كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : جراثيم وفيروسات

المحاضرة :الثالثة/عملي/

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

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

الجلسة العملية الثالثة

البيئات الغذائية
أنواعها– طريقة التحضير

❑ البيئات الزرعية Culature Media

تعرف بأنها أنظمة غذائية صناعية أو طبيعية تستخدم لدعم الكائنات الحية الدقيقة مثل الجراثيم والفطريات في ظروف مخبرية مضبوطة.

وتعد من الأدوات الاساسية في علم الأحياء الدقيقة إذ تمكن الباحث من:

- عزل الكائنات الحية الدقيقة من العينات المختلطة.
- دراستها مورفولوجياً ووظيفياً
- اجراء الاختبارات الحيوية الكيميائية والحساسية للمضادات الحيوية
- إنتاج مركبات حيوية (مثل الانزيمات أو المضادات الحيوية)

❑ مكونات الوسط الزرعي:

يتكون أي وسط زراعي من مجموعة من العناصر الأساسية، وفق الآتي:

- **الكربون**: مصدر للطاقة ويدخل في العمليات الاستقلابية
- **النتروجين**: ضروري لتكوين البروتينات والأحماض النووية
- **الأملاح المعدنية**: تدخل في عمل الانزيمات للحفاظ على التوازن الحيوي
- **الماء**: الوسط الذي تتم فيه كل عمليات النمو
- **عوامل النمو**: مركبات عضوية تحتاجها الكائنات الحية وخاصة الجراثيم الحساسة
- **الأغار**: يستخلص من الطحالب له دور ضبط قوام الوسط

❑ تصنيف البيئات الزرعية

أولاً حسب القوام الفيزيائي:

- **البيئات السائلة Liquid Media** : لا تحتوي أي مدة صلبة، تستخدم لتنمية أعداد كبيرة من الجراثيم مثل: **Nutrient broth**
- **البيئات نصف الصلبة Semi- solid media:** تحتوي على تركيز منخفض من الآغار تستخدم لدراسة حركة الجراثيم **(Motility)**
- **البيئات الصلبة Solid media** : تحتوي على% 2-1.5 أجار تسمح بتكوين مستعمرات منفصلة

ثانياً حسب الوظيفة:

- **البيئات العامة General Purpose Media** : تدعم نمو معظم الأنواع الجرثومية غير المتطلبة تستخدم في الزراعات الروتينية مثل Nutrient Agar
- **البيئات الاغنائية Enriched Media** تدعم بمواد غذائية إضافية (الدم أو المصل) تستخدم لنمو الجراثيم الحساسة مثل Blood Agar.
- **البيئات الانتقائية Selective Media** : تحتوي على مواد مثبطة تمنع نمو بعض الكائنات وتسمح لأخرى مثل MacConkey Agar
- **البيئات الخاصة Specialized Media** تستخدم لأغراض محددة مثل اختبار الحساسية للمضادات الحيوية تستخدم لتنمية كائنات معينة جداً

❑ شروط نجاح الوسط الزرعي

١) **درجة الحموضة:** معظم الجراثيم تنمو عند pH = 7 وأي انحراف عن القيمة السابقة قد تثبط النمو

٢) **التعقيم:** ضروري لمنع التلوث ويستخدم عادة الاتوغلاف عند درجة حرارة 121 درجة مئوية وضغط 1.5 لمدة 20-15 دقيقة

٣) **درجة الحرارة** تختلف حسب النوع الجرثومي المدروس تتراوح بين 45-20 درجة مئوية ومعظم الجراثيم تفضل 37 درجة مئوية.

٤) **الاكسجين:** يختلف حسب النوع الجرثومي هوائي – لاهوائي

٥) **التعقيم أثناء العمل:** يهدف إلى منع التلوث أثناء التحضير أو التلقيح ويشمل: تعقيم الأدوات، العمل قرب اللهب، تقليل التعرض للهواء.

❑ خطوات تحضير البيئات الغذائية

بعد أن توزن المكونات الداخلة في تركيب البيئة المغذية ويضاف إليها الكمية المناسبة من الماء يتم اجراء الخطوات الآتية:

١) **الاذابة والتسخين:** لضمان توزيع متجانس للمكونات وإذابة كامل الاغار

٢) **التعقيم بالاتوغلاف:** لقتل الكائنات الحية الدقيقة بالبخار المشبع تحت الضغط

٣) **الصب:** يتم عند درجة الحرارة 50-45 درجة مئوية لتجنب التكثف والحفاظ على التعقيم

