

كلية العلوم

القسم : علم الحيوان

السنة : الرابعة



١



المادة : فيروسات وجراثيم

المحاضرة : الخامسة/عملي /

{{{ A to Z مكتبة }}}}

مكتبة A to Z Facebook Group

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



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

الفحص الميكروبيولوجي للتربة

الجلسة العملية الخامسة بيولوجيا الجراثيم والفيروسات

مجموعات الأحياء الدقيقة في التربة :

يتتنوع محتوى التربة من الأحياء الدقيقة، ويضم بشكل أساسي البكتيريا المشكّلة للأبوااغ (المتبوغة) الأكتينومايسيس Actinomycetes ، الملتويات Spirochetes ، والأرشوباكتر Archeobacter ، والأوليات و الأشنبيات الزرقاء والخضراء ، الفطور والفيروسات .

يتتأثر المحتوى أو التركيب النوعي والكمي للأحياء الدقيقة للتربة بعدد من العوامل أهمها :

نوع التربة ومستوى الاسترراع : فكلما كان مستوى الاسترراع أكبر كان محتوى الأحياء الدقيقة أكبر التركيب الفيزيائي والكيميائي للتربة : البنية ، التهوية ، الرطوبة ، نفوذيتها للماء ، وجود الأوكسجين الحر والأوكسجين المرتبط .

العمر والتوضّع الجغرافي للتربة : يقل محتوى المواد العضوية في التربة بالإتجاه من الجنوب إلى الشمال على سطح الكرة الأرضية وبالتالي يقل محتوى الأحياء الدقيقة فيها .

الشروط المناخية والفصول : تُسيطر أو تغلب البكتيريا اللاهوائية والبكتيريا المشكّلة للأبوااغ في الصيف ، وبنهاية الصيف يتضاعف محتوى التربة من الأكتينومايسنس ، ويتضاعف النشاط البيولوجي لجميع الأحياء الدقيقة في التربة في الخريف وينخفض بشكل ملحوظ طيلة فترة الشتاء .

عمق طبقة التربة: يمكن تمييز ثلات طبقات أساسية تتوضع بشكل عمودي:

A من (٠ ← ١٠) سم .

B من (١٠ ← ٢٠) سم .

C من (٢٠ ← ٣٠) سم .

تكون الأحياء الدقيقة على السطح وفي الطبقة (A) قليلة بسبب الرطوبة المتداينة وكذلك التأثير المعمق لضوء الشمس المباشر .

إن محتوى الطبقة (A) من الأحياء الدقيقة في التربة غير المستزرعة يكون أكبر ما يمكن على عمق (٥ - ١٠) سم ، أما في التربة المستزرعة فإن محتوى التربة من الأحياء الدقيقة يكون كبير وبشكل خاص بالقرب من حدود الطبقتين (B و C) .

يمكن عزل عدد قليل من الأحياء الدقيقة على عمق ١ متر ، أما الأنواع التي يمكن عزلها على عمق ٤ أمتار وأكثر فإنه ينظر لها أنها لا تملك قيمة أو أهمية حيوية للتربة وإنما قيمة وأهمية جيولوجية .

تبلغ كمية الأحياء الدقيقة في التربة عدة مليارات خلية في ١ غ ، وتكون أكبر ما يمكن في التربة المسماة بالروث والدبال ، وفي التربة المستزرعة، حيث يصل من ٤.٨ - ٥.٢ مليار خلية في ١ غ تربة.

تحتوي التربة الرملية على كميات أقل من الأحياء إذ تتراوح بين ١.٢ - ١.٩ مليار خلية في ١ غ تربة. وبشكل عام تبلغ كتلة الأحياء الدقيقة في ١ هكتار من التربة وسطياً بحدود ١٠٠٠ كغ.

بيّنت نتائج دراسة المحتوى النوعي من الأحياء الدقيقة في التربة أنه تعيش فيها بكتيريا وفطور من الأجناس التالية:

Azotobacter , Clostridium , Pseudomonas , Bacillus , Streptococcus , Myxococcus , Rhizobium , Cellovibrio , Aspergillus , Thrichoderma وأجناس أخرى .

