

الأحياء المجهرية

**Microbiology**

(( ))

صفاء نعمت حسين

## الأوساط الزرعية Culture Media

الأوساط ومفردها الوسط Medium هي البيئات التي تنمى فيها عليها الأحياء المجهرية لما تحتويه من المتطلبات الغذائية المختلفة للنمو من النتروجين والكبريت والعناصر النادرة وغيرها وتختلف المستخدمة لتنمية الأحياء المجهرية طبيعة تغذية هذه الأحياء ومتطلباتها من العناصر المختلفة ، حياء المجهرية مجموعتين رئيسيتين من حيث التغذية وهما :

- ذاتية التغذية Autotrophs : تتمكن من النمو معتمدة على مركبات غير عضوية .
- غير ذاتية التغذية (عضوية التغذية) Hetrotrophs : هذه المجموعة استغلال المركبات العضوية كمصادر للعناصر المذكورة .

والأوساط الزرعية لا توفر للأحياء المجهرية احتياجاتها من العناصر الغذائية فحسب توفر لها أيضا الظروف الفيزيائية العوامل الفيزيائية من النشاط المائي والضغط الازموزي والرقم الهيدروجيني الملائم وكمية الأوكسجين ودرجة الحرارة والعامل الأخير يتم التحكم به خارجياً من خلال حضان الأوساط الملحقة Incubator.

ولتسهيل دراسة الأوساط الزرعية الغذائية كما تسمى أحيانا تقسم هذه مجاميع مختلفة وكما يلي :

: حالة الفيزيائية / حسب القوام وتشمل ما يلي :

- 1- Liquid Media : وهذه تكون خالية من الأكار Agar) تعريف وأهمية هذه المادة في الفقرات اللاحقة) لذلك تبقى سائلة بعد تحضيرها وتعقيمها وتنتهي تسمية الأوساط الجاهزة من هذا النوع Medium Broth : Nutrient Broth Mac Conky Broth Litmus Milk . Medium
- 2- Solid Media : وهذه الأوساط تحتوي على 1.5 – 2 % سطر هلامياً ( يشبه الجلي ) وتنتهي تسمية الأوساط الجاهزة من هذا النوع بكلمة Agar
- 3- الأوساط شبه الصلبة Semi – Solid Media : تحتوي هذه الأوساط على نسبة قليلة من مادة Agar .

(Agar): عبارة عن مادة مستخلصة من الطحالب البحرية وتستخدم لتصليب الوسط

:

- اطباق بتري أو في انابيب ذات سدادة على هيئة Slant.
- يتم حفظ الأوساط السائلة داخل أنابيب Test tube .

ثانياً : المكونات الكيميائية / حسب طبيعة الـ وتشمل ما يلي :

### 1- الأوساط التخليقية ( التصنيعية ) Synthetic Media

وهي الأوساط التي تتألف من مركبات كيميائية معروفة التركيب

- Nutrient Agar ويتكون من المكونات التالية:

/		
6.0	Peptone A	1
2.0	Yeast extract	2
1.0	Beef extract	3
5.0	Nacl Sodium chloride	4
14.0	Agar	5

- Glucose Inorganic Salt Media ويتكون من المكونات التالية:

/		
5.0		1
7.0	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2
2.0	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3
0.08	MgSO <sub>4</sub>	4
1.0	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5
/1000		6

- ✓ لغرض تحضير وسط زرع تخليقي جاهز Nutrient Agar يتم كمية معينة من المسحوق بحجم معين تعليمات الشركة المصنعة ويعقم جهاز Autoclave )
- احتوائه على الأكر) يحفظ جهاز الحمام المائي (Water bath) 50-45 ° .
- ✓ يتم تعقيم الكلوكوز عادة بصورة منفصلة عن نظراً لأن تسخين الكلوكوز مع يؤدي تكون مركبات سامة لنمو البكتريا .
- ✓ يمكن تحويل الوسط السائل إليه 1.5 2% .
- ✓ يستخدم الوسط الزراعي عادة حسب غرض الفحص ، فهناك اوساط عامة تنمو عليها جميع انواع البكتريا Nutrient agar او الفطريات مثل Potato dextrose agar (PDA) وهناك اوساط تخصصية لنمو انواع معينة من الاحياء المجهرية .

## 2- الأوساط شبه التخليقية Semi – Synthetic Media

وهي الأوساط التي تكون جميع مكوناتها (Blood Nutrient Agar) .

