المندلية البسيطة.

٤- كل جين يصنع بروتيناً مختلفاً عن البروتين الذي يصنعه الجين الآخر، لذلك على الخلية قراءة الشفرة بداخل الجين بشكل صحيح كي تصنع البروتين الصحيح.

٥- خطوات تخليق البروتين من الجين والتعبير عنه مكتوبة بلغة خاصة تسمى الشفرة الوراثية التي تحمل المعلومات الجينية والمخزنة في الحمض النووي، وحروف هذه اللغة عبارة عن أجزاء كيميائية صغيرة مترابطة جنباً إلى جنب كما هي الحال في حروف أي لغة.

٦- تسمى الجزيئات المترابطة التي تشكل وحدات البروتين المتكون بالأحماض الأمينية. وتختلف أنواع البروتينات عن بعضها البعض باختلاف ترتيب هذه الأحماض الأمينية.

٧- تحدث بنسبة بسيطة حالات ترجمة للشفرة الوراثية بطريقة خاطئة، وأي خلل يحصل في هذا الترتيب يؤدي لخلل في تكوين البروتين. ويتم عزو هذا الخلل إلى الطفرات، وينتج عنها إما ظهور صفات مناسبة للنوع ولكن كان لا يُفترض ظهورها في ذلك الفرد كظهور صفة العين الزرقاء في طفل لا يحمل والداه هذه الصفة في طرزيهما الجينيين، أو حدوث تشوه في الأجنة ينتج صفات غير مرغوبة ولا تمثل أي شكل من أشكال الطرز المظهرية السليمة للصفة في ذلك النوع.

ويمكن تصنيف الطفرات وفقاً لعوامل كثيرة:

- بأثرها على تسلسلات البروتينات، أو بآليات حدوثها في DNA والكروموسومات.
- مسبباتها (تلقائية- محدثة)

- من حيث قابلية توريثها (جسدية-جنسية)
- حسب تأثيراتها على الصلاحية (ضارة-نافعة-محايدة)

وتصنف الطفرات الى نوعين هما:-

أ-الطفرة الكروموسومية (الصبغية): يحدث تغير مفاجئ في عدد الكروموسومات أو طريقة انتظامها، وينشأ من هذا التغير ظهور صفة جديدة. ويكفي أن نعرف أنه ترتبط كثير من الاختلالات الكروموسومية بأنواع من السرطان، فمثلاً تثلث الكروموسوم ٨ في الإنسان يرتبط باللويميا الحادة.

ويحدث الشذوذ الكروموسومي chromosomal abnormality أثناء التكوين الجنيني نتيجة تغير في عددها أو تركيبها، ما يسبب تبدلاً في الخارطة الكروموسومية الخاصة بالكائن الحي. وغالباً ما يؤدي ذلك إلى مشكلات في نمو جسم الفرد المصاب وتطوره ووظائفه، وقد يؤدي إلى موته.

ب-الطفرة الجينية: يحدث تغير كيميائي في الجينات من حيث ترتيب القواعد النيتروجينية الموجودة في جزيء DNA التي تُشفر لتكوين بروتين معين، ما يؤدي إلى تغير وظيفة الجين أي وظيفة البروتين الذي ينتجه، وجميع الطفرات المعروفة من هذا النوع يدعم فيها البروتين المُطفر إصابة الجسم بالأمراض على العكس من البروتين الصحيح المتكون وفقاً للشفرة الوراثية الصحيحة.

فالطفرات الصغيرة أو الجينية هي الطفرات التي تحدث في تسلسل DNA الذي يشكل جين معين. وهذا النوع من الطفرات يؤثر فقط على نيوكليوتيد واحد أو عدة نيوكليوتيدات في الجين.

لقد أجرى تجاربه على نبتة زهرة الربيع المسائية **Oethera lamarkiana**، ولاحظ اختلاف بعض الأفراد عن الأصل. حتى بدت كأنها نوع جديد. وعند إعادة زراعتها فإنها قد أنتجت نباتات مختلفة عن النباتات الأصلية. وقال إن هذه الأنواع قد ظهرت نتيجة الطفرة الوراثية. فقد افترض هذا العالم، حدوث مثل هذه الطفرات للكائنات الحية في العصور الجيولوجية القديمة. هذا وعلل طول رقبة الزرافة نتيجة حدوث طفرات عديدة أدت إلى هذه النتيجة.

إن نظريته هذه تخالف تماماً فكرة العالم دارون في الانتخاب الطبيعي والذي يستغرق وقتاً طويلاً حتى يظهر تغيير واضح على الكائن الحي، وادناه ملخص نظرية de vires.

١. تنشأ الأنواع الجديدة بشكل فجائي وبدون مقدمات بطريقه الطفرة الوراثية .
٢. إن المقدره على الطفرة الوراثية كاملة في الأصول.
٣. تحدث الطفرة الوراثية في جميع الاتجاهات.
٤. عادة ما تكون الطفرة مُضرة.
٥. تلعب الطفرة دوراً في إظهار التباينات الجينية بين الأنواع وهي مسؤولة عن إظهار التغيرات الفجائية بالألوان والأشكال.

بسبب وجود خلاف كبير بين أنصار نظرية دارون، والتي تستند على الانتخاب الطبيعي في تفسير التطور، وبين أنصار de vires الذين يستندون على الطفرات في مجال تفسير التطور. ولقد استمر هذا الجدل حتى جاءت مجموعه من العلماء المستحدثين ليقوموا بالجمع بين النظريتين أعلاه في نظرية واحدة عرفت بالنظرية التخليقية الحديثة ..

٤- النظرية التخليقية الحديثة للتطور Modern synthetic theory of evolution .
تعتبر هذه النظرية حصيلة غنية لنتاج العديد من العلماء المعاصرين أمثال العالم تومس مورغان Tomas Morgan وهو عام أمريكي قام بتجارب على ذبابة الفاكهة Drosophila ، وقد أيد de vires في آرائه و زاد عليها بما يعرف بنظرية الجين (Gene theory) الحامل للصفات الوراثية.

إذ افترض أن الصفات الوراثية تنتقل من جيل لآخر بواسطة جزيئات دقيقة سماها (الجينات) وهي توجد في إعداد كبيره في الكائنات الحية وتحمل الصفات الوراثية وتتحكم فيها.

كما يلاحظ وجود علماء آخرين لعبوا دوراً كبيراً في صياغة هذه النظرية أمثال Julian Huxley, Simpson ،أرنست ماير وستين Stebbins.

تتضمن نظريه التخليقية الحديثة العوامل التالية:-

١. الطفرة الجينية gene mutation
٢. التباين أو إعادة الخلط Variations or Recombination
٣. الوراثة Hereditary (وراثه الجماعة) (Population gene)
٤. الانتخاب الطبيعي Natural selection.
٥. العزل Isolation

فضلاً عن وجود عوامل إضافية أخرى تؤثر على عمل العوامل أعلاه تتمثل بالنقاط التالية:-

- أ- هجرة الأفراد من تجمع الى آخر.
- ب- التهجين بين الضروب Races
- ت- أو أن الأنواع القريبة تزيد كمية التباين الوراثي المُتاح للتجمع .Population

١- الطفرة الجينية Gene Mutation:

تُعرّف عن تبدل في كيمياء الجين DNA ، بحيث يكون قادر على تغيير الطرز المظهرية Phenotype effect ، وهذا ما يعرف بالطفرة الوراثية الجينية. والتي من الممكن ان تسبب في تغيرات متطرفة قد تكون مؤذية للصحة او ضارة او مُميتة احياناً او قد تبقى تافهة.

هناك فرص متساوية للجين لإعادة التغيير Mutate back للحالة الطبيعية. وان اغلب الجينات المُطفرة تكون مُتحمية مقارنة بالجينات الطبيعية وهذه تكون قادرة للتعبير عن الانماط المظهرية فقط في الظروف المتماثلة وراثياً "Homozygous". لذا، فإن الطفرة الجينية تميل الى انتاج تباينات في النسل.

٢ - التباين او إعادة الخلط Variation or Recombination:

هو مصطلح يعبر عن انماط وراثية جديدة New geno-types.

٣- الوراثة Hereditary:

ان انتقال التباينات في الالبااء الى الالبااء يعد من الاليات الوراثية المهمة. اذ تمتلك الكائنات صفات وراثية مفيدة تكون مفضله في الصراع من اجل البقاء. وذلك كنتيجة من استفادة النسل من الخصائص المفيدة للآباء.

٤- الانتخاب الطبيعي Natural Selection

تم توضيحه في المحاضرات السابقة.

٥- العزل Isolation:

أن عزل الافراد للنوع الى عدة تجمعات سكانيه او مجاميع تحت عوامل فيزيائية وفلسجية وجغرافية، يُفترض أن تكون العامل الالهم المسؤول عن التطور. تتضمن الحواجز الجغرافية مثل الانهار والمحيطات والجبال العالية، والتي تمنع التكاثر البيني Interbreed (التهجين).

أن الحواجز الفلسجية Physiological barriers تساعد في صيانه خصوصية النوع، لذا فإن العزل يعرف على انه عزل تكاثري. والذي يتضمن عدم السماح للتهجين بين الاحياء ذات الانواع المختلفة.

ان التجمعات المنعزلة للنوع تتطور بشكل مستقل لأنواع مختلفة من الطفرات الوراثية. وهذه الطفرات تتجمع في gene pool وبعد عدة اجيال فان التجمعات المنفصلة تصبح مختلفة وراثياً وتكاثرياً على التجمعات الاخرى. مما يقود الى تكوين أنواع جديدة.

وهناك نوعين(نمطين) من تكوين الانواع هما:

١- تكوين الانواع في خط تطوري واحد "Anagenic"

وفيه لا تتعرض الافراد في المجموعة الأصلية الى التشتت. وتظهر بعض الصفات الوراثية الصغيرة في أجيالها المتعاقبة والتي تؤدي الى ظهور صفات جديدة تنتخب طبيعياً ليبقى فيها الاقوى والاصح للظروف البيئية. وبتراكم تلك التغيرات على مدى اجيال عديده يظهر نوع جديد يتكون من افراد تحمل صفات كثيراً ما تختلف عن افراد المجموعة الاصلية.

ب- تكوين الانواع في عدة خطوط "phyletic"

وفيه تخرج من المجموعة الاصلية عدة جماعات صغيرة تنتشر في اتجاهات مختلفة، سواء بالهجرة او بأي وسيلة اخرى. ثم تنعزل هذه الجماعات مما يؤدي في النهاية الى ظهور انواع جديدة تتكيف مع ظروف الحياة في الموطن الجديد. وفضل مثال هو عصافير دارون في جزر جالاباكوس Galapagos حيث بدأت من نوع واحد، ثم تطورت لتكون ١٣ نوع.

مبدأ hardy و Weinberg:

الجماعة السكانية هي مجموعة من الافراد لنوع معين من الافراد تعيش في موقع بيئي محدد وتتزاوج فيما بينها تزاوجاً غير مُقيداً. التزاوج غير المُقيد، وهو التزاوج الشائع بين افراد النوع الواحد، وينتج عنه اجيال خصيبة تمتلك القدرة على التزاوج وانتاج نسل جديد.

اما التزاوج المُقيد، فهو الذي يحصل بين انواع مختلفة عائدة لنفس العائلة، وهذا ما يُعرف بمبدأ التهجين. اذ ينتج عنه افراد عقيمة جنسياً. وخير مثال على ذلك هو البغل الناتج من الزواج بين الفرس والحمار، الذي يمتلك مواصفات بدنية مميزة إلا أنه عقيماً.

وفي المجموعة (غير المقيدة) يمكن تصور الجينات في جميع افراد الجماعة كمعياً مشتركاً، أي أنه عبارة عن مكان تجمع مشترك. واذا احصينا الطرز المظهرية بالنسبة لصفة ما، وعرفنا الجينات الداخلة في وراثتها، وأيها سائد وأيها مُتحتي، أمكننا حساب معدل انتشار هذا الجين في هذا المعين المشترك في تلك الجماعات.

وقد توصل العالمان **hardy و Weinberg** الى المبدأ الذي ينص إن هناك ميلاً لبقاء أي جين ثابت في الجماعة من جيل الى جيل آخر، وكذلك الطرز المظهرية والطرز الجينية لذلك الجين. بمعنى أن هناك ميلاً للاتزان الوراثي يعمل على بقائها و ثبات خصائصها الوراثية.

شروط حفظ الاتزان الوراثي حسب مبدأ hardy و Weinberg

١. ان يكون حجم الجماعة كبيراً Large population. فكلما زاد الحجم كان انسب لتحقيق قوانين الاحتمال الرياضي، إذ تكون كل الطرز ممثله بشكل عشوائي بهذا التجمع.
٢. ان يكون التزاوج بين افراد الجماعة عشوائياً وليس موجهاً random mating او منحازاً. بمعنى أن الفرد في التجمع السكاني يتزاوج بالصدفة.
٣. ان لا تكون الصفة الوراثية خاضعة للانتخاب الطبيعي فتتعرض للإكثار او الازالة. هذا يعني غياب الانتخاب الطبيعي، لذا فإن التغيير في التكرار الأليلي بسبب البيئة، ربما يحدث.
٤. لا توجد هجرة للأفراد سواء للمجموعة أو من المجموعة.
٥. أن لا تحدث طفرات جينية، لذا لا يحصل أي تغيير.
٦. لا يوجد إنحراف جيني Genetic drift، وإن فرصة التغيير في التكرار الأليلي ربما تحدث.

وبشكل عام فإن توازن هاردي- واينبرغر لا يحدث أبداً في الطبيعة بسبب أنه لا يمكن ضمان عدم أنتهاك أي من القواعد المبينة أعلاه. إن توازن هاردي- واينبرغر هو حالة مثالية Ideal state التي توفر الخط الأساسي Base line..... إن معادلة هاردي- واينبرغر تستعمل لأي تجمع سكاني عندما يكون هذا التجمع لا يحتاج حالة التوازن. هناك معادلتان أساسيتان لجل توازن هاردي- واينبرغر هما:-

$$p + q = 1 \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1 \quad \dots\dots\dots(2)$$

حيث إن ،

Dominant allele = تكرار الأليل السائد P

Recessive allele = تكرار الأليل المتنحي q

p^2 = تكرار الأفراد ذات الصفات الجينية (genotype) السائدة المتجانسة.

q^2 = تكرار الأفراد ذات الصفات الجينية المتنحية المتجانسة.

مثال :- لوحظ إن تجمع سكاني للقطط يكون إما أسود أو أبيض، أذ يرمز حرف (B) للأليل الأسود وله سيادة كاملة على الأليل الأبيض (b). يتكون هذا التجمع المحدد من ١٠٠٠ قطة، ٨٤٠ ذات لون أسود و ١٦٠ ذات لون أبيض. أ- حدد تكرار الأليلات.

ب- بين تكرار الأفراد لكل صفة جينية Genotype

ت- وضح أعداد الأفراد لكل صفة جينية.

لحل هذه المسئلة ، يجب حل كل المتغيرات السابقة المبينة أدناه.

$$.(p , q , p^2 , 2pq \& q^2)$$

الخطوة الاولى:- جد تكرار القطط البيضاء ذات الصفات الجينية المتنحية

والمتجانسة (bb). من ناحية أخرى، فإن القطط السوداء تكون إما (Bb) أو (BB).

لذا فإن تكرارها يحدد وفق المعادلة المبينة أدناه:-

$$\text{Frequency of individuals} = \text{Individuals/ Total population} = 160/1000 = 0.16$$

هذا الرقم (0.16) يمثل تكرار القطط البيضاء ($q^2 = 0.16$).

الخطوة الثانية:- يتم حساب قيمة (q) بأخذ جذر q^2

$$q = \sqrt{q^2} = \sqrt{0.16} = 0.4$$

الخطوة الثالثة:- أستخدم المعادلة الأولى لتوازن هاردي- واينبرغر

$$p+q= 1$$

$$p= 1-q$$

$$p= 1-(0.4)= 0.6$$

الآن سيكون تكرار الأليل للتجمع السكاني معروف. وعليه نستطيع حل التكرارات المتبقية للأفراد

وذلك باستخدام المعادلة التالية:-

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

الخطوة الرابعة:- يتم تربيع Square قيمة p للحصول على قيمة p^2

$$P=0.6$$

$$p^2 = (0.6)^2 = 0.36$$

الخطوة الخامسة:- نضرب $2 \times (q \times p)$

للحصول على $2pq$

$$2pq = 2(0.6) \times (0.4)$$

لهذا فإن:-

- تكرار الأليلات السائدة هي ($p=0.6$)
- تكرار الأليلات المتنحية هي ($q=0.4$)
- تكرار الأفراد ذوي النمط الجيني السائد (BB) هو ($p^2=0.36$)
- تكرار الأفراد ذوي النمط الجيني متغاير الزايكوت (Bb) ($2pq=0.48$)
- تكرار الأفراد ذوي النمط الجيني المتنحي (bb) ($q^2=0.16$)

تذكير:- يتم التحقق من دقة الخطوات أعلاه من خلال أحلال القيم اعلاه في معادلة هاردي-واينبرغر وذلك وفق الآتي:-

$$P(0.6) + q(0.4) = 1$$

$$0.36 + 0.48 + 0.16 = 1$$

الخطوة السادسة:- نضرب تكرار الأفراد كل على حدا (p^2 و $2pq$ و q^2) مع التجمع السكاني الكلي (1000) للحصول على أعداد الأفراد للنمط الجيني المعني وكما مبين أدناه:-

$$p^2 \times \text{Total population} = 0.36 \times 1000 = 360 \text{ Black cats with (BB) genotype}$$

$$2pq \times \text{Total population} = 0.48 \times 1000 = 480 \text{ Black cats with (Bb) genotype}$$

$$q^2 \times \text{Total population} = 0.16 \times 1000 = 160 \text{ White cats with (bb) genotype}$$

مقارنة بين الأجيال :-

لمعرفة ما اذا كان الجمع السكاني يخضع لتوازن هاردي-واينبرغر ، فإنه يجب متابعة التجمع السكاني لجيلين على أقل تقدير. فإذا كان تكرار الأليلات هو نفسه في كلا الجيلين، فإن التجمع السكاني يخضع لتوازن هاردي-واينبرغر.

الاختلاف بين النظرية التخليقية الحديثة و نظرية دارون:-

تختلف النظرية التركيبية الحديثة عن النظرية الداروينية التقليدية بالمفاهيم

التالي:-

- أ- أنها تميز العديد من الآليات للتطور تتضمن الانتخاب الطبيعي.
 - ب- تنص على أن الجينات هي المسؤولة عن الخصائص الوراثية.
 - ت- يعود التباين ضمن التجمع لوجود الأليلات **Alleles** المتعددة في الجينات.
 - ث- تفترض إن التنوع هو نتيجة للتراكم التدريجي للتغيرات الجينية الصغيرة
- وهذا الرأي يكافئ **Macro-evolution**
- ج- تعمل هذه النظرية لتفسير التطور عند مستوى الجين والطرز الجينية، بينما تكون النظرية الداروينية متعلقة بشكل رئيسي بالكائن الحي والتنوع الافراد.

عند أختلال أي شرط من الشروط أعلاه فإنه يقود الى أختلال التوازن الوراثي للجماعة و بالتالي السير باتجاه جديد يُعرف ب "الانحراف الوراثي" .

والانحراف الوراثي **Genetic drift** يُعرف على أنه التذبذب في تكرار الأليلات نتيجة للعوامل العشوائية Random factors. أن الانحراف الوراثي مرتبط بقوة وبحجم التجمع السكاني ويصبح مؤثراً في الأماكن حيثما ينشق الجزء الصغير من التجمع الأصلي أو يصبح منعزلاً عن التجمع الأصل Parent population. وعادة ما يحصل هذا عند تواجد مجاميع صغيرة منعزلة عن التجمع الأصلي، وهذا ما يُشار له بتأثير المؤسس Founder effect (<https://pediaa.com/difference-between-gene-flow-and-genetic-drift/>).

تعمل كل من تدفق الجين Gene flow و الانحراف الوراثي على تقليل التباين الجيني ضمن التجمع السكاني. ومع ذلك، فإن كل من التدفق الجيني والانحراف الجيني لهما تأثيرات بعيدة المدى على التطور. إن التباين الرئيسي بين التدفق الجيني والانحراف الوراثي، هو أن التدفق الجين يُشير إلى نقل الجينات بين التجمعات السكانية. بينما يرمز الانحراف الوراثي إلى التباين في تكرار الأليلات Alleles frequencies في التجمعات الصغيرة والذي يؤدي إلى اختفاء و اضمحلال الأليلات من التجمع السكاني.

يسمح تدفق الجين لتوحيد تجمع الجينات Gene pool في تجمعين سكانيين. من ناحية أخرى، فإن التدفق الجين يسمح لنشوء أنواع جديدة من خلال نقل الجينات. يُعد الانحراف الجيني عملية طبيعية والتي تُدعى أيضا " بالانحراف العشوائي Random drift". يحدث الانحراف الجيني من خلال ظاهرتي تأثير المؤسس Founder effect و عنق الزجاجة Bottlenecks.

مقارنة بين تأثير المؤسس وتأثير عنق الزجاجة

تأثير عنق الزجاجة Bottlenecks effect	تأثير المؤسس Founder effect
١ تحدث هذه الظاهرة عندما ينقص حجم حجم التجمع بسرعة كبيرة. لها أصول مختلفة.	١ تحدث الظاهرة عندما تصبح المجموعة الصغيرة للأفراد منعزلة من التجمع الكبير.
٢ مسباتها: انخفاض حاد في حجم التجمع بواسطة أحداث بيئة مثل الجفاف و الفيضانات والحرائق و الزلازل والأمراض ... الخ.	٢ يعتبر أحد أصول تأثير عنق الزجاجة.
٣ تؤثر على الجمع الأصلي.	٣ مسباتها: هجرة الأفراد الصغيرة من التجمع الرئيسي.
٤ احتمالية عالية جداً للتزاوج بين الأحياء ذات الصلات القريبة.	٤ لا تؤثر على التجمع الأصلي.
٥ تحدث نتيجة للعينة العشوائية للجينات من التجمع الأصلي.	٥ احتمالية عالية للتزاوج Inbreeding بين الأحياء ذات الصلات القريبة.
٦ مثال على أنواع تأثير عنق الزجاجة هي فقرة الفيل الشمالية والثور الأمريكي Bison والهامستر الذهبي ... الخ.	٦ تنتج تجمع بعينة غير عشوائية للجينات في التجمع الأصلي.
	٧ مثال على التجمعات المؤسسة هي الفرنسيين في مقاطعة كيويك الكندية وتجمعات الأميش Amish في أميركا.

الأدلة على حدوث التطور:

الدليل الاول: المتحجرات Fossil Record

هي بقايا أو آثار الكائنات الحية التي عاشت على الأرض وماتت في الأزمنة السحيقة، واندثرت تحت ظروف مختلفة عن تلك الظروف الحاضرة مكونه الصخور الرسوبية.

تعتبر المتحجرات دليل مادي على وجود الكائن الحي في تلك الفترة من الماضي السحيق. وهناك الكثير من الحيوانات لم تُنح لها الظروف كي تترك أثرها في الرسوبيات كالمحجرات.

هناك العديد من الظروف والتي يجب توفرها لإتمام عملية تكوين المتحجرات ومن أهمها:-

أ- وجود هيكل صلد للكائن الحي.

ب- دفن الكائن الحي بعد موته مباشرة في رواسب تحميه من التحلل والاندثار.

ج- وجود الوسط المناسب لحدوث عملية إحلال المادة المعدنية للصخور محل المحتوى العضوي للكائن الحي.

هناك انواع مختلفة من المتحجرات إستناداً للظروف التي مرت بها الكائنات الحية بعد موتها، ومنها:

(١) المتحجرات للكائن الحي المتكامل:

عادة ما تتواجد تلك المتحجرات في المناطق القطبية، إذ يُحفظ الحيوان بكامله

ضمن الكتل الجليدية. وهذا ما ينطبق تماماً مع حيوان (الماموث). والماموث

الحيوانات الكبيرة جداً عاشت في شمال أوربا وسيبيريا خلال العصور الجيولوجية الأخيرة، ومن ثم انقرضت وتركت بعض النماذج المحفوظة تحت طبقات الجليد في شمال روسيا.

(٢) الجزء الصلب من الكائن الحي :

يتمثل هذا النوع من المتحجرات بصدفة او عظم او سن كائن حي قد مات

وتحللت مادته العضوية الرخوة وبقيت الاجزاء الصلبة محتفظة بتركيبها الاصيلي .

(٣) البقايا المتحجرة :

من الامثلة المعروفة لهذا النوع هي الغابات المتحجرة وفيها تحل المادة المعدنية

في الصخور(السليكا) محل المادة الحية للأشجار المتمثلة بالألياف، بحيث يبقى

الشكل الاصيلي للأشجار دون تغيير.

(٤) القوالب الفارغة :

وهو نمط من المتحجرات شائع في القواقع والمحار. فعند موتها فإنها تستقر على

القاع حتى تدفن في الرواسب وقد تحنل هذه الرواسب فجوات المحار والقواقع

فتملئها فإذا تحل الهيكل الصلب للكائن الحي ترك قالباً صخرياً يدل عليه ويحمل

بعض التفاصيل الداخلية للهيكل .

(٥) آثار الكائنات الحية :

تكون الصخور الرسوبية في بادئ الامر ذات رواسب طرية غير متماسكة فإذا

سار عليها احد الحيوانات بهذه الحالة، فهي تترك آثاراً للأقدام. ومتى ما تماسكت هذه

الرسوبيات قبل ان تتراكم فوق سطحها رواسب اخرى فإن الاثر سيظل باقياً ليبدل على وجود الكائن الذي احدثها.

اهمية سجل المتحجرات :

لقد عثر العلماء على متحجرات كثيرة في طبقات الارض المختلفة وتبين لهم من دراستها انها عبارة عن سجل يحكي قصة الحياة فوق الارض في الماضي البعيد. وهي تمثل كتاب يحوي آثار الماضي ويروي تاريخ الحياة من نشأتها في نظام ذو دقة من غير تحريف او تعديل .

إن المتحجرات الكامنة في طبقات الأرض قادت العلماء لتدوين الاستنتاجات التالية:

أ- كلما تعمقنا في طبقات الصخور الرسوبية وجدنا متحجرات لكائنات بسيطة التركيب، بينما لا توجد بقايا نباتات والحيوانات الراقية الا في الطبقات السطحية. اما الطبقات الموجودة في العمق فلا يوجد بها حفريات او متحجرات للأحياء مطلقاً . وقد امكن من دراسة هذا السجل الاستدلال على ان الحياة قد ظهرت اول مره في الماء ثم تدرجت الى اليابسة .

ب- يشير سجل المتحجرات الى ان تطور الحياة قد سار في الاتجاه نحو زيادة التخصص والتعقيد في تركيب الاعضاء ووظائفها .

ج- تدل الحفريات او المتحجرات النباتية على ان الطحالب قد سبقت في ظهورها الحزازيات (نباتات لاوعائية) والسرخسيات وان عاريات البذور قد سبقت كاسيات البذور.

د- يشير سجل المتحجرات الحيوانات علي ان اللافقرات قد سبقت الفقريات في ظهورها.

وان الأسماك هي اول الفقريات التي ظهرت الى الوجود متمثلة بالأسماك مصفحة الجلد class:ostractodermi. لقد عاش هذا الصنف في العصر السيلوري وانقرضت في العصر الديفوني.

بعد ذلك ظهرت البرمائيات وتلاها الزواحف الضخمة التي نشأت منها الطيور واللبائن بخطوط تطورية مختلفة.

ه- لم يقتصر دور المتحجرات على توضيح تعاقب اشكال الحياة خلال العصور فحسب بل امكن في بعض الحالات العثور على ما يؤكد الصلة بين قسمين مختلفين امام الحيوانات او النباتات وكلا الحفريات التي تعتبر مثلاً لذلك هو بقاء الحيوان يمثل الحالة الوسطية بين الزواحف والطيور والذي يسمى Archaeopteryx اذ وجدت متحجراته كاملة بدرجة ان الطابع الخارجي للريش قد ظهر بشكل واضح في الصخور الرقيقة.

وقد توضح ان لهذا الطائر صفات مشتركة بين الزواحف والطيور. فقد تمثلت الصفات المرتبطة بالزواحف في وجود الاسنان بالمنقار ووجود الفقرات الذنبية في الذيل فضلاً وجود المخالب بارزه في الأجنحة.

اما الصفات المرتبطة بالطيور، فقد تمثلت بوجود الريش والمنقار اللذان يدلان إن هذا الحيوان هو الحلقة المتوسطة لتطور الطيور عن الزواحف وتعرف تلك المتحجرات بأنها انتقالية او متوسطة.

الدليل الثاني : التصنيف والتطور

إن المنتبغ لفصائل الرتب المختلفة للمملكة الحيوانية والنباتية يُلاحظ تدرج واضح خلال الشعب المختلفة، من البسيط الى المعقد. ويكون هذا التسلسل واضح في الرقي من طائفة الى اخرى. مما حدا للعلماء لتصنيف كل مملكة بشكل منفصل. ولقد وصفت المملكة النباتية على إنها شجرة كثيرة التفرع أصلها، تمثل بالطحالب، وتُوجت بالنباتات الزهرية التي تقع على قمة هرم التطور النباتي. أما أصل الشجرة في المملكة الحيوانية فقد تمثل بالحيوانات الأولية، وتُوجت في اللبائن. إن المتأمل لشجرة الاحياء وما يتخللها من فروع وتدرج في التركيب فأنها توحى بفكرة التطور التي تقود بانتساب الاجناس والانواع في كل عائلة الى أصول مشتركة. ولا شك ان هذا الانتساب هو التبرير الوحيد لوضع حيوانين فقريين مختلفين كل الاختلاف في مجموعه واحدة.

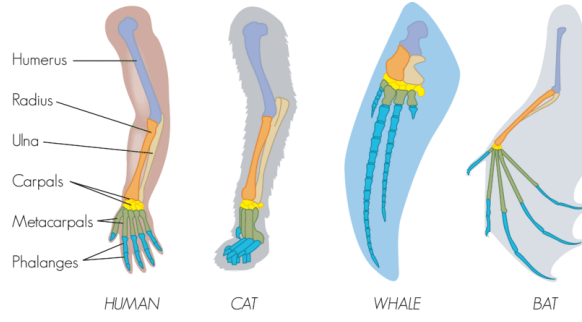
وفي أحيان كثيرة يترتب على تصنيف الحيوانات والنباتات اكتشاف فراغات في التسلسل من عائلة الى أخرى والتي قد توحى بفقدان صلات القرابة بينهما. إلا إن البحث المستمر ساعد العلماء على سد بعض هذه الفجوات بمجموعة من هذه الاحياء المنقرضة و المعاصرة تجمع في تركيبها بين صفات عائلة وصفات العائلة التي تليها الى شجرة النسب، التي يُطلق عليها أسم الحلقات المتوسطة بدلاً من الحلقات المفقودة.

وتعد الأسماك الرئوية من أشهر الأحياء الانتقالية الرابطة بين فئتين تصنيفيتين . إذ تتنفس هذه الأحياء بواسطة الخياشيم في الظروف الطبيعية عند وفرة المياه أما عند مجيء فصل الجفاف فأنها تغور في أعماق الطين وتعتمد في تنفسها على الكيس الهوائي المحور، وهو تركيب يشبه الرئات، إذ تتنفس أوكسجين الهواء الجوي. وهي بذلك تمثل احدى حلقات التطور من الأسماك الى البرمائيات الأولية التي مهدت الطريق لظهور البرمائيات الحديثة ومكنت الاحياء من غزو اليابسة .

الدليل الثالث : التشريح المقارن و التطور

إن تصنيف الحيوانات عادة ما يتم على أساس ما بينهما من تشابه واختلاف. فالحيوانات عديده الخلايا تقسم الى فقريات و لافقريات وذلك إستناداً لوجود /أو غياب العمود الفقري.

وعند استعراض تركيب الأطراف في الحيوانات الفقرية مثلاً يُلاحظ أنها تتشابه تشابهاً كثيراً، من خلال الهيكل العظمي الذي يدعمها . فالأطراف الأمامية تكون خماسية الأصابع وهو الأساس الذي اشتقت منه الأطراف في جميع الفقريات، إلا انه قد طرأ عليه بعض التحويرات. ففي الضفادع مثلاً ظهرت الطيات الجلدية بين الأصابع التي تعرف بالصفاق والتي تعين الضفدع على السباحة.



Bats

Birds



اما في الطيور فقد تحورت الأطراف الأمامية الى أجنحة. اما في الخيول والحمير فقد تحورت الأصابع الخمسة الى اصبع واحد. في حين قُصرت واندمجت عظام الأطراف مع بعضها لتكوين مجاذيف تساعد الحيتان و سباع للسباحة. ان التفسير العلمي الطبيعي، هو ان جميع الحيوانات الفقرية مشتقة من أصل واحد مشترك، وهذا التشابه والتماثل يدل على ان الفقريات قد نشأت من اصل واحد. اما الإختزال في بعض الأعضاء والتغير في البعض الآخر، فقد حدث أثناء التطور من هذا الأصل الواحد الى الأنواع والاجناس المعاصرة .

الدليل الرابع : التراكيب الأثرية والتطور

يترتب على الفقريات في السلف المشترك ان بعض الأعضاء التي كانت تقوم بوظائفها في الإسلاف القديمة أصبحت لا تحتاجها في الظروف الجديدة. فمن الطبيعي زوال هذه الأعضاء، وهذا ما يلاحظ في التراكيب او الأعضاء الأثرية التي توجد بشكل ضامر ومختزل، وعادة ما تكون عديمة الفائدة و من امثلتها.

أ- الزائدة الدودية في الإنسان الحالي

تعتبر ضئيلة جداً وقليلة الفائدة في الانسان الحديث . اما في الحيوانات العشبية كالأرانب مثلاً فأنها تكون كبيرة جداً في حين تكون الزائدة معدومة في الحيوانات التي تتغذى على اللحوم.

يعتقد العلماء ان الزائدة الدودية كانت كبيرة ونامية بشكل جيد في الإنسان القديم الذي كان يتغذى على النباتات وان كبر حجمها مرتبط بألية الهضم للجهاز

الهضمي المبني على إفراز السليلوز الأساسي في هضم السليلوز الداخل في تركيب النباتات.

ب- الأوراق الأثرية الحرفية.

تحمل النباتات **المتطفلة** الصحراوية أوراقاً يمكن القول على أنها آثاراً لأوراق خضراء كانت على النبات القديم، ثم فقدت وظيفتها بتغير وظيفة النبات واسلوب المعيشة بحكم أن البيئة الصحراوية القاسية توجب اتباع سياسة صارمة للحفاظ على الماء و تقليل التبخر.

ج- الأنسجة الوعائية المختزلة

تحتوي النباتات المائية على انسجة وعائية مختزلة خلافاً للنباتات البرية التي تحتوي أنسجة نامية بشكل جيد. إن اختزال تلك الأنسجة في النباتات المائية يعود لاعتمادها على الماء لتكون مناسبة مع التيار. اما البرية فيجب ان تكون أنسجتها الوعائية نامية بشكل جيد لتجعلها واقفة بشكل قائم.

د- سن العقل في الإنسان البالغ

هناك العديد من الأمثلة التي تدعو الي اعتبار أجسام الكائنات المعاصرة متحفاً للأعضاء والتراكيب الأثرية والتي لا نعرف بوجودها تقسيماً الا بافتراض ان اهميه الأحياء القديمة **(ناقص)**

ثم أدى التطور الى انعدام الحاجة إليها واصبحت بلا وظيفة وخير مثال على ذلك هو **سن العقل في الإنسان البالغ.**

ذ- حلمات الثدي عند الرجال

يحتوي ثدي الرجل نفس الأنسجة المنتجة للحليب الموجودة في ثدي المرأة لكن بحجم صغير جداً. وتكون أثناء الرجال البالغين مشابهة في تركيبها لأثناء البنات قبل دخولهن سن المراهقة. إن أنسجة الثدي لدى الرجال - خلافاً للحال لدى الإناث - لا تتطور وتنمو وذلك لعدم وجود كمية مناسبة من الهرمونات الأنثوية.

وبالرغم من أن ثدي الرجل من الممكن أن يفرز كمية بسيطة من الحليب، أنه غير مهياً للحليب في بعض الحالات النادرة لإنتاج حليب وافر بشكل متواصل كثدي المرأة. وبالتالي يعتقد علماء التطور أنه عضواً أثرياً ليس له وظيفة.

ر- أجنحة الطيور التي لا تطير

من الأعضاء الأثرية التي يدعيها التطوريون أجنحة الطيور التي لا تطير؛ حيث يدعون أن الطيور التي لا تطير قد انحدرت من طيور كانت تطير، لكن لأسباب غير معلومة تطورت هكذا وفقدت القدرة على الطيران، فانعكس مسار التطور الأعمى الذي لا يُعرف له مساراً محدداً؛ إذ قد يكون التطور انحدارياً، فالتطور أما أن يسير إلى الأمام أو إلى الخلف!

ز- الجفن الثالث (الغشاء الرمّاش)

هو جفن ثالث داخلي نصف شفاف، يتحرك أفقياً على مقلة العين . يوجد الغشاء الرمّاش كاملاً لدى بعض الأنواع لمختلف الحيوانات، كالزواحف والطيور وأسماك القرش وبعض الثدييات كالجمال والدببة القطبية .

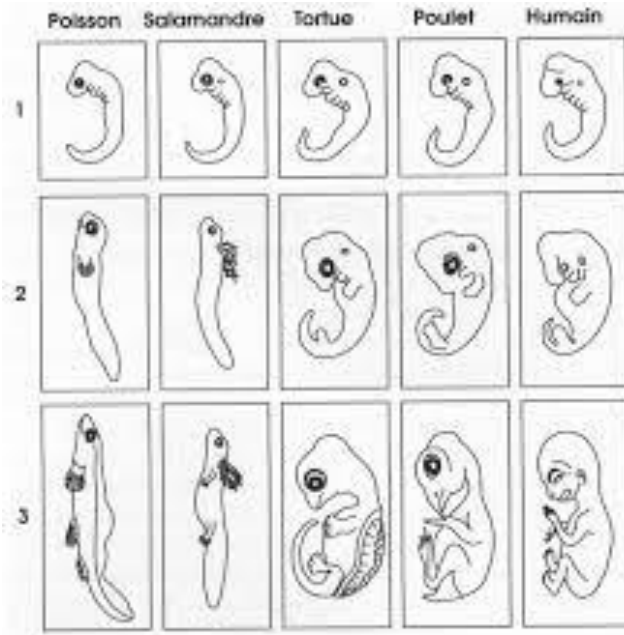
بينما يوجد في عين الإنسان طية صغيرة جدًا؛ تُعرف بالطية الهلالية (Plica Semilunaris)، يُعتقد أنها شبيهة بالجفن الثالث الكامل لدى كثير من الحيوانات. وقد أعتبرها علماء التطور أن ليس لها وظيفة في عين الإنسان. وبذلك فأنها تعدّ عضواً أثرياً كان يوجد بشكله الكامل ويؤدي وظيفته لدى أسلافه المفترضين.

الدليل الخامس: التشابه الفسيولوجي والتطور

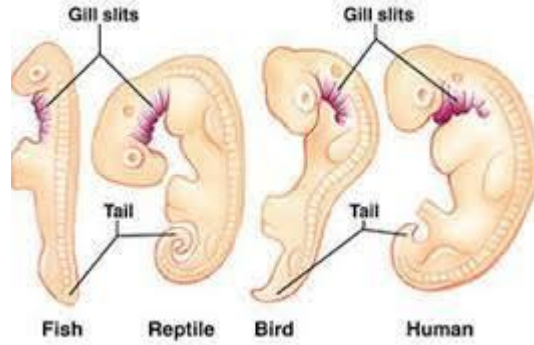
تشابه الكائنات الحية بصفة عامة ألا وهي قيامها بالوظائف الحيوية المختلفة تشابهاً يتماشى مع التشابه التشريحي الذي تم ذكره سابقاً. وبالإمكان إيجاز بعض

مضار هذا التشابه وهي:

- أ- تشترك جميع الكائنات في تكوينها مادة البروتوبلازم الذي يُنجز فيها الأيض بصورة مماثلة في خلايا جميع الأحياء .
 - ب- يتم انقسام الخلايا في نفس الخطوات لأغلب الكائنات الحية وتحت سيطرة النواة التي تحتوي على المادة الوراثية المتكونة من الأحماض النووية والتي عادة ما تكون متشابهة .
 - ج- تتخلص الحيوانات الفقرية من الفضلات النايتروجينية في صور متماثلة تختلف في تفاصيلها باختلاف بيئة الحيوان وكما مبين ادناه :-
 - ١- تتخلص الأسماك من الفضلات على شكل أمونيا عن طريق الغلاصم وذلك لسرعة ذوبانها في الماء المحيط بالسمة .
 - ٢- تتخلص الفقريات البرية كاللبنان والضفادع اليافعة من فضلاتها على شكل يوريا التي تذوب في الماء. واليوريا ناتج من اتحاد الامونيا مع CO₂ والتي تخرج مع البول .
 - ٣- تتخلص الطيور والزواحف من الفضلات النايتروجينية على شكل حامض اليوريك (Uric acid)، وهو مركب غير قابل للذوبان يخرج مع البراز بشكل بلورات وهو تكيف مهم لتجنب فقدان المزيد من الماء .
 - ٤- اما الاطوار اليرقية للضفادع والتي تعيش معيشه مائية فهي تطرح فضلاتها بشكل متشابه لإلية طرح الفضلات في الاسماك. اذ تطرحها بشكل امونيا عن طريق الخياشم الخارجية اولا ثم الداخلية اعتمادا على تطورها اليرقي والسبب مرتبط بطبيعة معيشتها المائية .
- ### الدليل السادس: الأجنة والتطور
- أدت الدراسات المتسلسلة لنمو الأجنة في الحيوانات والنباتات على إضافة دليل على حدوث التطور. إن جميع الحيوانات والنباتات تبدأ حياتها بخلية واحدة وهذه الخلية ناتجة من اتحاد خليتين مع بعض



Embryos and Evolutionary History



. بشكل مغاير تتشابه حيوانات الجزر البريطانية مع حيوانات اوروبا بالرغم من انفصالها بواسطة بحر المانش ويرجع التشابه عن انفصالهم قد يعتبر حديثاً (حديث العهد) بالنسبة لعمر الارض.

ملاحظات وتعريف متفرقة في التطور

التطور المتشعب 1. Divergent Evolution

وهو احد انماط التطور المسؤول عن خلق التباين الحالي في حياة الناشئ من الخلية الأولى اذ تظهر مجموعه جديده من الكائنات الحيه من مجموعه قديمة سبق ان كانت موجوده.

التطور الموازي 2. Parallel Evolution

يُعبّر عن الحالة التي يكون عندها نوعين بشكل مستقل عن الآخر، الشكل الذي يُحافظ على نفس المستوى من التماثل ويرمز له (□ ↑ □ ↑) .

التطور المتقارب 3. Convergent Evolution

يحدث هذا التطور عندما يكون نوع من الاسلاف مختلفة إلا انها متشاركة في بعض الميزات المتشابهة وذلك نتيجة اشتراكهم بنفس البيئة، مثال ذلك ان للأسماك والحيتان نفس الخصائص بسبب ان طرق تطورها قد نمت بنفس الوسط، مع انهما يختلفان بموقعها في السلم التصنيفي.

4. Micro..Evolution

تستعمل للإشارة إلى التغيرات الضئيلة نسبياً للأحياء اجيال قليلة في التجمع والذي لا ينتج عنها تطور الانواع الجديدة.

5. Adaptive Radiation

يعني ان التطور للأنواع المختلفة من منطقة محددة يبدأ من نقطة وينتشر إلى مناطق جغرافية أخرى.

6. Macro..Evolution

عبارة عن تطور يحدث في نمط واسع النطاق، اذ يحصل تجاوز لحدود الفرد.

7. Analogous Structure

يُعرف على انه تباين تشريحي، إلا أنه ينجز نفس الوظيفة وخير مثال على ذلك ان أجنحة الطيور تختلف من الناحية التشريحية عن أجنحة الحشرات، إلا انها تتماثل بالوظيفة التي تقومان بهما وهي الطيران.

٨. الصفات الرئيسية للإنسان:

هنالك العديد من الصفات المميزة للإنسان الحديث

Homo sapiens نوع

مثل حالة الانتصاب (المشي على الأطراف) وقصر الفكوك وحالة البصر للعينين، إلا ان صفة زيادة لمساحة القحف هي الصفة الأهم إذ أثرت على تطوره من خلال زيادة حجم الدماغ وذلك نتيجة لزيادة الحواس الموجودة في الكائن الحي. تطلبت هذه الزيادة ازدياد اعداد الانسجة العصبية والتلافيف الدماغية من أجل تفسير ما يحس به الانسان بسبب تأثيرات المحيط الخارجي.

يُبنى مبدأ التطور الكيمياوي على ان اصل الحياة 9.

قد نشأ من خلال تداخل كيمياوي تحت ظروف بيئية مناسبة، إذ تقوم هذه التفاعلات بتحويل المركبات العضوية البسيطة إلى جزيئات كبيرة. ان المركبات التي تطورت اولاً في الارض وكانت الاساس في نشوء الحياة قد تمثلت بالبروتينات والاحماض النووية.

١٠. يحدث التطور بتأثير الانحراف الوراثي وانسياب الجينات والتزاوج غير

العشوائي

Genetic drift, Gene flow, Non-random mating.

13TH EDITION

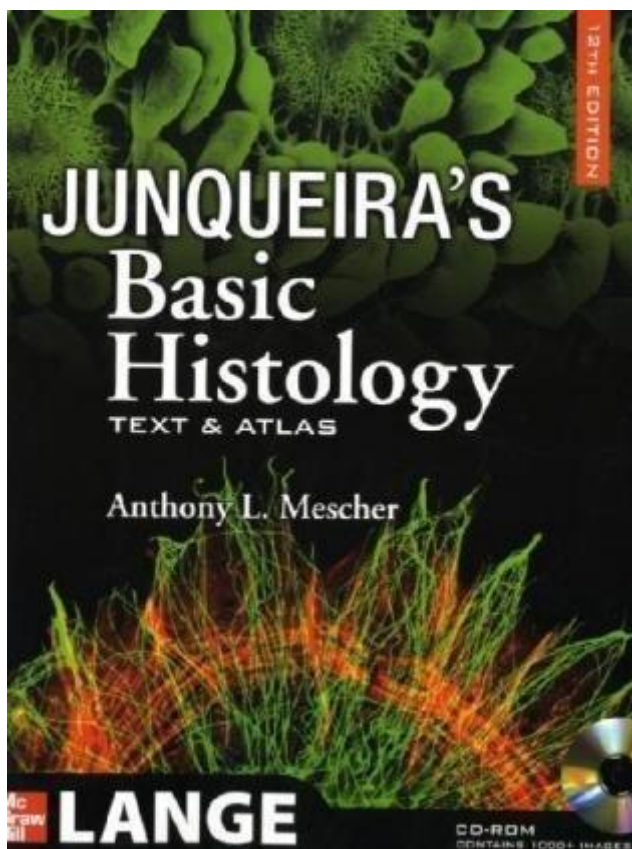
JUNQUEIRA'S Basic Histology

TEXT & ATLAS

Anthony L. Mescher

McGraw Hill **LANGE**

CD-ROM
CONTAINS 1000+ IMAGES



CONTENTS

- Chapter 1 [Histology & Its Methods of Study](#)
 - Chapter 2 [The Cytoplasm](#)
 - Chapter 3 [The Cell Nucleus](#)
 - Chapter 4 [Epithelial Tissue](#)
 - Chapter 5 [Connective Tissue](#)
 - Chapter 6 [Adipose Tissue](#)
 - Chapter 7 [Cartilage](#)
 - Chapter 8 [Bone](#)
 - Chapter 9 [Nerve Tissue & the Nervous System](#)
 - Chapter 10 [Muscle Tissue](#)
 - Chapter 11 [The Circulatory System](#)
 - Chapter 12 [Blood](#)
 - Chapter 13 [Hemopoiesis](#)
 - Chapter 14 [The Immune System & Lymphoid Organs](#)
 - Chapter 15 [Digestive Tract](#)
 - Chapter 16 [Organs Associated with the Digestive Tract](#)
 - Chapter 17 [The Respiratory System](#)
 - Chapter 18 [Skin](#)
 - Chapter 19 [The Urinary System](#)
 - Chapter 20 [Endocrine Glands](#)
 - Chapter 21 [The Male Reproductive System](#)
 - Chapter 22 [The Female Reproductive System](#)
 - Chapter 23 [The Eye and Ear: Special Sense Organs](#)
- [Appendix: Light Microscopy Stains](#)

Note: Large images and tables on this page may necessitate printing in landscape mode.

