كلية العلوم

القسم : **علم الحياة**

السنة : **الاولى**

المادة : علم الحياة النباتية2

المحاضرة : الثانية/عملي/ د طارق

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

2026

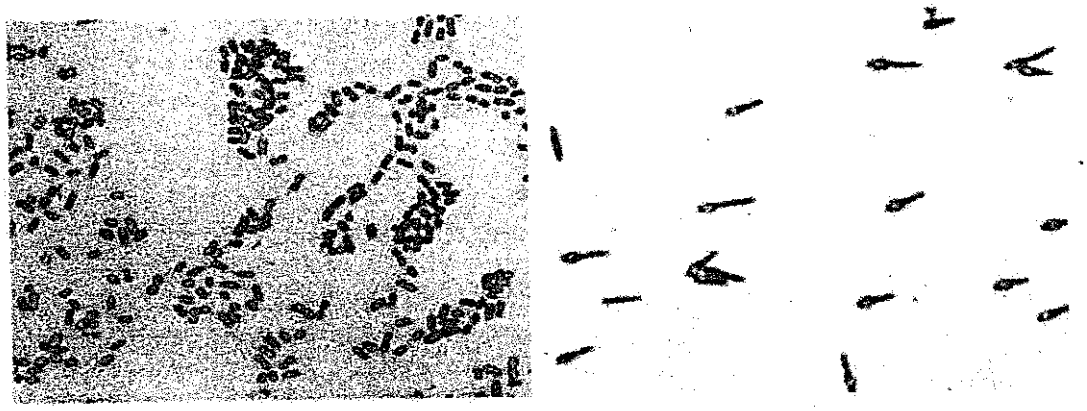
يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر(What's app-Telegram)على الرقم 0931497960

• دراسة الجراثيم المثبتة للآزوت الجوي:

تتأكسد الأملاح النشادرية في التربة متحولة لأملاح الآزوت ويسمى هذا التحول بالتأزت وتقوم به عدة أجناس من الجراثيم.

1- جراثيم التثبيت اللاتعايشي Non symbiotic Nitrogen fixing:

جراثيم التعايش التآلفي Associative symbiotic، وتعد المطثيات *Clostridium* من الجراثيم اللاهوائية التي تنمو في بيئة معدنية خالية من أملاح الآزوت، والآزوتوباكتر *Azotobacter* من الجراثيم المهمة التي تقوم بتثبيت الآزوت الجوي هوائياً والتي يسهل عزلها من التربة (الشكل 12-1)، ومن خواصها أنها هوائية إجبارية تنمو في بيئة خالية من الآزوت وتستمد الكربون من السكاكر المختلفة والنشاء والكحولات والأحماض العضوية، وتحتاج بعض العناصر المعدنية مثل الفوسفور والبوتاسيوم والكالسيوم، وخلاياها كبيرة الحجم نسبياً، عصوية أو بيضوية، محاطة بمحفظة وهي سالبة غرام.



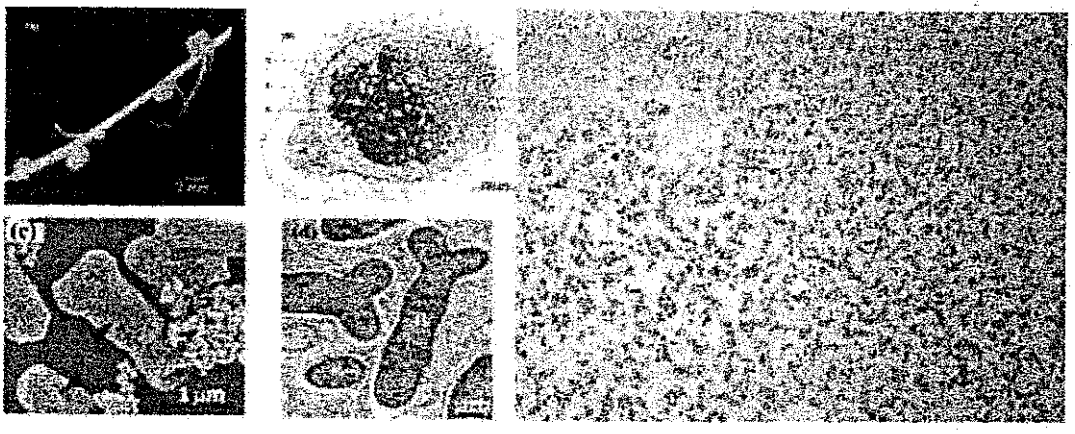
الشكل (12-1): جراثيم المطثيات *Clostridium* (يمين)، وجراثيم الآزوتوباكتر *Azotobacter* (يسار)