٤) **االتصلب:** يهدف لتبريد الاغار لتوفير سطح مناسب لنمو المستعمرات الجرثومية

❑ إزالة عكارة البيئة الغذائية

- تجري هذه الخطوة عند اسوداد أو تعكر الوسط نتيجة عملية الغلي ويستخدم لإزالة العكارة بروتين بيض الدجاج الذي يخفف مع كمية مضاعفة من الماء، ويضاف إلى الوسط عند درجة حرارة ٥٠ درجة مئوية مع التحريك المستمر ثم تجري عملية غلي البيئة الغذائية مرة ثانية إذ يقوم البروتين المتخثر بترسيب الجزيئات المعلقة في الوسط ويمكن إزالة العكارة أيضاً باستخدام مصل الدم.
- يمكن ترشيح بيئة الأغار بإجراء عملية الترسيب حيث توضع البيئة المغذية في اسطوانة مدرجة فتترسب الأجزاء المعلقة إلى القعر وفي اليوم التالي يقطع الجزء السفلي من البيئة الحاوي المواد الراسبة بوساطة سكين بينما يذاب الجزء العلوي الشفاف ويوزع في أوعية مناسبة

❑ الترشيح (الفلترة):

- يتم ترشيح الأوساط السائلة أو الجيلاتينية المذابة بسهولة من خلال أوراق ترشيح مبللة أو مرشحات نسيجية إلا أنه من الصعب ترشيح بيئة الأغار بسبب تصلبها السريع ترشح مثل هذه البيئات وهي في الحالة السائلة من خلال مرشح مكون من الشاش والقطن ضمن الصاد الموصد.

❑ توزيع البيئات الغذائية الصلبة في أطباق البتري

- في حال كانت البيئة صلبة تذاب باستخدام حمام مائي عند ١٠٠ درجة مئوية وعند انخفاض درجة حرارتها إلى ٤٥-٥٠ درجة مئوية تجري عملية توزيعها على أطباق البتري في ظروف معقمة قرب مصباح اللهب في غرفة الزرع الجرثومي على النحو الآتي:

١) تمسك الحوجلة أو انبوب الاختبار لحاوي على البيئة المغذية في اليد اليمنى بالقرب من اللهب وبوساطة خنصر اليد وراحة اليد اليسرى يزال الغطاء القطني للحوجلة أو انبوب الاختبار

٢) يتم تلهيب فوهة الحوجلة أو أنبوب الاختبار على مصباح اللهب بينما يوضع طبق البتري المعقم على راحة اليد اليسرى ويفتح قليلا باستخدام 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 مستو وبحركة دائرية خفيفة يتم توزيع محتوى الطبق بشكل متساو على كامل مساحة الطبق

❑ تحضير الآغار المائل في أنابيب الاختبار

يصب في كل أنبوب حوالي ٤-٥ مل من البيئة المغذية قبل التعقيم وتسد بأغطية قطنية وبعد التعقيم تكون الانابيب حاوية على البيئة بشكل سائل توضع بشكل مائل على حامل خاص وتترك حتى تتصلب للحصول على الاغار المائل الذي يتم استخدامه لتنمية أو حفظ الأحياء الدقيقة

❑ وصف المستعمرات الجرثومية

تتشكل المستعمرات الجرثومية من نمو وتكاثر خلية جرثومية واحدة أو أكثر على سطح البيئة المغذية الصلبة وتختلف هذه المستعمرات عن بعضها تبعاً للأنواع الجرثومية النامية على البيئة من حيث الشكل واللون والقوام والارتفاع وغير ذلك من الصفات المورفولوجية لذلك فإن دراسة المستعمرات تساعد كثيراً في وصف الميكروب وتميزه عن غيره والمساهمة في تصنيفه.

❑ دراسة المستعمرات في البيئات الغذائية السائلة

تساهم في الاهتمام بنقاوة المزرعة الجرثومية ودراسة طريقة نموها على البيئة بالإضافة لظهور القشور.

تقدير احتياج الميكروب للاكسجين:

