**التربة كوسط لنمو الأحياء المجهرية**

يقصد بمصطلح التربة soil ذلك الجزء الهش من قشرة الأرض والذي يتمثل بمستويات أفقية تكونت نتيجة لتأثير عوامل فيزيائية وكيميائية. تختلف الترب في قوامها (soil texture) من حيث نسبة مكوناتها من الحصى و الحجر والغرين والطين والرمل إذ إن نسبة هذه المكونات تؤثر في وجود وكثافة الأحياء المجهرية. من المعروف ان الأحياء المجهرية تحتاج الى كمية من الماء تسمى (active water ) كي تقوم بفعالياتها الحيوية , لذلك تكون كثافتها اعلى في الترب الثقيلة قياسا بالترب الخفيفة.

**تركيب التربة**

تتركب التربة من خمس مكونات رئيسية هي :-

1. **المادة المعدنية :**

ونسبتها اقل قليلا من نصف حجم التربة الكلي وتنشا من تفتت الصخور وتحللها,وهي تؤثر على معدل تحول العناصر الغذائية الى المركبات الاولية وعلى تهوية التربة ومعدل احتفاضها بالماء.

**3,2- الماء والهواء :** ويشكلان حوالي 50% من حجم التربة وهو مايعرف بالفراغات البينية.

**4- المادة العضوية :** وتشكل 3-6 % من حجم التربة.

**5- الكائنات الحية :** تشكل اقل من 1% من حجم التربة.

**عزل وعد الأحياء المجهرية الموجودة في التربة:**

Isolation and enumeration of soil microorganisms

 يتأثر وجود وعدد الأحياء المجهرية في التربة بعوامل بيئية كثيرة منها عوامل فيزيائية وكيميائية وحيوية وتكون اعداد الأحياء المجهرية اكثر في المستوى القريب من سطح التربة ضمن اعماق تتراوح بين 5-15 سم لان اغلبها هوائية المعيشة اجبارا Obligate aerobic وبعضها هوائية اختياريا Facultative aerobic .

**تقسم الأحياء المجهرية في التربة الى مجاميع التالية:-**

**البكتيريا Bacteria والبكتيريا الخيطية Actinomycetes والاعفان Molds والخمائر Yeast والطحالب Algae والابتدائيات Protozoa**

**جمع العينات Samples collection**

يجب أن تخضع عملية جمع عينات التربة المعدة لعزل الأحياء المجهرية منها إلى عدة نقاط هي:

1. **العشوائية Randomization:**

يجب أن تجمع عينة التربة بطريقه عشوائية لكي تعطي تمثيلا حقيقيا للمجتمع الميكروبي في موقع محدد لان عملية الاختيار وتحديد موقع محدد لا يعين المجتمع الميكروبي بشكل حقيقي.

1. **الحجم Size:**

يجب أن يكون حجم العينة المراد دراسة المحتوى الميكروبي لها بحجم مناسب (100غم-1 كغم) من كل موقع من المواقع الخاصة بالدراسة .

1. **الحفظ Preserving:**

يجب أن تحفظ العينات بدرجة حرارة (4oم) أو بدرجة حرارة الغرفة لحين الاستخدام.

1. **الموقع Location:**

إن عملية اختيار الموقع عمليه مهمة وهي واحده من النقاط الاساسيه التي من خلالها يتم إعطاء بيانات تعزز المجتمع الميكروبي لذلك الموقع .

1. **التعليم والتاريخ Labeling & Date:**

تعد عملية تعليم العينات ووضع تاريخ على الحاويات التي تحتوي على النموذج (التربة) مهمة جدا لكي لاتختلط العينات الماخوذه من مناطق مختلفة وفي أزمان مختلفة.

**العوامل البيئية المؤثرة على الأحياء المجهرية:** وتشمل العوامل الرئيسية:-

**الرطوبة والتهوية و درجة الحرارة و المادة العضوية والحموضة (pH) والعناصر الغذائية**

1. **تأثير الرطوبة**: أنها توفر قدرا مناسبا من الرطوبة المطلوبة للتكاثر الخضري للخلايا المايكروبية.

و تأثيرها على معدل تبادل الغازات والتهوية .مستوى الرطوبة الأمثل لنشاط البكتيريا الهوائية هو( 50-75%)

1. **تأثير التهوية**: تنتشر البكتيريا الهوائية في الطبقات العليا للتربة وتكون سائدة على البكتيريا اللاهوائية. لكن بزيادة العمق او زيادة الرطوبة تتحول الضر وف إلى اللاهوائية مما يشجع نمو الأنواع اللاهوائية.
2. **تأثير الحرارة**: تتحكم الحرارة في جميع الفعاليات الحيوية وقد قسمت الاحياء الى وسطيةالحرارة (mesophiles ) تنمو بين 25-35 م والأنواع المحبة للبرودة (psychrophiles) في درجات اقل من 20 م وأنواع محبة للحرارة العالية (thermopiles) وهي واسعة الانتشار وتنمو بين 45-65 م.
3. **تأثير المادة العضوية**: تزداد أعداد الأحياء بزيادة محتوى التربة من المواد العضوية, ويزداد نشاطها عند إضافة المواد الكاربونية او التسميد.
4. **تأثير دالة الحموضة** : معظم الاحياء تفضل الاوساط المعتدلة لذلك تقل اعدادها في الترب القلوية او الحامضية ولكنها لاتختفي تماما, فقد وجدت اعداد كبيرة منها في ترب حامضية وصل اسها الهايدروجيني الى (pH=3).
5. **العناصر المعدنية** : تحتاح الاحياء بالاضافة الى المواد العضوية الى المواد غير العضوية, ويكون لاضافة الاسمدة والمغذيات المعدنية اثرا مزدوجا على النبات والاحياء المجهرية.
6. **عزل البكتيريا Isolation of bacteria**

**اسم التجربة Isolation and numeration of bacteria from soil**

تحتل البكتيريا كمجموعة رئيسية من كائنات التربة مكانا بارزا , فهي أكثر المجموعات تواجدا في التربة وتتفوق عددا على باقي المجاميع مجتمعة.

تتميز البكتيريا عن باقي المجاميع التي تشترك معها في نفس العمليات الحيوية في التربة بسرعة تكاثرها وقدرتها الفائقة على تحليل أنواع كثيرة من المواد الطبيعية .ويمكن تقسيم بكتيريا التربة إلى قسمين رئيسيين:

 **أ- البكتيريا المتأصلة في الموطن (Indigenous) :-**

وهي التي تستوطن التربة بصورة طبيعية ودائمة وتساهم بفعالية في النشاطات الكيميائية الحيوية فيها.

ب**- البكتيريا الدخيلة على التربة (Invaders):-**

وهي التي تصل التربة مع الأمطار أو الأنسجة المريضة أو مخلفات الإنسان والحيوان. وتظل حية لفترات قصيرة ولا تشارك بفعالية في عملية تحويل العناصر في التربة.

لا توجد البكتيريا حرة في محلول التربة عادة وإنما ملتصقة بحبيباتها او متجمعة في المواقع المناسبة الدقيقة داخل التربة او ملتصقة بالإفرازات المخاطية للبكتيريا على سطح التربة.

**الأجناس البكتيرية الشائعة في التربة:**

 يمكن ملاحظة البكتيريا البيئية العصوية المكونة للسبورات مثل جنس *Bacillus* و *Clostridium* والعصوية غير المكونة للسبورات مثل جنس *Arthrobacter* وذات الأحجام المختلفة والكروية والعصوية القصيرة التي تتحول إلى الأشكال الكروية وأنواع تابعة ل *Pseudomonas* و كذلك الأنواع الرمية للجنس *Corynebacterium* .

وتنتشر الأنواع الممرضة للإنسان مثل*Salmonella* ,*Streptococcus*, *Staphylococcus* وغيرها والممرضة للنبات مثل *Erwinia*, *Agrobacterium*.

**الغرض من التجربة:**

عزل وعد وتشخيص الأنواع البكتيرية الموجودة في عينة التربة ودراسة صفاتها المظهرية باستخدام الاوساط الزرعية.

**المواد المستخدمة:**

1. يستخدم الوسط (Soil Extract Agar) أو وسط الاكار المغذي Nutrient agar

2. أنابيب اختبار, ماء مقطر معقم , , اطباق معقمة,

**طريقة العمل:**

**طريقة جمع عينات التربة Soil sampling :**

1. تؤخذ العينة باستعمال ملعقة نظيفة بعد قشط (1) سم من سطح التربة وبعمق يتراوح بين (5-10) سم.
2. كمية العينة المأخوذة نحو(500)غم.
3. توضع في قناني معقم وتسجل عليه كافة المعلومات.
4. تنقل الى المختبر لاجراء الدراسات عليها. في حال عدم امكانية فحصها مباشرة تحفظ في الثلاجة.
5. يعلق 1غم من نموذج التربة في 10 مل من الماء المقطر المعقم ويمزج جيدا ثم يترك لتترسب التربة.
6. تعمل سلسلة تخافيف عشرية لراشح التربة حتى (10-6) بوزن (ا غم) من كل نموذج من النماذج المختلفة (تربة زراعية وتربة رملية) ويضاف إلى أنابيب اختبار حاوية على (9 مل) من الماء المقطر المعقم بذلك يتم الحصول على تخفيف 1/10 ( 10-1) ثم تعمل التخافيف التالية 1/100 وهكذا.
7. تنقل كميه (0.1 مل) من كل أنبوب إلى طبق زجاجي معقم ثم يصب الوسط الغذائي (درجة حرارة الوسط 50°م) تخلط العينة مع الوسط بتحريك محتويات الطبق أفقيا باتجاه وعكس عقارب الساعة مباشرة بعد صب الوسط ثم يترك ليتصلب او بطريقة النشر على الوسط الصلب.
8. تحضن الأطباق في حاضنة بدرجة (30°م) مدة 1-2 يوم.

**النتائج**

* + 1. تلاحظ المستعمرات وتعد ثم تعمل مسحه من تلك المستعمرات وتصبغ بصبغة الابواغ أو بصبغة كرام. تلاحظ الخلايا الخضرية والخلايا المكونة للابواغ وكذلك موقع البوغ في الخلية.
		2. لحساب العدد الكلي للبكتريا؛ تعد المستعمرات البكتيرية في كل طبق ويسجل معدل المستعمرات لمكررات كل تخفيف (المكررات ثلاث). تهمل الأطباق التي تحوي عدد مستعمرات اقل من 30 وأكثر من 300.
		3. تسجل النتائج وينظم جدول لهذا الغرض معدل عدد المستعمرات ألمقابله لكل تخفيف وتدون مجموعة الأحياء ألمجهريه ثم يحسب عدد الخلايا في 1 غم من ألتربه الجافة بتطبيق القانون التالي:

**عدد الخلايا في 1 غم تربة = متوسط عد المستعمرات × (مقلوب التخفيف )**

 **وزن نموذج التربة (غم)**

**ملاحظة:**

الصفات الواجب ملاحظتها هي:

**\* شكل المستعمرات على الوسط الصلب:**

(مسطحه، مرتفعه، محدبه، متعرجة،متموجة، متشعبة، .......الخ)

 