عزلها: يعتمد عزلها على تلقيح معلق التربة لأوساط غذائية سائلة أو صلبة خالية من الآزوت وهي أوساط تركيبية صنعية. تنمو على الأوساط السائلة على شكل غشاء رقيق وشفاف مائل للون الأصفر، أما على الأوساط الصلبة فتنمو على شكل مستعمرات بيضاء مخاطية لزجة.

2- جراثيم التثبيت التعايشي Symbiotic Nitrogen fixing Bacteria:

التعايش الإجباري Obligatory Symbiosis، ويعد الجنس *Rhizobium* مثالاً نموذجياً لهذه الجراثيم لأنه يمتلك القدرة على إصابة جذور النباتات البقولية والعيش داخل العقد الجذرية التي يشكلها بشكل يحقق تبادل منفعة بينه وبين النبات فهو يمنح النبات الآزوت الجوي المثبت ويأخذ بالمقابل المواد الغذائية اللازمة له. تتميز الجراثيم الموجودة داخل العقد حديثة السن بأنها عصوية الشكل، بينما تأخذ

الأشكال X، L، Y، T في العقد المسنة (الشكل 12-2)، ولذلك تسمى بأشباه الجراثيم Bacteroid، أما عند نموها على الأوساط المصنعة فإنها تصبح بشكل عصوي قصير، وهي غير متبوغة سالبة غرام.



الشكل (12-2): جراثيم *Rhizobium* وأشكالها في العقد المسنة Bacteroid

الأدوات والمواد اللازمة:

1- جذور نبات الفول أو أي نبات بقولي آخر. 2- محلول كلور الزئبق Cl_2Hg بتركيز 0.1% (1غ/ الليتر). 3- كحول 95%. 4- محاليل تلوين غرام. 5- صفائح زجاجية.

طريقة العمل:

1- تغسل جذور النبات جيداً بماء الصنبور لإزالة الأتربة.

2- تفصل العقد الكبيرة عن جذر النبات، وتغسل جيداً بماء الصنبور للتأكد من إزالة الأتربة.

3- توضع العقد في طبق بتري يحوي محلول كلور الزئبق 0.1 % لمدة 3- 6 دقائق.

4- تنقل العقد إلى طبق بتري آخر يحوي الكحول 95 % لمدة 3- 5 دقائق.

5- تنقل العقد إلى طبق بتري آخر يحوي ماء مقطر معقم لإزالة بقايا الكحول حيث تقلب العقد جيداً بداخله بوساطة ملقط معقم.

6- تنقل العقد إلى طبق بتري آخر يحوي ماء مقطر ومعقم.

7- نأخذ بالملقط المعقم أحد العقد ونهرسها بين صفيحتين زجاجيتين نظيفتين ومعقمتين (في حال أردنا أن نعزل أرومات نقية) حتى يسيل منها سائل عكر.

8- نعمل من السائل غشاء جرثومي ونلونه بطريقة غرام.

9- نفحصه تحت المجهر بالعدسة الغاطسة لملاحظة أشكال الجراثيم المختلفة في طور البكتريوئيد Bacteroid بشكل عصوي رفيع سالب غرام.

