

مبادئ الاحياء المجهرية العملي

الاستاذ المساعد سهيله جواد كاظم

قسم علوم التربة والموارد المائية

كلية الزراعة/ جامعة البصرة

العراق

suhailajowad@gmail.com

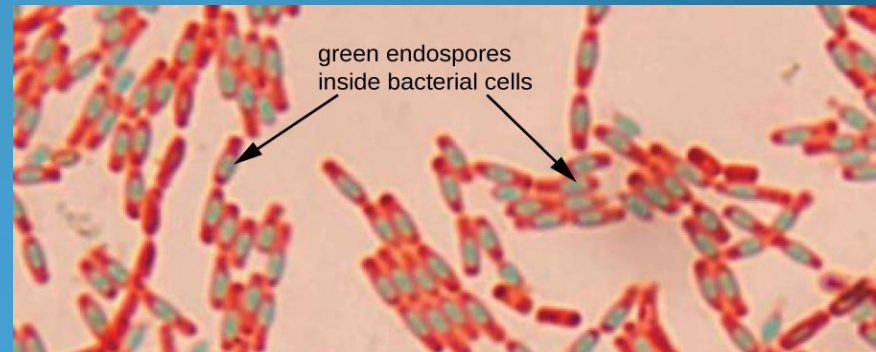
تصبغ بعض تراكيب البكتريا :

تصبغ السبورات : Spore staining

تنتج بعض انواع البكتريا اجساما مقاومة للعوامل والظروف الخارجية المحيطة بها وهي السبورات (Endospores)، وتعود اغلب انواع البكتريا المنتجة للسبورات الى جنسي الـ *Bacillus* والـ *Clostridium* و يعود تصبغ السبورات الى التصبغ التركيبي (Structural staining) تعتبر السبورات مقاومة للتصبغ العادي للبكتريا وعليه يجب استعمال صبغات خاصة مع الحرارة لتثبيت هذه الصبغات وعند تصبغ السبور فإنه يصبح من الصعب ازالة الصبغة منه .
طريقة العمل :

- 1 - حضر وثبت نموذج البكتريا المراد فحصه على الشريحة الزجاجية .
- 2- اصف صبغة Malachite green الى الشريحة ويفضل وضع ورقة صغيرة كورقة الترشيح فوق اللوحة ثم تشبيعتها بالصبغة الخضراء .
- 3 - سخن الشريحة الزجاجية حتى بداية تبخر الصبغة بعدها واصل التسخين لمدة 3-4 دقائق ويجب ان لا تدع الصبغة تجف على الشريحة اثناء التسخين وذلك بإضافة المزيد من الصبغة وكلما احتاج الامر الى ذلك .
- 4 - اغسل الصبغة بالماء ثم اصف صبغة السفرانين واطركها مدة نصف دقيقة .
- 5 - اغسل الصبغة بالماء وجفف الشريحة وافحص تحت المجهر حيث تظهر السبورات في وسط البكتريا مصبغة باللون الاخضر بينما تتصبغ باقي محتويات الخلية باللون الاحمر الوردي .
- 6- ارسم ما تشاهده تحت المجهر مدونا كافة الملاحظات عن النموذج

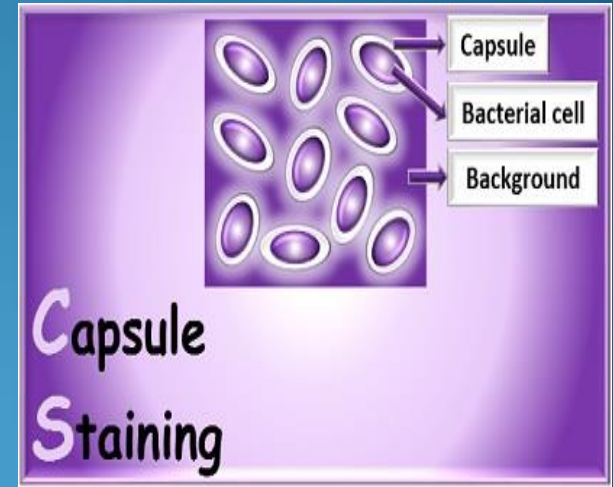
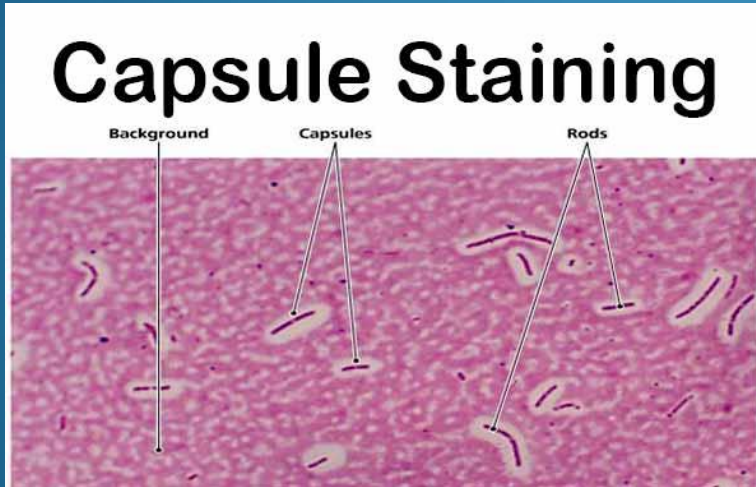
Position	Form	Deformation
Central	Spherical	Not Bulging
Subterminal	Elliptical	Bulging
Terminal	Elliptical	Bulging



تصبغ الكبسول Capsule staining

الكبسول عبارته عن الغلاف الصمغي اللزج الذي يحيط ببعض أنواع البكتريا وخاصة المرضية منها لحماية من تأثير العوامل الخارجية كطفيل الفايروس ومن بين أنواع البكتريا المحتوية على الكبسول هي بكتريا *Klebsiella pneumoniae* وبعض الـ *Bacillus* طريقة العمل :

- 1- حضر وثبت نموذج البكتريا المراد فحصه على الشريحة الزجاجية .
- 2- اصف صبغة الـ Crystal violet الى الشريحة واتركها لمدة 5 دقائق .
- 3- اغسل الصبغة بمحلول كبريتات النحاس $20\% \text{CuSO}_4$
- 4- جفف الشريحة الزجاجية وافحصها تحت المجهر يظهر الكبسول باللون الازرق الفاتح وبقية محتويات البكتريا مصبغة باللون الازرق الغامق .
- 5- ارسم ما تشاهده تحت المجهر مدونا كافة الملاحظات عن النموذج .



تصبغ البكتريا المقاومة للأحماض (Ziehl-Neelsen staining) Acid fast staining

تحتوي بعض انواع البكتريا التابعة لجنس الـ *Mycobacterium* مثل البكتريا التي تسبب السل *Mycobacterium tuberculosis* على نسبة عالية من المواد الدهنية مما يجعلها مقاومة للتصبغ بالطرق الاعتيادية . ولكن يمكن تصبغ هذه البكتريا باستعمال بعض الصبغات الخاصة مع الحرارة وبعد اخذ هذه البكتريا للصبغة فإنه يصعب ازلتها منها حتى باستعمال الكحول الحامضي ولذلك يسمى هذا النوع من البكتريا بالبكتريا المقاومة للأحماض Acid fast bacteria . يعود تصبغ البكتريا المقاومة للأحماض الى التصبغ التمييزي (Differential staining)

طريقة العمل :

- 1- حضر وثبت نموذج البكتريا المراد فحصه على الشريحة الزجاجية .
- 2 - اصف صبغة الـ Carbofuchsin الى الشريحة يفضل وضع ورقة صغيرة كورقة الترشيح فوق اللطخة ثم تشبيعها بالصبغة .
- 3- سخن الشريحة الزجاجية حتى بداية التبخر بعدها واصل التسخين لمدة 3- 5 دقائق مع اضافة صبغة الى الشريحة كلما احتاج الامر الى ذلك لمنع جفاف الصبغة .
- 4 - اغسل الصبغة بالماء ثم اصف كحول حامضي ($\text{Alcohol} + \text{HNO}_3$) واتركه لمدة 10 - 30 ثانية .
- 5 - اغسل بالماء ثم اصف صبغة الـ Methylene blue واتركها لمدة 30 - 45 ثانية .
- 6 - اغسل الصبغة بالماء ثم جفف الشريحة وافحصها تحت المجهر حيث تظهر البكتريا المقاومة للأحماض مصبغة باللون الاحمر بينما غير المقاومة مصبغة باللون الازرق .
- 7 - ارسم ما تشاهده تحت المجهر مدونا كافة الملاحظات عن النموذج

Acid Fast Staining technique