Copyright © The McGraw-Hill Companies. All rights reserved.

Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas, 12e > Chapter 4. Epithelial Tissue >

EPITHELIAL TISSUE: INTRODUCTION

Despite its complexity, the human body is composed of only **four basic types of tissue**: epithelial, connective, muscular, and nervous. These tissues, which are formed by cells and molecules of the **extracellular matrix**, exist not as isolated units but rather in association with one another and in variable proportions, forming different organs and systems of the body. The main characteristics of these basic types of tissue are shown in Table 4–1. Also of great functional importance are the free cells found in body fluids such as blood and lymph.

Table 4–1. Main characteristics of the four basic types of tissues.

Tissue	Cells	Extracellular Matrix	Main Functions
Nervous	Intertwining elongated processes	None	Transmission of nervous impulses
Epithelial	Aggregated polyhedral cells	Small amount	Lining of surface or body cavities, glandular secretion
Muscle	Elongated contractile cells	Moderate amount	Movement
Connective	Several types of fixed and wandering cells	Abundant amount	Support and protection

Connective tissue is characterized by the abundance of extracellular material produced by its cells; muscle tissue is composed of elongated cells specialized for contraction and movement; and nerve tissue is composed of cells with elongated processes extending from the cell body that have the specialized functions of receiving, generating, and transmitting nerve impulses. Organs can be divided into **parenchyma**, which is composed of the cells responsible for the main functions typical of the organ, and **stroma**, which is the supporting tissue. Except in the brain and spinal cord, the stroma is made of connective tissue.

Epithelial tissues are composed of closely aggregated polyhedral cells with very little extracellular substance. These cells have strong adhesion and form cellular sheets that cover the surface of the body and line its cavities.

The principal functions of epithelial (Gr. *epi*, upon, + *thelē*, nipple) tissues are:

- Covering, lining, and protecting surfaces (eg, skin)
- Absorption (eg, the intestines)
- Secretion (eg, the epithelial cells of glands)
- Contractility (eg, myoepithelial cells).

Specific cells of certain epithelia are also highly specialized sensory cells, such as those of taste buds or the olfactory epithelium. Because epithelial cells line all external and internal surfaces of the body, everything that enters or leaves the body must cross an epithelial sheet.

CHARACTERISTIC FEATURES OF EPITHELIAL CELLS

The forms and dimensions of epithelial cells range from high **columnar** to **cuboidal** to low **squamous** cells. Their common polyhedral form results from their close juxtaposition in cellular layers or masses and is similar to what would be observed if a large number of inflated balloons were compressed into a limited space. Epithelial cell nuclei have a distinctive shape, varying from spherical to elongated or elliptic. The nuclear form often corresponds roughly to the cell shape; thus, cuboidal cells have spherical nuclei, and squamous cells have flattened nuclei. The long axis of the nucleus is always parallel to the main axis of the cell.

Because the lipid-rich membranes between cells are frequently indistinguishable with the light microscope, the stained cell nucleus is a clue to the shape and number of cells. Nuclear form is also useful to determine whether the cells are arranged in layers, a primary morphologic criterion for classifying epithelia.

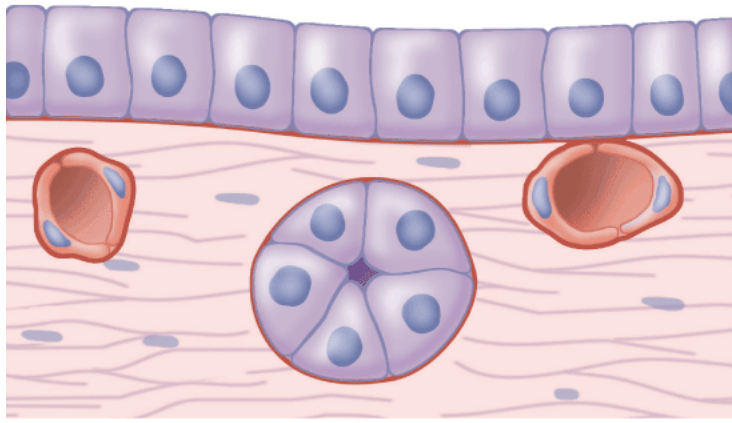
Most epithelia rest on connective tissue. In the case of epithelia lining the cavity of internal organs (especially in the digestive, respiratory, and urinary systems) this layer of connective tissue is often called the **lamina propria**. The lamina propria not only serves to support the epithelium but also provides nutrition and binds it to underlying structures. The area of contact between epithelium and lamina propria is increased by irregularities in the connective tissue surface in the form of small evaginations called **papillae** (L. diminutive of *papula*, nipple; singular **papilla**). Papillae occur most frequently in epithelial tissues subject to friction, such as the covering of the skin or tongue.

Epithelial cells generally show **polarity**, with organelles and membrane proteins distributed unevenly in different parts of the cell. The region of the cell that faces the connective tissue is called the **basal pole**, whereas the opposite pole, usually facing a space, is the **apical pole** and the intervening sides apposed in neighboring cells are the **lateral surfaces**. The membranes on the lateral surfaces of adjoining cells often have numerous infoldings to increase the area of that surface, increasing its functional capacity. The different regions of polarized cells may have different functions.

Basal Laminae & Basement Membranes

All epithelial cells in contact with subjacent connective tissue have at their basal surfaces a felt-like sheet of extracellular material called the **basal lamina** (Figure 4–1). This structure is visible only with the electron microscope, where it appears as an electron-dense layer, 20–100 nm thick, consisting of a network of fine fibrils, the **dense layer** or **lamina densa** (Figure 4–2). In addition, basal laminae may have electron-lucent layers on one or both sides of the dense layer, called **clear layers** or **laminae lucida**. Between epithelia with no intervening connective tissue, such as in lung alveoli and renal glomeruli, the basal lamina is often thicker due to the fusion of the basal laminae from each epithelial layer.

Figure 4–1.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Basal laminae.

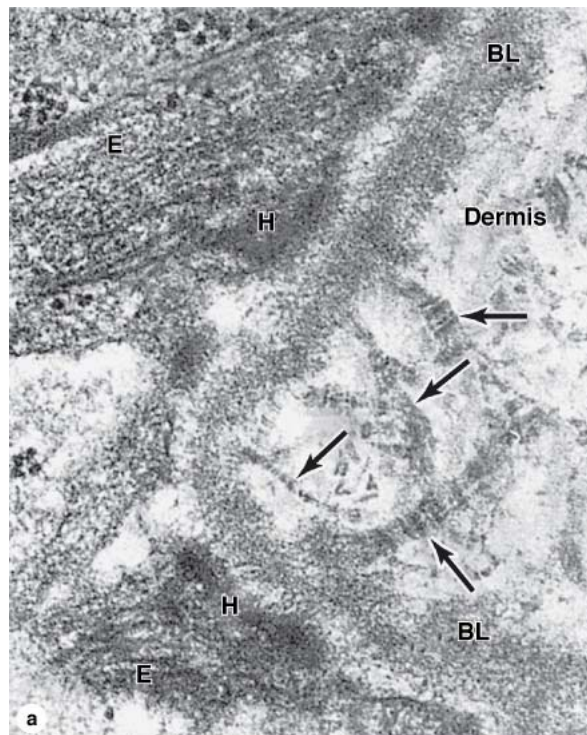
An extracellular **basal lamina** always lies at the interface of epithelial cells and connective tissue. The basal laminae to two neighboring epithelia can fuse or appear to fuse in places where there is no intervening connective tissue. Nutrients for epithelial cells must diffuse across the basal lamina. Nerve fibers normally penetrate this structure, but small blood capillaries (being epithelial themselves) never enter an epithelium across a basal lamina. When components of a basal lamina are resolved with the light microscope, the structure is often called a **basement membrane**.

The macromolecular components of basal laminae form precise three-dimensional arrays and are described individually in the next chapter. The best known of these include:

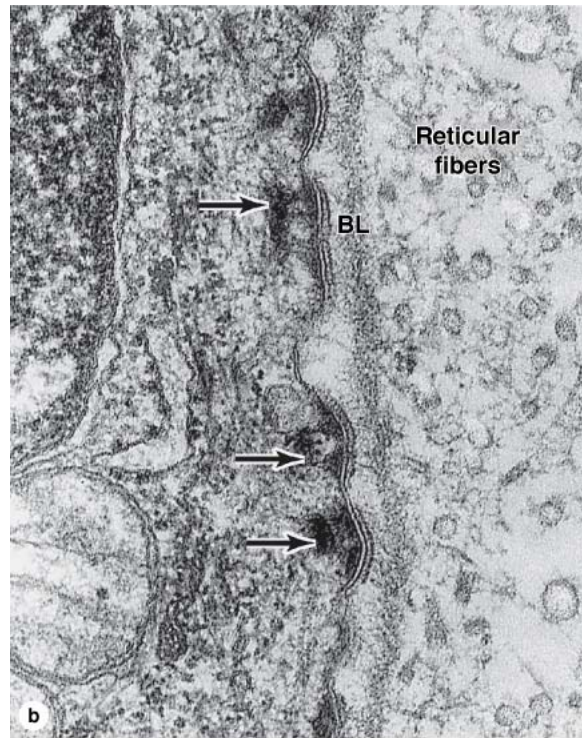
- **Laminin**: These are large glycoprotein molecules that self-assemble to form a lace-like sheet immediately below the cells' basal poles where they are held in place by the transmembrane integrins.
- **Type IV collagen**: Monomers of type IV collagen contain three polypeptide chains and self-assemble further to form a felt-like sheet associated with the laminin layer.
- **Entactin (nidogen)**, a glycoprotein, and **perlecan**, a proteoglycan with heparan sulfate side chains: these glycosylated proteins and others serve to link together the laminin and type IV collagen sheets.

All these components are secreted at the basal poles of the epithelial cells. Their precise proportions in basal laminae vary between and within tissues. Basal laminae are attached to **reticular fibers** made of **type III collagen** in the underlying connective tissues by **anchoring fibrils** of **type VII collagen**. These proteins are produced by cells of the connective tissue and form a layer below the basal lamina called the **reticular lamina** that is also visible by TEM (Figure 4–2).

Figure 4–2.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*. <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Ultrastructural components of the basal lamina.

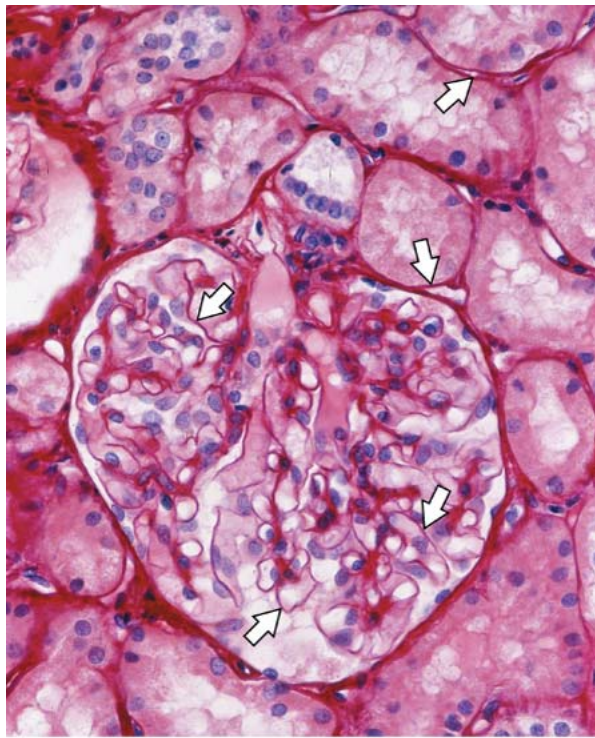
Details of the basal lamina are revealed by two TEM of sectioned human skin. **(a)**: The basal lamina (BL) is shown to have a dense layer with a clear layer on each side. The underlying dermis contains **anchoring fibrils** (arrows) of collagen which help anchor the epithelium to the underlying connective tissue. Hemidesmosomes (H) occur at the epithelial-connective tissue junction. X54,000. **(b)**: The basal lamina, hemidesmosomes (arrows), and underlying **reticular fibers** of the reticular lamina typically comprise a basement membrane sometimes visible with the light microscope. X80,000.

Basal laminae are found not only in epithelial tissues but also where other cell types come into contact with connective tissue. Muscle cells, adipocytes, and Schwann cells secrete laminin, type IV collagen, and other components that provide a barrier limiting or regulating exchanges of macromolecules between these cells and connective tissue.

Basal laminae have many functions. In addition to simple structural and filtering functions, they are also able to influence cell polarity; regulate cell proliferation and differentiation by binding and concentrating growth factors; influence cell metabolism and survival; organize the proteins in the adjacent plasma membrane (affecting signal transduction); and serve as pathways for cell migration. The basal lamina seems to contain the information necessary for many cell-to-cell interactions, such as the reinnervation of denervated muscle cells. The presence of the basal lamina around a muscle cell is necessary for the establishment of new neuromuscular junctions.

The term **basement membrane** is used to specify a periodic acid-Schiff (PAS)-positive layer, visible with the light microscope beneath epithelia (Figure 4-3). The basement membrane is formed by the combination of a basal lamina and a reticular lamina and is therefore thicker. The terms basement membrane and basal lamina are often used indiscriminately, causing confusion. In this book, "basal lamina" is used to denote the lamina densa and its adjacent layers and structures seen with the TEM. "Basement membrane" is used to denote the structures seen with the light microscope.

Figure 4-3.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Basement membranes.

This section of kidney shows the typical basement membranes (arrows) of several tubules and of structures within the single glomerulus included here. In renal glomeruli the basement membrane, besides having a supporting function, has an important role as a filter. X100. Picosirius-hematoxylin (PSH).

Intercellular Adhesion & Other Junctions

Several membrane-associated structures contribute to adhesion and communication between cells. They are present in most tissues but are particularly numerous and prominent in epithelia and will be described here. Epithelial cells are extremely cohesive and relatively strong mechanical forces are necessary to separate them. Intercellular adhesion is especially marked in epithelial tissues that are subjected to traction and pressure (eg, in the skin).

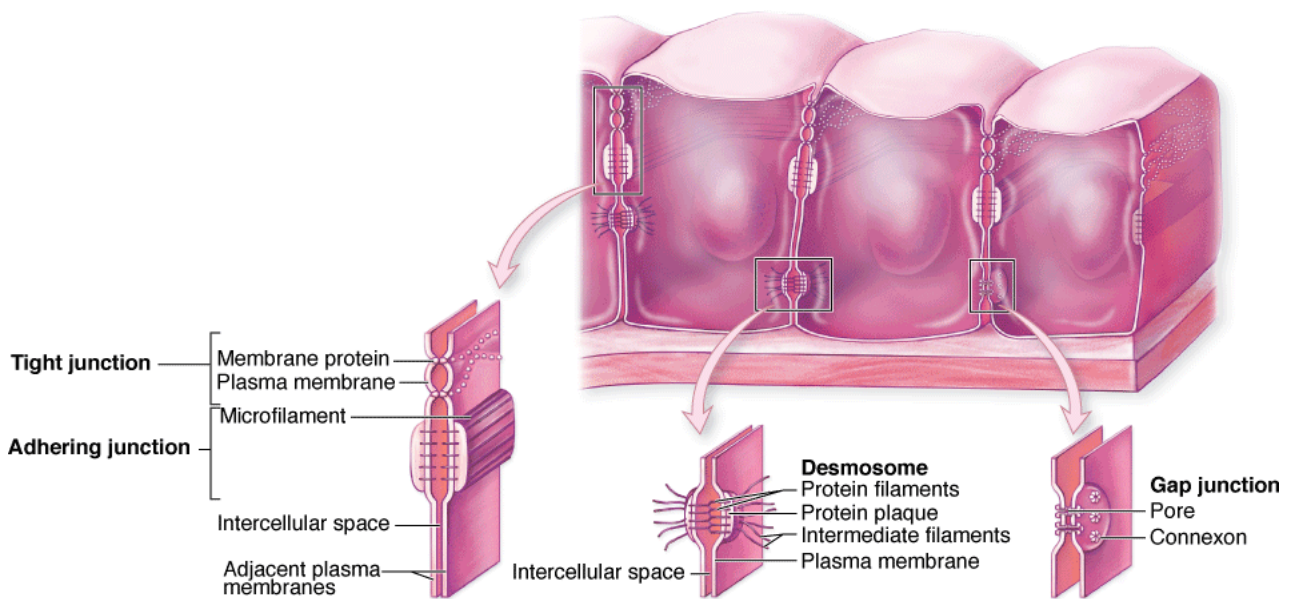
The lateral membranes of epithelial cells exhibit several specialized **intercellular junctions**. Various junctions serve to function as:

- Seals to prevent the flow of materials between the cells (**occluding junctions**)
- Sites of adhesion (**adhesive or anchoring junctions**)
- Channels for communication between adjacent cells (**gap junctions**).

In several epithelia such junctions are present in a definite order from the apical to the basal ends of the cells.

Tight junctions, or **zonulae occludens** (singular, **zonula occludens**), are the most apical of the junctions. The Latin terminology gives important information about the geometry of the junction. "Zonula" indicates that the junctions form bands completely encircling each cell, and "occludens" refers to the membrane fusions that close off the space between the cells. In properly stained thin sections viewed in the TEM, the adjacent membranes appear tightly apposed or fused (Figures 4–4 and 4–5). The seal between the membranes is due primarily to direct interactions between the transmembrane protein **claudin** on each cell. After cryofracture (Figure 4–6), the replicas show these fusion sites as a band of branching strands around each cell. The number of these sealing strands or fusion sites is inversely correlated with the leakiness of the epithelium. Epithelia with one or very few fusion sites (eg, proximal renal tubule) are more permeable to water and solutes than are epithelia with numerous fusion sites (eg, the lining of the urinary bladder). Thus, the principal function of the tight junction is to form a seal that prevents the flow of materials between epithelial cells (the paracellular pathway) in either direction. In this way, zonulae occludens in sheets of epithelial cells help form two functional compartments: an apical compartment that is composed of an organ cavity (such as the lumen of a secretory unit or the gut) and a basal compartment that begins at the junctions and encompasses the underlying tissue.

Figure 4–4.



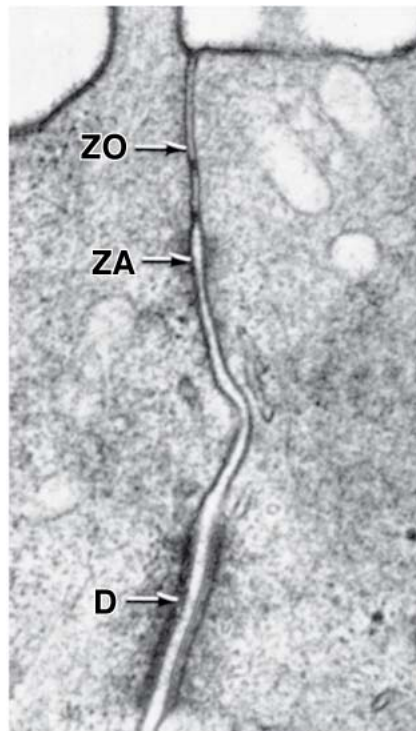
Types of intercellular junctions

Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Junctional complexes of epithelial cells.

Three cuboidal epithelial cells, emptied of their contents, show the four major types of junctional complexes between cells. The **tight junction** (zonula occludens) and **adherent junction** (zonula adherens) are typically close together and each forms a continuous ribbon around the cell's apical end. Multiple ridges of the tight, occluding junctions prevent passive flow of material between the cells, but are not very strong; the adhering junctions immediately below them serve to stabilize and strengthen these circular bands around the cells and help hold the layer of cells together. Both desmosomes and gap junctions make spotlike plaques between two cells. Bound to intermediate filaments inside the cells, **desmosomes** form very strong attachment points which supplement the role of the zonulae adherens and play a major role to maintain the integrity of an epithelium. **Gap junctions**, each a patch of many **connexons** in the adjacent cell membranes, have little strength but serve as intercellular channels for flow of molecules. All of these junctional types are also found in certain other cell types besides epithelia.

Figure 4–5.

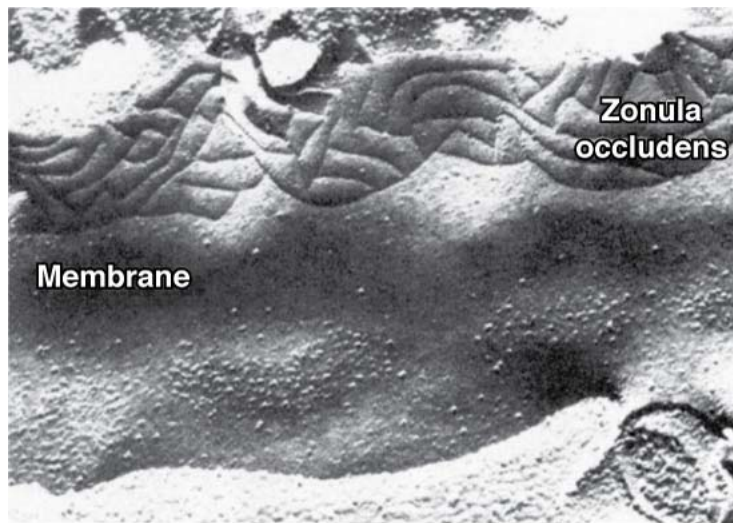


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Junctional complex as seen in the TEM.

A section showing the apical regions of two epithelial cells reveals a junctional complex with its zonula occludens (ZO), zonula adherens (ZA), and a desmosome (D). The major components of zonula occludens are each cell's transmembrane proteins called claudins which make tight contact across the intercellular space, creating a seal. The cytoplasmic electron-dense material at the zonula adherens includes cadherins, catenin, actin-binding proteins and actin filaments, but that of the desmosomes consists of a plaque of "anchoring proteins," such as plakophilin, plakoglobin, and desmoplakin, which are bound by intermediate filaments primarily those composed of keratins. X80,000.

Figure 4–6.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

View of zonula occludens after cryofracture.

In this electron micrograph of an epithelial cell after cryofracture, the fracture crosses through the cytoplasm in the lower portion, then shows a region of relatively smooth cell membrane, above which are the ridges and grooves of the zonula occludens. The membranes of adjoining cells basically fuse in the zonula occludens caused by tight interaction between claudins. X100,000.

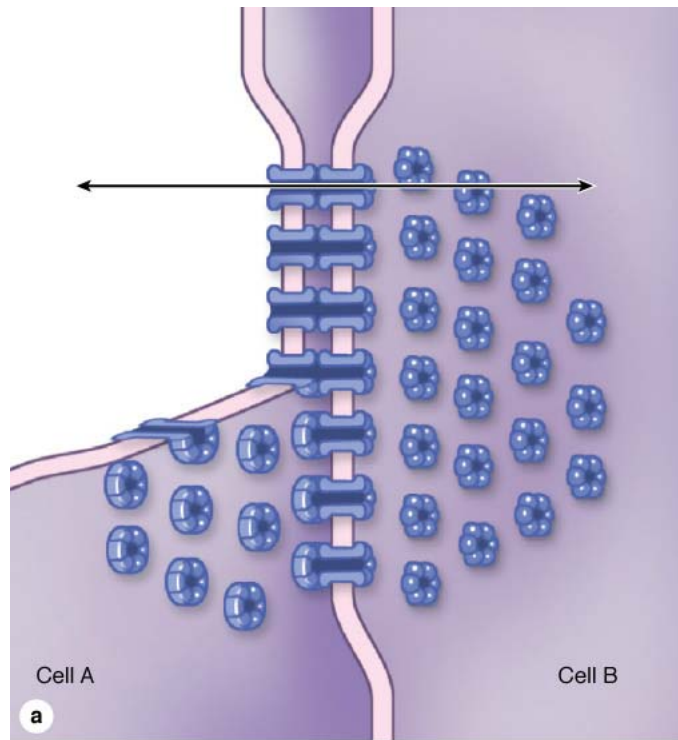
Besides forming a seal between compartments on either side of an epithelium, the zonulae occludens of epithelial cells help prevent the integral membrane proteins of the apical surface from being transferred to the basolateral surface and vice versa. This allows the two sides of the epithelium to maintain different receptors and function differently.

The next type of junction is the **adherent junction** or **zonula adherens** (Figures 4–4 and 4–5). This junction also encircles the cell, usually immediately below the zonula occludens, and provides for the firm adhesion of one cell to its neighbors. Adhesion is mediated by transmembrane glycoproteins of each cell, the **cadherins**, which lose their adhesive properties in the absence of Ca^{2+} . Inside the cell, cadherins bind the protein catenin which is linked by means of actin-binding proteins to actin filaments, all of which produce electron-dense plaques of material on the cytoplasmic surfaces of adherent junctions. The numerous actin filaments form part of the **terminal web**, a cytoskeletal feature at the apical pole in many epithelial cells with a role in cytoplasmic motility and other functions.

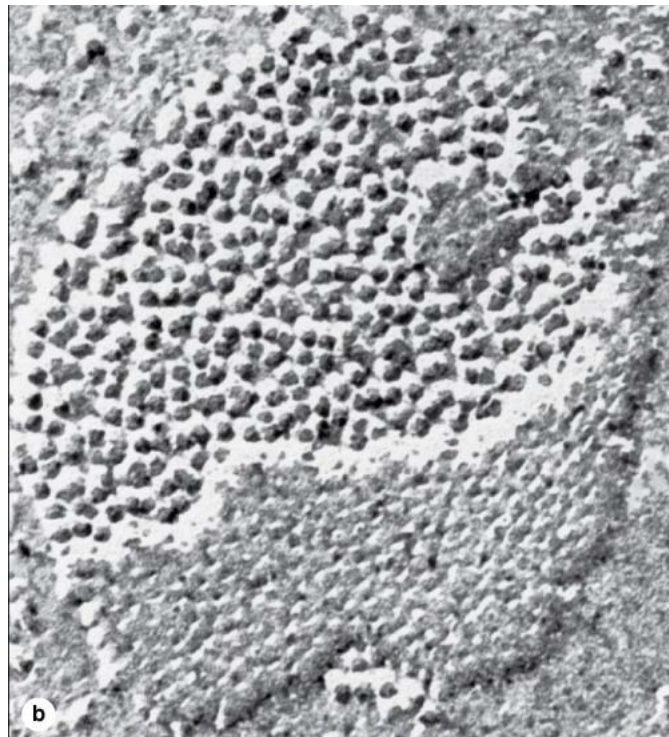
Another junction specialized for adhesion is the **desmosome** or **macula adherens** (L. *macula*, spot). As the names imply, this junctional type resembles a single "spot-weld" and does not form a belt around the cell. The desmosome is a disk-shaped structure at the surface of one cell that is matched with an identical structure at the surface of an adjacent cell (Figures 4–4 and 4–5). Between cell membranes at a desmosome are variable amounts of electron-dense material, principally larger members of the cadherin family. On the cytoplasmic side of each cell membrane these cadherin-type proteins inset into a dense **attachment plaque** of anchoring proteins (**plakophilin**, **plakoglobin**, and **desmoplakin**) which bind intermediate filaments rather than actin filaments. Cable-like filaments of **cytokeratin** are most common in desmosomes of epithelia. Because intermediate filaments of the cytoskeleton are very strong, desmosomes provide firm adhesion among the cells. In nonepithelial cells, the intermediate filaments attached to desmosomes are composed of other proteins, such as desmin or vimentin.

Gap or **communicating junctions** can occur almost anywhere along the lateral membranes of epithelial cells, but are also found between cells in nearly all mammalian tissues. With conventional TEM, gap junctions appear as regions where adjacent cell membranes are closely apposed (Figure 4–7a). After cryofracture, these junctions are seen as aggregated transmembrane protein complexes that form circular patches in the plasma membrane (Figure 4–7b).

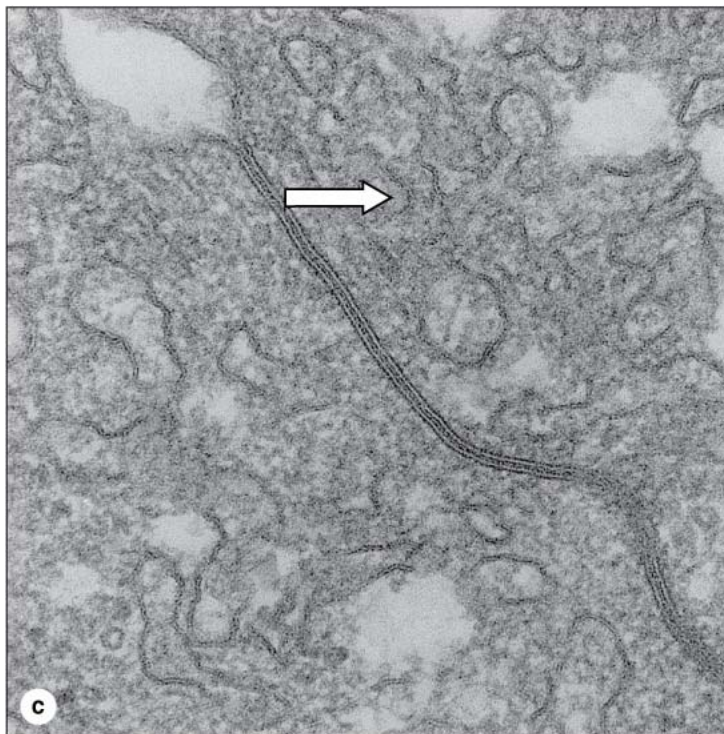
Figure 4–7.



Sources: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Sources: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*. <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Gap junctions.

(a): The diagram of a gap junction (oblique view) depicts the structural elements that allow the exchange of nutrients and signal molecules between cells without loss of material into the intercellular space. The communicating channels are formed by pairs of abutting particles (**connexons**), which are in turn composed of six dumbbell-shaped protein subunits (connexins) that span the lipid bilayer of each cell membrane. The channel passing through the cylindrical bridges (arrow) is about 1.5 nm in diameter, limiting the size of the molecules that can pass through it. (b): A cryofracture preparation shows a gap junction between epithelial cells. The junction appears as a plaque-like agglomeration of intramembrane protein particles, the connexons. X45,000. (c): A section through a gap junction between two cells shows that the two cell membranes are very closely apposed, separated only by a 2-nm-wide electron-dense space. Individual connexons are not resolved in cell sections. X193,000. (Figure 4–7c, with permission, from Mary C. Williams, Pulmonary Center, Boston University School of Medicine.)

The proteins of gap junctions, called **connexins**, form hexameric complexes called **connexons**, each of which has a central hydrophilic pore about 1.5 nm in diameter. When two cells attach, connexins in the adjacent cell membranes move laterally and align to form connexons between the two cells (Figure 4–4), with each gap junction having dozens or hundreds of aligned pairs of connexons. Gap junctions permit the rapid exchange between cells of molecules with small (<1.5 nm) diameters. Some molecules mediating signal transduction, such as cyclic AMP, cyclic GMP, and ions, move readily through gap junctions, allowing cells in many tissues to act in a coordinated manner rather than as independent units. A good example is heart muscle, where abundant gap junctions are greatly responsible for the heart's coordinated beat.

In the contact area between epithelial cells and the subjacent basal lamina, **hemidesmosomes** (Gr. *hemi*, half, + *desmos* + *soma*) can often be observed ultrastructurally. These adhesive structures resemble a half-desmosome and bind the cell to the basal lamina (Figure 4–2). However, while in desmosomes the attachment plaques contain cadherins, in hemidesmosomes the plaques contain abundant **integrins**, transmembrane proteins that are receptor sites for the extracellular macromolecules laminin and collagen type IV.

Blood vessels do not normally penetrate an epithelium and nutrients for the epithelial cells must pass out of the capillaries in the underlying lamina propria. These nutrients then diffuse across the basal lamina and are taken up through the basolateral surfaces of the epithelial cell, usually by an energy-dependent process. Receptors for chemical messengers (eg, hormones, neurotransmitters) that influence the activity of epithelial cells are localized in the basolateral membranes. In absorptive epithelial cells, the apical cell membrane contains, as integral membrane proteins, enzymes such as disaccharidases and peptidases, which complete the digestion of molecules to be absorbed.

SPECIALIZATIONS OF THE APICAL CELL SURFACE

The free or apical surface of many types of epithelial cells has specialized structures to increase the cell surface area or to move substances or particles bound to the epithelium.

Microvilli

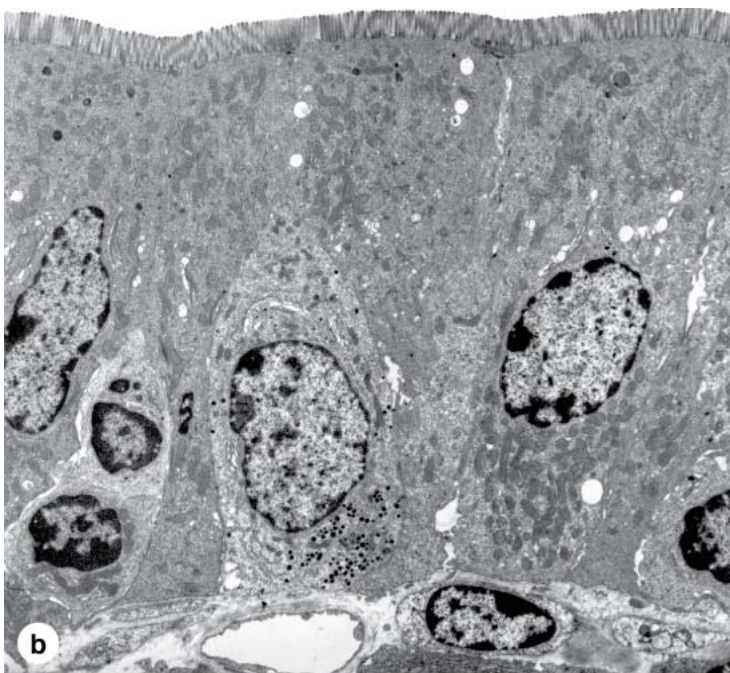
When viewed in the electron microscope, many cells are seen to have cytoplasmic projections. These projections may be short or long fingerlike extensions or folds that pursue a sinuous course, and they range in number from a few to many. Most are temporary, reflecting cytoplasmic movements and the activity of actin filaments.

In absorptive cells, such as the lining epithelium of the small intestine, the apical surface presents orderly arrays of many hundreds of more permanent **microvilli** (L. *villus*, tuft) (Figure 4–8). The average microvillus is only about 1 μm high and 0.08 μm wide, but with hundreds or thousands present on the end of each absorptive cell, the total surface area can be increased as much as 20- or 30-fold. In these absorptive cells the glycocalyx is thicker than that of most cells and includes enzymes for the final stages of certain macromolecules' breakdown. The complex of microvilli and glycocalyx is easily seen in the light microscope and is called the **brush or striated border**.

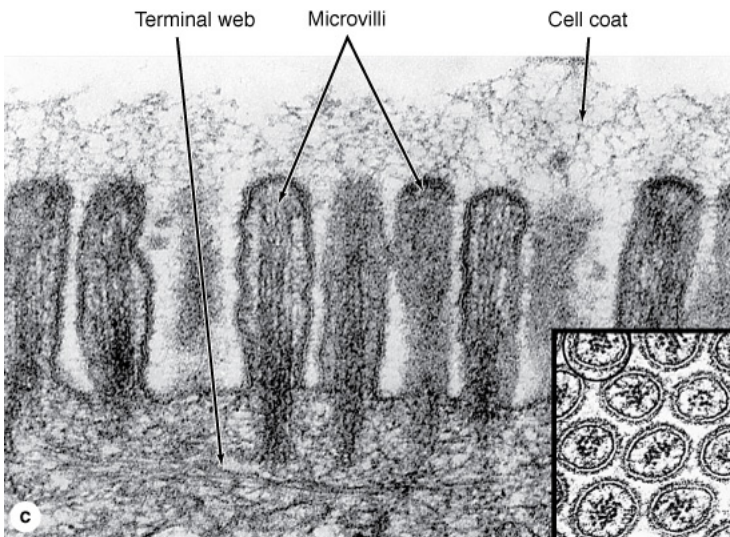
Figure 4–8.



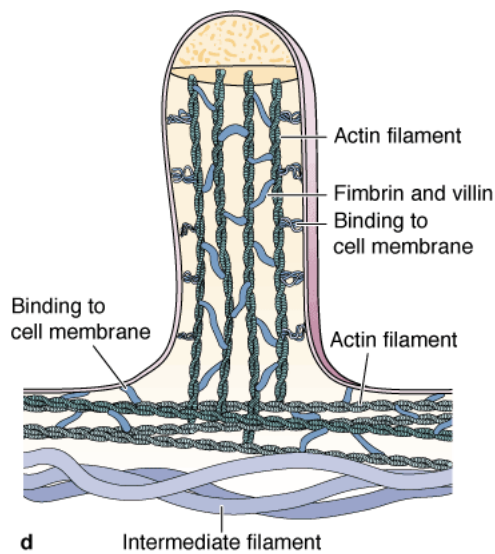
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Microvilli.

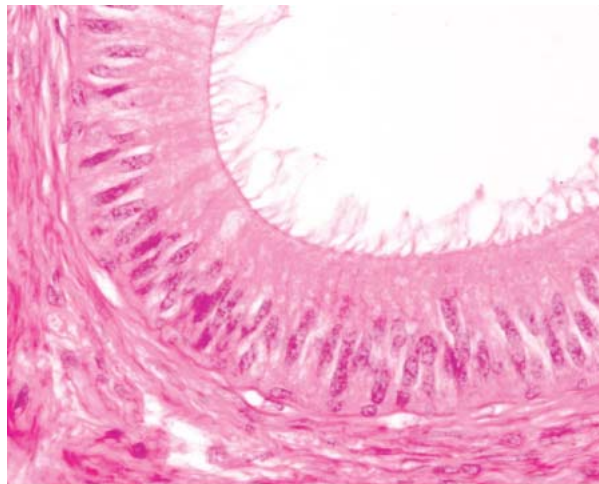
Absorptive cells lining the small intestine demonstrate microvilli particularly well. (a): With the light microscope microvilli at the apical side of the epithelium are usually faintly visible and make up the so-called **striated border** of the cells. (b): Individual microvilli are better seen by the TEM with a slightly higher magnification. Scattered endocrine cells (E) in this epithelium do not extend to the apical surface and lack microvilli. (c): At higher magnification the bundles of vertical microfilaments constituting the core of each microvillus are clearly seen. Below the microvilli is the terminal web, a horizontal network of actin microfilaments and associated proteins including myosins. On the plasmalemma of the microvilli is a thick extracellular cell coat (glycocalyx) containing glycoproteins and enzymes that allow the final stages of digestion to be linked to the uptake of digestion products across the cell membrane. The inset of cross-sectioned microvilli shows the internal disposition of the bundled actin filaments, the surrounding cell membrane, and the glycocalyx. X45,000. (d): The diagram indicates important proteins in a microvillus: the **actin filaments** cross-linked to one another by proteins such as **fimbrin** and **villin** and bound to the plasma membrane by proteins such as myosin I. The actin filaments are oriented in the same direction, with their plus ends associated with amorphous material at the tip of the microvillus.

Within each microvillus are bundles of actin filaments (Figure 4–8c,d) cross-linked to each other and to the surrounding plasma membrane by other proteins. These filaments insert into the actin filaments of the terminal web. The array of microfilaments stabilizes the microvillus and allows it to contract slightly and intermittently which helps maintain optimal conditions for absorption across its plasmalemma.

Stereocilia

Stereocilia are long apical processes of cells in other absorptive epithelia such as that lining the epididymis (Figure 4–9) and ductus deferens. These structures are much longer and less motile than microvilli, are branched, and should not be confused with true cilia. Like microvilli, stereocilia also increase the cells' surface area, facilitating the movement of molecules into and out of the cell.

Figure 4–9.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Stereocilia.

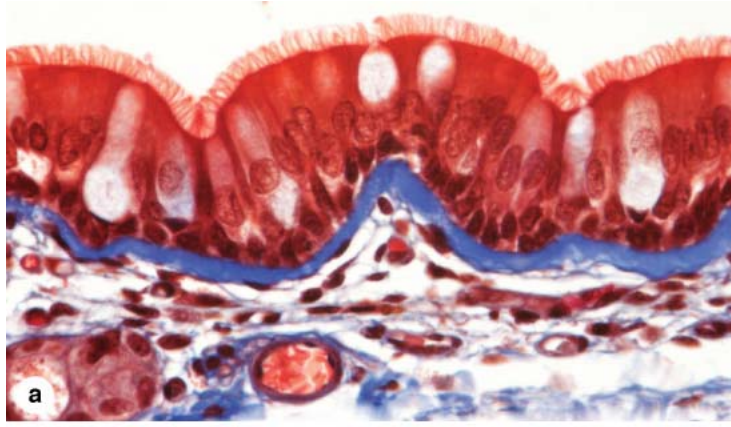
At the apical ends of the tall epithelial cells lining organs such as the epididymis (shown here) are numerous very long stereocilia, which increase the surface area available for cellular absorption. Each stereocilium is typically much longer than a microvillus and may show a branching structure. Stereocilia have cytoplasmic actin filament bundles and external cell coats similar to those of microvilli. X400. H&E.

Cilia

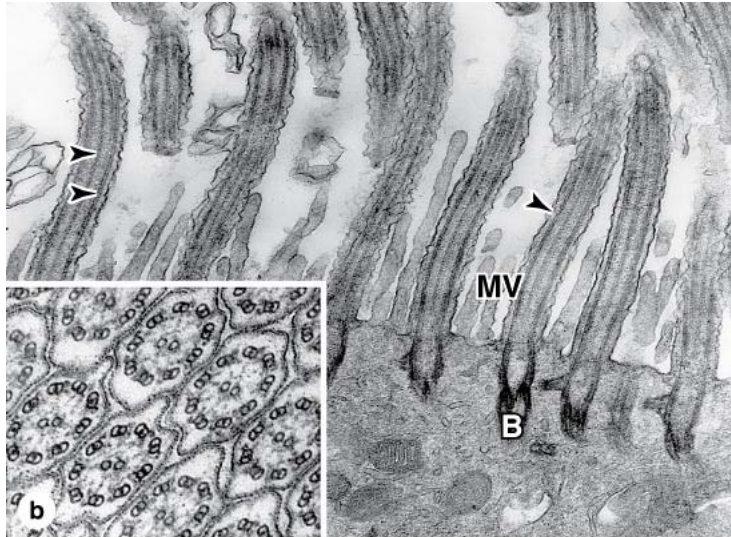
Cilia are elongated, highly motile structures on the surface of some epithelial cells, 5–10 μm long and 0.2 μm in diameter, which is much longer and two times wider than a typical microvillus. As discussed in Chapter 2, each cilium is bounded by the cell membrane and contains an axoneme with a central pair of microtubules surrounded by nine peripheral microtubular pairs (Figure 4–10). Cilia are inserted into **basal bodies**, which are electron-dense structures at the apical pole just below the cell membrane (Figure 4–10). Basal bodies have a structure similar to that of centrioles. In living organisms, cilia exhibit rapid back-and-forth movements coordinated to propel a current of fluid and suspended matter in one direction over the ciliated epithelium. The motion occurs due to activity of **ciliary dynein** present on the peripheral microtubular doublets of the axoneme, with adenosine triphosphate (ATP) as the energy source. A ciliated cell of the trachea lining is estimated to have about 250 cilia. Flagella, present in the human body only in spermatozoa (Chapter 21), are similar in structure to cilia but are much longer and are normally

limited to one flagellum per cell.

Figure 4–10.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Cilia.

TEMs of the apical portions of cells lining the respiratory tract show very well-developed cilia. **(a):** By light microscopy cilia usually appear as long, somewhat tangled projections. X400. Mallory trichrome. **(b):** TEM of cilia sectioned longitudinally reveals the axoneme of each, with arrowheads on the left side showing the central and peripheral microtubules. The arrowhead at right indicates the plasma membrane surrounding a cilium. At the base of each cilium is a basal body (B) from which it grows. Much shorter microvilli (MV) can be seen between the cilia. X59,000. **Inset:** Cilia seen in cross section clearly show the 9 + 2 array of the axoneme microtubules in each cilium. X80,000.

TYPES OF EPITHELIA

Epithelia can be divided into two main groups according to their structure and function: **covering (or lining) epithelia** and **glandular epithelia**. This is an arbitrary division, for there are lining epithelia in which all the cells secrete (eg, the lining of the stomach) or in which glandular cells are distributed among the lining cells (eg, mucous cells in the small intestine or trachea).

Covering or Lining Epithelia

Covering epithelia are tissues in which the cells are organized in layers that cover the external surface or line the cavities of the body. They are classified according to the number of cell layers and the morphologic features of the cells in the surface layer (Table 4–2). **Simple epithelia** contain only one layer of cells and **stratified epithelia** contain more than one layer.

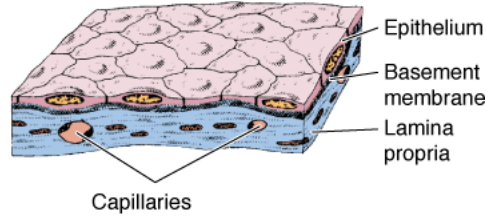
Table 4–2. Common types of covering epithelia in the human body.

Number of Cell Layers	Cell Form	Examples of Distribution	Main Function
Simple (one layer)	Squamous	Lining of vessels (endothelium). Serous lining of cavities; pericardium, pleura, peritoneum (mesothelium).	Facilitates the movement of the viscera (mesothelium), active transport by pinocytosis (mesothelium and endothelium), secretion of biologically active molecules (mesothelium).
	Cuboidal	Covering the ovary, thyroid.	Covering, secretion.
	Columnar	Lining of intestine, gallbladder.	Protection, lubrication, absorption, secretion.
Pseudostratified (layers of cells with nuclei at different levels; not all cells reach surface but all adhere to basal lamina)		Lining of trachea, bronchi, nasal cavity.	Protection, secretion; cilia-mediated transport of particles trapped in mucus out of the air passages.
Stratified (two or more layers)	Squamous keratinized (dry)	Epidermis.	Protection; prevents water loss.

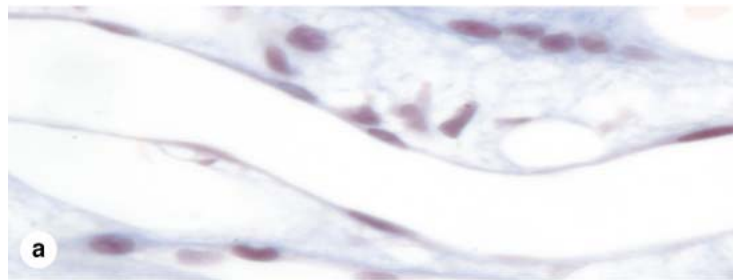
Number of Cell Layers	Cell Form	Examples of Distribution	Main Function
	Squamous nonkeratinized (moist)	Mouth, esophagus, larynx, vagina, anal canal.	Protection, secretion; prevents water loss.
	Cuboidal	Sweat glands, developing ovarian follicles.	Protection, secretion.
	Transitional	Bladder, ureters, renal calyces.	Protection, distensibility.
	Columnar	Conjunctiva.	Protection.

Based on cell shape, simple epithelia are classified as **squamous** (thin cells), **cuboidal** (cells roughly as thick as they are wide) or **columnar** (cells taller than they are wide) Examples of simple epithelia are shown in Figures 4–11, 4–12, and 4–13.

