

عزل الجراثيم المخاطية من التربة السورية وتوصيفها حيويًا - كيميائيًا ومورفولوجيًا

غيداء منذر القاسم^{1*} بثينة خير الله الأشقر²، أيمن محمد المريري³

¹ طالبة ماجستير، جامعة دمشق، أحياء دقيقة في كلية علم الحياة النباتية،

ghaidaa24.alqasmy@damascusuniversity.edu.sy

² أ.م، د جامعة دمشق، أحياء دقيقة في كلية علم الحياة النباتية، dr.b.alachkar@gmail.com

³ أ، د هيئة الطاقة الذرية، قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية، aalmariri@acc.org.sy

الملخص

تتتمي الجراثيم المخاطية إلى المفترسات الدقيقة التي تتغذى على الجراثيم سالبة وإيجابية الغرام، وعلى الفطريات، والخمائر، تفرز مجموعة واسعة من المستقلبات الثانوية، والصادات الحيوية، والإنزيمات المحللة التي تستعملها في القضاء على الفرائس، يمكن العثور عليها في أنواع مختلفة من التربة، وتمتاز هذه الجراثيم بحركتها الانزلاقية على الأسطح الصلبة وبأنها تشكل أجساماً ثمرية تحوي أبواغاً مخاطية مقاومة مما يضمن بقاء هذه الجراثيم في الظروف غير الملائمة. تم من خلال هذه الدراسة عزل الجراثيم المخاطية لأول مرة في سورية من عينات تربة جمعت من منطقة يعفور وجديدة عرطوز وتميبتها على وسط VY/2 وتوصيفها مورفولوجياً وحيويًا - كيميائيًا ودراستها تحت المجهر.

تمتاز عينات التربة التي تم جمعها من يعفور وجديدة عرطوز أنها قلوية (pH 7.8) (pH 8) على التوالي وعليه تم الاستفادة من خصائص البيئة القلوية كونها قد تدعم ظهور أنواع جديدة غير محددة من الجراثيم المخاطية. بالنسبة للاختبارات الحيوية الكيميائية أظهرت تلك الجراثيم نتائجاً إيجابية في كل من اختبارات (الحركة- الكاتالاز - البولة، النشاء، النترات، إطلاق غاز كبريت الهيدروجين، وتحلل الهلام). أما بالنسبة للناحية الشكلية تمتاز الخلايا الإعاشية بأن لها شكل عصوي ونهاية قصيرة مكورة، وباستعمال أخضر المالكيث ظهرت الأبواغ على شكل تجمعات كروية وهذه الصفات تملكها غالبية أنواع الجراثيم المخاطية. تبين هذه الدراسة ضرورة استعمال طرائق مختلفة للعزل مثل طرائق (WCX - أوراق الترشيح) مع إضافة أجزاء مبللة من التربة إلى أوساط العزل وأهمية إضافة الصاد الحيوي Cycloheximide بعد التعقيم. لوحظ بعد فترات متفاوتة من الحضان أن استعمال طرائق أوراق الترشيح أكثر فعالية في عزل الجراثيم المخاطية من طرائق WCX وقد يعود هذا إلى وجود عزلات للجراثيم المخاطية محللة للسلولوز في تربة يعفور أكثر من العزلات المحللة للجراثيم في تربة جديدة عرطوز، يمكن أن يكون لطرق العزل التقليدية مثل طرائق WCX وطرائق أوراق الترشيح حدودها الخاصة أي أنها قد تكون مناسبة لبعض أنواع الجراثيم المخاطية وليس كلها بالإضافة إلى كون الجراثيم المخاطية تتأثر بالخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة لذلك فإن لهذه العوامل دور مهم في ظهور وعزل الجراثيم المخاطية.

الكلمات المفتاحية: الجراثيم المخاطية - مفترسات جرثومية - أجسام ثمرية - أبواغ - خلايا إعاشية

تاريخ الإيداع: 2024/07/01

تاريخ القبول: 2024/08/29



حقوق النشر: جامعة دمشق -

سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق

النشر بموجب الترخيص

CC BY-NC-SA 04

Myxobacteria from Syrian soil, Morphology and Biochemical test

Ghaidaa Mounther alqasmy¹ Buthayna Khar Allah
alachkar², Ayman Mohammed almariri³

¹ Master student, Microbiology, Department of plant, Science collage, Damascus university, E-mail: ghaidaa24.alqasmy@damascusuniversity.edu.sy

²Dr, Microbiology, Department of plant, Science collage, Damascus university, E-mail: dr.b.alachkar@gmail.com

³ Pro, Department of molecular Biology and Biotechnology, Atomic Energy Commission, E-mail: aalmariri@aec.org.sy

Abstract

Myxobacteria belong to Eubacterial predators that feed on other bacteria, fungi, and yeasts. They secrete a wide range of secondary metabolites, antibiotics, and hydrolytic enzymes that they use to eliminate prey. They can be found in different types of soils, and these bacteria are characterized by their mobility. They glide on solid surfaces and form fruiting bodies containing resistant myxospores, which ensures the survival of these spores in unfavorable conditions.

Through this study, *Myxobacteria* were isolated for the first time in Syria from soil samples collected from Yaafour and Jdaidet Artouz areas, grown on VY/2 medium, characterized morphologically and biochemically, and studied under the microscope.

The soil samples collected from Yafour and Jdeidet Artouz were characterized as alkaline (pH 7.8) (pH 8) respectively. Accordingly, the properties of the alkaline environment were utilized as they may support much more new unidentified species of *Myxobacteria*.

