اساسيات الاحياء المجهرية/الجزء العملي لطلبة المرحلة الثانية ....المحاضرة (4)

الاوسـاط الزرعيـة Culture media

تعرف الاوساط الزرعية بانها البيئة التي تستعمل لتنمية الاحياء المجهرية المختلفة في المختبر . وتحتوي عادة على جميع المكونات الضرورية للنمو، وعند تحضير الوسط الزرعي يجب تهيئة كل العومل الضرورية للنمو كتوفير نسبة الرطوبة ورقم الحموضة والضغط الاوزموزي والشد السطحي وحالة الاكسدة والاختزال بالإضافة الى خلوه من المواد المانعة لنمو الاحياء المجهرية . ومهما اختلفت هذه الاوساط في التركيب فلابد من احتوائها على مصادر غذائية رئيسية مثل الكربون والنتروجين والمعادن وعوامل النمو كالفيتامينات والعوامل المساعدة الاخرى.

ويمكن تقسيم الاوساط الزرعية من حيث محتوياتها الى :

1. **الاوساط الطبيعية Natural media**

وهي الاوساط التي تكون مكوناتها مجهولة التركيب والتركيز مثل فضلات الخبز ، فضلات الفاكهة والبطاطا والدم.

2. **الاوساط الصناعية(الكيميائية) Synthetic or chemical media**

وهي الاوساط التي تكون مكوناتها معلومة التركيب والتركيز مثل MacConky agar و Lactose broth . وتعد هذه الاوساط بيئات غذائية غنية وجيدة لتنمية مدى واسع من البكتريا والأحياء المجهرية الاخرى ، وتكون هذه الاوساط اما بحالة صلبة او شبه صلبة او سائلة ، وهي مركبة تركيب كيميائي من مواد عضوية مختلفة ومصدر هذه المكونات في الاوساط اما يكون حيواني او نباتي او من الاحياء المجهرية او مواد كيميائية . ومن المواد الداخلة في تركيب هذه الاوساط:

- مستخلص لحم البقر Beef extract
- مستخلص الخميرة Yeast extract
- الببتون Pepton

وان غالبية الاوساط الصناعية تحتوي على نوع واحد من هذه المواد او جميعها.

3. **الاوساط شبه الصناعية Semi-synthetic media**

وهي الاوساط التي تكون بعض مكوناتها معلومة التركيب والتركيز وبعضها الاخر مجهولة التركيب والتركيز ، مثل الوسط Potato dextrose agar .

انواع الاوساط الزرعية حسب وظيفتها (او عملها):

وتقسم هذه الاوساط الى:

1. **الاوساط الانتقائية (او الاختيارية) Selective media** : وهي الاوساط التي تسمح بنمو انواع معينة من البكتريا ولا تسمح بنمو انواع اخرى بسبب اضافة بعض المواد الى الوسط الغذائي مثل الاصباغ كالوسط MacConky agar الذي يسمح بنمو البكتريا السالبة لصبغة $Gram^-$ ولا يسمح بنمو البكتريا الموجبة لصبغة $Gram^+$.
2. **الاوساط التفريقية Defferential media** : وهي الاوساط التي يمكن من خلالها تمييز الانواع البكتيرية التي تكون نامية على الطبق نفسه مثل الوسط Blood agar base فهذا الوسط يضاف له 5-7% دم بشري او حيواني ويمكن من خلاله التمييز بين البكتريا المحلله للدم Hemolytic وغير المحللة للدم . اذ تتميز البكتريا المحللة للدم بقدرتها على تحليل كريات الدم وتكوين مناطق رائقة حول مستعمراتها ، بينما البكتريا غير المحللة للدم لا تكون مثل هذه المناطق الرائقة.
3. **اوساط العد Numeration media**: وهي الاوساط التي تحتوي على كافة المتطلبات الضرورية لتنمية اكبر عدد من الانواع البكتيرية او الاحياء المجهرية الاخرى لغرض عدها او حسابها مثل الوسط Nutrient agar .
4. **اوساط الغَناء Enrichment media** :وهي الاوساط التي تسمح للبكتريا بالنمو ولكن بعد اضافة بعض المواد والعناصر التي لاتستطيع بعض انواع البكتريا تصنيعها ولا يمكنها الاستغناء عنها مثل الفيتامينات وغيرها من المكونات الاخرى .
5. **اوساط الحفظ والادامة Maintenance media** : وهي الاوساط التي تسمح للبكتريا بالنمو ولكن بصورة بطيئة حتى نتمكن من حفظها لأطول فترة ممكنة .
6. **اوساط تشخيص البكتريا Characterization media** : وتستخدم للكشف عن خواص معينة في البكتريا وأيضا تحديد نوع النمو الناتج كأن يكون تكوين غاز او تغيير لون البيئة .
7. **اوساط العزل Isolation media** : وهي او ساط زرعية تحتوي جميع المكونات الضرورية لنمو الاحياء المجهرية.

تقسيم الاوساط الزرعية حسب قوامها : وتقسم الى

1. **الاوساط السائلة** : وهي الاوساط الناتجة من اذابة مكونات الغذاء في الماء المقطر . وتعبا داخل انابيب اختبار او دوارق زجاجية .

2. **الاوساط الصلبة** : هي نفسها الاوساط السائلة لكن تضاف لها مواد مصلبة مثل الجيلاتين والاكار Agar . ويستخدم الاكار بكثرة في مختبرات الاحياء المجهرية اذ يعتبر مادة مصلبة وهو عبارة عن مواد كربوهيدراتية تستخرج من بعض الطحالب الحمراء الموجودة في اعماق البحار وخاصة التابعة للجنس Geledium .

ان فائدة الاوساط الصلبة هي للحصول على مستعمرات مفردة ونقية . وسبب استخدام الاكار امتلاكه عدة مميزات من اهمها ذوبانه في درجة حرارة اعلى من 96 °م ولا يتصلب الا بدرجة حرارة اقل من 42-45 °م ولا يمكن اعادة تذويبه الا بدرجة حرارة 96 °م فما فوق . ولهذه الخاصية اهمية لبعض الانواع البكتيرية التي تنمو بدرجات الحرارة العالية مثل *Bacillus stearothermophilus* .

يضاف الاكار بنسبة 15% الى الوسط الزرعي لجعل الاخير صلبا ، وبنسبة 1-2% لجعله شبه صلب .

طريقة تحضير الاوساط الزرعية:

1. توزن مكونات الوسط بدقة وتذاب في حجم معين من الماء المقطر الموجود في دورق مخروطي حسب تعليمات الشركة المجهزة .
2. يوضع الدورق في حمام مائي بدرجة حرارة 96°م لإذابة الاكار وللحصول على خليط متجانس
3. يعدل الـ pH باستخدام جهز pH meter اذ انه لكل وسط زرعي pH معين . ففي حالة البكتريا يكون متعادلا (7) اما في حالة الخمائر والاعفان فيكون حامضيا (4.5-3.5)
4. يعقم الوسط الغذائي في جهاز Autoclave او حسب تعليمات الشركة المجهزة .
5. يبرد الوسط بوضعه في حمام مائي بدرجة حرارة 45 °م فما فوق لمنع تصلبه.
6. يصب الوسط الزرعي في اطباق بتري ويترك الى ان يتصلب . او يحفظ في الثلاجة لحين استخدامه.

مدرسة الجزء العملي
م. م. شمائل عبدالعالي
قسم علوم الاغذية