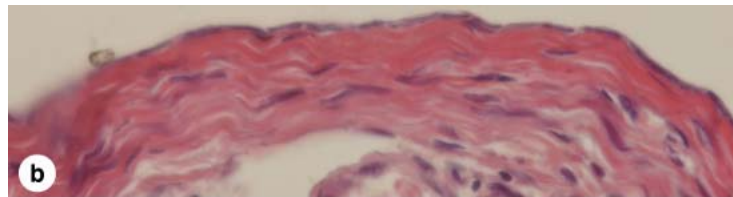
Figure 4–11



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

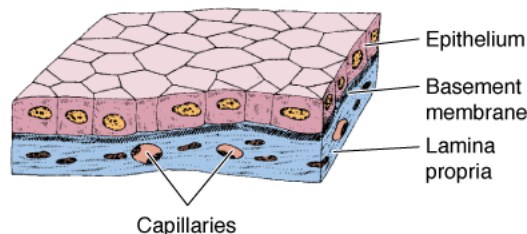


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

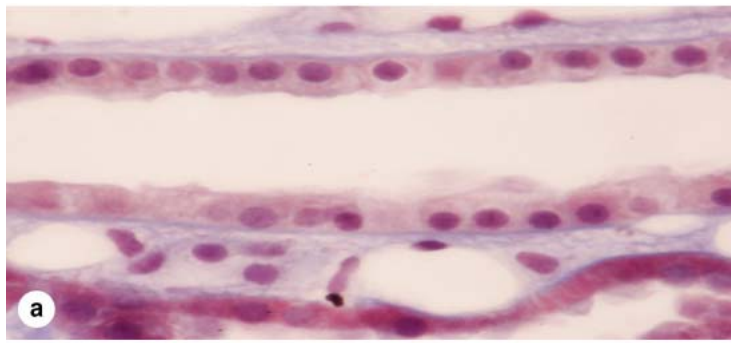
Simple squamous epithelia.

In simple squamous epithelium, cells of the single layer are flat and usually very thin, with only the thicker cell nucleus appearing as a bulge to denote the cell. Simple epithelia are typically specialized as lining of vessels and cavities and regulate substances which can enter underlying tissue from the vessel or cavity. The thin cells often exhibit transcytosis. Examples shown here are those lining the renal loops of Henle (a), the mesothelium lining a mesentery (b), and the endothelium lining the inner surface of the cornea (c). Endothelium and mesothelium are nearly always simple squamous. All X400. H&E.

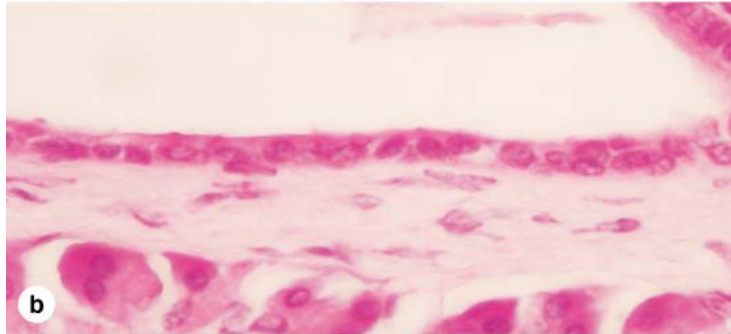
Figure 4–12.



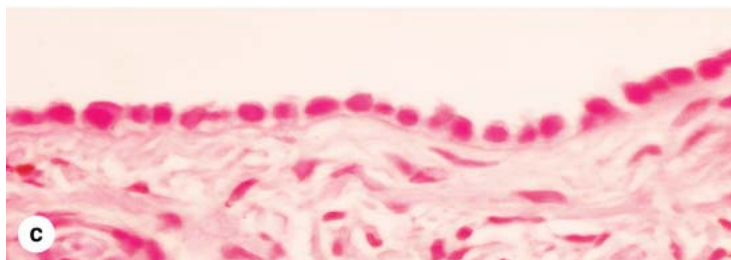
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

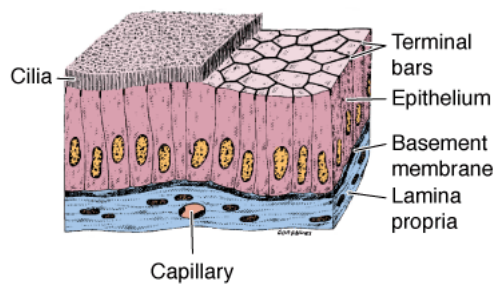


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

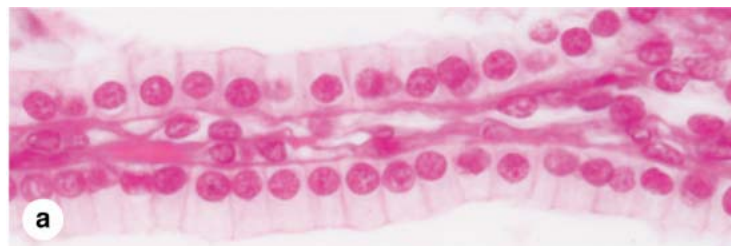
Simple cuboidal epithelium.

Cells of simple cuboidal epithelia vary in their height but are roughly as tall as they are wide. Their greater thickness often includes cytoplasm rich in mitochondria providing energy for a high level of active transport of substances across the epithelium. Examples of simple cuboidal epithelia shown here are from a renal collecting tubule (a), a pancreatic duct (b), and the mesothelium covering an ovary (c). All X400. H&E.

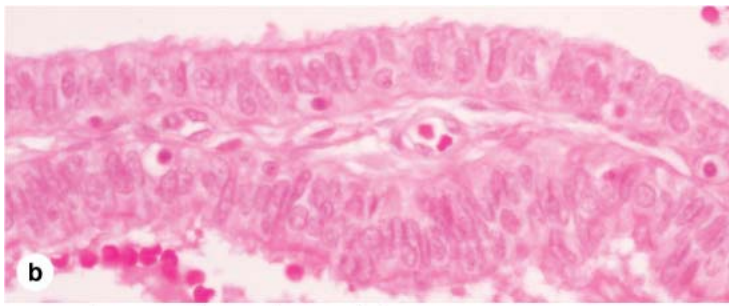
Figure 4-13.



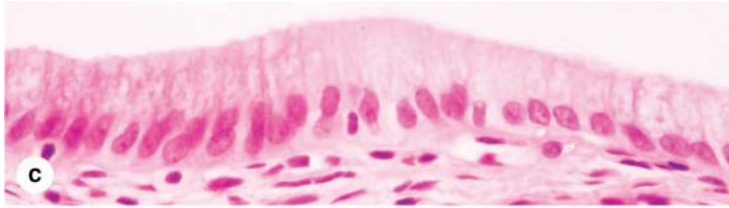
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

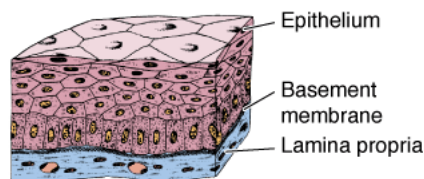
Simple columnar epithelium.

Cells of simple columnar epithelia are taller than they are wide. Such cells are usually highly specialized for absorption, with microvilli, and often have interspersed secretory cells or ciliated cells. Such epithelial cells always have tight and adherent junctional complexes at their apical ends, but are often loosely associated in more basolateral areas. This allows for rapid transfer of absorbed material to the space between the cells rather than transport the full length of the cells. The additional cytoplasm in columnar cells allows additional mitochondria and other organelles needed for absorption and processing. The examples shown here are from a renal collecting duct (a), the oviduct lining, with both secretory and ciliated cells (b), and the lining of the gall bladder (c). All X400. H&E.

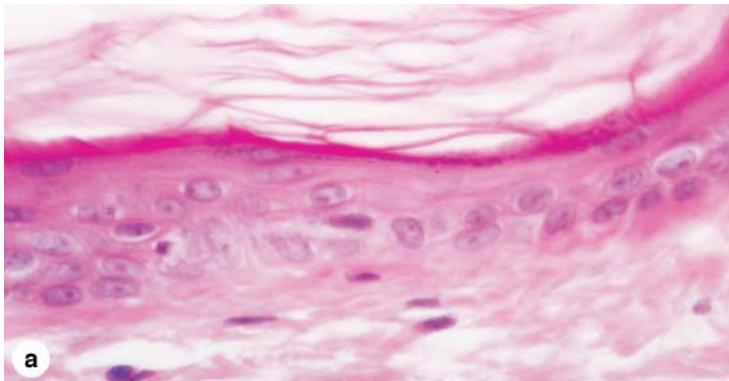
Stratified epithelia are classified according to the cell shape of the *superficial* layer(s): **squamous**, **cuboidal**, **columnar**, and **transitional**.

The very thin surface cells of stratified squamous epithelia can be "keratinized" (rich in keratin intermediate filaments) or "nonkeratinized" (with relatively sparse amounts of keratin). **Stratified squamous keratinized epithelium** is found mainly in the epidermis of skin. Its cells form many layers, and the cells closer to the underlying connective tissue are usually cuboidal or low columnar. The cells become irregular in shape and flatten as they accumulate keratin in the process of **keratinization** and are moved progressively closer to the surface, where they become thin, metabolically inactive packets (**squames**) of keratin lacking nuclei. This surface layer of cells helps protect against water loss across this epithelium. (See Chapter 18 for more detailed information on skin.) **Stratified squamous nonkeratinized epithelium** (Figure 4–14) lines wet cavities (eg, mouth, esophagus, and vagina). In such areas where water loss is not a problem, the flattened cells of the epithelial surface layer are living cells containing much less keratin and retaining their nuclei.

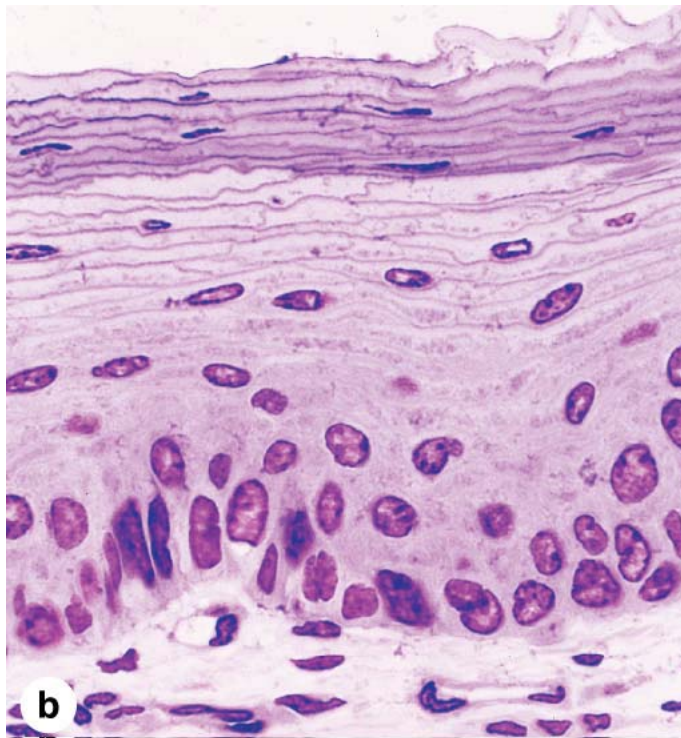
Figure 4–14.



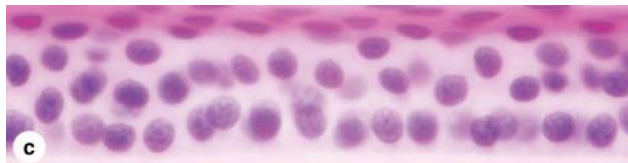
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



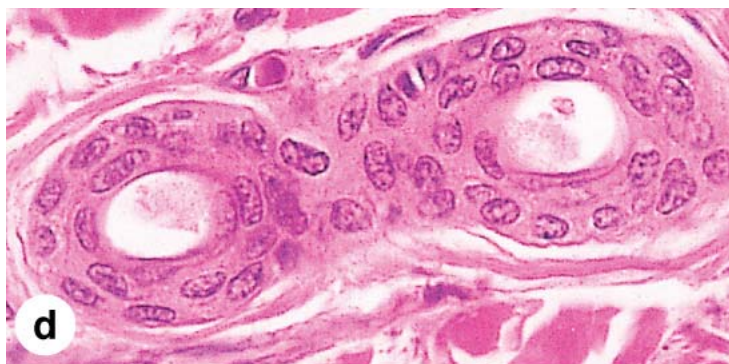
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

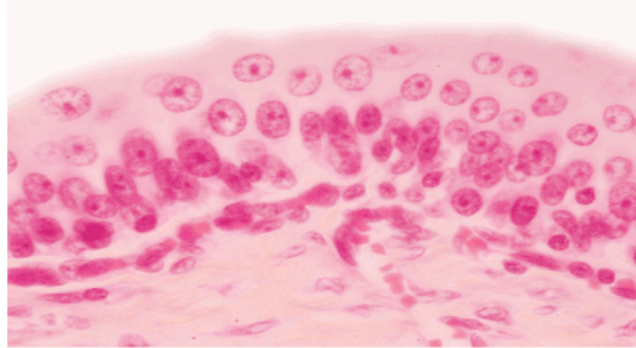
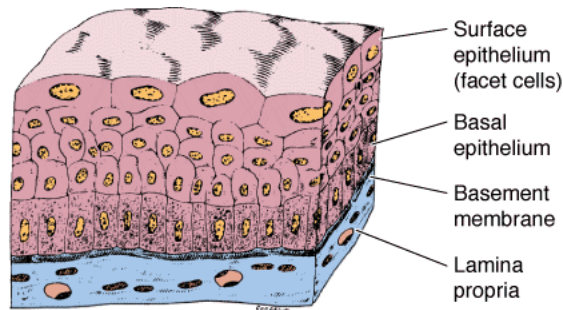
Stratified epithelia.

Stratified squamous epithelia have protective functions: protection against easy invasion of underlying tissue by microorganisms and protection against water loss. In the skin, protection against water loss and desiccation is particularly important and the epithelium is **keratinized**. As epidermal cells of the skin (**a**) differentiate they become filled with keratin and other substances and eventually lose their nuclei and other organelles. The superficial flattened squames form a layer which impedes water loss and eventually slough off and are replaced from below. Keratinization will be discussed fully in Chapter 18. Epithelia lining many internal surfaces such as the esophagus (**b**), or covering the cornea (**c**) are considered **nonkeratinized** because the differentiating cells accumulate much less keratin and retain their nuclei. Such epithelia still provide protection against microorganisms, but do not fill with keratin because water loss is less of an issue. Stratified cuboidal or columnar epithelia are fairly rare, but are found in excretory ducts of some glands (**d**) where the double layer of cells apparently provides a more robust lining than a simple epithelium would. All X400; (b) PT, (a, c, and d) H&E.

Stratified cuboidal and **stratified columnar epithelia** are rare. Stratified columnar epithelium can be found in the conjunctiva lining the eyelids, where it is both protective and mucus secreting. Stratified cuboidal epithelium is restricted to large excretory ducts of sweat and salivary glands, where it apparently provides a lining more robust than that of a simple epithelium.

Transitional epithelium or **urothelium**, which lines only the urinary bladder, the ureter, and the upper part of the urethra, is characterized by a superficial layer of dome-like cells that are neither squamous nor columnar (Figure 4–15). These cells, sometimes called umbrella cells, are essentially protective against the hypertonic and potentially cytotoxic effects of urine. Importantly, the form of the surface cells changes according to the degree of distention of the bladder wall. This type of epithelium is discussed in detail in Chapter 19.

Figure 4–15.



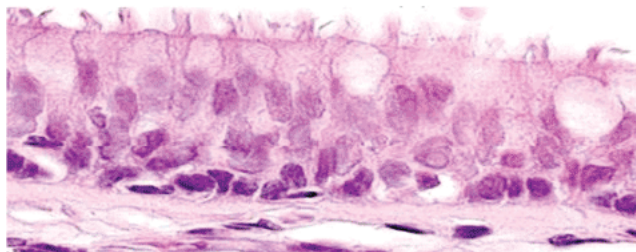
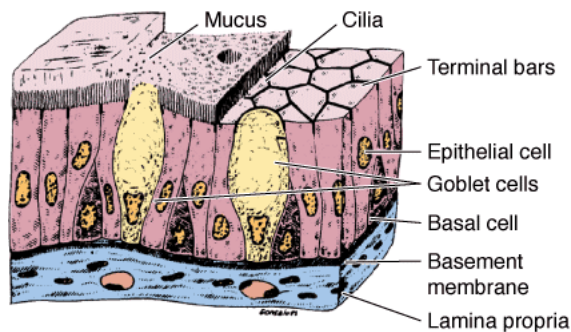
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Transitional epithelium or urothelium.

Stratified transitional epithelium lining the urinary bladder has rounded or dome-shaped superficial cells with two unusual features. The surface cells have specialized membranes and are able to withstand the hypertonic effects of urine and protect underlying cells from this toxic solution. Cells of transitional epithelium are also able to adjust their relationships with one another as the bladder fills and the wall is stretched, so that the transitional epithelium of a full, distended bladder seems to have fewer cell layers than that of an empty bladder. These unique features of urothelium will be discussed more fully in Chapter 19. X400. H&E.

In addition to these various stratified epithelia, there is another type classified as **pseudostratified columnar epithelium**, so called because all cells are attached to the basal lamina even though their nuclei lie at different levels in the epithelium and the height of some cells does not extend to the surface. The best-known example of pseudostratified columnar epithelium is that lining the passages of the upper respiratory tract (Figure 4–16). The columnar cells of this epithelium are also heavily ciliated.

Figure 4–16.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Pseudostratified epithelium.

Cells of pseudo-stratified epithelia appear to be in layers, but the basal ends of the cells are all in contact with the basement membrane, which is often very thick in these epithelia. The best example of this epithelial type is the pseudostratified ciliated columnar epithelium of the upper respiratory tract, which contains cell types with their nuclei at different levels that give the false appearance of cellular stratification. This epithelium is discussed in detail in Chapter 17. X400. H&E.

Glandular Epithelia

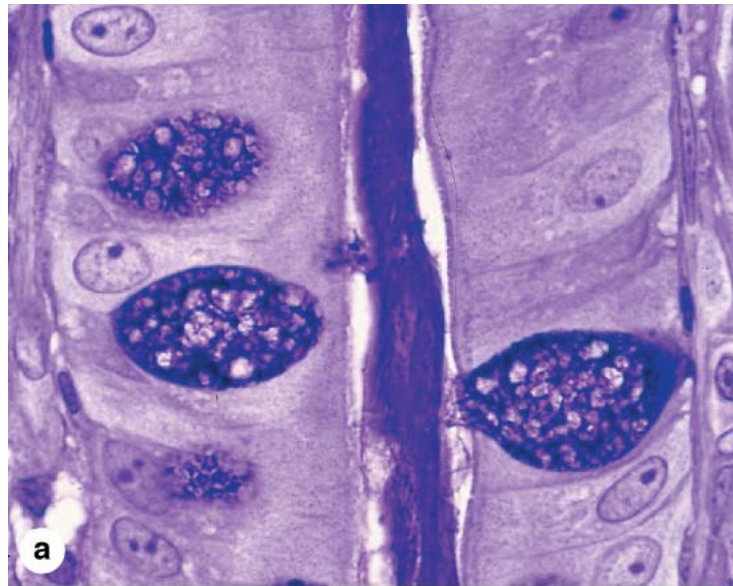
Glandular epithelia are formed by cells specialized to secrete. The molecules to be secreted are generally stored in the cells in small membrane-bound vesicles called **secretory granules**.

Glandular epithelial cells may synthesize, store, and secrete proteins (eg, in the pancreas), lipids (eg, adrenal, sebaceous glands), or complexes of carbohydrates and proteins (eg, salivary glands). Mammary glands secrete all three substances. The cells of some glands have low synthetic activity (eg, sweat glands) and secrete

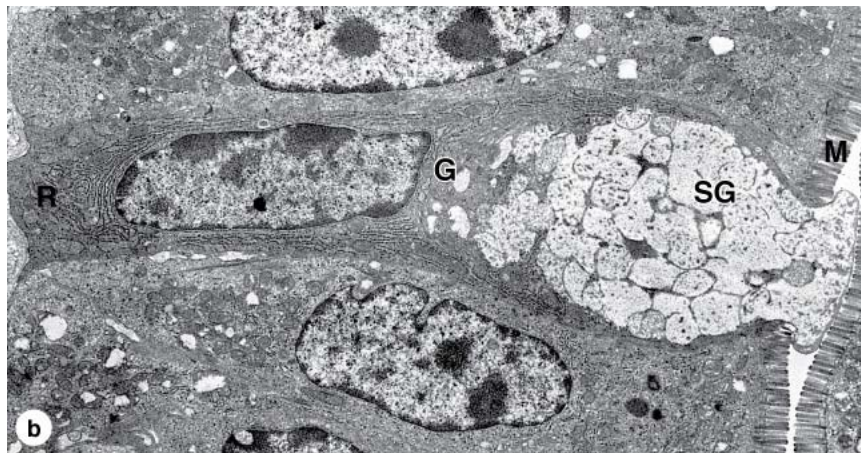
mostly water and electrolytes transferred into the gland from the blood.

The epithelia that form glands can be classified according to various criteria. Unicellular glands consist of large isolated secretory cells and multicellular glands have clusters of cells. The classic unicellular gland is the **goblet cell** in the lining of the small intestine (Figure 4–17) or respiratory tract. The term "gland," however, is usually used to designate large aggregates of secretory epithelial cells, such as in the salivary glands and the pancreas.

Figure 4–17.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



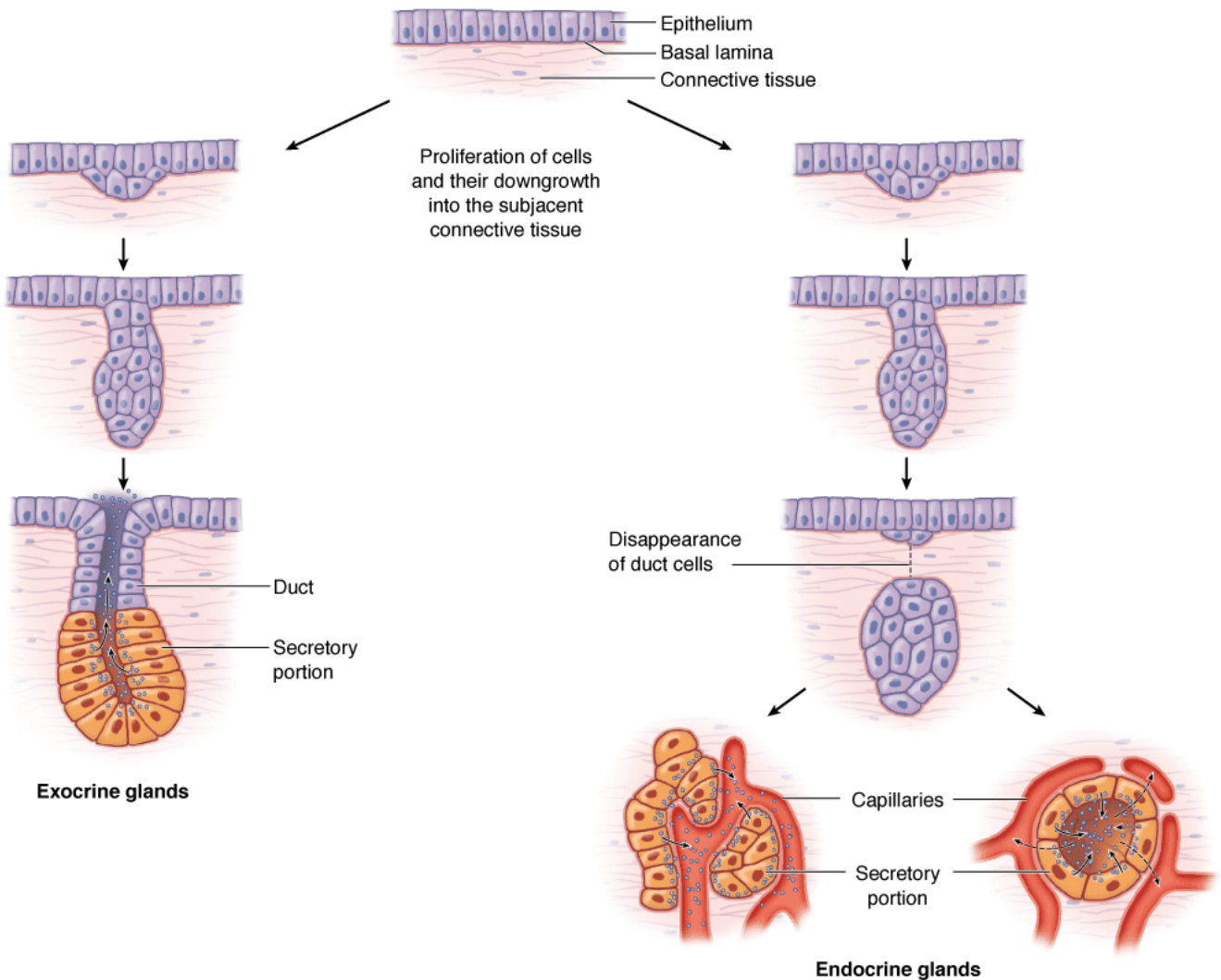
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Goblet cells: unicellular glands.

A section of epithelial lining of the large intestine shows scattered goblet cells secreting mucus to the extracellular space (a): With the stain for glycoproteins used here, both the mucus precursor stored in cytoplasmic granules of the goblet cells as well as the secreted mucus are stained dark blue. X400. PAS-PT. (b): Ultrastructurally a goblet cell shows a basal nucleus surrounded by RER (R), a large Golgi complex (G) just above the nucleus, and an apical end filled with large secretory granules (SG) containing mucins. This highly viscous material is secreted by exocytosis and is then hydrated to form mucus in the lumen lined by microvilli (M). X17,000.

Glands develop during fetal life from covering epithelia by means of cell proliferation and invasion of the subjacent connective tissue, followed by further differentiation (Figure 4–18). **Exocrine glands** retain their connection with the surface epithelium, the connection taking the form of tubular ducts lined with epithelial cells through which the secretions pass to the surface. **Endocrine glands** have lost their connection to the surface from which they originated during development. These glands are therefore ductless and their secretions are picked up and transported to their sites of action by the bloodstream rather than by a duct system. Multicellular glands, whether exocrine or endocrine, also have connective tissue in a surrounding capsule and in septa that divide the gland into lobules. These lobules then subdivide, and in this way the connective tissue separates and binds the glandular components together (Figure 4–19).

Figure 4–18.

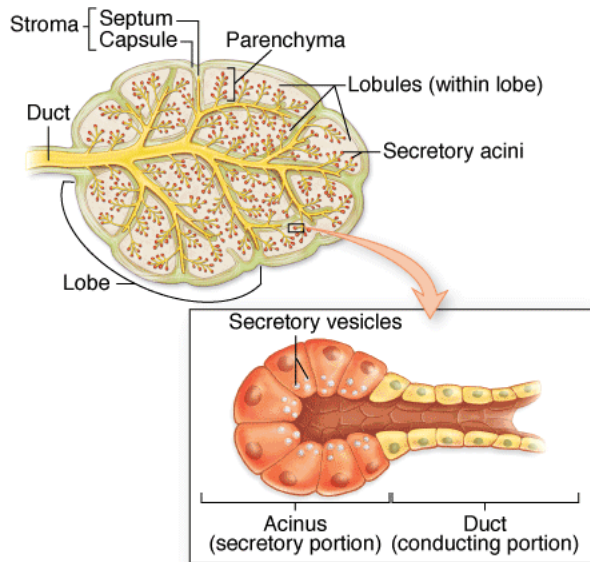


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Formation of glands from covering epithelia.

During fetal development epithelial cells proliferate and penetrate the underlying connective tissue. They may—or may not—maintain a connection with the surface epithelium. When the connection is maintained, exocrine glands are formed; with the connection lost, endocrine glands are formed. Exocrine glands secrete to the body surface or gut via duct systems formed from the epithelial connection. The cells of endocrine glands, which secrete hormones (see Chapter 20) can be arranged in cords or in follicles with lumens for storing the secretory product. From either the cords (left) or follicles (right) of endocrine cells, the secretory product is released outside the cells and picked up by the blood vessels for distribution throughout the body.

Figure 4–19.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

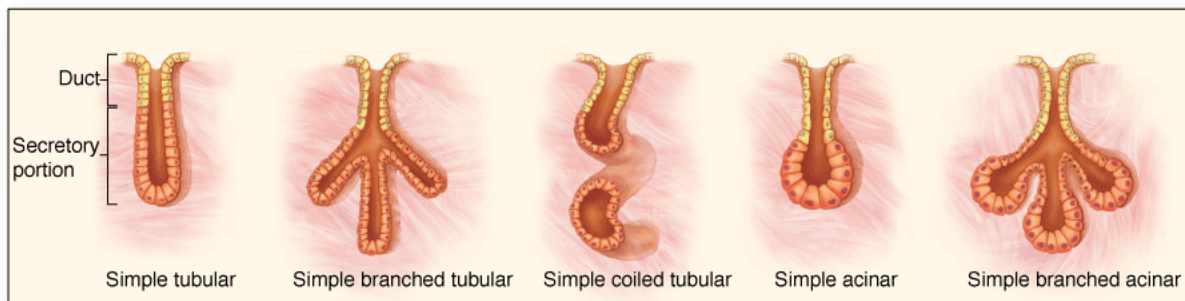
General structure of exocrine glands.

Exocrine glands by definition have ducts that lead to an organ or body surface. Inside the gland the duct runs through connecting septa and branches repeatedly, until its smallest branches end in the secretory portions of the gland.

Exocrine glands have a **secretory portion**, which contains the cells specialized for secretion, and **ducts**, which transport the secretion out of the gland. The morphology of these components allows the glands to be classified according to the scheme shown in Figure 4–20 and summarized as follows:

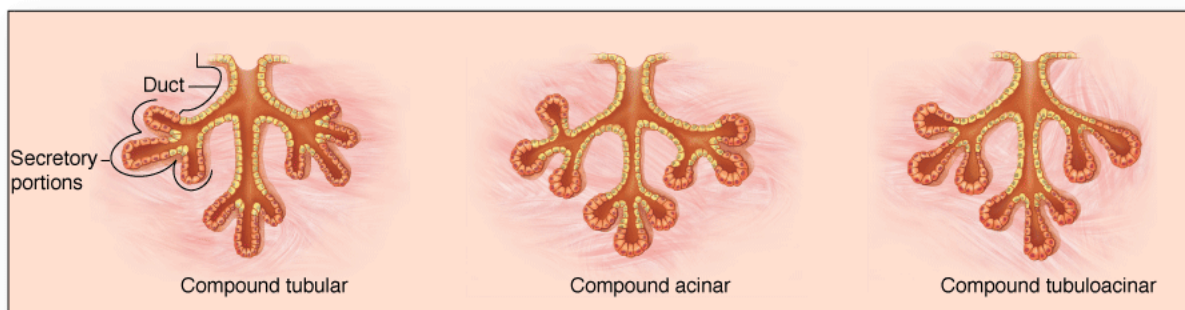
- Ducts can be **simple** (unbranched) or **compound** (with two or more branches).
- Secretory portions can be **tubular** (either short or long and **coiled**) or **acinar** (round or globular).
- Either type of secretory portion may be **branched**.
- Compound glands can have tubular, acinar, or tubuloacinar secretory portions.

Figure 4–20.



a Simple glands

Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



b Compound glands

Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

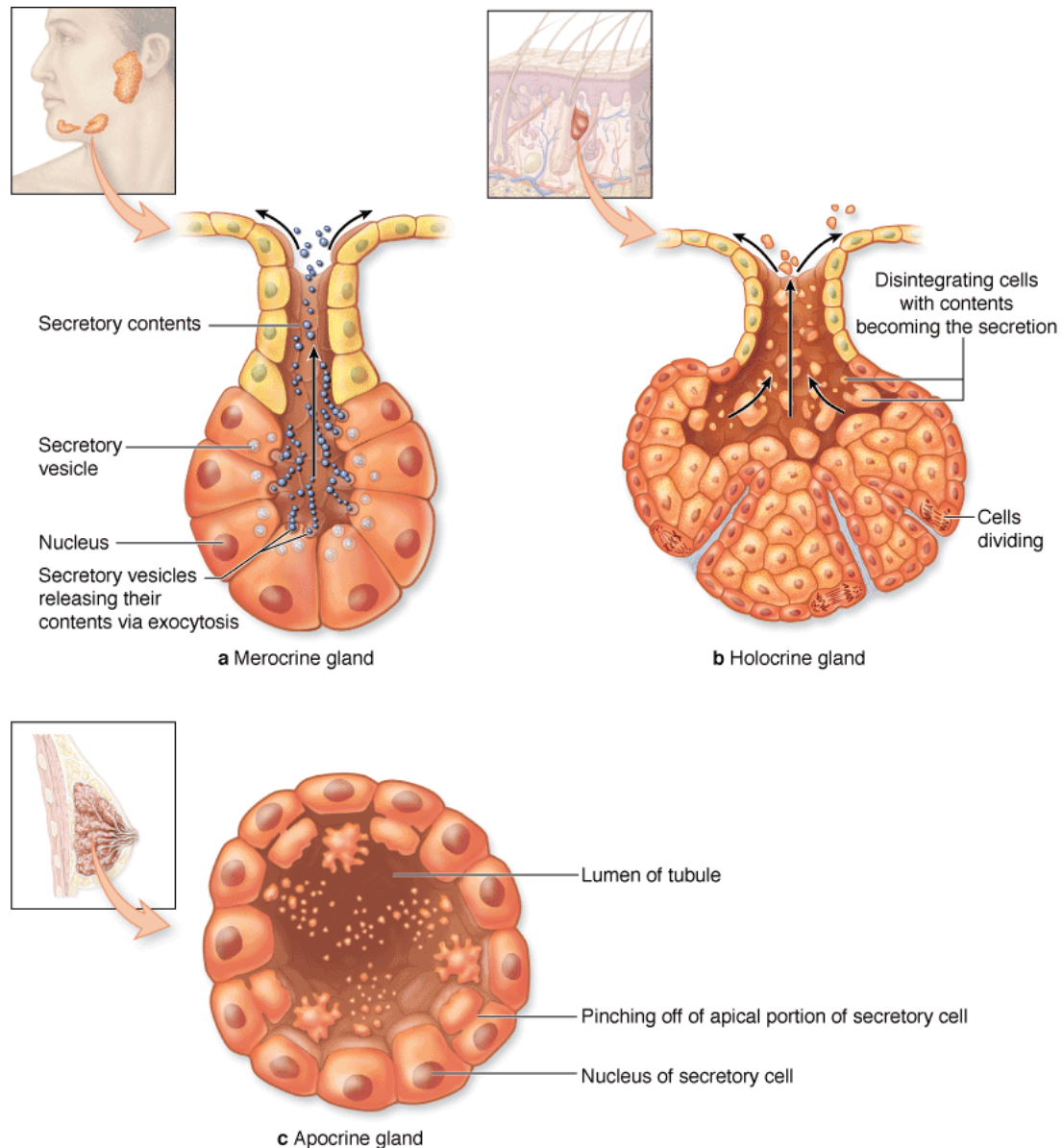
Structural classes of exocrine glands.

(a): **Simple** glands have unbranched ducts, although the ducts may be short or long and coiled. The secretory portions attached to these ducts may themselves be branched. The secretory portions are either **tubular**, if more or less cylindrical in shape, or **acinar**, if bulbous or saclike. (b): If the ducts branch to serve multiple secretory units, the gland is **compound**. On compound glands, the secretory units may be all tubular, all acinar, or a combination of the two shapes.

Exocrine glands are also classified functionally according to the way the secretory products leave the cell (Figure 4–21):

- **Merocrine secretion** (sometimes called eccrine) involves typical exocytosis of proteins or glycoproteins. This is the most common mode of secretion.
- **Holocrine secretion** involves the cell filling with secretory product and then the whole cell being disrupted and shed. This is best seen in the sebaceous glands of skin (Figure 4–22).
- In an intermediate type, **apocrine secretion**, the secretory product is typically a large lipid droplet and is discharged together with some of the apical cytoplasm and plasmalemma (Figure 4–23).

Figure 4–21.

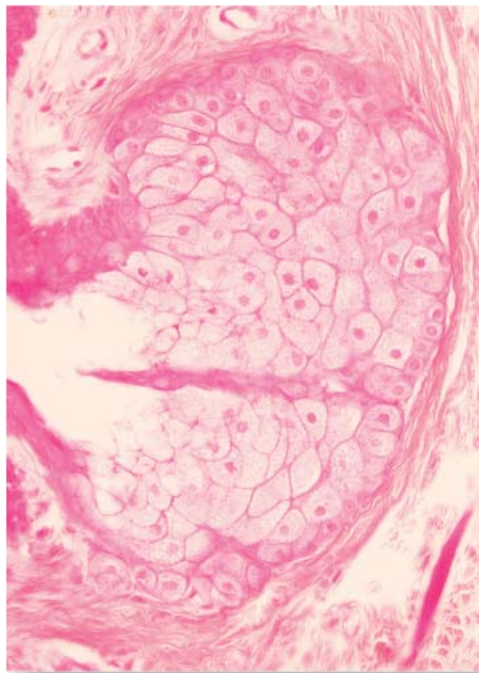


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Functional classification of exocrine glands.

Different cellular secretion processes are used in exocrine glands, depending on what substance is being secreted. **(a)**: Merocrine glands secrete products, usually containing proteins, by means of exocytosis at the apical end of the secretory cells. Most exocrine glands are merocrine. **(b)**: Holocrine gland secretion is produced by the disintegration of the secretory cells themselves as they complete differentiation which involves becoming filled with product. Sebaceous glands of hair follicles are the best examples of holocrine glands. **(c)**: Apocrine gland secretion involves loss of a large membrane-enclosed portion of apical cytoplasm, usually containing one or more lipid droplets. This apical portion of the cell may subsequently break down to release its contents during passage into the duct. Apocrine secretion, along with merocrine secretion, is seen in mammary glands.

Figure 4–22.

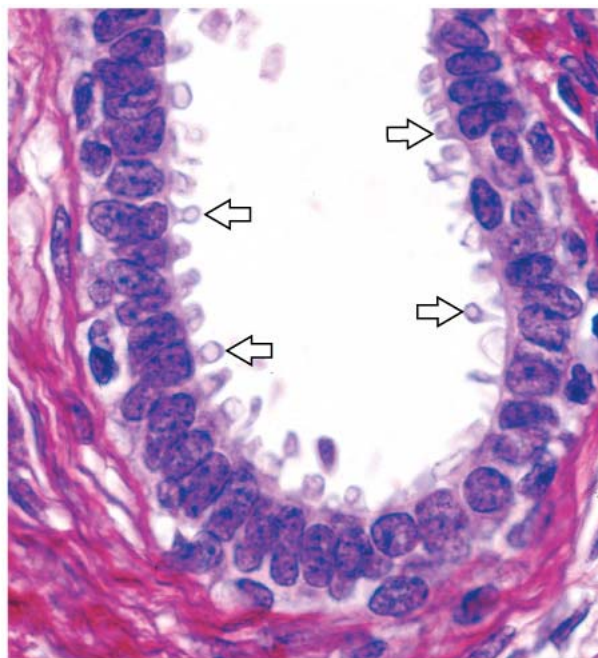


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Holocrine secretion in a sebaceous gland.

In holocrine secretion, best seen in the sebaceous gland adjacent to hair follicles, entire cells fill with a product and are released during secretion. Undifferentiated cells deep and peripheral in the gland fill with lipid-rich granules and become metabolically inactive as they mature and move upward and toward the gland's center. When terminally differentiated, the cells separate and quickly disintegrate to form the secretion which serves to protect and lubricate adjacent skin and hair. Sebaceous glands lack myoepithelial cells; cell proliferation inside a dense, inelastic connective tissue capsule continuously forces product into the duct. X200. H&E.

Figure 4–23.



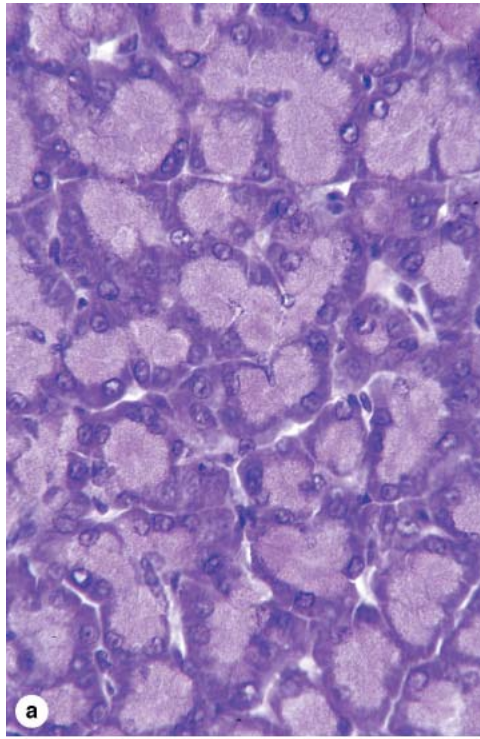
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Apocrine secretion in the mammary gland.

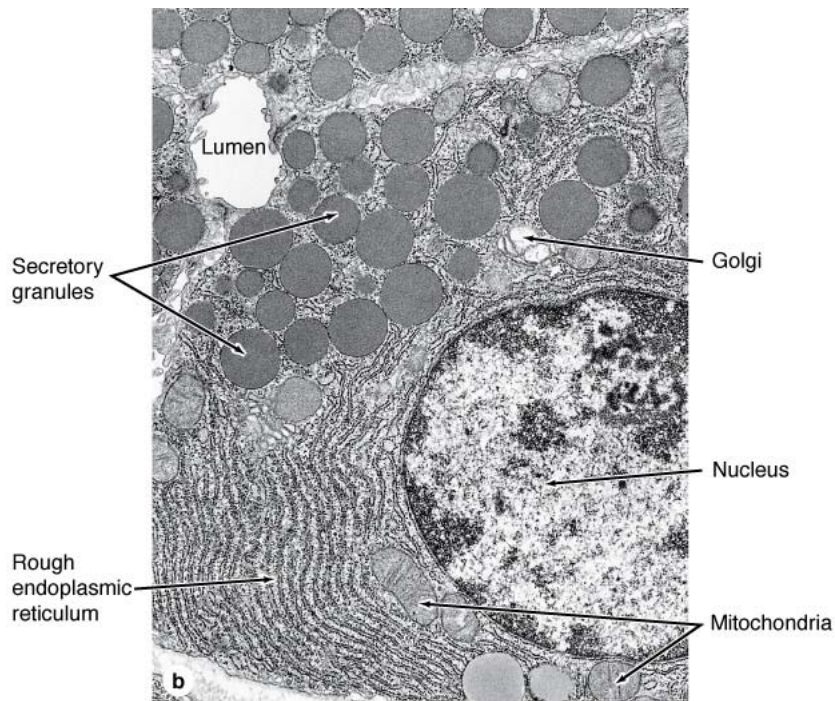
The secreting portions of a mammary gland demonstrate apocrine secretion and are characterized by the discharge of the secretion product with a pinched off portion of the apical cytoplasm (arrows). The released portion of cell contains lipid droplet(s). Merocrine secretion also occurs from the same and other cells of the secretory units. X400. PSH.

Exocrine glands with merocrine secretion can be further categorized as either **serous** or **mucous** according to the nature of the proteins or glycoproteins secreted and the resulting staining properties of the secretory cells. The acinar cells of the pancreas and parotid salivary glands are examples of the serous type which secrete **digestive enzymes**. The basal ends of serous cells have well-developed RER and Golgi complexes and the cells are filled apically with secretory granules in different stages of maturation (Figure 4–24). Serous cells therefore stain intensely with any basophilic or acidophilic stain.

Figure 4–24.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



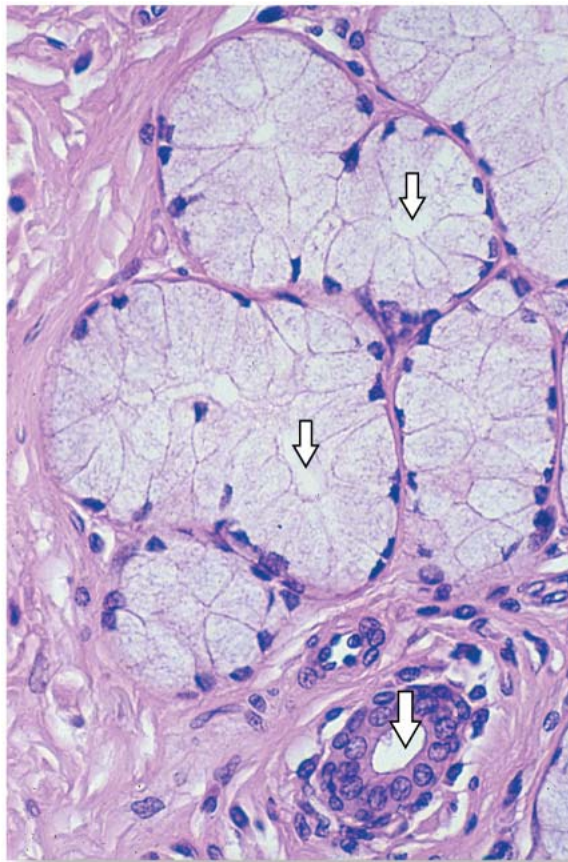
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Serous cells.

Serous acinar cells of the exocrine pancreas are arranged in small acini of 5-10 cells with a very small central lumen. Each acinar cell is roughly pyramid-shaped, with its apex at the lumen. **(a)**: As seen by light microscopy, the apical ends are eosinophilic due to the abundant immature and mature secretory granules present there. The cells' basal ends contain the large rounded nuclei and an abundance of rough ER, making the cells highly basophilic basally. X200. PT. **(b)**: A portion of one acinar cell is shown ultrastructurally, indicating the abundant RER, Golgi complexes, and secretory granules and the very small size of the acinus lumen. X13,000. Secretion here is merocrine and typically the mature zymogen granules, filled with digestive enzymes, remain in the apical cell region until the cell is stimulated to secrete. Other cells secrete constitutively, with small granules undergoing exocytosis as soon as they emerge fully formed from the Golgi apparatus.

Mucous cells, such as goblet cells, while also rich in RER and Golgi complexes are filled apically with secretory granules containing strongly hydrophilic glycoproteins called **mucins**. When mucins are released from the cell, they become hydrated and form **mucus**, a viscous, elastic, protective lubricant material. Mucin-containing granules stain well with the periodic acid-Schiff (PAS) method for glycoproteins (Figure 4–17a), but are not intensely acidophilic like zymogen granules of serous cells (Figure 4–25). Mucous cells of large glands are organized as secretory tubules and in mixed seromucous salivary glands crescent-shaped clumps of serous cells frequently share the ends of the tubules as serous demilunes (Figure 4–26).

Figure 4–25.

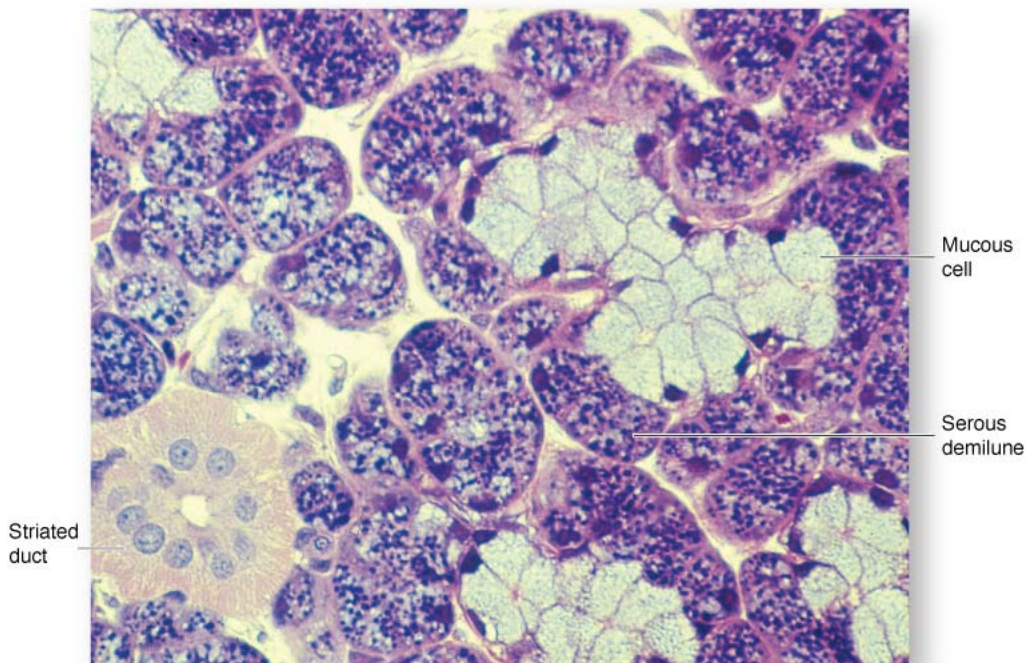


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Mucous cells.

