

العلوم	الكلية
التقنيات الاحيائية	القسم
Microbial Ecology	المادة باللغة الانجليزية
بيئة الاحياء المجهرية	المادة باللغة العربية
الثانية	المرحلة الدراسية
اريج حمد حسان	اسم التدريسي
Enumeration and isolation of soil microorganism	عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية
عد وعزل الاحياء المجهرية في التربة	عنوان المحاضرة باللغة العربية
2	رقم المحاضرة
Yan, S., Zhang X.L., Tyagi R.D. and Drogui, P. (2020) Guidelines for hospital wastewater discharge. In: Current Developments in Biotechnology and Bioengineering, Environmental and Health Impact of Hospital Wastewater. Elsevier, Netherlands, p571–597	المصادر والمراجع
Bhatt, P., Mathur, N., Singh, A., Sarkar, P. and Bhatnagar, P. (2021) Hospital wastewater sludge: An unaddressed environmental reservoir for emerging and rare nosocomial pathogens. Sustain. Agri. Food Environ. Res., 11: 2023.	
Mitra, S., Chakraborty, A.J., Tareq A.M., Bin Emran, T., Nainu, F., Khusro, A., Idris A.M., Khandaker, M.U., Hamid Osman, H., Alhumaydhi, F.A. and SimalGandara, J. (2022) Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. J. King Saud Univ. Sci., 34(3): 101865.	

## عد وعزل الاحياء المجهرية في التربة

### Enumeration and isolation of soil microorganism

تتكون التربة من الواجهة الزراعية من خمسة مكونات أساسية هي المادة المعدنية تحتوي هذه الأجزاء على عدد من العناصر الغذائية التي تنتج من الحبيبات الصخرية المفتتة مثل  $C, H, N, P, K, Fe, Cu$  , المادة العضوية يطلق على الجزء العضوي من التربة مصطلح الدبال ، وهو محصله عمليتين حيويتين تقوم بها ميكروبات التربة هما تحليل المادة العضوية و تخليق مركبات عضوية جديدة . هواء وماء التربة اذ تشكل الفراغات البينية بين حبيبات التربة حيزا يشغله الهواء والماء بنسب مختلفة تختلف باختلاف نوع التربة . تشكل الكائنات الحية الدقيقة جزءا حيويا وهاما من مكونات التربة ويزداد عدد الاحياء الدقيقة في التربة المزروعة لاحتوائها على المواد العضوية . تشمل اعداد كبيرة من البكتريا ، الفطريات ، الطحالب ، الفيروسات، الأكتينومييسيتات بالإضافة الى البروتوزوا والديدان , ترتبط هذه الكائنات مع بعضها ضمن مجموعه من العلاقات التعاونية والتنافسية وعلاقات التضاد . تختلف الكائنات الحية الدقيقة باختلاف الصفات الطبيعية والكيمائية للأراضي والعناصر الغذائية والوسط النباتي النامي بها والبيئة المحيطة .

✓ من أنواع **الطحالب** التي تنتشر في التربة وتحسن من صفاتها عن طريق عملية البناء الضوئي وبالتالي زيادة ثاني أكسيد الكربون ، تجمع حبيبات التربة مما يحافظ عليها من عملية الانجراف بالإضافة الى عملية تثبيت النيتروجين الجوي

• ***Nostoc , Scytonema , Oscillatoria , Anabaena***

✓ **الفطريات** من الكائنات الغير ذاتية التغذية بالتالي يعتمد تواجدها على توافر المواد العضوية القابلة للاكسدة ، وعلى رطوبة التربة ، بعض أنواع الفطريات المتواجده بالتربة

***Fusarium , Botrytis , Rhizoctonia , Phytophthora***

✓ **الاكتينومييسيتات** من البكتريا التي تلعب دورا هاما في تحلل المواد العضوية وبعضها ييبب امراضا للنبات والبعض يقوم بافراز مضادات حيوية في التربة تؤثر على التوازن الميكروبي.

## **Micromonospora , Nocarrdia , Streptomyces** □

✓ تعتبر **البكتيريا** من اكبر مجموعات الاحياء الدقيقة المتواجدة بالتربة وهي نوعين

:

✓ الأنواع الأصلية المستوطنة بمعنى المتواجدة بصفه طبيعية ودائمة وتتكاثر وتساهم بالعديد من النشاطات الكيميائية الحيوية .

✓ والنوع الاخر يمثل الأنواع الوافدة أي التي تصل الى التربة مع مياه الامطار او مع الحيوانات او النباتات وهي تظل حيه لفترة من الوقت ولكنها لا تشارك بطريقه فعالة في عمليات تحويل العناصر في التربة . من الأنواع التي **تتواجد**

**Arthrobacter , Corynobacter , Agro bacterium , Bacillus**

✓ تحتوى التربة على العديد من **الفيروسات** المتطفلة على البكتيريا (بكتريوفاج) واخرى تتطفل على النباتات والحيوانات .

### ❖ -اسم التجربة :

- طريقة العد بالأطباق Plate count method
- **المواد والأدوات المطلوبة :-**
  - 1- عينات تربة ( مزروعة , غير مزروعة رملية ) .
  - 2- انابيب اختبار حاوية على 9مل من ماء مقطر المعقم .
  - 3- اطباق بتري وماصات معقمة .
  - 4- وسط الاكار المغذي المعقم Nutrient agar لغرض عزل البكتيريا .
  - 5- اجار جلوكوز لنمو الاكتينومييسيتات,وسط اكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose agar لغرض عزل الفطريات .

### • **طريقة العمل :-**

- 1- يتم إعداد الأوساط الغذائية الخاصة بالبكتيريا , فطريات , الاكتينومييسيتات .
- 2- تعقم بالأوتوكليف ثم تصب في أطباق بتري تحت ظروف التعقيم.
- 3- تترك الأطباق فترة من الزمن حتى تتصلب الأوساط الغذائية .
- 4- وزن اغم من التربة التي تم جمعها من عمق 5- 10 سم وتعلق في أنبوب زجاجي حاوي على 9مل ماء مقطر معقم وبذلك يتم الحصول على التخفيف 1-10 يرج جيدا مدة 5 دقائق ويترك لكي تترسب دقائق التربة .

- 5- ينقل 1مل من راشح التخفيف 10 -1 ويضاف الى انبوبة حاوية 9مل ماء مقطر معقم للحصول على تخفيف 10 -2 , وهكذا يتم عمل تخافيف الى 5-10 .
  - 6- تحت ظروف التعقيم ، تلقح الأطباق السابقة بـ 1 مل من معلق التربة لكل طبق ثم تقرد على سطح البيئة باستخدام الناشر الزجاجي المعقم ( طريقة النشر ).
  - 7- تحضن الأطباق لمدة 48 ساعة أو اسبوع ثم تفحص الأطباق وتدرس الصفات المزرعية والمورفولوجية للمستعمرات الظاهرة .
- لعزل الفطريات تتبع نفس الطريقة ( النشر او الصب ) مع فرق استخدام الوسط PDA وتحضن الاطباق عند درجة 28 م لمدة 3-5 أيام **عد وعزل الاحياء المجهرية في التربة**

## Enumeration and isolation of soil microorganism

تتكون التربة من الواجهة الزراعية من خمسة مكونات أساسية هي المادة المعدنية تحتوي هذه الأجزاء على عدد من العناصر الغذائية التي تنتج من الحبيبات الصخرية المفتتة مثل C , H ,N P, K ,Fe, Cu , المادة العضوية يطلق على الجزء العضوي من التربة مصطلح الدبال ، وهو محصله عمليتين حيويتين تقوم بها ميكروبات التربة هما تحليل المادة العضوية و تخليق مركبات عضوية جديدة . هواء وماء التربة اذ تشكل الفراغات البينية بين حبيبات التربة حيزا يشغله الهواء والماء بنسب مختلفة تختلف باختلاف نوع التربة .تشكل الكائنات الحية الدقيقة جزءا حيويا وهاما من مكونات التربة ويزداد عدد الاحياء الدقيقة في التربة المزروعة لاحتوائها على المواد العضوية . تشمل اعداد كبيرة من البكتريا ، الفطريات ، الطحالب ، الفيروسات، الأكتينومييسيتات بالإضافة الى البروتوزوا والديدان , ترتبط هذه الكائنات مع بعضها ضمن مجموعه من العلاقات التعاونية والتنافسية وعلاقات التضاد . تختلف الكائنات الحية الدقيقة باختلاف الصفات الطبيعية والكيمائية للأراضي والعناصر الغذائية والوسط النباتي النامي بها والبيئة المحيطة .

✓ من أنواع **الطحالب** التي تنتشر في التربة وتحسن من صفاتها عن طريق عملية البناء الضوئي وبالتالي زيادة ثاني أكسيد الكربون ، تجمع حبيبات التربة مما يحافظ عليها من عملية الانجراف بالإضافة الى عملية تثبيت النيتروجين الجوي

• ***Nostoc , Scytonema , Oscillatoria , Anabaena***

✓ **الفطريات** من الكائنات الغير ذاتية التغذية بالتالي يعتمد تواجدها على توافر المواد العضوية القابلة للاكسدة ، وعلى رطوبة التربة ، بعض أنواع الفطريات المتواجده بالتربة

**Fusarium , Botrytis , Rhizoctonia , Phytophthora**

✓ **الاكتينومييسيتات** من البكتريا التي تلعب دورا هاما في تحلل المواد العضويه وبعضها ييبب امراضا للنبات والبعض يقوم بافراز مضادات حيوية في التربة تؤثر على التوازن الميكروبي.

**Micromonospora , Nocardia , Streptomyces** □

✓ تعتبر **البكتيريا** من اكبر مجموعات الاحياء الدقيقة المتواجدة بالتربة وهي نوعين :

✓ الأنواع الأصلية المستوطنة بمعنى المتواجدة بصفه طبيعية ودائمة وتتكاثر وتساهم بالعديد من النشاطات الكيميائية الحيوية .

✓ والنوع الاخر يمثل الأنواع الوافدة أي التي تصل الى التربة مع مياه الامطار او مع الحيوانات او النباتات وهي تظل حيه لفترة من الوقت ولكنها لا تشارك بطريقه فعالة في عمليات تحويل العناصر في التربة . من الأنواع التي تتواجد

**Arthrobacter , Corynobacter , Agro bacterium , Bacillus**

✓ تحتوى التربة على العديد من **الفيروسات** المتطفلة على البكتريا (بكتريوفاج) واخرى تتطفل على النباتات والحيوانات .

❖ -اسم التجربة :

- طريقة العد بالأطباق Plate count method
- **المواد والأدوات المطلوبة :-**
- 6- عينات تربة ( مزروعة , غير مزروعة رملية ) .
- 7- انابيب اختبار حاوية على 9مل من ماء مقطر المعقم .
- 8- اطباق بتري وماصات معقمة .
- 9- وسط الاكار المغذي المعقم Nutrient agar لغرض عزل البكتريا .
- 10- اكار جلوكوز لنمو الاكتينومييسيتات, وسط اكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose agar لغرض عزل الفطريات .

## • طريقة العمل :-

- 8- يتم إعداد الأوساط الغذائية الخاصة بالبكتريا , فطريات , الاكتينومييسيتات .
  - 9- تعقم بالأوتوكليف ثم تصب في أطباق بتري تحت ظروف التعقيم.
  - 10- تترك الأطباق فترة من الزمن حتى تتصلب الأوساط الغذائية .
  - 11- وزن اغم من التربة التي تم جمعها من عمق 5- 10 سم وتعلق في أنبوب زجاجي حاوي على 9مل ماء مقطر معقم وبذلك يتم الحصول على التخفيف 1-10 يرج جيدا مدة 5 دقائق ويترك لكي تترسب دقائق التربة .
  - 12- ينقل 1مل من راشح التخفيف 10 -1 ويضاف الى انبوبة حاوية 9مل ماء مقطر معقم للحصول على تخفيف 10 -2 , وهكذا يتم عمل تخافيف الى 5-10 .
  - 13- تحت ظروف التعقيم ، تلقح الأطباق السابقة بـ 1 مل من معلق التربة لكل طبق ثم تفرد على سطح البيئة باستخدام الناشر الزجاجي المعقم ( طريقة النشر ) .
  - 14- تحضن الأطباق لمدة 48 ساعة أو اسبوع ثم تفحص الأطباق وتدرس الصفات المزرعية والمورفولوجية للمستعمرات الظاهرة .
- لعزل الفطريات تتبع نفس الطريقة ( النشر او الصب ) مع فرق استخدام الوسط PDA وتحضن الاطباق عند درجة 28 م لمدة 3-5 أيام