Regarding biochemical tests, these bacteria showed positive results in each of the tests (mobility - catalase urea, starch, nitrates, release of hydrogen sulfur gas, and gelatin decomposition). As for the morphological aspect, the spore cells are characterized by having a rod-like shape and a short, rounded end. Using malachite green, the spores appeared in the form of spherical clusters, these characteristics are possessed by most types of *Myxobacteria*.

This study shows the necessity of using different methods for isolation, such as (WCX - filter papers) methods, adding wet parts of soil to the isolation media, and the importance of adding the antibiotic Cycloheximide after sterilization. It was observed after varying periods of incubation that the use of filter paper methods was more effective in isolating *Myxobacteria* spores than the WCX methods. This may be due to the presence of cellulose-degrading *Myxobacteria* strains in the soil of Yafour more than the strains of bacteria-degrading *Myxobacteria* in the soil of Jdeidet Artouz, traditional isolation methods such as WCX and filter paper methods may have their own limitations, they may be suitable for some but not all types of *Myxobacteria*. In addition, *Myxobacteria* are affected by the physical and chemical properties of the soil, so these factors play an important role in the emergence and isolation of *Myxobacteria*.

Keywords: *Myxobacteria*, Eubacterial predators, Fruiting bodies, spores, vegetative cell

Received: 01/07/2024

Accepted: 29/08/2024



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

المقدمة:

تعد الجراثيم المخاطية *Myxobacteria* من المفترسات الجرثومية التي يمكن أن تنمو وتتكاثر باستعمال العناصر الغذائية التي تحصل عليها من الفرائس الحية، لا زالت التفاصيل الجزيئية للمفترس غير مفهومة نسبياً، ومع ذلك، فمن المعروف أنها تفرز عدداً كبيراً من المستقبلات والبروتينات المضادة للميكروبات سواء بشكل مباشر في البيئة خارج الخلية أو تكون معبأة داخل الغشاء الخارجي الحويصلي للمفترس (Evans et al, 2752, 2012) (Perez et al, 13, 2022)، يعتقد أن تراكم السموم حول الجراثيم المخاطية يقتل الخلايا القريبة من الفرائس، حيث تُطلق المغذيات في التجمعات العامة للجراثيم المخاطية، مما قد يجعل الافتراض عملية تعاونية (Marshall and Whitworth, 41, 2019) (Whitworth, 31, 2022)، تشير الأدلة الحديثة أيضاً إلى أن قتل الفرائس بواسطة الجراثيم المخاطية يحدث من خلال النقل التلامسي للسموم إلى الخلايا (Thiery et al, 40, 2022) (Seef et al, 10, 2021).

تم العثور على الجراثيم المخاطية في أنواع مختلفة من التربة، حيث تستوطن التربة السطحية ويقدر عدد الجماعات فيها من 2000 إلى 450.000 خلية لكل غرام من التربة (Dawid, 427, 2000). حيث أنها تشكل في ظروف استنزاف المغذيات أغشية خلوية متعددة الخلايا تدعى الأجسام الثمرية (Fruiting bodies) والتي تختلف من كونها بنية بسيطة إلى بنية معقدة ثلاثية الأبعاد والتي تتطور عند البعض إلى خلايا غير تكاثرية بينما تتطور عند الأنواع الأخرى إلى أبواغ تكاثرية مخاطية (myxospores) (Shimkets, 549, 1999). تنتمي الجراثيم المخاطية إلى الجراثيم سالبة الغرام، وحيدة الخلية على شكل عصيات وتعد فريدة من نوعها بين بدائيات النوى، لاستعمالها الاتصال بين الخلايا للانخراط في الشكل التعاوني وذلك لإنتاج الأجسام الثمرية التي تحتوي الأبواغ (Dawid, 427, 2000)، تعد سماكة جدار الأبواغ مسؤولة عن مقاومة الجراثيم المخاطية للظروف غير الملائمة مثل الجفاف وارتفاع درجة الحرارة، والأشعة فوق البنفسجية (Reichenbech and Dworkin, 3487, 1992).

تتخصص الجراثيم المخاطية في التحلل الحيوي للجزيئات الحيوية وتعتبر من مجموعة المفترسات الدقيقة *micropredators*، وذلك لأن الصادات الحيوية أو الإنزيمات التي تنتجها هذه الجراثيم تقتل الأحياء الدقيقة وتحلل الخلايا فمن خلال هذه المركبات يتم تحطيم الجزيئات الحيوية الضخمة فيما بعد (Dwaid, 427, 2000)، والتي تشمل المستقبلات الثانوية، الصادات الحيوية، والإنزيمات المحللة للجدار الخلوي، مثل: *lipases, nucleases polysaccharidase, Protease* (Rosenberg and Varon, 125, 1984). ولقد تبين أن بعض هذه الإنزيمات والصادات الحيوية لها دور في تحلل الفريسة وفي التحلل الذاتي أو موت الخلية المبرمج، ويكون ذلك في وقت واحد مع تطور الأبواغ (Rosenblug and Rosenberg, 233, 1993) (Rosenberg and Varon, 125, 1984).

تمثل الجراثيم المخاطية مصدراً غنياً للمستقبلات الثانوية الحيوية النشطة. حيث تم عزل مركبات الصادات الحيوية من 55 إلى 95% من الجراثيم المخاطية المحللة للجراثيم والمحللة للسلولوز (Reichenbach and Holf, 277, 1993)، تنتج الجراثيم المخاطية فئات مختلفة من الصادات الحيوية التي نادراً ما توجد كمستقبلات جرثومية ثانوية. وعلى الرغم من أن هناك العديد من المركبات الجديدة التي تم تقييم إمكاناتها سريرياً فإن غالبيتها تنتمي إلى *macrocyclic lactone* وحلقة اللاكتام والبيبتيديات الحلقية الخطية (Reichenbach and Holf, 179, 1998) (Holf, 277, 1993).

