

الدراسة البيوتكنولوجية للبكتيريا الطمئية المحللة للسيليلوز في ميدان علم الآثار. ربيعين أعمار.

جامعة أبو القاسم سعد الله- الجزائر 2،.

rebaineamar@gmail.com

Bactéries Cellulolytiques, Clostridium Thermcellum

تاريخ الإرسال: 2022/08/14؛ تاريخ القبول: 2023/05/14

Abstract:

Archaeological material is generally divided into organic or inorganic archaeological material given that organic archaeological materials can be of animal or plant origin. The latter is the key element of this study.

In general, organic archaeological materials are highly susceptible and interact with elements of the environment compared to mineral archaeological materials, this is due to their biological nature and structural or fibrous components. This poses procedural and systematic problems in dealing with these materials in order to preserve them because damage factors that pose a serious risk, whether natural or biological, may be multiple.

This study is concerned in investigating the phenomenon of the impact of organic archaeological substances of plant origin on the agent of cellulose-analyzing bacteria and the extent to which the technological development in microbiological analysis has been applied and its results invested in understanding this phenomenon with finding solutions aimed at reducing the risk of these bacterial species interfering with the respective archaeological material, which is reflected in bacterial processing methods.

Clostridium Thermcellum is among the species of bacteria that pose a danger to plant archaeological organic

matter, considering the targeted chemical, cellulose, is a necessary material in the stability and durability of the bulk of the substances it consists of.

Keywords: Microbiological Analysis, preservation of archaeological materials, biological damage factors, cellulose-analyzing bacteria.

الملخص:

تنقسم المواد الاثرية عامة الى مواد أثرية عضوية أو غير عضوية، والمواد الاثرية العضوية تنقسم بدورها الى مواد عضوية ذات الاصل الحيواني أو النباتي، وهذه الاخيرة هي محل الدراسة في هذا البحث، وبصفة عامة فالمواد الاثرية العضوية هي مواد شديدة التأثير والتفاعل مع عناصر المحيط مقارنة مع المواد الاثرية المعدنية، وهذا راجع لطبيعتها الحيوية ومكوناتها البنيوية أو الليفية، هذا ما يطرح اشكاليات اجرائية ومنهجية في التعامل مع هذه المواد بهدف المحافظة عليها، وباعتبار هذا التفاعل الحاصل مع عناصر المحيط، فقد تتعدد عوامل التلف التي تشكل خطرا محدقا على هذه المواد، ولعل من أهم هذه العوامل نجد العوامل البيولوجية.

تهتم هذه الدراسة بالبحث في ظاهرة تأثر المواد الاثرية العضوية ذات الأصل النباتي بعامل البكتيريا المحللة للسيليلوز، ومدى تطبيق التطور التكنولوجي الحاصل في مجال التحليلي الميكروبيولوجي واستثمار نتائجه في فهم هذه الظاهرة وايجاد الحلول التي تهدف للحد من خطر تدخل هذه الانواع البكتيرية على المادة الاثرية المعنية، والتي تنعكس على طرق المعالجة البكتيرية.

تعتبر انواع البكتيريا المحللة لمادة السيليلوز (*Clostridium thermcellum*) من بين الانواع البكتيريا التي تشكل خطرا على المادة العضوية الاثرية النباتية، باعتبار ان المادة الكيميائية المستهدفة هو السيليلوز، وهو من المواد الضرورية في استقرار وديمومة جل المواد التي تتكون منها.

الكلمات المفتاحية: التحليل الميكروبيولوجي، المحافظة على المواد
الاثريّة، عوامل التلف البيولوجية، البكتيريا المحللة للسيليلوز.

مقدمة:

بعد التراكمات المعرفية التي حصلت في ميدان البحث العلمي واتساع ميادين البحث، حتم الاتجاه نحو التخصص أكثر فأكثر، وكل تخصص له منهجية خاصة به واتجاه فكري معين، وأخذ كل تخصص ميدان خاص يبحث فيه حتى ظهر وكأن هذه التخصصات منفصلة عن بعضها البعض، وفي الحقيقة أن التخصصات العلمية لا يمكنها أن تشتغل وتنتج المعرفة دون التفاعل فيما بينها والاستفادة من الانتاج الجماعي للتفاصيل المعرفية، وعلم الآثار أحد هذه التخصصات الذي يهدف في الاصل لدراسة الانسان، وربما هذا التخصص من مميزاته أنه يضم في منهجه جل التخصصات العلمية الاخرى، ويستفيد منها ويدفعها في بعض الاحيان للبحث والتطور من أجل أن تستجيب لمتطلباته المعرفية والمنهجية والتقنية.

إن الاشكاليات المعرفية التي يعالجها ميدان علم الآثار تتطلب كثير من الادوات العلمية الدقيقة، ويحتاج الى تطويرها بشكل دائم وعصرنتها من أجل الاستعانة بها في الاجابة على هذه الاشكاليات، وأغلب هذه التقنيات والادوات تتعلق بالجانب التكنولوجي الفني، ومن الملاحظ أن هذا الجانب هو من صلب تخصص علم الآثار، لأنه في الاصل يبحث في تاريخ ظهور التقنية (التكنولوجيا) ويفسر البوادر الفكرية والنفسية والاجتماعية التي تستدعي ظهورها أو اندثارها.