٢ - مجموعات الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان والحيوان في التربة

لا تعيش الأحياء الدقيقة الممرضة - كقاعدة عامة - في التربة طويلاً ، ولكن البعض من أنواعها قد ينضم إلى مجموعات الأحياء الدقيقة المختلفة في التربة والتي تقسم إلى ثلاثة مجموعات رئيسية هي:

- الأحياء الدقيقة التي تتخذ من التربة مكان للعيش مثل : *Actinomycetes* ، *Aspergillus* .

- الأحياء الدقيقة التي تصل إلى التربة عن طريق فضلات الإنسان والحيوان وتبقى لفترة طويلة (سنوات وعشرين السنين) مثل *Bacillus anthracis* .

- الأحياء الدقيقة التي تصل إلى التربة عن طريق فضلات الإنسان والحيوان وتبقى فيها لفترة قصيرة نسبياً (أسبوع ، شهور) مثل *Escherichia. coli* (٨ شهور) *Sallmonella* (حتى عام بدرجة حرارة تحت الصفر) ، *Shigella* (حتى ١٠٠ يوم) ، *الكوليرا* (١٢ شهر) ، الحمى المالطية (عدة شهور) .

أهم الأحياء الدقيقة الممرضة في التربة .

الأحياء الدقيقة الواصلة للتربة عن طريق الفضلات		الأحياء الدقيقة المقيمة
المتبقية لفترة قصيرة	المتبقية لفترة طويلة	
<p>أنواع جنس :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Sallmonella</i> ، - <i>Shigella</i> - <i>Vibrio</i> <i>Brucella</i> - <i>Francisella</i> ، - <i>Mycobacterium</i> - <i>Leptospira</i> - <i>Pseudomonas</i> <p>مجموعة الانتبروفيروس</p>	<p>- <i>Bacillus anthracis</i></p> <p>- <i>Clostridium tetani</i></p> <p>أنواع جنس :</p> <p><i>Clostridium</i></p> <p>اللاهوائية المسببة للأوبئة</p>	<p>- <i>Clostridium botulinum</i></p> <p>بعض أنواع الجنس :</p> <p>- <i>Actinomycetes</i></p> <p>الفطور مسببات الأمراض</p> <p>الجلدية للحيوان والإنسان</p> <p>بعض مسببات التسممات</p> <p>الفطرية</p>

- التحليل الميكروبيولوجي للتربة :

١ - التحليل الميكروبولوجي المختصر للترابة :

يأخذ التحليل الميكروبولوجي للتربة بالحسبان الحالة الصحية للتربة، وذلك من خلال تحديد التعداد العام للأحياء الدقيقة وكذلك تعداد بكتيريا *Escherichia. coli*، وتحدد التعداد *Clostridium perfringens* ، وتحدد *Enterococci* والبكتيريا المحبة للحرارة العالية ، وبكتيريا النترات ، وبحصولنا على جميع المؤشرات يمكننا التعرف على مدى تلوث التربة بالفضلات العضوية، ويمكننا كذلك تحديد حالة عمليات التنقية (التطهير) الذاتي في التربة من مجموعة الـ *Enterobacteria* الممرضة والتلوث العضوي ، يُجرى هذا التحليل بحسب مخطط مدروس لمعرفة الحالة الصحية للتربة.

مؤشرات نظافة التربة من الناحية الميكروبيولوجية

نوع التربة	أقل كمية من العصيات المعوية غ	أقل كمية من مجموعة بكتيريا النترات غ	أقل كمية من عصية واحدة من مجموعة Clostridium perfringens غ	أقل كمية من التربة تتوارد فيها عصية واحدة من مجموعة Clostridium perfringens غ	كمية البكتيريا المحبة للحرارة العالية في ١ غ من التربة
نظيفة	0.1 غ وأكثر	0.1 غ وأكثر	0.1 غ وأكثر	0.1 غ وأكثر	1000–100
قليلة التلوث	0.009–0.0001	0.001–0.01	0.01–0.9	100000 ← 1001	
ملوثة	0.00009	0.0001	0.009	10 ⁻⁴ ← 100001	