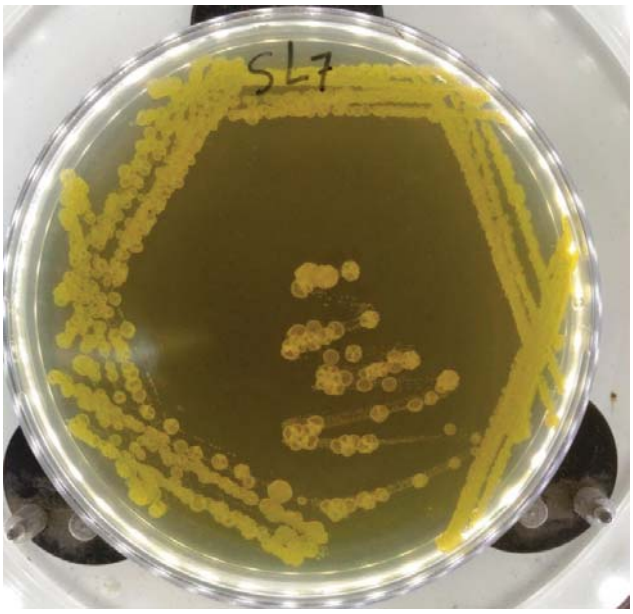
١) يعد الميكروب هوائياً إذا اقتصر نموه على سطح البيئة
٢) يعد الميكروب لاهوائياً إذا اقتصر نموه في قاع البيئة
٣) يعد الميكروب لاهوائياً اختيارياً إذا توزع نموه على كامل البيئة
٤) يعد الميكروب شحيح الهواء إذا نما بالقرب من سطح البيئة

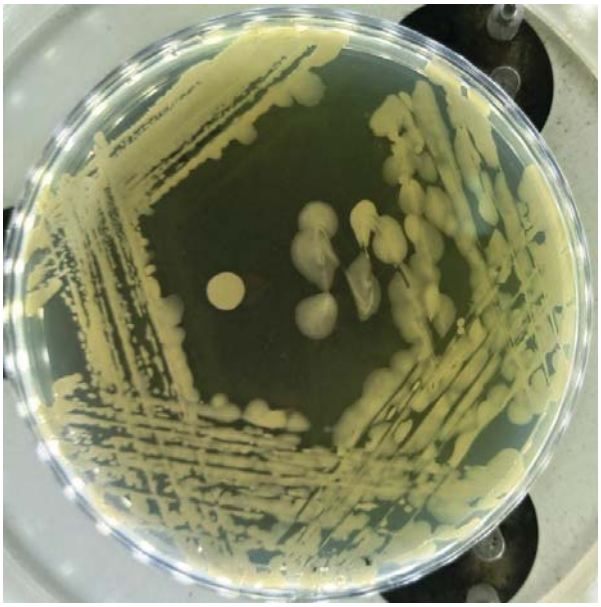
❑ دراسة الخواص البيوكيميائية

تدرس هذه الخواص للتعرف على خصائص الكائنات الحية الدقيقة الحيوية مثل

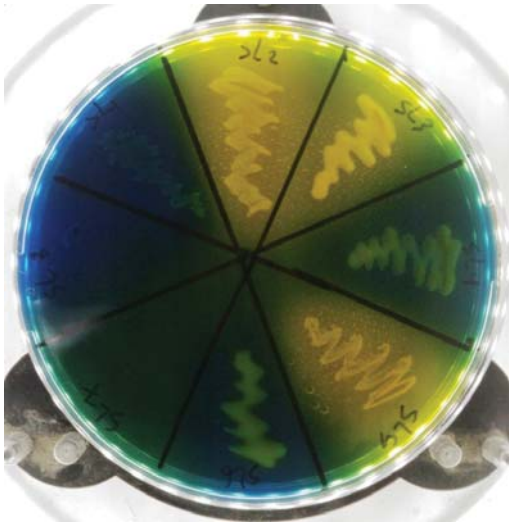
١) تخمر السكريات (الغلكوز – الفركتوز– السكروز– المالتوز)
٢) انتاج الاندوا
٣) انتاج كبريت الهيدروجين
٤) تحلل اليورياز
٥) إسالة الجيلاتين

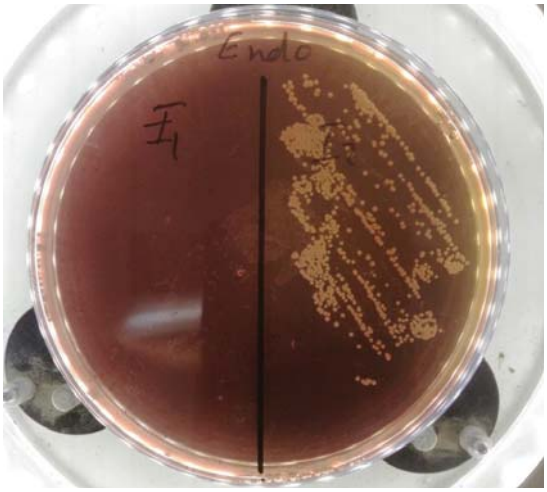
ويتم ذلك باستخدام أوساط انتقائية





مستعمرات جرثومية نامية على وسط الزراعة العام





مستعمرات جرثومية نامية على أوساط انتقائية