كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : بيولوجيا الجراثيم والفيروسات

المحاضرة : الثالثة/عملي/

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية ، تكنلوجيا المعلومات والاتصالات

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

تحضير البيئات الغذائية

خطوات تحضير البيئة الغذائية

بعد أن توزن المكونات الداخلة في تركيب البيئة الغذائية ، ويضاف إليها الكمية المناسبة من الماء في حوجلة، يتم إجراء الخطوات التالية :

آ – الغلي :

تُغلى البيئات عادة في الصاد الموصد (الأوتوغلاف) أو في حمام مائي ، ويعوض الماء المفقود عن طريق البخر.

ب – ضبط درجة الحموضة : pH

يتم ضبط درجة الحموضة باستخدام جهاز الـ . pH – meter

إزالة عكارة البيئة :

- تجرى هذه الخطوة عند اسوداد أو تعكر الوسط نتيجة عملية الغلي ، ويستخدم لإزالة العكارة بروتين بيض الدجاج الذي يُخفف مع كمية مضاعفة من الماء ، ويضاف إلى الوسط عند درجة الحرارة ٥٠ °C مع التحريك المستمر ، ثم تجرى عملية غلي البيئة مرة ثانية حيث يقوم البروتين المتخثر بترسيب الجزيئات المعلقة في الوسط ، ويمكن إزالة العكارة أيضاً باستخدام مصل الدم الذي يضاف بمعدل ٢٠ – ٣٠ مل / ليتر من البيئة .

– الترشيح (الفلترة) :

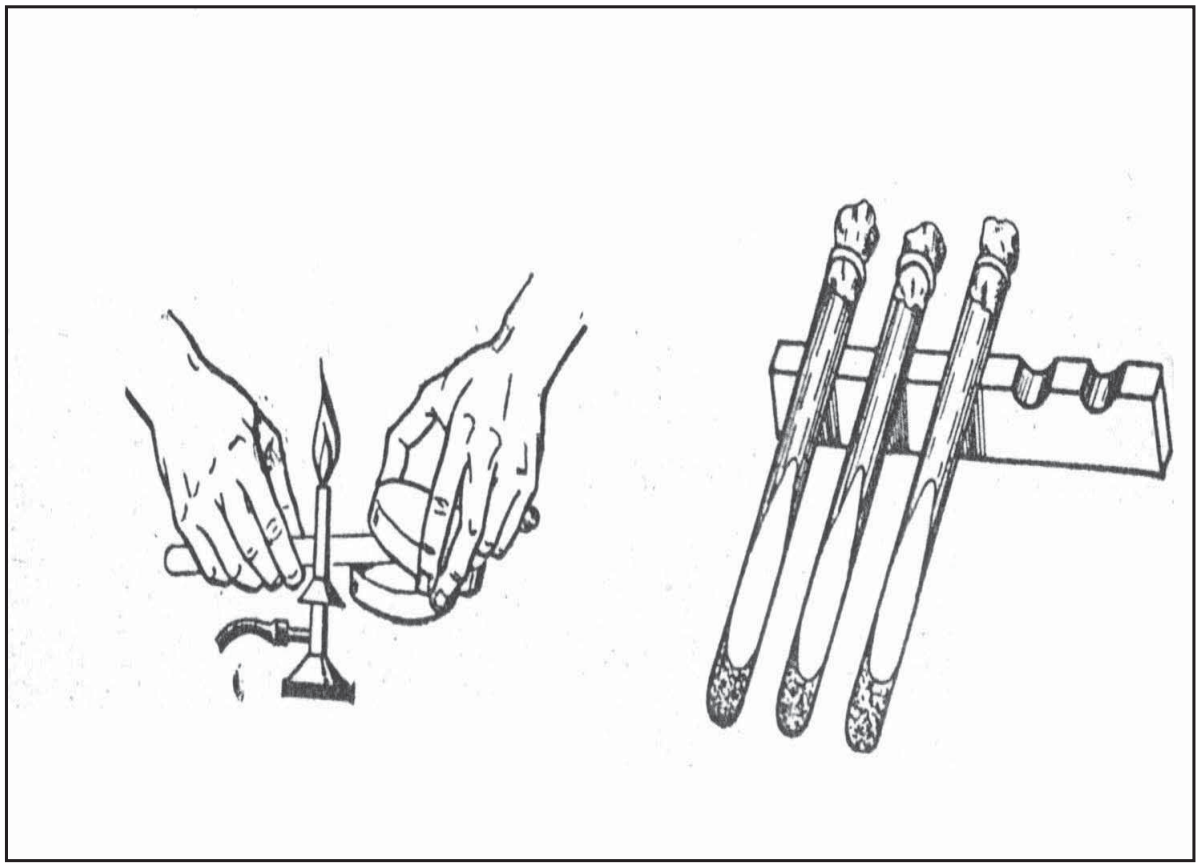
- يتم ترشيح الأوساط السائلة أو الجيلاتينية المذابة بسهولة من خلال أوراق ترشيح مبللة ، أو من خلال مرشحات نسيجية ، إلا أنه من الصعوبة ترشيح بيئة الآغار بسبب تصلبها السريع ، ترشح مثل هذه البيئات وهي في الحالة السائلة من خلال مرشح مكون من الشاش والقطن ضمن الصاد الموصد الساخن .
- ويمكن الاستعاضة عن ترشيح بيئة الآغار بإجراء عملية الترسيب حيث توضع البيئة في أسطوانة مدرجة فتترسب الأجزاء المعلقة إلى القعر ، وفي اليوم التالي يُقطع الجزء السفلي من البيئة الحاوي على المواد الراسبة بواسطة السكين ، بينما يُذاب الجزء العلوي الشفاف ويوزع في أوعية مناسبة .