تعد الجراثيم المخاطية واحدة من المجموعات البكتيرية التي يمكن أن تنتقل بشكل فعال من نمط الخلايا الفردية أو المفردة إلى النمط متعدد الخلايا حيث أنها تبدي سلوك تعاوني، يمكن أن يشمل السلوك متعدد الخلايا جوانب أخرى في دورة حياتها مثل تجمع المفترس والحركة التعاونية خاصة أثناء عملية تشكل الأجسام الثمرية، ليس بالضرورة أن تبدي السلوك التعاوني في بيئة ملائمة أو عند الدخول في طور متعدد الخلايا. مثل كثافة خلوية عالية، سطح صلب، قلة المغذيات، لذلك فإن تعدد الخلايا عند الجراثيم المخاطية حالة عابرة وليست إجبارية، حيث تبين باستعمال التجارب المخبرية أن الجراثيم المخاطية يمكن أن تفقد الشكل متعدد الخلايا في ظل الظروف التي

يكون فيها غير مفيد (زراعة سائلة، رج)، صعوبة في تشكيل الأجسام الثمرية، لا يظهر التبوغ وقابلية الحركة إلا بعد 1000 جيل وهذا يوحي أن هذه السلوكيات الاجتماعية غير مهمة في الظروف الملائمة (Velicer et al. 1998). تهدف هذه الدراسة إلى الكشف عن الجراثيم المخاطية في التربة السورية وذلك باتباع طرائق مختلفة ومقارنة النتائج مع الدراسات الأخرى ومراعاة الاختلاف بين الطبيعة السورية ونوع البيئة والترب مع المناطق الأخرى.

المواد والطرائق:

جمع عينات التربة:

جمعت عينات التربة من منطقة يعفور وجديدة عرطوز في ريف دمشق خلال شهر آذار من عام 2023، وتم الجمع باستعمال أيدي نظيفة أو قفازات، ثم وضعت العينات في أكياس معقمة ونقلت مباشرة إلى المختبر من أجل عزل الجراثيم المخاطية.

تقدير الرقم الهيدروجيني للتربة pH:

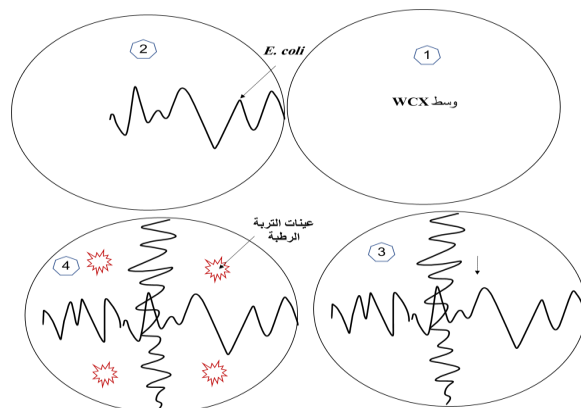
يتم وزن 10 غ من التربة الجافة هوائياً ووضعها في كأس زجاجي سعته 100 مل، وأضيف 25 مل ماء مقطر إلى العينة ومزجت جيداً وترك المعلق مدة ساعتين، بعد النقع أجري ترشيح التربة للحصول على خلاصة راتقة شفافة، غمست أقطاب جهاز pH-meter في المعلق بعد ضبط عياريته ثم سجلت قراءة pH وبعد الانتهاء تم غسل أقطاب الجهاز بالماء المقطر.

تحضير الفريسة:

الفريسة الجرثومية المستعملة لعزل الجراثيم المخاطية في هذه الدراسة هي الإيشيريشيا القولونية *E. coli* التي تم الحصول عليها من مخبر الميكروبيولوجيا والمناعيات في قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية في هيئة الطاقة الذرية السورية، يتم زراعة الإيشيريشيا القولونية على شكل خطوط متقطعة في وسط (WCX (CaCl₂.2H₂O 0.1%; agar 1.5%; pH 7.2) يضاف الصاد الحيوي cycloheximide بعد التعقيم بتركيز 25µ (Reichenbach, 79, 1983)

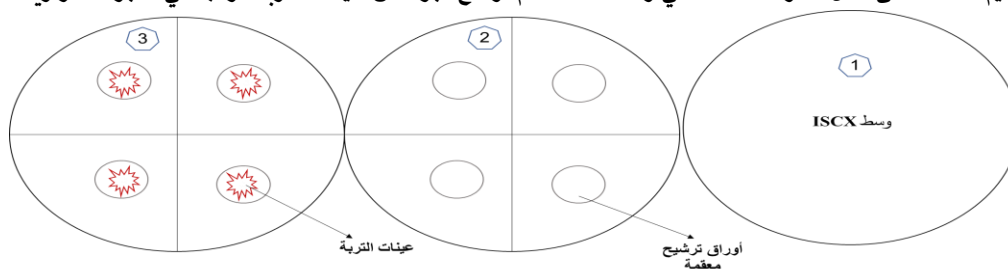
عزل الجراثيم المخاطية:

