المحاضرة1

علم الاحياء المجهرية Microbiology :

هو العلم الذي يختص بدراسة الأحياء المجهرية من ناحية الشكل وطرق تجمعها وعلاقتها مع بعضها ومع الكائنات الأخرى , قد يكون بعضها مفيد أو سام أو مرضي .

يضم علم الاحياء المجهرية عدة كائنات مثل البكتيريا Bacteria والفطريات Fungi والطحالب Algae والابتدائيات Protozoa والفيروسات Viruses .

الارشادات العامة الواجب مراعاتها في مختبر المايكروبايولوجي :

يعتبر مختبر الاحياء المجهرية من المختبرات الرئيسية في جميع المؤسسات سواء كانت تعليمية او بحثية او علاجية وهناك بعض التوجيهات الهامة لضمان سلامة وتحقيق الهدف باقل قدر ممكن من الخسائر او اعلى قدر من الجودة وهي مايلي :

1- **يجب اعتبار كل عينة تصل الى المختبر معدية والتعامل معها على هذا الاساس**
2- **يجب اعتبار وجود خطر كامن في جميع المواد الكيميائية لذا يجب التعامل معها حسب توصيات الشركة المصنعة**
3- **الالتزام باستعمال الملابس والاقنعة الواقية واتباع توجيهات وارشادات ذوي الخبرة في المختبر**
4- **عدم الاكل والشرب داخل المختبر او وضع المأكولات والمشروبات في ثلاجات المختبر**
5- **عدم استخدام الفم او لمس العينين اثناء العمل داخل المختبر**
6- **عدم ادخال الادوات الشخصية والحقائب في المختبر حرصا على عدم تلوثها**
7- **عدم لمس او تحريك أي جهاز او اداة في المختبر الا بعد التعرف عليها وشرح طريقة وكيفية استخدامها بواسطة المشرف**
8- **ارتداء الصدرية الخاصة بالمختبر**
9- **كتابة المعلومات على الاطباق والانابيب بطريقة مثالية (على ظهر الطبق وليس على الغطاء)**

10-اتباع الاسلوب السليم في التخلص من أي مادة حيوية او كيميائية

11-تنظيف وتطهير مكان اجراء التجارب المختبرية بمادة معقمة قبل وبعد التجربة

12- في حالة تلوث مكان العمل او انسكاب أي مادة يجب اعلام المشرف فوراً

13- غسل اليدين جيداً بالماء والصابون وتعقيمهما بمادة معقمة قبل مغادرة المختبر

الشروط الواجب توافرها في مختبر المايكروبايولوجي :

اولاً : <u>الموقع /</u>

يجب ان يقع المختبر في مكان معزول بعيد عن تيارات الهواء تلافياً لحدوث التلوث وان يراعى في تصميم بناؤه اختيار موقع وشكل نوافذه بحيث تقلل قدر الامكان من تلوث جو العمل

ثانياً : ان تحتوي مختبرات المايكروبايولوجي على اجهزة ومواد مختلفة مثل :

1- غرفة العزل Isolation Chamber

وهي عبارة عن غرفة زجاجية تستخدم لاجراء عمليات العزل والتنقية والعدوى وتكون مجهزة بمصابيح اضاءة ومفرغة هواء ويستحسن وجود مصباح للاشعة فوق البنفسجية لغرض التعقيم

غرفة العزل

2- الحاضنة Incubator

جهاز يمكن التحكم في درجة حرارته وتستخدم للحصول على نمو جيد للكائنات الدقيقة كالفطريات والبكتريا

الحاضنة

3- الفرن Oven

وهو عبارة عن جهاز كهربائي يمكن التحكم بدرجة حرارته ويستخدم لتعقيم الادوات الزجاجية والمعدنية كما يستخدم في تجفيف العينات المراد قياس نسبة الرطوبة بها مثل التربة او الاجزاء النباتية وغيرها .

4- الثلاجة Refrigerator

تستخدم لحفظ العينات او العزلات الفطرية او البكتيرية او الاوساط الغذائية لحين استعمالها .

5- جهاز التعقيم بالبخار (المؤصدة) Autoclave

وهو عبارة عن اسطوانة معدنية متينة لكي تتحمل الضغط والحرارة وبداخلها يوضع الماء ثم توضع المواد والاجهزه المراد تعقيمها على أرفف خاصة , ويوجد للجهاز غطاء خاص يحكم اغلاقه . ومن المعروف إن الماء يغلي عند 100م تحت الضغط الجوي الاعتيادي, وكلما ترتفع درجة الحرارة داخل الوعاء كلما يرتفع الضغط ايضاً , يتم التعقيم في الاوتوكليف تحت درجة حرارة 121 º م لمدة 15-20 دقيقة

يستخدم هذا الجهاز لتعقيم :

1. **معظم البيئات المغذية (الاوساط الغذائية) التي تتحمل درجات حرارة مرتفعة مثل الآكر المغذي**
2. **الشاش والقماش والقطن**
3. **المزارع الميكروبية للتخلص منها (اتلافها) كمزارع البكتريا او الفطريات**

6- حمام مائي Water Bath : يستعمل لاذابة البيئات الصلبة بعد تعقيمها وتجميدها ويمكن التحكم في درجة حرارته

7- جهاز رج واهتزاز Shaker

8- موازين مختلفة Balances

9- جهاز قياس الاس الهيدروجيني ph meter

10- جهاز طرد مركزي Centerifuge

11- جهاز عد المستعمرات الميكروبية Colony Counter

12- جهاز تقطير الماء Water distillation

13- مواد مختلفة مثل اوعية للنفايات ومحاليل معقمة ومساحيق التنظيف وصابون وفوط للتنشيف

14- مواد اخرى مثل :

أ- ادوات زجاجية : انابيب اختبار Test tubes – ماصات Glass pipettes –شرائح زجاجية ميكروسكوبية Microscopical –اغطية شرائح Cover slikde – اسطوانات مدرجة Measuring Cylinders – دوارق حجميه Conical flasks – بيكرات (كؤوس زجاجية) Beakers – اقماع – اطباق بتري Petri dishes

ب- ادوات غير زجاجية : عدد تشريح اذ تحتوي على الابر والمقصات والسكاكين والملاقط واقلام الكتابة

ج- مصباح اللهب Punsen burner

15- المجهر مثل المجهر الضوئي المركب Compound microscopes

وهو جهاز يتكون من الاجزاء التالية :

1- العدسات العينية Eyepiece (Oculaire)

2- الانبوب الحامل للعدسة العينية Oculaire tube

3- الانبوب الحامل للعدسة الشيئية Objectif tube

4- القرص الدوار الحامل للعدسات الشيئية Tourelle porte – objectife

5- العدسات الشيئية Objectif (Nose piece)

أ- العدسة الشيئية الصغرى .Low power O (10x)

ب- العدسة الجافة الكبرى .High dry power O (40x)

ت- العدسة الزيتية .Oil immersion O (100x)

6- ذراع المجهر Arm

7- المسرح Stage

8- منظمات (محركات العدسات) Knobs

أ- منظم صغير يستخدم مع العدسة الكبرى

ب- منظم كبير يستخدم مع العدسة الصغرى

9- المكثف Condeser

10- مصدر الاضاءة Illumination

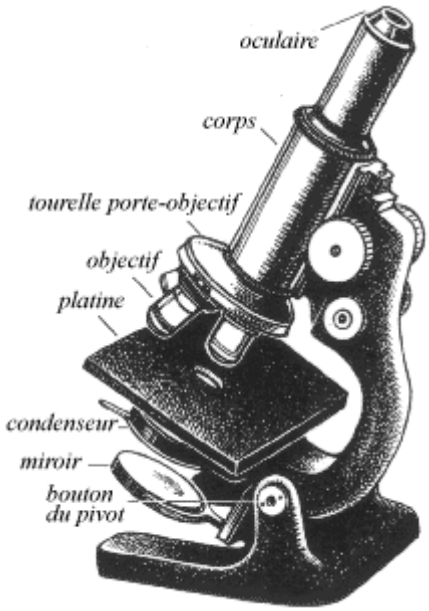
11- القاعدة Base

جهاز قياس الاس الهيدروجيني

جهاز عد المستعمرات

مصباح بنزن

الاوتوكليف



المجهر الضوئي المركب

المحاضرة 2

الاوساط الغذائية (الزرعية) Culture Media

هي عبارة عن البيئة التي تستعمل لتنمية وزراعة الاحياء المجهرية المختلفة في المختبر وتحتوي عادة على جميع المكونات الضرورية للنمو .عند تحضير الاوساط الغذائية يجب تهيئة جميع العوامل اللازمة للنمو كتوفير الرطوبة المطلوبة وPH والضغط الاوزموزي والشد السطحي وحالة الاكسدة والاختزال اضافة الى خلوه من المواد المانعة لنمو الاحياء المجهرية المراد تنميتها , مهما اختلفت هذه الاوساط في التركيب لابد من احتوائها على مصادر غذائية رئيسية مثل الكاربون والنيتروجين وعوامل النمو كالفيتامينات والعوامل المساعدة الاخرى .

تقسم الاوساط الزرعية من حيث محتوياتها الى :

1- **الاوساط الطبيعة Natural Media**

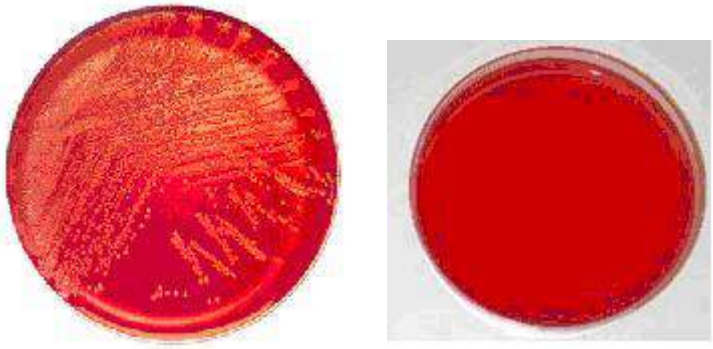
ومن امثلتها الدم والانسجة النباتية والحيوانية والحليب بعد ازالة الدهن منه (اي تستعمل بعض المواد الموجودة في الطبيعة كوسط غذائي) علماً ان بعض الكائنات الحية الطفيلية لاتنمو الا على الانسجة الحية او افرازاتها .

2- الاوساط الصناعية او الكيميائية Synthetic or Chemically media
وهي بيئات غذائية غنية وجيدة لزراعة مدى واسع من البكتريا والاحياء المجهرية الاخرى وهذه اما تكون بحالة صلبة او شبه صلبة او سائلة وتكون مركبة تركيب كيميائي من مواد اولية وعضوية مختلفة ويكون مصدر المكونات لهذه الاوساط اما حيواني او نباتي او من الاحياء المجهرية او مواد كيميائية .
من المكونات التي تدخل بكثرة في تحضير مثل هذه الاوساط مستخلص لحم البقر Beaf Extract ومستخلص الخميرة Yeast Extract والببتون Peptone وهو عبارة عن سلسلة من الاحماض الامينية . اغلب الاوساط الصناعية تحتوي على هذه المواد وعند التحضير تضاف لها .

تقسيم الاوساط الزرعية حسب وظيفتها وتطبيقاتها العملية :
1- اوساط الانتقائية (الانتخابية) Selective media
وهي الاوساط التي تحتوي على عناصر غذائية تشجع نمو وسيادة نوع معين من البكتريا وتثبط الانواع الاخرى وهذا النوع من الاوساط يساعد في الحصول على مزرعة نقية من مجموعة متنوعة من الكتيريا, مثل وسط المكونكي MacConkey تستخدم لعزل البكتيريا المعوية *E.coli* (يحتوي على املاح الصفراء يثبط البكتيريا الغير معوية ويحتوي على صبغة حمراء تساعد في التعرف على قدرة البكتيريا على تخمر اللاكتوز) ويعتبر هذا الوسط ايضا وسط مميز Defferential حيث يساعد على تشخيص البكتيريا

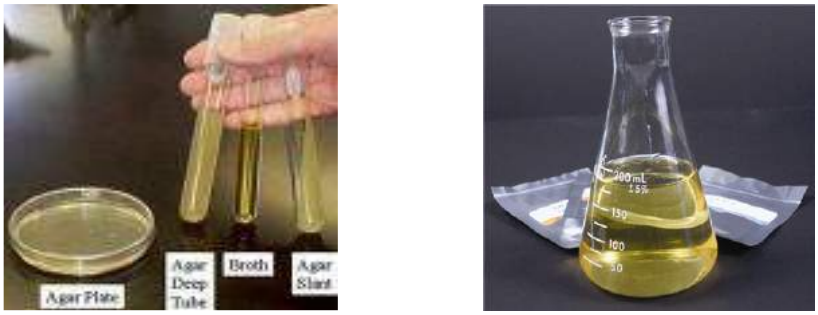
وسط MacConkey

2- اوساط غذائية تفريقية Differential media : وهي الاوساط التي يضاف لها بعض المواد الكيميائية او الطبيعية وتسمح بنمو المجاميع المختلفة من البكتيريا والتفريق بينها , مثل: وسط ايوسين ازرق الميثلين EMB يستخدم لتمييز بكتيريا *E.coli* (مستعمرات ذات مركز اسود وبريق معدني مخضر) عن باقي انواع بكتيريا القولون ووسط اكر الدم Blood Agar حيث ان انواع البكتريا القادرة على تحليل كريات الدم Beta hemolytic تكون مناطق رائقة حول مستعمراتها مثل بكتريا *Sterpto pyogenes* في حين الانواع التي لايمكنها تحليل الدم لاتكون مثل هذه المناطق الرائقة



وسط Blood Agar

3- اوساط الادامة او الحفظ Maintence Media
تستخدم مثل هذه الاوساط لادامة وتنشيط حيوية البكتريا المخزونة مثل وسط Nutrient Broth المرق المغذي ووسط Nutrient Agar الاكر المغذي



وسط Nutrient Broth **وسط Nutrient Agar**

4- الأوساط المدعمة او الغنية Enriched media
وهي نوع من الاوساط المضاف لها مركب معين لتنشيط نوع معين من الاحياء المجهرية التي يصعب نموها وتثبيط بقية الانواع مثل اضافة مادة البترول (الهيدروكاربون) كمصدر وحيد للكاربون لتنشيط البكتريا القادرة على تحليل مادة البترول وتثبيط بقية الانواع .

5- اوساط لعد البكتريا Media for eneumeration of bacteria
وهي اوساط غذائية عامة تستخدم لعد جميع انواع البكتريا ويمكن لجميع الانواع النمو عليها مثل Nutrient Agar

6- اوساط لتشخيص البكتريا Media for characterization of bacteria
تستخدم للكشف عن خواص معينة في البكتريا مثلاً لتحديد نوع النمو الناتج كأن يكون غاز او تغيير لون الوسط .

❖ **المواد التصليبية Solidifying agents :**

تضاف إلى الاوساط الزرعية السائلة بعض المواد لتساعدها على التحول إلى اوساط صلبة تساعد على تكوين مستعمرات فرديه.

وفيما يلي بعض المواد التصليبية التي تضاف إلى الاوساط الزرعية ..

❖ **الجيلاتين Gelatin**

أول ما استعمل كمادة تصليبية في الاوساط الزرعية, وهو عبارة عن مادة بروتينية تحضر بمعاملة عظام الحيوانات, ويندر حالياً استعمال الجيلاتين كمادة تصليبية في الوسط نظراً لأن كثير من البكتيريا يمكن تحليله مائياً, ولأنه ينصهر عند درجات التحضين.

❖ **الآكر Agar**

مادة كربوهيدراتيه تستخلص من بعض الطحالب البحرية الحمراء وهو طحلب *Geladium* , والتي تنمو بوفرة على سواحل بعض الدول مثل اليابان, وهو يتصلب عند درجة حرارة من 42- 45º م, ويمكن إسالته مرة ثانية عند درجة حرارة 98º م, ويتميز عن الجيلاتين كونه لا يمكن تحليله بيولوجيا لأن عدد الكائنات المحللة له قليلة جداً.

❖ **السليكا Silica**

لا تعتبر مادة غذائية فهي عادة تستعمل في تحضير الاوساط اللازمة لتنمية الكائنات الذاتية التغذية, وذلك لمنع نمو البكتيريا غير ذاتية التغذية معها.

النقاط الواجب مراعاتها عند تحضير الاوساط الزرعية :

1- وزن المكونات بدقة و ذوبها بحجم مناسب ومحدد من الماء المقطر
2- ضبط pH الى الدرجة المفضلة لنمو الكائن المجهري (البكتريا تفضل pH المتعادل او القريب من المتعادل في حين الخمائر والاعفان تفضل الـ pH الحامضي) ويكمل الى الحجم المطلوب
3- بعد اتمام التذويب وضبط pH تعقم بـ Autoclave على حرارة 121 °م لمدة 15 دقيقة تحت ضغط 15 بار/انج² او اي طريقة تعقيم مناسبة
4- يحفظ الوسط الغذائي في الثلاجة لحين الاستعمال

من اهم الاوساط الغذائية في مختبر المايكروبايولوجي :

1- وسط Nutrient Agar يتكون من :

- Beef Extract 3gm
- Pepton 5gm
- Agar 15gm
- Distilled Water 1liter

pH = 6.8

2- وسط Nutrint Broth

- Beef Extract 3gm
- Pepton 5gm
- Distilled Water 1liter

pH = 6.8

يساعد في نمو معظم انواع البكتريا وتكاثرها

3- وسط Malt Extract Agar

- Agar 15gm
- Malt 20gm
- Pepton 5gm
- Distilled Water 1liter

pH = 3.5 – 4.0

4- وسط Potato Dextrose Agar

- Potato Extract 200 gm
- Dextrose 20 gm
- Agar 20 gm
- Distilled Water 1liter

pH = 5.5

المحاضرة 3

تصبيغ الخلية البكتيرية

ان تصبيغ البكتريا او الاحياء المجهرية يوضح للباحث مايلي :

1- **فحص الخلايا بصورة دقيقة من حيث الشكل وكيفية الانتظام**
2- **ملاحظة المكونات الخلوية الداخلية والخارجية**
3- **التمييز بين الانواع البكتيرية المختلفة**

كيفية تحضير المسحة البكتيرية واستعمال الصبغة البسيطة The preparation of Bacterial smear and the use of simple stain

تستعمل عادة كمية صغيرة جداً من النمو المايكروبي وتنشر على سطح سلايد نظيف وبعد ان تجف المسحة (اللطخة) Smear تثبت على لهب عادي هذه الخطوة لاتقتل البكتريا بل تخثر المواد البروتينية مثبتةً البكتريا على السلايد وبذلك يكون جاهز للتصبيغ

ان ميكانيكية تصبيغ الميكروبات غير معروفة تماماً لكن يعتقد انها تتم باسلوبين :

1- **اسلوب فيزيائي بواسطة التصاق الصبغة على المايكروب**
2- **اسلوب كيميائي معقد بواسطة تفاعل الصبغة مع محتويات الخلية الميكروبية**

قد يكون التفاعل سلبي (قاعدي) او ايجابي (حامضي) يعتمد على طبيعة الصبغة المستعملة

انواع الصبغات : تعتبر الصبغات المستخدمة في تصبيغ البكتريا مواد كيميائية وتكون :

1- **صبغات قاعدية مثل Crystal Violet او Methylene blue حيث تتحد هذه الصبغات مع المكونات الخلوية ذات الطبيعة الحامضية (+) مثل DNA وRNA وتظهر دليلا ضعيفاً مع التراكيب الداخلية الاخرى**
2- **صبغات حامضية ومنها Carbolfuchsin و Acid fuchsin وCongeo red حيث تتحد هذه الصبغات مع مكونات الخلية ذات الطبيعة القاعدية (-) مثل البروتينات والسايتوبلازم**
3- **صبغات متعادلة**

