المحاضرة الثانية

الاوساط الزرعية (الغذائية) :culture media

وهي تلك البيئة التي تستعمل لتنمية الأحياء المجهرية المختلفة في المختبر وهي تحتوي على جميع المكونات الضرورية لنمو الكائن الحي المجهري ، وعند تحضير الوسط الغذائي يجب تهيئة كل العوامل الضرورية للنمو كتوفير(الرطوبة ، الضغط الاوزموزي ، رقم الحموضة ، الشد السطحي ، الاكسدة والاختزال، والتأكد من خلوه من المواد المانعة لنمو الاحياء المجهرية)

ومهما اختلفت هذه الاوساط بالتركيب فلا بد من احتوائها على مصادر غذائية رئيسية مثل الكاربون والنيتروجين والمعادن وعوامل النمو كالفيتامينات و العوامل المساعدة الاخرى .

تقسم الاوساط من حيث محتواها الى :

1- الأوساط الطبيعية : Natural culture

وهي تلك الاوساط التي تكون مجهولة التركيب والتركيز مثل (فضلات الخبز ، فضلات الفاكهة ، البطاطا ، الدم)

2- الاوساط الصناعية أوالكيميائية : Synthetic or Chemical media

وهي تلك الاوساط التي تتكون مكوناتها من عدة مواد وبتراكيز معينة ومعلومة مثل MacConkey agar و Lactose broth

وتعد هذه الاوساط بيئات غنية وجيدة لزراعة مدى واسع من الاحياء المجهرية الاخرى ،وهي تكون اما بحالة صلبة او شبه صلبة او سائلة . وان مكوناتها اغلبها مواد عضوية أولية مختلفة ويكون مصدرها اما حيواني او نباتي أو من الأحياء المجهرية أو مواد كيميائية ، ومن المواد التي تدخل في تصنيع هذه الاوساط:

مستخلص لحم البقر Beef extract ، مستخلص الخميرة Yeast extract ، الببتون Peptone

3- الأوساط شبه الصلبة : Semi- synthetic media

وهي تلك الاوساط التي تكون بعض مكوناتها معلومة التركيب والتركيز وبعضها الاخر مجهولة التركيب والتركيز ومثال عليها Potato dextrose agar

تقسم الاوساط حسب وظيفتها اوعملها الى :

1- الاوساط الانتقائية : Selective media

وهي تلك الاوساط التي تسمح بنمو انواع من الاحياء المجهرية ولا تسمح بنمو انواع اخرى و ذلك نتيجة لاضافة بعض المواد للوسط الغذائي مثل الأصباغ ومن الامثلة عليها وسط (MacConkey agar) الذي يسمح بنمو البكتريا السالبة لصبغة كرام ولا يسمح بنمو البكتريا الموجبة لصبغة كرام .

2- الاوساط التفريقية : Differential media

وهي الاوساط التي يمكن من خلالها تمييز الأنواع البكتيرية النامية على الطبق نفسه مثلBlood agar base

اذ يضاف الى هذا الوسط 5-7 % دم بشري أو حيواني وبهذا الوسط نستطيع التمييز بين البكتريا المحللة للدم Hemolytic وغير المحللة ، اذ ان البكتريا التي لها قدرة على تحليل كريات الدم تكون مناطق رائقة حول مستعمراتها ، في حين نجد البكتريا غير المحللة لا تكون مثل هذه المناطق الرائقة .

3- اوساط العد : Numeration media

وهي الاوساط التي تحتوي على كافة المتطلبات الغذائية الضرورية لنمو اكبر عدد من الأنواع البكتيرية أو الاحياء المجهرية الاخرى لغرض عدها ومثال عليه وسط Nutrient agar .

4- اوساط الاغناء : Enrichment media

هي تلك الاوساط التي تسمح للبكتريا بالنمو بعد اضافة بعض العناصر التي لا تستطيع البكتريا تصنيعها اذ هناك بعض البكتريا لا يمكنها القيام بانتاج الفيتامينات والمركبات الضرورية االأخرى ، وبنفس الوقت لا تستطيع الاستغناء عنها لتنمو لذا يجب اضافتها للاوساط لكونها ضرورية لنمو الاحياء المجهرية .

5- اوساط الحفظ والادامة : Maintenance media

وهي الاوساط التي تسمح للبكتريا بالنمو بصورة بطيئة وذلك لتتمكن من حفظها لاطول مدة ممكنة .

6- اوساط التشخيص :media Characterization

تستخدم هذه الاوساط للكشف عن خواص معينة في البكتريا وتحديد نوع الناتج كان يكون غاز او تغيير لون البيئة وغيرها .

7- اوساط العزل : Isolation media

وهي اوساط زرعية تحتوي على جميع المكونات الضرورية لنمو الاحياء المجهرية .

تقسم الاوساط حسب القوام :

1- الاوساط السائلة : Liquid

وهي تلك الأوساط الناتجة من اذابة مكونات الغذاء في الماء المقطر وتعبأ هذه الاوساط في انابيب الأختبار والدوارق الزجاجية .

2- الاوساط الصلبة : Solid

وهي نفسها الاوساط السائلة لكن يضاف لها بعض المواد المصلبة كالجيلاتين والاكار المستخرج من الطحالب الحمراء الموجودة في اعماق البحار وخاصة التابع لجنس

Gelediumواهمية الاوساط الصلبة للحصول على نمو سطحي للبكتريا ولمشاهدة اشكال وصفات المستعمرات والحصول على مستعمرات مفردة ونقية .

من اهم فوائد الاكار هو امتلاكه عدة مميزات منها :

1- يذوب الاكار بدرجة حرارة أعلى من 96 مْ ولا يتصلب الا بدرجة حرارة اقل من 42-45 مْ

2- يضاف الاكار بنسبة 15 % للوسط لغرض تصلبه وبنسبة 1-2 % لكي يكون شبه صلب

3- يستخدم الوسط الصلب في عزل المستعمرات البكتيرية

يمكن اذابة الاكار بوضعه في ماء مغلي لكي يذوب ولكي يتصلب يوضع في ماء بارد

طريقة تحضير الاوساط الغذائية

1- توزن مكونات الوسط بدقة وتذاب في حجم معين من الماء المقطر الموجود في دورق مخروطي conical flask

2- يوضع الدورق في حمام مائي بدرجة حرارة 96 مْ لاذابة الاكار والحصول على خليط متجانس

3- يعدل pHباستخدام جهاز PH meter حيث لكل وسط pH خاص به واغلب البكتريا يكون ال pH متعادل 7 وفي حالة الخمائر والاعفان فيكون ال pH الحامضي 3.5 – 4.5

4- يعقم الوسط الغذائي بالاوتوكليف

5- بعد انتهاء عملية التعقيم التي تستغرق 15-20 دقيقة يبرد الوسط الزرعي وذلك بوضعه في حمام مائي بدرجة حرارة 45مْ فما فوق وذلك لمنع تصلبه

6- يصب هذا الوسط في اطباق بتري ويترك ليتصلب او يحفظ بالثلاجة لحين استخدامه