الكلية	كلية التربية للعلوم الصرفة
القسم	علوم الحياة
المادة باللغة الانجليزية	Practical Microbiology
المادة باللغة العربية	الاحياء المجهرية – العملي
المرحلة الدراسية	الثالثة
اسم التدريسي	م. عمر ضياء الدين صلاح الدين
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	Bacterial Cultivation
عنوان المحاضرة باللغة العربية	زراعة الاحياء المجهرية
رقم المحاضرة	4
المصادر والمراجع	علم الأحياء الدقيقة للمهن الصحية

محتوى المحاضرة

طرق عزل وتنمية الأحياء المجهرية على مزارع نقية

Isolation and growing of microorganisms on pure culture

حينما تزرع بكتريا أو أي كائن مجهري أخر على وسط غذائي في المختبر يطلق عليه آنذاك بالمزارع Cultures وتعرف المزرعة الميكروبيه بأنها عبارة عن البكتريا أو الأحياء المجهرية النامية على وسط زرعي معين .

إن الأنواع المختلفة للبكتريا النامية على نفس الوسط الغذائي قد تبدو متباينة تماما فلذلك يعتبر من المهم جدا معرفة المظهر الخارجي أو خصائص المزارع لتمييز الأنواع المختلفة والتي تساعد آنذاك في تشخيص النوع لذا يجب الحصول على مزرعة نقيه كي تحدد صفاتها بدقة قبل دراسة وتحديد خصائص المزرعة أو أي خاصية أخرى .

تعتبر المزرعة نقية Pure culture عندما تتكون من مجموعة خلايا مشتقة جميعها من خلية أم واحده , هناك طرق عديدة تستعمل لعزل وتنمية الأحياء المجهرية بصورة نقية على أوساط غذائية في المختبر .

1- طريقة التخطيط The streak plate method

وهي الطريقة الروتينية المعتاده لعزل البكتريا او الاحياء المجهرية الاخرى في مزارع نقية على سطح وسط غذائي متصلب في طبق بتري بنشر قطرة من المحلول الالمحتوي على

البكتريا بواسطة الـ Loop والتخطيط يكون على سطح الوسط الغذائي . يتم تهيئة وسط غذائي مثل Nutrient agar ويصب في طبق بتري ويترك ليتصلب ثم بواسطة الـ Loop يتم اخذ قطرة من المحلول البكتريا بعد تعقيم اللوب و تعمل خطوط على سطح الوسط الغذائي بعدها يجرى الحضن على درجة 32-35 º م لمدة 24-48 ساعة حيث تفحص المستعمرات النامية و ملاحظة نموها و كثافتها على سطح الوسط إضافة الى الحجم و لون و صفات المستعمرات الاخرى و عمل تصبيغ بصبغة كرام لبعض البكتريا .

2- طريقة النثر The Spread plate method

و تتم هذه الطريقة بنثر حوالي 0.1 مل من المحلول المحتوي على الميكروبات بعد ان ينقل هذا الجزء بواسطة ماصة معقمة Sterile pipette و تنثر بواسطة L-shape على سطح الوسط الغذائي و تتبع هذه التقنية في دراسة البكتريا المحبة للبرودة **. Psychrophiles**

إن هاتين الطريقتين (1 و 2) تخفف من تركيز الميكروبات تدريجيا" بحيث تظهر البكتريا بصورة منعزلة الواحدة عن الأخرى .

3- طريقة الصب بالأطباق The poure-plate method

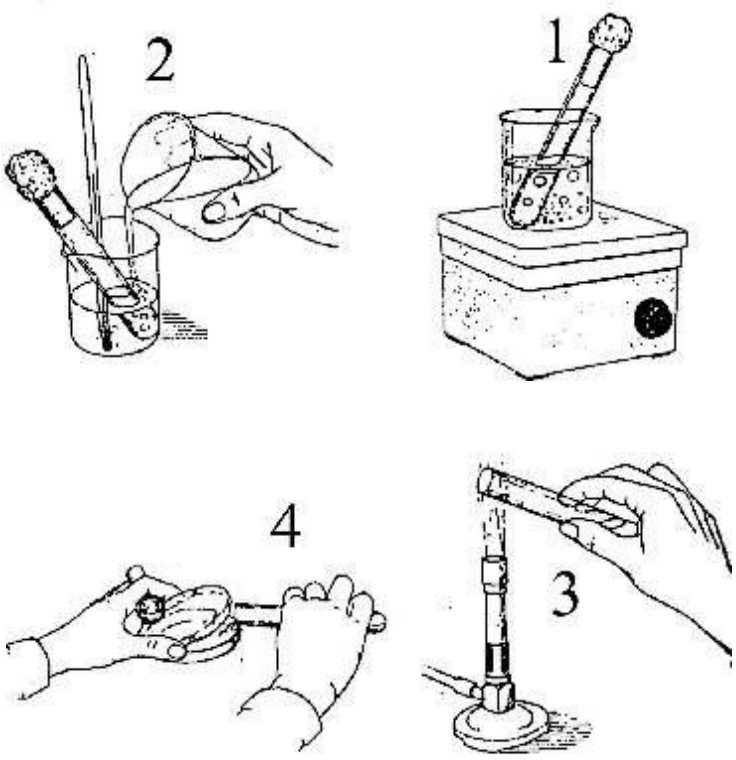
و تستعمل هذه الطريقة للحصول على مزرعة نقية من مزرعة نامية عليها أنواعا" مختلفة من الاحياء المجهرية و تختلف هذه الطريقة عن طريقة الخطوط بأن نقل الاحياء المجهرية الى الوسط الغذائي يتم و الوسط في حالة سائلة و قبل تصلبه و تجرى الطريقة كما ياي :

