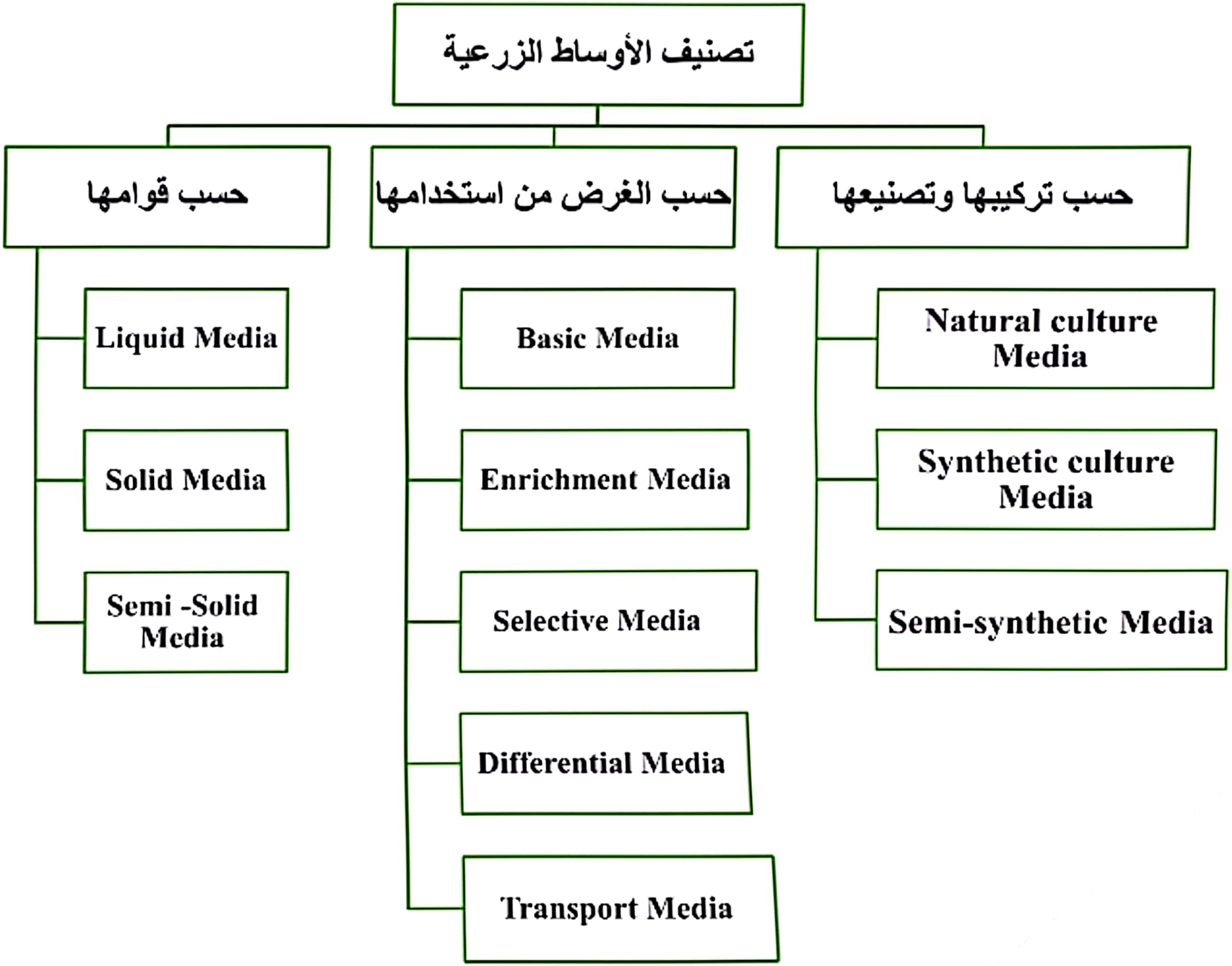
ما هو الوسط الزرعي؟

هو خليط متوازن من المواد الغذائية التي تحتاجها الاحياء المجهرية

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner



الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

يعرف الوسط الزرعي Culture Media على انه الماده التي تنمو فيها او عليها الاحياء المجهريه وتكون حاويه على المكونات الاساسيه الضروريه لنمو تلك الكائنات لذا فهناك اعداد كبيره من الاوساط الزرعيه المختلفه في مكوناتها تبعا للغايه من استخدامها ومتطلبات الجراثيم التي تنمو عليها .

