سادسا : طرق حفظ المزارع الميكروبية

(Maintenance of bacterial strains)

هناك عدة طرق لحفظ البكتريا المعزولة بعد تنقيتها لتعريفها ويمكن استخدام هذه البكتريا في الدراسات العلمية الطبية اوالصناعية .يتم حفظ البكتريا بعدة طرق منها :

أولا: طرق الحفظ المزارع البكتيرية لفترات قصيرة :

1) طريقة حفظ البكتريا باستخدام انابيب الآكار المائل (Agar Slant):

وتستخدم أنابيب الآكار المائل لحفظ البكتيريا بعد تلقيحها بالميكروب النقي وتحضينها عند درجة الحرارة المناسبة لمدة 24 ساعة، ثم تحفظ الأنابيب عند درجة حرارة 4مْ .

وتعتبر طريقة الآكار المائل(Agar Slant) التي تستخدم في زراعة الكائنات الدقيقة على المزارع الصلبة من الطرق الشائعة في حفظ المزارع الميكروبية. (Maintaining stock cultures)

وتكون أنبوبة الاختبار المعدة لحفظ البكتريا ذات غطاء وتحتوى على وسط اجار، وضعت على سطح مائل أثناء تبريدها لتجميد الاكار. إن محتويات الأنبوبة المعاملة بهذه الطريقة تتصلب مكونة سطحا مائلا من السهل تلقيحه بإبرة التلقيح .

اسم التجربة :

زرع البكتريا على سطح الاكار المائل .

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

طريقة تحضير الاكار المائل Slant :

1- وزن مسحوق الوسط الاكار المغذي Nutrient Agar

3- أضف الماء المقطر إلى الكمية المطلوبة.

3 - سخن مع التحريك حتى يذوب المسحوق تماما ويصبح الوسط صافياً.

4- اسكب الوسط السائل الحار في أنابيب و أغلق الأنابيب.

5 - ضع الأنابيب في الأوتوكلاف Autoclave عند 121 C°لمدة 15 دقيقة.

6 - بعد انتهاء التعقيم، أخرج الأنابيب وهي ساخنة، ضعها على حامل مائل أو على سطح مائل.

7- اترك الأنابيب حتى يتصلب الأجار ويأخذ شكل السطح المائل.

8- بعد التصلب، ثبت الأنابيب بوضعها عمودية وخزنها بالثلاجة بحرارة 4 - 8 لحين الاستخدام.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

مميزات الحفظ في أنابيب الأكار المائل:

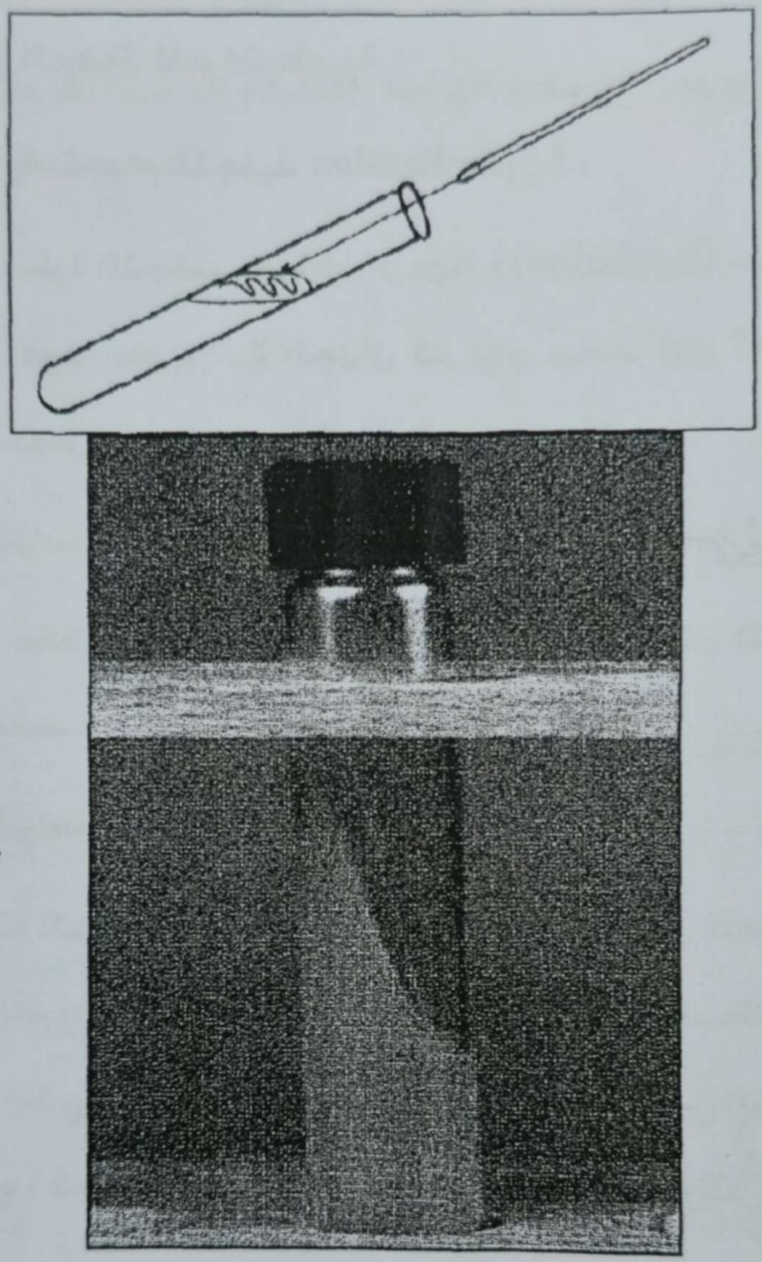
1. فرص التلوث في الأنابيب أقل من الزرع في الاطباق الزرعية.

