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	Staining of bacterial parts
عنوان المحاضرة باللغة العربية	تصبيغ الاجزاء الخلوية
رقم المحاضرة	٩
المصادر والمراجع	"Bergey's Manual of Determinative Bacteriology"، "microbiology"

محتوى المحاضرة

Bacterial structure staining تصبيغ اجزاء الخلية البكتيرية

الخلية البكتيرية : تتركب الخلية البكتيرية من الطبقة السطحية والبروتوبلاست , تشمل الطبقة السطحية الاسواط (Flagella) والاهداب (Fimbriae or Pili) والطبقة اللزجة أو الكبسول (Slime layer or Capsule) و جدار الخلية .

اما البروتوبلاست فانه يقع داخل الجدار الخلوي ويتكون من الغشاء البروتوبلازمي والسايتوبلازم والمادة النووية (النواة البدائية) والمواد المخزنة والرايبوسومات والفجوات والجراثيم الداخلية(Endospore) في البكتريا المتجرثمة .

1- تصبيغ السبور Spore staining

هي عبارة عن أجسام بيضاوية الشكل صغيرة الحجم تتكون عند بعض أنواع البكتيريا القادرة على ذلك في حالة تعرضها لظروف قاسية ووظيفتها المقاومة، فإذا ما تحسنت الظروف تعود الأبواغ لتتحول إلى خلايا خضرية .و توجد عادة في بعض أنواع البكتيريا العصوية و هي على درجة كبيرة من المقاومة للظروف المحيطة مثل الحرارة المرتفعة والبرودة والجفاف والضغط الأسموزي المرتفع والمواد الكيميائية . وتتكون الجرثومة الداخلية في هذه الأنواع من البكتيريا بانكماش السيتوبلازم داخل الخلية متخذا" شكلا" كرويا" أو بيضيا" ثم يحيط نفسه بجدار سميك وتتخذ الجرثومة الداخلية وضعا" طرفيا" أو تحت طرفي أو وسطيا"

من أجناس البكتريا المكونة للسبورات هي الـ *Bacillus* و*Clostridium*

من المعروف أن الجراثيم الداخلية Endospores مقاومة بطبيعتها لتقبل الأصتباغ فبالتالي لايمكن لطرص الصنبغ العادية التي تستعمل في صنبغ الخلايا الخضرية للبكتيريا أن تن دي إلى صبغها ، لذلك يستعان بطرص أخرى تستغل الحرارة لتسهيل إدخال الصنبغة خلال جدار السنبور فانها تثبت بها ويصعب إزالتها منها.

وهنالك طرص عديدة لصبغ الجراثيم وفيما يلى وصفا ″

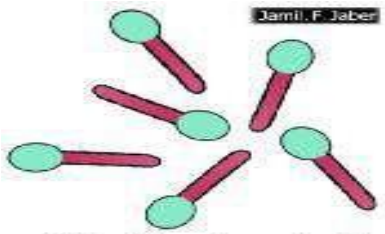
ـ لطريقة شافر ، وفولتون : (Shaeffer & Fulton)

خطوات العمل :

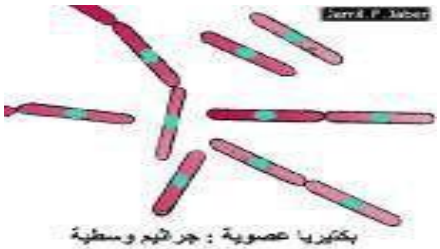
1. تحضر لطخة smear منن مستعمرة بكتريا *Bacillus subtitles* النامية علنى الوسط الغذائي الصلب .
2. تبتنرد الشتريحة ثتنم تغمتنر ستنطل الشتنريحة بمحلتنول متنائى لصتنبغة أخضتنر المالاكيتنت Malachite green (5%) ، وتستنتخن الشتنريحة بتعريض ستنطحها الستنفلى للهتنواء الساخن فوص مصباح بنزن حتى يتصاعد البخار منهنا دون أن تغلني الصنبغة ، لمدة 4-5 دقائق مع الملاحظة عدم جفاف الصبغة وذلك باضافة مزيد من الصبغة كلما لزم الأمر .
3. انتظر حتى تبرد الشريحة ثم اغسلها بالماء .
4. أصبغ اللطخة بمحلول مائي للسفرانين لمدة دقيقة واحدة . 5. أغسل محلول الصبغة بالماء

.

6. أترك الشريحة حتى تجف تماما ″ فى الهواء .
7. افحص الشريحة تحت الميكروسكوب باستخدام العدسة الزيتية . تظهر الجراثيم الداخلية خضتراء فتني حتنين أن الخلايتا الخضترية البكتيرينة وبقاياهتا المتصتلة بتنالجراثيم تكتنون حمتراء اللتنون . ارستم بعضتا ″متن الخلايتا الخضترية والجرثوميتة مبينتا ″شتكلها ، ووضتنع الجرثومة منن الخلية الخضراء (طرفى ، تحتت طرفى ، وسطى) وحجمها (مساوي وأقل أو أكبر من قطر الخلية الخضرية) .



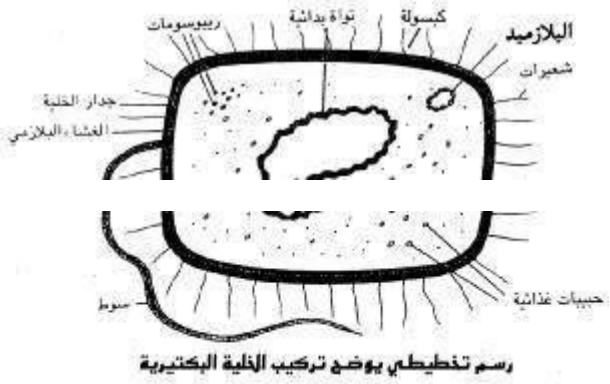
بكتيريا عصوية : جراثيم طرفية



بكتيريا عصوية : جراثيم وسطية

2- تصبيغ الكبسول Capsule staining

عبارة عن طبقة هلامية خارجية تكون غلافا" حول الخلية من مادة تشبه الجلي و تغطي الجدار الخلوي، وتتكون مادة الكبسولة في العادة من مادة كربوهيدراتية .وتدل الدراسات على أن هذه الكبسولة يمكن أن تفقدها البكتيريا دون أن تموت، كما أنها لا توجد في جميع أنواع البكتيريا . و من وظائف الكبسول حماية الخلية البكتيرية من مهاجمة الفيروسات التي تحطم البكتيريا بعد أن تلتصق بجدارها الخلوي ففي حالة وجود كبسولة فإنها تعزل جدار الخلية ولا تسمل باتصال الفيروس به . وتقوم الكبسولة بحماية الخلية البكتيرية من الظروف البيئية غير المناسبة مثل الجفاف .و عند وجود هذه الطبقة حول خلايا البكتيريا المسببة لبعض الأمراض فيكون دورها هو حماية الخلية من الإفرازات التي يفرزها الجسم لمقاومة هذا البكتيريا. من انواع البكتريا المحتوية على الكبسول *Basillus anthracis* (بكتريا الجمرة الخبيثة) و *Klebsilla pneumoniae*



رسم تخطيطي يوضح تركيب الخلية البكتيرية

ان مادة الكبسول هي كاربوهيدرات لذلك لها القابلية على الذوبان في الماء لذا يجب تجنب غسلها بالماء كلما امكن اثناء عملية التصبيغ . تتلخص عملية التصبيغ باضافة صبغة Crystal violate لمدة 5 دقائق ثم تغسل بلطف بمحلول كبريتات النحاس $cuso_4$ 20%للتخلص من صبغة ال C.V. الزائدة ثم تجفف الشريحة وتفحص تحت المجهر حيث تظهر الكبسولة مصبغة باللون الازرص الفاتل وبقية اجزاء البكتريا باللون الازرص الغامق .

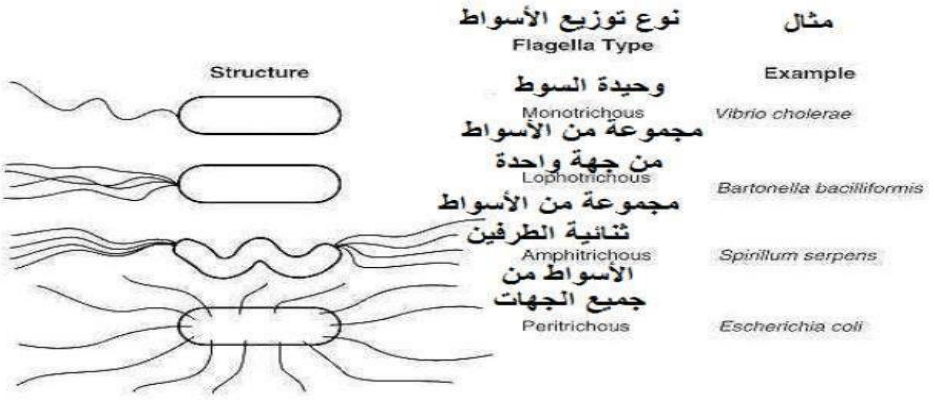
3- تصبيغ الأسواط Flagella Staining

وهذه هي أعضاء الحركة في البكتيريا وتعرف الأسواط بأنها زوائد خيطية رفيعة جدا" وطويلة ومكونة من البروتين، وتتصف الخلية التي تحتوي على أسواط بأنها متحركة
Motile والتي لا تحتوي على أسواط توصف بأنها غير متحركة **Non motile**
وتتواجد الأسواط حول الخلية البكتيرية في الترتيب الآتى:

1- بكتيريا وحيدة السوط **Monotrichous** وفيها يخرج سوط واحد من احد أطراف الخلية
2- بكتيريا سوطية الطرف **Lophotrichous** وفيها تخرج مجموعة من الأسواط من أحد أطراف الخلية
3- بكتيريا سوطية الطرفين **Amphitrichous** وفيها يخرج سوط واحد أو مجموعة أسواط من كلا القطبين
4- بكتيريا محيطية الأسواط **Peritrichous** وفيها تخرج الأسواط من جميع أسطل البكتيريا

تتحرك البكتريا بنوعين من الحركة :

1- حركة حقيقية: تعتمد عادة على وجود الاسواط
2- حركة بروانية: لاتعتمد على وجود الاسواط اذ تتحرك البكتريا بسبب دفع أو سحب جزيئات السائل الذي تنمو فيه



طريقة العمل:

طريقة تصبيغ الأسواط طريقة معقدة لذا يجب اخذ الحيطة والعناية الفائقة لمنع فقدان الاسواط وتتم كما يلي

1- ت خذ قطعة من وسط الآكر الصلب الذي تنمو عليه البكتريا مع تجنب لمس المستعمرات باليد

2-توضع قطعة الآكر برفق على الشريحة بحيث تكون مواجهه للنمو , ترفع تلك القطعة وتعاد للطبق

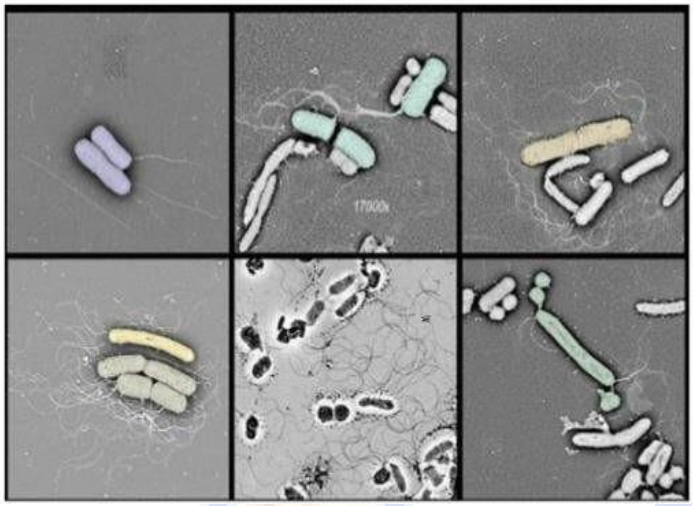
3-تترك البكتريا الملتصقة بالشريحة ثم تجفف بالهواء دون استعمال الحرارة

4-تغمر الشريحة بحامض التانيك المثبت لمدة 10 دقائق

5-تغسل الشريحة برفق بالماء المقطر

6-تغمر الشريحة بصبغة Carbolfuchsine لمدة 5 دقائق ثم تغسل برفق بالماء المقطر

7-تترك الشريحة لتجف بالهواء ثم تفحص بالمجهر وتسجل الملاحظات



شكل الاسواط تحت المجهر بعد التصبيغ

جامعة الانبار
1987 1428
UNIVERSITY OF ANBAR

1987
1408
UNIVERSITY OF ANBAR