إن التطور الحاصل في الميدان التكنولوجي انعكس ايجاب على تطور مناهج البحث الاثري، اذ ساعده في تفسير وقراءة الظواهر التي يبحث فيها تفسيرا علميا دقيقا وحل الاشكاليات البحثية التي تخص هذا التخصص، ومن بين المناهج التي يهتم بها علم الآثار نجد منهج المحافظة على المواد الاثريّة، وهو منهج في

أساسه تقني تكنولوجي، وهذا ما يفسر الاستعمال الواسع والمستمر للتكنولوجيات الحديثة، ومن أجل تلبية هذه المتطلبات التقنية يستعين ببعض التخصصات الأخرى بغية إنتاج ما يحتاجه من تكنولوجيا تلبية لهذا الغرض.

إن ميدان المحافظة على المواد الأثرية يستدعي منهجا علميا يبحث في التفاعل الحاصل بينها وبين عناصر محيطها التي تشكل خطرا يهدد ديمومتها، ومنهجيا تعتبر هذه العناصر عوامل تلف تحتم فهم آلية اشتغالها، وتعتبر عوامل التلف البيولوجية من بين العوامل التي تطرح اشكاليات بحثية مهمة.

تبحث هذه الدراسة في جزئية دقيقة تتعلق بتأثير بعض الأنواع البكتيرية على المواد الأثرية العضوية، من أجل فهم التفاعلات الحاصلة بين البكتيريا ومكونات المادة الأثرية العضوية، ومن أجل ذلك تم دراسة عينية لأحد الأنواع البكتيرية التي تحلل وتلف مادة السيليلوز المكونة للمواد الأثرية العضوية ذات الأصل النباتي، والاستعانة بالأدوات التكنولوجية المستعملة في ميدان التحليل البكتريولوجي واسقاط هذه المنهجية على العينة المدروسة.

ويعتبر ميدان التحليل البكتريولوجي (Analyse bactériologique)، أو التحليل الميكروبيولوجي (Analyse microbiologique)، أو التحليل البيوتكنولوجي الميكروبي (Analyse biotechnologie microbienne) من الميادين التي تشهد تطورا بليغا لدرجة الاستغناء الكلي عن التكنولوجيات الكلاسيكية الخاصة بهذا المجال.

وعليه ، ماهي التقنيات البيوتكنولوجية المستعملة في تحليل والتعرف على البكتيريا المحللة لمادة السيليلوز في المواد الأثرية العضوية ذات الأصل النباتي؟

1. المكونات الكيميائية للمواد الأثرية العضوية النباتية:

تكتسب المواد العضوية بصفة عامة خواصها ومميزاتها بفضل المواد الكيميائية المشكلة لبنيتها، وهي مواد شديدة التعقد والمسؤولة عن جميع الوظائف التي تقوم بها المادة خلال طور حياتها، كما أنها المسؤولة كذلك عن التفاعلات التي تحصل بين المادة العضوية وعناصر محيطها واستقرارها، ومن بين هذه المواد نذكر:

1.1. السيليلوز:

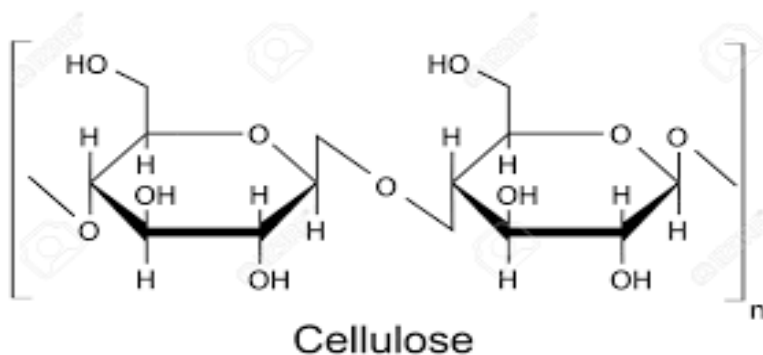
يمثل جدار الخلية النباتية البنية الصلبة من جهة والديناميكية من جهة أخرى للخلية والنسيج النباتي، وهذه الوظيفة المزدوجة للخلية تنتج من خلال مكوناتها الكيميائية التي هي عبارة عن خليط معقد لعديدات التسكر والبروتينات، وتظم عديدات التسكر في الخلية مادة السيليلوز والهيميسيليلوز، حيث تنتظم السلاسل السيليلوزية على شكل ألياف ميكروية التي تشكل بنية الغلاف الخلوي التي تعطي مقاومة جد عالية للضغط (Serge Perez,2007:1)

تشكل الألياف السيليلوز من 20 بالمئة الى 30 بالمئة من كتلة المادة الجافة، وتكون حوالي 15 بالمئة من حجم الجدار الخلوي، ويمكن ان يصل الى حوالي 90 بالمئة من حجم الجدار على حسب أنواع الخلية (Serge Perez,2007:1) .