تم وزن 100 غ من كل عينة تربة جمعت من يعفور وجديدة عرطوز وحلها في 100 مل من الماء المقطر، ثم تم غلي العينات لمدة 20 دقيقة، وبعد ذلك نُقلت العينات عند 5000Xg لمدة 10 دقائق للحصول على مستخلصات التربة، وهنا يتم التخلص من الطافي ثم يتم تُنقل عينات التربة التي لا زالت رطبة بعد التثقيب إلى طبق بتري معقم، وباستعمال ملعقة معقمة أو إبرة معقمة توضع أجزاء من عينات التربة بحجم حبة البازلاء في الأجزاء المركزية للخطوط المتقاطعة لجراثيم *E. coli* (الشكل 1)، ولعزل الأنواع المحللة للسلولوز توضع أجزاء من أوراق الترشيح على الأجزاء العلوية لوسط ISCX (-) KNO₃ 0.1%-FeCl₃.6H₂O-K₂HPO₄ 0.1%- MnSO₄.7H₂O 0.01% yeast extract 0.002%- agar 1.5%, pH7.2) ويضاف الصاد الحيوي cycloheximide بعد التعقيم بتركيز 25µ (الشكل 2)، ويوضع فوق أوراق الترشيح أجزاء من عينات التربة الرطبة التي تم تثقيبها في مرحلة سابقة ثم تُحضن الأطباق بدرجة حرارة 30 °C، وبعد ثلاثة أيام تبدأ الجراثيم المخاطية بتشكيل الأجسام الثمرية التي يمكن التعرف عليها عادة بعد 2-4 أسابيع، تُنقل بعد ذلك الأجسام الثمرية إلى وسط (Barkers yeast 0.5%- CaCl₂.2H₂O 0.1% - agar) VY/2، وتكرر العملية (1.5%) للتقية. ثم تؤخذ قطع آغار من حواف التجمع (Swarm) المتشكل باستعمال إبرة معقمة وتُنقل إلى وسط VY/2، وتكرر العملية عدة مرات للحصول على عزلة نقية (Reichenbach, 79, 1983)



الشكل 1: رسم تخطيطي يوضح طريقة عزل الجراثيم المخاطية بطريقة WCX:

يتم زراعة جراثيم *E. coli* على شكل خطوط متقاطعة في وسط WCX ثم توضع أجزاء من عينات التربة الرطبة في الأجزاء المركزية لتلك الخطوط



الشكل 2: رسم تخطيطي يوضح طريقة عزل الجراثيم المخاطية بطريقة أوراق الترشيح:

يتم تعقيم أوراق الترشيح في UV وتوضع في الأجزاء العلوية لوسط ISCX ثم تضاف أجزاء من عينات التربة الرطبة فوق أوراق الترشيح المعقمة

الاختبارات الحيوية الكيميائية:

أجريت عدد من الاختبارات الحيوية الكيميائية للتعرف على الجراثيم المخاطية: أهمها: اختبار الحركة، والكاتالاز، والإنزول وتحلل الهلام، واختبار النشاء، واختبار البولة-نترات، واختبار إطلاق غاز كبريت الهيدروجين.

تم الاعتماد على دليل *Bergey's Manual* الطبعة الثامنة في الاختبارات الحيوية الكيميائية (Mccurdy and Manual, 76,1974).

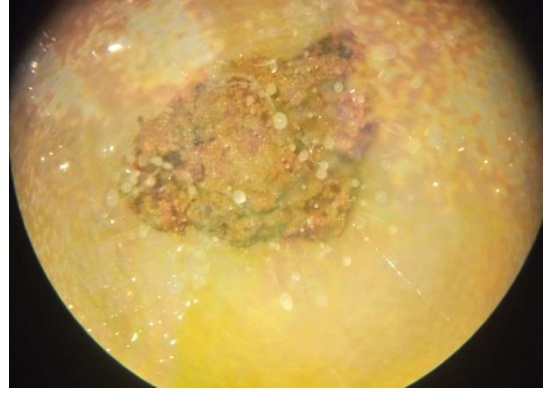
الكشف عن الأبواغ:

يتم سحق الأجسام الثمرية باستخدام المشروط على شريحة زجاجية، ثم يضاف 0.5 مل من ملون أخضر المالكيت (0.5%)، يترك لمدة دقيقة ثم تغسل الشريحة بالماء لإزالة الملون وبعد الغسل تجفف الشريحة بدرجة حرارة الغرفة ثم يتم فحص العينة بالمجهر الضوئي.

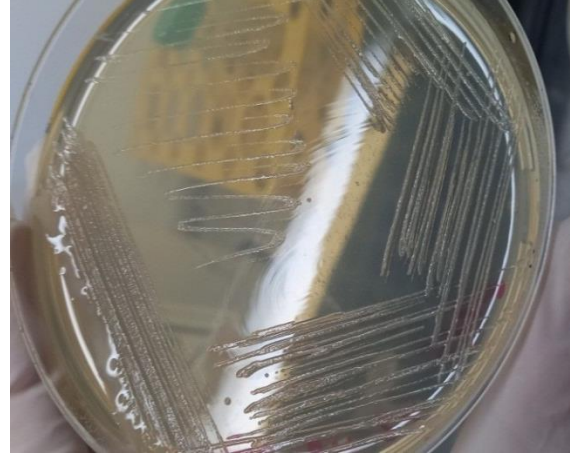
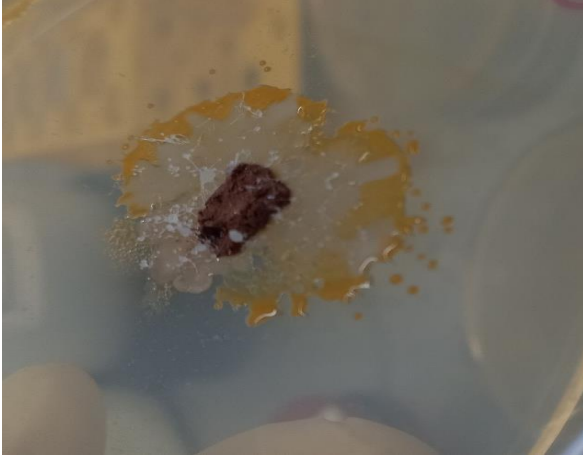
النتائج والمناقشة:

تراوحت درجة pH عينات التربة بين 7.8-8 (يعفور 7.8، جديدة عرطوز 8)، تم اختبار كافة العينات باستخدام طرائق WCX وأوراق الترشيح، وقد لوحظ أن ظهور الأجسام الثمرية باستخدام أوراق الترشيح (7-14 يوماً) أسرع من ظهورها باستخدام طرائق WCX (20-30 يوماً)، تم فحص الأجسام الثمرية والأبواغ والخلايا الإعاشية باستخدام المجهر الضوئي والمكبرة، ودراسة شكل الأجسام الثمرية على وسط VY/2 حيث تبين أن الأجسام الثمرية الملاحظة على الأوساط ذات لون أبيض مخاطية كروية الشكل على شكل تجمعات عنقودية (الشكل 3)، وعندما يتم نقل أجزاء من تلك الأجسام الثمرية يظهر السرب على شكل تجمعات بلون أبيض وعند بدأ التنقية ونقل أطراف هذا السرب عدة مرات تظهر مستعمرات الجراثيم المخاطية بلونها الأبيض البرتقالي مخاطية القوام بأحجام مختلفة (الشكل 4) (في العزلة النقية تكون المستعمرات بلون أبيض وعند تحريكها يظهر اللون البرتقالي)، تم الكشف عن الأبواغ باستخدام أخضر المالكيت (0.5%) وباستعمال المجهر الضوئي ظهرت على شكل تجمعات كروية رباعية أو خماسية أو على شكل مصفوفة (الشكل 5)، كانت جميع الخلايا

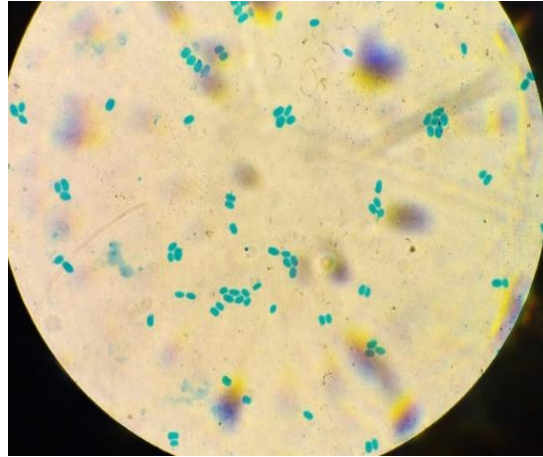
الإعاشية للجراثيم المخاطية التي تم اختبارها باستعمال تلوين غرام سالبة الغرام عصوية ذات نهاية قصيرة مكورة (الشكل 6)، وبعد التأكد من نقاوة العزلة تم تخزينها في -20.



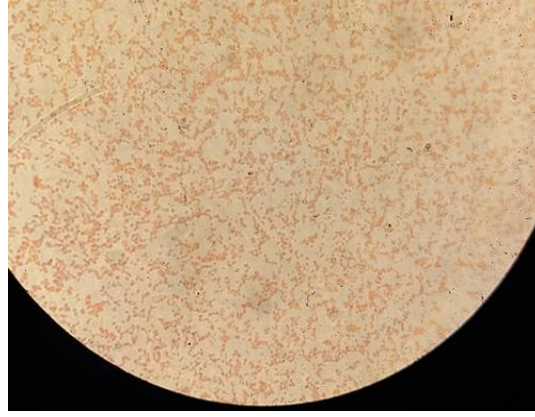
الشكل 3: (تظهر الأجسام الثمرية تحت المكبرة على شكل تجمعات عنقودية بلون أبيض)



الشكل 4: الأجسام الثمرية على وسط VY/2 وعند نقل الأجسام الثمرية أو أجزاء منها إلى وسط VY/2 تظهر مستعمرات الجراثيم المخاطية بلون أبيض برتقالي



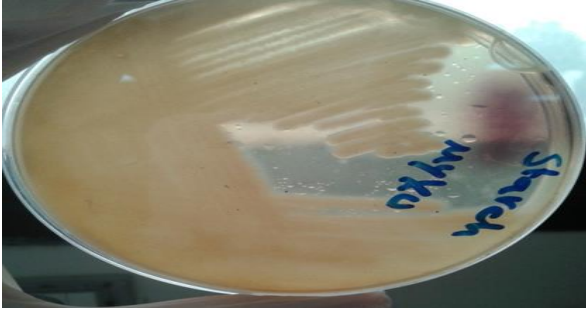
الشكل 5: تظهر أبواغ الجراثيم المخاطية بعد التلوين بأخضر المالكيت على شكل تجمعات رباعية أو خماسية أو على شكل مصفوفة



الشكل 6 : تظهر الخلايا الإعاشية للجراثيم المخاطية بعد تلوين غرام على شكل عصيات قصيرة ذات نهاية منحنية

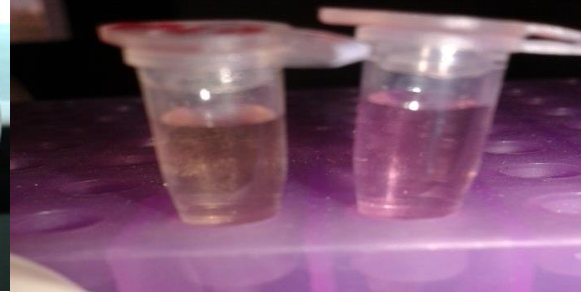
الجدول (1) نتائج الاختبارات الحيوية الكيميائية

TEST	Results
اختبار الحركة	+
الكاتلاز	+
البولة	+
النشاء	+
الهلام	+
التنترات	+
الإندول	-
كبريت الهيدروجين	+