ثالثاً- الأحياء الدقيقة في الألبان:

- **فحص وعزل جراثيم حمض اللاكتيك من اللبن:**

تقوم جراثيم حمض اللاكتيك بتخمير اللاكتوز مكونة خثرة حمضية أهمها:
Str. Thermophilus، *Str. Lactis*، *L. bulgaricus*، *L. acidophilus*، *Leuconostoc citrovorum* والأخيرة مسؤولة عن الطعم والنكهة، ويوجد بعض الخمائر ككائنات ملوثة للألبان.

- طريقة العمل:

1- اعمل غشاء من عينة اللبن ثم جففها فوق مصباح كهربائي، وضع الشريحة في وعاء فيه زيلول لمدة دقيقة واحدة لإزالة الدهون ثم في وعاء فيه كحول إيثانول 95 % لتثبيت الغشاء ثم اغسله بالماء واصبغه بطريقة غرام.

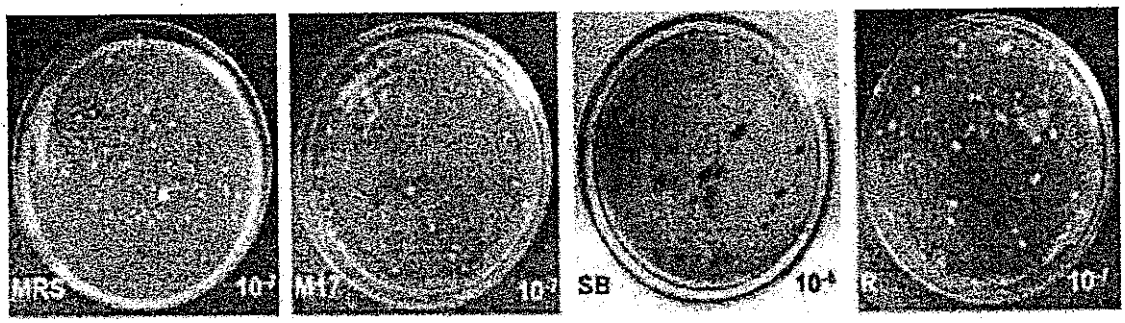
2- افحص الغشاء بالعدسة الزيتية وارسم ما تشاهده.

3- يُستعمل وسط Tween agar ووسط آغار الغلوكوز لعزل الجراثيم لأنها معقدة التغذية.

4- اعزل جراثيم حمض اللاكتيك من عينة اللبن بطريقة الأطباق المصبوبة.

5- احضن الأطباق بدرجة حرارة 30°م لمدة أربعة أيام.

6- شاهد وأوصف الجراثيم التي تظهر بأشكال نجمية أو عدسية أو مستديرة، واعمل منها غشاء واصبغه بطريقة غرام وارسم الجراثيم (الشكل 12-3).



الشكل (12-3): جراثيم *Lactobacillus* spp بتخفيف متعدد من اللبن

• **فحص الحليب:**

يعد الحليب بيئة غذائية ملائمة لنمو الاحياء المجهرية عند توفر درجات الحرارة الملائمة فهو غني بالبروتينات والكاربوهيدرات والدهون والمعادن والفيتامينات المهمة بالإضافة إلى الحموضة الملائمة (6.7) ورطوبته الملائمة للنشاط الميكروبي لذلك فهو عرضة للتلف بالجراثيم الأعفان والخمائر، ومن جهة اخرى قد يصبح الحليب وسطاً ناقلاً لكثير من الأمراض للإنسان مثل الحمى المالطيةMalta fever والتسمم الغذائي بالسموم المعوية لجراثيم *Streptococcus pyogens* في حال لم يبستر بالصورة الصحيحة. من الاجناس الشائعة في الحليب *Lactobacillus*، *Streptococcus*، *Micrococcus*، *Coli forms*، كما توجد انواع ممرضة مختلفة باختلاف مصدر التلوث تشمل:

1- الحيوان: *Brucella*، *Staph. Aureus*، *Mycobacterium bovis*.

2- الإنسان: *Shegella*، *Salmonella*.

3- البيئة: *Bacillus*، *Clostridium*.

يحوي الحليب الذي حلب للتو ما بين (103-102) جراثيم/مل، والعدد الجرثومي اللازم لإحداث تغيرات غير مرغوبة من لون وطعم يتطلب (107) خلية/مل. يجري تقييم الحليب لمعرفة جودته وسعره وصلاحيته للاستعمال في مصانع الألبان حسب اختبارين أساسيين يتم الأول بحساب نسبة الدسم التي تختلف حسب نوع الحيوان ووقت الحلابة وغش الحليب بالماء، والاختبار الثاني يتم بتعداد الجراثيم التي تختلف حسب الزمن الذي مضى منذ الحلابة وطريقة التخزين ونظافة الحليب وتداوله.

- تعداد الجراثيم في الحليب بطريقة الأطباق:

الأدوات اللازمة:

1- نماذج من الحليب الخام، والمغلي، والمبستر.

2- ماصات دقيقة، وأطباق بتري، وأنابيب اختبار.

3- وسط غذائي يحوي على تربتوفان غلوكوز آغار الحليب منزوع الدسم.

- طريقة العمل:

1- تجرى تخفيفات عشرية متسلسلة على عينة الحليب حتى 10^{-6}

2- يؤخذ 1 مل من التخفيفات من 10^{-2} وحتى 10^{-6} وتوضع في أطباق معقمة.

3- يصب الوسط الغذائي السائل بحرارة 50°م في الأطباق وتحرك وتترك حتى تتجمد.

4- تحضن الأطباق بحرارة مناسبة 37°م لمدة 48 ساعة، ثم يجرى تعداد للمستعمرات في التخفيف المناسب، ويضرب العدد بمقلوب التخفيف والمتوسط الحاصل هو عدد الجراثيم في 1 مل من الحليب. تكرر التجربة على عينات الحليب المختلفة وتقارن النتائج.

- تعداد الجراثيم في الحليب بإرجاع أزرق الميتيلين:

يستخدم هذا الاختبار لمعرفة الفعالية الحيوية للجراثيم في الحليب حيث يتناسب النشاط طردياً مع العدد وحسب معدل تنفسها تتهيأ الظروف اللاهوائية فتختزل الصبغات. يجري تقدير عدد الخلايا الجرثومية الحية في وسط ما حسب الزمن اللازم لإرجاع صبغة أزرق الميتيلين المخففة والمضافة للوسط لأنّ هذه الصبغة تصبح عديمة اللون في الوسط المرجع، والجراثيم الحية تحدث فعلاً ارجاعياً في الوسط مهما اختلفت احتياجاتها الهوائية، وعلى هذا الأساس صممت هذه التجربة التي تستخدم على نطاق واسع في مصانع الألبان لسهولة إجراؤها ولأنها تحسب كل أنواع الجراثيم الحية.

طريقة العمل:

1- يوضع في أنبوب اختبار 1 مل من صبغة أزرق الميتيلين (20000/1)

2- يوضع في الأنبوب 10 مل من الحليب ويخلط جيداً بهدوء بدون تشكيل فقاعات ويغلق.

3- يوضع الأنبوب في حمام مائي بدرجة حرارة 37°م، ويراقب زمن زوال اللون كل نصف ساعة.

4- تكرر هذه الطريقة على كل نماذج الحليب.

الجدول (12-1): عدد الجراثيم ونوعية الحليب حسب زمن زوال اللون

الزمن اللازم لزوال اللون	عدد الجراثيم في 1مل من العينة	نوعية الحليب
أكثر من 10 ساعات	أقل من 50 ألف	جيد جداً
من 5- 10 ساعات	من 50 ألف حتى 0.5 مليون	جيد
من 2- 5 ساعة	من 0.5- 4 مليون	وسط مقبول
من 20 دقيقة إلى ساعتين	من 4- 20 مليون	سيء
أقل من 20 دقيقة	أكثر من 20 مليون	سيء جداً