Mucous cells are typically larger than serous cells, with more flattened basal nuclei. The apical region and most of the other cytoplasm of each mucous cell is filled with secretory granules containing mucin like that of goblet cells. The basal region contains the RER, nucleus, and a well-developed Golgi apparatus. The RER and Golgi are very rich in enzymes called glycosyltransferases, which attach sugars to polypeptide chains to make glycoproteins. Mucus contains many glycoproteins with important water-binding properties. The lumens (small arrows) of mucous tubules are larger than those of serous acini. The large arrow indicates a secretory duct. X200. PT. Other types of mucous cells are found in the stomach, the various salivary glands, the respiratory tract, and the genital tract. These cells show great variability in both their morphologic features and in the chemical nature of their secretions.

Figure 4–26.



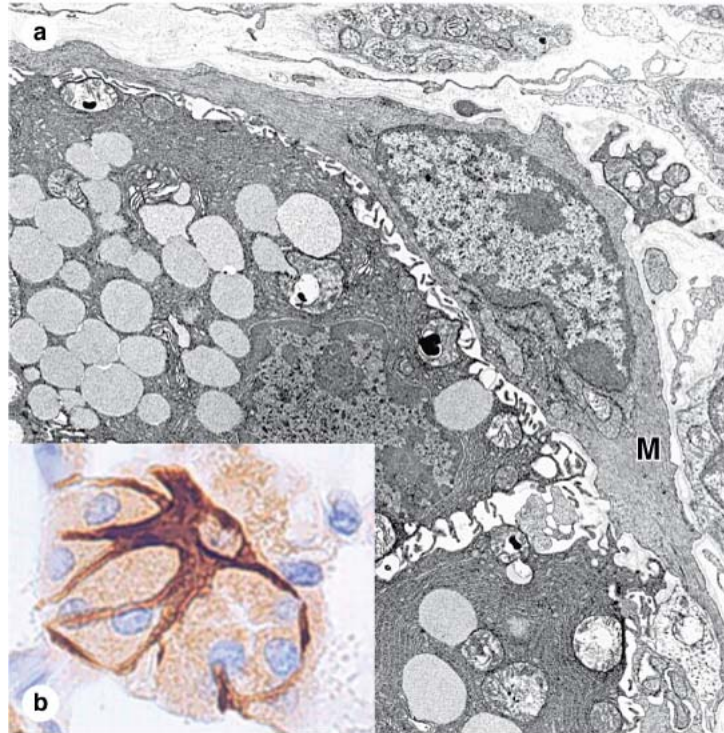
Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Seromucous, compound tubuloacinar gland.

The submandibular salivary glands have both mucous and serous secretory units, typically shaped as acini and tubules respectively. Clumps of serous cells at the ends of some mucous tubules appear as crescent-shaped structures called **serous demilunes**. At the left is seen a **striated duct** whose cells' basal membranes are folded into long folds with many mitochondria, an arrangement specialized for ion transport across the epithelium. X400. PT.

Several exocrine glands (eg, sweat, lachrymal, salivary, and mammary glands) contain stellate or spindle-shaped **myoepithelial cells** located between the basal lamina and the basal pole of secretory or duct cells (Figure 4–27). Long processes of these cells embrace an acinus as an octopus might embrace a rounded boulder. Along ducts they are more longitudinally arranged. Myoepithelial cells are connected to each other and to the epithelial cells by both gap junctions and desmosomes. These cells are specialized for contraction, containing myosin and a large number of actin filaments. Their major function is to contract around the secretory or conducting portion of the gland and thus help propel secretory products into the duct.

Figure 4–27.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Myoepithelial cells.

(a): Portion of a salivary gland acinus shows two secretory cells with secretory granules. A myoepithelial cell (M) embraces the acinus with contractile processes. X20,000.
(b): A myoepithelial cell immunostained against smooth muscle actin shows its association with an entire acinus. Contraction of the myoepithelial cell compresses the acinus and aids in the expulsion of secretory products into the duct. X200. H&E counterstain.

Endocrine glands are the producers of **hormones**, which are generally polypeptide or lipid-derived factors that are released into the interstitial fluid. Hormones diffuse into the blood for circulation and bind specific receptors on target cells elsewhere in the body, often within other endocrine glands. The receptors may also be on cells very close to the hormone-secreting cells or on the secreting cell itself; in these cases the cellular signaling is termed **paracrine** or **autocrine**, respectively. Hormones can be secreted from single cells that are sparsely distributed or from cells with other major functions, such as certain cardiac muscle cells. In the large endocrine glands the parenchymal cells form strands or cords interspersed between dilated capillaries (eg, the adrenal cortex; see Figure 4–18) or can line a follicle filled with stored secretory product (eg, the thyroid gland; Figure 4–18). Some endocrine glands have cells releasing more than one hormone.

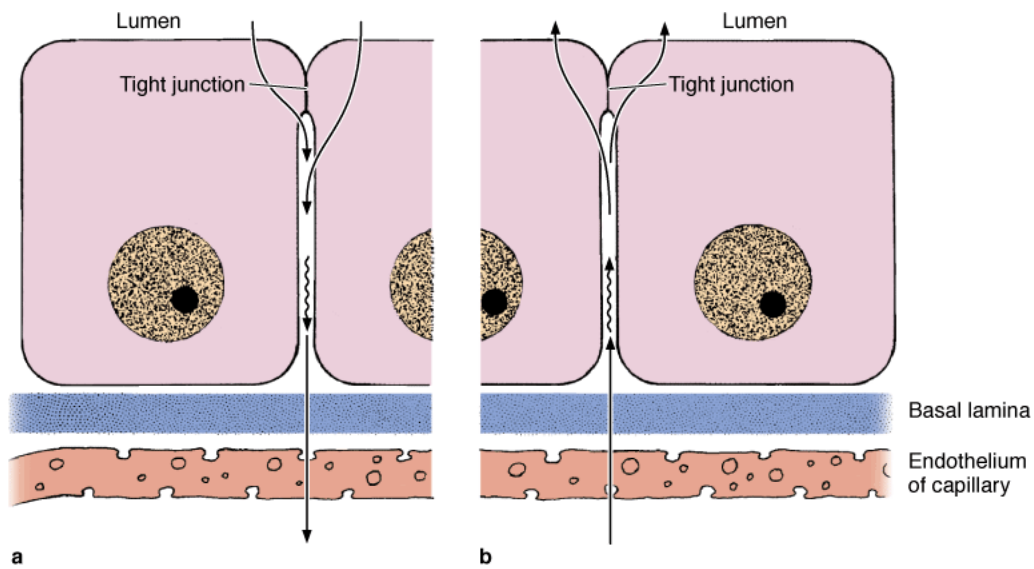
Some organs such as the pancreas have both endocrine and exocrine functions, and in the liver one cell type may function both ways, secreting bile components into a duct system, as well as releasing other products into the bloodstream.

TRANSPORT ACROSS EPITHELIA

As discussed in Chapter 2, all cells have the ability to actively transport certain ions against a concentration and electrical-potential gradient. An important example is the active extrusion of Na^+ by means of Mg^{2+} -activated Na^+/K^+ -ATPase (**sodium pump**), by which cells maintain the required low intracellular sodium concentration (5–15 mmol/L vs. ~140 mmol/L in extracellular fluid).

Some epithelial cells actively transfer ions and fluid across the epithelium, from its apex to its base or vice-versa; this is known as **transcellular transport** (Figure 4–28). For transport in either direction, the tight junctions play an important role in the transport process, sealing the apical portions of the epithelium and preventing back-diffusion of materials already transported across the epithelium. A well-studied site of epithelial transport is the proximal renal tubule cell, where the apical surface is freely permeable to Na^+ in the lumen. To maintain electrical and osmotic balance, equimolar amounts of chloride and water follow the Na^+ ion into the cell. The basal surfaces of these cells are elaborately folded and many long invaginations of the basolateral membrane are seen in electron micrographs (Figure 4–29). In addition, there is interdigitation of membrane folds between adjacent cells, all of which increase the surface area for transport. Sodium pumps are localized in both the basal and the lateral plasma membranes and located between the folds are vertically oriented mitochondria that supply the ATP for the active extrusion of Na^+ from the cell basally. Chloride and water again follow passively. In this way, sodium is returned to the circulation and is not lost in massive amounts in the urine.

Figure 4–28.

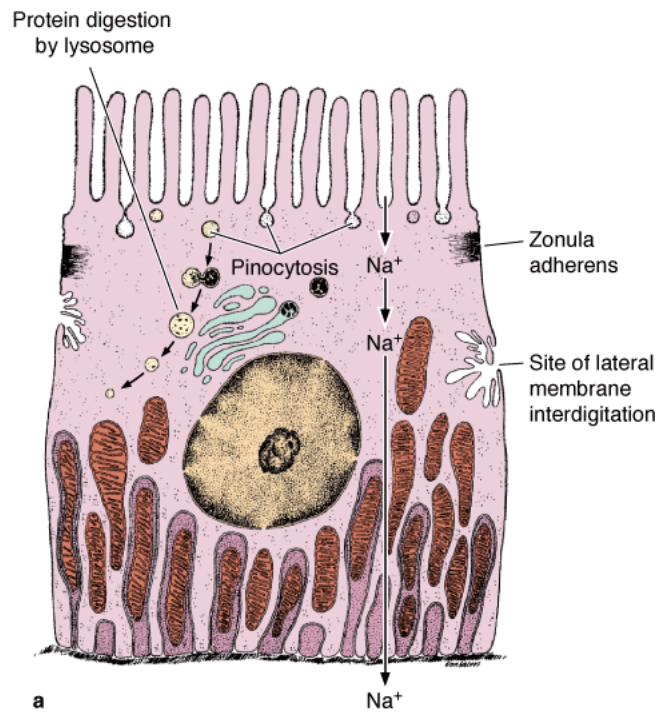


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

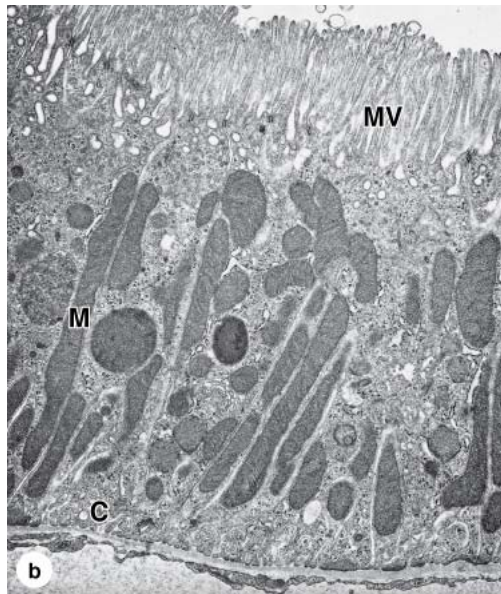
Ion and water absorption and secretion.

Ion and water transport across epithelia can occur in different directions, depending on which tissue is involved. (a): The direction of transport is from the lumen to the blood vessel, as in the gallbladder and intestine. This process is called **absorption**, and serves to concentrate bile and obtain water and ions in these organs. (b): Transport in the opposite direction, as in the choroid plexus, ciliary body, and sweat glands, is called **secretion** and serves to expel water from the interstitial fluid into specialized aqueous fluids in these tissues. Whether the epithelia are absorbing or secreting water, the presence of apical occluding junctions is necessary to maintain tight compartmentalization and consequent control over ion distribution.

Figure 4-29.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Absorptive cells.

An ultrastructural diagram and TEM of epithelial cells highly specialized for absorption: cells of proximal convoluted tubule of the kidney. Long invaginations of the basal cell membrane outline regions filled with vertically oriented mitochondria, a typical disposition present in ion-transporting cells. Interdigitations from neighboring cells interlock with those of this cell. Immediately below the microvilli are junctional complexes between individual cells. The basolateral membranes can be discerned in continuity with the junctional complexes. Apically are vesicles that have undergone pinocytosis, soon to fuse with lysosomes, as shown in the upper left portion of the diagram. Sodium ions diffuse passively through the apical membranes of renal epithelial cells and are then actively transported out of the cells by Na^+/K^+ -ATPase located in the basolateral membranes of the cells. Energy for this sodium pump is supplied by the nearby mitochondria. Immediately below the basal lamina is a capillary for removal of the water absorbed across this part of the epithelium. X9600.

Extracellular molecules and fluid are also internalized in the cytoplasm of most cells by pinocytotic vesicles that form abundantly at the plasmalemma. This activity is clearly observed in the simple squamous epithelia that line the blood and lymphatic capillaries (endothelia) or the body cavities (mesothelia). These cells have few organelles other than the abundant pinocytotic vesicles, which cross the thin cells in both directions and secrete their contents on the opposite side by exocytosis. This process, termed **transcytosis**, is not restricted to simple squamous epithelia. Uptake of material at the apical epithelial pole followed by exocytosis at the basolateral surface occurs actively in many simple cuboidal and columnar epithelia and is important in various physiological processes.

RENEWAL OF EPITHELIAL CELLS

Epithelial tissues are relatively labile structures whose cells are renewed continuously by mitotic activity. The renewal rate is variable; it can be fast in tissues such as the intestinal epithelium, which is replaced every week, or slow, as in the large glands. In stratified epithelial tissues, mitosis only occurs within the basal layer in contact with the basal lamina. In some functionally complex epithelia, stem cells have been identified only in restricted niches some distance from the transit amplifying cells and differentiating cells. For example, the epithelium lining the small intestine is derived completely from stem cells found in the simple glands between the intestinal villi. In the epidermis, stem cells are located at a characteristic position along the wall of hair follicles.

MEDICAL APPLICATION

Both benign and malignant tumors can arise from most types of epithelial cells. A **carcinoma** (Gr. *karkinos*, cancer, + *oma*, tumor) is a malignant tumor of epithelial cell origin. Malignant tumors derived from glandular epithelial tissue are usually called **adenocarcinomas** (Gr. *adenos*, gland, + *karkinos*); these are by far the most common tumors in adults. In children up to age 10 years, most tumors develop (in decreasing order) from hematopoietic organs, nerve tissues, connective tissues, and epithelial tissues. This proportion gradually changes, and after age 45 years, more than 90% of all tumors are of epithelial origin.

Carcinomas composed of differentiated cells reflect cell-specific morphologic features and behaviors (eg, the production of keratins, mucins, and hormones). Undifferentiated carcinomas are often difficult to diagnose by morphologic analysis alone. Since these carcinomas usually contain keratins, the detection of keratins by immunocytochemistry often helps to determine the diagnosis and treatment of these tumors.

Epithelia are normally capable of rapid repair and replacement of apoptotic or damaged cells. In some large glands, most notably the liver, mitotic activity is normally rare but is actively renewed following major damage to the organ. When a portion of liver tissue is removed surgically or lost by the acute effects of toxic substances, cells of undamaged regions quickly begin active proliferation and normal functional mass of liver tissue is soon regenerated.

MEDICAL APPLICATION

Some epithelial cells are prone to abnormal growth called neoplasia that may lead to cancers. Neoplastic growth is reversible and does not always result in cancer.

Under certain abnormal conditions, one type of epithelial tissue may undergo transformation into another type in another reversible process called **metaplasia**, which is illustrated by the following examples.

In heavy cigarette smokers, the ciliated pseudo-stratified epithelium lining the bronchi can be transformed into stratified squamous epithelium.

In individuals with chronic vitamin A deficiency, epithelial tissues of the type found in the bronchi and urinary bladder are gradually replaced by stratified squamous epithelium.

Metaplasia is not restricted to epithelial tissue; it may also occur in connective tissue.

Streptococci

9

I. OVERVIEW

Streptococci and staphylococci (see Chapter 8) constitute the main groups of medically important gram-positive cocci. Streptococci are gram-positive, nonmotile, and catalase negative. Clinically important genera include *Streptococcus* and *Enterococcus* (Figure 9.1). They are ovoid to spherical in shape and occur as pairs or chains (see Figure 9.16). Most are aerotolerant anaerobes because they grow fermentatively even in the presence of oxygen. Because of their complex nutritional requirements, blood enriched medium is generally used for their isolation. Diseases caused by this group of organisms include acute infections of the throat and skin caused by group A streptococci (*Streptococcus pyogenes*); female genital tract colonization, resulting in neonatal sepsis caused by group B streptococci (*Streptococcus agalactiae*); pneumonia, otitis media, and meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae*; and endocarditis caused by the viridans group of streptococci.

II. CLASSIFICATION OF STREPTOCOCCI

Streptococci can be classified by several schemes, for example, by the hemolytic properties of the organisms, and according to the presence of specific surface antigens determined by immunologic assays.

A. Hemolytic properties on blood agar

α -Hemolytic streptococci cause a chemical change in the hemoglobin of red cells in blood agar, resulting in the appearance of a green pigment that forms a ring around the colony (see Figure 9.16). β -Hemolytic streptococci cause gross lysis of red blood cells, resulting in a clear ring around the colony (see Figure 9.16). γ -Hemolytic is a term applied to streptococci that cause no color change or lysis of red blood cells. The traditional division of streptococci based on the ability of the bacterial colony to hemolyze erythrocytes in the blood agar medium is still considered the first step in the classification of streptococci.

B. Serologic (Lancefield) groupings

Many species of streptococci have a polysaccharide in their cell walls known as C-substance, which is antigenic and easily extractable with dilute acid. The Lancefield scheme classifies primarily β -hemolytic streptococci into groups A through U on the basis of their C-sub-

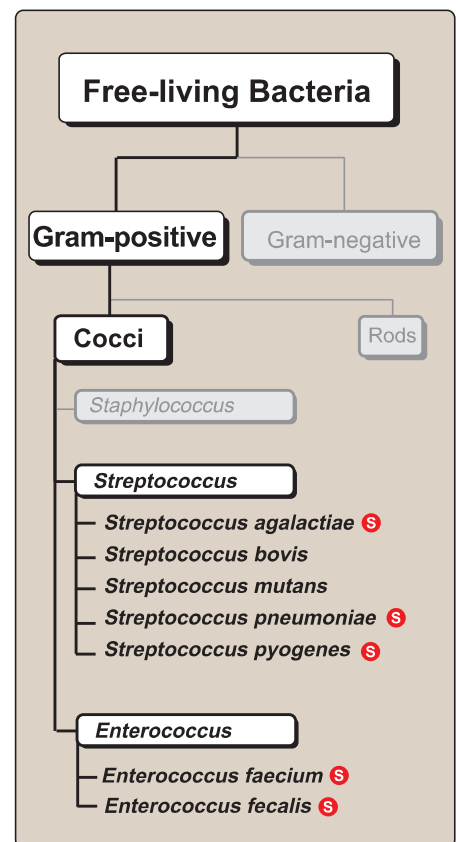


Figure 9.1
Classification of streptococci.
S See pp. 350–351 for summaries of these organisms.

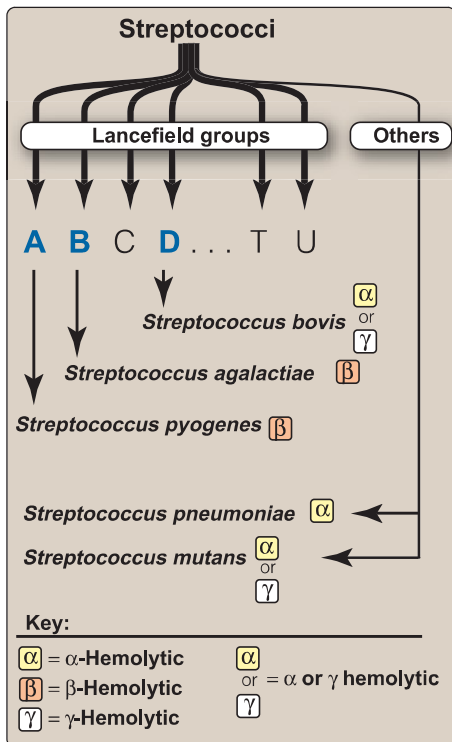


Figure 9.2
Classification schemes for streptococci.

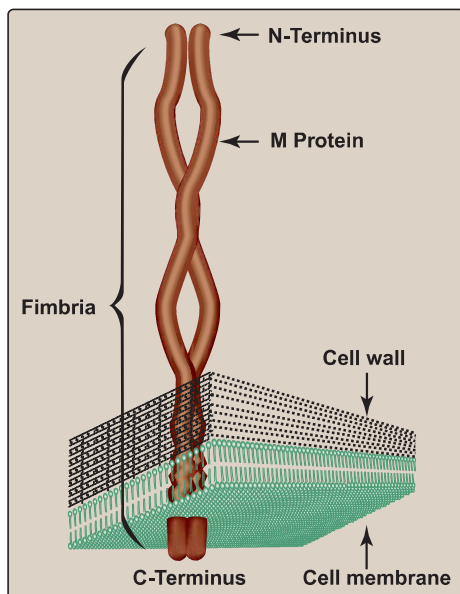


Figure 9.3
Schematic representation of the streptococcal M protein.

stance. The clinically most important groups of β -hemolytic streptococci are Types A and B (Figure 9.2). Commercial kits in which group-specific antisera are coupled to latex beads are now widely used for identification of β -hemolytic streptococci.

III. GROUP A β -HEMOLYTIC STREPTOCOCCI

S. pyogenes, the most clinically important member of this group of gram-positive cocci, is one of the most frequently encountered bacterial pathogens of humans worldwide. It can invade apparently intact skin or mucous membranes, causing some of the most rapidly progressive infections known. A low inoculum suffices for infection. Some strains of *S. pyogenes* cause postinfectious sequelae, including rheumatic fever and acute glomerulonephritis. Nasopharyngeal carriage is common especially in colder months and particularly among children. Unlike staphylococcal species, *S. pyogenes* does not survive well in the environment. Instead, its habitat is infected patients and also normal human carriers in whom the organism resides on skin and mucous membranes. *S. pyogenes* is usually spread person to person by skin contact and via the respiratory tract.

A. Structure and physiology

S. pyogenes cells usually form long chains when recovered from liquid culture (see Figure 9.16), but may appear as individual cocci, pairs, or clusters of cells in Gram stains of samples from infected tissue. Structural features involved in the pathology or identification of group A streptococci include:

- 1. Capsule:** Hyaluronic acid, identical to that found in human connective tissue, forms the outermost layer of the cell. This capsule is not recognized as foreign by the body and, therefore, is nonimmunogenic. The capsule is also antiphagocytic.
- 2. Cell wall:** The cell wall contains a number of clinically important components. Beginning with the outer layer of the cell wall, these components include the following (Figure 9.3):
 - a. M protein:** *S. pyogenes* is not infectious in the absence of M protein. M proteins extend from an anchor in the cell membrane, through the cell wall and then the capsule, with the N-terminal end of the protein exposed on the surface of the bacterium. M proteins are highly variable, especially the N-terminal regions, resulting in over 80 different antigenic types. Thus, individuals may have many *S. pyogenes* infections throughout their lives as they encounter new M protein types for which they have no antibodies. M proteins are antiphagocytic and they form a coat that interferes with complement binding.
 - b. Group A-specific C-substance:** This component is composed of rhamnose and N-acetylglucosamine. [Note: All group A streptococci, by definition, contain this antigen.]
 - c. Protein F (fibronectin-binding protein)** mediates attachment to fibronectin in the pharyngeal epithelium. M proteins and lipoteichoic acids also bind to fibronectin.

- 3. Extracellular products:** Like *Staphylococcus aureus* (see p. 70), *S. pyogenes* secretes a wide range of exotoxins that often vary from one strain to another and that play roles in the pathogenesis of disease caused by these organisms (Figure 9.4).

B. Epidemiology

The only known reservoir for *S. pyogenes* in nature is the skin and mucous membranes of the human host. Respiratory droplets or skin contact spreads group A streptococcal infection from person to person, especially in crowded environments such as classrooms and children's play areas.

C. Pathogenesis

S. pyogenes cells, perhaps in an inhaled droplet, attach to the pharyngeal mucosa via actions of protein F, lipoteichoic acid, and M protein. The bacteria may simply replicate sufficiently to maintain themselves without causing injury in which case the patient is then considered colonized. Alternatively, bacteria may grow and secrete toxins, causing damage to surrounding cells, invading the mucosa, and eliciting an inflammatory response with attendant influx of white cells, fluid leakage, and pus formation. The patient then has streptococcal pharyngitis. Occasionally, there is sufficient spread that the bloodstream is significantly invaded, possibly resulting in septicemia and/or seeding of distant sites, where cellulitis (acute inflammation of subcutaneous tissue), fasciitis (inflammation of the tissue under the skin that covers a surface of underlying tissue), or myonecrosis (death of muscle cells) may develop rapidly or insidiously. However, direct inoculation of skin from another person's infection is probably more common as the pathogenesis of streptococcal skin and soft tissue infection.

D. Clinical significance

S. pyogenes is a major cause of cellulitis. Other more specific syndromes include:

- 1. Acute pharyngitis or pharyngotonsillitis:** Pharyngitis is the most common type of *S. pyogenes* infection. *S. pyogenes* pharyngitis ("strep throat") is associated with severe, purulent inflammation of the posterior oropharynx and tonsillar areas (see Figure 9.16). [Note: If a sunburnlike rash develops on the neck, trunk, and extremities in response to the release of pyrogenic exotoxin to which the patient does not have antibodies, the syndrome is designated scarlet fever.] Many strep throats are mild, and many sore throats caused by viruses are severe. Hence, laboratory confirmation is important for accurate diagnosis and treatment of streptococcal pharyngitis, particularly for the prevention of subsequent acute rheumatic fever and rheumatic heart disease.
- 2. Impetigo:** Although *S. aureus* is recovered from most contemporary cases of impetigo (see p. 72), *S. pyogenes* is the classic cause of this syndrome. The disease begins on any exposed surface (most commonly, the legs). Typically affecting children, it can cause severe and extensive lesions on the face and limbs (see Figure 9.16). Impetigo is treated with a topical agent such as mupirocin, or systemically with penicillin or a first-generation cephalosporin such

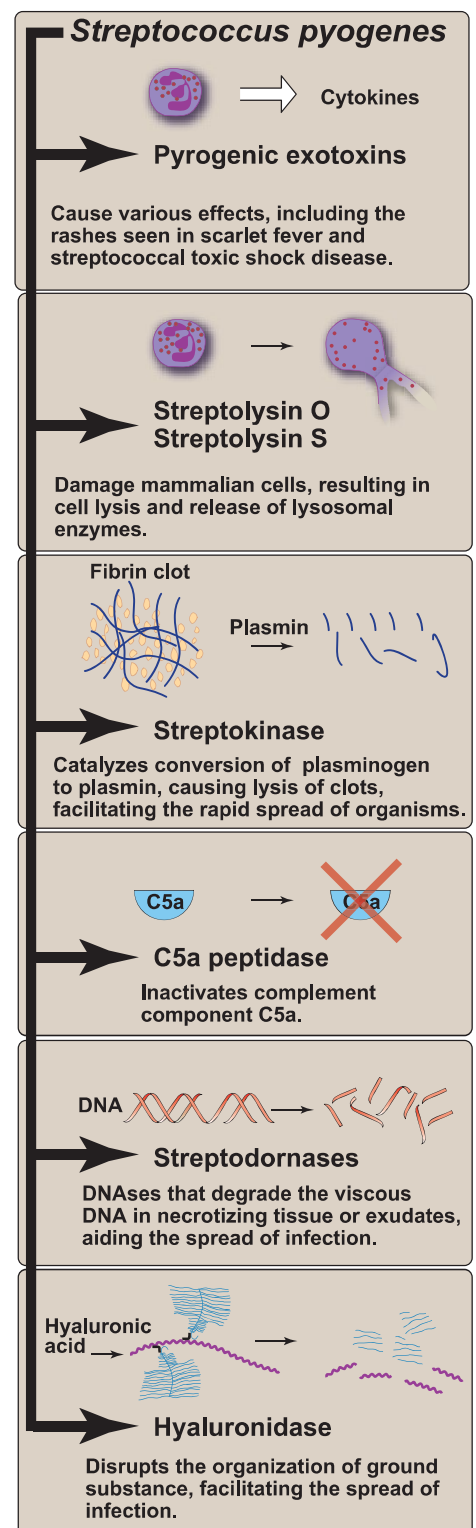


Figure 9.4

Cytolytic toxins and other exoenzymes produced by *Streptococcus pyogenes*.

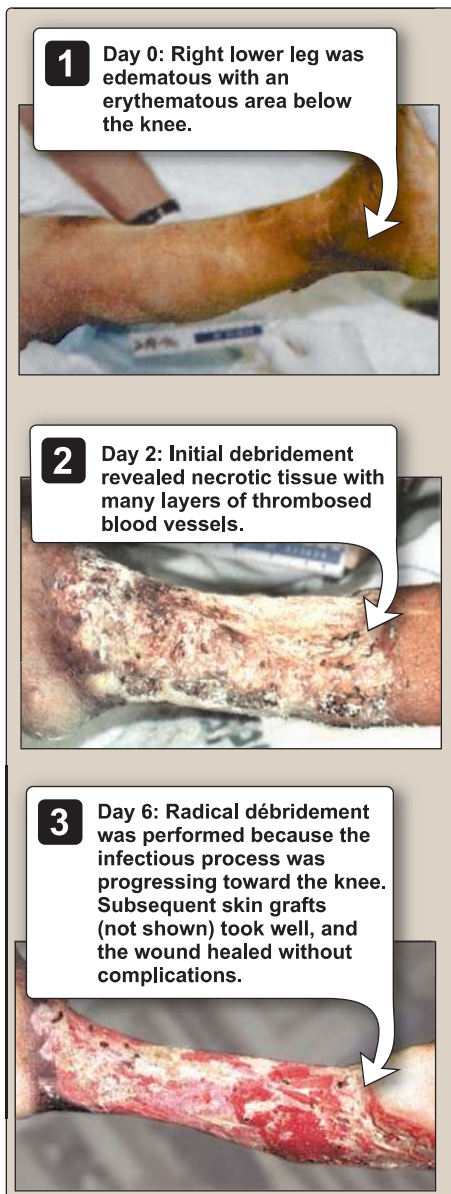


Figure 9.5
Necrotizing fasciitis in a 59-year-old woman.

as cephalexin, which are effective against both *S. aureus* and *S. pyogenes*.

3. **Erysipelas:** Affecting all age groups, patients with erysipelas experience a fiery red, advancing erythema, especially on the face or lower limbs (see Figure 9.16).
4. **Puerperal sepsis:** This infection is initiated during, or following soon after, the delivery of a newborn. It is caused by exogenous transmission (for example, by nasal droplets from an infected carrier or from contaminated instruments) or endogenously, from the mother's vaginal flora. This is a disease of the uterine endometrium in which patients experience a purulent vaginal discharge and are systemically ill.
5. **Invasive group A streptococcal disease:** Common during the first half of the century, invasive group A streptococcal (GAS) disease became rare until its resurgence during the past decade. Patients may have a deep local invasion either without necrosis (cellulitis) or with it (necrotizing fasciitis/myositis) as shown in Figure 9.5. [Note: The latter disease led to the term "flesh-eating bacteria."] Invasive GAS disease often spreads rapidly, even in otherwise healthy individuals, leading to bacteremia and sepsis. Symptoms may include a toxic shock–like syndrome, fever, hypotension, multiorgan involvement, a sunburnlike rash, or a combination of these symptoms.
6. **Streptococcal toxic shock syndrome:** This syndrome is defined as isolation of group A β -hemolytic streptococci from blood or another normally sterile body site in the presence of shock and multiorgan failure. The syndrome is mediated by the production of streptococcal pyrogenic exotoxins that function as superantigens causing massive, nonspecific T-cell activation and cytokine release. Patients may initially present with flulike symptoms, followed shortly by necrotizing soft tissue infection, shock, acute respiratory distress syndrome, and renal failure. Treatment must be prompt and includes antistreptococcal antibiotics, usually consisting of high-dose penicillin G plus clindamycin.

7. Post-streptococcal sequelae

- a. **Acute rheumatic fever:** This autoimmune disease occurs 2 to 3 weeks after the initiation of pharyngitis. It is caused by cross-reactions between antigens of the heart and joint tissues, and the streptococcal antigen (especially the M protein epitopes). It is characterized by fever, rash, carditis, and arthritis. Central nervous system manifestations are also common including Sydenham's chorea, symptoms of which are uncontrolled movement and loss of fine motor control. Rheumatic fever is preventable if the patient is treated within the first 10 days following onset of acute pharyngitis.
- b. **Acute glomerulonephritis:** This rare, postinfectious sequela occurs as soon as 1 week after impetigo or pharyngitis

ensues, due to a few nephritogenic strains of group A streptococci. Antigen–antibody complexes on the basement membrane of the glomerulus initiate the disease. There is no evidence that penicillin treatment of the streptococcal skin disease or pharyngitis (to eradicate the infection) can prevent acute glomerulonephritis.

E. Laboratory identification

Rapid latex antigen kits for direct detection of group A streptococci in patient samples are widely used. In a positive test, the latex particles clump together, whereas in a negative test, they stay separate, giving the suspension a milky appearance (Figure 9.6). These tests have high specificity but variable sensitivity compared with culture techniques. Specimens from patients with clinical signs of pharyngitis and a negative antigen detection test should undergo routine culturing for streptococcal identification. Depending on the form of the disease, specimens for laboratory analysis can be obtained from throat swabs, pus and lesion samples, sputum, blood, or spinal fluid. *S. pyogenes* forms characteristic small, opalescent colonies surrounded by a large zone of β hemolysis on sheep blood agar (see Figure 9.16). [Note: Hemolysis of the blood cells is caused by streptolysin S, which damages mammalian cells resulting in cell lysis.] This organism is highly sensitive to bacitracin, and diagnostic disks with a very low concentration of the antibiotic inhibit growth in culture. *S. pyogenes* is also catalase negative and optochin resistant. Group A C-substance can be identified by the precipitin reaction. Serologic tests detect a patient's antibody titer to streptolysin O (ASO test) after group A streptococcal infection. Anti-DNase B titers (ADB test) are particularly elevated following streptococcal infections of the skin.

F. Treatment

Antibiotics are used for all group A streptococcal infections. *S. pyogenes* has not acquired resistance to penicillin G, which remains the antibiotic of choice for acute streptococcal disease. In a penicillin-allergic patient, a macrolide such as clarithromycin or azithromycin is the preferred drug (see Figure 9.16). Penicillin G plus clindamycin are used in treating necrotizing fasciitis and in streptococcal toxic shock syndrome. Clindamycin is added to penicillin to inhibit protein (i.e., toxin) synthesis so that a huge amount of toxin is not released abruptly from rapidly dying bacteria.

G. Prevention

Rheumatic fever is prevented by rapid eradication of the infecting organism. Prolonged prophylactic antibiotic therapy is indicated after an episode of rheumatic fever, because having had one episode of this autoimmune disease in the past is a major risk factor for subsequent episodes if the patient is again infected with *S. pyogenes*.

IV. GROUP B β -HEMOLYTIC STREPTOCOCCI

Group B streptococci, represented by the pathogen *S. agalactiae*, are gram-positive, catalase-negative organisms. *S. agalactiae* is found in

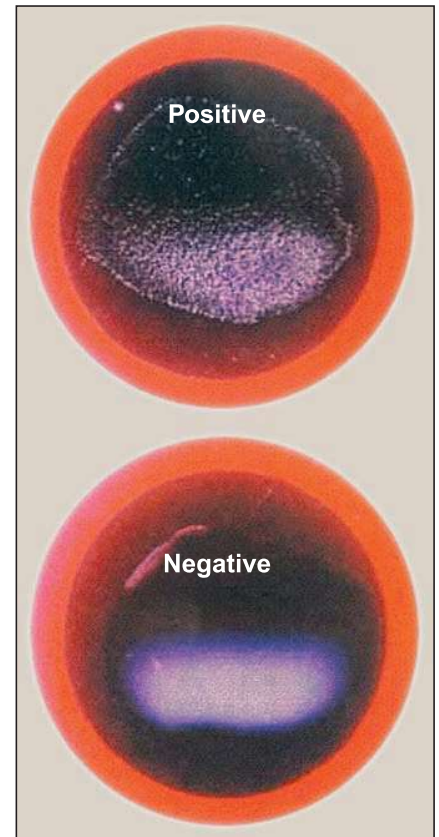


Figure 9.6
Latex agglutination for identification of group A β -hemolytic streptococci.

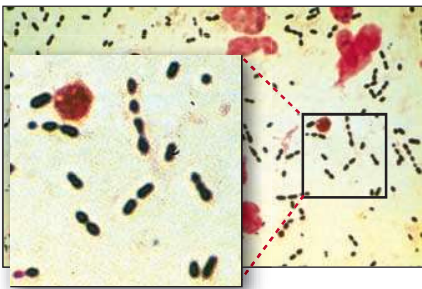


Figure 9.7

Streptococcus pneumoniae are gram-positive, nonmotile, encapsulated, lancet-shaped cocci.

the vaginocervical tract of female carriers, and the urethral mucous membranes of male carriers as well as in the gastrointestinal (GI) tract. *S. agalactiae* can be transmitted sexually among adults and from an infected mother to her infant at birth. Group B streptococci are a leading cause of meningitis and septicemia in neonates, with a high mortality rate. They are also an occasional cause of infections in postpartum women (endometritis) and individuals with impaired immune systems, in whom the organism may cause septicemia or pneumonia. Samples of blood, cervical swabs, sputum, or spinal fluid can be obtained for culture on blood agar. Latex agglutination tests can also demonstrate the presence of group B antigen in these samples. Group B streptococci are β hemolytic, with larger colonies and less hemolysis than group A. Most isolates remain sensitive to penicillin G and ampicillin, which are still the antibiotics of choice (see Figure 9.16). In life-threatening infections, an aminoglycoside can be added to the regimen. [Note: Pregnant carriers should be treated with ampicillin during labor if risk factors such as premature rupture of membranes or prolonged labor are present.] Intrapartum prophylaxis of group B streptococcal carriers and administration of antibiotics to their newborns reduce neonatal group B streptococcal sepsis by as much as 90 percent.

V. STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE (PNEUMOCOCCUS)

S. pneumoniae are gram-positive, nonmotile, encapsulated cocci (Figure 9.7). They are lancet shaped, and their tendency to occur in pairs accounts for their earlier designation as *Diplococcus pneumoniae*. *S. pneumoniae* is the most common cause of community-acquired pneumonia and adult bacterial meningitis and is an important cause of otitis media, sinusitis and mastoiditis. The risk of disease is highest among young children (Figure 9.8), older adults, smokers, and persons with certain chronic illnesses. Like other streptococci, *S. pneumoniae* is fastidious (has complex nutritional requirements) and routinely cultured on blood agar. It releases an α hemolysin that damages red cell membranes, causing colonies to be α hemolytic.

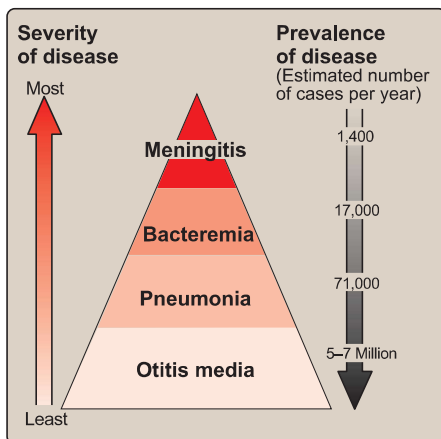


Figure 9.8

Comparison of severity and prevalence of some pneumococcal infections in children in the United States.

A. Epidemiology

S. pneumoniae is an obligate parasite of humans and can be found in the nasopharynx of many healthy individuals. This organism is extremely sensitive to environmental agents. Pneumococcal infections can be either endogenous or exogenous. For example, endogenous infection involves the spread of *S. pneumoniae* residing in the nasopharynx of a carrier who develops impaired resistance to the organism. Susceptibility to the infection may result from, for example, general debilitation such as that caused by malnutrition or alcoholism, respiratory damage following a prior viral infection, or from a depressed immune system. Patients with sickle cell disease or those who have had their spleens removed are particularly at risk for *S. pneumoniae* infection. Infection can also be exogenous, for example, by droplets from the nose of a carrier. Individuals such as those described above as susceptible to endogenous infection are also most likely to be infected by the exogenous route.

B. Pathogenesis

The bacterial capsule of *S. pneumoniae* is the most important virulence factor and is the basis for the classification of serotypes of this organism. The cell-associated enzymes pneumolysin and autolysin contribute to its pathogenicity (Figure 9.9).

- 1. Capsule:** The *S. pneumoniae* polysaccharide capsule is both antiphagocytic and antigenic. Antiphagocytic properties of the capsule protect the bacteria from polymorphonuclear leukocyte attack, facilitating growth of the bacteria prior to the appearance of anti-capsular antibodies. There are approximately 85 distinct capsular serotypes, some of which endow strains with greater virulence than others, as reflected by the fact that about 20 serotypes account for the vast majority of pneumococcal infections.
- 2. Pili:** Pili enable the attachment of encapsulated pneumococci to the epithelial cells of the upper respiratory tract. Not all pneumococci are piliated, but those clinical isolates that express pili are more virulent. The genes required for regulation and assembly of the pilus are not present in all pneumococcal strains, but they can be horizontally transferred between strains on a pathogenicity "islet", which is small pathogenicity island. The chromosomal region responsible for production of the pneumococcal pilus is called the *rtrA* islet, named for the regulatory gene (*rtrA*) that is required for expression.
- 3. Choline-binding protein A:** Choline binding protein A is a major adhesin allowing the pneumococcus to attach to carbohydrates on epithelial cells of the human nasopharynx.
- 4. Autolysins:** Autolysins are enzymes that hydrolyze the components of a biological cell in which it is produced. LytA, B and C are peptidoglycan-hydrolyzing enzymes that are present in the bacterial cell wall and are normally inactive. However, these enzymes are readily activated (for example, by surface-active agents, β -lactam antibiotics, or stationary phase), resulting in cell lysis. Autolysin is thus responsible for the release of intracellular virulence factors (notably, pneumolysin).
- 5. Pneumolysin:** Although retained within the cytosol of intact pneumococci, pneumolysin is thought to be an important virulence factor by virtue of its ability to attack mammalian cell membranes, causing lysis once it is released by autolysin from the interior of the bacterium. Pneumolysin binds to cholesterol and therefore interacts indiscriminately with all cell types. This toxin stimulates production of proinflammatory cytokines, inhibits the activity of polymorphonuclear leukocytes and activates complement.

C. Clinical significance

- 1. Acute bacterial pneumonia:** A leading cause of death, especially in older adults and those whose resistance is impaired, this disease is caused most frequently by *S. pneumoniae* (Figure 9.10). Pneumonia is frequently preceded by an upper or middle respiratory viral infection, which predisposes to *S. pneumoniae* infection

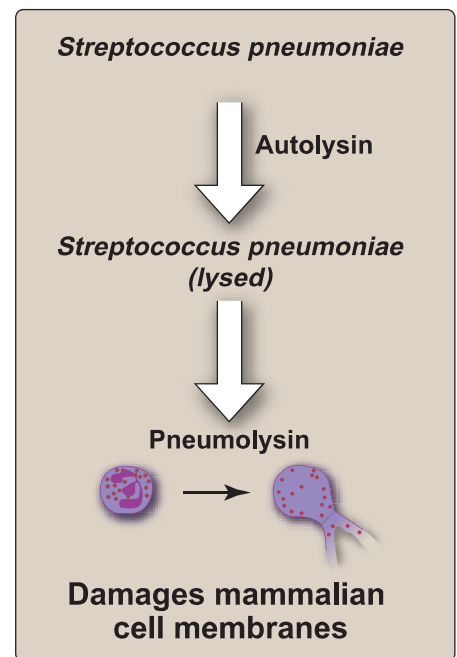


Figure 9.9

Cytolytic toxins produced by *Streptococcus pneumoniae*.

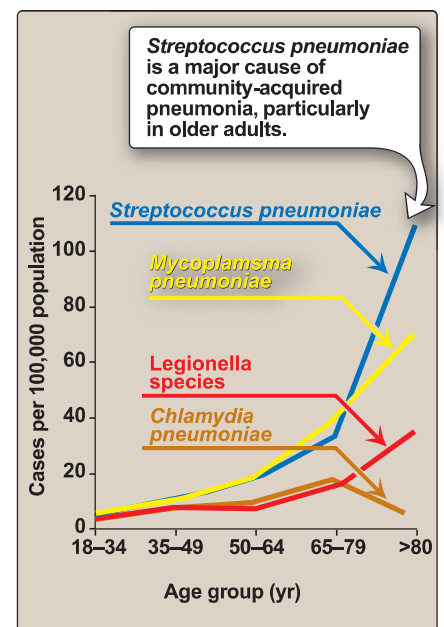


Figure 9.10

Age-specific rates of community-acquired pneumonia caused by specific pathogens.

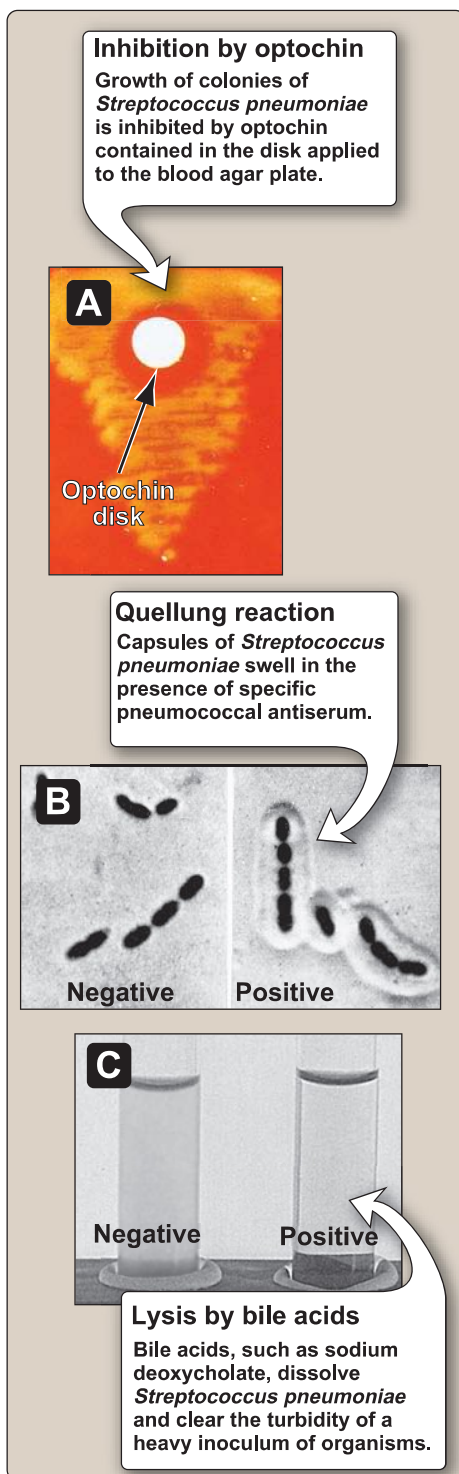


Figure 9.11
Laboratory tests useful in the identification of *Streptococcus pneumoniae*.

of pulmonary parenchyma. Mechanisms by which virus infection predisposes an individual to streptococcal pneumonia include increased volume and viscosity of secretions that are more difficult to clear and secondary inhibition of the action of bronchial cilia by viral infection.