يتكون السيليلوز من ثلاث عناصر مهمة وهي: الكربون (Carbone)، والهيدروجين (Hydrogène) والأكسجين (Oxygène)، وتعطى مجموعة هذه العناصر بالصيغة الكيميائية التالية التي تمثل بصفة عامة جزئي السيليلوز $[(C_6H_{10}O_5)_n]$ ، ويعتبر السيليلوز من عديدات التسكر وحيدة المكون (Homo

(polysaccharide)، ومكون من وحدات بقايا جلوكوز مرتبطة برابطة جلوكوسيدية (Glucidique)، وهو بهذا بوليمر (Polymère) إستقامي (Liner) من وحدات نباتية من الجلوكوز الأندريدي، وله قابلية لتكوين روابط هيدروجينية بين جزيئية وغير جزيئية (ربعين أعمار، 12، 2008).

يتجمع السيليلوز في سلاسل، والسلاسل في حزم من الميكروفبرلات (Micro fibrilles)، والتي توجد بها أماكن مرتبة وبلورية (Cristalline)، تتبادل مع أماكن أخرى أمورية (غير متبلورة) (Amorphe)، والميكروفبرلات تكون الألياف، وهذه بالتالي تكون الألياف السيليلوزية، وكنتيجة لهذا التركيب الليفي والروابط الهيدروجينية القوية فالسيليلوز غير ذائب في معظم المذيبات، ونظرا لطبيعة الروابط فيه فهو قوي من حيث الشد، ويضم التركيب البلوري للسيليلوز أربع وحدات من الجلوكوز اللامائي أو عديم الماء (Glucose anhydre) وتقع السلاسل السيليلوزية فيها متوازية في المستوى الفراغي (ربعين أعمار، 12، 2008).



الشكل 1: الصيغة الكيميائية لبنية جزيء السيليلوز.

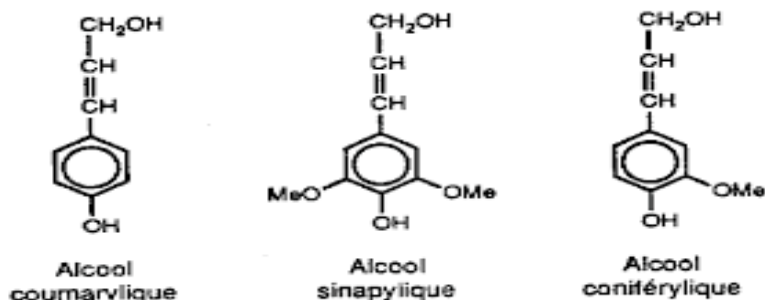
عن: https://fr.123rf.com/photo_27539074_la-formule-chimique-structurale-du-polym%C3%A8re-de-cellulose-illustration-2d-vecteur-isol%C3%A9-sur-fond-blanc.html

2.1. اللجنين:

وهي مادة عالية البلمرة والتشعب ما يؤدي لجعل الجدار الخلوي أكثر متانة، فعلى سبيل المثال نجد أن اللجنين مكون أساسي في النبات ويشار للخلية المحتوية على اللجنين بأنها ملجننة، وهي مخزنة في الجدار الأولي والثانوي للخلية (بيتر ه. ريفن، ب س: 2007).

تعتبر اللجنين المادة المسؤولة عن مقاومة الأمراض بطرق مختلفة، حيث تشكل حاجز مانع للحركة الحرة للمغذيات وبالتالي تساعد في مجاعة الكائن الممرض، كما يمكن أن تكون مادة سامة للكائن الممرض وبالتالي تمنعها من إتمام عملية الاختراق (أبو عرقوب م، 2001:55).

كما أن مادة اللجنين، عبارة عن مركب متعدد الأصول أو مكثف، أو مادة مركبة الجزيئات (Polymère)، وهي مادة جد معقدة ومتغيرة الخواص، تتسرب اللجنين في المساحات أو الفراغات التي بين الألياف، و تعوض الماء في الجدران الأولية والثانوية لبعض الخلايا أو النسيج الخشبي، وتمثل هذه المادة قسم هام من كتلة المادة.

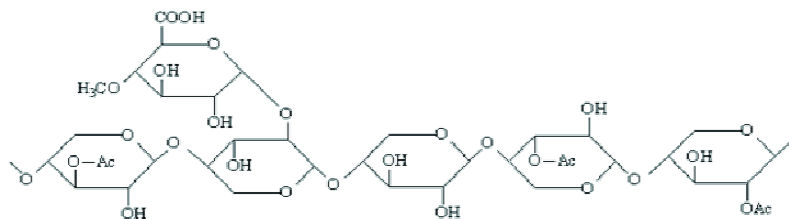


الشكل 2: الصيغة الكيميائية لبنية جزيء اللجنين.

عن: https://www.researchgate.net/figure/Motifs-elementaires-de-la-lignine_fig7_43326614

3.1. الهيميسيليلوز:

يعتبر الهيميسيليلوز من بين المواد الثلاثة الأساسية في تركيب الكتلة الحيوية الليفية للمواد النباتية ويمثل ما مقدار 40 بالمئة من وزن الكتلة الحيوية الكلية، وهو يتكون من مجموعة من متعددات التسكر المعقدة والتي تتميز بأنها قابلة للذوبان في المحاليل القلوية، ولا تذوب في عنصر الماء، حيث يتواجد الهيميسيليلوز داخل الجدار الخلوي النباتي، وهو مجموعة غير متجانسة من مصفوفة ذات وزن جزيئي منخفض نسبيا متفرع من البوليميرات المرتبطة بالسيليلوز والبوليميرات الأخرى، وترتبط بإحكام بسطح الألياف الدقيقة للسيليلوز ومن ميكروفيبر إلى آخر. وهو يحتوي على عدة سكريات بخمس ذرات كربون وهي الكزيلوز، و الارابينوز و الغالاكتوز وحمض الغالاكتورونيك وحمض الجلوكورونيك، وجدير بالذكر انه يتم تحليل السيليلوز والهيميسيليلوز بواسطة الكائنات المجهرية الدقيقة (Wertz J-L, 2011 :pp0.-14)



الشكل 3: الصيغة الكيميائية لبنية جزيء الكزيلان.