تقسم الاوساط الزرعيه بعدة طرق :

1 – حسب قوامها (وجود او عدم وجود مادة الاكار او وجوده بنسبة قليله) الى :

أ – الصلبه solid media

ب – السائله liquid media

ج – شبه الصلبه semi solid media

2 – اما حسب بساطتها او محتواها الكيميائي فتقسم الى

أ – الاوساط الطبيعيه او المعقده natural or complex media

ب – الاوساط الكيميائيه او المصنعه chemical or synthetic media

3 – تقسم حسب الغايه من استخدامها الى :

أ – اوساط عزل او الوسط العام General or isolation media

ب – اوساط تفريقيه differential media

ج – اوساط اختياريه او انتخابيه selective media

ح – اوساط مدعمه enriched media

خ – اوساط اختباريه assay media

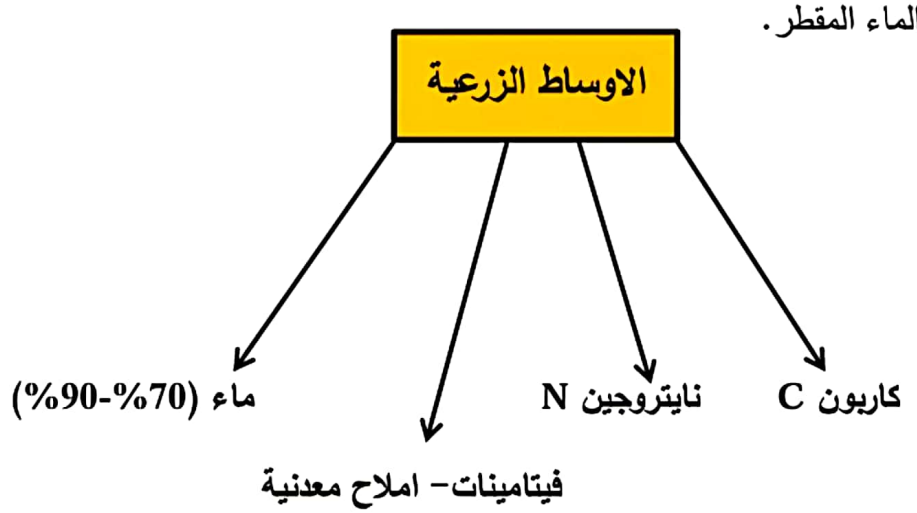
د – اوساط العد count media

ذ – اوساط الحفظ preservation media

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الاوساط الزرعية culture media

الاوساط الزرعية هي بيئات مختبرية تتكون خليط متوازن من المواد المغذية التي تحتاجها الاحياء المجهرية وبتراكيز تسمح لها بالنمو والتكاثر مختبرياً وبصورة جيدة بعد ان تُذوب في حجم معين من الماء المقطر.



ان هذة المغذيات ضرورية للنمو وبناء الوحدات الاساسية في الخلية وتوفير الطاقة

وتضاف الى الاوساط الزرعية محاليل منظمة او تسمى دوارئ (Buffers) وهي املاح لحامض ضعيف او قاعدة ضعيفة تعطي او تأخذ ايونات الهيدروجين عند الحاجة لغرض بقاء الاس الهيدروجيني **pH** للوسط ثابتة .

$KH_2PO4 + NaOH \rightleftharpoons KNaHPO_4 + H_2O$

$KNaHPO_4 + NaOH \rightleftharpoons KNa_2PO_4 + H_2O$ (مع القاعدة)

$K2HPO_4 + HCI \rightleftharpoons KH2PO4 + KCI$ (مع الحامض)

انواع الاوســـــاط الزرعيـــــة

أ– حسب طبيعة مكوناتها:

1– الاوساط الطبيعية : وهي الاوساط الحاوية على المغذيات الضرورية للاحياء المجهرية بهيئتها الطبيعية مثل البيض والمصل والحليب والبطاطا .وتكون غير معلومة التركيب والتركيز مثل وسط المرق المغذي Nutrient broth المكون من خلاصة اللحم والخميرة والببتون.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

2- الاوساط الصناعية : وهي الاوساط التي تكون مكوناتها المغذية معلومة التركيب والتركيز كالاكار المغذي Nutrient agar الذي يحتوي على الكلوكوز كمصدر كاربوني والببتون كمصدر نتروجيني وبنسب محددة .

ب- حسب حالتها الفيزياوية

1- الاوساط السائلة Liquid media : وهي الاوساط التي تحتوي على جميع المصادر المغذية للبكتريا ولكنها لاتحتوي على المواد المستخدمة في تصليب الوسط الزرعي (الجلاتين-الآكار) مثل هذه الاوساط (المرق المغذي nutrient broth ومرق الكلوكوز glucose broth ووسط نقيع القلب والدماغ Brain-heart infusion) وتستعمل هذه الاوساط لتكثير الاحياء المجهرية وفي اجراء الاختبارات البايوكيميائية ودراسة التخمرات .

2- الاوساط الصلبة Solid media : وهي بيئات غذائية سائلة لكن تضاف اليها مواد مصلبة كالاكار والجلاتين وبنسب معلومة .

المواد المصلبة Solidfied **هي :**

- الجيلاتين Gelatine مادة بروتينية تتألف من 15 حامض اميني من عيوبها تتحلل بسرعة بفعل بعض انواع البكتريا التي تمتلك انزيم gelatinase وتتميع عد درجة 26° م (اقل من درجة حرارة التحضين 37°م) ويضاف بنسبة 15% من حجم الوسط.
- الآكار Agar مادة كربوهيدراتية مستخلصة من احد انواع الطحالب البحرية ولايتحلل بفعل الاحياء المجهرية ولايتحطم بفعل الحرارة العالية (ممكن تعقيمه بالاوتوكليف) ويذوب بدرجة حرارة 98°م ويتصلب او يتجمد بدرجة 45°م (اكثر من درجة حرارة التحضين). ويضاف بنسبة (1.5% -2%) من حجم الوسط .

ومن الامثلة على الاوساط الصلبة الاكار المغذي Nutrient agar واكار الدمBlood agar واكار الماكونكيMacConky agar وتصب هذه الاوساط بعد تحضيرها اما في اطباق بتري Petri dishes او في انابيب اما بهيئة اكار عميق Deep لتنمية الميكروبات اللاهوائية او اكارمائل Slant لحفظ وتنمية المزارع الميكروبية (البكتريا او الفطريات) .

3- الاوساط شبه الصلبة Semi solid media : وهي بيئات غذائية سائلة لكن تضاف اليها مواد مصلبة كالاكار ولكن بنسبة ربع مايضاف لما في الاوساط الصلبة ايمطلوب بنسبة 0.5% من حجم الوسط المطلوب تحضيره. وتستعمل هذه الاوساط لنقل البكتريا من مكان لاخر اي **اوساط ناقلة** ولدراسة الحركة في البكتريا، وتصب بعد تحضيرها في انابيب زجاجية .

