المحاضرة السابعة:

تحضير الأوساط الزرعية Culture Media

ـ اهداف المحاضرة:ـ

1. تعريف الطلاب بالأوساط الزرعية
2. تعريف الطلاب بأنواع الأوساط الزراعية وأهميتها في دراسة الأحياء المجهرية.
3. تدريب الطلاب على تحضير الأوساط الزرعية السائلة (Broth) والصلبة (Agar) خطوة بخطوة.
4. فهم مكونات الأوساط ووظيفة كل مكون.
5. تطبيق مبادئ التعقيم (Sterilization) واستخدام الأوتوكلاف.

الأوساط الزرعية: هي مواد تُستعمل لزراعة وتكاثر الكائنات الدقيقة (البكتيريا، الفطريات، الفيروسات، الخ) في المختبر. تحتوي على مغذيات ضرورية لنمو الميكروبات، وتُصنع بأشكال مختلفة حسب الغرض من الدراسة.

تصنيف الأوساط الزراعية

1.حسب القوام (الحالة الفيزيائية)**:**

النوع	الوصف	الاستخدام
أوساط سائلة (Broth)	بدون آجار، مثل (Nutrient Broth)	دراسة النمو البكتيري، اختبارات التخمر.
أوساط شبه صلبة (Semi-solid)	كمية قليلة من الآجار (0.2-0.5%)	دراسة حركة البكتيريا (Motility).
أوساط صلبة(Solid)	تحتوي آجار (1.5-2%) مثل (Nutrient Agar)	عزل مستعمرات بكتيرية.

2. حسب التركيب الكيميائي:

النوع	الوصف	أمثلة
أوساط طبيعية(Complex)	مكونات غير معروفة تمامًا (مستخلصات حيوانية أو نباتية.)	*Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar (TSA)*
أوساط صناعية (Synthetic/Defined)	تركيبة كيميائية محددة ومعروفة.	*Minimal Salts Medium*

3.حسب الوظيفة:

النوع	الوصف	أمثلة
أوساط عامة (General Purpose)	تنمو عليها معظم البكتيريا.	*Nutrient Agar, TSA*
أوساط انتقائية (Selective)	تمنع نمو بعض الميكروبات وتسمح بنمو أخرى.	*MacConkey Agar للبكتيريا سلبية الغرام*
أوساط تفريقية (Differential)	تميز بين أنواع البكتيريا بناءً على تفاعلات كيميائية.	*Blood Agar انحلال الدم*
أوساط غنية (Enriched)	تحتوي على إضافات خاصة لنمو البكتيريا صعبة الزراعة.	*Chocolate Agar لنمو البكتيريا الممرضة مثل النيسرية*

ـ تحضير الأوساط الزرعية

ـ الأدوات والمواد المطلوبة

1. مسحوق وسط زرعي مثل Nutrient Agar و Nutrient Broth
2. دوارق زجاجية (Erlenmeyer Flasks) وأواني تخزين.
3. قضيب تحريك (Magnetic stirrer) أو زجاجي.
4. ماء مقطر.
5. ميزان حساس لوزن المكونات.
6. أوتوكلاف (Autoclave) للتعقيم.
7. اطباق بتري (Petri dishes) وأنابيب اختبار.