حيث يغمر الغشاء البكتيرى بمحلول الصبغة لوقت محدد بعدها تغسل الشريحة بالماء ثم تترك لتجف

انواع التصبيغ :

1- **التصبيغ البسيط Simple staining :**

يتم هذا النوع من التصبيغ باستخدام صبغة واحدة فقط من الصبغات المستخدمة في تصبيغ البكتريا حيث تظهر البكتريا بلون الصبغة المستعملة

2- التصبيغ التفاضلي (التمييزي) Differential staining
وتستخدم فيه صبغة كرام Gram staining وتعتبر من اهم واكثر الصبغات شيوعاً في مختبرات المايكروبايولوجي وتكمن اهميتها في فاعليتها من ناحية استعمالها في تشخيص البكتريا خاصة وانها لايمكن تطبيقها على بعض الاحياء المجهرية كالابتدائيات والفطريات عدا الخمائر فهي موجبة لصبغة كرام .

تصبيغ البكتريا بصبغة كرام :

اكتشفت هذه الطريقة من قبل هانس كرام 1884 م عندما لاحظ ان البكتريا تفقد لون الصبغة عند التخلص من الزائد منها وتستعمل هذه الطريقة في تشخيص وتصنيف البكتريا
تقسم البكتريا حسب التصبيغ بصبغة كرام الى مجموعتين :
1- بكتريا موجبة لصبغة كرام G^+ تظهر تحت المجهر باللون البنفسجي
2- بكتريا سالبة لصبغة كرام G^- تظهر تحت المجهر باللون الاحمر الوردي
يرجع الفرق بين الصفتين الموجبة والسالبة اعتماداً على مكونات الجدار الخلوي للبكتريا

طريقة العمل :

1- يتم اضافة صبغة Crystal Violet (الصبغة الاساسية) لمدة دقيقة الى اللطخة بعدها تغسل بالماء حيث تصطبغ البكتريا القادرة على امتصاصها
2- اضافة محلول اليود المخفف Iodine solution لمدة دقيقة واحدة هذا المحلول يقلل من قابلية ذوبان صبغة C.V. داخل الخلية بارتباطه مع الصبغة لتكوين معقد الصبغة واليود
3- اضافة Ethanol او Aceton (95) % لمدة نصف دقيقة بعدها يغسل بالماء لازالة معقد الصبغة واليود
4- اضافة صبغة السفرانين Safranin (الصبغة الثانوية) لمدة نصف دقيقة ثم تغسل بالماء
5- تجفف الشريحة بالهواء او بورقة تنشيف وتفحص تحت المجهر

الية صبغة كرام :

1- تختلف البكتريا لتقبلها الصبغة الرئيسية والثانوية
2- جدار الخلية البكتيرية الموجبة لصبغة كرام اكثر سمكاً من جدار الخلية السالبة لصبغة كرام من حيث التركيب الكيميائي

ملاحظة :

1- يحتوي جدار البكتريا الموجبة لصبغة كرام على طبقة سميكة من الببتيدوكلوكان (متعدد السكريات مرتبطة مع الببتيدات) التي يسبب لها الكحول ازالة وانكماش جدارها بحيث يخفض من معدل فقد الصبغة الرئيسية ومن ثم تصطبغ باللون الاساسي البنفسجي
2- الغشاء الخارجي لجدار البكتريا السالبة لصبغة كرام يحتوي على بروتين وسكريات متعدده ودهون مرتبطة بها وطبقة غير سميكة من الببتيدوكلوكان اذ