2. مساحة تهوية في الانابيب الحاوية على الاكار المائل أكبر مما عليه في الأطباق.

3. سهولة التداول والنقل من مكان لاخر.

4. تحتاج الى مساحة صغيرة في الثلاجة.

5. جفاف الوسط في الأنابيب أقل من جفافها في الأطباق الزرعية.



شكل(13) تلقيح سطح الاكار المائل بالبكتيريا.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

2) الحفظ باستخدام الكلسرول Glycerol :

يتم حفظ المزارع البكتيرية في محلول معقم من الكلسرين يتراوح تركيزه من 10- 40٪، عند درجة حرارة (ـ 20م°). وفى هذه الطريقة يتم تجميع النمو البكتيرى النقى بالإبرة المعقمة ثم يوضع في أنبوبة بها كلسرين معقم وبعض الحبيبات الزجاجية الصغيرة حتى تمنع تكون بلورات ثلجية أثناء الحفظ.

ثانيا: طرق الحفظ لفترات طويلة :

1) الحفظ باستخدام التجفيد Lypholization :

تتم عملية التجفيد باستخدام جهاز (Lypholizer) حيث يوضع الميكروب في أنابيب ذات فوهة كبيرة في الجهاز، ثم يتم سحب الماء تدريجيا تحت التبريد الشديد و نحصل على الميكروب في صورة بودر.

2) الحفظ باستخدام النيتروجين السائلLiquid nitrogen :

يتم حفظ الميكروب النقي تحت النيتروجين السائل لمنع عملية التلوث، ومن ثم يتم الحفظ عند درجة حرارة(ـ 20م°).

3) الحفظ باستخدام التربة المعقمة Sterilized soil :

هذه الطريقه يتم حفظ البكتيريا وخاصة التي تنمو في التربة باستخدام قليل من التربة المعقمة. وفى هذه الطريقة يؤخذ بواسطة الإبرة المعقمة النمو البكتيري النقي ويوضع في أنبوبة تحتوى على القليل من التربة المعقمة، حيث يتم الخلط جيدا تحت ظروف التعقيم ومن ثم الحفظ في درجة

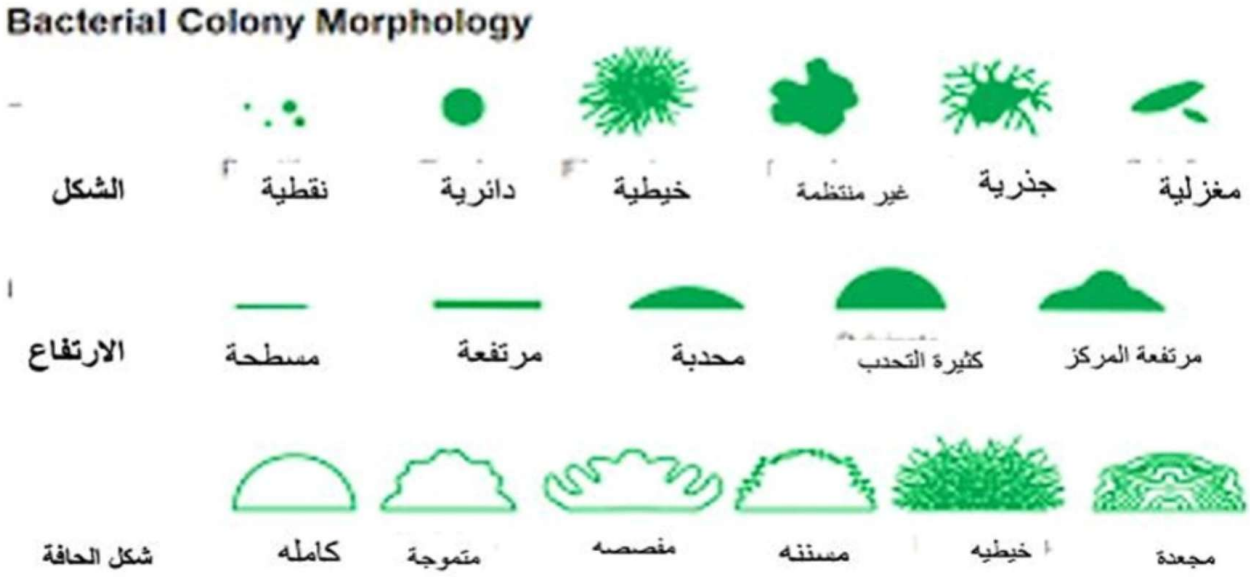
الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الصفات الزرعية للمستعمرات البكتيرية