## 3- الأوساط الطبيعية Natural Media ( غير الصناعية)

- وهذه تتكون من مواد طبيعية مشتقاتها منها كالحليب واللحم والبيض النباتية والتي تحتوي على الاحتياجات الغذائية المطلوبة للأحياء المراد تنميتها على شكل مركبات عضوية م عليها Nutrient Broth ويتألف من المكونات الآتية :

/		
5.0	Peptone	1
3.0	Meat extract	2
1000		3

#### 4- الأوساط شبه الطبيعية Semi-Natural Media

وهي التي تكون جميع مكوناتها مجهولة كماً ونوعاً عدا مادة واحدة مثل الدم + 5غم كلوريد الصوديوم ( Blood + 5 gm NaCl )

أدناه جدول يتضمن مواصفات بعض المواد المستعملة في الأوساط الزرع الطبيعية أو الاصطناعية:

#### - Meat extract

عجينة:

يحتوي على المواد الذائبة في المواد الموجودة في الحيوانات كالكاربوهيدرات ونتروجينية عضوية والفيتامينات وغيرها .

- Peptone ببيتون مادة ناتجة من هضم البروتينات النباتية هضماً إنزيمياً:

يحتوي على ببتيدات ذات حجوم مختلفة تستخدم مصدراً للنتروجين العضوي من قبل الأحياء المجهرية وقد تحتوي أحياناً على بعض الفيتامينات والكاربوهيدرات اعتماداً على المصدر الذي تحضر منه .

- مستخلص الخميرة Yeast extract مستخلص مائي لخلايا الخميرة :  
مصدر غني في الفيتامينات ويعد مصدراً للنتروجين العضوي والكاربوهيدرات .

ويذكر هناك شركات متخصصة بتحضر الزراعية الغذائية مثل شركة Oxoid Difco Fluca وغيرها ، يتم تجهيز هذه تكون معلمة تتضمن المعلومات التالية:

- 
- 
- الأغراض التي يستخدم من أجلها :
  - I. Isolation
  - II. Enumeration
  - III. تشخيص Identification
  - IV. ييز Differentiation
- 
- طريقة تحضير .

#### أهمية الأوساط الزرع :

(1) لغرض عزل وتنمية وتنقية الأحياء المجهرية كالفطريات والبكتريا.

- (2) أحيانا اختباريه ونقصد بها ( أوساط تستعمل صفات معينة للبكتريا) مثل الصفات البايوكيميائية (الحياتية) للبكتريا .
- (3) تستعمل كأوساط اختيارية وهي التي تعمل على تنمية من البكتريا على
- (4) تستعمل كأوساط لفحص واختبار الحساسية (حساسية البكتريا) للمضادات الحياتية (Antibiotics) .

لا يمكن تنمية جميع الأحياء المجهرية على الوسط الزراعي Culture Media لأن هنالك أحياء يطلق عليها Obligate Micro Organisms أحياء مجهرية إجبارية وهي تحتاج خلايا حية لغرض المعيشة والقيام بالفاعليات الحيوية الايضية مثل الفيروسات Viruses التي تعيش على الخلايا الحية الحيوان Pythium التي تعيش على الخلايا الحية للنبات ولايمكن تنميتها على الاوساط الزراعية . Phytophthora التي تعيش على الخلايا الحية للنبات ولايمكن تنميتها على الاوساط الزراعية .

### تمارين تطبيقية على الأوساط الزراعية

- 1- من الأوساط الزراعية التجارية مثل :
- Nutrient Broth
  - Nutrient Agar
  - MacConky Agar
  - EMB Agar
  - (PDA) Potato Dextrose Agar
- تسجيل المعلومات الأساسية عن هذه الأوساط .
- 2- 1000 Nutrient Agar ويتم التحضير باتباع الخطوات الآتية :
- يتم وزن كمية من الوسط حسب تعليمات الشركة بواسطة الميزان الحساس ويذاب في 1000
  - 1 لتر ، ويحرك لذوبان وتجانس الوسط (Flask)
  - ينقل الدورق المخروطي بعد تغطيته ( بغطائه البلاستيكي )
  - جهاز التعقيم البخاري Autoclave لتعقيم الوسط في 121 ° 1.5 / 2 15 دقيقة وقد تعتمد طريقة للتعقيم اعتماداً على توجيهات المجهر أيضاً أو طبيعة الوسط .
  - يعقم سطح الطاولة التي يتم عملية صب الاطباق عليها بالكحول 70% ويهياً مصباح بنزن أو في حالة صب الاطباق داخل كابينة العزل Flow laminar فيتم حينها تعقيم ارضية وجدران الكابينة بالكحول او يعقم بالاشعة فو البنفسجية UV light .
  - يبرد الوسط بعد تعقيمه 50-55 ° تقريباً يصب Ptri dish قرب اللهب حين تصلب الوسط وبهذا يصبح الوسط جاهزاً