٢ - التحليل الميكروبيولوجي الكامل للتربة:

يتضمن هذا التحليل تحديد كافة مؤشرات التحليل الميكروبيولوجي المختصر للتربة وأيضاً التعداد العام للأحياء الدقيقة الرمية ، وكذلك تحديد نسبة احتواء الأحياء الدقيقة المشكلة للأبوااغ ، نسبة البكتيريا الهوائية ، نسبة البكتيريا المحللة للسيلولوز ، بكتيريا النشارة ، بالإضافة لدراسة التأثير السمي للتربة في الأحياء الدقيقة ، وتجري هذه التحاليل عند اختيار المواقع لبناء صروح معينة(سدود ، مصانع) وكذلك عند التحري عن موقع شديدة التلوث .

- ٣ - التحاليل الدورية :

تُجرى هذه التحاليل بشكل دوري لترية موعنة كمناطق الاستجمام والمدارس ودور الحضانة وبواقع مرتين في السنة ، في الربيع والخريف ، وفي مواقع أخرى يُجرى هذا التحليل بشكل دوري مرة واحدة في السنة على الأقل ، لدراسة ديناميكية عملية التنقية الذاتية للترية من التلوث تؤخذ العينات للتحاليل يومياً لفترة شهر من إصابة الترية ، بعدها تُجرى التحاليل بواقع مرة إلى مرتين شهرياً . ويتم أخذ العينات بتقسيم المنطقة المدروسة على شكل مربعات (ليس أقل من 5×5 متر) ، وتأخذ العينات من عمق ٢٠ سم من زوايا المربعات ومن مراكزها أيضاً، ويجب ألا يقل حجم العينة عن ١ كغ .

٤ - طرق التحليل الميكروبولوجي للترية

- ١ - طريقة العد المباشر للخلايا باستخدام المجهر :

وضعت هذه الطريقة من قبل العالم فينوجرادسكي (١٩٢٤) وتتلخص في حل ١ غ من عينة الترية في ماء معقم ومن ثم يُحضر محضر ملون للبكتيريا على شريحة زجاجية ويتم دراسته تحت المجهر الضوئي .
من مزايا هذه الطريقة معرفة الصفات المورفولوجية (الشكلية) للأحياء الموجودة في الترية وأنواعها .

سلبيات هذه الطريقة :

عدم ظهور بعض أنواع الميكروبات بسبب التصاقها الشديد بحببات الترية .
صعوبة التمييز بين البكتيريا وبين حبيبات الترية وبعض المواد العضوية الدقيقة .
ليس لها أي قيمة عند احتواء الترية على عدد قليل من الميكروبات .
ظهور الميكروبات الحية والميتة على الشريحة واستحالة التفريق بينها .

طريقة العمل :

- نزن عينة من التربة بمقدار .٥ - ١ غ ونحلها بحجم ثابت .٣٠ - ٤ مل من الماء المعقم أو محلول مائي %٥ .٥ لكلوريد الصوديوم.
- نأخذ بمقاصة مدرجة معقمة ونظيفة مقدار .١ .٠ مل من المعلق الميكروبي للتربة وننقله إلى شريحة زجاجية مدرجة خاصة ، يُفرش المعلق بانتظام على الشريحة .
- تجفف الطاخة بالهواء بدرجة حرارة الغرفة وتثبت بواسطة الكحول الإيتيلي %٩٦ ، يلوّن المحضر بمحلول الفوكسين الكربولي أو بمحلول الإريتيروزين الكربولي لمدة ٣ - ٤ دقائق .
- يتميز الفوكسين الكربولي بتلوينه للبكتيريا باللون الأحمر ، بنفس الوقت تتلون المواد العضوية وحببيات التربة المعدنية أيضاً باللون الأحمر .
- يغسل المحضر بشكل جيد بالماء ويجف بالهواء ، تبقى البكتيريا ملونة بأحمر قاتم بينما المواد العضوية وحببيات التربة المعدنية غير ملونة أو ملونة بلون أحمر فاتح جداً .
- يُدرس المحضر تحت المجهر وتحدّد الخلايا البكتيرية ثم تحسب لكل ١ غ من التربة على أساس الوزن الرطب وعلى أساس الوزن الجاف .

٢ - طريقة العد بواسطة الأطباقي

- تعد طريقة الزراعة للمعلق البكتيري لعينات التربة على أوساط مغذية صلبة ومن ثم القيام بعملية تعداد المستعمرات الناتجة الطريقة الأكثر اعتماداً لدراسة كمية الأحياء الدقيقة (التعداد العام) في التربة وإظهار التركيب النوعي له ، وتحديد الأنواع (التصنيف النوعي) .

طريقة العمل :

نأخذ عينة من التربة بوزن ٥٠ .٥ - ١ غ ونحلها بحجم ثابت ٣٠ مل من الماء المعقم أو محلول مائي معقم ٥٪ من كلوريد الصوديوم ، ثم نقوم بإجراء التمديدات المناسبة .

نأخذ بواسطة ماصة معقمة ومدرجة مقدار ١٠ مل من المعلق الميكروبي المحضر سابقاً ونزرعه على طبقين بتري يحوي أحدهما وسط مغذي صلب مرق اللحم مع البيبيتون (MBA) والآخر وسط آغار مغذي ، ثم يُوزع المعلق على سطح الوسط المغذي بواسطة ماسحة معقمة .

تحضن أطباق بتري المزروعة بالحاضنة بدرجة حرارة ٣٧°C لمدة ١ - ٢ يوم ،

بنهاية فترة الحضن تجري عملية العد للمستعمرات النامية على سطح الأوساط المغذية ، عملية العد تتم باستخدام جهاز عد المستعمرات دون رفع غطاء طبق بتري ، إذا كان عدد المستعمرات كبير ، عندها يمكن تقسيم قعر طبق بتري إلى عدة أقسام وفي النهاية نجمع التعداد الناتج لكل الأقسام .

باستخدام المكورة أو باستخدام المجهر نقوم بوصف ودراسة المستعمرات المميزة من حيث الشكل واللون والحواف والمميزات الأخرى .

نقوم بأخذ عينات من المستعمرات الموصوفة سابقاً بواسطة لاقحة معقمة وننقلها إلى شريحة (نظيفة وخالية من الدهون) . على قطرة من الماء المعقم ونقوم بتحضير أكثر من لطاخة ، تلوّن اللطاخة بصبغة غرام ، بعدها يُغسل المحضر بالماء ويُجفف ويدرس بالتكبير المناسب ، تُرسم أشكال البكتيريا الناتجة وتُسجل النتائج السابقة كلها في جدول منفصل .

صيغة غرام	شكل النبات	صفات المستعمرات							الوسط المغذي المستخدم	
		القوام	الجوف	الارتفاع	الشفافية	اللون	الانتشار	الشكل		
									1 2 3 .	MBA
									1 2 3 .	شباك

على الرغم من أن الأحياء الدقيقة في التربة توجد في بيئة غذائية واحدة وظروف بيئية واحدة، إلا أنه باستخدام طريقة العد بالأطباقي لا يمكننا إظهار جميع أنواع البكتيرية الموجودة في التربة وذلك للأسباب التالية :

عدم وجود بيئة حتى الآن تلائم نمو جميع الميكروبات في التربة ، فمثلاً البكتيريا المحللة للسيلولوز ذاتية التغذية لا تظهر على وسط (MBA) .

تفرز بعض البكتيريا مضادات حيوية Antibiotic تسبب عدم ظهور بعض أنواع الأخرى من البكتيريا ، كمان البكتيريا اللاهوائية لاتظهر على الأطباقي .

تحدد درجة الـ pH في البيئة المستعملة من نمو بعض الأحياء الدقيقة ، فمثلاً إذا ضُبطت الـ pH عند القيمة 7 فإن معظم الفطريات والخمائر لاتنمو وهذا

يتتأثر بعض الأجناس البكتيرية بدرجة حرارة الحضن ، فمثلاً لا تظهر البكتيريا المحبة للحرارة Thermeophilic بدرجة حرارة ٢٢ °C . ٢٥-



A to Z مكتبة