عن: https://www.researchgate.net/figure/Modele-dhemicellulose-xylane_fig6_43326614

2. البكتيريا المحللة للسيليلوز:

(*Bactéries Cellulolytiques* , *Clostridium Thermcellum*)

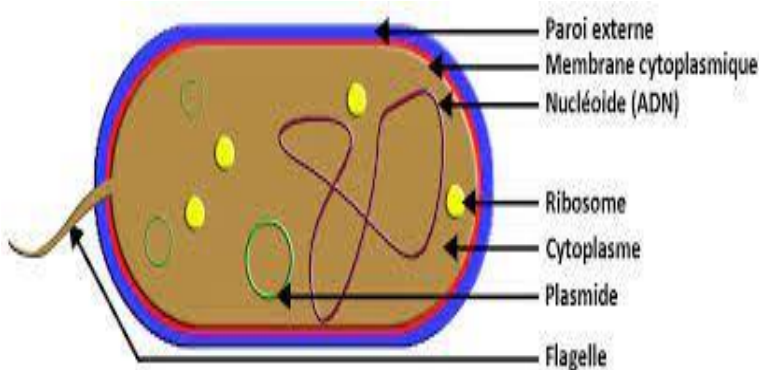
1.2. لمحة تاريخية:

ظل الاهتمام بالتعرف على الامراض والأوبئة في الحضارات القديمة كحضارة بلاد الرافدين أو الحضارة الفرعونية، وبدأ معها التفسير الميتافيزيقي لها، الى ان تطورت التكنولوجيا وظهر اول ميكروسكوب من طرف المختص في الطبيعة الهولندي اونتنوي ليفنهوك (Antoni van Leeuwenhoek) (1632-1723) حيث تمكن من اكتشاف البكتيريا (WertzJ-L, 2007/8)

2.2. تعريف البكتيريا:

البكتيريا عبارة عن خلايا محاطة بجدار صلب والمتكون أساسا من بيبتيوغليكانات، وكقاعدة عامة تتكاثر البكتيريا بصفة لاجنسية وتنقسم الى خليتين بحجم متساوي ويسمى بالانقسام البكتيري (division par scissiparie)، وهي كائن حي وحيد الخلية (procaryote) ذات احجام دقيقة، ومورفولوجيا متغيرة التي تمثل

مميزات خاصة، حيث حجمها يتراوح ما بين 1 الى 10 ميكرون ($10\ \mu m$ - $1\ \mu m$)، ويتراوح وزنها الى ما يقارب ($10\ g$ - $1\ g$)، وتحتوى عل 70 بالمئة ماء، وهي تتكون من 55 بالمئة بروتين، و 10 بالمئة ليبيد، و 3 بالمئة لبيدات متعددة التسكر (lipopolysaccharide)، و 3 بالمئة بيبتيوغليكانات (peptidoglycane)، و 40 بالمئة ريبوزوم (ribosome)، وتتغذى في الغالب على المكونات العضوية، وبعضها يقوم بإنتاج مواد التغذية بنفسه عن طريق التركيب الضوئي، والبعض الآخر يتغذى على المواد غير العضوية كالكبريت والميتان (Tortora. J, Funke B. R., Case C. L, Martin. L, 2012 :5)



الشكل 4: رسم توضيحي لخلية بكتيرية

عن:

<http://aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/00d7f0df-994b-4210-8465-2905d85870f0/blobholder:0/2017LIMO0075.pdf>

3.2. تصنيف البكتيريا:

نظرا للعدد الهائل للأنواع البكتيرية والتشابه الكبير بينها فقد وجدت العديد من انواع التصنيفات البكتيرية بغرض التعرف عليها والتمييز بينها.

1.3.2. تصنيف كارل فو لينني (1707-1778) (Carl Von Linné) :

يعتمد التصنيف الليني لعالم الكائنات الحية على مستويات هرمية مختلفة في الرتب، أو فئات متداخلة أو متجاورة، حيث اعتمد تقسيم عالم البكتيريا حسب نوع المملكة البكتيرية، والفرع البكتيري، والعائلة البكتيرية، والنوع البكتيري، والصنف البكتيري. حيث كل نوع يتميز بميزات أيضا ومورفولوجية خاصة، وأما فيما يخص تسمية البكتيريا فتكتب الكلمة الاولى من الاسم اللاتيني بشكل مائل ويبدأ بحرف كبير ويدل على النوع، والكلمة الثانية تكتب مائلة بحروف لاتينية صغيرة (Gros.f, 2012 :222) وهي خاصة بالصنف مثل: (*Lostridium thermcellum*, *Escherichia coli*)

2.3.2. تصنيف صبغة غرام (coloration de Gram):

انه التصنيف الاكثر شيوعا في مجال تصنيف البكتيريا والتعرف عليها، وتم تطوير هذه المنهجية في تصنيف الانواع البكتيرية من طرف العالم المختص في البكتيولوجيا والفيزيائي الدنماركي كريستيان غرام (Christian Gram) في سنة 1884، وسمي هذا التصنيف باسمه أي "صبغة غرام"، وهي منهجية تسمح بالتمييز بين الانواع البكتيرية من خلال الاختلاف في المكونات النوعية للجدران الخلوية البكتيرية، اذ تقسم الي بكتيريا صبغة غرام موجبة وبكتيريا صبغة غرام سالبة (Carole L. Vignola, 2002 : 79) ، حيث انه اذا كانت البكتيريا ذات صبغة غرام موجبة هذا يعني ان جدارها يأخذ لون بنفسجي عند اضافة مادة بنفسج جونسيان (violet de gentiane) أو البلور البنفسجي (cristal violet) واليود ، وفي حالة بكتيريا صبغة غرام سالبة فانه يتم اضافة صبغة بنفسج جونسيان وعند تنظيفه بمادة الصافرانين تعطي هذه الاخيرة اللون الاحمر للبكتيريا وهذا يدل على انها بكتيريا سالبة الغرام (Carole L. Vignola, 2002 : 79) ، كما يتم تصنيف البكتيريا الى بكتيريا هوائية ولاهوائية على حسب احتياجاتها للأوكسجين، فالبكتيريا التي تعيش في وجود مادة الاوكسجين

تسمى بكتريا هوائية (Bactérie Aérobie) والتي لا تستطيع العيش في وجود الاوكسجين تسمى بكتيريا لاهوائية (Bactérie Anaérobie) من اجل ان تعيش، كما هناك نوع بكتيري يعيش سواء في وجود الاكسجين أو في غيابه وتسمى البكتيريا الهوائية الاختيارية، وعليه يتم تصنيف البكتيريا الى:

-بكتيريا هوائية موجبة الغرام، وتنقسم الى:

أ: بكتيريا كروية (Bactérie Cocci)

ب: بكتيريا عصوية (Bactérie bacille)

-بكتيريا هوائية سالبة الغرام، وتنقسم الى:

أ: بكتيريا كروية (Bactérie Cocci)

ب: بكتيريا عصوية (Bactérie bacille)

-بكتيريا لاهوائية موجبة الغرام، وتنقسم الى:

أ: بكتيريا عصوية وعصوية كروية (Bactérie Bacille et coccobacille):

ب: بكتيريا كروية (Bactérie cocci):

-بكتيريا لاهوائية سالبة الغرام، وتنقسم الى:

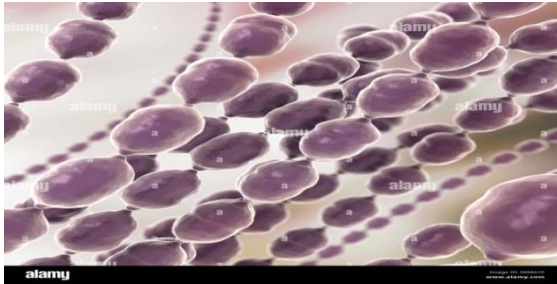
أ: بكتيريا كروية (Bactérie Cocci)

ب: بكتيريا عصوية (Bactérie bacille)



الصورة 1: ابكتيريا عصوية

عن: www.futura-sciences.com



الصورة 2: بكتيريا كروية

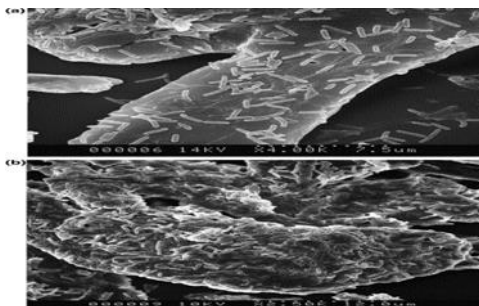
عن: www.alamyimages.fr/photo-image

4.2. البكتيريا المحللة للسيليلوز (*Clostridium thermocellum*) :

تصنف البكتيريا المحللة للسيليلوز أو كما تسمى بالطمئية الحرارية ، ضمن الكائنات المجهرية الدقيقة كثيرة التنوع، وتصنف ضمن البكتيريا اللاهوائية البوغية (Doris Freier, Cheryle P, Juergen Wiegel, 1988 :204-211)

وهي القادرة على انتاج الهيدروجين باستعمال البقايا السيليلوزية، ولهذا الغرض فهي تقوم بإزاله خاصية بلمرة مادة السيليلوز (11 : 1999 PAYOT.S) ، وتتم هذه العملية بفعل مجموعة من البروتينات الانزيمية، وهي عبارة عن عصية بشكل

منحني قليلا ينتهي بنهايات مدورة، تتراوح مقاساتها من 3 ميكرون الى 6 ميكرون من ناحية الطول و من 0.6 ميكرون الى 1 ميكرون من ناحية العرض، خلاياها متحركة بفعل تكونها من أسواط، وهي تنتمي الى النوع الطمئي (*Clostridium*) من خلال تحاليل النشوء والتطور (phylogénétique)، وتعيش وتتطور في الظروف معتدلة الحرارة ما بين 32-35 °م، ولا تحتل درجة حرارة دنيا 25°م ولا درجة حرارة عليا 45°م، تتميز هذه البكتيريا بتخمير مادة السيليلوز والسيليوباز والجليكوز، وبصفة أقل مادة الارابينوز والفراكتوز والغلاكتوز والكسيلوز، وبعد تخمير عديدات التسكر يتم تحريرها وتصبح قابلة للتلف، وتتحلل هذه العناصر بفعل تدخل هذا النوع البكتيري كتحللها عندما تتعرض لمادة الأسيتات والايثانول والاكثات (Desvaux. M, 2001 :20-32)



الصورة 3: صورة بالميكروسكوب الالكتروني الماسح لنمو بكتيريا (*Clostridium cellulolyticum*) على ألياف السيليلوز

عن:

Desvaux. D, *Clostridium cellulolyticum*: model organism of mesophilic cellulolytic clostridia, FEMS Microbiology Reviews, Volume 29, Issue 4, September 2005, Pages 741-76

يلاحظ أن استهلاك المواد الكربونية من طرف هذا النوع البكتيري يصل الى 100 غ/ل-1 ، لكن هذه المواد لا تساهم وحدها فقط في نمو البكتيريا انما هذا راجع الى استهلاك الاحماض الامينية والخمائر والبابتيدات والفيتامينات، وتقوم البكتيريا باستهلاك واتلاف السيليلوز بفعل استخدام انزيم السيليلاز والسيليلوزوم، أين تلتصق البكتيريا في الاول على مناطق خاصة في مادة السيليلوز وبعدها تنتشر المستعمرة البكتيرية مع تخمر الطبقات المتموضعة للخلية وبالتالي تحللها وتحرر مادة السيليلوز (Desvaux. M, 2001 :20-32) وفق المعادلة التالية :



3. طرق التحليل البكتريولوجي للبكتيريا الطمئية:

1.3. إجراءات الدراسة البكتريولوجية للعينة الاثرية:

إن من أهم أهداف الدراسة البكتريولوجية للعينات الاثرية هو التعرف على نوعية وكمية البكتيريا الموجودة في العينة والامراض المترتبة عنها وتقييم الخطار الناتجة عنها، وفي الاخير معرفة طرق المعالجة، وكما هو معروف فانه لا يمكن ملاحظة التواجد البكتيري في العينات الاثرية بالعين المجرد كما أنه من النادر ما تظهر مظاهرها على بنية المادة الاثرية، ولكن يمكن معرفة ذلك اما من خلال التحليل الدوري للمواد الاثرية، أو عند تحليل العينات بغرض الكشف عن عوامل اخرى، وعندما يظهر تشوه غير مبرر عليها.

تعتمد منهجية تشخيص البكتيريا الموجودة في الوسط أو في العينات المدروسة على الطرق المباشرة التي تجمع التقنيات التي تركز على:

1.1.3. أخذ العينات:

إن نجاح التحاليل البكتريولوجية مرهون بصفة كبيرة بتطبيق شروط اخذ العينات ونقلها، وذلك من أجل تجنب التلوث من طرف البكتيريا الهوائية ، والتعامل مع البكتيريا في عينات المادة الاثرية يستلزم استعمال الاوساط الصلبة غير السائلة، من اجل هذا يشترط تجنب اتصال العينة مع الهواء، وتستعمل أدوات معقمة، وتأخذ عن طريق تقنية المسحة (frottis)، أو أخذ عينة صلبة بأحجام وأوزان صغيرة، لتجنب اتلاف المادة الاثرية، ويفضل في هذه الحالة استعمال تقنية المسحة -70: (Monteil.H, Pièmont. Y, 2000) (74).

2.1.3. الدراسة الماكروسكوبية للعينات البكتيرية:

إن ملاحظة الحالة الماكروسكوبية للمستعمرات البكتيرية باستعمال العدسات المكبرة تسمح بالتمييز الاولي للعينة وتوجيه محتمل للنتائج التي هي قيد الدراسة، وعوامل التعريف الماكروسكوبي تتمثل في:

- شكل المستعمرة: دائرية، غير منتظمة، التفاصيل الخارجية حواشي ملساء، منتظمة غير منتظمة، السطح الخارجي منتفخ أو مسطح، الوسط مجوف أو ممتلأ (Boussena.S, 2020 :18)

- حجم المستعمرة: قياس قطر المستعمرة.

- لون المستعمر: لون ساطع، شفاف

- حالة المستعمر: مستعمرة رطبة، خشنة، لزجة

- رائحة المستعمرة: الرائحة المنبعثة من المستعمرة المزروعة

- التصاق المستعمرة في وسط الدراسة.

3.1.3. الدراسة الميكروسكوبية للعينات البكتيرية:

كما هو معلوم فإن خصائص أي مادة وأي كائن مرتبطة مباشرة ببنيتها الميكروية يعني بالمكونات الكيميائية والحيوية، كما أنه من أجل فهم ومعرفة سلوك أي مادة وأي كائن لابد من التمكن من ملاحظة وحساب بنيته الميكروية، لهذا الغرض فإنه توجد عدة تقنيات مختلفة تستعمل على حسب الميدان وحسب الغرض.