ثانيا : الصفات المز رعيه Cultural Characteristics :

عند نمو خلايا البكتريا على الاوساط الغذائية سوف تظهر المستعمرات colonies وهذه المستعمرات تختلف الواحدة عن الاخرى في الحجم و الشكل وشكل الحافة واللون واللزوجة وهي من اهم الصفات التي يشترط دراستها لغرض تشخيص البكتريا . وفيما يلي الصفات الظاهرية لمستعمرات البكتريا :

اولا : وصف المستعمرات الفردية النامية على سطوح البيئات الصلبة (Solid culture)



الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

Color:

Orange	Red or pink	Black	Brown	Opaque or white	Milky

Size :	Punctiform	Small	Medium	Large
mm:	< 1	1-2	3 -4	> 5

Colony surface : Rough Smooth

ثانيا : النمو في البيئات السائلة : Growth in Nutrient Broth

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

4. سطح المستعمرة

- ناعم
- خشن

5. الصفات الضوئية للمستعمرة

- معتمة: لا تسمح للضوء بالمرور خلالها.
- نصف شفافة: تسمح للضوء بالمرور خلالها ولكن لاتسمح بالرؤية الكاملة للأشياء خلفها.

6. قوام المستعمرة

- زيديا
- لزجا
- غشائيا
- هشا

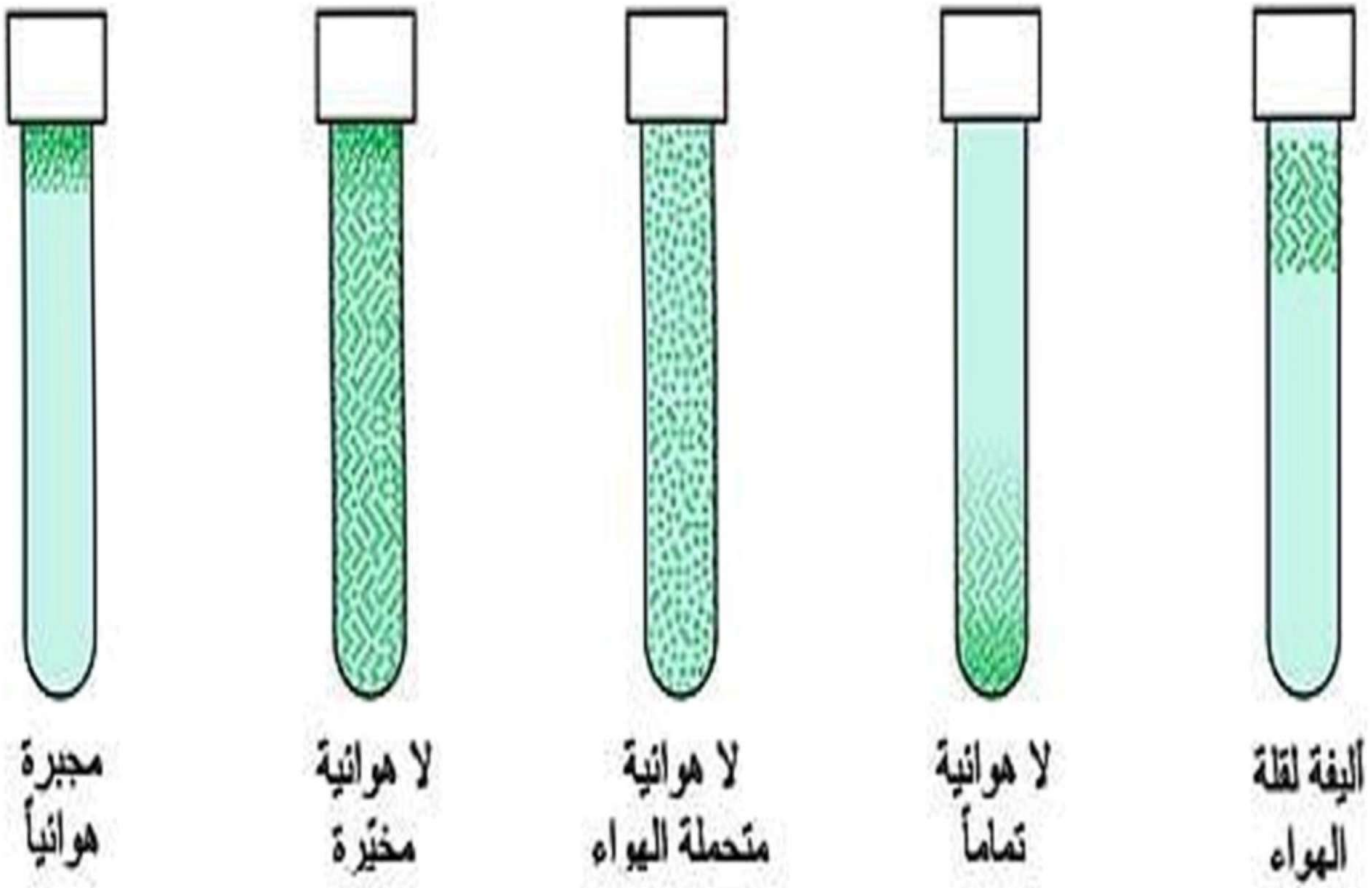
---

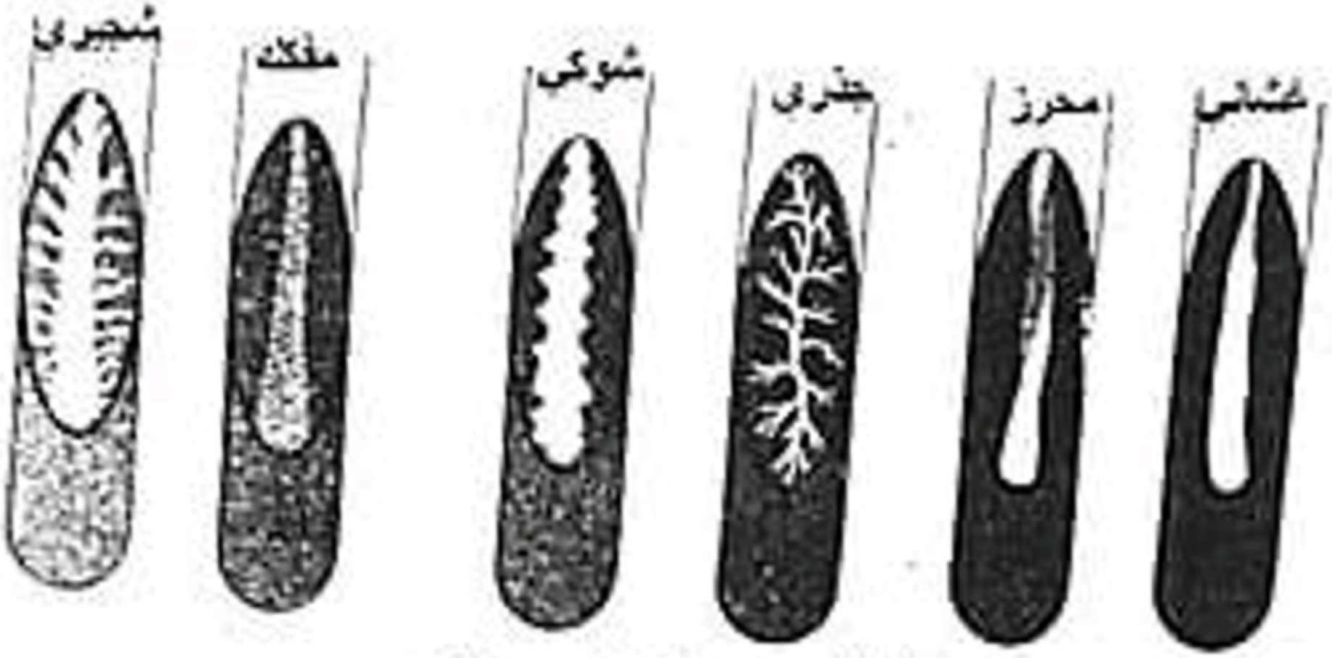
7. لون المستعمرة

(ا) تفرز بعض البكتيريا صبغات غير ذائبة في الماء تلون المستعمرات ولاتلون الوسط وقد تكون لون المستعمرات أصفر أو أحمر ومن أمثلتها البكتيريا *Xanthomonas* التي تظهر مستعمراتها باللون الأصفر.

(ب) كما تفرز بعض البكتيريا الأخرى صبغات ذائبة في الماء تلون البيئة ولا تلون المستعمرات مثل بعض أنواع الجنس *Pseudomonas* والتي تفرز صبغة فلوريسينية ذائبة في الماء لونها أخر مصفر.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner





شكل(23) اشكال مختلفة من النمو على الآجار المائل

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner