

م / " عزل البكتريا من مصادرها الطبيعية "

توجد الأحياء المجهرية في كل مكان تقريباً فهي في الماء الذي نشرب وفي الهواء الذي تنفس وفي الأرض التي تمشي عليها . وفي هذا المختبر سيتم إدخال الأحياء المجهرية إلى الأوساط الزرعية وستتمو عند وضعها تحت ظروف فيزيائية مناسبة فيظهر النمو كمستعمرات على سطح الوسط الزرعى الصلب ، والمستعمرة Colony عدد كبير من الخلايا أو كتلة من الخلايا تتشأ من انقسام خلية واحدة ومع أن العديد من أنواع البكتريا تغطي مستعمرات متشابهة فإن المستعمرات المختلفة مظهرياً مثل أنواعاً مختلفة من البكتريا .

المواد المطلوبة :

الوسط الزرعى Nutrient agar (N. A.) ، Petridish محتوية على وسط زرعى نوع N. A. ، ماء مقطر معقم ، Cotton swab (ممسحة قطنية) ، Incubater (حاضنة) .

خطوات العمل :

- ١- يقسم قاع الطبق إلى ٤ أقسام وترقم .
- ٢- صمم تجربتك : الهدف أن تفحص عينات من بيئتك وجسمك وذلك تستطيع ان تلحح أحد الأطباق من سطح الأرضية أو سطح المنضدة في المختبر بترطيب ممسحة قطنية Cotton swab بماء مقطر وذلك تمسح أحد السطوح المذكورة أعلاه ومن ثم مسح سطح الوسط الزرعى . والجزء الثانى لقحه بمسحة من سطح جسمك والثالث من الماء المتواجد في الحديقة والرابع بضغط اليد أو الأصبع باحتراس .
- ٣- احضن الطبق في درجة حرارة مناسبة باستعمال Incubater (الحاضنة) .
- ٤- احضن كافة الأطباق مقلوبة حتى يتجمع الماء على الغطاء بدلاً من سطح الوسط الزرعى .
- ٥- صنف المستعمرات الناتجة من حيث المظهر العام .

المزرعة النقية

المزرعة النقية هي المزرعة التي تحتوي على نوع واحد فقط من الأحياء الدقيقة.

المزرعة المختلطة هي المزرعة التي تحتوي على أكثر من نوع من الأحياء الدقيقة.

تختلف المستعمرات النامية في الشكل، والحجم، والقوام، واللون باختلاف أنواع الكائنات الدقيقة، فإن مظهر المستعمرة يعتبر دليلا قيما للتعرف على المزرعة وللتأكد من نقاوتها.

الحصول على مزارع نقية

- للحصول على مزارع نقية من البكتيريا (أو أي نوع من الأحياء الدقيقة) لا بد أولا من الحصول على مستعمرات مفردة single colonies منفصلة عن بعضها البعض وعلى اوساط زرعية صلبة . solid media .
- يفترض أن تكون المستعمرة النقية خلية واحدة من البكتيريا نمت وتكاثرت حتى كونت مجموعة من ملايين الخلايا البكتيرية واضحة المعالم ولها صفات الخلية الأم نفسها.

أولا: الأطباق المخطوطة Streak Plate

عند وضع المزارع الميكروبية على سطح الآكار ونشرها بواسطة الإبرة ذات عقدة (loop) ، فإن هذا يسمى تخطيط (Streaking) ، ويسمى الطبق المعد بهذه الطريقة طبقا مخطوطا (Streak Plate) .

زراعة البكتيريا :Culture of bacteria

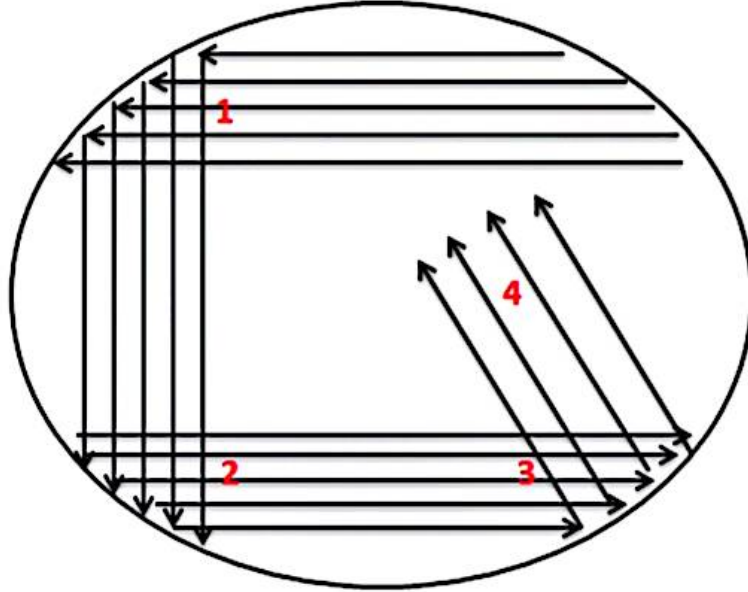
عندما نريد زراعة بكتيريا معينة هنا يتوجب علينا اختيار الظروف الملائمة لهذه البكتيريا من حيث التهوية و الالهام هو اختيار الوسط الزراعي المناسب لتنميتها. ولتشخيص الصفات المظهرية لهذه البكتيريا النامية نحتاج الحصول على مستعمرات نقية **Pure colony** ولذلك عن طريق تخطيط البكتيريا على الوسط الزراعي بطريقة معينة للحصول على هذه المستعمرات النقية.

تخطيط الاطباق الزرعية :The Streaking plate

للحصول على مستعمرات بكتيرية نقية **Pure colony** نلجأ الى توزيع البكتيريا على الاوساط الزرعية ولكن بشكل متدرج وخاصة اذا الاوساط الزرعية المستخدمة نوع التفريقية Differential وبذلك يتم بطريقة تعرف بالتخطيط السريع **Streaking method**. ولتحقيق ذلك نتبع ما يلي:

- 1- اخذ البكتيريا بوساطة الـ Loop نخطط المنطقة 1 يكون التخطيط باتجاه واحد.
- 2- عقم Loop بلهب Burner ثم تخطيط من نهاية منطقة 1 باتجاه منطقة 2 ويكون باتجاه واحد.
- 3- عقم Loop بلهب Burner ثم تخطيط من نهاية منطقة 2 باتجاه منطقة 3 ويكون باتجاه واحد.
- 4 - عقم Loop بلهب Burner ثم تخطيط من نهاية منطقة 3 باتجاه واحد. كما بالشكل ادناه.

الاشكال ادناه توضح طريقة التخطيط للبكتيريا للحصول على المستعمرات النقية.

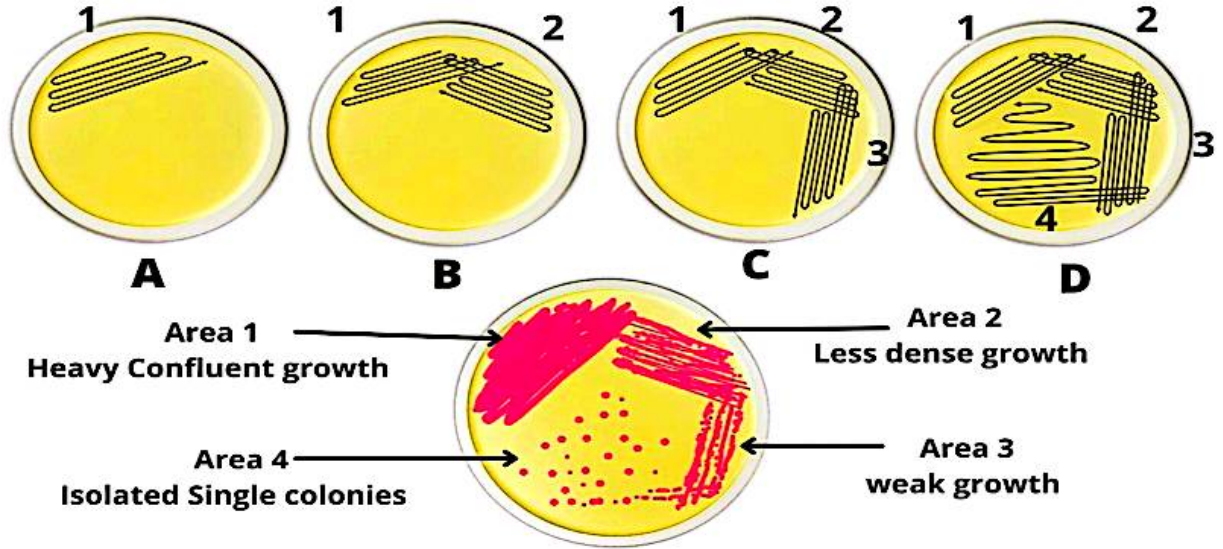


◀ حضن الطبق الزرعي بشكل مقلوب بالحاضنة Incubator بحرارة 37م ولمدة 24 ساعة.

سؤال: لماذا يتم حضن الاطباق بشكل مقلوب؟

الجواب: الغرض من قلب الاطباق هو تجنب تكاثف الماء على الغطاء من الداخل ثم سقوطه على المستعمرات البكتيرية النامية، بالتالي انتشارها وتداخلها مما يصعب عملية الفصل.

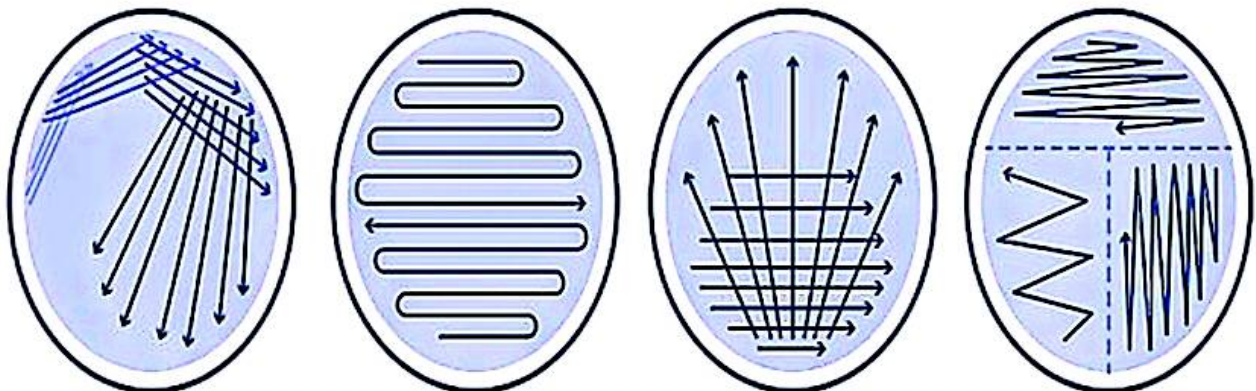
◀ بعد فترة الحضن فحص النمو التكون على الاجار Agar.



سؤال: ما هو الغرض من الحصول على المستعمرات النقية Pure colony؟

الجواب: احدى طرق التشخيص الاولية للبكتيريا هي بالاعتماد على الصفات المظهرية (بالعين المجردة) للمستعمرات البكتيرية لذلك لابد من الحصول على مستعمرات منفردة نقية. حيث تختلف المستعمرات من بكتيريا الى اخرى من حيث لون، شكل، ارتفاع، حواف، نفوذية للضوء، قوام المستعمرات البكتيرية. كذلك فحوصات التشخيص الكيموحيوية و فحص الحساسية تجاه المضادات الحيوية للبكتيريا يفضل اخذ مستعمرات نقية.

هنالك طرق تخطيط اخرى على الاجار لكن تبقى طريقة Streaking method هي الافضل لهذا الغرض، كما بالشكل ادناه.



Quadrant Streak

Continuous Streak

Radiant Streak

T Streak

Types of streaking methods