تعبئة البيئة

- توزع البيئات المحضرة ، إما في أنابيب اختبار بواقع ٥ – ١٠ مل في كل أنبوب ، أو في حوجلات زجاجية بحيث تحتل البيئة ٣/١ حجم الحوجلة فقط ، وذلك كي لا تبتل الأغطية القطنية بالبيئة أثناء عملية التعقيم ، ويجب التنويه إلى ضرورة أن تكون الأوعية الزجاجية المستخدمة نظيفة وجافة ، ومن الأفضل أن تكون معقمة وتغلق فوهاتها بأغطية قطنية مغلفة بالشاش .
- **و – التعقيم :**
- تعقم البيئات الغذائية في أغلب الحالات بواسطة الصاد الموصد أو بطريقة الترشيح ، وتتوقف الطريقة المختارة على خواص المواد الداخلة في تركيب البيئة .

– توزيع البيئات الآغارية في أطباق بتري

- في حال كانت البيئة الغذائية صلبة يُصار أولاً إلى إذابتها حتى تصبح بالحالة السائلة باستخدام حمام مائي عند ١٠٠ °C ، وعند انخفاض درجة حرارتها إلى ٤٥ °C – ٥٠ ، تجري عملية توزيعها على أطباق بتري في ظروف معقمة قرب مصباح اللهب أو في غرفة الزرع على النحو التالي :
- ١ – تمسك الحوجلة أو أنبوب الاختبار المحتوي على البيئة الغذائية في اليد اليمنى قرب اللهب ، وبواسطة خنصر وراحة اليد اليسرى يُزال الغطاء القطني للحوجلة أو أنبوب الاختبار .
- ٢ – يتم تلهيب فوهة الحوجلة على مصباح اللهب ، بينما يوضع طبق بتري المعقم على راحة اليد اليسرى ويفتح قليلاً بواسطة السبابة.
- ٣ – يصب في كل طبق حوالي ١٥- ٢٠ مل من البيئة .
- ٤ – يمرر الغطاء القطني على اللهب ثم تسد فوهة الحوجلة.
- ٥ – يوضع الطبق على سطح مستوٍ وبحركة رحوية خفيفة يتم توزيع محتوى الطبق بشكل متساوٍ على كامل مساحته.



تحضير الآغار المائل في أنابيب الاختبار

- يصب في كل أنبوب اختبار حوالي ٤ – ٥ مل من البيئة الغذائية (قبل التعقيم) ، وتسد بأغطية قطنية، وبعد تعقيم الأنابيب الحاوية على البيئة التي ما تزال مائعة توضع بشكل مائل على حامل خاص حتى تتصلب البيئة بداخلها والحصول على الآغار المائل الذي يستخدم لتنمية أو حفظ الأحياء الدقيقة.

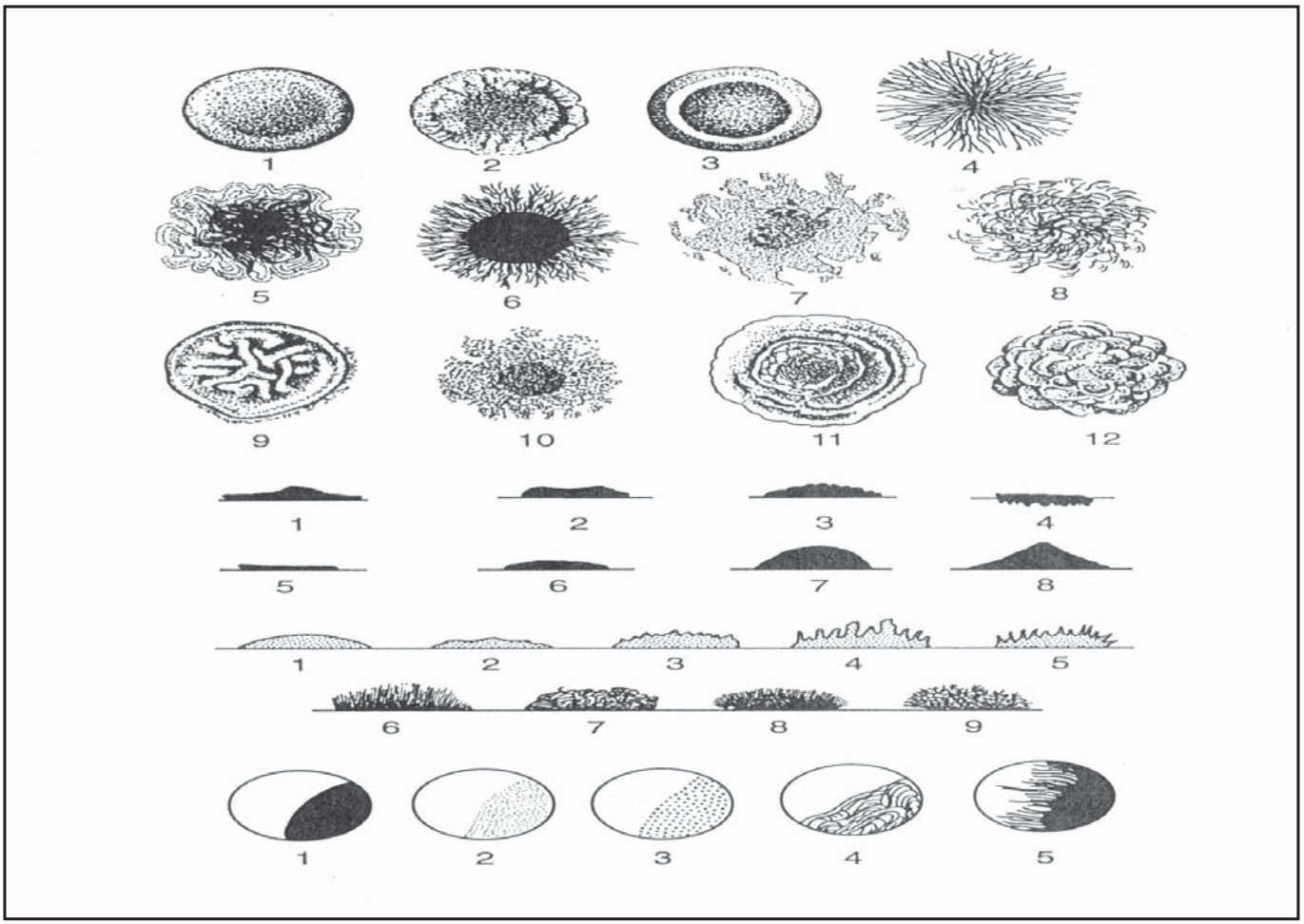
وصف المستعمرات البكتيرية

تتشكل المستعمرة البكتيرية Colony من نمو وتكاثر خلية بكترية واحدة أو أكثر على سطح البيئة المغذية الصلبة ، وتختلف هذه المستعمرات عن بعضها تبعاً للأنواع البكتيرية المكونة لها من حيث الشكل واللون والقوام والإرتفاع وغير ذلك من الصفات المورفولوجية (الشكلية) الأخرى ، لذلك فإن دراسة المستعمرة تساعد كثيراً في وصف الميكروب وتمييزه عن غيره بالإضافة إلى أنها تسهل عزل الميكروب وتنقيته ، كما أن صفات المستعمرات تعد من الصفات التصنيفية الهامة في البكتريا ، وللوصول إلى الهدف السابق لابد من مجموعة من الدراسات يمكن تقسيمها إلى :

خصائص المستعمرات البكتيرية :

دراسة المستعمرات البكتيرية على بيئة الأجار المغذي :

يتركز الاهتمام على لون المستعمرة ، شكل المستعمرة ، شكل الحافة ، القوام ... الخ ، ويمكننا إيضاح ذلك كما يلي:



الشكل :

يُفحص بالعين المجردة ويكون دائرياً ، أو إهليجياً ، أو أميبياً متفرعاً ، اوخيطياً أومغزلياً ... الخ - أنظر الشكل رقم (٢-٥) .

الحافة :

تُفحص تحت المجهر باستعمال العدسة الجسمية الصغرى، وإما أن تكون منتظمة ، متموجة ، مفصصة ، هدبية ..

الإنتشار :

تكون المستعمرات محدودة أو منتشرة أو متشعبة .

كما يُدرس شكل النمو على بيئة الآجار المائل .

الإرتفاع :

يُفحص بالعين المجردة بوضع سطح البيئة في مستوى النظر، ويلاحظ أن المستعمرة قد تكون مسطحة أو مرتفعة .

اللون :

تفرز بعض الأنواع البكتيرية صبغات متباينة تبعاً للنوع البكتيري .

الشفافية :

تكون المستعمرات إما شفافة أو نصف شفافة أو معتمة .

القوام :

يُختبر بلمس المستعمرة بإبرة التللقيح ، فإما أن يكون دقيقاً أو مخاطياً .

دراسة المستعمرات في بيئة المرق المغذي

يتركز الاهتمام على نقاوة المزرعة ، تحببها ، وجود حلقة أعلى المرق ، وجود قشور .

تقدير إحتياج الميكروب للأوكسجين :

١ – يُعد الميكروب هوائياً إذا إقتصر نمو الميكروب على سطح البيئة .

٢ –يُعد الميكروب لاهوائياً إذا إقتصر نمو الميكروب في قاع البيئة .

٣ –يُعد الميكروب لاهوائياً إختيارياً إذا توزع النمو على كامل البيئة .

٤ –يُعد الميكروب شحيح الهواء إذا نما بالقرب من سطح البيئة .

خواص مستعمرات بعض الأنواع البكتيرية

نوع الميكروب	خواص المستعمرات في أطباق الا غار	خواصها في بيئة المرق	شكل الخلية وطريقة التجميع	نتيجة الصبغ بجرام	الحركة وجود نمو أولا
E. coli	بيضاء أو بيضاء مصفرة كاملة الحافة إلى متموجة	لاتوجد قشور	عصوي قصير، مفردة أو على شكل سلاسل قصيرة	سالبة	±
Proteus sp.	غير شفافة ، رمادية	توجد طبقة قشرية	عصوي قصير، مفردة وغالباً على شكل سلاسل طويلة	سالبة	+
Prot. orirone	رمادية ، دائرية كاملة الحافة	لاتوجد قشور	عصوي قصير	سالبة	+
Pseudomonas sp.	معظم أنواع تنتج طبقات خاصة	تشكل قشور	عصوي قصير	سالبة	+
Erwinir sp.	مبيضة – كاملة الحافة	وجود طبقة قشرية	عصوي قصير	سالبة	+
Staph. aureus	صفراء ، برتقالية، دائرية	قد تتكون حلقة لاتتشكل قشور	مكورة ، عنقودية	موجبة	–
Bac. subtilis	بيضاء أو بيضاء مصفرة منتشرة	تشكل قشور	عصوي ، يحوي أبواغ متطاولة	موجبة	+

دراسة الخواص البيوكيميائية :

مقدرة الميكروب على تخمير أنواع مختلفة من السكريات مثل سكر الغركتوز ، الغلوكوز ، اللاكتوز ، السكروز ، المالتوز ..الخ . وفي حال المقدرة على التخمر يجب معرفة نواتج التخمر هل هي عبارة عن حمض فقط ، أم حمض مع غاز ، أم لا يوجد شيء .

إنتاج الإندول Indol .

إنتاج كبريت الهيدروجين H_2S .

إنتاج أنزيم تحلل البولة (اليورياز) .

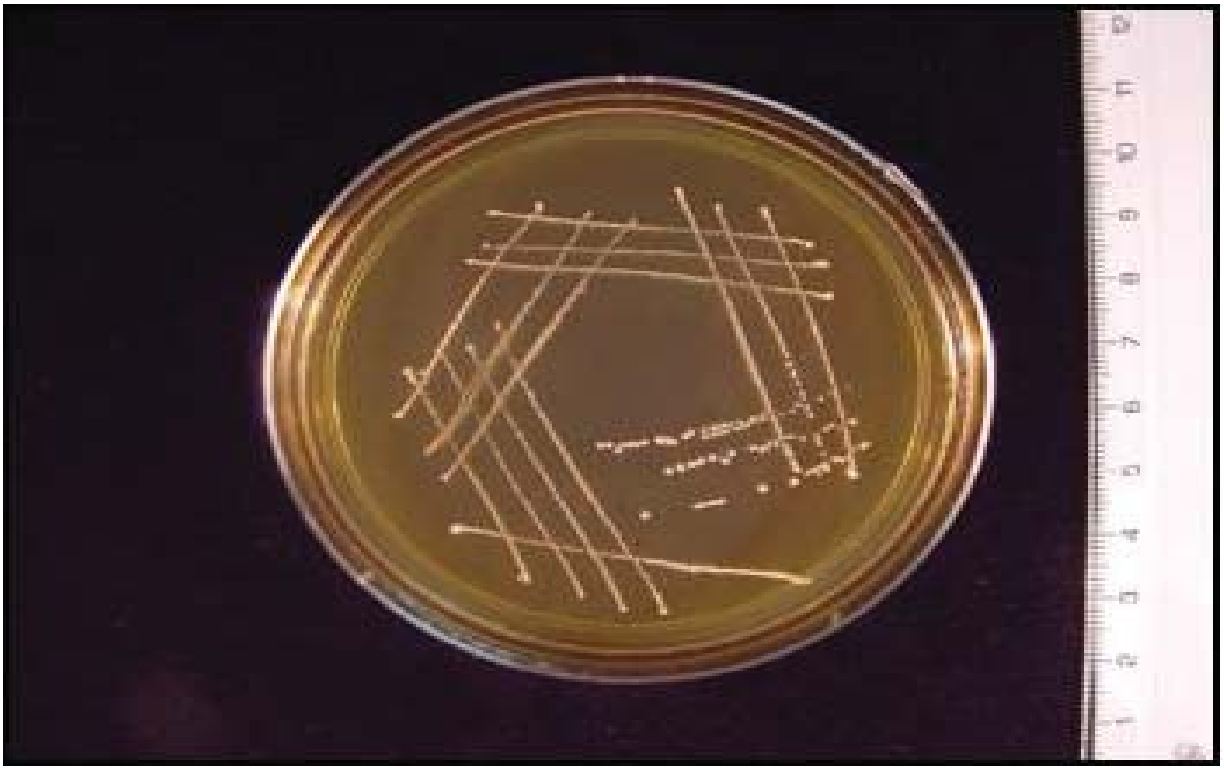
إسالة الجيلاتين .

التأثير في بيئة الحليب .

) بعض الخواص البيوكيميائية للأنواع البكتيرية

نوع الميكروب	تخمر الدكستروز	اللاكتوز	مانيتول	تغير الهالونات	تحلل اليوريا	إنتاج الأندول	إنتاج H_2S
E. Coli	حمض+غاز	حمض+ غاز	حمض+ غاز	–	–	+	–
Proteus sp.	حمض+غاز	–	–	–	+	+	+
P. arizona	حمض + غاز	سالب أو بطيء	حمض + غاز	+	–	–	+
Pseudomonas sp.	–	–	–	+	–	–	–
Erwinia sp.	حمض	حمض + غاز	حمض + غاز	–	–	–	–
Staph. aureus	حمض	حمض	حمض	–	–	–	–
Bac. subtilis	حمض	–	–	–	–	–	+

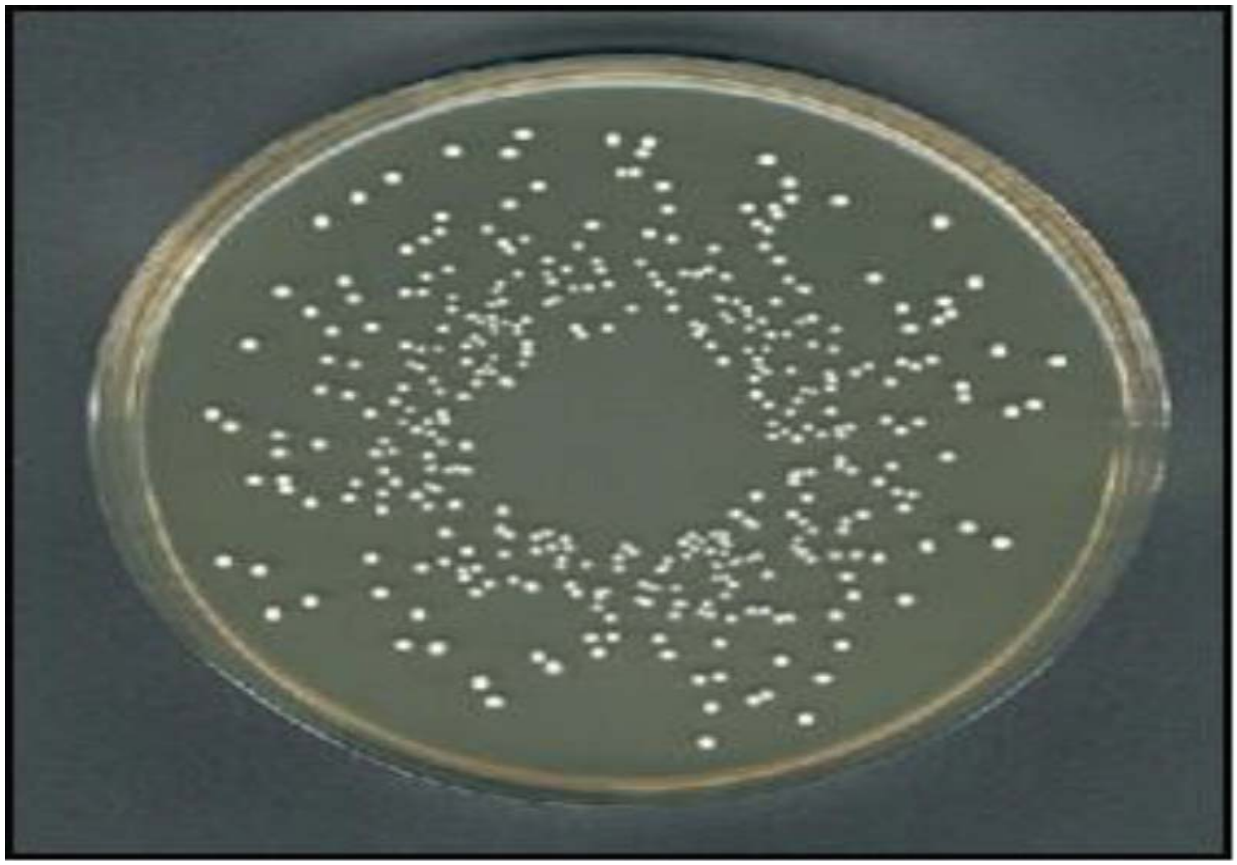
مزرعة بكتريا *Propioni bacterium freudenreichii.*



مزرعة Escherichia coli على وسط ماكونكي

– مزرعة عصيات الليكونوستوك mesenteroides Leuconostoc.

مزرعة بكتريا *Lactobacillus acidophilus*.



بكتريا (*Streptococcus thermophilus*