إن التكنولوجيا المستعملة في مجال دراسة بنية المواد في تطور مستمر وسريع، فبعد أن كان استعمال الميكروسكوب الذي يعتمد على مبدأ بسيط وهو استعمال عدسات التكبير والضوء الذي يخترق المادة ويعطي صورة مكبرة حتى 1000 مرة، فقد أصبح يعتمد الآن على الميكروسكوب الإلكتروني الماسح، والذي يعتمد على مبدأ تفاعلات المادة الإلكترونية، حيث تقوم حزمة من الإلكترونات بمسح سطح العينة المراد تحليلها، ويعطي في النهاية صورة دقيقة للعينات، وهو خاص بملاحظة المادة 20 نانومتر، وتكبيرها حتى 10000 مرة.

يستعمل الميكروسكوب في ميدان التحاليل الميكروبيولوجية في التعرف على نوع البكتيريا بدون صبغة (صبغة غرام) أو ما يسمى الوسط الطبيعي (état frais) من أجل معرفة حركة البكتيريا، أو باستعمال الصبغة ويسمى بالوسط المصنع، كما يمكن البحث عن البكتيريا باستعمال مولدات الضد (Antigène) أو الأحماض النووية (ARN, ADN) الخاصة بالبكتيريا (Denis .F, Ploy . M.C, et autres, 2016 :15).

أ. تقنية الحالة الطبيعية (état frais):

يسمح هذا الاختبار بالتعرف على الشكل ولانتظام وخاصة حركة البكتيريا، والتي تعتمد على ملاحظة قطرة من المحلول البكتيري المحضر بالماء الفيزيولوجي والموضوع بين الشريحتين الزجاجيتين في الميكروسكوب الضوئي، حيث يأخذ قطرة من المحلول البكتيري (من 1 إلى 10 مستعمرات وتوضع في 5 مللتر

من الماء الفيزيولوجي) وتوضع على الشريحة الزجاجية، وتلاحظ فوراً بالميكروسكوب بتكبير 40 مرة (Boussena.S, 2020 :18).

ب. تقنية التلوين البسيط بأزرق الميتيلان:

تعتمد هذه التقنية على وضع مسحة من البكتيريا المدروسة على الشريحة الزجاجية الجافة للميكروسكوب، ونشرها برفق على الشريحة، ثم تجفيفها، وتثبيتها بالكحول وغسلها بالماء أو تثبيتها بالحرارة بتمريرها ثلاث مرات على شعلة موقد بانزان، ثم غمرها بمحلول أزرق الميتيلان لمدة دقيقة، ثم غسلها وتجفيفها، عند هذه الحالة تصبح البكتيريا ميتة ومثبتة على الشريحة وملونة، وبعد التكبير 100 مرة يتم تنظيف العينة بورق جونسون (Boussena.S, 2020 :20).

ج. تقنية التلوين المركب أو تلوين غرام:

هو تلوين مزدوج يسمح بمعرفة شكل وطريقة الاصطفاف والنقاء وأيضا الطبيعة البيوكيميائية لجدار الخلايا، ويتم من خلالها تصنيف البكتيريا حسب قدرتها على تثبيت الكريستال البنفسجي، حيث أن البكتيريا التي لديها غلاف خارجي تفقد اللون عند التنظيف بالإيثانول وتصنف ضمن البكتيريا السالبة الغرام، بينما تلك التي ليس لديها غلاف خارجي تحتفظ بالملون عند التنظيف، وتصنف ضمن البكتيريا موجبة الغرام، هذه التقنية تعتمد على تثبيت المسحة البكتيرية بالحرارة موقد بانزان، ثم غمرها ببنفسج الجونسون لمدة دقيقة، ثم تنظيفها بالماء، وبعدها يتم إضافة محلول ليجول (solution Lugol) لمدة دقيقة وتنظيفها بالماء، ومعالجتها بالكحول بتركيز 95° لوضع ثوان وينظف بالماء، ثم إعادة التلوين بالصافرين لمدة 60 الى 75 ثانية، ثم التنظيف بالماء والتجفيف (Boussena.S, 2020 :21).

4. التعرف على البكتيريا بتحاليل البيولوجيا الجزيئية:

تمثل البيولوجيا الجزيئية مجموع الأدوات التي تهدف لدراسة الأحماض النووية (الحمض النيكلوتيدي، والحمض الريبوزومي) (ADN,ARN) ، حيث اثبتت التجارب العلمية في هذا الموضوع على قوة ودقة هذه التحاليل، حيث أن كل عوامل التلف البيولوجية المعروفة بما فيه البكتيريا والفطريات والفيروسات يمكن الكشف عنها بهذه الطريقة، وفي بعض الاحيان تعتبر البيولوجيا الجزيئية الوسيلة الوحيدة القادرة على التعرف على العنصر المرضي الجديد، ومقارنة بالتقنيات الميكروبيولوجية الكلاسيكية فان البيولوجيا الجزيئية لديها عدة مزايا حيث أن النتيجة تكون سريعة وحساسة وذات خصوصية (Lamoril.J, Bogard.M, et autres, 2007: 5-18).