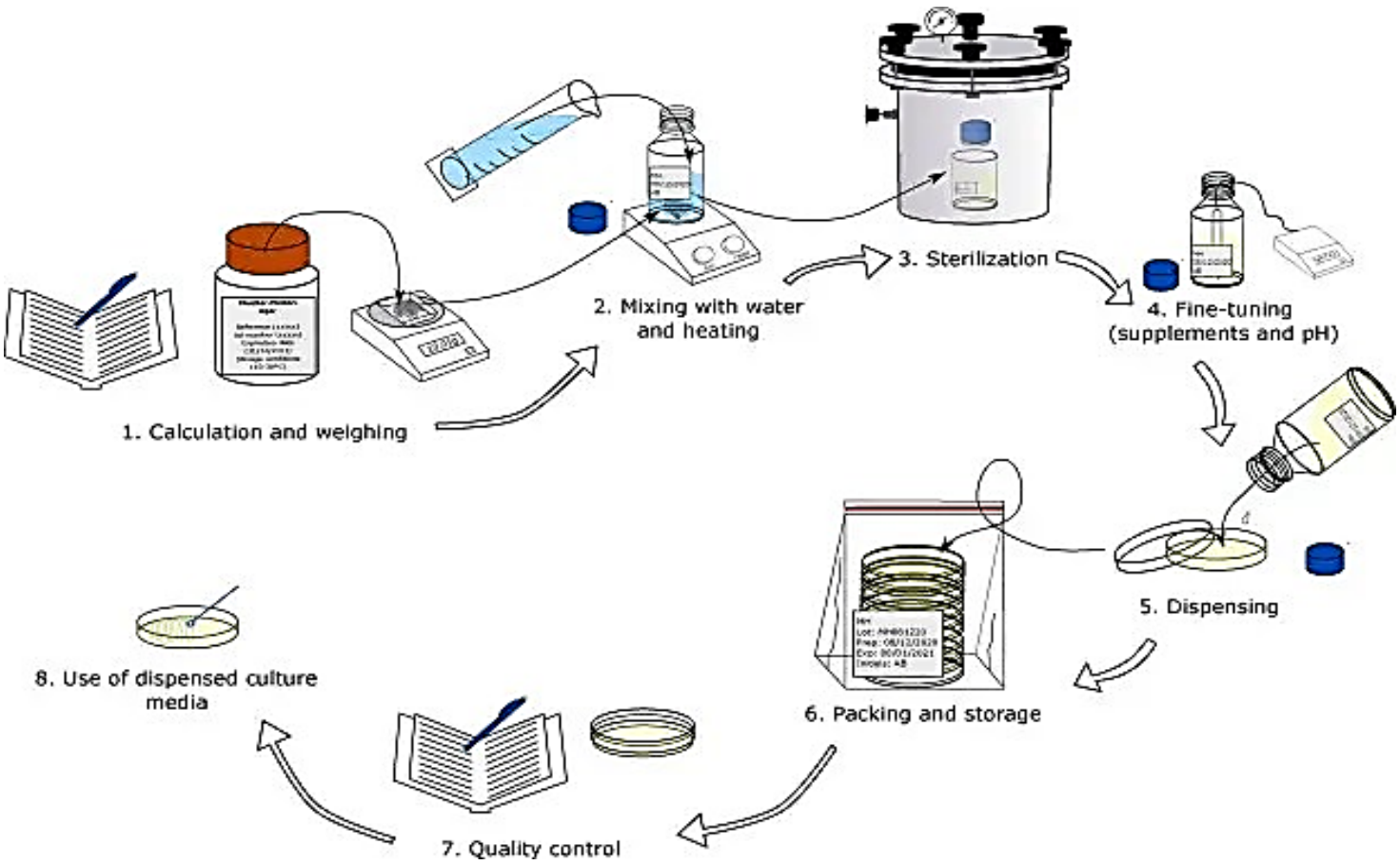
الخطوات العملية:

1 . تحضير الوسط السائل Nutrient Broth

- **الخطوة 1 :**وزن 1.3 غرام من مسحوق Nutrient Broth لكل 100 مل من الماء المقطر.
- **الخطوة 2 :**إذابة المسحوق في الماء بالتقليب حتى الذوبان الكامل.
- **الخطوة 3 :**توزيع الوسط في أنابيب اختبار (5-10 مل لكل أنبوبة.
- **الخطوة 4 :**تعقيم الوسط في الأوتوكلاف عند 121°م لمدة 15 دقيقة.

2. تحضير Nutrient Agar الوسط الصلب:

- **الخطوة 1 :**وزن 2.8 غرام من مسحوق Nutrient Agar لكل 100 مل ماء مقطر.
- **الخطوة 2 :**تسخين الخليط مع التقليب حتى يغلي ويصبح شفافًا (تأكد من ذوبان الأجار تمامًا.
- **الخطوة 3 :**توزيع الوسط في صحون بتري أو أنابيب اختبار (لتحضير.(Agar Slants
- **الخطوة 4 :**تعقيم الوسط في الأوتوكلاف بنفس الظروف.
- **الخطوة 5 :**بعد التعقيم، تبريد الأجار إلى ~45°م قبل الصب في الأطباق لتجنب التكثف.



- اهمية الأوساط الزرعية

- **ضمان جودة الأغذية** (الكشف عن التلوث الميكروبي).
- **دراسة التلف الميكروبي** للأغذية.
- **فحص البكتيريا النافعة** مثل المعززات الحيوية في الألبان.

المصادر:

1- قازانجي، محمد عمر محي الدين (2017)، التجارب العملية في علم الاحياء المجهرية. كلية الزراعة- جامعة بغداد. العراق.

2- الدليمي، خلف صوفي داود (1988)، علم الاحياء المجهرية للأغذية-الجزء العملي. جامعة بغداد.العراق.

3- الشريفي، حسن رحيم وسالم حسين محمد (1992). مايكروبايولوجيا الألبان العملي. مطبعة دار الحكمة- جامعة البصرة.

References:

Goldman, E., & Green, L. H. (2009). Practical Handbook of Microbiology. Second Edition

Tóth, E. M., Borsodi, A. K., Felföldi, T., Vajna, B., Sipos, R., & Márialigeti, K. (2013). Practical Microbiology: based on the Hungarian practical notes entitled" Mikrobiológiai Laboratóriumi Gyakorlatok". Eötvös Loránd University, Consortium Members: ELTE Faculties of Science Student Foundation, ITStudy Hungary Ltd, 19-20.