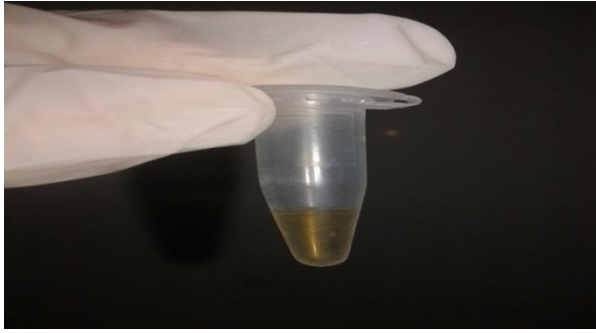
الشكل 8 : Starch : Positive

ظهور هالات تحلل في الوسط الحاوي على النشاء بعد مرور ثلاث أسابيع من حضن الأطباق وهذا دليل على أن الجراثيم المخاطية قامت بتفكيك النشاء .



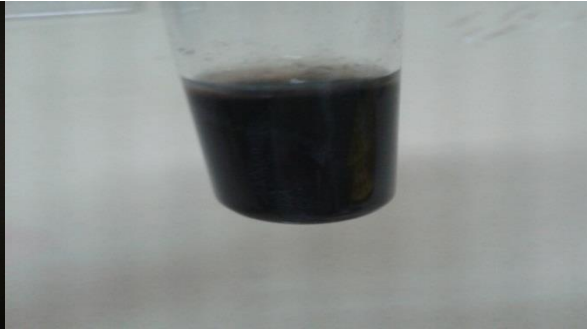
الشكل 7 : Urea : Positive

تحول لون مشعر أحمر الفينول إلى اللون الوردي بعد 24 ساعة من زراعة الجراثيم وهذا دليل على إنتاج غاز الأمونيا



الشكل 10: Indole : Negative

لم تحدث أي تغييرات لونية في الوسط وهذا يدل على أن الجراثيم غير قادرة على تفكيك الحمض الأميني التربتوفان وتشكيل الأندول



الشكل 9: H2S: Positive

تقوم الجراثيم بتحلل الأحماض الأمينية السستين و السستين التي تحوي على الكبريت مما يؤدي إلى إطلاق غاز كبريت اله الذي تحوي على الكبريت مما يؤدي إلى إطلاق غاز كبريت اله كبريت الهيدروجين ذو اللون الأسود



الشكل 12: Gelatin : Positive

تقوم الجراثيم بإنتاج إنزيم الجيلاتيناز الذي يعمل على حلمة الهلام فيصبح الوسط شبه سائل



الشكل 11: Catalase: Positive

تقوم الجراثيم بإنتاج إنزيم الكاتالاز الذي يفك الماء الأوكسجيني إلى ماء وأوكسجين



الشكل 13: Nitrate : Positive

ظهور اللون الزهري بعد إضافة الكواشف Alpha-naphtylamine و Sulfanilic acid و Zinc powder وهذا يدل على إرجاع النترات إلى نترت

المناقشة:

أظهرت النتائج أن مجال pH لعينات التربة يتراوح بين 7.8 إلى 8، وهذا يتوافق مع الدراسة التي أجراها Zhang et al. 2013، ومن الواضح أن الخصائص والظروف الفيزيائية والكيميائية للتربة القلوية تؤثر في تنوع الجراثيم المخاطية إذ يمكن لأنواع من الجراثيم المخاطية أن تنمو وتزدهر في مثل هذه التربة بينما تكون مثل هذه التربة غير مناسبة لأنواع أخرى بالإضافة إلى اختلاف طرائق العزل التي قد

تكون ملائمة لأنواع دون غيرها. وبالمقابل يمكن اختبار عينات أخرى ذات قيم pH تتراوح بين 4-6 لمعرفة ما إذا كانت الجراثيم المخاطية تنتشر في التربة السورية الحمضية أو المحايدة.

بينت نتائجنا أن استعمال طرائق أوراق الترشيح أكثر فعالية من طرائق WCX وهذا لا يتوافق مع الدراسة التي أجراها كل من Ngoc et al. 2022 و Zhang et al. 2013 وقد يعود ذلك لسبب أن الجراثيم المخاطية في التربة السورية تضم عزلات محللة للسلولوز بنسبة أكبر من العزلات المفترسة للجراثيم، وقد تعود قدرتها على تحليل السلولوز إلى إفرازها لإنزيم الكزيلاناز وإنزيم السيلولاز أي ان لها القدرة على الاستفادة من مركبات النيتروجين غير العضوي أثناء نموها في مصادر السلولوز والغلوكوز. أو أنها لا تستفيد مباشرة من السلولوز كغالبية أنواع الجراثيم المخاطية ولذلك تعتمد على الإنزيمات المحللة للبروتينات كمصدر للنيتروجين (Weissman and Muller, 17, 2009). عادة ما يكون من الصعب التمييز بين غالبية عزلات الجراثيم المخاطية من حيث الجنس والنوع وذلك لأن غالبية الأجسام الثمرية المتشكلة ذات ألوان متشابهة. كما أنها تتغير في ظروف المختبر Meliah and Lisdiyanti 2018، بالإضافة إلى أنه يمكن للجراثيم المخاطية أن تفقد قدرتها على تشكيل الأجسام الثمرية بعد عدة عمليات نقل على أوراق الترشيح المستعملة تقليدياً في الحفاظ على هذه المرحلة من دورة حياة هذه الجراثيم (Zhang et al, 27, 2003).

كان من الصعب مقارنة عزلاتنا بالعزلات المرجعية لأنواع الأخرى لعدم توفرها وعندما لا تتوفر معلومات كافية عن العزلات المرجعية يتم الاستشهاد بالأوصاف الأصلية من الأدبيات واعتبرت العزلة التي لدينا تنتمي إلى الجنس Archangium وذلك بمقارنة نتائجنا مع نتائج الإختبارات الحيوية الكيميائية المرجعية لهذا الجنس وتحديداً الدراسة التي أجراها Yamanaka et al. 1987 حيث أظهرت الاختبارات التابعة لجنس Archangium نتائج إيجابية في كل من البولة والكاتالاز، والنشاء والنترات وهذا يتوافق مع نتائجنا.

من الناحية الشكلية أظهرت جميع العزلات التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة خصائص الجراثيم المخاطية، حيث أنها شكلت مستعمرات بلون أبيض برتقالي تغطي الوسط أثناء نموها (Mauriello et al, 249, 2010) وأبواغ كروية الشكل وخلايا إعاشية عصوية ذات نهاية منحنية سالبة غرام، وتم الاستعانة في هذه الدراسة بالمكبرة لمراقبة ظهور الأجسام الثمرية والمجهر الضوئي للدراسة الشكلية للأبواغ والخلايا الإعاشية للجراثيم المخاطية.

تعد طرائق عزل الجراثيم المخاطية معقدة إلى حد ما مقارنة بالجراثيم الأخرى المعزولة من التربة، ومن الصعب الحفاظ على المزارع النقية بعد القيام بسلسلة من عمليات التنقية (Reichenbach and Höfle, 277, 1993). لذلك يمكن استعمال طرائق أخرى مثل التجميد، التجفيد، والصادات الحيوية أو يمكن إضافة كريستال البنفسجي crystal violet إلى أوساط التنقية وهذا يمكن أن يزيد من عدد المزارع النقية وبالمقابل يوجد عيوب في حفظ المزارع النقية بالأنابيب أو بأطباق البتري كونها تحتاج للتجديد بشكل دوري (Zhang et al, 27, 2003). وتبين في هذه الدراسة وبعد حفظ العزلة النقية بطريقة التجميد في -20 مع الغليسرول بأنها حافظت على نقاوتها وحيويتها بعد زراعتها في كل مرة، وعلى خلاف الدراسات الأخرى تم الحصول على عزلة نقية مباشرة عند نقل الجسم الثمري برأس الممص الميكروي micropipet إلى وسط جديد وهذا يدل على السرعة في عملية العزل والتنقية.

تبين أثناء الدراسة عند استعمال الصاد الحيوي cycloheximide في تحضير أوساط الزرع أنه لم يجد تماماً من نمو الميكروبات غير المرغوبة في الوسط وذلك بسبب طول فترة الحضان أثناء عملية العزل، وبالتالي يمكن في دراسات لاحقة استعمال صاد آخر يتأزر عمله مع cycloheximide الأمر الذي يؤدي إلى إعطاء فعالية أكبر في تثبيط نمو الميكروبات غير المرغوبة أثناء عملية العزل والتنقية، إذ لوحظ زيادة في نمو الفطريات مما أدى إلى فقد أعداد كبيرة من الأجسام الثمرية أثناء عملية التنقية.

الاستنتاجات:

أثبتت هذه الدراسة أنه يمكن عزل الجراثيم المخاطية من التربة السورية القلوية باستعمال طرائق مختلفة والتي كانت متباينة في الفعالية إذ تبين من خلال البحث أن ظهور الأجسام الثمرية باستعمال طرائق أوراق الترشيح أسرع من ظهورها باستعمال طرائق WCX بالإضافة إلى أن نجاح عملية العزل يعتمد على استعمال أوساط فقيرة بالمغذيات مثل أوساط WCX وISCX. تم توصيف أشكال الأجسام الثمرية والخلايا الإعاشية والأبواغ باستعمال المكبرة والمجهر الضوئي وتبين بأنها تملك خواص وصفات غالبية أنواع الجراثيم المخاطية، وعند دراسة الاختبارات الحيوية الكيميائية للجراثيم المخاطية تبين بأنها تفكك النشاء، تطلق غاز كبريت الهيدروجين، تحلمه الهلام، ترجع النترات إلى نترت، تحلل الماء الأوكسجيني من خلال إنزيم الكاتلاز، تنتج غاز الأمونيا، لا تفكك الحمض الأميني التربتوفان.

التوصيات:

يجب القيام بالمزيد من الأبحاث للكشف عن وجود الجراثيم المخاطية في تربة ومناطق أخرى في سورية وذلك بهدف دراسة تنوع وانتشار وخصائص واكتشاف أنواع جديدة من هذه الجراثيم في الطبيعة السورية. والتوسع في دراسة العزلات الجديدة وراثياً. إضافة إلى دراسة هذه الجراثيم كمصدر للمركبات الكيميائية الفريدة التي لا زالت غير محددة بشكل دقيق وذلك لصعوبة العزل والتنقية. ويمكن تحليل مستخلصات الجراثيم المخاطية باستعمال HPLC للكشف عن مركبات جديدة، ومن ثم اختبار فعالية هذه المركبات تجاه الجراثيم والفطريات واستعمال بعضها الآخر صناعياً كالإنزيمات. نظراً لكون هذه المجموعة من الجراثيم تتم دراستها للمرة الأولى في سورية وللحصول على نظام تصنيف كامل، من الضروري جمع المزيد من عزلات الجراثيم المخاطية من مجموعة واسعة من المصادر وتطبيق الأساليب المذكورة أعلاه لتوصيفها. وهناك حاجة إلى دراسات أكثر تفصيلاً لخصائص التصنيف الكيميائي المتعلقة بالخصائص المورفولوجية لفهم الجراثيم المخاطية بشكل أفضل.

المراجع:

1. Dawid, W. 2000. Biology and global distribution of myxobacteria in soils. *FEMS Microbiol. Rev.* 24:403-427.
2. Evans, A.G.L.; Davey, H.M.; Cookson, A.; Currinn, H.; Cooke-Fox, G.; Stanczyk, P.J.; Whitworth, D.E. Predatory activity of *Myxococcus xanthus* outer-membrane vesicles and properties of their hydrolase cargo. *Microbiology* 2012, 158 Pt 11, 2742–2752. [CrossRef]
3. H. D. MCCURDY, In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., ed. by R. E. Buchanan and N. E. Gibbons, The Williams & Wilkins Co., Baltimore (1974), p. 76.
4. Marshall, R.C.; Whitworth, D.E. Is “Wolf-Pack” Predation by Antimicrobial Bacteria Cooperative Cell Behaviour and Predatory Mechanisms Indicate Profound Selfishness, even when Working Alongside Kin. *Bioessays* 2019, 41, e1800247. [CrossRef]
5. Mauriello, E.M.F., Mignot, T., Yang, Z. and Zusman, D.R., 2010. Gliding motility revisited: how do the myxobacteria move without flagella. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(2), pp. 229–249.
6. Meliah, S. and P. Lisdiyanti, Isolation, Characterization and Molecular Identification of Myxobacteria From Two Outermost Islands of Indonesia. *BIOTROPIA-The Southeast Asian Journal of Tropical Biology*, 2018. 25(2): p. 121-129.
7. Ngoc, Y. N; Dinh, C. D; Kim, H. N; Phuong, C. N; Thi, N. V; Lan, L. D; Bao, N. N; Minh, T. N; Dinh, N. N; Tu, A. N. Myxobacteria from Vietnam: Isolation, Phylogenetic analysis and Bioprospection, 2022.489816.
8. Pérez, J.; Contreras-Moreno, F.J.; Muñoz-Dorado, J.; Moraleda-Muñoz, A. Development versus predation: Transcriptomic changes during the lifecycle of *Myxococcus xanthus*. *Front. Microbiol.* 2022, 13, 1004476. [CrossRef] [PubMed]
9. Reichenbach, H., and Dworkin, M. 1992. The myxobacteria. Pages 3416-3487 in: *The Prokaryotes*. A. Balows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K.-H. Schleifer, eds. Springer Verlag, Berlin.
10. Rosenberg, E., and Varon, M. 1984. Antibiotics and Lytic Enzymes. Pages 109-125 in: *Myxobacteria: Development and Cell Interactions*. E. Rosenberg, ed. Springer Verlag, New York.
11. Rosenbluh, A., and Rosenberg, E. 1993. Developmental lysis and autolysis. Pages 213-233 in: *Myxobacteria II*. M. Dworkin and D. Kaiser, eds. ASM, Washington, DC.
12. Reichenbach, H., and Hölfe, G. 1993. Biologically active secondary metabolites from myxobacteria. *Biotech. Adv.* 11:219-277.
13. Reichenbach, H., and Höfle, G. 1998. Myxobacteria as producers of secondary metabolites. Pages 149-179 in: *Drug Discovery from Nature*. S. Grabley and R. Thiericke eds. Springer Verlag, Berlin
14. Reichenbach H (1983) A simple method for the purification of myxobacteria. *J Microbiological Methods*, 1, 77–79.
15. Seef, S.; Herrou, J.; de Boissier, P.; My, L.; Brasseur, G.; Robert, D.; Jain, R.; Mercier, R.; Cascales, E.; Habermann, B.H.; et al. A Tad-like apparatus is required for contact-dependent prey killing in predatory social bacteria. *eLife* 2021, 10, e72409. [CrossRef]
16. Shimkets, L.J. (1999). Intercellular signaling during fruiting-body development of *Myxococcus xanthus*. *Annu. Rev. Microbiol.* 53, 525–549. doi: 10.1146/annurev.micro.53.1.525
17. Thiery, S.; Turowski, P.; Berleman, J.E.; Kaimer, C. The predatory soil bacterium *Myxococcus xanthus* combines a Tad- and an atypical type 3-like protein secretion system to kill bacterial cells. *Cell Rep.* 2022, 40, 111340. [CrossRef]
18. Velicer, G., Kross, L., and Lenski, R., 1998. Loss of social behaviors by *Myxococcus Xanthus* during evolution in an unstructured habitat. *95(21): 12376–12380.*
19. Whitworth, D.E. Myxobacterial vesicles death at a distance *Adv. Appl. Microbiol.* 2011, 75, 1–31.
20. Weissman, K.J.; Müller, R. A brief tour of myxobacterial secondary metabolism. *Bioorg. Med. Chem.* 2009, 17, 2121–2136. [CrossRef]
21. Yamanaka, S; Kawaguchi, A and Komagata, K. Isolation and identification of Myxobacteria from soil and plant materials, with special reference to DNA base composition, Quinone system, and cellular fatty acid composition, and with a description of a new species, *Myxococcus flavescens*. 1987. 33, 247-265.
22. Zhang, X., Yao Q., Cai, Z., Xie, X. and Zhu, H., 2013. Isolation and identification of myxobacteria from saline-alkaline soils in Xinjiang, China. *PLoS ONE*, 8(8), pp. e70466.
23. Zhang, L., Wang, H., Fang, X., Stackebrandt, E. and Ding, Y., 2003. Improved methods of isolation and purification of myxobacteria and development of fruiting body formation of two strains. *Journal of Microbiological Methods*, 54(1), pp. 21–27