1. يتم تذويب الوسط الغذائي Nutrient Agar و الموجود في أربعة انابيب إختبار كل أنبوبة تحتوي حوالي 12-15 سم ^{3} من الوسط الغذائي و توضع الأنابيب في حمام مائي تحت درجة حرارة 45 º م .
2. يتم نقل بواسطة اللوب و بصورة معقمة قطرتين من المحلول المحتوي على البكتريا المراد فحصها الى أحد أنابيب الإختبار و ترقم هذه الأنبوبة برقم 1 مع رج الانبوبة جيدا" .
3. ينقل و بصورة معقمة قطرتين بواسطة اللوب من الانبوبة رقم 1 الى انبوبة رقم 2 و ترج جيدا" ثم ترقم برقم 2 .
4. تكرر العملية بنقل قطرتين من الانبوبة رقم 2 الى انبوبة رقم 3 و ترج جيدا" . 5. تترك الانبوبة الرابعة بدون تلقيح لتستعمل كمقارنة Control .
6. تسكب محتويات كل انبوبة إختبار في طبق زجاجي معقم وتترك حتى تتصلب (حفاظا على عدم تصلب الوسط الغذائي في انبوبة الاختبار يجب اجراء خطوات العمل اعلاه بصوره سريعة كما ويمكن سكب الوسط الغذائي في الطبق مباشرة بعد نقل القطرات في كل خطوة
7. تحضن الاطباق على حرارة 25-27 º م ولمدة 24-48 ساعة
8. بعد فترة الحضن يتم مقارنة كثافة النمو للمستعمرات على الطبق ثم تصبغ بطرقة كرام وتفحص تحت المجهر

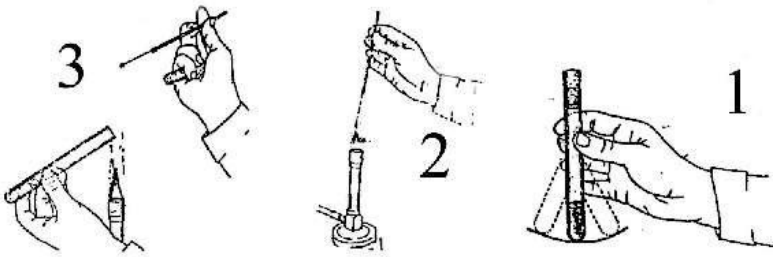
4- طريقة عمل السلانت The agar slope (slant) method

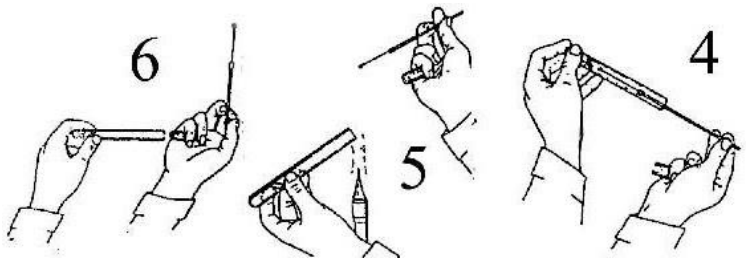
السلانت عبارة عن وسط غذائي متصلب بصوره مائلة داخل أنبوبة اختبار حيث تستعمل هذه الطريقة لعزل وحفظ المزارع الميكروبية بصورة نقية كما ان الوسط الغذائي المتصلب

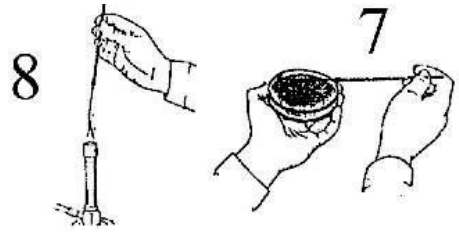
بصورة مائلة يعطينا مساحة سطحية أفضل للنمو علاوة على سهولة التلقيح على سطح السلانت .
يتم تحضير وسط غذائي مثل Nutrient agar ويصب في انابيب اختبار وتعقم بالـ Autoclave وبعد التعقيم يوضع بصورة مائلة حتى يتصلب ثم يجرى تلقيح سطح الوسط الغذائي داخل الانبوبة بالبكتريا المراد فحصها وتتم عملية التلقيح بنقل قطرة من المحلول البكتيري بواسطة اللوب ثم نشرها على سطح الوسط الغذائي بشكل حلزوني مع مراعاة عدم تخديش الوسط الغذائي عند التلقيح بعدها يجرى التحضين على درجة حرارة 32-35 º م لمدة 24-48 ساعة مع ملاحظة النمو .



خطوات صب البيئة في أطباق بتري







خطوات إجراء عملية التلقيح

1987
1408
UNIVERSITY OF ANBAR