مبادئ الاحياء المجهرية العملي

الاستاذ المساعد سهيله جواد كاظم

قسم علوم التربة والموارد المائيه

كلية الزراعة/ جامعة البصرة

العراق

suhailajowad@gmail.com

مختبر الاحياء المجهرية : Microbiology Laboratory

هو المكان الذي تدرس فيه الاحياء المجهرية ونشاطاتها ويجب ان تتوفر فيه النظافة والتعقيم لأن هذا المختبر يتعامل مع اشكال الحياة الصغيرة (الدقيقة) microorganisms مثل البكتريا والفطريات والفيروسات وغيرها توجد هذه الاحياء الدقيقة في الماء والهواء والتربة وعلى اجسامنا واجسام الحيوانات .
يجري في المختبر عزل وتنمية الاحياء المجهرية لرؤيتها بشكل افضل ودراسة اشكالها وانشطتها

شروط السلامة في مختبر الاحياء المجهرية : Safety Practices in the Microbiology Laboratory

تعتبر شروط السلامة من الاسس العالمية التي يجب ان تطبق في المختبرات حيث تحتوي المختبرات بصوره عامه ومختبر الاحياء المجهرية بصوره خاصة على مجموعه من المواد الكيميائية والاوساط الغذائية الخاصة بالأحياء المجهرية فيجب التعامل معها بحذر وبدقة تامتين لمنع التلوث والاذى والحصول على نتائج دقيقة . يمكن اتباع الارشادات التالية عند العمل بالمختبر:

1- يجب ارتداء صدرية المختبر مع الحذاء المغلق وغير المرتفع .
2- تعرف على مكان مطفأة الحريق ومكان حوض الغسل وكذلك الصيدلية .
3- لا يسمح اطلاقا بالأكل والشرب في المختبر.
4- يجب رفع الحقائب والكتب والستر والانتباه للشعر والحجابات عند بدء العمل وتشغيل مصباح بنزن
5- تعقيم منضدة العمل قبل وبعد الانتهاء من العمل .
6- تحضير وترتيب مواد العمل مثل فلاسكات الاوساط الغذائية والانابيب و الماصات وغيرها من المواد .
7- لا تشعل مصباح بنزن ولا ترفع الاغطيه الا عند البدء بالعمل .
8- لا تسكب الاوساط الغذائيه الحاوية على الاكر في حوض الغسل .
9- الانتباه عند استخدام الصبغات.
10-غسل اليدين بعد الانتهاء من العمل واطفاء المصابيح والاجهزه غير الضرورية

الأجهزة والادوات والزجاجيات المستعملة في مختبر الاحياء المجهرية Equipments , instrument and Glassware used in Microbiology Laboratory

الاوتوكليف Autoclave

وهو من الأجهزة الأساسية التي تتواجد في مختبر احياء التربة المجهرية ويستخدم في تعقيم الاوساط الغذائية السائلة والصلبة والمحاليل المختلفة وكذلك يستخدم في تعقيم المزارع القديمة قبل التخلص منها
وتستخدم الحرارة الرطبة (بخار الماء) في التعقيم . يرتفع الضغط داخل الجهاز ليصل الى 15 باوند/انج^2 وفي هذا الضغط تصل درجة الحرارة 121°م ويختلف وقت التعقيم حسب حجم وطبيعة المادة المراد تعقيمها .

الحاضنة Incubator

وهو جهاز يستخدم لحضن مزارع الاحياء المجهرية تحت ظروف خاصه من درجة حراره ورطوبة وكذلك الاوكسجين وثاني اوكسيد الكربون وتستخدم الحاضنة لنمو البكتريا والاحياء المجهرية الاخرى

الفرن Oven

يستخدم الفرن في مختبر الاحياء المجهرية في تعقيم الادوات الزجاجية مثل انابيب الاختبار والماصات والدوارق الفارغة واطباق بتري Petri dishes وغيرها من الادوات الزجاجية ويجب ان توضع الماصات واطباق بتري في اوعيه معدنيه خاصه ذات غطاء محكم . تستخدم الحرارة الجافه بالتعقيم في الفرن وتصل درجه حرارة التعقيم بالفرن من 160- 180 م ولمدة 2-3ساعه

الحمام المائي water bath

يستخدم لتحضين العينات عند درجات حرارية مختلفة وأذابه الاوساط الغذائية او المواد الكيميائية وموجود تقريبا في كل المختبرات وخاصة مختبر الاحياء المجهريه.

جهاز عد المستعمرات Colony counter

يستعمل لعد المستعمرات البكتيرية النامية على بيئة مناسبه في اطباق بتري **Petri dishes**

الثلاجة Refrigerator

تستخدم في مختبر الاحياء المجهريه لحفظ المزارع الجرثومية حيث ان التبريد يقلل من تكاثر البكتريا لذلك يجب ضبط التبريد عند درجة حرارة 5C° او 40F°

غرفة العزل Laminar

تستخدم لعزل وتنقية الاحياء المجهرية في ظروف معقمه

الناقل الحلقي وابرة التلقيح Loop and Needle

تستخدم لاخذ العينات والتلقيح والتخطيط

مصباح بنزن Bunsen burner

يستخدم في عملية التعقيم باللهب

Loop

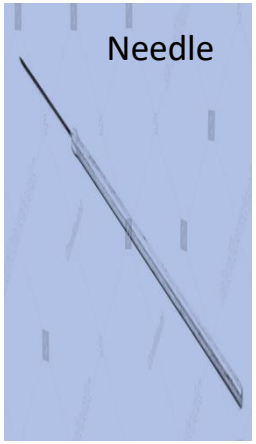
Water Bath

Oven

Incubator

Autoclave

Bunsen Burner



Needle

Laminar

المجهر The Microscope

المجهر هو أداةٌ تساعد على رؤية الأجسام الصغيرة جدًا والتي لا يمكن للعين المجردة أن تراها، وتكبيرها لنتمكن من دراستها عن قربٍ والتعرف على تفاصيلها.

يكبر المجهر حجم الأجسام عن طريق آليةٍ معقدةٍ من تتالي العدسات، في البداية توجد عدستان رئيسيتان؛ **الأولى** هي العدسة المتواجدة من جهة العين وهي العدسة التي ننظر من خلالها أي العدسة العينية، **والثانية** هي العدسة المتواجدة من جهة العنصر الذي نريد رؤيته (العدسة الشيئية) أي عدسة بداية وعدسة نهاية مع مصدرٍ للضوء وهو مصباح كهربائي

تقوم العدسة الشيئية بإنشاء صورة حقيقية مكبرة للعنصر، ثم مرةً أخرى يتم تكبير هذه الصورة عن طريق العدسة العينية لتنتج صورة افتراضية أكبر للعنصر، وهذه الصورة يمكن رؤيتها عن طريق العين المجردة عبر العدسة العينية بصورةٍ واضحةٍ مشرقةٍ بسبب وجود المنبع الضوئي. الصورة التالية توضح اجزاء المجهر .

المجهر الضوئي المركب
Compound light microscope

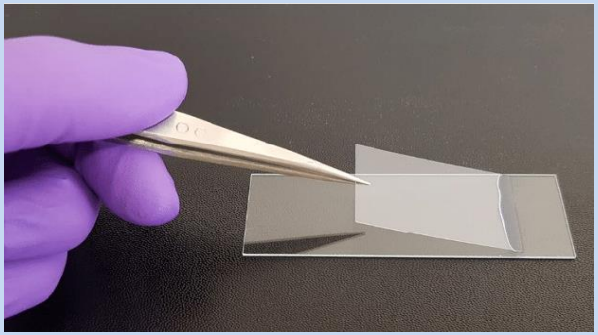
تشمل العدسات الشيئية objectives على :

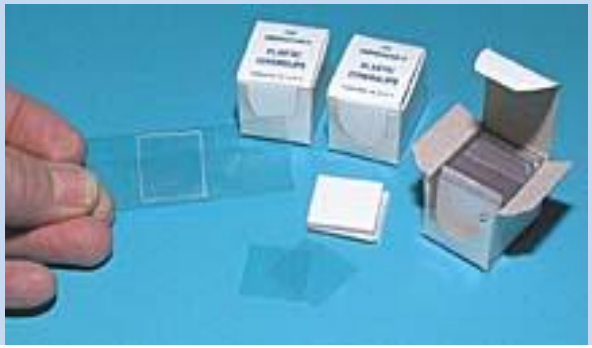
1- العدسة الجافة الصغرى .Low power obj

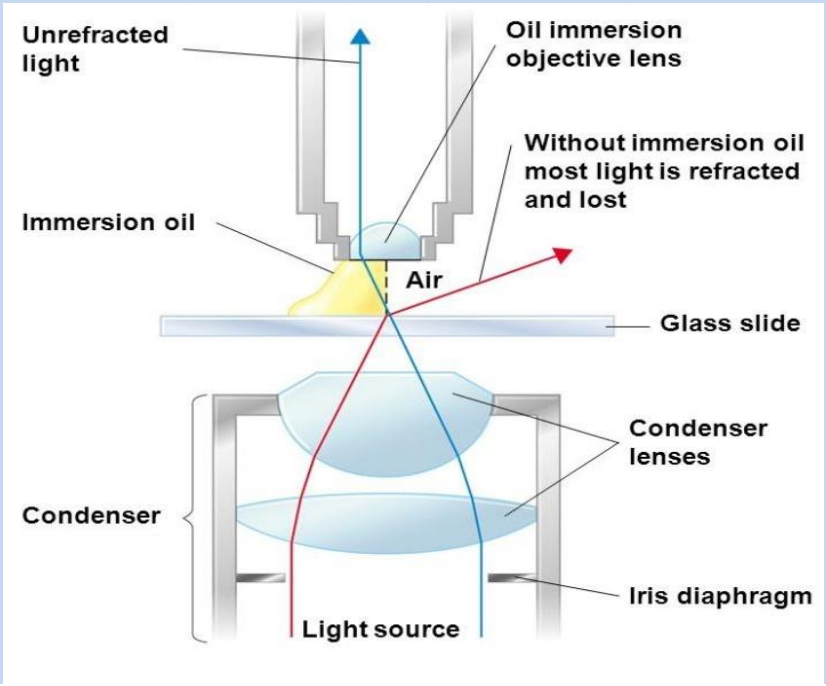
2- العدسة الجافة الكبرى .High dry obj

3- العدسة الزيتية .Oil immersion obj

لا يمكن رؤية البكتريا الا تحت العدسة الزيتية حيث يوضع زيت السدر (Cedar wood oil)على الشريحة في حالة الفحص بالعدسة الشيئية الزيتية بسبب ان الزيت له معامل انكسار للضوء يعادل معامل انكسار الزجاج (1.51) لهذا فأن اشعة الضوء التي تنفذ من السطح العلوي للشريحة او غطاء الشريحة (cover slip) الى فتحة العدسة الزيتية لا يحدث فيها انكسار وبذلك فأن سعة مخروط الضوء الذي يدخل العدسة الزيتية يزداد وبذلك تزداد قوة التمييز . اما في حالة استخدام العدسة الجافة فأن معامل انكسار الزجاج يختلف عن معامل انكسار الهواء وبذلك تتشتت حزمة الضوء الداخلة الى فتحة العدسة الشيئية الجافة .







وهذه ايضا بعض الزجاجيات والادوات المستعملة في المختبر

انابيب اختبار Test Tube

تستعمل في بعض التجارب التي تتطلب استعمال الاوساط الغائية السائلة Nutrient Broth او في حفظ مزارع الاحياء المجهرية .

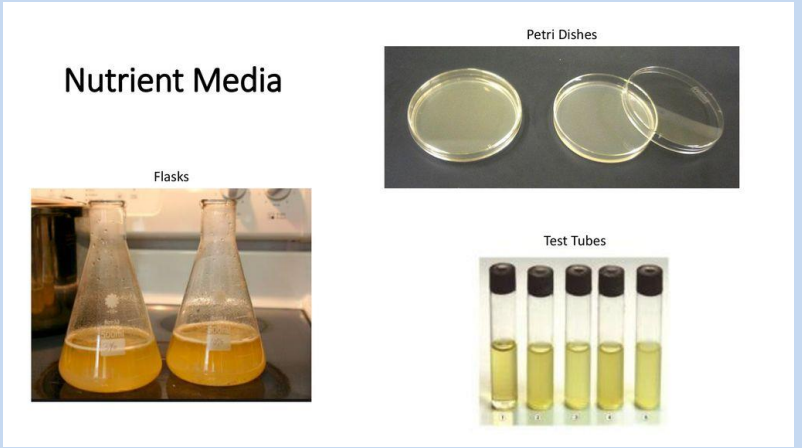
ماسك انابيب الاختبار Test Tube Holder

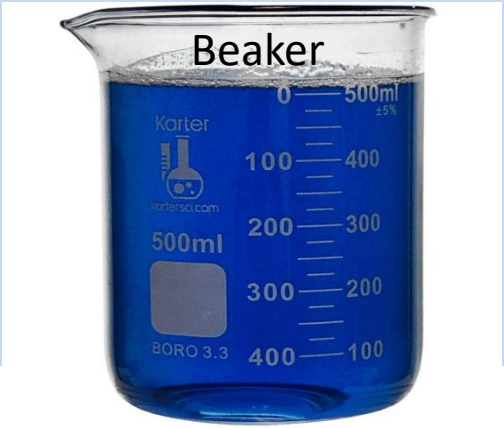
يستعمل خلال تسخين الانابيب

حامل انابيب الاختبار Test Tubs Rack

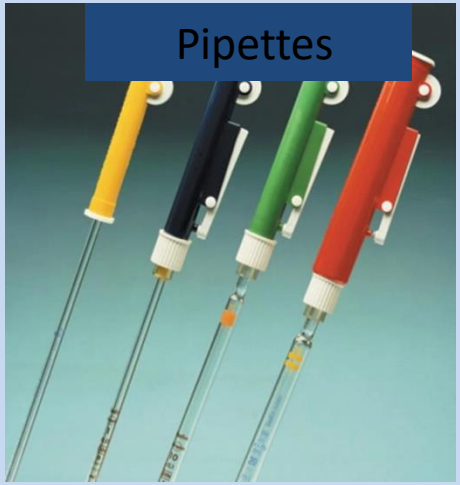
يستعمل لحمل انابيب الاختبار ويصنع من المعدن اومن البلاستك

اطباق بتري Petri dishes : ستعمل لزراعة الاحياء المجهرية
قمع Funnel : يستعمل للترشيح
دوارق Flasks تستعمل في تحضير الاوساط الزرعية
بيكرات Beakers : تستعمل لتسخين السوائل وتحضير المحاليل
قضيب تحريك ٍ Stirring Rod : يستعمل لاذابة المواد في المحاليل
شرائح زجاجية Glass Slides : تستعمل لوضع اللطخة من اجل الفحص المجهري





هناك ادوات اخرى تستعمل في مختبر الاحياء المجهرية مثل الماصات والملاقط والمسحات القطنية



الاوساط الغذائية المستعملة في مختبر الاحياء المجهرية Culture Media used in Microbiology Laboratory

يمكن تنمية الاحياء المجهرية في المختبر على اوساط غذائية طبيعية او صناعية ويجب ان تحتوي هذه الاوساط على العناصر الغذائية الضرورية لنمو الاحياء المجهرية وتكاثرها و**الوسط الغذائي (Culture Media) : عبارة عن خليط متوازن من المواد الغذائية ومواد اخرى تستعمل لنمو الاحياء المجهرية** . ومهما اختلفت هذه الاوساط فلا بد ان تحتوي من احتوائها على مصادر غذائية اساسية مثل الكربون والنيتروجين والمعادن وعوامل النمو مثل الفيتامينات والعوامل المساعدة الاخرى وهناك اوساط غذائية طبيعية مثل الدم والانسجة النباتية والحيوانية . اما الاوساط الغذائية الصناعية فهي اما ان تكون بحالة صلبة او شبه صلبة او سائلة او مركبة تركيبا كيمياويا ويكون مصدر مكونات هذه الاوساط اما حيوانيا او نباتيا او من الاحياء المجهرية او مواد كيمياوية .

ومن المواد التي تدخل بكثرة في تحضير الاوساط الغذائية الصناعية السائلة هي :

1- مستخلص لحم البقر Beef extract يحضر من اللحم البقري الخالي من الدهون بعد غليه وترشيح وتركيزه ويحتوي على الاحماض غير العضوية وبعض المواد العضوية مثل الاحماض الامينية والكلوكوز واليوريا وحامض اللاكتيك والفيتامينات وعوامل النمو الاخرى والمعادن والاملاح

2- مستخلص الخميرة Yeast extract تحتوي على بعض الاحماض الامينية والعوامل المساعدة للنمو والفيتامينات وخاصة B1 .

3- الببتون peptone وهو مصدر للنيتروجين العضوي للبكتريا غير ذاتية التغذية .يحضر من اللحم الخالي من الدهون بعد تحلله بانزيم الببسين

4 – المواد التصليبية Solidifying agents وهي مواد تضاف الى الاوساط الغذائية من اجل تحويلها الى بيئة صلبة تساعد على تكوين مستعمرات فردية ومنها :

أ-الجيلاتين Gelatin : وهو عبارة عن مادة بروتينية تحضر بمعاملة عظام الحيوانات ويندر استخدامه ويعتبر مادة غذائية وتصليبية ولكن يندر استعماله لانه يتحلل من قبل البكتريا وينصهر في درجات حرارة التحضين .

ب- السليكا Silica : لا تعتبر مادة غذائية وعندما تتصلب لا تسيل مرة اخرى

ج- الاكار اكار Agar agar : هو عبارة عن مواد تصليبية عضوية من سكر الـ Galactan مستخلص من طحالب *Gelidium* لا يتأثر بدرجات حرارة التعقيم بالاوتوكليف ، اذا تصلب لا يرجع سائلا قبل 98°C ويتصلب عند درجة حرارة اقل من 45°C .

. من الاوساط الغذائية المستعملة في المختبر هي :

1-Nutrient Agar(NA) يستعمل لتنمية اغلب انواع البكتريا وهو بحالة صلبة
2 Nutrient Broth (NB) يستعمل لتنمية اغلب انواع البكتريا وهو بحالة سائلة
3- Yeast Mannitol Agar (YMA) يستعمل لعزل وتنمية بكتريا جنس الـ *Rhizobium*
4- Eosin Methylene Blue (ENB) يستعمل لتنمية البكتريا السالبة لصبغة كرام التابعة الى عائلة Enterobacteriaceae
5 – Lactose Broth (LB) يستعمل لتنمية البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز وخاصة التابعة لعائلة Enterobacteriaceae
6-Potato Dextrose Agar (PDA) يستعمل لتنمية الفطريات
7 – Malt Extract Agar(M A) يستعمل لتنمية الاعفان والخمائر
8 – Sabouraud Agar يستعمل لتنمية الاعفان والخمائر