الخاتمة:

مكننا هذه الدراسة من تبيان أهمية استعمال التكنولوجيات الحديثة في ميدان المحافظة على عناصر التراث تماشيا مع أهمية المحافظة على هذا الموروث الثقافي المهم، حيث أنه لا مناص من استثمار التطور الحاصل في هذا المجال من أجل حل الاشكاليات التي تواجه هذا الميدان.

إن النتائج المتوصل إليها في هذه الدراسة كانت بفضل استعمال تكنولوجيات التحليل البكتيريولوجي المستعملة في الميدان الطبي الذي يهتم بتحليل والتعرف على البكتيريا المرضية، وعند اسقاط هذه المنهجية على العينة المدروسة تبين أن الخطر الذي تشكله الاصابات بمختلف الانواع البكتيرية لا يستهان به، ويشكل خطرا على بنية المادة الأثرية العضوية النباتية، ويل تزداد خطورته لأن البكتيريا عامل ميكروسكوبي غير مرئي ولا تظهر مظاهر التلف التي تنتج عنها على المادة الأثرية إلا عندما تنتشر الاصابات البكتيرية وتتمكن من تلف البنية الداخلية للمادة المدروسة.

بينت النتيجة الرئيسية المستنتجة في هذه الدراسة أن النوع البكتيري المدروس وهي البكتيريا الطمئية المتلفة لمادة السيليلوز (*BACTÉRIES CELLULOLYTIQUES, CLOSTRIDIUM THERMOCELLUM*)، تستطيع أن تشكل خطرا هاما ينتج عنه تلف بليغ لبنية المواد الأثرية العضوية النباتية التي لا تخلو مكوناتها الكيميائية من مادة السيليلوز، وباعتبار أن هذه الأخيرة مادة مهمة كيميائيا وبنويا في استقرار المادة الأثرية، استوجب معرفة آلية تلفها بفعل النوع البكتيري المدروس، وتقييم الخطر الناتج عن هذا التلف تقيما نوعيا وكميا، وإيجاد الحلول المناسبة له.

لقد بينت هذه الدراسة أهمية العينة المدروسة كنموذج بحث، وأهمية طبيعة النتيجة المتوصل اليه، وكذا أهمية الأدوات والتقنيات المستعملة في هذه الدراسة.

المراجع:

المراجع العربية:

أبو عرقوب م.م، (2001)، المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة مكتسبة مستحثة حيوية، المكتبة الأكاديمية، القاهرة.
بيتر ه. ريفن، جورج. جونسون، وآخرون، علم الأحياء، سلسلة الكتب الجامعية المترجم- العلوم الأساسية، العبيكان، السعودية.
ربعين أعمار، (2008)، عوامل التلف البيولوجية المتدخلة على المادة الخشبية الأثرية، رسالة دكتوراه العلوم، جامعة الجزائر 2.

المراجع الاجنبية:

Berch.P, (2007), une histoire des microbes, Jhon Libbey Eurotext, Paris.
Boussena.S, (2020), Manuel des travaux pratiques de bactériologie, université des frères MENTOURI.
Carole L. Vignola, (2002), science et technologie du lait, transformation du lait, presses internationales polytechnique, Monteeal,
Denis .F, Ploy M.C, et autres, (2016), Bactériologie médicale: Technique usuelles, edition 3, Elsevier Masson, France.

- Desvaux .M, (2001), la fermentation de la cellulose par *Clostridium Cellulolyticum* : métabolisme modèle d'un *Clostridium Cellulolytique* mésophile, thèse de doctorat, université de Lorraine, France.
- Desvaux. D, (2005), « *Clostridium cellulolyticum: model organism of mesophilic cellulolytic clostridia* », FEMS Microbiology Reviews, Volume 29, Issue 4, September.
- Doris. F, Cheryle. P, Juergen .W, (1988), « *Charaterization of Clostridium thermocellum JW20* », American Society for microbiology, ASM journals, vol.67, No.4..
- Gros.F, (2012), Les mondes nouveaux de la biologie, Odil Jaccob, paris.
- Lamoril.J, Bogard.M, et autres, (2007), « *Biologie moléculaire et microbiologie clinique* », Elsevier publichealth emergency collection..
- Monteil.H, Piémont. Y, (2000), « Méthodes de prélèvement et de transport pour la recherche des bactéries anaérobies strictes », médecine et maladies infectieuses, volume30.
- PAYOT.S, (1999), étude des conditions physiologiques influençant la croissance, le catabolisme du cellobiose et la sporulation de *Clostridium Cellulolyticum* ATCC 35319, thèse doctorat, faculté des sciences, Nancy1.
- Serge. P, (2007), Structure et morphologie de la cellulose, Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV) CNRS, Décembre.
- Tortora. J, Funke B. R., Case C. L, Martin. L, (2012), Introduction à la microbiologie, 2e édition, ERPI.
- Wertz J-L, (2011), les hémicelluloses, document ValBiom-Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Wallonie.

للإحالة على هذا المقال:

- أعرم ربيعين، (2023)، «الدراسة البيوتكنولوجية للبكتيريا الطمئية المحللة للسيليلوز في ميدان علم الآثار».المواقف، المجلد: 19، العدد: 01، جوان 2023، ص.ص 346-366.