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

ج- حسب الغرض من استعمالها

1- الاوساط الغنية Enriched media : وهي اوساط زرعية تضاف اليها مادة معينة مثل (المصل- الدم بنسبة 5-10% – السائل الخلبي بنسبة 10%- الكلوكوز بنسبة2%) وذلك لجعلها ملائمة لعزل بعض الجراثيم الطفيلية كمكورات السيلان gonococcus او المكورات الرئوية Diplococci او عصيات الانفلاونزا . وهذه المواد المضافة يجب ان تكون معقمة قبل اضافتها . مثل وسط اكار الدم blood agar ووسط اكار الدم المطبوخ chocolate agar

2- **الاوساط الانتقائية او الاختيارية Selective media** : وهي بيئات غذائية تسمح بنمو نوع معين من البكتريا ولاتسمح بنمو الانواع الاخرى بسسب وجود مواد لاتسمح بنمو الانواع الاخرى مثل وسط Mannitol salt agar الذي يحتوي على ملح NaCl بنسبة 7.5% الذي يثبط نمو كل انواع البكتريا عدا جنس العنقوديات Staphylococci وكذلك وسط الماكونكي اكار MacConky agar الذي يحتوي املاح الصفراء الذي يثبط نمو البكتريا الموجبة لصبغة كرام بينما يسمح بنمو البكتريا المعوية السالبة لصبغة كرام.

3- الاوساط التفريقية Differential media : وهي الاوساط التي تحتوي على مواد تجعل البكتريا تظهر بصورة تختلف عن الانواع الاخرى وتفرق بين انواع المجموعة الواحدة مثل وسط اكار الماكونكي الذي يحتوي على سكر اللاكتوز ودليل الاحمر المتعادل فهو يفرق بين البكتريا المعوية التي تخمر سكر اللكتوز وتنتج حامض يخفض الاس الهيدروجيني ويغير لون الدليل الى الوردي وتظهر المستعمرات وردية مثل *E.coli* اما البكتريا المعوية الغير مخمرة للاكتوز تبدو عديمة اللون مثل *Proteus mirabilis*

4- الاوساط الخاصة Special media : وهي اوساط تستخدم لتنمية نوع معين من البكتريا والتعرف على سلالات الانواع مثل وسط **لونشتاين-جنسن** المستعمل لتنمية بكتريا السل الرئوي Mycobacterium إذ يحتوي على صبغة المالاكايت الاخضرالذي تثبط نمو الانواع الاخرى من البكتريا وبنفس الوقت يحتوي مادة الكليسرول التي تساعد على نمو بكتريا السل البشري وتمنع نمو بكتريا السل البقري .

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

طريقة تحضير الأوساط الزرعية

الادوات:

الاوساط الزرعية Media - Cylinder – الماء المقطر – Flask – القطن- الميزان الحساس- المسخن Hot plate - جهاز الاوتوكليف – اطباق بتري.

اولا: وزن كمية من الوسط الزرعي باستخدام الميزان الحساس.

ملاحظات:

1- معظم الاوساط الزرعية يكتب عليها طريقة التحضير و الوزن المطلوب لذلك.

2- معظم الاوساط الزرعية تحضر لكل واحد لتر.

- اذا تريد تحضير 100 مل من الوسط الزرعي وليس واحد لتر 1000 مل (اذا تريد تحضر كمية اقل من واحد لتر عليك تطبيق المعادلة التالية):

الـــوزن	الـحـجـم
52 غرام المثبت على العلبة	واحد لتر (1000 مل)
X (الوزن المطلوب حسابه)	كمية المطلوبة هي 100 مل

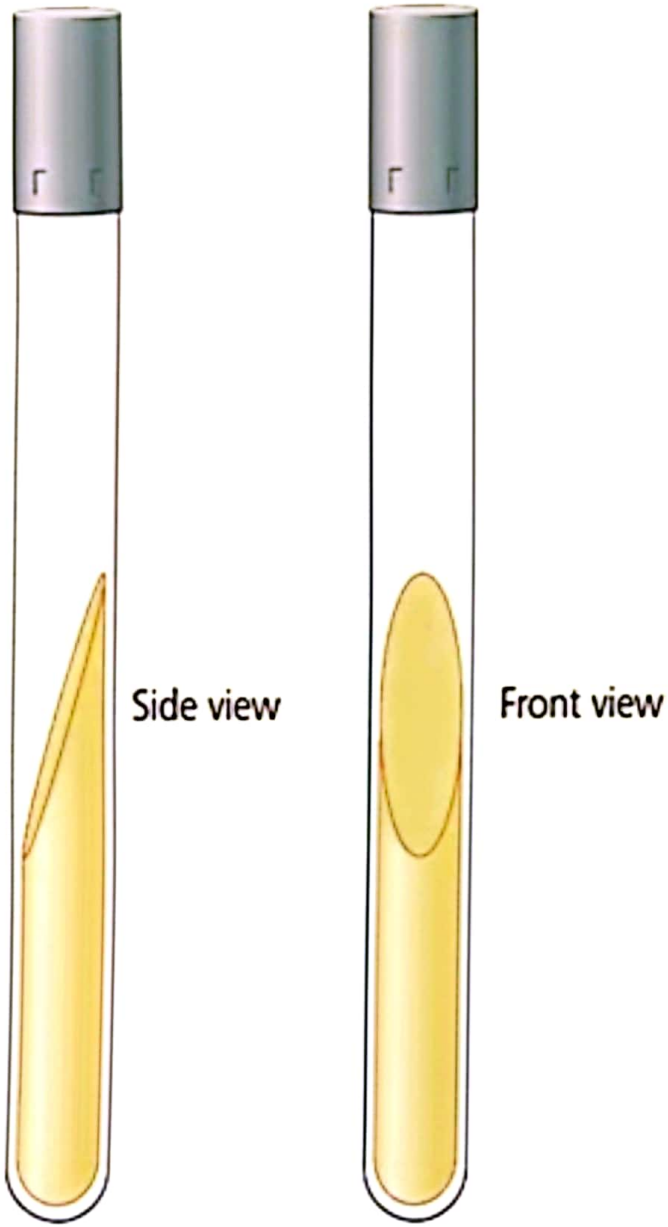
X= 5200/1000= 5.2 gram.

ثانيا: فرغ الوزن في Flask غلق الفوهة بالقطن، وقم بإذابة الوسط بالتسخين باستخدام المسخن Hot plate. بعد الذوبان يصبح الوسط قوام Clear.

رابعا: تعقيم الوسط جهاز الاوتوكليف.

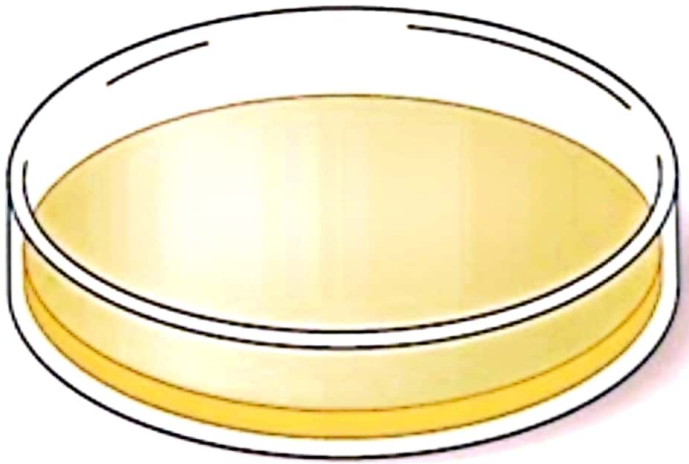
خامسا: صب الوسط بأطباق بتري و تترك لتتصلب حتى تصبح جاهزة للاستخدام

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner



(a) Agar slants

(b) Agar deep tube



(c) Agar plate

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner