

مبادئ الاحياء المجهرية العملي

الاستاذ المساعد سهيله جواد كاظم

قسم علوم التربة والموارد المائية

كلية الزراعة/ جامعة البصرة

العراق

[suhailajowad@gmail.com](mailto:suhailajowad@gmail.com)

## عزل البكتريا في مزارع نقية : Isolation of bacteria in pure culture

المزرعة الميكروبية Microbial culture هي عبارة عن البكتريا او الاحياء المجهرية الاخرى النامية على وسط غذائي معين وتعتبر المزرعة نقية pure culture عندما تحتوي على خلايا نوع واحد فقط من الكائنات الحية الدقيقة اما المزرعة المختلطة Mixed culture هي التي تحتوي على نوعين او اكثر من الكائنات الحية الدقيقة وعادة لا تتواجد الاحياء الدقيقة في مزارع نقية في بيئاتها الطبيعية انما تتواجد في مزارع مختلطة ، وتحضر المزارع النقية في المختبر لدراسة نشاط وخواص خلايا النوع البكتيري الواحد وذلك يتطلب عزلها نقية غير مختلطة بأنواع اخر .

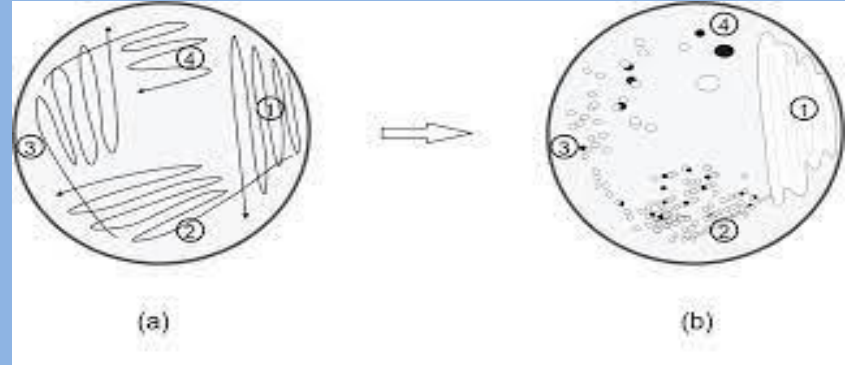
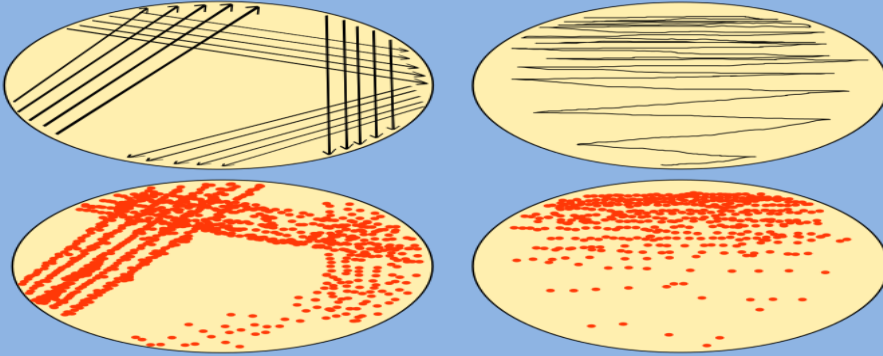
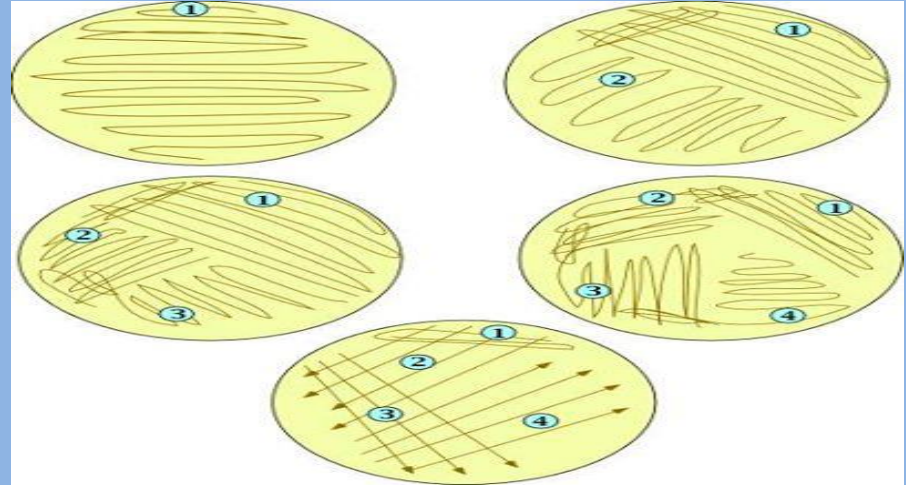
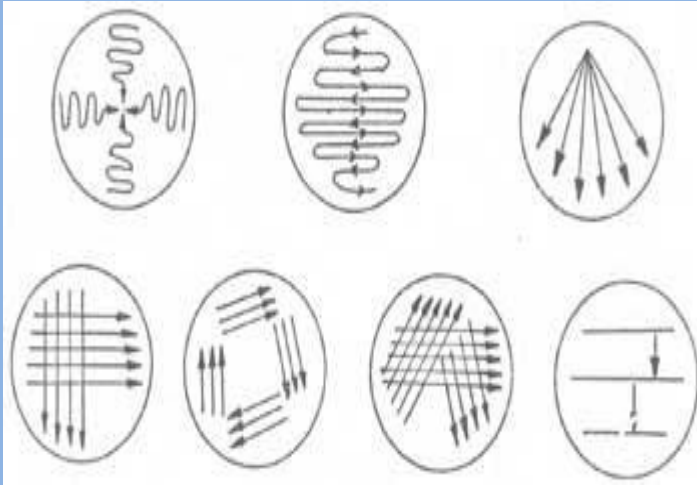
هناك عدة طرق تستعمل لعزل وتنمية الاحياء المجهرية على مزارع نقية محضرة في المختبر ومنها :

### 1- طريقة التخطيط على وسط غذائي صلب : The streak plate method

وفيها يتم عزل البكتريا او الاحياء المجهرية الاخرى بصورة نقية على سطح وسط غذائي متصلب في طبق زجاجي Petri dish معقم وذلك بنشر قطره من المحلول المحتوي على الميكروب بواسطة اللوب على سطح الاكر وعلى شكل خطوط متوازية  
طريقة العمل :

1 - اسكب الوسط الغذائي Nutrient agar ( المذوب والمحفوظ في حمام مائي على درجة حرارة حوالي 45°C ) في طبق بتري معقم واتركه حتى يتصلب جيدا .

2 - بواسطة اللوب بعد تعقيمه ، خذ قطره من المحلول المحتوي على البكتريا واعمل خطوط streaks على سطح الوسط الغذائي المتصلب وكما في الشكل التالي :



3- احضن الاطباق بشكل مقلوب على درجة حرارة ( 35- 37 )<sup>°</sup>م ولمدة 48 ساعة  
 4 - بعد فترة الحضانة لاحظ نمو المستعمرات وكثافتها على الوسط الغذائي وافحص حجم ولون وصفات المستعمرات . ثم صبغ بطريقة جرام وافحص تحت المجهر للتعرف على البكتريا .

## 2 - طريقة الوسط الغذائي المائل ( Slant ) method : The agar – slope ( Slant ) method

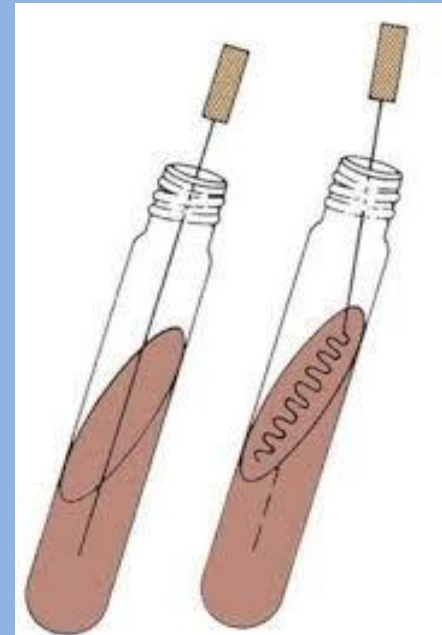
السلانت ( Slant ) عبارة عن انبوبة الاختبار test tub المحتوية على وسط غذائي متصلب بصورة مائلة وتستعمل هذه الطريقة لعزل وحفظ المزارع البكتيرية (يستعمل السلانت في حفظ مزارع الاحياء المجهرية اكثر من اطباق بتري ( petri dishes ) . ان تصلب الوسط الغذائي بصورة مائلة في الانبوبة يعطي مساحة اكبر لنمو البكتريا عليه وسهولة تلقيح الوسط الغذائي بالاحياء المجهرية وكما في الخطوات التالية :

1- ذوب الوسط الغذائي Nutrient agar الموجود في انبوبة اختبار ثم ضع الانبوبة بصورة مائلة واترك الوسط الغذائي حتى يتصلب على شكل مائل .

2- بعد تصلب الوسط الغذائي جيدا لقم سطح الجزء المائل من الوسط الغذائي داخل الانبوبة بالبكتريا المراد فحصها . تتم عملية التلقيح بنقل قطرة بواسطة لوب معقم الى سطح الوسط ثم نشرها بشكل حلزوني على سطح الاكر المائل .

3 - احضن الانبوبة على حرارة ( 35 – 37 ) °م ولمدة 48 ساعة .

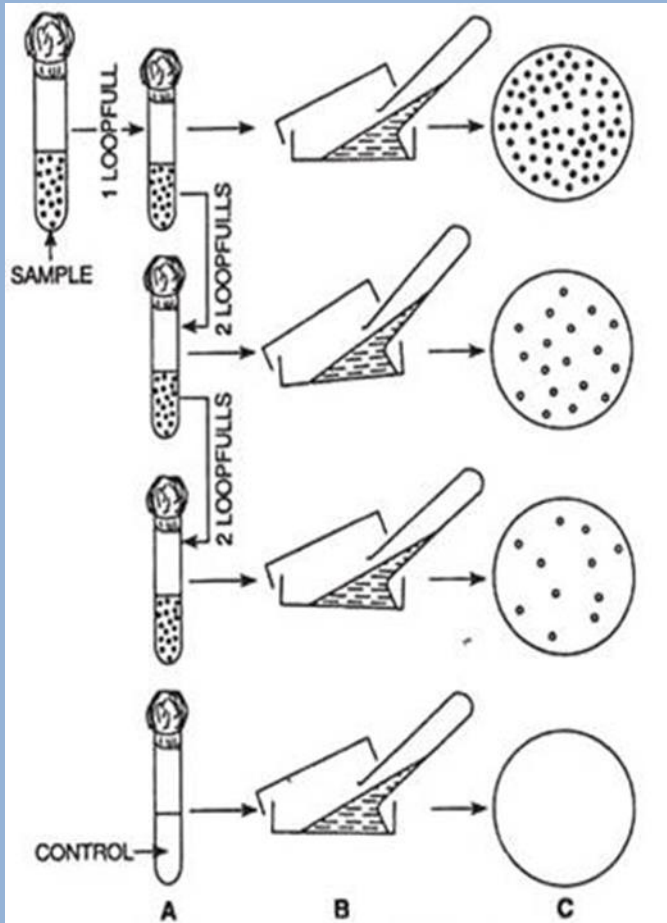
4 - بعد فترة الحضانة لاحظ النمو على السلانت وصبغ بطريقة جرام وافحص تحت المجهر .



### 3 - طريقة الاطباق المصبوبة : The pour plate method

تستعمل هذه الطريقة للحصول على مزرعة نقية من مزرعة نامية عليها انواعا مختلفة من الاحياء المجهرية .  
تختلف هذه الطريقة عن طريقة الخطوط بأن نقل الاحياء المجهرية الى الوسط الغذائي يتم والوسط بحالة سائلة وقبل  
تصلبه وتجري الطريقة كما يلي :

- 1 - ذوب الوسط الغذائي Nutrient agar والموجود في اربعة انابيب اختبار كل انبوبة تحتوي على 12 - 15 سم<sup>3</sup> من الوسط الغذائي واحفظ الانابيب في حمام مائي على درجة حرارة 45 °م .
- 2- انقل بواسطة اللوب وبصورة معقمة قطرة من المحلول المحتوي على البكتريا المراد فحصها الى احد انابيب



الاختبار ورقم هذه الانبوبة برقم 1 مع رج الانبوبة جيدا .

3 - انقل وبصورة معقمة ايضا قطرة بواسطة اللوب من الانبوبة

رقم 1 الى الانبوبة الثانية ورجها جيدا واعطها رقم 2 .

4 - كرر العملية الى الانبوبة رقم 3 ثم رقم 4 .

اترك الانبوبة 4 بدون تلقح تستعمل للمقارنة .

5 - اسكب محتويات كل انبوبة اختبار في طبق معقم .

اتركها حتى تتصلب ويجب اجراء العملية بسرعه

لكي لا يتصلب الوسط الغذائي وهو في الانبوب .

6- احضن الاطباق في درجة حرارة ( 35 - 37 ) °م ولمدة 48 ساعة .

7 - بعد فترة الحضانة قارن كثافة نمو المستعمرات على الطبق

ثم صبغ بطريقة جرام وافحص تحت المجهر