2. **Otitis media:** The most common bacterial infection of children, this disease (which is characterized by earache) is most frequently caused by pneumococcus, followed by *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* (see p. 391). The traditional empiric treatment of pneumococcal otitis media with a β -lactam antibiotic (with or without a penicillinase-inhibitor) has been threatened by the spread of penicillin-resistant pneumococci.
3. **Bacteremia/sepsis:** In the absence of a focus of infection bacteremia/sepsis is commonly caused by pneumococcus, especially in individuals who are functionally or anatomically asplenic. This includes people with sickle cell disease who infarct their spleen and are functionally asplenic, although they still have a remnant of anatomical spleen.
4. **Meningitis:** *H. influenzae* was formerly the leading cause of bacterial meningitis in the United States. After a vaccine was developed against this organism, *S. pneumoniae* became the most common cause of adult bacterial meningitis (see p. 376). This disease has a high mortality rate, even when treated appropriately.

D. Laboratory identification

Specimens for laboratory evaluation can be obtained from a nasopharyngeal swab, blood, pus, sputum, or spinal fluid. α -Hemolytic colonies appear when *S. pneumoniae* is grown on blood agar overnight under aerobic conditions at 37°C. Lancet-shaped, gram-positive diplococci are observed on a Gram stain of the sample. Growth of these bacteria is inhibited by low concentrations of the surfactant optochin, and the cells are lysed by bile acids (Figure 9.11). Capsular swelling is observed when the pneumococci are treated with type-specific antisera (the Quellung reaction).

E. Treatment

S. pneumoniae isolates were highly sensitive to penicillin G, the initial agent of choice, until the late 1980s. Since then, the incidence of penicillin resistance has been increasing worldwide. The mechanism of this resistance is an alteration of one or more of the bacterium's penicillin-binding proteins (PBPs, see p. 57) rather than production of β -lactamase. Modified PBPs have a much-reduced affinity for penicillin G and for some, but not all, of the other β -lactams. Most resistant strains remain sensitive to third generation cephalosporins (such as cefotaxime or ceftriaxone), and all are still sensitive to vancomycin. These antibiotics are therefore the agents of choice for invasive infections by penicillin-resistant strains of *S. pneumoniae* (see Figure 9.16).

F. Prevention

There are two types of pneumococcal vaccine: pneumococcal polysaccharide vaccine (PPV) and pneumococcal conjugate vaccine (PCV13).

- 1. Pneumococcal polysaccharide vaccine:** Introduced in the United States in 1983, PPV immunizes against 23 serotypes of *S. pneumoniae* and is indicated for the protection of high-risk individuals older than age 2 years. This vaccine protects against the pneumococcal strains responsible for 85 to 90 percent of infections, including prominent penicillin-resistant strains.
- 2. Pneumococcal conjugate vaccine 13:** The polyvalent PCV 13, licensed in the United States in 2010, is effective in infants and toddlers (ages 6 weeks to 5 years). It is made up of 13 pneumococcal antigens conjugated to CRM197, a mutant nontoxic diphtheria toxin. Significant declines in the incidence of invasive pneumococcal disease occurred as a result of introduction of this and an earlier generation heptavalent conjugated vaccine (PCV 7). (Figure 9.12). In addition, the vaccines prevented greater numbers of invasive pneumococcal cases through indirect effects on pneumococcal transmission (that is, herd immunity) than through its direct effect of protecting vaccinated children. Young children do not elicit an immune response to oligosaccharide-only vaccines. However, if the oligosaccharide is conjugated to a protein, a protective immune response develops.

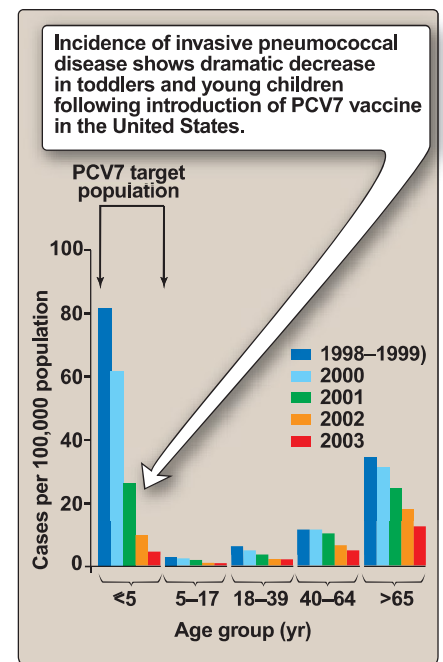


Figure 9.12

Incidence of vaccine-type invasive pneumococcal disease before and after the introduction of pneumococcal conjugate vaccine (PCV7), by age and year.

VI. ENTEROCOCCI

Enterococci contain a C-substance that reacts with group D antisera. Therefore, in the past, they were considered group D streptococci. Today, DNA analysis and other properties have placed them in their own genus, *Enterococcus*. The clinically most important species are *E. faecalis* and *E. faecium*. Enterococci can be α -, β -, or nonhemolytic. As a rule, enterococci are not very virulent, but they have become prominent as a cause of nosocomial infections as a result of their multiple antibiotic resistance. Figure 9.13 shows the microscopic appearance of *E. faecalis*.

A. Epidemiology

Enterococci are part of the normal fecal flora. However, they can also colonize oral mucous membranes and skin, especially in hospital settings. These organisms are highly resistant to environmental and chemical agents and can persist on fomites.

B. Diseases

Enterococci seldom cause disease in normal, healthy individuals. However, under conditions in which host resistance is lowered or the integrity of the gastrointestinal or genitourinary tract has been

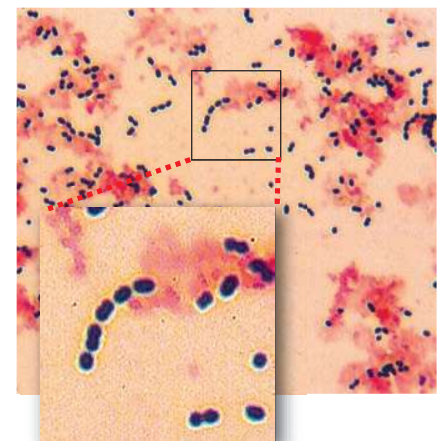


Figure 9.13

Enterococcus faecalis showing chain formation characteristic of *Streptococcus*.

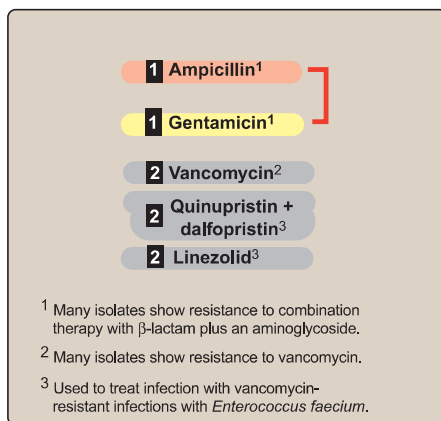


Figure 9.14
Antimicrobial agents useful in treating infections caused by enterococci.

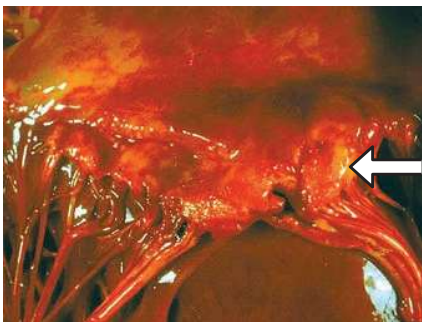


Figure 9.15
Streptococcal endocarditis showing vegetation of the mitral valve leaflet. [Note: Vegetation is a tissue outgrowth composed of fibrin, bacteria, and aggregated blood platelets adherent to a diseased heart valve.]

disrupted (for example, by instrumentation), enterococci can spread to normally sterile sites, causing urinary tract infections, bacteremia/sepsis, endocarditis, biliary tract infection, or intra-abdominal abscesses.

C. Laboratory identification

Enterococci are distinguished from the non-group D streptococci by their ability to survive in the presence of bile, and to hydrolyze the polysaccharide esculin, producing black colonies on esculin-containing plates. Unlike nonenterococcal group D streptococci, enterococci grow in 6.5 percent NaCl, and yield a positive pyrazin amidase (PYR) test. *E. faecalis* can be distinguished from *E. faecium* by their fermentation patterns, which are commonly evaluated in clinical laboratories

D. Treatment

Enterococci are naturally resistant to β -lactam antibiotics and aminoglycosides, but are sensitive to the synergistic action of a combination of these classes. In the past, the initial regimens of choice were penicillin +/- streptomycin or ampicillin +/- gentamicin (Figure 9.14). However, acquired resistance determinants in many current strains negate this synergy. In addition, isolates frequently have natural or acquired resistances to many other antibiotic classes, including glycopeptides such as vancomycin. Newer antibiotics, such as the combination of quinupristin and dalfopristin, are used to treat vancomycin-resistant infections. However, some enterococcal strains are resistant to all commercially available antibiotics. [Note: *E. faecium* is more likely to be vancomycin or multiply resistant than *E. faecalis*.]

E. Prevention

The rise of nosocomial infections by multiple drug-resistant enterococci is largely the result of selection due to high antibiotic usage in hospitals. Judicious use of antibiotics is an important factor in controlling the emergence of these infections.

VII. NONENTEROCOCCAL GROUP D STREPTOCOCCI

Streptococcus bovis is the most clinically important of the nonenterococcus group D streptococci. Part of normal fecal flora, they are either α - or nonhemolytic. *S. bovis* occasionally causes urinary tract infections and endocarditis, the latter especially in association with colon cancer. The organism is bile and esculin positive, but is PYR-negative, and does not grow in 6.5 percent salt (unlike the enterococci). It tends to be sensitive to penicillin and other antibiotics.

VIII. VIRIDANS STREPTOCOCCI

The viridans group of streptococci includes many gram-positive, catalase-negative, α - or γ -hemolytic species that constitute the main facultative oral flora. The viridans streptococci are relatively avirulent, but

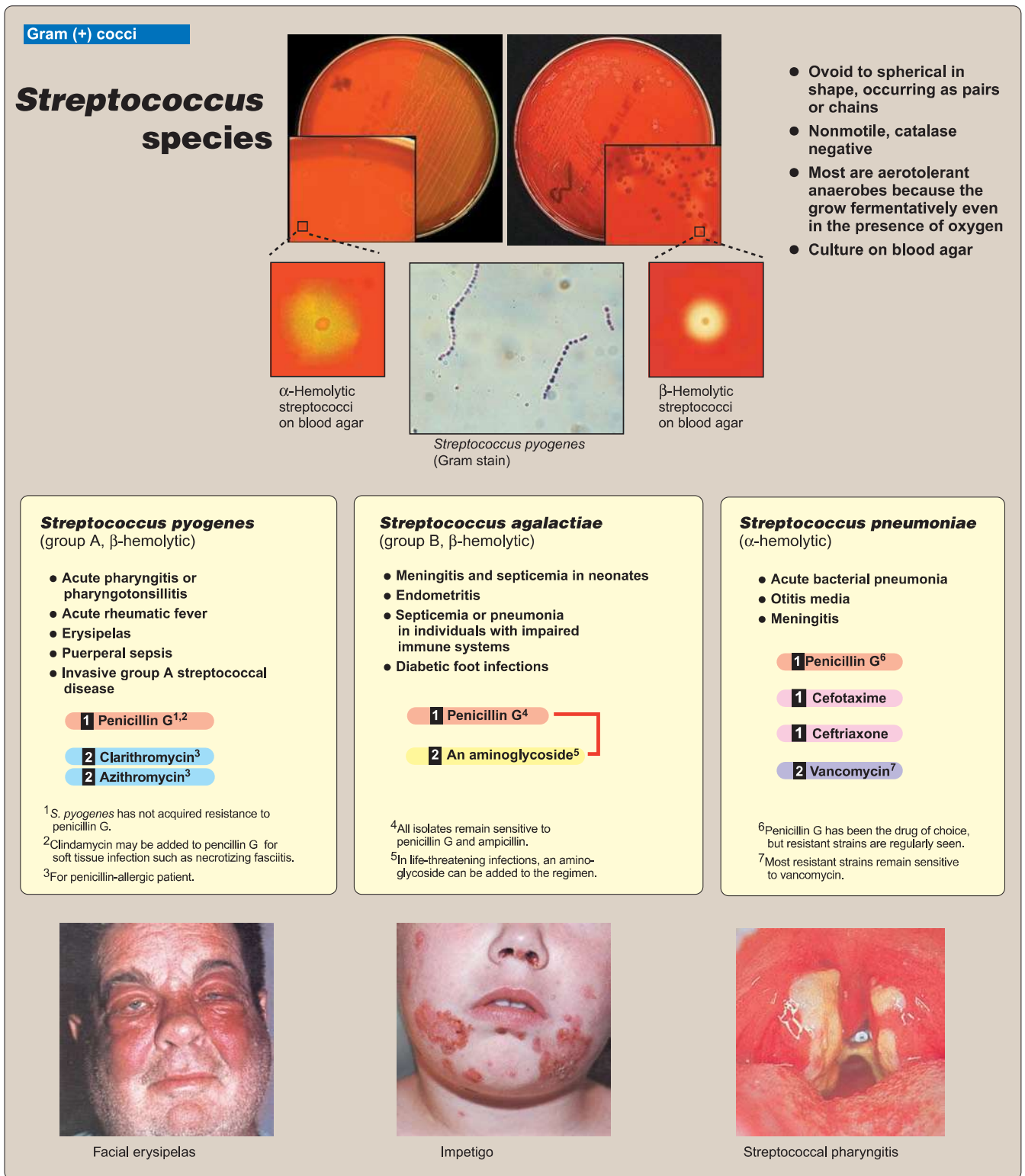


Figure 9.16

Summary of streptococcal disease. 1 Indicates first-line drugs; 2 indicates alternative drugs.

Streptococcus mutans and other members of the viridans group cause dental caries. In patients with abnormal or damaged heart valves, they can also infect these valves during a bacteremia, causing endocarditis (Figure 9.15). Therefore, at-risk patients with rheumatic, congenital, or sclerotic valvular disease should receive prophylactic penicillin before undergoing dental procedures.

Figure 9.16 summarizes streptococcal disease.

Study Questions

Choose the ONE correct answer

9.1 Which of the following statements is correct?

- A. Streptococci are catalase positive.
- B. Growth of *Streptococcus pneumoniae* is not sensitive to optochin.
- C. *Streptococcus pyogenes* is highly sensitive to bacitracin.
- D. Streptococci are obligate anaerobes.
- E. *Enterococcus faecalis* is β -hemolytic.

Correct answer = C. *Streptococcus pyogenes* is highly sensitive to bacitracin, and diagnostic disks with a very low concentration of the antibiotic inhibit growth in culture. All streptococci are catalase negative. The growth of *Streptococcus pneumoniae* is inhibited by optochin. Most streptococci are aerotolerant anaerobes, and grow fermentatively even in the presence of oxygen. *Enterococcus faecalis* is γ hemolytic (no hemolysis).

9.2 A 55-year-old man was admitted to a local hospital with fever and chills. The patient was human immunodeficiency virus positive and had received multiple courses of antibiotics. Blood cultures grew gram-positive cocci, which tested positive with group D streptococcal antisera. The isolate was resistant to penicillin and vancomycin. Which one of the following is the most likely pathogen?

- A. *Streptococcus pneumoniae*
- B. *Enterococcus faecium*
- C. *Streptococcus pyogenes*
- D. *Streptococcus agalactiae*
- E. *Streptococcus mutans*

Correct answer = B. *Enterococcus faecium* is most likely to be vancomycin or multiply drug-resistant. The other organisms are sensitive to vancomycin.

9.3 A 65-year-old male presents to his family physician with a rapid onset fever, chest pain and cough productive of rusty-yellow sputum. Chest X-ray shows focal lobar infiltrates. A Gram stain of a sputum sample contained many polymorphonuclear leukocytes and extracellular gram-positive diplococci. Capsule-specific antibodies bound to the diplococci resulted in a positive Quellung reaction. Which of the following is the most likely pathogen?

- A. *Streptococcus pneumoniae*
- B. *Enterococcus faecium*
- C. *Streptococcus pyogenes*
- D. *Streptococcus agalactiae*
- E. *Enterococcus faecalis*

Correct answer = A. The most common cause of community acquired pneumonia in this age group is *Streptococcus pneumoniae*. The X-ray and microbiological findings are most consistent with a diagnosis of pneumococcal pneumonia. Following treatment, this patient should be advised to be vaccinated with the 23-valent pneumococcal vaccine. *Streptococcus pyogenes* does not typically present as pneumonia. *Streptococcus agalactiae* generally afflicts neonates. The enterococci (*Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*) do not exhibit the Quellung reaction and do not present as community acquired pneumonia.

Staphylococci

8

I. OVERVIEW

Staphylococci and streptococci (see Chapter 9) constitute the main groups of medically important gram-positive cocci. Staphylococcal infections range from the trivial to the rapidly fatal. They can be very difficult to treat, especially those contracted in hospitals, because of the remarkable ability of staphylococci to become resistant to antibiotics. Staphylococci are ubiquitous in nature, with about a dozen species occurring as part of human flora. The most virulent of the genus, *Staphylococcus aureus*, is one of the most common causes of bacterial infections, and is also an important cause of food poisoning and toxic shock syndrome. Among less virulent staphylococcal species, *Staphylococcus epidermidis* is an important cause of prosthetic implant infections, whereas *Staphylococcus saprophyticus* causes urinary tract infections, especially cystitis in women. Figure 8.1 summarizes the staphylococci described in this chapter.

II. GENERAL FEATURES

Staphylococci generally stain darkly gram positive (Figure 8.2). They are round rather than oval and tend to occur in bunches like grapes. Because growth of staphylococci requires supplementation with various amino acids and other growth factors, they are routinely cultured on enriched media containing nutrient broth and/or blood (see p. 23). Staphylococci are facultatively anaerobic organisms. They produce catalase, which is one feature that distinguishes them from the catalase-negative streptococci. The most virulent species of staphylococcus is *S. aureus*, almost all isolates of which secrete coagulase, an enzyme that causes citrated plasma to clot. Other species that occasionally cause disease and lack coagulase are often referred to as coagulase-negative staphylococci. Staphylococci are hardy, being resistant to heat and drying, and thus can persist for long periods on fomites (inanimate objects), which can then serve as sources of infection. Frequent hand-washing before and after contact with food or potentially infected individuals decreases the transmission of staphylococcal disease.

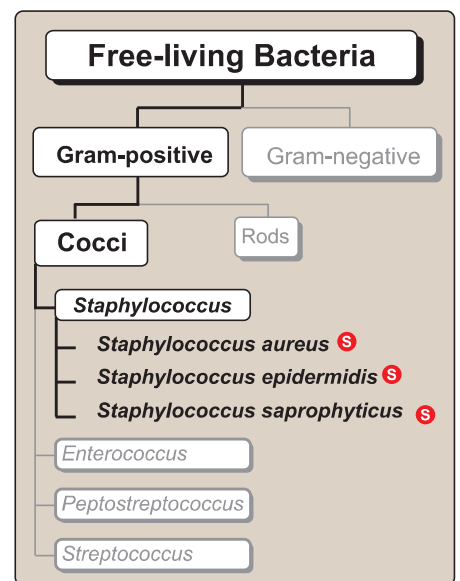


Figure 8.1
Classification of Staphylococci.
S See pp. 349–350 for summaries of these organisms.

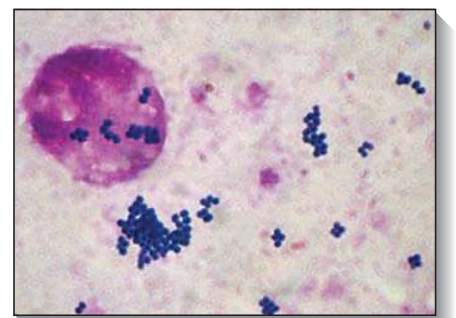


Figure 8.2
Gram stain of *Staphylococcus aureus*.

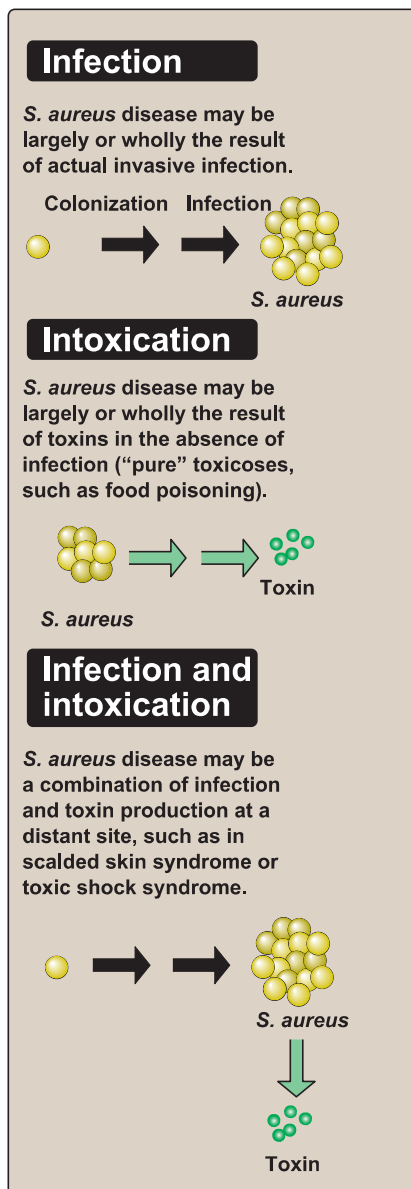


Figure 8.3
Causes of disease resulting from infection with *Staphylococcus aureus*.

III. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Generally, significant host compromise is required for *S. aureus* infection, such as a break in the skin or insertion of a foreign body (for example, wounds, surgical infections, or central venous catheters), an obstructed hair follicle (folliculitis), or a compromised immune system. *S. aureus* disease may be: 1) largely or wholly the result of actual invasive infection, overcoming host defense mechanisms, and the production of extracellular substances which facilitate invasion; 2) a result of toxins in the absence of invasive infection (“pure” toxicoses); or 3) a combination of invasive infection and intoxication (Figure 8.3).

A. Epidemiology

S. aureus is frequently carried by healthy individuals on the skin and mucous membranes. Carriers serve as a source of infection to themselves and others; for example, by direct contact, by contamination of fomites (objects such as a doorknob, which in turn can be a source of infection) or contamination of food, which can then result in food poisoning.

B. Pathogenesis

Virulence factors are the genetic, biochemical, or structural features that enable an organism to produce disease. The clinical outcome of an infection depends on the virulence of the pathogen and the opposing effectiveness of the host defense mechanisms. *S. aureus* expresses many potential virulence factors (Figure 8.4). [Note: Coagulase activity results in localized clotting, which restricts access by polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and other immune defenses. This would make coagulase a virulence factor, even though mutants lacking the ability to make this factor remain virulent in animal models]. For the majority of diseases caused by *S. aureus*, pathogenesis depends on the combined actions of several virulence factors, so it is difficult to determine precisely the role of any given factor.

1. Cell wall virulence factors:

- a. **Capsule:** Most clinical isolates express a polysaccharide “microcapsule” of Types 5 or 8. The capsule layer is very thin but has been associated with increased resistance to phagocytosis. Clinical isolates produce capsule but expression is rapidly lost upon *in vitro* cultivation.
- b. **Protein A:** Protein A is a major component of the *S. aureus* cell wall. It binds to the Fc region of IgG, exerting an anti-opsonin (and therefore strongly antiphagocytic) effect.
- c. **Fibronectin-binding protein:** Fibronectin-binding protein (FnBP) and other staphylococcal surface proteins promote binding to mucosal cells and tissue matrices.
- d. **Clumping factor:** This FnBP enhances clumping of the organisms in the presence of plasma.

- 2. Cytolytic exotoxins:** α , β , γ , and δ Toxins attack mammalian cell (including red blood cell) membranes, and are often referred to as hemolysins. α Toxin is the best studied, and is chromosomally encoded. It polymerizes into tubes that pierce membranes, resulting in the loss of important molecules and, eventually, in osmotic lysis.
- 3. Panton-Valentine leukocidin:** This pore-forming toxin lyses PMNs. Production of this toxin makes strains more virulent. This toxin is produced predominantly by community-acquired methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains (see p. 74).
- 4. Superantigen exotoxins:** These toxins have an affinity for the T-cell receptor–major histocompatibility complex Class II antigen complex. They stimulate enhanced T-lymphocyte response (as many as 20 percent of T cells respond, compared with 0.01 percent responding to the usual processed antigens). This difference is a result of their ability to recognize a relatively conserved region of the T-cell receptor. This major T-cell activation can cause toxic shock syndrome, primarily by release into the circulation of inordinately large amounts of T-cell cytokines, such as interleukin-2 (IL-2), interferon- γ (IFN- γ), and tumor necrosis factor- α (TNF- α).
- a. Enterotoxins:** Enterotoxins (six major antigenic types: A, B, C, D, E, and G) are produced by approximately half of all *S. aureus* isolates. When these bacteria contaminate food and are allowed to grow, they secrete enterotoxin, ingestion of which can cause food poisoning. [Note: The toxin stimulates the vomiting center in the brain by binding to neural receptors in the upper gastrointestinal (GI) tract.] Enterotoxins are superantigens that are even more heat-stable than *S. aureus*. Therefore, organisms are not always recovered from incriminated food but the toxin may be recovered.
- b. Toxic shock syndrome toxin (TSST-1):** This is the classic cause of toxic shock syndrome (TSS). Because of similarities in molecular structure, it is sometimes referred to as staphylococcal enterotoxin F, although it does not cause food poisoning when ingested.
- c. Exfoliatin (exfoliative toxin, ET)** is also a superantigen. It causes scalded skin syndrome in children. The toxin cleaves desmoglein 1, which is a component of desmosomes (cell structures specialized for cell-to-cell adhesion). Cleavage results in loss of the superficial skin layer.

C. Clinical significance

S. aureus causes disease by infecting tissues, typically creating abscesses and/or by producing toxins (Figure 8.5). A common entry point into the body is a break in the skin, which may be a minute needlestick or a surgical wound. Another portal of entry is the respiratory tract. For example, staphylococcal pneumonia is an important

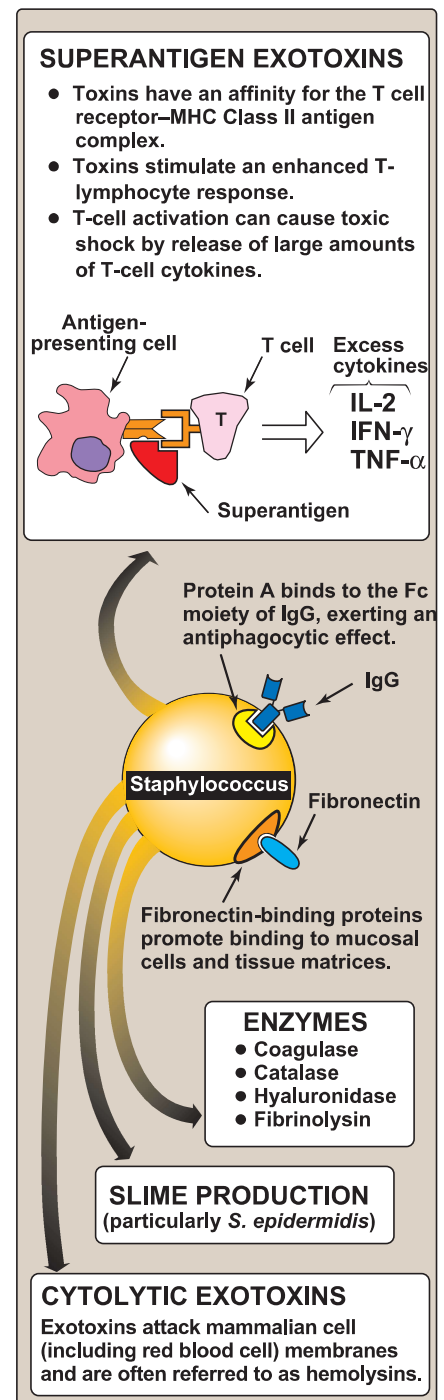


Figure 8.4

Virulence factors that may play a role in the pathogenesis of staphylococcal infections. MHC = major histocompatibility complex; IL = interleukin; IFN = interferon; TNF = tumor necrosis factor; IgG = immunoglobulin G.

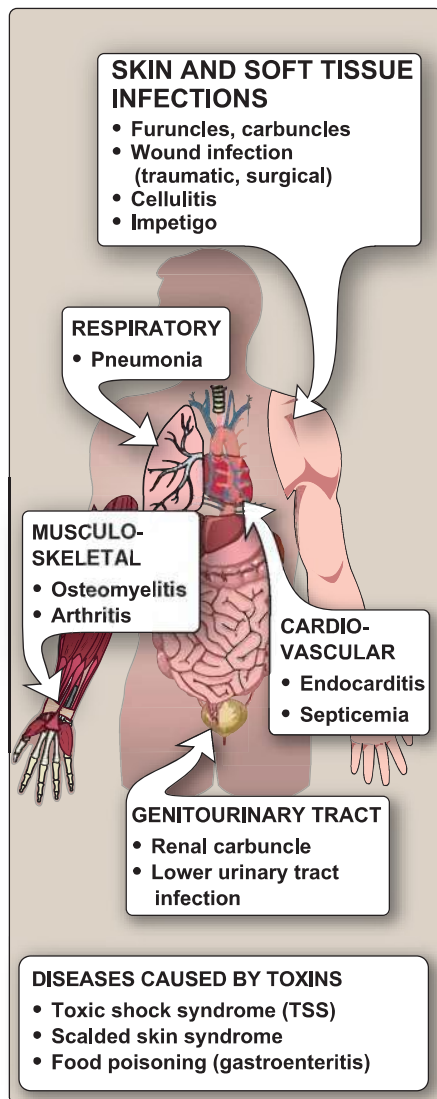


Figure 8.5

Diseases caused by *Staphylococcus aureus*.

complication of influenza. The localized host response to staphylococcal infection is inflammation, characterized by swelling, accumulation of pus, and necrosis of tissue. Fibroblasts and their products may form a wall around the inflamed area, which contains bacteria and leukocytes. This creates a characteristic pus-filled boil or abscess. Serious consequences of staphylococcal infections occur when the bacteria invade the bloodstream. The resulting septicemia (the presence and persistence of pathogenic microorganisms or their toxins in the blood) may be rapidly fatal. Bacteremia (the presence of viable bacteria circulating in the bloodstream) may result in seeding internal abscesses, skin lesions, or infections in the lung, kidney, heart, skeletal muscle, or meninges.

- 1. Localized skin infections:** The most common *S. aureus* infections are small, superficial abscesses involving hair follicles (folliculitis) or sweat or sebaceous glands (see Figure 8.12). For example, the common sty (external hordeolum) is created by infection of an eyelash follicle. Subcutaneous abscesses called furuncles (boils) often form around foreign bodies such as splinters. These generally respond to local therapy, that is, removal of the foreign body, soaking, and drainage as indicated. Carbuncles are larger, deeper, multiloculated skin infections that can lead to bacteremia and require antibiotic therapy and debridement. Impetigo is usually a localized, superficial, spreading crusty skin lesion generally seen in children. It can be caused by *S. aureus*, although more commonly by *Streptococcus pyogenes* (see p. 80), or both organisms together. Human staphylococcal infections usually remain localized at the portal of entry by normal host defenses.
- 2. Deep, localized infections:** These may be metastatic from superficial infections or skin carriage or may result from trauma. *S. aureus* is the most common cause of acute and chronic infection of bone marrow. *S. aureus* is also the most common cause of acute infection of joint space in children (septic joint). [Note: Septic joints are medical emergencies because pus can rapidly cause irreparable cartilage damage. They must be treated promptly with drainage and an antibiotic.]
- 3. Acute endocarditis:** Generally associated with intravenous drug abuse, acute endocarditis is caused by injection of contaminated preparations or by needles contaminated with *S. aureus*. *S. aureus* also colonizes the skin around the injection site, and if the skin is not sterilized before injection, the bacteria can be introduced into soft tissues and the bloodstream, even when a sterilized needle is used. An abscess in any organ or tissue is cause to suspect *S. aureus*, although many other bacteria can cause abscesses.
- 4. Septicemia** is a generalized infection with sepsis or bacteremia that may be associated with a known focus (for example, a septic joint) or not (an occult focus).
- 5. Pneumonia:** *S. aureus* is a cause of severe, necrotizing pneumonia.

6. Nosocomial infections: *S. aureus* is one of the most common causes of hospital-associated infections, often of wounds (surgical, decubital) or bacteremia associated with catheters (see Figure 8.10). Progression to septicemia is often a terminal event.

7. Toxinoses: These are diseases caused by the action of a toxin, frequently when the organism that secreted the toxin is undetectable. Toxinoses caused by *S. aureus* include:

a. Toxic shock syndrome: TSS results in high fever, rash (resembling a sunburn, with diffuse erythema followed by desquamation), vomiting, diarrhea, hypotension, and multiorgan involvement (especially GI, renal, and/or hepatic damage). An outbreak of TSS occurred in the late 1970s among menstruating women. It was shown to be related to the use of hyperabsorbant tampons by women who happened to be vaginally colonized by toxic shock syndrome toxin–(TSST)–positive strains of *S. aureus*. [Note: These tampons stimulated TSST expression, resulting in entry of the toxin into the circulation in the absence of true infection.] The incidence has decreased markedly since such tampons were removed from the market. Of the few cases of TSS that occur currently, approximately half are associated with ordinary *S. aureus* infections. Of the remainder, many result from a circulating enterotoxin rather than TSST. Figure 8.6 shows the desquamation (peeling or scaling of the skin) seen in TSS.

b. Staphylococcal gastroenteritis: This is caused by ingestion of food contaminated with enterotoxin-producing *S. aureus*. Often contaminated by a food handler, these foods tend to be protein rich (for example, egg salad or cream pastry) or salty, like ham (*S. aureus* is salt tolerant), and improperly refrigerated. These heat-resistant toxins are able to withstand subsequent reheating. Symptoms, such as nausea, vomiting, and diarrhea, are acute following a short incubation period (less than 6 hours) and are triggered by local actions of the toxin on the GI tract rather than from infection. See p. 372 for a summary of food-borne illness. The short incubation period of staphylococcal food poisoning occurs because the toxin in the food has already been formed by the staphylococci before the food is ingested.

c. Scalded skin syndrome: This involves the appearance of superficial bullae resulting from the action of an exfoliative toxin that attacks the intercellular adhesive of the stratum granulosum, causing marked epithelial desquamation (see Figure 8.12). The bullae may be infected or may result from toxin produced by organisms infecting a different site.

D. Laboratory identification

Identification of an isolate as a staphylococcus relies largely on microscopic and colony morphology and catalase positivity (Figure

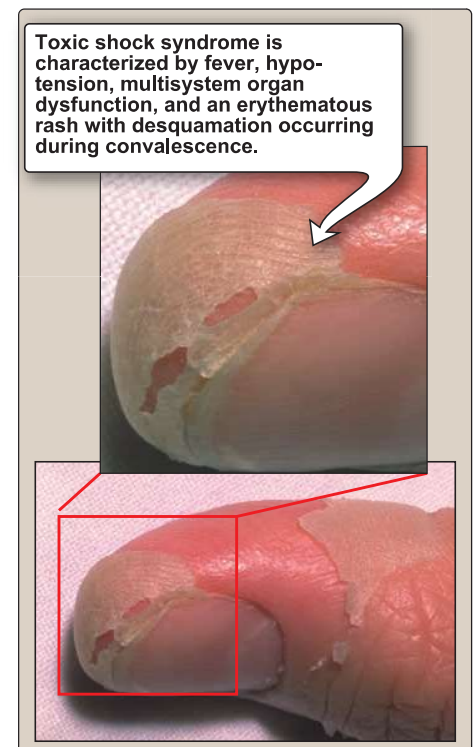


Figure 8.6
Desquamation of skin in toxic shock syndrome.

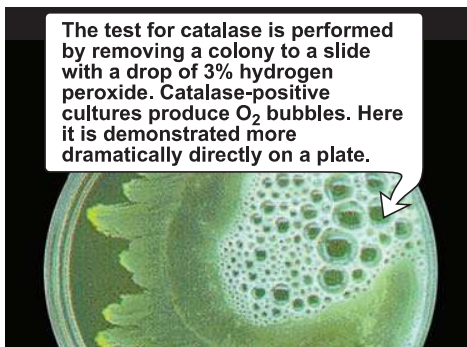


Figure 8.7
Catalase-positive culture of *Staphylococcus aureus*.

8.7). Bacteria stain strongly gram-positive, and are frequently seen in grapelike clusters (see Figure 8.2). *S. aureus* is distinguished from the coagulase-negative staphylococci primarily by coagulase positivity. In addition, *S. aureus* colonies tend to be yellow (hence “aureus,” meaning golden) and hemolytic (see Figure 8.12), rather than gray and nonhemolytic like the coagulase-negative staphylococci. *S. aureus* is also distinguished from most coagulase-negative staphylococci by being mannitol-positive.

E. Immunity

S. aureus infections do not elicit strong or long-lasting immunity, as demonstrated by the continuing susceptibility of individuals to *S. aureus* infections throughout life.

F. Treatment

Serious *S. aureus* infections require aggressive treatment, including incision and drainage of localized lesions, as well as systemic antibiotics. Choice of antibiotics is complicated by the frequent presence of acquired antibiotic resistance determinants (see p. 64). Virtually all community and hospital-acquired *S. aureus* infections are now resistant to penicillin G due to penicillinase-encoding plasmids or transposons. This has required the replacement of the initial agent of choice, penicillin G, by β -lactamase-resistant penicillins, such as methicillin or oxacillin. However, increased use of methicillin and related antibiotics has resulted in *S. aureus* that is resistant to a number of β -lactam antibiotics, such as methicillin, oxacillin and amoxicillin (Figure 8.8). These strains are known as methicillin-resistant *S. aureus*.

1. Hospital-acquired methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA): In recent decades, a high percentage (often in the range of 50 percent) of hospital *S. aureus* isolates has been found to be also resistant to methicillin or oxacillin. Antibiotic resistance is caused by chromosomal acquisition of the gene for a distinct penicillin-binding protein (PBP, see p. 57), PBP-2a. This protein codes for a new peptidoglycan transpeptidase with a low affinity for all currently available β -lactam antibiotics, and thus renders infections with MRSA unresponsive to β -lactam therapy. Compared with methicillin-sensitive *S. aureus*, MRSA infections are associated with worse outcomes, including longer hospital and intensive care unit stays, longer durations of mechanical ventilation, and higher mortality rates. MRSA strains are also frequently resistant to many other antibiotics, some being sensitive only to glycopeptides such as vancomycin.

2. Community-acquired MRSA (CA-MRSA): Community acquired MRSA infections were documented in the mid-1990s, occurring in individuals who had no previous risk factors for MRSA infections, such as exposure to hospital. The most common clinical manifestations of CA-MRSA are skin and soft tissue infections such as abscesses or cellulitis (Figure 8.9). Less commonly, CA-MRSA can also cause severe diseases such as necrotizing pneumonia, osteomyelitis, and septicemia. Community-acquired MRSA has a

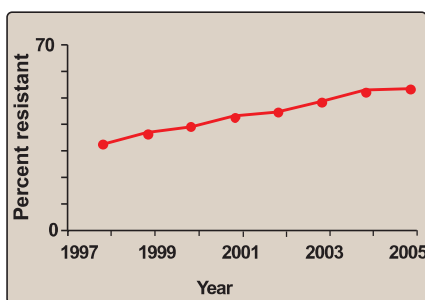


Figure 8.8
Trends in the prevalence of methicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus*.

DRUG	HA-MRSA (Hospital strain)	CA-MRSA (Community strain)
Characteristics of patients	Patients are typically elderly, debilitated, and/or chronically ill.	Patients are typically young and healthy. Children, students, athletes, and military service personnel are at risk.
Infection site	Bacteremia commonly occurs with no obvious infection site. Infection of surgical wounds, open ulcer, intravenous line, and urinary catheters often occur.	Infections often occur in skin and soft tissues, producing cellulitis and abscesses. Infections include necrotizing community pneumonia, septic shock, and bone and joint infections.
Transmission	Transmission occurs within health care settings. Only rarely is transmission among household contacts.	Transmission occurs in the community. May spread in families, sport teams, and other risk groups.
Medical history	Infections more likely in patients with a history of MRSA infections, recent surgery, admission to a hospital or nursing home. Antibiotic use, dialysis and permanent indwelling catheters are risk factors.	Patients show no significant medical history or health care contact.
Virulence of infecting strain	Spread of infection in the community is limited. PVL genes are usually absent.	Spread of infection in the community readily occurs. PVL genes are often present, predisposing to necrotizing soft tissue or lung infections.
Antibiotic susceptibility	Multidrug antibiotic resistance often occurs, resulting in a limited choice of effective therapeutic agents.	CA-MRSA strains are often more virulent than HA-MRSA, but they tend to be susceptible to a broader array of antibiotics.

Figure 8.9

Comparison of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (HA-MRSA) with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). PVL = Pantone-Valentine leukocidin.

number of characteristics that help distinguish it from hospital-associated MRSA. For example, CA-MRSA has a characteristic pattern of DNA fragments obtained upon enzymic cleavage and electrophoresis, and it produces specific toxins. CA-MRSA also exhibits a unique antibiotic resistance pattern, that is, CA-MRSA is sensitive to many antibiotics that do not show much activity against hospital-associated MRSA. These antibiotics include ciprofloxacin and clindamycin, with some CA-MRSA even sensitive to erythromycin, gentamicin, rifampin, tetracycline, and/or trimethoprim-sulfamethoxazole. Emerging antibiotic-resistant strains of *S. aureus* that infect otherwise healthy individuals (community-acquired infections) are often more virulent than the more common strains that originate in hospitals.

- 3. Vancomycin resistance:** Vancomycin has been the agent of choice for empiric treatment of life-threatening MRSA *S. aureus* infections. Unfortunately, in 1997, several MRSA were isolated that had also acquired low-level vancomycin resistance. The incidence of vancomycin resistance has increased steadily, prompting the use of alternative drugs such as quinupristin-dalfopristin, linezolid, and daptomycin. These agents have good *in vitro* activity against MRSA and most other clinically important gram-positive bacterial pathogens.

G. Prevention

There is no effective vaccine against *S. aureus*. Infection control procedures, such as barrier precautions and disinfection of hands and fomites, are important in the control of nosocomial *S. aureus* epidemics.

IV. COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI

Of 12 coagulase-negative staphylococcal species that have been recovered as normal commensals of human skin and anterior nares, the most abundant and important is *S. epidermidis*. For this reason some clinical laboratories designate all coagulase-negative staphylococci as *S. epidermidis*, a practice that is not encouraged. The second most important coagulase-negative staphylococcus is *S. saprophyticus*, which has a special medical niche. Coagulase-negative staphylococcal species are important agents of hospital-acquired infections associated with the use of implanted prosthetic devices and catheters.

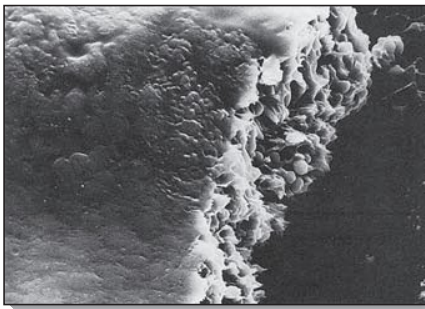


Figure 8.10

Staphylococcus epidermidis attached by its biofilm and growing on the surface of a catheter.

A. *Staphylococcus epidermidis*

S. epidermidis is present in large numbers as part of the normal flora of the skin (see p. 7). As such, it is frequently recovered from blood cultures, generally as a contaminant from skin. Despite its low virulence, it is a common cause of infection of implants such as heart valves and catheters (Figure 8.10). Acquired drug resistance by *S. epidermidis* is even more frequent than by *S. aureus*. Vancomycin sensitivity remains the rule, but vancomycin-resistant isolates have been reported. *S. epidermidis* produces an extracellular polysaccharide material called polysaccharide intercellular adhesin (sometimes called “slime”), that facilitates adherence to bioprosthetic material surfaces, such as intravenous catheters, and acts as a barrier to antimicrobial agents.

B. *Staphylococcus saprophyticus*

This organism is a frequent cause of cystitis in women, probably related to its occurrence as part of normal vaginal flora (see p. 10). It tends to be sensitive to most antibiotics, even penicillin G. *S. saprophyticus* can be distinguished from *S. epidermidis* and most other coagulase-negative staphylococci by its natural resistance to novobiocin (Figure 8.11). [Note: Urinary coagulase-negative staphylococcus is often presumed to be *S. saprophyticus*; but novobiocin resistance can be used for confirmation.]. Figure 8.12 presents a summary of diseases caused by staphylococci.

Species	Frequency of disease	Coagulase	Color of colonies	Mannitol fermentation	Novobiocin resistance
<i>S. aureus</i>	Common	+	Golden yellow	+	–
<i>S. epidermidis</i>	Common	–	White	–	–
<i>S. saprophyticus</i>	Occasional	–	Variable	–	+

Figure 8.11

Summary of various species of staphylococci.

Gram (+) cocci

Colonies are yellow

Staphylococcus species

Staphylococcus aureus

- Skin and soft tissue infections
- Osteomyelitis
- Septic arthritis
- Endocarditis
- Septicemia
- Necrotizing pneumonia
- Toxic shock syndrome
- Food poisoning (antibiotic therapy not used)

Methicillin susceptible

- 1 Oxacillin
- 1 Nafcillin

Methicillin resistant (health-care associated)

- 1 Vancomycin

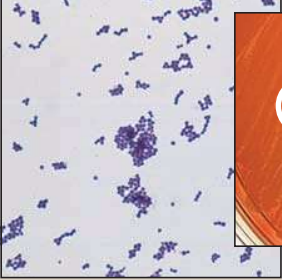
Methicillin resistant (community-acquired; mild-moderate infection)

- 1 Trimethoprim/sulfamethoxazole
- 1 Doxycycline

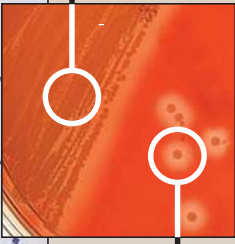
Methicillin resistant (community-acquired; severe infection)

- 1 Daptomycin
- 1 Linezolid
- 1 Vancomycin
- 2 Quinupristin-dalfopristin
- 2 Teicoplanin

Note: Treatment of MRSA may vary by the type and location of infection.



Staphylococcus aureus cultured from a wound infection



Staphylococcus aureus on blood agar surrounded by zone of β hemolysis.

- Catalase (+)
- Nonmotile
- Do not form spores
- Round cocci tending to occur in bunches like grapes
- Facultative anaerobic organisms
- Cultured on enriched media containing broth and/or blood

Staphylococcus epidermidis

- Infections of catheters and heart valves


- 1 Oxacillin
- 1 Nafcillin
- 2 Vancomycin²

¹Most isolates resistant to penicillin G
²Used in methicillin-resistant isolates


Staphylococcus saprophyticus

- Cystitis in women


- Ciprofloxacin




Carbuncle caused by *Staphylococcus aureus*




Furuncle caused by *Staphylococcus aureus*



Folliculitis caused by *Staphylococcus aureus*



Staphylococcal scalded skin syndrome



Superficial impetigo

Figure 8.12 Summary of staphylococcal disease. 1 Indicates first-line drugs; 2 indicates alternative drugs.

التنفس: هو تحرير الطاقة من قبل الخلايا عن طريق أكسدة جزيئات حاوية على كربون وتكوين ثاني أكسيد الكربون ولا يمكن أن تبقى الخلايا حية إلا عندما تتوفر لها مؤونة كافية من الأوكسجين وتستطيع أن تطرح ثاني أكسيد الكربون .

