

الاجهزة والمستلزمات المختبرية

تستخدم العديد من الاجهزة والمواد المختبرية خلال المنهج العملي لعلم الفطريات ومنها :

- 1-المجهر **Microscope** : يستخدم المجهر الضوئي والتشريحي لفحص المزارع الفطرية والشرائح الزجاجية لتشخيص التراكيب الفطرية .
- 2-الموصدة **Autoclave** : يستخدم في تعقيم الاوساط الزرعية (Media) المحضرة مختبرياً وتحت درجة حرارة 121 °م ، وضغط 15 باوند/انج ولمدة 20 دقيقة .
- 3-الحاضنة **Incubator** : يستخدم جهاز الحاضنة لانماء المزارع الفطرية تحت درجة حرارة ملائمة (20-25 °م درجة الحرارة المثلى لانماء الفطريات) ولفترة زمنية معينة .
- 4-الفرن الكهربائي **Oven** : وهو يستخدم لتعقيم الزجاجيات والادوات المراد استخدامها مختبرياً .
- 5-الميزان **Balance** : ويستخدم الميزان الحساس لوزن المواد الكيميائية التي تحضر منها الاوساط الزرعية وكذلك المواد الكيميائية الاخرى التي يتطلب استخدامها في المختبر .
- 6-الحمام المائي **Water bath** : وهو يستخدم لصهر الاوساط الزرعية المحضرة مسبقاً او لبقاء الاوساط الزرعية في حالة سائلة عند الحاجة .
- 7-الثلاجة **Refrigerator** : وتستخدم الثلاجة عادةً لحفظ المزارع الفطرية المنماة في اطباق بتري او في انابيب اختبار مائلة لفترة زمنية طويلة وتحت درجة حرارة واطئة (4-10) م .
- 8-غرفة زرع معقمة **Inoculaton chamber** : وهي عبارة عن صندوق زجاجي معد لزرع الفطريات على اوساط زرعية معقمة لتلافي التلوث .
- 9-اطباق بتري **Petri-dish** : وهي اطباق زجاجية (او بلاستيكية) تستخدم لتحضير اوساط زرعية فيها لانماء الفطريات .
- 10-شرائح زجاجية **Slides** : وتستخدم لتحضير نماذج من المزارع الفطرية المنماة على وسط زرعي لغرض فحصها لملاحظة التراكيب الفطرية .
- 11-انابيب اختبار مائلة **Slant tubes** : تستخدم لحفظ المزارع الفطرية النقية باستخدام وسط زرعي مائل في انابيب اختبار .
- 12- دوارق زجاجية - اسطوانات زجاجية - ابر ناقلة - اوراق ترشيح - ملاقط الخ .

الصبغات والمواد الحافظة

تستخدم بعض الصبغات والمواد الحافظة لعمل شرائح زجاجية للتراكيب الفطرية وعادة ما يستخدم صبغة اللاكتوفينول الازرق (Blue lactophenol) لهذا الغرض .

الايوساط الزرعفة Media

الوسط الزرعف هو عبارة عن خلفط من مواد كلفمفائفة ذات اوزان معفنة تمزج مع الماء المقطر وتعمق لغرض انماء الفطرفيات مخترفياً . وهي بنوعفن (اوساط طفبفعفة Natural media واوساط اصطناعفة Synthetic media) وقد تكون الاوساط صلبة (Solid media) لاضافة مادة الاكر (Agar) لهما ، او اوساط سائلة (Liquid media) بعدم وجود الاكر .
ومن اهم الاوساط الزرعفة المستخدمة مخترفياً هي :

1- وسط البطاطا-دكستروز اكر Potato Dextrose Agar (PDA)

وبحضر من :
Potato 20 gm
Glucose 20 gm
Agar 15 gm
Distilled water 1000 ml

2- وسط الزافك-اكر Czapeks Agar

Sucrose 30 gm
NaNO₃ 3 gm
K₄HPO₄ 1 gm
MgSO₄.7H₂O 0.5gm
KCl 0.5 gm
FeSO₂.7H₂O 0.01 gm
Agar 15 gm
Distilled Water 1000 ml

3- وسط السابرد-اكر Sabouraud Agar

Glucose 40 gm
Peptone 10 gm
Agar 15 gm
Distilled Water 1000 ml

4- اكر خلاصة الشعفر Malt Extract Agar

Malt Extract 15 gm
Agar 15 gm
Distilled Water 1000 ml

ملاحظة : فضاف 250 ملغرام من المضاد الحفوف Chloramphenicol لكل لتر من الوسط المحضر لمنع نمو البكترففا .

طرق التعقيم مختبرياً

من الضروري اجراء التعقيم داخل المختبر ، حيث يتم تعقيم كافة الادوات والمستلزمات المستخدمة مختبرياً عند اجراء عزل الفطريات على اوساط زرعية لتلافي حدوث التلوث بواسطة الاحياء المجهرية الاخرى (كالبكتريا) . اذ يتم تعقيم المناضد والاماكن التي تستخدم لهذا الغرض .
ومن طرق التعقيم هي :-

- 1- **التعقيم بالحرارة** : اذ تستخدم الحرارة الرطبة لتعقيم الاوساط الزرعية بواسطة الموصدة . والحرارة الجافة كاللهب والفرن الكهربائي لتعقيم الادوات المختبرية .
- 2- **التعقيم بالكحولات** : تستخدم مادة الايثانول (او مطهرات اخرى) لتعقيم المناضد وبعض المستلزمات الاخرى .
- 3- **التعقيم بالاشعة (UV)** : تستخدم الاشعة فوق البنفسجية احياناً لغرض التعقيم لاسيما في غرف الزرع .

ملاحظة : يتطلب على الطلبة ارتداء Lab coat في اوقات المختبر .

طرائق عزل الفطريات مختبرياً

اولاً : عزل الفطريات من الهواء (Air born fungi)

- 1- تحضير اوساط زرعية مناسبة مثل (PDA) في اطباق بتري معقمة وتترك لتتصلب .
- 2- تعرض اطباق بتري الحاوية على الوسط الزرعى الصلب الى الهواء الخارجي (بعد رفع غطاء الطبق) لفترة زمنية (15-20) دقيقة ثم يعاد الغطاء ، وتجلب للمختبر .
- 3- تحضن الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة (25)م لمدة (7) ايام .
- 4- يتم فحص المستعمرات الفطرية النامية باستخدام المجهر التشريحي والمجهر الضوئي (بعد ان تحضر شرائح زجاجية لكل مستعمرة فطرية) .
- 5- تشخص الاجناس والانواع الفطرية ويتم رسم التراكيب الفطرية المطلوبة .