يكون التنفس أما خارجياً External respiration عندما يعنى بالتبادل بين الدم والمحيط الخارجي، أو داخلياً Internal respiration عندما يحدث بين الدم في الشعيرات والأنسجة. يوجد في الفقريات نوعان من الأعضاء التنفسية الخياشيم , الغلاصم gills والرئآت lungs وهذه هي تدابير تهوية الدم ومن ملحقات جهاز الدوران وقد تكون رئآت الأسماك أعضاء أقدم من رئآت رباعية الأقدام وعند الانتقال من أنواع الحياة المائية إلى أنواع الحياة اليابسة حلت الرئآت محل الخياشيم وقد حدث هذا الانفصال بشكل تدريجي جداً، وقد اكتسبت الأسماك أعضاء شبيهة بالرئآت حتى قبل تركها للماء فالأسماك داخلية المنخر الموجودة حالياً والبوليبترس Polypterus رئآت جيدة التكوين كرئآت البرمائيات.

لكثير من البرمائيات ميكانيكات تنفسية فريدة فجلد أغلب البرمائيات هو عضو تنفسي مهم وليس للسلمندرات عديمة الرئآت وسائل تنفسية أخرى. للضفدعة الأفريقية المشعرة بروزات أشبه بالشعر تخرج من جلد الأطراف الخلفية وظيفه تنفسية. وتبتلع الأسماك الهواء وتتم عملية التنفس في المعدة والأمعاء . وهناك أسماك في بعض مناطق الهند تستطيع أن تظهر فوق سطح الماء ولعدة ساعات مادامت تحتفظ بذنبها التنفسي الغزير بالأوعية مغموراً تحت الماء وللسلاحف رذب مجمعي يستخدم أيضاً كعضو تنفسي مساعد.

الخياشيم: هي تراكيب شبيهة بالريش تتألف من لفات شعرية شريانية مغطاة بطبقة رقيقة جداً من نسيج طلائي وقد صممت بحيث تهين أكبر سطح ممكن لتبادل الغازات. يجلب الشريان الوارد الدم الوريدي من القلب إلى الخياشيم ويمر عبر الشعيرات الشريانية حيث يتأكسد ومن ثم يصرف عن طريق الشريان الصادر.

قد تكون الخياشيم خارجية كما في يرقات الأسماك والبرمائيات أو داخلية كما في الأسماك البالغة، وتتألف الخياشيم الداخلية من خيوط الخياشيم Gill filaments التي تبرز من جانبي الحاجز بين الخيشومي كما تترتب الأسلات في نصل الريشة .

يتكون الهيكل الساند للخيشوم من قضيب خيشومي gill bars وأشعة خيشومية gill rays . توجد الخياشيم الخارجية فقط في الأسماك العظمية ويرقات البرمائيات ثم تُفقد أثناء التحول, تفقد اغلب البرمائيات خياشيمها ولكن بعض السلمندرات المائية دائمية الخياشيم Permenibranchiates تحتفظ بخياشيم كبيرة خارجية حتى في أواخر البلوغ . تكون خياشيم الدعاميص الصغيرة كبيرة عندما يكون الماء الذي تعيش فيه فقيراً للأوكسجين وتكون أثرية عندما يكون مشبعاً به .



للأسماك العظمية مئانة عوم تقع في الجهة الظهرية وهي كيس يتصل بالجزء الأمامي من القناة الهضمية, وللأسماك الكانويدية مئانة عوم تتصل بالقناة الهضمية عبر قناة مفتوحة ولكن أغلب الأسماك طرفية التعظم تكون مسدودة القنوات. تملأ الأسماك الكانويدية مئانتها بابتلاعها الهواء في الأسماك ذات القنوات المسدودة وتكون مئانة العوم ردهة أمامية غنية جداً بظفيرة شعرية دموية تدعى الغدة الحمراء Red gland أو الجسم الأحمر Red body أو الشبكة العجيبة Rete mirale وتفرز هذه الظفيرة الأوكسجين وكميات متباينة من النتروجين وثاني أوكسيد الكربون وتوجد شبكة شعرية أخرى في الجزء الخلفي من الردهة تمتص هذه الغازات التي تطرح بعد ذلك من الخياشيم .

تقوم مئانة العوم في أغلب الأسماك العظمية بوظيفة توازن مائي بينما تكون تلك التي في الأسماك الكانويدية والرئوية عضواً تنفسياً. للبوليبتيرص الذي هو من أكثر الأسماك الكانويدية بداءة مئانة عوم مقسمة إلى فصين بطنيين جانبيين يمتدان خلفياً على جانبي المريء وتفتح القناة المشتركة لهذين الكيسين

في المريء, ويحوي جدار مثانة العوم في الأسماك الرئوية طيات تزيد من سطحه لدرجة كبيرة وهذه الأعضاء (الطيات) أسفنجية وهي أعضاء تنفسية أجود تكويناً في الواقع من رئات كثير من البرمائيات. وتعد مثانة العوم في أغلب الأسماك العظمية الراقية عضو توازن مائي ولو سُحب منها الهواء لانقلبت السمكة وبطنها إلى الأعلى.

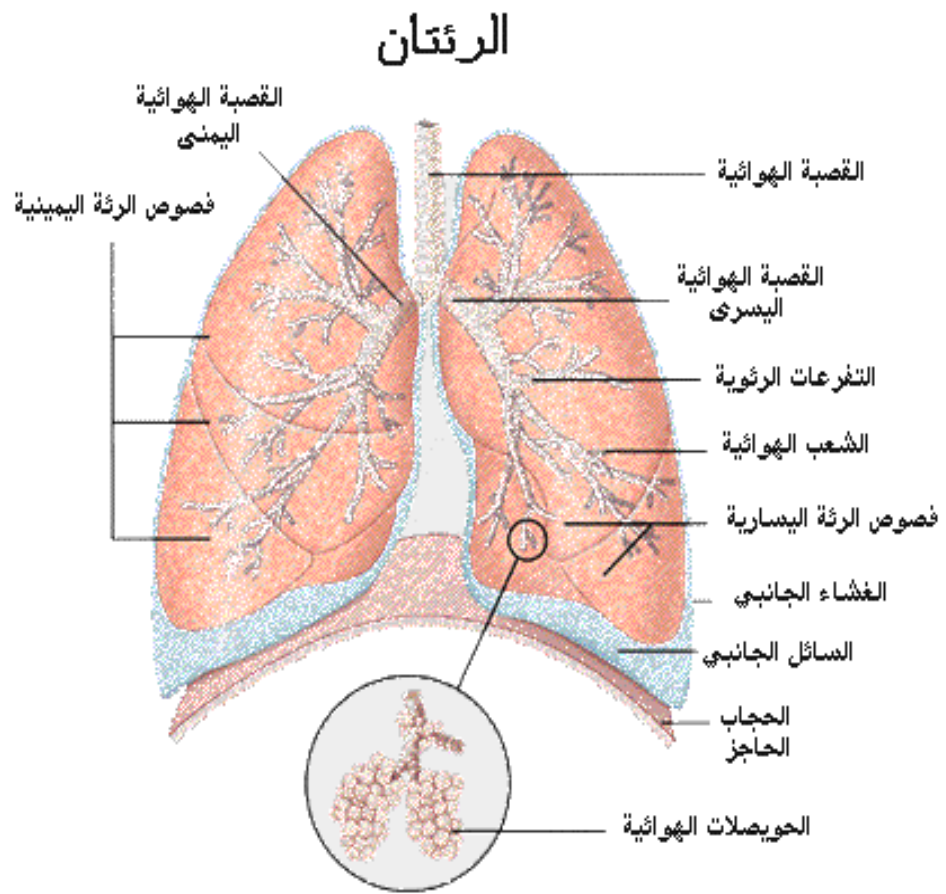
تستطيع الفقريات ذات الرئات التي تستنشق الهواء عبر المناخر التي ترتبط بسقف الفم وليس لمناخر أغلب الأسماك ارتباط بالبلعوم. في صفيحية الخياشيم يمتد أهدودان خارجيان من زاويتي الفم إلى الكيسين الأنفيين المنفصلين ويوجد في الأسماك داخلية المنخر ممر هوائي مفتوح بين المنخرين والبلعوم وتعد الفتحتان الداخليتان لهذين الممرين هما المنخران الداخليان. يكون الممران الأنفيان للبرمائيات قصيرين ومشابهين لنظيريهما في الأسماك التي تستنشق الهواء ويمكن تنظيم فتحتي المنخرين الخارجيين في البرمائيات بفعل عضلي. بتكوين الحنك الكاذب في الزواحف يستطيل الممر الهوائي وبذلك يقع المنخران الداخليان بعيداً إلى الوراء في البلعوم، وتكون الممرات الأنفية في أغلب الطيور قصيرة لأن المنخرين الخارجيين يقعان عند قاعدة الفك. للجزء الخارجي من القناة الأنفية في الطيور عظامان مفتولان أو ثلاثة يغطي الخلفي منها بنسيج طلائي شمّي يحوي خلايا مستقبلة للرائحة .

يكون الممران الأنفيان في اللبائن كبيرين وطويلين وتوجد داخل المنخرين الخارجيين تماماً منطقة دهليزية Vestibular region مبطنة بنسيج طلائي يشبه ذلك الذي في الجلد، ويفتح الدهليز بشبكة من عظام مفتولة وتغطي بنسيج طلائي مهدب يحوي خلايا عديدة فارزة للمخاط بينما تحوي تلك التي توجد في المنطقة الشمية خلايا حسية شبيهة. يهيئ الممران الأنفيان الملتويان والطويلان وسيلة لتدفئة الهواء قبل وصوله إلى البلعوم ولاقتناص دقائق الغبار ولالتقاط الإحساسات الشمية .

للجزء الخلفي من البلعوم في رباعية الأقدام فتحتان أمامية هي المزمارة glottis والثانية إلى الخلف هي المريء. وينتصب بروز أمام المزمارة هو لسان المزمارة Epiglottis وأثناء عملية الابتلاع ترفع الحنجرة تلقائياً ويمنع لسان المزمارة وجذر اللسان دقائق الطعام والسائل من الدخول خلال المزمارة.

يؤدي المزمارة إلى فجوة واسعة تدعى الحنجرة أو (صندوق الصوت) وتكون هذه أفضل نمواً في اللبائن. تتألف الحنجرة من سلسلة من الغضاريف مرتبطة بأحكام مع الجهاز اللامي وتتألف الحزم الممتدة على الجدران الجانبية للحنجرة الحبال الصوتية Vocal cords إذ يسبب الهواء الخارج من الممرين

التنفسيين اهتزاز الحبال الصوتية وتوليد الصوت. تفتح الحنجرة في قصبة أنبوبية ذات هيكل مؤلف من حلقات غضروفية تمنع انسدادها وفي أغلب اللبائن تكون هذه الحلقات في الجهة الظهرية حيث تكون القصبة بتماس مع المريء. يتفاوت طول القصبة ويتناسب عادةً مع طول العنق وتتشعب القصبة عند طرفها البعيد الى شعبتين Bronchi اليمنى ويسرى تدخلان الرئتان اللتان تعدان عضوا التنفس الرئيسان في رباعية الأقدام . تتألف الرئتان من ممرات ناقلة للهواء وفسح هوائية هي الحويصلات الهوائية التي يتم فيها تبادل الغازات . تكون رئات بعض البرمائيات عبارة عن أكياس بسيطة ذات جدار وعائي ولكنها في فقريات أخرى راقية تصبح معقدة .



النمو :

يرتبط نشوء الجهاز التنفسي ارتباطاً وثيقاً بالبلعوم والأقواس والجيوب البلعومية ويمثل البلعوم الجزء المتسع من القناة الهضمية أو المعي الأمامي وهو مبطن كلياً بالأديم الباطن الذي تشتق منه جميع التراكيب التي تنشأ منه وهناك سلسلة من الجيوب البلعومية تبرز من جانبي البلعوم .

تتألف كتلة الخيشوم من أوعية دموية تنشأ من الأقواس الأبهريّة وإطار هيكلية وكلاهما ينشآن من الأديم المتوسط، أما الغطاء الداخلي للشقوق الخيشومية فهو من الأديم الباطن الذي يبطن جيوب الخيشوم الأصلي بينما يمثل الغطاء الخارجي الأديم الظاهر الذي هو امتداد للأديم الظاهر للجلد .

تبطن ممرات الشقوق الخيشومية غالباً بالأديم الباطن وبعض الأديم الظاهر والاثتان غير متميزين. ينمو في الأجنة المبكرة رذب مفرد من وسط قاع البلعوم خلف الزوج الأخير من الشقوق البلعومية تماماً ويعطي هذا الرذب من الأديم الباطن مئانة العوم في الأسماك والقصبّة والرئتين في رباعية الأقدام. تزاح مئانة العوم في أغلب الأسماك إلى الجهة الظهرية ولكنها في البوليبيترص تبقى بطنية وتنقسم إلى فصين يستقر كل منهما في أحد جهتي المريء.

يسمى الرذب البلعومي في رباعية الأقدام ببرعم الرئة Primary bronchus وهو ينمو ويستطيل إلى الجهة الخلفية وينقسم إلى نصفين في طرفه الظهري إذ يمثل كل جزء شعبة أولية. تنقسم كل شعبة أولية عدة مرات حتى تتكون الشجرة الشعبية والعناصر التنفسية للرئتين كلها. إن بطانة النسيج الطلائي للحنجرة والقصبّة، الأشجار الشعبية والحوصلات الهوائية للرئتين مشتقة جميعاً من الأديم الباطن. يتألف قوام نسيج الرئة من أوعية دموية ونسيج رابط مشتقين من الأديم المتوسط .

التشريح المقارن للجهاز التنفسي :

• دائرية الفم :

تنشأ في الأموسيت ثمانية أزواج من الشقوق الخيشومية على جانبي البلعوم ولكن الزوج الأول يُفقد، وأثناء عملية التحول يصبح البلعوم منفصلاً عن المريء وبلعوم الجلبي البالغ هو كيس مفتوح من طرف واحد يقع تحت المريء . يتصل البلعوم والمريء أماماً بمدخل البلعوم Gullet القصير عند قاع الممص الفمي. تؤدي سبعة شقوق خيشومية على كل من جانبي البلعوم إلى سبعة جيوب خيشومية مستديرة، وينفتح كل جيب إلى الخارج عبر شق خيشومي خارجي منفصل. أن تيار الماء إلى الخياشيم يمكن أن يأتي إما عبر القمع الفمي أو عبر الشقوق الخيشومية الخارجية مباشرة. يرتبط بلعوم الأسماك الرخوة بالمريء ولا تفتح جيوبها الخيشومية إلى الخارج مباشرة، ويمتد أنبوب من كل جيب نحو الخلف ثم تجتمع كل الأنابيب معاً وتفتح كقناة مفردة .

• الأسماك :

البلعوم ممر طويل واسع نسبياً، يتخصر في الجهة الخلفية إلى فتحة المريء القصير. يفتح البلعوم من الجانبين إلى الخارج بشقوق خيشومية يطرد الماء إلى الفم من خلالها. يرتبط فتح الفم وغلقه في الأسماك بالتنفس فعندما يفتح الفم وتغلق الشقوق الخيشومية يتسع البلعوم ويُسحب الماء إلى الداخل. عندما يغلق وتفتح الشقوق الخيشومية يتخصر البلعوم لطرد الماء الذي يكون قد أتم تبادل الغازات مع الخياشيم. لصفيحية الخياشيم وللأسماك العظمية خمسة شقوق خيشومية أما الأسماك الرئوية فلها أقل عدد من الخياشيم عند مقارنتها بالأسماك الأخرى، ويختزل الشق الخيشومي الأول في صفيحية الخياشيم ويدعى المتنفس Spiracle ويكون هذا صغيراً أو معدوماً في الأنواع سريعة السباحة وكبير في الأسماك المتجولة في القاع كالشاع واللخمة. يكون الخيشوم داخل فتحة المتنفس أصغر من الخياشيم الأخرى ويتميز بشريانه الوارد من الخيشوم الذي يليه وليس من القوس الأبهري ولهذا السبب خيشوم المتنفس بالخيشوم الكاذب Pseudobranch .

تتميز الأسماك العظمية بأحتوائها على مئانة عوم وليس للأسماك الغضروفية مئانة عوم، كما ليس للأنواع المتجولة في القاع مئانة عوم إذ تُفقد أثناء التكيف . أن مئانة العوم في الأسماك داخلية المنخر وأغلب الأسماك الكانويدية مفتوحة الكيس Physostomous إذ توصل قناة هوائية Pneumatic duct المئانة بالمعي. تكون مئانة العوم في الأسماك طرفية التعظم الأكثر بداءة مفتوحة أيضاً ولكنها تكون في الأنواع الأخرى مغلقة Physoclistous . تحوي بطانة مئانة العوم للأسماك الكانويدية طيات شبيهة بتلك الموجودة في رئات رباعية الأقدام، إذ تُعد مئانة العوم في بعض الحالات عضو تنفسي مساعد، إذ تستطيع الأسماك الرئوية أن تعيش داخل الطين الجاف لعدة أشهر خلال فترات الجفاف مستخدمة رئتها فقط للتنفس، كما ولمئانة العوم وظيفة التوازن المائي .

البرمائيات :

بلعوم البرمائيات عريض جداً وليس فيه فتحات خيشومية عند البلوغ عدا في القليل من الذنبيات. يكون المزمار في الذنبيات بمظهره الأكثر بداءة شقاً ضيقاً محاطاً بزوج من الغضاريف وفي البرمائيات الأكثر رقياً توجد الحنجرة وهي مؤلفة من زوج من الغضاريف الطرجهالية Arytenoid cartilages

حول المزمار, وغضروف حلقي واحد تحتها إذ تولّف هذه الغضاريف إطار الحنجرة البسيطة. للضفادع والعلاجيم حبال صوتية أثرية ، كما توجد جيوب صوتية مساعدة في ذكور القافزات وعندما تمتلئ هذه الجيوب بالهواء تتبعث الأصوات وتعطي رنيناً كبيراً.

ليس للقافزات تقريباً قسبة هوائية ويفتح المزمار في الرئتين مباشرةً. القصبة الهوائية في الذنبيات الكبيرة أطول وهي مدعمة بحلقات غضروفية غير تامة وتنقسم إلى شعبتين عند نهايتها الخلفية وتفتح كل شعبة برئة شبيهة بالكيس. لرئات الذنبيات جدران ملساء بينما لرئات القافزات جدار مقسم إلى حواجز. رئات العلاجيم إسفنجية وتحتوي على حواجز وردّهات تنفسية تدعى الحويصلات وكلما كانت البرمائيات أكثر تكيفاً للحياة على اليابسة عظم السطح التنفسي لرئاتها, وهذا يعوض عن نقص عملية التنفس بواسطة الجلد في القافزات التي تعيش على اليابسة كالعلاجيم . ليس لبعض السلمندرات البالغة خياشيم ولا رئات ويجب أن تتم عملية التنفس بواسطة الجلد الرطب إلى حدٍ كبير .

تقع رئات البرمائيات في التجويف البريتوني الجنبى المشترك والذي يكون بتماس مع الأحشاء الأخرى . تتبلع الذنبيات ذات الرئات رديئة التكوين الهواء وتدفعه إلى الرئتين بفتح المزمار وغلق المنخرين ثم رفع قاع الفم .

الزواحف :

قد تعتبر الطية النسيجية الصغيرة الواقعة أمام المزمار لسان مزمار أثري ويحاط المزمار بزوج من الغضاريف الطرجهالية . تتألف الحنجرة البدائية من غضروف حلقي وغضروفين طرجهاليين وهي مدعمة بالجهاز اللامي ولبعض السحالي (العظايا) والتماسيح وهي الوحيدة التي تخرج أصواتاً حبال صوتية صغيرة أما الزواحف الأخرى فتكون بكماء. تكون القصبة الهوائية في السحالي قصيرة لكنها طويلة في السلاحف والتماسيح وتكون مدعمة بحلقات غضروفية غير كاملة وتتفرع القصبة إلى شعبتين عدا بعض الحيات التي تمتلك رئة واحدة فقط . تمتلك رئة أو رئتا الحيات نسيجاً طلائياً تنفسياً عند القاعدة فقط وتولّف بقية الرئة كيساً بسيطاً. تكون رئات السحالي والسلاحف أسفنجية القوام بينما تشابه رئات التماسيح رئات اللبائن. توجد في رئات الحرباء أكياس ضيقة تبرز من السطح الخلفي تتغلغل بين الأحشاء وقد تعتبر هذه التراكيب الغريبة أسلافاً للأكياس الهوائية الموجودة في الطيور. تقع رئات الزواحف إلى الأمام من التجويف البريتوني الجنبى ويوجد في بعض الأنواع طيه في جدار الجسم تفصل جزئياً التجويف إلى

ردهة أمامية تضم رئتین وردهة خلفية تضم الأحشاء. تسبب حركات قاع الحلقوم فعلاً شبيهاً بفعل المنفاخ وتستحدث التنفس كما أن رفع الأضلاع وخفضها بالفعل العضلي يتم العمل نفسه، ويحصل التنفس في السلاحف نتيجة لتقلص وانبساط حزم عضلات خاصة على طول الأحشاء .

الطيور :

يُفتح البلعوم العريض الضحل إلى مزمار شبيه بالشق مدعم بغضروفين طرجهاليين. كما تدعم الحنجرة الضحلة الصغيرة بغضروفين حلقيين وليس للحنجرة حبال صوتية فهي ليست وسيلة لإخراج الصوت في بعض الحالات. تكون القصبة أطول من العنق بدرجة ملحوظة ، في الإوز العراقي تكون القصبة الهوائية ضمن لفات تحت الجلد أو بين العضلات ، وفي الكركي تكون ضمن لفة طويلة مطورة في عظم القص. تتفرع القصبة إلى شعبتين مدعمتين بحلقات عظمية أو غضروفية كاملة ويتحور موقع القصبة إلى شعبتين أحدهما حنجرة سفلى (مصفار Syrinx) تنتج الصوت وهي موجودة في الطيور فقط . أن وسائل اخراج الصوت هي أغشية مهتزة Vibrated membranes يوجد البعض منها عند جوانب الشعبتين ولكن الرئيس منها هو الغشاء الهلالي Semilunar membrane الذي يمر عبر العنصر الهيكلية الوسطي المسمى بولاس Pessulus. تدخل الشعبتان الرئتين الصغيرتين الصلدتين وتمتدان إلى الطرف البعيد حيث تفقدان تدريجياً الحلقات الغضروفية الساندة ويدعى الجزء داخل الرئوي من الشعبة بالشعبة المتوسطة Mesobronchus وهي تعطي شعباً ثانوية جانبية وتتفرع هذه إلى جنب الشعب Parabronchi وتلتف الأخيرة حول الرئة ثم تتجه إلى شعب ثانوية أخرى .

تستمر الشعبتان المتوسطتان وبعض الشعب الثانوية إلى الخلف مجتازة حدود الرئة إذ تتغلغل بين الأحشاء وتخرق العظام وتمتد إلى مواضع متميزة من جسم الطير لتكون الأكياس الهوائية . إن أهم وظيفة للأكياس الهوائية هي تقليل الوزن النوعي للجسم وهي مشابهة لكيس العوم في الأسماك.

توجد الأكياس الأفضل تكويناً في الطيور الأفضل قدرة على الطيران وتتميز الطيور مسطحة القص بأكياس هوائية ضعيفة . تلتصق الرئات الصغيرة الحجم بإحكام بالأضلاع وتقع الرئتان بالتجويفين الجنبين وتصل عن بقية الجوف بغشاء رقيق يدعى بالحاجز المائل Oblique septum ، وتسبب العضلات المرتبطة بهذا الغشاء والأضلاع تمدد الرئتين وتقلصهما إلى الشهيق Inspiration والزفير Expiration . يؤدي انضغاط الأكياس الهوائية وانبساطها أثناء الطيران إلى دوران الهواء .

اللِّبَائِنُ :

يوجد لسان المزمار Epiglottis الشبيه بالغطاء والذي يحرس المزمار في اللبائن فقط كما أن حنجرة اللبائن فقط تكون جيدة التكوين . تتألف الحنجرة من غضروفين طرجهاليين على السطح الخلفي غضروف حلقي خلفهما وتغطي هذه الغضاريف من الجهة البطنية بالغضروف الدرقي Thyroid cartilage - الشبيه بالدرع .

تتمفصل الحنجرة مع الجهاز اللامي وتمتد طيات بين الغضروف الدرقي والغضروفين الطرجهاليين لتشكل الحبال الصوتية. تغير العضلات الحنجرية الداخلية والخارجية المنشأ شكل وحجم الحنجرة وتسحب وترخي الحبال الصوتية لتحدث ارتفاعاً وإنخفاضاً في الأصوات وتكون القصبة الهوائية إما طويلة أو قصيرة اعتماداً على طول العنق وهي مدعمة بحلقات غضروفية غير كاملة في الجهة الظهرية المواجهة للمريء. تكون الحلقات في اللبائن الغاطسة كاملة أو مرتبة بشكل حلزون. تتفرع القصبة إلى شعبتين رئيسيتين تحوي جدرانها حلقات غضروفية، وللخزير شعبة واحدة تذهب إلى الرئة اليسرى وشعبتان إلى الرئة اليمنى وتتفرع داخل الرئة عدة مرات وفي كل مرة يضيق تجويفها وتتقسم الشعب الصغيرة إلى شعبيات تفتقد جدرانها إلى الغضاريف الساندة أن القنوات النهائية للهواء هي الشعبيات التنفسية التي تنشأ منها القنوات الحويصلية وتجمعات الحويصلات. الحويصلات، هي آليات مبطنة بنسيج طلائي رقيق جداً وملاصق بإحكام لبطانة الأوعية الشعرية لدرجة أن التمييز بينها يكون متعذراً حتى بالفحص المجهرى الدقيق.

إن الرئتان هما عضوان أسفنجيان ذوا مظهر خارجي وردي أو رمادي وتكون كل رئة مفصصة وعدد فصوص الرئة اليمنى أكبر من عدد فصوص الرئة اليسرى، فلقطة أربعة فصوص في الجهة اليمنى وثلاثة في الجهة اليسرى ويتناسب عدد الفصوص مع الانقسام الثاني للشعبة التنفسية. في لبائن قليلة كالكسلان وإنسان الغاب (الأورانكتان) رئتان لا تظهران في دور البلوغ أي تفصص كبير. تقع الرئتان بكاملهما في التجويفين الجنبين أو أنهما تبرزان ضمن التجويف الجنبى إذ تُعْطَيَان بالجنب ألحشوي الذي يستمر مع الجنب ألداري المبطن للتجويف. وعلى الخط الوسطي البطني تحت عظم القص يلتقي الجنبان الداريان للتجويفين الجنبين معاً ليكونا حاجزاً يدعى المنصف Mediastinum ، ويمتد هذا من جدار الجسم الظهرى إلى عظم القص ويتصل بالحجاب الحاجز. يُحيط المنصف بالمريء والأبهر والأجوف الخلفي والتجويف التاموري برمته .

The Skin الجلد

الجلد ... اكبر اعضاء الجسم ، اذ يعمل كغطاء واق للأنسجة من الجفاف او فقدان الماء .يستطيع الجلد تكوين تراكيب غريبة التعقيد كريش الطيور ، والحراشف فضلا عن الشعر ، الأشواك ، القرون ، المخالب ، الحوافر ، وأنواع من الغدد التي تفرز كثيرا من المواد المختلفة .

الجلد عضو قابل للتغيير حتى يتمكن من تلبية مختلف الاحتياجات ، اذ تتحكم بتمايز خلايا الجلد قوى معينة لتغيير صفة هذه الخلايا وتقوم بتكوين ملحقات اخرى .

يتكون الجلد من بشرة Epidermis من الخارج اذ تتألف من نسيج حرشفي طلائي متعدد الطبقات مشتق من الأديم الظاهر Ectoderm ومن الأدمة Corium or Dermis التي تقع تحت البشرة وتتألف من نسيج رابط مشتق من الأديم المتوسط Mesoderm .

تعد الأدمة الأساس الذي تنمو فوقه تراكيب البشرة فهي التي تغذي البشرة وتستحدث قدرات وراثية معينة فيها بينما تكبت أخرى .

تشتق اللواحق الخارجية External appendages كالحرشف ، الريش ، الشعر ، القرون ، الاطراف ، اللواحق الداخلية Internal appendages كالغدد الدهنية ، العرقية ، اللبنية ، المخاطية ، العظمية ، جميعها من البشرة .

وتتألف البشرة من طبقتين رئيسيتين هما:-

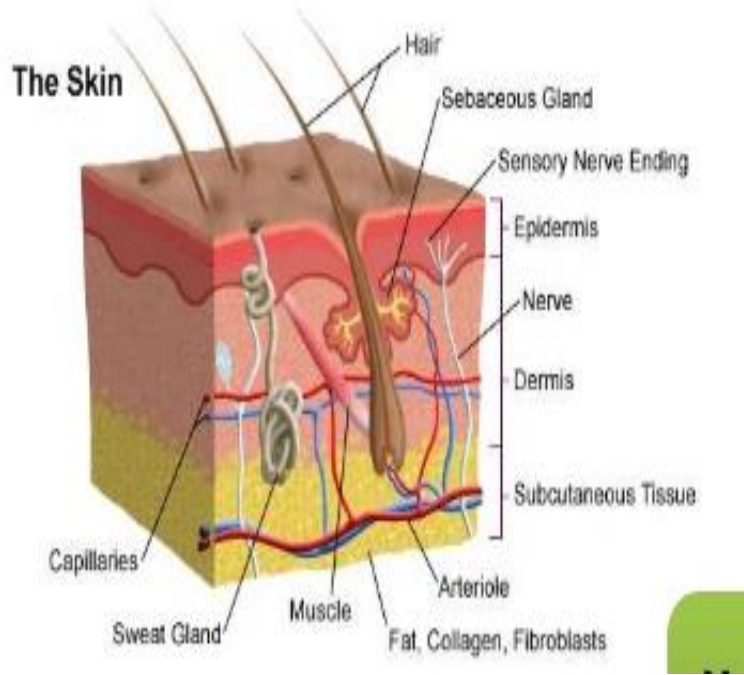
1. المالبيجية Malpighian .. وهي طبقة متباينة السمك مؤلفة من خلايا حية وتقع في الاسفل .

2. المتقرنة : Corneal.... وهي طبقة سطحية تتكون من خلايا متقرنة ميتة .

تنقسم الخلايا القاعدية للطبقة المالبيجية وترتفع تدريجيا الى السطح مكونة اثناء ذلك مادة متقرنة تدعى الكيراتين Keratin اذ تموت هذه الخلايا عند وصولها الطبقة المتقرنة ، فمهمة هذه الخلايا اذن تكوين الكيراتين قبل ان تموت .

تعطي انواع من الصبغة ومقادير متفاوتة منها لون الجلد ، واكثر هذه الصبغ شيوعا هي الميلانين Melanin التي تنشأ من الخلايا الميلانية وتشتق من العرف العصبي Neural crest .

وتدعى جميع الخلايا الصبغية بالخلايا الميلانية melanocytes . يعزى لون الجلد الى ثلاثة مصادر هي البشرة وتشتق من الاديم الظاهر ، والادمة وتشتق من الاديم المتوسط ، والخلايا الميلانية تشتق من العرف العصبي .



التشريح المقارن للجلد :

• الرميح : Amphioxus

تؤلف البشرة طبقة واحدة من النسيج الطلائى مغطاة بكيوكتل رقيق . وتفرز الخلايا الغدية المنفردة او الخلايا الكأسية Goblet cells المخاط الذي يقي السطح من الضرر، والجلد غير ملون . الأدمة رقيقة او تكاد لا تتميز من النسيج الرابط الذي يقع تحتها الا بصعوبة .

• دائرية الفم : Cyclostomata

البشرة رقيقة ، تتألف من نسيج طلائى حشفي طبقي يفرز جليد Pellicle واقيا على السطح . تفرز الغدد احادية الخلية Unicellular glands بين خلايا البشرة كمية كبيرة من المخاط الذي يعكر الماء حول الحيوانات عندما تنزعج ، اما الادمة فرقيقة وتحتوي خلايا ميلانية تقع تحت البشرة مباشرة . وتعد الاسنان في القمع الخدي Buccal Funnel من ملحقات البشرة المتقرنة فعلا .

تكون بشرة الاسماك طبقية ، تفرز الخلايا السطحية طبقة الكيوتكل . وتقوم بالمحافظة على الجسم كثير من الغدد المخاطية احادية الخلية وعديدها الشبيهة بالاكياس اذ تكسوه المخاط ليساعدها على الانزلاق . لبعض الاسماك غدد سمية في قاعدة اشواك الزعانف الكتفية . كما ان الاعضاء المضيئة لأسماك اعماق البحر هي غدد جلدية متحورة .

تكوّن الخلايا الميلانية العديدة في الادمة اصباغ سوداء، حمراء وصفراء إذ تتكمش مغيرة لون السمكة حتى تتكيف لبيئتها.

أن أهم مميزات المظهر الخارجي للأسماك وجود الصفائح العظمية الادمية او القشور او الحراشف وقد يكون بعض منها خالي . يؤلف الغطاء الكلي للحراشف العظمية الهيكل الأدمي Dermal Skeleton للأسماك . ويعتقد ان العظام الادمية للهيكل الداخلي قد اشتقت من الهيكل الادمي . يوجد اغرب الحراشف في الاسماك الكانودية ، اذ تتألف من صفائح عظمية مغطاة بطبقة براقية من مادة الكانوين Ganoin التي تكونها الادمة، كذلك تترتب الحراشف الكانودية في الخفش بمجاميع او صفوف وتتراحم فوق الرأس اذ تكوّن سقف وجوانب الجمجمة . وفي ابي المنقار وغيره يكون الجلد مكسوا كليا بدرع من الصفائح العظمية المعينة .

لصفيحية الخياشيم حراشف صفيحية (درعية) Placoid ذوات صفيحة عظمية قاعدية تبرز منها شوكة الى سطح البشرة معطية الجلد مظهر ورقة الرمل . للأشواك تجويف لبي عند القاعدة مملوء بنسيج رابط مفكك . وتشبه الحراشف الصفيحية الاسنان اكثر من شبهها بالحراشف . تعاني الحراشف الصفيحية عند حافة فم الاسماك العظمية تحولا تدريجيا الى اسنان مما يدعو الى اعتبار الحراشف الأصل القديم للأسنان . لأغلب الاسماك العظمية حراشف دائرية Cycloid او مشطية Ctenoid فالحراشف الدائرية هي صفائح عظمية رقيقة بيضوية الشكل حافاتها الطليقة البعيدة مؤشرة بخطوط دائرية رقيقة متحدة المركز . وتشير الخطوط الخشنة المفصولة بمسافات غير متساوية الى توقف النمو المتسبب عن فصل الشتاء ، او التهيؤ لعملية وضع البيض . تنمو الحراشف من جيوب في الادمة كما تغطي قاعدة النهاية الطليقة بالبشرة وتكون النهايات الطليقة للحراشف المتعاقبة متراكبة Imbricated ، ومعنى هذا انها متراكبة على بعضها كألواح التسقيف . وتكون هذه الحراشف رقيقة جدا وشفافة لتسمح برؤية لون الخلايا الميلانية التي تقع تحتها .

• البرمائيات Amphibians

تكون البشرة رقيقة في الانواع المائية وسميكة في انواع اليابسة . كما تكون الطبقة المتقرنة والمؤلفة من خلايا كيراتينية ميتة . سميكة جدا في الانواع اليابسة .

اما الادمة في الانواع المائية فتكون غنية بالاووعية الدموية ويصبح جلدها عضوا تنفسيا مهما . وتنتشر غدد كثيرة متعددة الخلايا في الجلد اذ تفرز المخاط مما يجعله رطبا . وبجميع

البرمائيات غدد صم Endocrine Gland صغيرة وكبيرة . تشبه الغدد الصم الكبيرة الثآليل وتدعى الغدد النكفية Parotid Glands اذ تقع على جانبي المنطقة التي تلي الرأس في العلاجيم . وهي غدد تفرز مواد شبيهة بالادرينالين Adrenaline . وللعلاجيم الشجرية اصابع تنتهي بوسائد شبيهة بالمحاجم مجهزة بغدد تفرز مادة لزجة وتوجد الحراشف الادمية في بعض العلاجيم . كما ان لجميع البرمائيات عديمة الاطراف حراشف صغيرة شبيهة بحراشف الاسماك مطمورة تحت البشرة . وتشابه البروزات البشرية المتقرنة في نهاية اصابع الاطراف الخلفية لبعض العلاجيم المخالب او الحراشف البشرية Epidermal scales .

• الزواحف Reptiles

للبشرة طبقة متقرنة سميكة ومتماسكة . وفي الحيات والسحالي طبقتان متقرنتان جيدتا التكوين في كل وقت . تتساقط الطبقة الخارجية بصورة دورية باكملها تقريبا وتعرف هذه العملية بالانسلاخ Ecdysis . وعندما تنفصل الطبقة الخارجية تتكشف الطبقة التي تحتها ثم تتكون طبقة جديدة من الطبقة المالبججية . وفي وقت الانسلاخ تتكون جزئيا طبقة متقرنة ثالثة تقع فوق الطبقة المالبججية . للادمة طبقة سطحية رقيقة واخرى عميقة اسمك . تتجمع الخلايا الميلانية في بعض الزواحف في الطبقة الادمية السطحية تحت البشرة تماما ، وقد تكون هذه ضمن البشرة في حيوانات اخرى .

للحيات والتماسيح والسلاحف غدد عطرية Scent glands تقع تحت الفك الاسفل او في المجمع . وتفرز الغدد المجمعية في بعض الحيات مادة تنبعث منها رائحة كريهة . يتميز جلد الزواحف بكونه مغطى بحراشف متقرنة من البشرة ، كما ان للسلاحف والتماسيح صفائح عظمية ادمية . وتشكل الصفائح في السلاحف درعا يشبه الصندوق مغطى بحراشف متقرنة كبيرة Scutes .

للتماسيح والسفيناودون حراشف ادمية على الظهر وعظام ادمية تشبه الاضلاع تدعى الاضلاع البطنية Gastralia في ادمة جلد البطن .

كما ان لبعض السحالي والحيات الكبيرة صفائح ادمية تحت الحراشف البشرية وتكون حراشف بشرية محورة أشواكا حول الرأس والظهر في بعض السحالي . ويتألف الجرس Rattle في الحية ذات الاجراس Rattle snake ، من حراشف بشرية محورة جدا . كما ان خطم السلحفاة مغطى بطبقة سميكة من مادة قرنية كونتها البشرة الواقعة تحتها . يغطي المفصل الأخير من أصبع الزواحف بمخلب يتألف من صفيحة متقرنة محدبة من الجهة الظهرية تدعى الصفيحة الظهرية (المخلبية) Unguis واخرى مقعرة من الجهة البطنية تدعى الصفيحة تحت الظهرية Subunguis .

• الطيور Birds

الجلد رقيق نسبيا ، اذ تتألف البشرة من طبقة متقرنة خالية من القشور وطبقة مالبيجية سمكية نسبيا . ولا تحوي الادمة الرقيقة عادة خلايا ميلانية. يخلو جلد الطيور بشكل ملحوظ من الغدد ما عدا الغدة الدبرية (الذنبية) Uropygial Gland الواقعة فوق الذنب . تفرز هذه الغدة مادة زيتية يستخدمها الطائر لتزييت ريشه وتصفيفه وقد تنعدم هذه الغدة في بعض الطيور . يغطي رسغ وأصابع قدم الطيور بحراشف بشرية متقرنة . ويعتمد على ترتيب هذه الحراشف المتميز جدا في تصنيف مختلف الرتب والاجناس .

تكون لذكور بعض رتب الطيور مهمازا كبيرا يغطي بمخروط متقرن يقع خلف رسغ القدم . وتعتبر المهاميز بمثابة زينات . ولكنها ايضا تستخدم كسلاح في النزال . وقد توجد المهاميز المتقرنة في اجنحة بعض الطيور كالحباري والجاكانا (الخواص).

يغطي المفصل الاخير من الاصابع بمخلب جيد النمو خاصة في الطيور المفترسة . الفكنا الاعلى والاسفل في جميع الطيور مغطيان بمنقار بشري متقرن . ان حجم المنقار وشكله يقع ضمن اهم الصفات المميزة للطيور ويعكس عادات التغذية. الطيور فقريات ذات ريش ويقتصر وجوده عليها فقط ومن المحتمل ان يكون الريش قد تطور من حراشف بشرية مشابهة لحراشف الزواحف .

ينمو الريش فوق الجلد وفي مناطق معينة تدعى المنابت Pterylae . كما وتظهر مناطق اخرى خالية من الريش تدعى المناطق العارية Apteris . ولأغلب الطيور المائية مناطق عارية صغيرة عدا البطريق الذي تنعدم فيه كليا . ينمو الريش من حويصلات هي اسطوانات من البشرة السطحية غطست عميقا في الادمة . يمكن ان نميز ثلاثة انواع من الريش :

1- الريش الشبيه بالشعر . وينمو حول الفم والوجه ويدعى الريش الوبري الخيطي Filoplumes .

2- ريش الزغب Plumulae

3- الريش القلمي (ريش المحيط) وهو الريش الكبير القوي الذي يعطي للجسم شكله العام ، ويؤلف ريش الاجنحة والذنب . وفي صدر مالك الحزين والصقر يقع من الريش تدعى الزغب الدقيقي Powder down .

يحوي الريش قسبة مركزية قوية تسمى المحور Rachis تنمو من جوانبها الأسلات (خيوط) Barbs وينمو من الاسلات أسيلات barbules (خويطات) قصيرة وترتبط الخطاطيف الصغيرة Hooklets التي تنمو من الاسيلات باحكام مع الاسيلات التي تقع امامها لتكون درعا مسنويا يدعى النصل vane . هناك عدد من الصبغ تعطي الريش لونه وينزع الريش موسميا اثناء الانسلاخ ويحل محله ريش جديد . وهو لا ينزع دفعة واحدة . يستبدل الريش عادة بصورة

تدرجية حتى لا يتعري الطير فيعاق طيرانه . يعد الريش تراكيب عازلة ممتازة تهب الطير جمالا كما انه بمثابة غطاء ومنظم حراري كفوء .

• اللبائن Mammals

يحتوي جلد اللبائن مجموعة لافتة للنظر من اللواحق الخارجية وغدد متنوعة كثيرة يعد الشعر والغدد اللبئية خاصتين تخص اللبائن فقط .

يتكون جلد اللبائن ايضا من بشرة وادمة ، وسواء كانت البشرة سميكة او رقيقة فان الانتقال من الطبقة المالبيجية الى الطبقة المتقرنة يكون حادا . وتوجد طبقة ثالثة عند اتصال هاتين الطبقتين هي الطبقة الحبيبية Granular layer، التي تحوي خلاياها حبيبات منظورة مجهريا . تكون الطبقة المتقرنة بصورة عامة سميكة وحرشفية رقيقة ، وعندما تفقد الخلايا عند السطح تعوض بخلايا من الطبقة القاعدية Basal Layer . وهناك توازن بين سرعة الفقدان وسرعة انقسامات الخلايا .

تضم الطبقة المالبيجية والتي تعد سميكة، قاعدية ، طبقة شوكية spinous layer ، طبقة حبيبية متميزة ، طبقة زجاجية Hyaline layer وطبقة متقرنة سميكة جدا . يكون السطح الكلي لجلد الانسان محددا بواسطة خطوط متقاطعة تؤلف أشكالا هندسية تختلف بشكل مميز في كل فرد . وتنشأ هذه التجمعات عند الشهر الرابع للجنين وتتألف من اخاديد وحروف رقيقة .

تحتوي بشرة اللبائن اعداد متباينة من الخلايا الميلانية التي تعطي للجلد لونه الخاص به . وفي اللبائن تقع الخلايا الميلانية في الادمة . تكون ادمة اللبائن اسماك من ادمة بقية الفقريات ، وقد يصل سمك هذه الطبقة في الفيل والكركدن عدة انجات . وتتكون الادمة من طبقة سطحية رقيقة تحت البشرة واخرى عميقة واكثر سمكا منها وتكون قوية وليفية .

توجد الطبقة الدهنية للجلد تحت الادمة ، وهي مستودع للطاقة . جلد اللبائن غني جدا بالغدد للقوارض وللضواري والظلفيات غدد عرقية ولا توجد الغدد العرقية في خنازير غينيا والارانب ، وتكثر الغدد العرقية في رتبة المقدمات Primates ومن ضمنها الانسان .

تكون الغدد العرقية على نوعين :

1. طرفية الافراز Apocrine

2. جزئية الافراز Eccrine

يقتصر وجود الغدد اللبئية Mammary Glands على اللبائن فقط . وهي غدد جلدية معقدة متعددة تنتج الحليب وتكون فعالة بعد ولادة الصغار ، وعند توقف الإرضاع تعود الى دور

الراحة. تخضع الغدد اللبنية لسيطرة هرمونات الغدة النخامية والمبيض . تفتح الغدد اللبنية الى الخارج خلال بروتات تدعى حلمات Nipples او حلمات كاذبة Teats.

قد تقع الغدد اللبنية البالغة بعيدا الى الوراء بين الاطراف الخلفية كما في البقر والحصان . وقد تكون محصورة في منطقة الكتف كما في اغلب حيوانات رتبة المقدمة والفيلة وبقرة البحر (monatee) . تفرز الغدد الدهنية Sebaceous glands مادة دهنية وزيتية تحفظ الجلد طريا وتقع اغلب هذه الغدد في قنوات الشعر . وترتبط بشكل دقيق مع حويصلاتها وتكون جزء من الوحدات الشعرية الدهنية Pilosebaceous units . يحوي جلد بعض اللبائن حراشف متقرنة من البشرة شبيهة بتلك التي للزواحف . كما توجد حراشف متراكبة ناشئة من البشرة فوق ذنب كثير من القوارض . تنتهي اصابع اللبائن بمخالب Claw او ظفر Nail او حافر hoof تتشأ من البشرة . تتألف المخالب من درع ظهري محدب يدعى الصفيحة المخالبية وآخر بطني مقعر يسمى تحت المخالب وللدرعين نفس الطول تقريبا .

توجد الاظافر في الانسان وغيره من افراد رتبة المقدمات . وتتألف من صفيحة ظفرية عريضة ومسطحة . توجد الحوافر في الظلفيات . وتتألف من صفيحة ظلفية سميكة جدا تحيط بمقدمة الاصبع . ويوجد في الجزء الخلفي للاصبع شق يدعى كلوة الحافر frog مغطى ببشرة مثخنة .

لبعض افراد رتبتي شفيعية الاصابع ووترية الاصابع قرون حقيقية . وتتكون القرون الحقيقية من مادة الكيراتين التي تولدها البشرة . يتألف القرن من الياف كيراتينية سميكة التصقت ببعضها ولهذا السبب سميت بقرون الالياف الكيراتينية Keratin fiber horns وهناك قرون عظمية تمتد من العظم الجبهي مثل قرون الأيل اذ تغطي كليا بالجلد ويقال عنها انها في مخمل In velvet لأن الجلد مكسو بشعر كثيف وقصير وبأكتمال النمو يجف الجلد ويتقشر . وتنزع القرون سنويا لتنمو محلها قرون جديدة . ان اهم صفة مميزة لجلد اللبائن هي الشعر Hairs ينمو الشعر من اسطوانات من البشرة تدعى حويصلات الشعر Hair Follicles وقد يلاحظ تباين كبير في الشكل وحجم ولون الشعر .

يتكيف الجلد واللواحق تكيفا ملحوظا للبيئة بصورة جيدة . ان الصوف الكثيف للأغنام وأبقار اواسط اسيا هو تكيف واضح للمناخ البارد ، كما ان التكيف الرائع في جلد اللبائن المائية لا نظير له في أي لبون آخر .

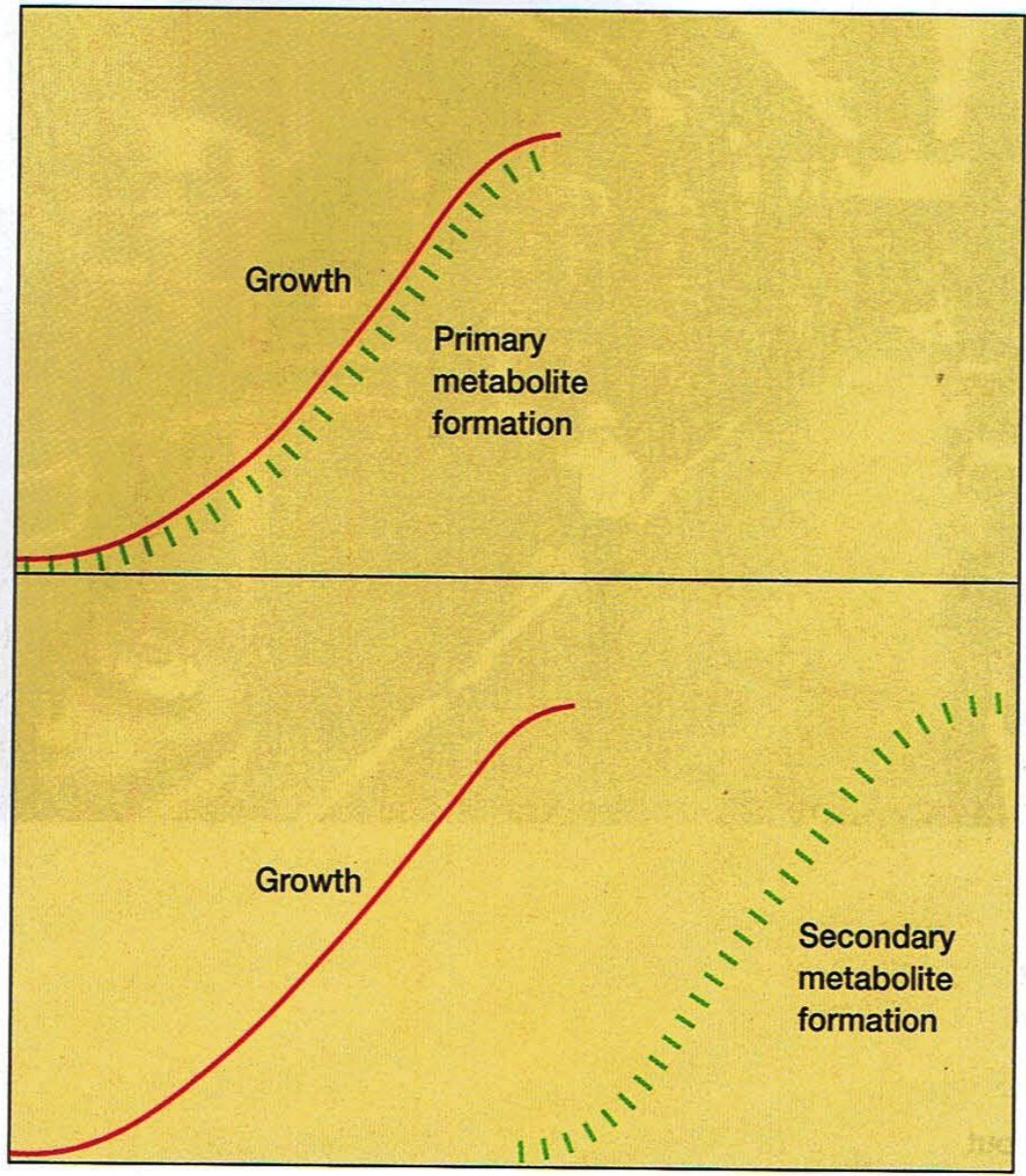
يكون لفصيلة الفقمة فرو جيد وغدد جلدية عديدة وطبقة دهنية سميكة نسبيا تحت الجلد . ان المواد الكيماوية التي تفرزها غدد هذه الحيوانات تكون عازلة نسبيا وتقي الشعر والجلد من

تأثيرات الماء الضارة . تملك بقار البحر والفظ شعرا قليلا وجلدا سميكاً . بينما تفتقر الحيتان وخنزير البحر الى الشعر والغدد الجلدية عدا الغدد اللبنية . وبشرة اللبائن المائية ليست فقط اسمك مما هي في الحيوانات البرية ولكنها تختلف ايضا تركيبا اذ تكون الطبقة المتقرنة السمكية جدا متماسكة وصلدة ولا تسمح بنضوح الماء بدلا من أن تكون بهيئة اجزاء قشرية رقيقة. للحيتان البالينية الكبيرة مشتق جلدي ملحوظ هو البالين Baleen الذي يتألف من صفائح واسعة من الكيراتين تنمو من سقف الفم، وحافة البالين مثقبة اذ تقوم بتصفية الطعام من الماء .

Major products by Biotechnology

Major products by biotechnology

- **Primary metabolites**
- **Secondary metabolites**
 - ❑ **Antibiotics (penicillin and streptomycin)**
 - ❑ **Amino acid**
 - ❑ **Organic acid**
 - ❑ **Biopolymers**
 - ❑ **bioconversion**



Growth

Primary
metabolite
formation

Growth

Secondary
metabolite
formation

Time

Antibiotics

- **Produced by microorganisms**
- **Actinomycetes**
- **Filamentous fungi**
- **Bacteria**



Major Microbial Products and Processes of Interest in Industrial Microbiology and Biotechnology

Substances

Microorganisms

Industrial Products

Ethanol (from glucose)
 Ethanol (from lactose)
 Acetone and butanol
 2,3-butanediol
 Enzymes

Saccharomyces cerevisiae
Kluyveromyces fragilis
Clostridium acetobutylicum
Enterobacter, Serratia
Aspergillus, Bacillus, Mucor, Trichoderma

Agricultural Products

Gibberellins

Gibberella fujikuroi

Food Additives

Amino acids (e.g., lysine)
 Organic acids (citric acid)
 Nucleotides
 Vitamins
 Polysaccharides

Corynebacterium glutamicum
Aspergillus niger
Corynebacterium glutamicum
Ashbya, Eremothecium, Blakeslea
Xanthomonas

Medical Products

Antibiotics
 Alkaloids
 Steroid transformations
 Insulin, human growth hormone, somatostatin, interferons

Penicillium, Streptomyces, Bacillus
Claviceps purpurea
Rhizopus, Arthrobacter
Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae, and others
 (recombinant DNA technology)

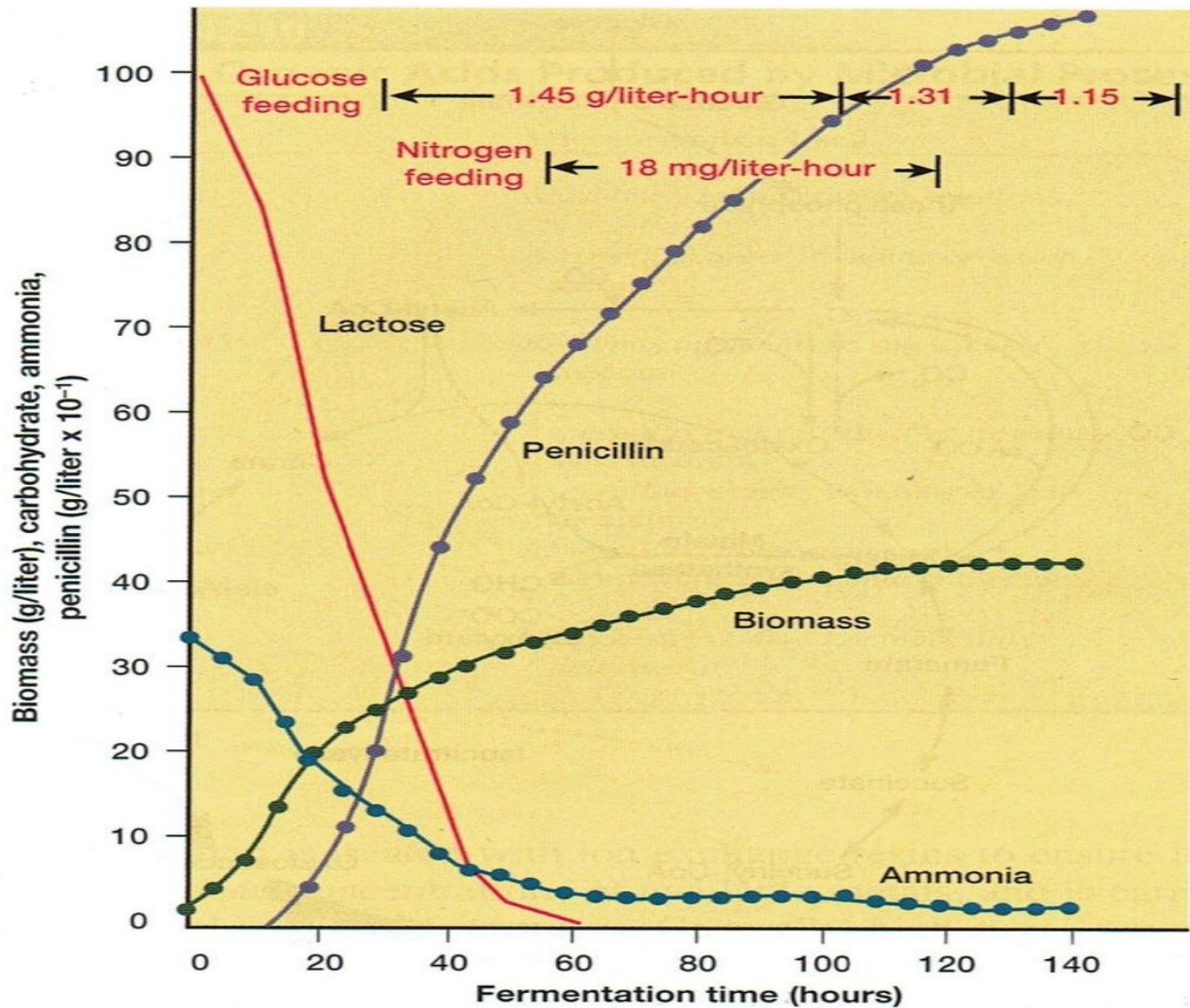
Biofuels

Hydrogen
 Methane
 Ethanol

Photosynthetic microorganisms
Methanobacterium
Zymomonas, Thermoanaerobacter

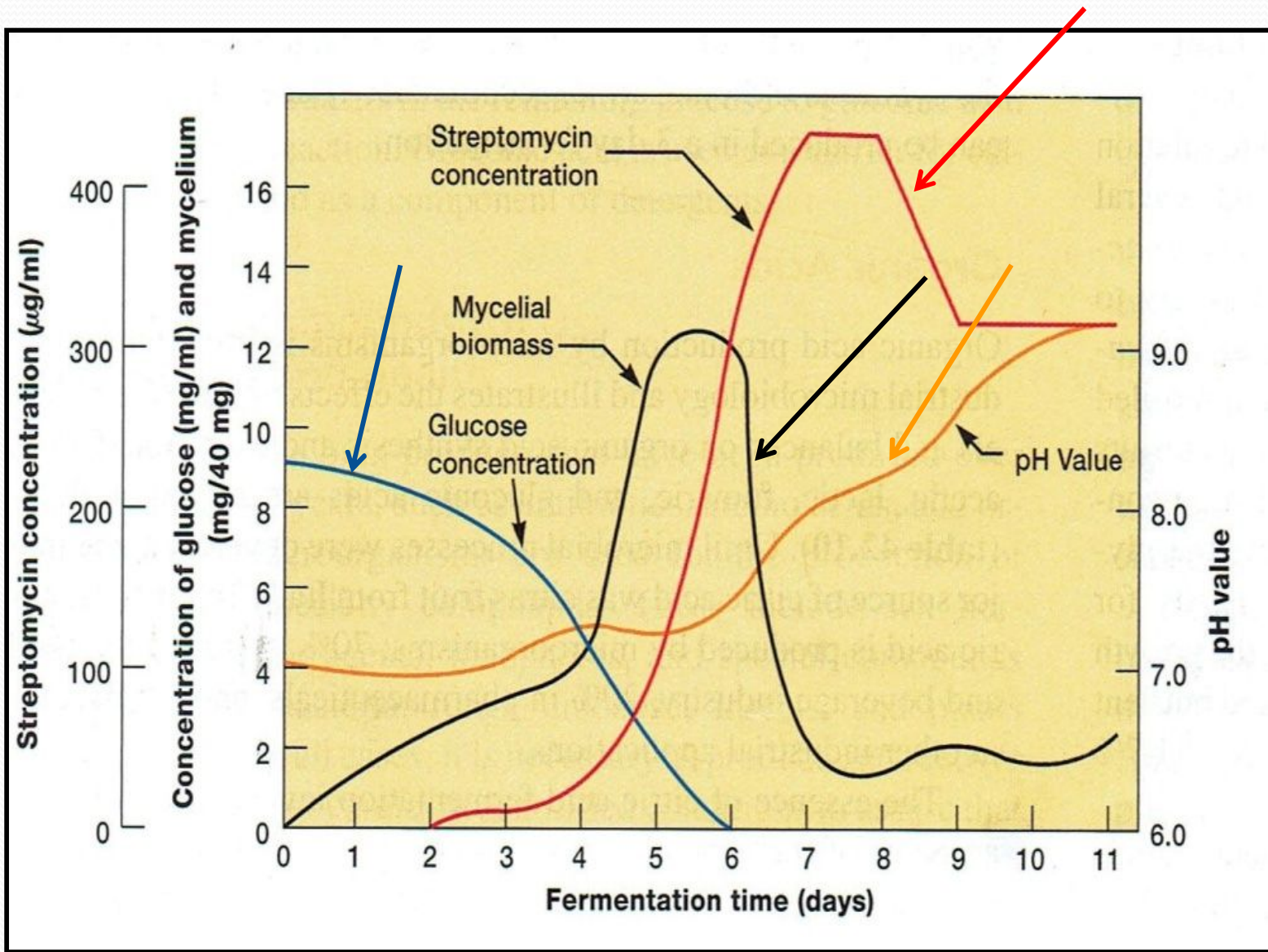
Penicillin

- *Penicillin chrysogenum*
- Lactose
- Limited nitrogen
- Precursor (phenylacetic acid)
- pH neutral
- Fermentation 6-7 days
- Precipitation
- Crystallization



Streptomycin

- **Secondary metabolite**
- ***Streptomyces griseus***
- **Soybean based medium**
- **Glucose**
- **Soybean meal**



Amino acid

- Lysine
- Glutamic acid
- In food (bread , flavor)
- Monosodium glutamate
- Regulatory mutants
- *Corynebacterium glutamicum*

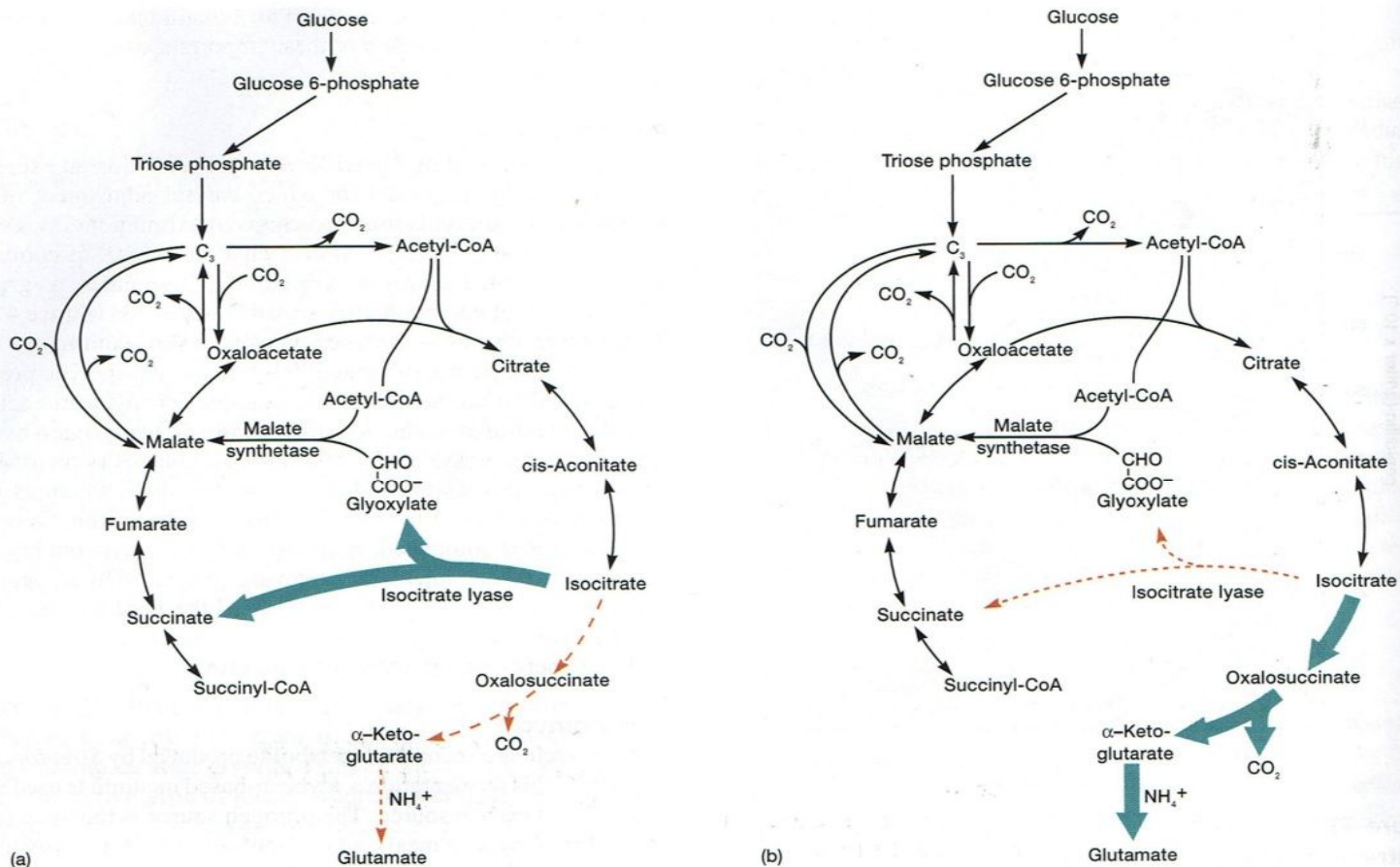


Figure 42.10 Glutamic Acid Production. The sequence of biosynthetic reactions leading from glucose to the accumulation of glutamate by *Corynebacterium glutamicum*. Major carbon flows are noted by bold arrows. (a) Growth with use of the glyoxylate bypass to provide critical intermediates in the TCA cycle. (b) After growth is completed, most of the substrate carbon is processed to glutamate (note shifted bold arrows). The dashed lines indicate reactions that are being used to a lesser extent.

Organic acid

- Produced by microorganisms
- Effects by trace meta levels
- Citric acid fermentation , manganese, iron
- *Aspergillus niger*
- Ion exchange resins
- Controlled metals
- Aerobic stirred Fermenter

Table 42.10

Major Organic Acids Produced by Microbial Processes

Product	Microorganism Used	Representative Uses	Fermentation Conditions
Acetic acid	<i>Acetobacter</i> with ethanol solutions	Wide variety of food uses	Single-step oxidation, with 15% solutions produced; 95–99% yields
Citric acid	<i>Aspergillus niger</i> in molasses-based medium	Pharmaceuticals, as a food additive	High carbohydrate concentrations and controlled limitation of trace metals; 60–80% yields
Fumaric acid	<i>Rhizopus nigricans</i> in sugar-based medium	Resin manufacture, tanning, and sizing	Strongly aerobic fermentation; carbon-nitrogen ratio is critical; zinc should be limited; 60% yields
Gluconic acid	<i>Aspergillus niger</i> in glucose-mineral salts medium	A carrier for calcium and sodium	Uses agitation or stirred fermenters; 95% yields
Itaconic acid	<i>Aspergillus terreus</i> in molasses-salts medium	Esters can be polymerized to make plastics	Highly aerobic medium, below pH 2.2; 85% yields
Kojic acid	<i>Aspergillus flavus-oryzae</i> in carbohydrate-inorganic N medium	The manufacture of fungicides and insecticides when complexed with metals	Iron must be carefully controlled to avoid reaction with kojic acid after fermentation
Lactic acid	Homofermentative <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	As a carrier for calcium and as an acidifier	Purified medium used to facilitate extraction

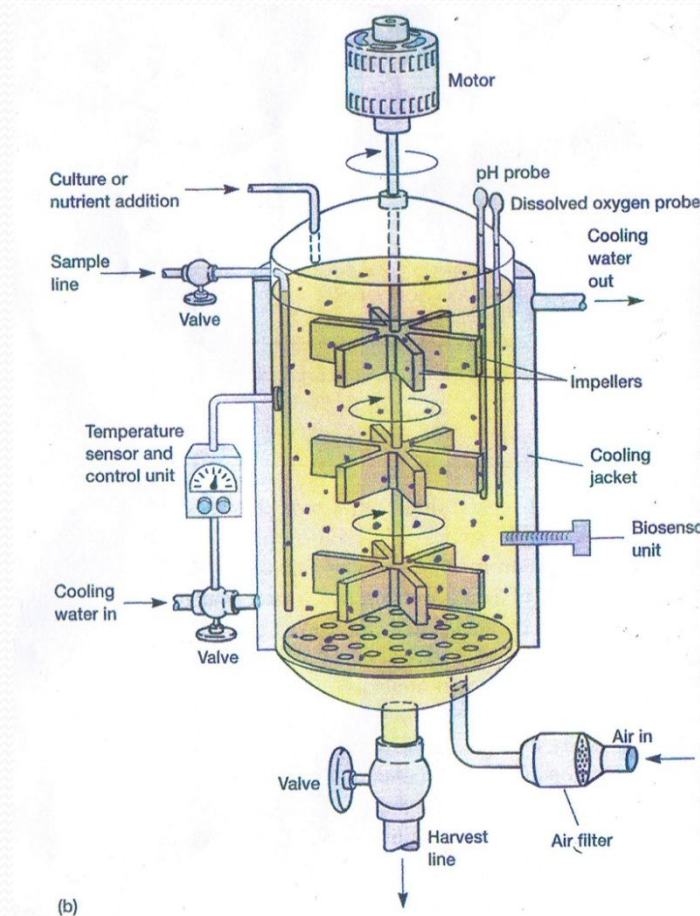
biopolymers

- Microbial products
- Modify the flow characteristics of liquid
- As gelling agents
- Maintain the texture of frozen foods
- Ice cream
- Dextrans, polyester
- *Erwina* polysucchrudes
- Xanthan in enhance Oil recovery

Bioconversion processes

- **Microbial transformation**
- **Biotransformation**
- **Minor changes in molecules**
- **Insertion: hydroxyl, keto function group**
- **Hydroxylation insoluble steroid in acetone**
- **Pregrown microbial cells**
- **Modification**
- **Final product is extracted from medium**

Fermenter



Fermenter

* Microorganism growth in controlled environments

— For many industrial processes, M.O. must be grown using specifically designed media under carefully controlled conditions, including temperature, ~~area~~ aeration and nutrient feeding.

— The fermentation can have several meanings, including the mass culture of microorganisms. The development of industrial fermentation requires appropriate culture media and the large-scale screening of microorganisms.

Medium development

The medium used to grow a microorganism is critical because it can influence the economic competitiveness of a particular process.

Frequently, lower-cost crude materials are used as source of carbon, nitrogen, and phosphorus.

- Crude plant hydrolysates often are used as complex sources of carbon, nitrogen and growth factors.
- By-products from the industry are employed because of their lower cost and greater availability, other useful carbon sources include molasses and whey from cheses manufacture.

Range of fermentation processes

- To produce microbial cell or Biomass
 - To produce microbial enzyme
 - To produce microbial metabolites
 - To produce recombinant products
- To modify a compound which is added to the transformation

Steps of fermentation

Steps of fermentation

- ❖ The formulation of media to be used in culturing, and inoculum.
- ❖ The sterilization of the medium, fermenters and ancillary equipment.
- ❖ Production of an active pure culture to inoculation.
- ❖ Growth the organism in production fermenter under optimum conditions.
- ❖ The extraction of the product and purification
- ❖ The disposal of effluents produced.

Growth of microorganisms

✦ Growth of Microorganisms in an industrial setting

Physical environment for microbial function in culture system must be defined. which involves control of: agitation, temperature, PH changes and oxygenation. This is most critical during scaleup, where a successful procedure developed in a small shake flask is modified for use in a large fermenter.

— The microenvironment of the culture and maintain condition for individual cell despite increases in the Culture Volume.

Fermenters

* Fermenters

Microorganisms can be grown in culture tube, shake flasks and stirred fermenters or other mass culture system.

Stirred fermenters can range in size from 3 or 4 liter to 100 000 liters or larger, depending on production requirements.

A typical industrial stirred fermenters in figure below, medium must be sterilized, aeration, and pH adjustment, sampling and process monitoring must be carried out under controlled conditions.

Function of Fermenters

* Functions of a fermenter

- 1- operated aseptically for a number of days
- 2- provided of aeration and agitation to meet the metabolic requirement of M.O.
- 3- Power consumption should be as low
- 4- Controlled on temperature.
- 5- A system of pH should be provided.
- 6- Sampling facilities.
- 7- The design able to cleaning and maintenance.

Monitoring and controlling parts

* Monitoring and Controlling parts:-

- ☐ Temperature Sensor
- ☐ pH electrode
- ☐ Rotameter
- ☐ Foam probe
- ☐ O₂ sensor
- ☐ Air pump
- ☐ Heater pad
- ☐ Cold finger
- ☐ Pressure valve

Types of Fermenters

a- A glass vessel with a round or flat bottom.

b- Metal vessel (Mild steel coated with glass) or stainless steels.

* All fermenters are sterilized, ability to pressure sterilization and corrosion.

⇒ Glass is useful because it gives

- Smooth surfaces
- non toxic to M.O
- non corrosion
- easy to examine the interior of the vessel



Types of seals

- Gasket seal
- O ring seal.
- Lip seal

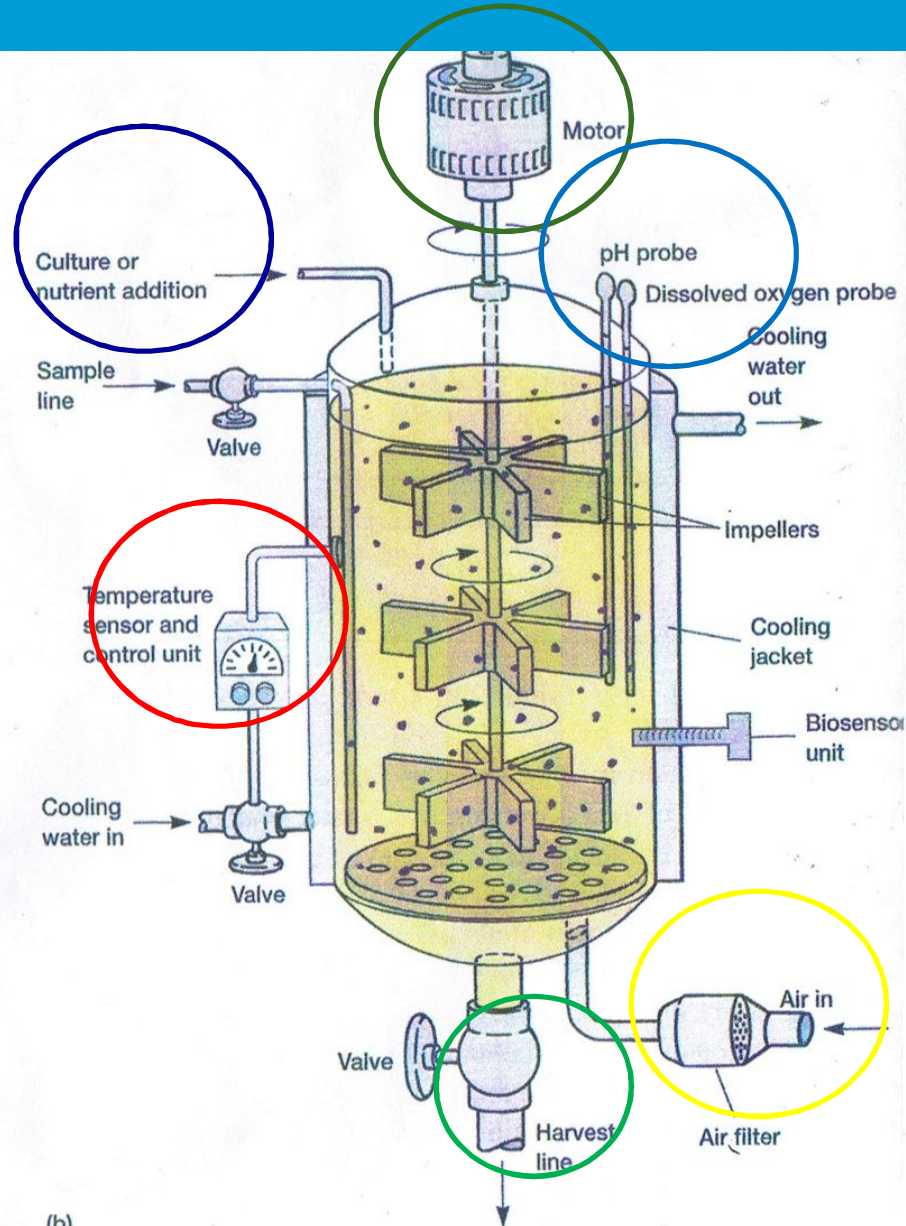
* Aeration and Agitation

↗ Primary purpose of aeration is to provide $M.O$ in culture with sufficient oxygen for metabolic requirements.

↗ while agitation should ensure that a uniform suspension of microbial cells is achieved in a homogenous nutrient medium.



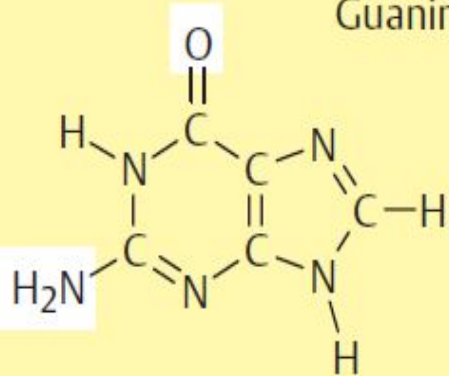
Fermenter



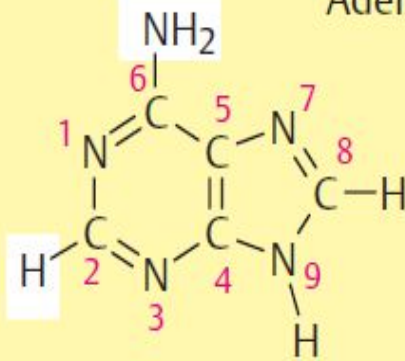
DNA Sequencing

Knowledge of the nucleotide sequence of a gene provides important information about its structure, function, and evolutionary relationship to other similar genes in the same or different organisms. Thus, the development in the 1970s of relatively simple methods for sequencing DNA has had a great impact on genetics. Two basic methods for DNA sequencing have been developed: a chemical cleavage method (A. M. Maxam and W. Gilbert, 1977) and an enzymatic method (F. Sanger, 1981). A brief outline of the underlying principles follows.

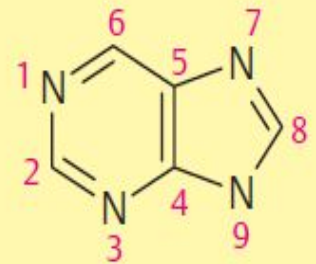
Guanine (G)



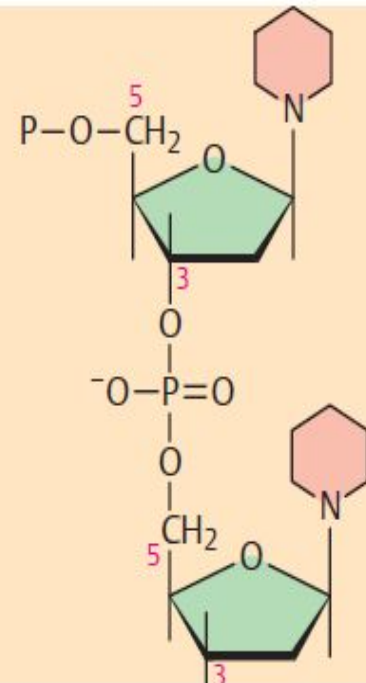
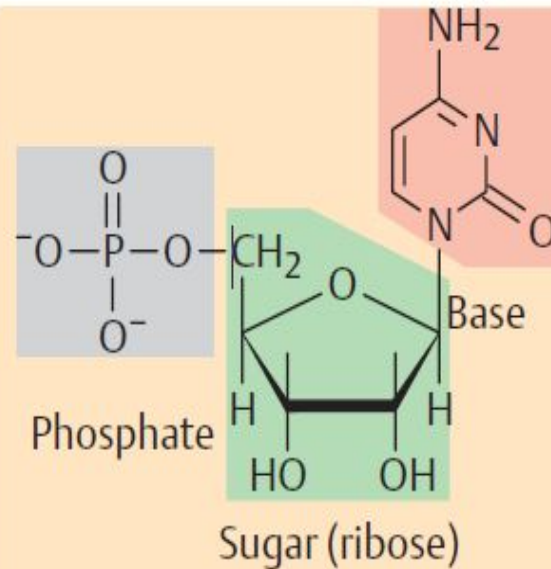
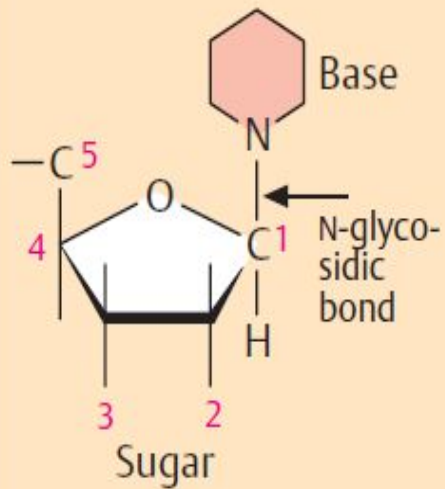
Adenine (A)

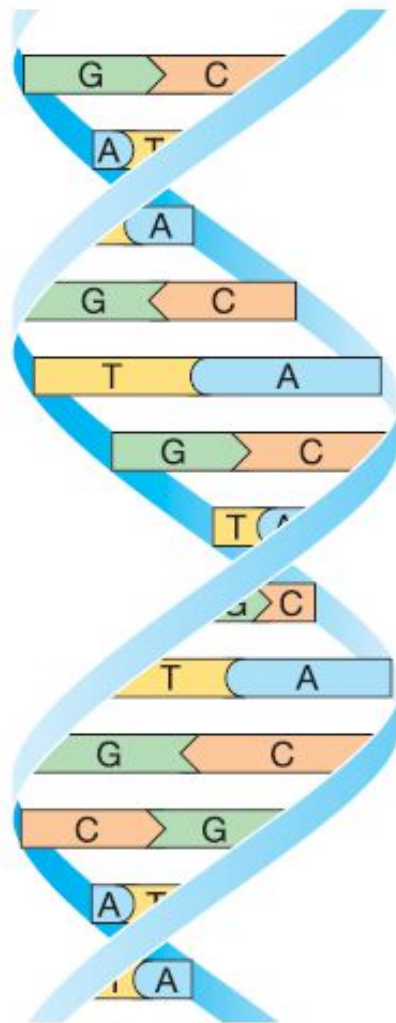


Purine

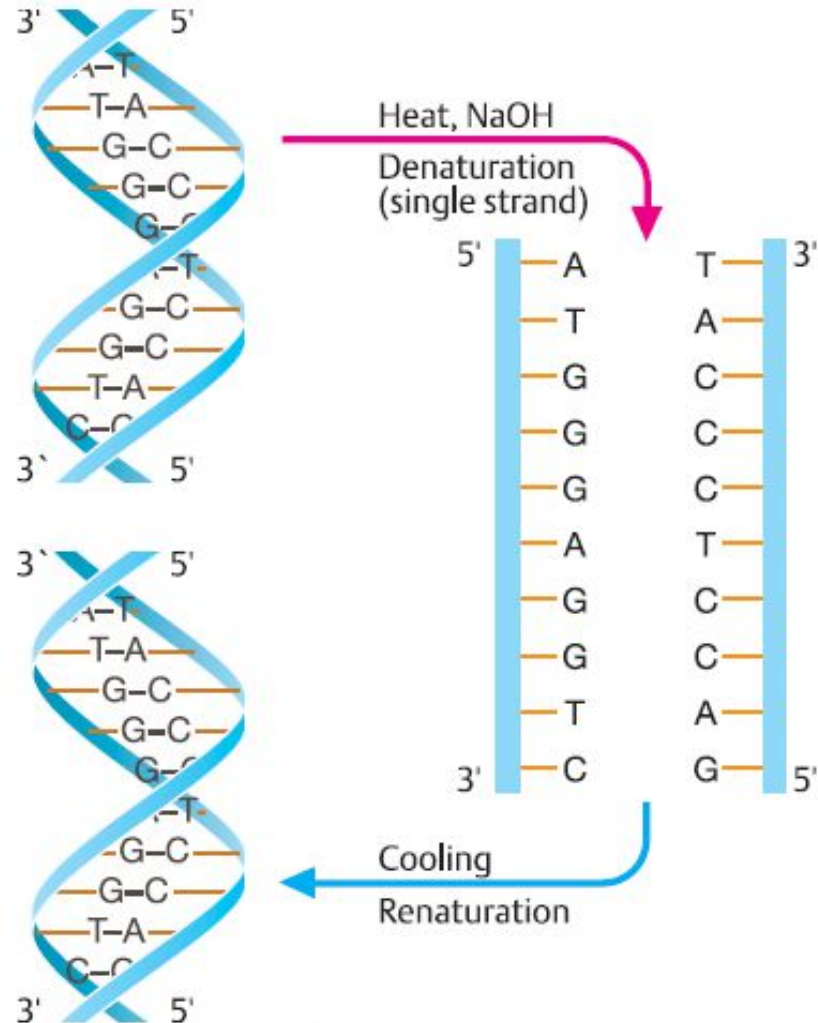


D. Nucleotide bases of purine





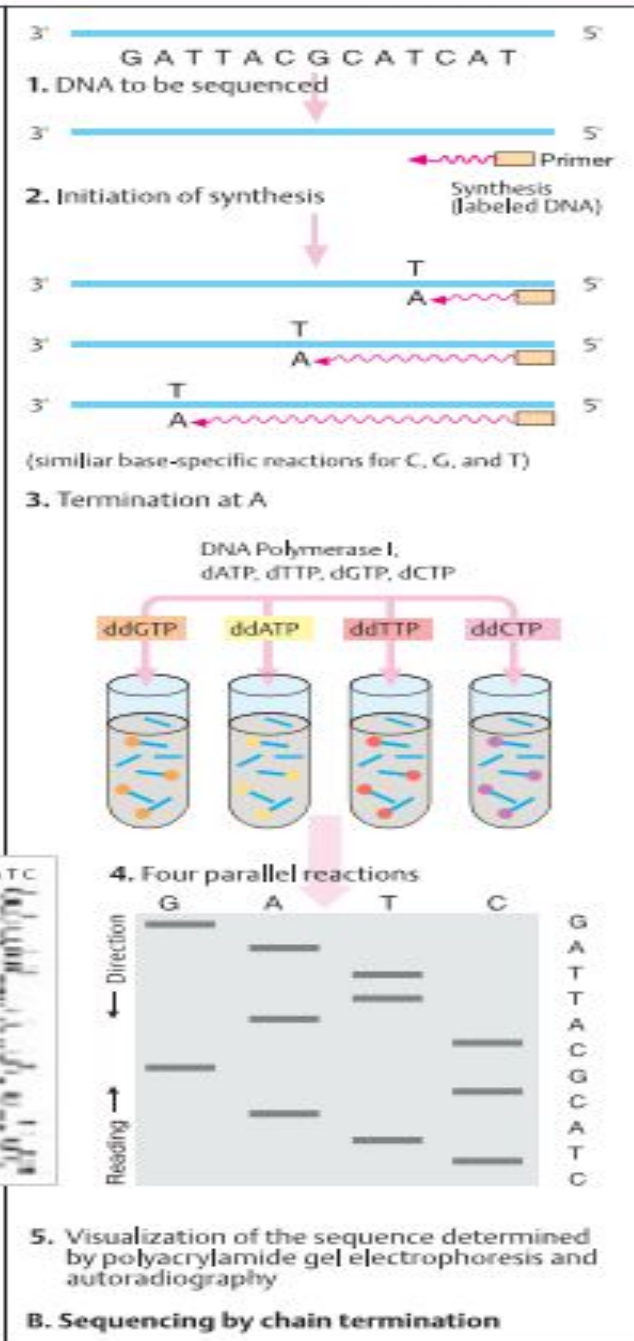
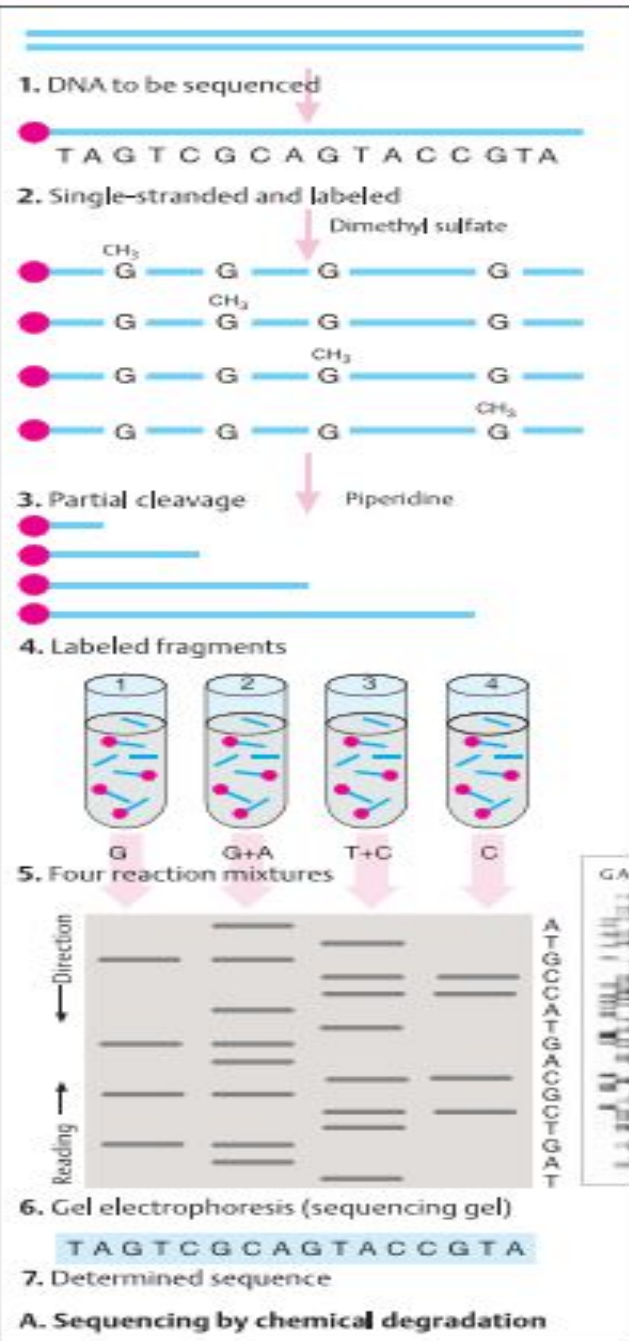
A. DNA double helix



C. Denaturation and renaturation

A. Sequencing by chemical degradation

This method utilizes base-specific cleavage of DNA by certain chemicals. Four different chemicals are used in four reactions, one for each base. Each reaction produces a set of DNA fragments of different sizes. The sizes of the fragments in a reaction mixture are determined by positions in the DNA of the nucleotide that has been cleaved. A double-stranded or single-stranded fragment of DNA to be sequenced is processed to obtain a single strand labeled with a radioactive isotope at the 5' end (1). This DNA strand is treated with one of the four chemicals for one of the four reactions. Here the reaction at guanine sites (G) by dimethyl sulfate (DMS) is shown. Dimethyl sulfate attaches a methyl group to the purine ring of G nucleotides. The amount of DMS used is limited so that on average just one G nucleotide per strand is methylated, not the others (shown here in four differ-



B. Sequencing by chain termination

This method, now much more widely used than the chemical cleavage method, rests on the principle that DNA synthesis is terminated when instead of a normal deoxynucleotide (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), a dideoxynucleotide (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP) is used. A dideoxynucleotide (ddNTP) is an analogue of the normal dNTP. It differs by lack of a hydroxyl group at the 3' carbon position. When a dideoxynucleotide is incorporated during DNA synthesis, no bond between its 3' position and the next nucleotide is possible because the ddNTP lacks the 3' hydroxyl group. Thus, synthesis of the new chain is terminated at this site. The DNA fragment to be sequenced has to be single-stranded (1). DNA synthesis is initiated using a primer and one of the four ddNTPs labeled with ^{32}P in the phosphate groups or, for automated sequencing, with a fluorophore (see next plate). Here an example of chain termination using ddATP is shown (3). Wherever an adenine (A) occurs in the sequence, the dideoxyadenine triphosphate will cause termi-

Automated DNA Sequencing

Large-scale DNA sequencing requires automated procedures based on fluorescence labeling of DNA and suitable detection systems. In general, a fluorescent label can be used either directly or indirectly. Direct fluorescent labels, as used in automated sequencing, are fluorophores. These are molecules that emit a distinct fluorescent color when exposed to UV light of a specific wavelength. Examples of fluorophores used in sequencing are fluorescein, which fluoresces pale green when exposed to a wavelength of 494 nm; rhodamine, which fluoresces red at 555 nm; and aminomethylcumarin acetic acid, which fluoresces blue at 399 nm. In addition, a combination of different fluorophores can be used to produce a fourth color. Thus, each of the four bases can be distinctly labeled.

Another approach is to use PCR-amplified products (thermal cycle sequencing, see A). This has the advantage that double-stranded rather than single-stranded DNA can be used as the starting material. And since small amounts of template DNA are sufficient, the DNA to be sequenced does not have to be cloned beforehand.

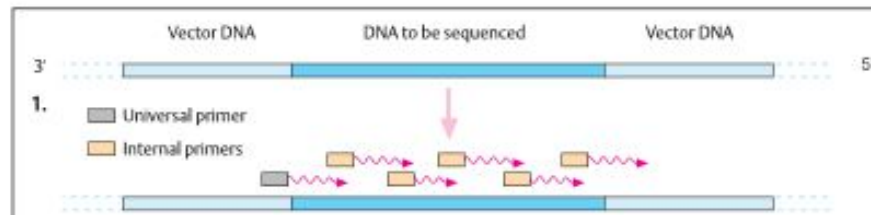
A. Thermal cycle sequencing

The DNA to be sequenced is contained in vector DNA (1). The primer, a short oligonucleotide with a sequence complementary to the site of

trophoresis, the sequence can be read as shown in the previous plate. One advantage of thermal cycle sequencing is that double-stranded DNA can be used as starting material. (Illustration based on Figures 4.5 and 4.6 in Brown, 1999).

B. Automated DNA sequencing (principle)

Automated DNA sequencing involves four fluorophores, one for each of the four nucleotide bases. The resulting fluorescent signal is recorded at a fixed point when DNA passes through a capillary containing an electrophoretic gel. The base-specific fluorescent labels are attached to appropriate dideoxynucleotide triphosphates (ddNTP). Each ddNTP is labeled with a different color, e.g., ddATP green, ddCTP blue, ddGTP yellow, and ddTTP red (1). (The actual colors for each nucleotide may be different.) All chains terminated at an adenine (A) will yield a green signal; all chains terminated at a cytosine (C) will yield a blue signal, and so on. The sequencing reactions based on this kind of chain termination at labeled nucleotides (2) are carried out automatically in sequencing capillaries (3). The electrophoretic migration of the ddNTP-labeled chains in the gel in the capillary pass in front of a laser beam focused on a fixed position. The laser induces a fluorescent signal that is dependent on the specific label representing one of the four nucleotides. The sequence is electronically read



2. Different types of primer for chain termination sequencing



3. Thermal cycle sequencing

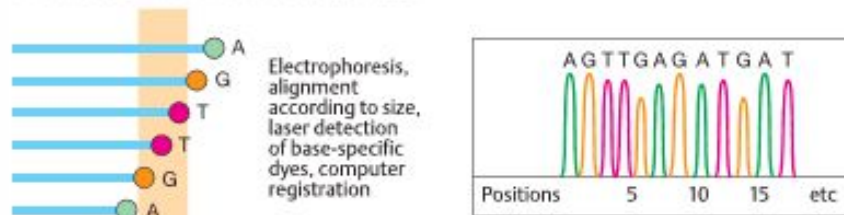


4. Chain-terminated strands
A. Thermal cycle sequencing

Many cycles, electrophoresis, identification

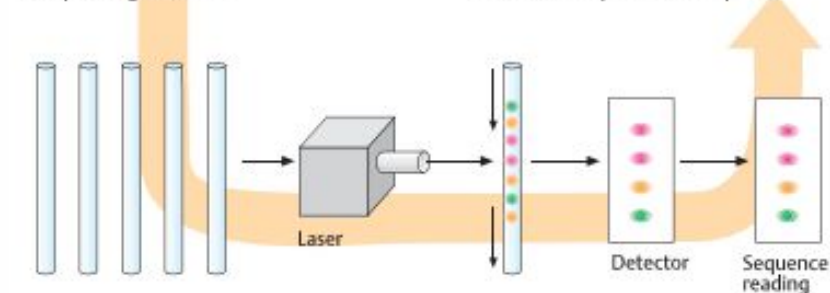
- ddATP
- ddCTP
- ddGTP
- ddTTP

1. ddNTPs each with different fluorescent label



2. Sequencing reactions

4. Automated printout of sequence



3. Automated sequencing capillaries

تلوث التربة:

مصطلح تلوث التربة (Soil Pollution) إلى تراكم بعض المواد، مثل: المركبات السامة، والأملاح، والمواد الكيميائية، والمواد المشعة، وجميع العوامل المسببة للأمراض في التربة، والتي تؤثر سلباً على كل من نمو النباتات، وصحة الحيوانات، والإنسان ويعود السبب في وجود مثل هذه الملوثات في التربة إلى الأنشطة البشرية، إلا أنها يمكن أن تتكون بشكل طبيعي، مثل تراكم العناصر المعدنية في التربة بتراكيز أكبر عن الحد المسموح به، ويشكل تلوث التربة خطراً خفياً على البيئة؛ إذ يصعب بشكل مباشر تحديد ما إذا كانت التربة ملوثة أم لا بالعين المجردة.

يتم تصنيف التربة بأنها ملوثة إذا فقدت العديد من الخصائص الفيزيائية، والكيميائية، والحيوية اللازمة والتي يُشار إليها بمصطلح (صحة التربة) وهو مصطلح شائع بين المزارعين، بينما يُطلق عليه العلماء مصطلح (جودة التربة)، وتوضح النقاط الآتية بعضاً من تلك الخصائص التي يمكن أن تفقدها التربة فتصبح ملوثة.

[يجب أن تكون التربة مختلطة بالمواد العضوية بشكل كافٍ. يجب أن تكون بنية التربة جيدة. يجب أن تكون التربة موطناً لمجموعة متنوعة من الكائنات الحية العضوية. ويمكن الوصول إلى هذه الخصائص في بيئة طبيعية إذا ما حققت التربة التوازن بينها وبين محيطها البيئي، إلا أنها تحتاج إلى تدخل الإنسان لتحسينها إذا كانت هناك خلل في وجود أحد الخصائص، وتساهم التربة الصحية في التقليل من عمليات التعرية، كما تساعد على تحسين جودة الماء والهواء، ومن الجدير بالذكر أنّ صحة التربة ترتبط ارتباطاً وثيقاً بصحة الإنسان، أي كلما كانت صحة التربة أكثر تدهوراً، قلت القيمة الغذائية لمحاصيلها، وقلت استفادت الإنسان منها.

أسباب تلوث التربة:

1. تلوث التربة بمخلفات الآلات العسكرية ومخلفات الحروب بالمنطقة.
2. التلوث بالمبيدات الكيميائية والمخلفات الصناعية الكيميائية.
3. الاستخدام غير العقلاني للأسمدة الكيميائية مع ضعف باستخدام الأسمدة العضوية والتي أدت إلى زيادة قاعدية التربة في المنطقة.
4. تلوث التربة بالمواد النفطية الخام والمصنعة والتي تسبب في التأثير على التربة سلباً من الناحية الكيميائية والفيزيائية.
5. ضعف فعالية العناصر الغذائية للنبات في التربة كونها أصبحت في حالة غير صالحة للإستخدام من النبات ، مما إنعكس سلباً على جاهزية المحاصيل الزراعية وإنتاجيتها.
6. إرتفاع مستويات المياه الجوفية غير الجيدة والتي أدت إلى ضعف تصريف مياه الري والتي تستخدم دون تخطيط علمي أو عملي.
7. سوء إستخدام مياه الري والإسراف فيها دون إعتداد الطرق العلمية الحديثة بما يتناسب وظروف المنطقة المناخية والجغرافية في مواقع مختلفة من شمال ووسط وجنوب منطقتنا.
8. تنفيذ مشاريع شبكات الري والمبازل والصرف الصحي غير المتكاملة ، زادت في مشكلة التلوث في التربة.

اهم الأضرار التي تنتج من تلوث التربة

- تلوث التربة يُعدّ تلوث التربة سبباً في حدوث اضطرابات ضخمة في التوازن البيئي، مما يعرض صحة الكائنات الحية جميعها للخطر، فيما يأتي أهم آثار تلوث التربة:-

- التسبب بالعديد من المخاطر الصحية نتيجة الاتصال المباشر (كاستخدام الأراضي الملوثة بالملوثات)، وغير المباشر (كشرب المياه الملوثة الموجودة في المنطقة) بالتربة الملوثة، مثل: الصداع النصفي، والغثيان، والتعب، وغيرها من المشاكل الصحية. عدم نمو المحاصيل في التربة الملوثة، وإن حدث ذلك فإنّ النباتات سوف تمتص المواد الكيميائية السامة من التربة، مما قد يؤدي إلى العديد من المشاكل الصحيّة لمستهلكيها. زيادة ملوحة التربة، عندها تصبح الأرض غير صالحة للزراعة وقاحلة. جفاف التربة، وتدمير خصوبتها، وقتل الكائنات الحية المفيدة التي تعيش فيها، بل قد يصل تأثير التلوث إلى الكائنات المفترسة كالطيور التي ستغيّر مكان عيشها للحصول على طعامها.

:

بعض حلول مشكلة تلوث التربة

- **الطرق الحرارية:** وتتم من خلال: إزالة الملوثات بواسطة عملية التبخر عن طريق نقل الحرارة بشكل مباشرة من خلال الهواء الساخن أو اللهب، أو بشكل غير مباشر، وتدمير الملوثات عند درجة حرارة مناسبة بشكل مباشر أو غير مباشر، ثم يتم معالجة الغاز الصاعد من جهاز التسخين لإزالة الملوثات أو المواد غير المرغوب فيها.
- **الطرق الكيميائية:** تتم معالجة التربة من خلال وضعها في مُستعلقٍ (Suspension) يحتوي على محلول مناسب، ويجب أن يكون الاتصال بين التربة والمحلول الكيميائي أساسياً، كما يجب تكرار العملية حتى يتم التأكد من أنّ عملية إزالة السموم قد انتهت.
- طرق المعالجة الميكروبية: تُعدّ أكثر الطرق الفعالية؛ بسبب قدرتها على التعامل مع أغلب الملوثات العضوية، مثل: الفينول، والهيدروكربونات متعددة الكلور، والنفط ومنتجاته، والديوكسينات، حيث يتم حفر حفرة في التربة، ووضع الميكروبات فوقها باستخدام العديد من التقنيات كالتسميد، أو الحراثة، وغيرها.
- **التقليل من استخدام الكيماويات الزراعية:** كاستخدام الأسمدة، والمبيدات الكيميائية واستبدالها بالأسمدة والمبيدات الحيوية. إعادة استخدام بعض المواد: كالأواني الزجاجية، والأكياس البلاستيكية، والورق، والملابس عوضاً عن التخلص منها، والذي يؤدي إلى التقليل من التلوث بالنفايات الصلبة.
- **إعادة تدوير المواد:** يُساهم إعادة تدوير بعض المواد كالورق، وبعض أنواع البلاستيك، والزجاج في الحفاظ على الموارد الطبيعية والحد من زيادة حجم النفايات، إذ إنّ إعادة تدوير 1 طن من الورق يساهم في الحفاظ على 17 شجرة من القطع والتدمير.
- **إعادة التشجير:** ويساهم في الحد من خسارة الأراضي، وتقليل تعرية التربة، وزيادة خصوبتها، وذلك من خلال زراعة النباتات، مناوبة المحاصيل، أو زرع أكثر من محصول بنفس المكان في نفس الوقت.

التلوث الضوضائي noise pollution

الضوضاء: ((هو خليط متنافر من الأصوات ذات استمرارية غير مرغوب فيها، وتحدث عادة بسبب التقدم الصناعي، يرتبط التلوث السمعي أو الضوضائي ارتباطاً وثيقاً في الأماكن المتقدمة وخاصة الأماكن الصناعية.)) وتقاس عادةً بمقاييس مستوى الصوت، والديسيبل هي الوحدة المعروفة عالمياً لقياس الصوت وشدة الضوضاء. ديسيبل : (Decibel dB) هي وحدة لوغاريتمية تعطي النسبة بين كميتين فيزيائيتين.

قياس الضوضاء ومستوياته

يمكن قياس الضوضاء بطرق فيزيائية يُعبّر عنها بالديسيبل ، فمثلاً يُقدّر كلام الفرد العادي من 50 إلى 60 ديسيبل ، وقد تصل حركة الأجسام وحفيف الملابس إلى 20 ديسيبل. ولكن الضوضاء التي تزيد شدتها 70-90 ديسيبل تعتبر صوت عالي مثل صوت السيارات والشاحنات والأجهزة الكهربائية في المنزل ، والضوضاء التي تبلغ ما بين 100 و120 ديسيبل تعتبر عالي جداً مثل سيارة الشرطة والهليكوبتر والبوق قد تسبب متاعب نفسية وعصبية وعيوباً في درجة السمع.

أما الضوضاء التي تصل 120 ديسيبل فمافوق مثل أصوات الطائرات والصواريخ تعتبر متطرفة فتؤثر تأثيراً مباشراً على خلايا الكتلة العصبية داخل الأذن.

ويعتقد البعض أن مصدر الضوضاء يتمثل في البيئة الخارجية فقط، لكن من الممكن أن تكون البيئة الداخلية أيضاً هي مصدر للضوضاء. وبصفة عامة يرتبط فقدان السمع الدائم بمستويات الضوضاء التي تزيد على 85 ديسيبل، وقد يتعرض الشخص لمستويات ضوضاء معتادة بالمنزل؛ وبمرور الوقت يفقد الإنسان حاسة السمع، وقد يحدث ان السمع أيضاً نتيجة التعرض المفاجئ للضوضاء، مثل سماع صوت انفجار ألعاب نارية.

مصادر الضوضاء

يمكن تصنيف مصادر الضوضاء إلى عدة تصنيفات، من أهمها:

1- ضوضاء وسائل المواصلات والطرق

تعتبر ضوضاء المواصلات والطرق السبب الأول للضوضاء البيئية في بعض الدول، ففي مصر مثلاً تمثل حوالي 60 % من أسباب الضوضاء. وتنقسم إلى:

أ- ضوضاء السيارات: توجد مشكلات صحية مرتبطة بحركة المرور في المدن عامة، إذ أن زيادة حركة المرور -بصفة عامة- وزيادة حركة العربات بصفة خاصة، تعتبر من أهم الخصائص التي تميز التنمية في المدن، فحركة المرور تزيد بدرجة أكثر من نمو المدن، وكلما أشدت حركة المرور أكثر وأكثر في المدن كلما زادت الضوضاء في الشوارع.

ب-ضوضاء السكك الحديدية: وهي مشكلة تؤرق القاطنين بالقرب من السكك الحديدية أو محطات القطارات، حيث ارتفاع صرير عجلات القطارات على القضبان، وإن كانت مشكلة أقل تعقيداً مقارنة بضجيج السيارات بالنسبة للسكان.

ج-ضوضاء الطائرات: وتظهر هذه المشكلة للأشخاص الذين يعيشون بالقرب من المطارات بشكل عام. وإن أصبحت الطائرات الآن أقل إزعاجاً بسبب التقدم في صناعة الطائرات.

2-الضوضاء الاجتماعية

تحدث في المحيط السكني، وتأتي على قمة أنواع الضوضاء. ولها عدة مصادر للانبعاث، كضجيج الحيوانات الأليفة أو الضالة كالكلاب والقطط، والضجيج الصادر عن الأعمال المنزلية اليومية، والأصوات المرتفعة الصادرة عن الأشخاص، وأصوات الموسيقى الصاخبة .

3-ضوضاء المصانع

تعد من أخطر أنواع الضوضاء، ويكون مصدرها المصانع أو الورش. وتؤثر على العاملين في هذه الأماكن، وعلى السكان القاطنين بجوار المناطق الصناعية. وتتأثر الحواس السمعية للعاملين بالمصانع الكبيرة يوماً بعد يوم، وقد تؤدي إلى الصمم على المدى الطويل. وبالإضافة للمصانع توجد ورش إصلاح السيارات والسمكرة وغيرها من المحلات المقلقة للراحة، فضجيج الورش يشكل تلوثاً للبيئة يكدّر راحة المواطنين ولاسيما في المناطق القريبة منها. ويرتبط بالمصانع والورش، عمليات البناء والتشييد وخاصة مطارق أوناش البناء ودق الأعمدة والأساسات الخرسانية، التي تتولاها شركات البناء ومقاولي التشييد الذين يستخدمون آلات ومعدات، في عمليات الحفر والبناء تسبب ضوضاء مزعجة جداً.

4-ضوضاء الماء

يظهر هذا النوع من الضوضاء في البحار والمحيطات بشكل خاص، وفي الماء بشكل عام، ويتأثر بهذا النوع من الضوضاء بجانب الإنسان معظم الكائنات التي تعيش في المياه. فصوت الأمواج قد يكون مصدراً لإزعاج البعض، كذلك محركات السفن أو حتى صوت بعض الأسماك؛ والتي يتأثر بها بعض الكائنات البحرية مثل الحوت. إن الصوت التي يتغنى بها الحوت مشهورة منذ سنوات عديدة لكنها ليست مجرد أصوات يطلقها، ومن الاعتقاد القوي أن الحوت يستخدم هذه الأصوات لكي يتصل بغيره من الحيتان التي تبعد عنه مئات الأميال..

الآثار الضارة المترتبة على الضوضاء

1--لا توجد وسيلة دقيقة لتعيين نوع العلاقة بين الضوضاء والآثار الناتجة عنه، لأن هذه الآثار تختلف من شخص لآخر، وهي تعتمد على عدة عوامل، منها: ((**شدة الصوت ودرجته**، ويتناسب التأثير وشدة الخطورة طردياً مع فترة التعرض. حدة الصوت، الأصوات الحادة أكثر تأثيراً من قلت المسافة زاد التأثير. فجائية الصوت، فالصوت المفاجئ أكثر تأثير .

2-المسافة من مصدر الصوت، كلما كانت قريبة كانت أكثر تأثيراً من الضجة المستمرة.

3-نوع العمل الذي يزاوله الإنسان أثناء تعرضه للضوضاء، مثل الأعمال التي تحتاج لتركيز شديد غير الأعمال العادية.

الاضطرابات السمعية

إن تركيز موجات صوتية بقوة معينة على الأذن من شأنها أن تحدث تلفاً لقدرة الإنسان السمعية. فعندما يتعرض الإنسان إلى صوت شدته (70 ديسيبل) يبدأ بالانزعاج منه، وعند شدة صوت تساوي (90 ديسيبل) فأكثر تبدأ أعضاء الجسم في التأثر، وإذا استمرت الضوضاء لفترة طويلة أصيب الإنسان بالصمم إذ تؤدي شدة الصوت العالية إلى إتلاف الخلايا العصبية الموجودة بالأذن الداخلية، وتتأكل هذه الخلايا بالتدريج. ويعرف هذا النوع من **الصمم بالصمم العصبي**، ويعاني المصاب به من قلة الانتباه بالتدريج وفقدان الشعور بالأصوات المحيطة حتى لو وصلت إلى درجة الضوضاء نفسها. وفي هذا المجال أثبتت الدراسات الحديثة التي أجريت على عمال المصانع، أنه من بين كل خمسة عمال يوجد عامل مصاب بالصمم. وهناك نوع آخر من الصمم يطلق عليه **الصمم السمعي**، ويتسبب عن تمزق غشاء طبلة الأذن في حالة الضوضاء الفجائية الشديدة مثل الانفجارات (أعلى من 140 ديسيبل) وقد يؤدي هذا النوع من الضوضاء إلى سكتة قلبية عند مرضى القلب.

الآثار الفسيولوجية

للضوضاء أضرار عديدة خطيرة أحياناً، فضوضاء الشوارع بالمدن تؤثر في الدورة الدموية، إذ تتسبب اضطرابات في وظائف القلب ورفع ضغط الدم، وتنشئ اضطرابات الجهاز العصبي المستقل ذاتياً، مستقلاً بذلك عن الإدراك الذاتي للضوضاء. وكذلك أثناء النوم عندما لا يكون هناك إدراك للضوضاء. كذلك كثرة الإجهاد السمعي يعمل على رفع ضغط السائل المخي والحبل الشوكي. الصداع. طنين الأذن. ارتفاع ضغط الدم. الأرق. أمراض التنفس المزمنة. التطور السلبي للجنين.

التلوث البصري

- Visual pollution هو مصطلح يطلق على العناصر البصرية الغير جذابة، وهي المناظر الطبيعية، أو اي شيء آخر يريد الشخص أن ينظر إليها. وكأمثلة على ذلك لوحات سيئة، والقمامة، وبعض الجران، والمباني الغير مدروسة، والعمارة غير المنظمة، والعلامات والأعشاب والإعلانات العشوائية.
- أو بمعنى آخر هو تشويه لأي منظر تقع عليه عين الإنسان يحس عند النظر إليه بعدم ارتياح نفسي. ويمكننا وصفه أيضاً بأنه نوعاً من أنواع انعدام التذوق الفني، أو اختفاء الصورة الجمالية لكل شئ يحيط بنا من أبنية ... إلي طرقات ... أو أرصفة ... وغيره

امثلة

- سوء التخطيط العمراني لبعض الأبنية سواء من حيث الفراغات أو من شكل بنائها.
- أعمدة الإنارة في الشوارع ذات ارتفاعات عالية لا تتناسب مع الشوارع.
- صناديق القمامة بأشكالها التي تبعث علي التشاؤم.
- اختلاف دهان واجهات المباني.
- أجهزة التكييف في الواجهات.
- انتشار المساكن في مناطق المقابر.
- المباني المهدامة وسط العمارات الشاهقة.
- اللافتات ولوحات الإعلانات المعلقة في الشوارع بألوانها المتضاربة.

• اضرار التلوث البصري

• التلوث البصري يؤثر بطريقة سلبية على نفسية البشر، حتى لو لم يلاحظوا هم ذلك، فإن المحيط له تأثير كبير على نفسية الإنسان، ولذلك فإن عقوبة السجن تكون في إبقاء الفرد في غرفة مظلمة وقد لا يدخلها الهواء. فإذا كنت تسكن في منطقة تكثر فيها المساحات الخضراء والزروع فإن تعاملاتك اليومية وطريقة تفكيرك حتمًا ستختلف عما إذا كنت تسكن في منطقة تجعل نظرك يقع يوميًا على كثير من القمامة والعشوائية والقاذورات.

• بالإضافة إلى أن اللون الأخضر وهو لون الشجر والزروع مثبت علميًا أن له تأثير إيجابي على الصحة النفسية، ذلك أنه يساعد على الاسترخاء والهدوء.

• التلوث البصري الناتج عن تراكم القمامة بعضها فوق بعض في الشوارع، أو تراكمها في حول الأنهار والبحار، هو ليس تلوث بصري فقط وإنما هو تلوث شامل، فهو (بالإضافة لتأثيره البصري النفسي) مضر أشد الضرر للصحة العامة، لأنه يؤدي إلى تراكم كثير من الحيوانات والحشرات والطفيليات والميكروبات، والتي ليس من الصعب أن تنتشر لمناطق متعددة حول المنطقة الموجودة بها، وبالتالي هذا يعني انتشار كثير من الأمراض مثل الحصبة والتيفود والحساسية الجلدية، والتليف الكبدي، والفشل الكلوي نتيجة نقل تلك الحشرات للميكروبات من مراكزها إلى الطعام والشراب أو حتى مكونات الطعام والشراب من نباتات ومحاصيل زراعية.

• الحد من التلوث البصري

- الحد من التلوث البصري ليس بالشيء السهل، فهو مسئوليتنا جميعًا حكومة وأفراد، ولكي نوقف مشكلة التلوث البصري علينا أن نكون على دراية بأضراره لنا جميعًا.
- لا بد من وضع قوانين حازمة، تردع من لا يحترم حق غيره في العيش في أماكن نظيفة خالية من التلوث.
- الحد من التصرفات الفردية التي قد تبدو بسيطة ولكنها من مسببات التلوث البصري، مثل إلقاء القمامة في الشوارع بدلًا من إلقائها في صناديق القمامة.
- تنظيم الأحياء العشوائية وتوفير بنية تحتية أساسية ملائمة، والاهتمام بنظافة تلك المناطق بشكل خاص.

ظاهرة الإحتباس الحراري



الاحتباس الحراري Green house

- يقصد بظاهرة الاحتباس الحراري هذه بانها (ارتفاع درجات الحرارة في الغلاف الجوي المحيط بالأرض)، ويرجع ذلك الى تراكم غاز ثاني اوكسيد الكربون وغازات دفيئة اخرى، والتي تقوم بدور اشبه بلوح من الزجاج في بيت نباتات زجاجي، وهي تتيح مرور الاشعاع الشمسي من خلالها وتدفئ الأرض ولكنها تمنع فقدان الحرارة الذي ينتج عن طريق الاشعاع ...
- وهذه الغازات تسمح بوصول أشعة الشمس إلى سطح الأرض غير أنها تمتص الأشعة دون الحمراء التي تنبعث من الأرض. ويؤدي ذلك إلى تسخين سطح الكوكب بحيث يصبح متوسط درجة حرارته السطحية أعلى بمقدار 33 درجة سلسيوس عما كانت ستؤول إليه حال غياب التأثير الطبيعي للاحتباس الحراري.
- وزيادة عدد المصانع والسيارات تزيد من كمية هذه الغازات في الغلاف الجوي. لا تسمح الغازات الدفيئة للإشعاعات أبداً بالهروب من الأرض وزيادة درجة حرارة سطح الأرض. وهذا يؤدي بعد ذلك إلى ظاهرة الاحتباس الحراري.
- **غازات الاحتباس الحراري الرئيسية التي تزداد تركيزاتها هي ثاني أكسيد الكربون، والميثان، وأكسيد النيتروز، والهيدروكلوروفلوروكربونات (HCFCs)، والهيدروفلوروكربونات (HFCs) والأوزون في الطبقة السفلى من الغلاف الجوي.**
- ويقوم برنامج المراقبة العالمية للغلاف الجوي (GAW التابع للمنظمة (WMO) بمراقبة وتحليل ونشر بيانات عن غازات الاحتباس الحراري جمّعها خمسون بلداً حول العالم من أعلى المنطقة القطبية الشمالية إلى القطب الجنوبي.

اضرار الاحتباس الحراري

- سيؤدي استمرار الاحتباس الحراري إلى زيادة تكثيف دورة المياه العالمية، مما يجعلها أكثر تقلبًا، وتغير هطول الأمطار الموسمية وشدة الأحداث الرطبة والجافة. مع ارتفاع انبعاثات ثاني أكسيد الكربون، ستكون المحيطات والأرض أقل فعالية في امتصاص وإبطاء تراكم ثاني أكسيد الكربون في الغلاف الجوي.
- وتشمل آثار تغير المناخ ارتفاع درجات الحرارة، والتغيرات في هطول الأمطار، وزيادة في تواتر أو شدة بعض الظواهر الجوية المتطرفة، وارتفاع منسوب مياه البحر. وتهدد هذه التأثيرات صحتنا من خلال التأثير على الطعام الذي نأكله، والماء الذي نشربه، والهواء الذي نتنفسه، والطقس الذي نتعرض له .
-
-
- الاحتباس الحراري عملية طبيعية تساعد في الحفاظ على درجات حرارة مناسبة للحياة وبدونها يمكن أن تتحول الأرض إلى كوكب متجمد وغير صالح للسكن، لكن زيادة تركيز الغازات الدفيئة الناتجة عن النشاط البشري قد ضاعفت من تأثير الاحتباس الحراري الطبيعي بشكل كبير مما تسبب في الاحتباس الحراري الضار

• ما هي العوامل التي تؤدي الى الاحتباس الحراري؟

• توليد الطاقة يتسبب توليد الكهرباء والحرارة عن طريق حرق الوقود الأحفوري في جزء كبير من الانبعاثات العالمية. ...

• تصنيع البضائع ...

• قطع الغابات ...

• استخدام وسائل النقل ...

• إنتاج الغذاء ...

• تزويد المباني بالطاقة.

• بعض الحلول لهذه الظاهرة

• يوجد العديد من الممارسات الفردية للحد من ظاهرة الاحتباس الحراري ومنها إعادة التدوير والتقليل من استخدام مكيفات الهواء واستخدام المصابيح والأجهزة الموفرة للطاقة واستخدام كميات أقل من الماء الساخن، وإطفاء الأجهزة غير المستخدمة، والتقليل من استخدام المركبات وزراعة الأشجار لزيادة الغطاء النباتي

• ادت دراسة أجراها علماء أمريكيون بأن رش مواد كيميائية على ارتفاع كبير من سطح الأرض لإعتام ضوء الشمس بهدف إبطاء الاحتباس الحراري قد يكون "غير مكلف بشكل لافت"، حيث تصل تكلفته إلى حوالي 2.25 مليار دولار سنوياً على مدى (15 عاماً).

• ويقول بعض الباحثين إن تقنية تعرف في الهندسة الجيولوجية باسم "الحقن الجزيئي للستراتوسفير" قد تحد من ارتفاع درجات الحرارة، التي تتسبب في الاحتباس الحراري. ولا تزال هذه التقنية غير مؤكدة وافترضية. وهي تتضمن استخدام أنابيب ضخمة أو مدافع أو طائرات مصممة خصيصاً لرش كميات كبيرة من جزيئات الكبريتات في الطبقة العليا من الغلاف الجوي لتعمل كمصد عاكس لضوء الشمس...

تلوث المدن

الضبخنة: SMOG

تعتبر المناطق الحضرية الأكثر عرضة للتلوث الهوائي وخاصة من المصادر الصناعية مثل النقل والتصنيع ومحطات توليد الطاقة. وأحد أكثر مشاآل التلوث شيوعا في المناطق الحضرية والذي يتشكل عند تفاعل (**smog = smoke + fog** هي ظاهرة الضبخنة أو الدخان المضرب الدخان المنبعث من السيارات ومحطات الطاقة مع أشعة الشمس ومكونات الهواء الأخرى مثل بخار الماء.

1-- الضبخنة الكيموضوية أو الضبخنة البنية

والتي ينتج عنها غاز الأوزون، تتشكل هذه الظاهرة نتيجة لبعض (**or brown smog** photochemical smog

التفاعلات الكيميائية المعقدة والتي يدخل فيها أكسيد النتروجين والهيدروكربون مع وجود أشعة الشمس وبخار الماء وغياب الرياح. لكن ظاهرة تشكل غاز الأوزون مؤقتة وتحدث فقط في الصيف وخلال ساعات النهار.

2- هي ظاهرة تحدث في الشتاء (**Industrial or gray smog** الضبخنة الصناعية أو الرمادية عند تفاعل ثاني أكسيد الكبريت وبخار الماء، وينتج عن هذه الظاهرة حامض الكبريت المحمول في الهواء. تعتبر الضبخنة الصناعية أكثر تأثيرا على الصحة من الضبخنة الكيموضوية. لقد أدت هذه الظاهرة إلى هلاك عدد من الناس عام 1952 في لندن وفي بنسلفانيا عام 1945

- تعتمد درجة التلوث الهوائي في المناطق الحضرية على: الأحوال الجوية. أن سرعة الرياح واتجاهها والعوامل الجغرافية الأخرى تساعد على التخفيف من حدة التلوث الهوائي عن طريق تشتيته والتخفيف من تركيزه.

- وأحيانا تكون الأحوال الجوية سبب في تفاقم مشكلة التلوث، وتعرف هذه الأحوال الجوية **بالانعكاس الهوائي**.

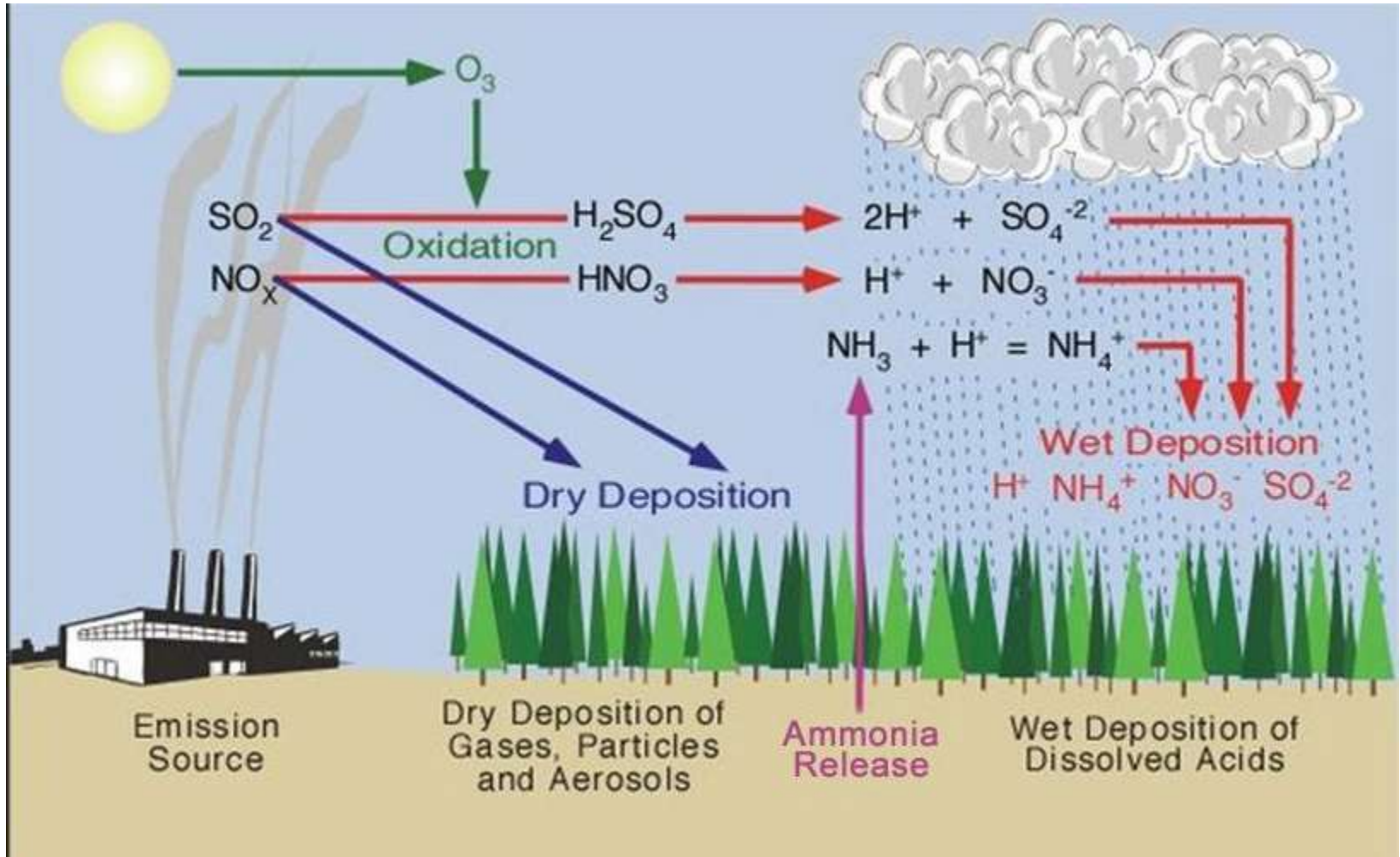
- يحدث الانعكاس الهوائي عندما تقوم طبقة الهواء البارد العليا بعرقلة الصعود الطبيعي لطبقة الهواء الدافئة السفلى مما يتسبب في التقليل من قدرة الهواء على التحرك وتشتيت الملوثات. وكثيرا ما تحدث هذه الظاهرة في المناطق الحضرية المحاطة بالجبال، حيث تشكل الجبال حاجزا طبيعيا يمنع تحرك الهواء. أمل الحال في مدينة

- لوس أنجلوس التي تعتبر ملائمة جدا لظاهرة الضبخنة بسبب موقعها الجغرافي، إذ يحيطها من الشرق سلسلة جبال تعمل على حجز الهواء القادم من المحيط، هذا بالإضافة إلى جوها المشمس
- وكذلك تنشط فيها حركة سير كثيفة ومصانع عديدة

المطر الحمضي

- المطر بطبيعته حامضي نتيجة تفاعل بخار الماء مع مكونات الهواء الطبيعية مثل النيتروجين وثاني أكسيد الكربون.
- لكن احيانا يعمل وجود ثاني أكسيد الكبريت وأكاسيد النيتروجين في الجو على رفع
- درجة حموضة مياه الأمطار، الثلوج، البرد، أو الضباب. تأتي هذه الغازات إلى الجو إما من
- مصادر طبيعية مثل البراكين أو رذاذ البحار أو من مصادر اصطناعية .

المطر الحامضي



اضرار المطر الحامضي

- **1-** إلى تفتت الصخور وخاصة في التربة الجرانيتية، كذلك تؤدي الأمطار الحمضية إلى زيادة الحموضة في مياه البحيرات وبالتالي قد تسبب في عدم صلاحيتها للأسماك والكائنات الدقيقة .
- **2** تعمل على إذابة بعض المعادن أو الفلزات الهامة للنبات وتبعدها عن جذور النبات ومن أمثلة ذلك الكالسيوم والبوتاسيوم والمغنيسيوم التي يحملها مياه الأمطار الحمضية بعيداً عن جذور النباتات إلى المياه الجوفية وبذلك تقل جودة المحاصيل الزراعية، لذلك فإن الكثير من النباتات لمتستطع العيش مع الأمطار الحمضية فذبلت وماتت وهو بالتالي يؤدي إلى فقدان المحاصيل الزراعية والأخشاب من الغابات .
- **3** تآكل الأحجار الجيرية فقد لوحظ مثلاً تآكل أو تفتت بعض أحجار برج لندن وكنيسة لودستمتستر. فقد بلغ عمق التآكل بضع سنتيمترات نتيجة التفاعل بين غاز ثاني أكسيد الكبريت والأمطار التي تسقط على المدن من حين لآخر. كذلك شوهد أثر الأمطار الحمضية أو الترسيب الحمضي على الأكروديوليس في اليونان والكلولوسيم في إيطاليا وتاج محل في الهند وأبو الهول في مصر.

جودة الهواء المنزلي

- بعد الثورة الصناعية ونتيجة للتطور المستمر، تغير نظام حياة الناس فاصبحت معظم أعمالهم تتم
- 80-90% من وقتهم في مكاتب او داخل مباني مغلقة. من وقتهم، والكثير يعملون ويأكلون وينامون
- ويشربون داخل هذه المباني التي يكون دورة الهواء مغلقاً وهذا ما جعل من قضية تلوث الهواء الداخلي أخطر من التلوث الخارجي. ومنذ السبعينات بدأ الضوء يتسلط على تلوث الهواء الداخلي
- ومن أهم مصادر تلوث الهواء الداخلي تدخين السجائر والأبخرة الناتجة من المفروشات أو مواد
- الدهانات وفي مجتمعنا البخور الذي يستخدم بكثرة داخل المباني

الدقائقيات Particulates

يُقصد بالدقائقيات كافة المواد المنتشرة في الهواء سواء كانت دقائق صلبة أو مطيرات سائلة عالقة في الهواء . وتتووع اشكال الدقائقيات وتركيبها الكيمياوي وتأثيراتها السمية أو الصحية وتعتمد حركتها وبقائها في الهواء وكذلك العمق الذي تدخله في الجهاز التنفسي على قطر هذه الدقائق أو القطيرات . ان الغالبية العظمة من الدقائقيات هي ذات منشأ طبيعي مثل الدقائق الترابية والرملية المتطايرة من الأراضي الجرداء والصحاري . اما المصادر غير الطبيعية (البشرية المنشأ) فتشمل عمليات حرق الوقود في الصناعة ونتاج الطاقة ونتاج الاسمنت وطحن الحبوب وغيرها أو في المواصلات وما ينبعث عنها من كميات كبيرة من الدقائق الكاربونية التي تدعى بالسخام Soot وقد تصدر من رش المبيدات في الحقول فضلاً عن عمليات الانشاء والبناء وتعبيد الطرق وغيرها.

• أهم المجاميع الرئيسية للدقائق في الهواء هي:

1-الرمال (Grit)

هي الدقائق الصلبة العالقة في الهواء والتي يزيد قطرها عن 500 ميكرون

2-الغبار الطبيعي Natural Dust

هي الدقائق الصلبة في الهواء والتي يتراوح قطرها بين 24- 200 ميكرون. وهي من أكثر أنواع الدقائق في الهواء شيوعا" وانتشارا" ، ومصدرها طبيعي ، وهو من طبقات القشرة الأرضية المخلخلة والمعرضة إلى تيارات الهواء ، حيث تتطاير حال توفير الظروف المناخية الملائمة ، وتساهم عمليات إزالة الغطاء الخضري مثل قطع الأشجار ورعي الحيوانات الجائر ، فضلا" عن حركة السيارات ووسائل النقل الأخرى في الطرق غير المعبدة في توفير مزيد من المساحات من القشرة الأرضية المعرضة لتطاير دقائقها مع الرياح

3-الدخان Smoke

هو عبارة عن المواد الدقيقة الناتجة من عمليات الحرق المختلفة والتي تطلق دقائق لا يزيد قطرها عن 4 ميكرون ويشكل الكربون غالبيتها العظمى

Aerosol

4-الهباء الجوي هي الدقائق الصلبة أو السائلة العالقة في الهواء والتي يقل قطرها بصورة عامة عن الميكرون الواحد.

5-الضباب Mist

يشمل الضباب كلا" من القطيرات السائلة والعالقة في الهواء التي تصل أقطاره إلى 100 ميكرون أحيانا" ، إما الدقائق التي تزيد أقطارها عن 100 ميكرون فتدعى (Fog))

6-السخام Soot

يتمثل بجزيئات الكربون المتناهية الدقة والتي تتجمع بصورة سلاسل طويلة.

Artificial Dust

7- الغبار الصناعي

يصدر من نشاط الصناعات المختلفة مثل صناعة الإسمنت والجبس والآجر، وعند تقطيع أحجار المرمر لإنتاج قطع البناء وتقطيع جذوع الأشجار في إنتاج الخشب وغيرها ، مما يتسبب عنه تطاير كميات كبيرة من جسيمات دقيقة في الهواء ، وتنطلق من العديد من الصناعات المعدنية جسيمات تكون أدق حجما " عادة" وتتألف إما من دقائق المعدن نفسه والتي تنتج عن عمليات القطع أو الصقل وغير ذلك ، أو تكون متكونة من أملاح المعدن كما هو الحال في صناعة البطاريات السائلة التي تبعث عنها دقائق أو أكسيد الرصاص أو كبرياتاته

(Pollen Grains)

8- حبوب اللقاح

يلاحظ في موسم الربيع كثرة الجسيمات التي تنطلق من النباتات الزهرية التي هي حبوب اللقاح ، وتمتاز دقائقها بكبر حجمها وقد يتعرض بعض السكان إلى أعراض حالات من الحساسية الجلدية أو تورم العينين أو رشح الأنف وغيرها .
يوجد في الهواء كذلك عدد من المواد تأخذ شكل جزيئات أو جسيمات أو حبيبات كالأسبست الذي يسبب مرض الأسبيستوس Asbestos وسرطان الرئة الذي ينتشر بين عمال المصانع والمناجم ، كما توجد أشكال أخرى للضباب الدخاني ، ففي فصل الشتاء وعند تواجد تركيزات عالية من ثاني أكسيد الكربون CO₂ والهيدروكربونات يتكون الضباب الدخاني المعروف بضباب لندن (London Fog) وفي فصل الصيف وعند توفر أكاسيد النتروجين والهيدروكربونات والإشعاع الشمسي الحاد فيتكون نوع آخر يدعى بالضباب الأسود الضوء كيميائي (Photochemical).

• هنالك علاقة بين نوعية هذه الدقائق وقطرها وتأثيرها في البيئة وفي صحة الإنسان كما أشير اليه سابقا

ومن وجهة نظر التلوث الهوائي فإن الدقائق الأكثر أهمية هي تلك التي يتراوح قطرها بين (0,1 - 10) ميكرون التي تكون تقريبا " بحجم البكتريا والتي لا تميزها العين المجردة ، حيث أن عين الإنسان يمكن أن تميز الدقائق التي قطرها يزيد عن 100 ميكرون.

أن الجزيئات هي أصغر من واحد ميكرون تنتج على الأكثر من تكثف المواد المتبخرة بعد الإحتراق ، أما الدقائق الأكبر من 10 ميكرون فأنها تنتج على الأكثر من العمليات الآلية مثل الطحن والبرد

• هنالك بعض الصعوبات المرتبطة بتقييم خصائص الدقائق ، حيث قد يتوقف نوع الضرر على حجم تلك الدقائق في حين يعود الضرر الآخر لسميتها ، وتتلخص التأثيرات التي تحدثها الدقائق على الظروف الجوية والمحلية وعلى الكائنات الحية كونها تعمل على حجب أشعة الشمس ، وكذلك تعمل على خفض درجات الحرارة عند سطح الأرض ، كما إنها تساهم في تجهيز أنوية للتكثف ، مما يزيد ظهور الضباب والأمطار في المدن.

كما أن هذه الدقائق تسبب ضررا " لصحة الإنسان والحيوان خاصة في الجهاز التنفسي والأمراض الجلدية وأمراض العيون فضلا " عن تأثيراتها على النباتات ، حيث عند تراكمها على أوراقها تسبب تثبيط عملية النتج خلال سد الثغور ، وكذلك تقليل شدة الإضاءة التي تصل إلى النسيج المتوسط للأوراق مما يؤثر في عملية البناء الضوئي.

وما تعمله الدقائق في ظاهرة إنخفاض الرؤيا يتطلب إستخدام الأضواء بدرجة أكبر ، مما يبرز الحاجة لإستهلاك الطاقة الكهربائية أكثر ، وهذا يرافق إنتاج التلوث المعروف لمصانع القوة الكهربائية.

• شاركت التراكيز العالية للمواد الدقائقية في إحداث كوارث في تلوث الهواء والأجواء ، فقد بينت الدراسات الوقائية وجود الارتباط الوثيق بين معدلات الوقايات من أمراض الجهاز التنفسي (كالربو والالتهاب الشعبي والإنفاخ الرئوي وغيرها) ، وبين معدل مستوى تركيز الدقائق في المناطق السكنية . ولوحظ الآثار الصحية تحدث عندما يفوق المعدل السنوي للمواد الدقائقية عن 80 مايكروغرام لكل متر مكعب واحد ، ويعتمد سلوك الملوثات على حجم الدقائق والزمن الذي تحتاجه للإستقرار في الأجواء ، فالدقائق التي يزيد حجمها عن 50 ميكرون تكون خطورتها التلوثية قصيرة الأمد

- يمكن تصنيف الجسيمات تبعاً لحجمها الى ما يلي:
- (1) **الجسيمات المتساقطة** و هي تلك الدقائق التي ل تلبث أن تعود إلى الرض بعد انطلاقها من مصادرها بتأثير (الجاذبية الارضية، و يطلق عليها اسم الغبار الساقط. و يزيد قطر هذه الجسيمات عن عشرة ميكرومترات، و هذه الجسيمات لها تأثير على العيون و المنشآت الصناعية و البنية و الممتلكات، و لها تأثير إخفيف على المجاري التنفسية للانسان لان إشعيرات
- الانف تعمل على حجز و ترسيب جزء كبير منها و إخالصة الجسيمات التي يزيد قطرها عن مائة ميكرومتر.

(2) **الجسيمات العالقة الكلية** : يرمز لهذه الجسيمات بالرمز (TSP)

- الجسيمات التي يتراوح قطرها بين من 0.1 إلى 10 ميكرومترات، و تبقى فترة طويلة معلقة في الهواء. أما معدل ترسبها فهو بطيء و انسيا و يتوقف على الظروف الطبيعية من رطوبة أو رياح أو حرارة و غيرها . و تعتبر الجسيمات العالقة أخطر الجسيمات الملوثة للهواء حيث من الممكن أن تصل للرئتين و تستقر هناك.

- (3) **الجسيمات العالقة الدقيقة** و هذه الجسيمات اصغيرة جداا و قطرها أقل من 0.1 ميكرومتر، و من الصعب ترسبها و) لها حركة عشوائية و قد تتجمع مع بعضها البعض ليزداد حجمها إلى أكثر من 1 ميكرومتر. و يصل عددها في الهواء النقي إلى عدة مئات في السنتمتر المكعب، أما في الجواء الملوثة فيصل عددها إلى أكثر من 100 ألف في السنتمتر المكعب. و لا تشكل

- هذه الجسيمات إخطراا كبيراا على صحة الانسان، مع أنها تصل إلى الرئتين بسهولة، حيث تستطيع الرئتين انفتها أثناء الزفير.

- التأثيرات الصحية للدقائق
- ويرتبط حجم الجسيمات ب قدرتها على التسبب في مشاكل اصحية.
- فالجسيمات الصغيرة تشكل أكبر المشاكل إخالصة تلك التي يقل
- قطرها من **10 ميكرومتر**، لأنها يمكن أن تصل الى الحويصلات الرئويه في الرئتين، و قد تصل الي مجرى الدم.

- التلوث بالجسيمات خاصة المواد الصلبة المجهرية أو قطرات سائلة الصغيرة التي يمكن أن تصل الى عمق الرئتين وتسبب
- مشاكل صحية خطيرة. وربطت دراسات علمية عديدة التعرض للتلوث الجسيمات لمجموعة متنوعة من المشاكل، نوجزها:الموت
- المبكر للإشخاص الذين يعانون من أمراض القلب أو الرئة , التعرض لزمات قلبية غير مميتة، عدم الانتظام ضربات
- القلب، تفاقم انوبات الربو ، انخفاض وظائف الرئة، و زيادة أعراض الجهاز التنفسي، مثل التهاب الشعب الهوائية
- والسعال أو صعوبة في التنفس.

الوقاية من التلوث الهوائي

- 1- إلزام كافة المصانع في (القطاع الخاص والعام) على إقامة وحدات فلترة ومعالجة لمخلفاتها الغازية أو الغبارية أو الصلبة أو السائلة.
- 2- إستخدام البنزين الخالي من الرصاص والمازوت الخالي من الكبريت.
- 3- مراقبة كافة وسائل النقل الخاصة والعامة والتأكد من سلامة محركاتها وإحتراق الوقود بشكل سليم.
- 4- إبعاد كافة المصانع عن المدن وأماكن السكن.
- 5- معالجة مياه الصرف الصحي بالطرق العلمية الحديثة.
- 6- إستخدام الطاقة النظيفة بديلا عن الوقود الإحفوري (الفحم والمازوت..).
- 7- إستخدام المبيدات والأسمدة ذات المصدر العضوي وليس الكيميائي.
- 8- مراقبة المصانع والفعاليات الإنتاجية ذات التقنيات القديمة والملوثة وتنطويرها.
- 9- زيادة المساحات المشجرة داخل المدن والتي يجب أن لا تقل عن 40% من مساحة المدينة، بالإضافة إلى زراعة أحزمة خضراء تحيط بها.
- 10- عدم إعطاء أي ترخيص صناعي جديد لايتقيد بشروط الحفاظ على سلامة صحة الإنسان والبيئة.