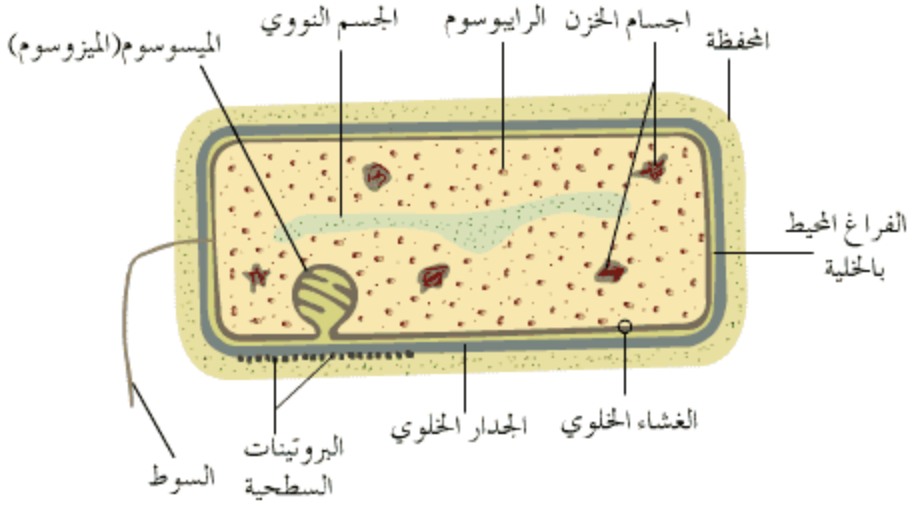
يعمل الكحول على اذابة الدهون مما يؤدي الى فقد الصبغة الاساسية وتلون الجدار بالصبغة الثانوية (اللون الاحمر)

المحاضرة 4

تصبيغ اجزاء الخلية البكتيرية Bacterial structure staining

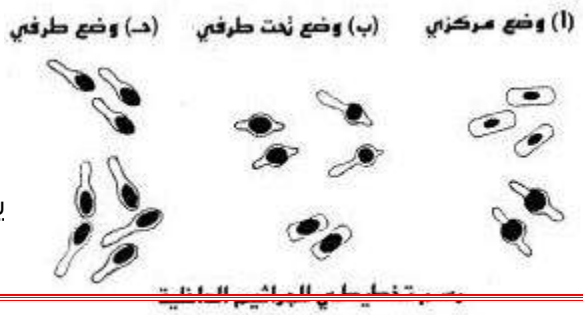
الخلية البكتيرية : تتركب الخلية البكتيرية من الطبقة السطحية والبروتوبلاست , تشمل الطبقة السطحية الاسواط (Flagella) والاهداب (Fimbriae or Pili) والطبقة اللزجة أو الكبسول (Slime layer or Capsule) و جدار الخلية .

اما البروتوبلاست فانه يقع داخل الجدار الخلوي ويتكون من الغشاء البروتوبلازمي والسايتوبلازم والمادة النووية (النواة البدائية) والمواد المخزنة والرايبوسومات والفجوات والجراثيم الداخلية(Endospore) في البكتريا المتجرثمة .



1- تصبيغ السبور Spore staining

هي عبارة عن أجسام بيضاوية الشكل صغيرة الحجم تتكون عند بعض أنواع البكتيريا القادرة على ذلك في حالة تعرضها لظروف قاسية ووظيفتها المقاومة، فإذا ما تحسنت الظروف تعود الأبواغ لتتحول إلى خلايا خضرية .و توجد عادة في بعض أنواع البكتيريا العصوية و هي على درجة كبيرة من المقاومة للظروف المحيطة مثل الحرارة المرتفعة والبرودة والجفاف والضغط الأسموزي المرتفع والمواد الكيميائية . وتتكون الجرثومة الداخلية في هذه الأنواع من البكتيريا بانكماش السيتوبلازم داخل الخلية متخذاً شكلاً كروياً أو بيضياً ثم يحيط نفسه بجدار سميك وتتخذ الجرثومة الداخلية وضعاً طرفياً أو تحت طرفي أو وسطياً



ية النبات

من أجناس البكتريا المكونة للسبورات هي الـ *Bacillus* و*Clostridium*

من المعروف أن الجراثيم الداخلية Endospores مقاومة بطبيعتها لتقبل الأصباغ فبالتالي لايمكن لطرق الصبغ العادية التي تستعمل في صبغ الخلايا الخضرية للبكتيريا أن تؤدي إلى صبغها ، لذلك يستعان بطرق أخرى تستغل الحرارة لتسهيل إدخال الصبغة خلال جدار السبور فانها تثبت بها ويصعب إزالتها منها.

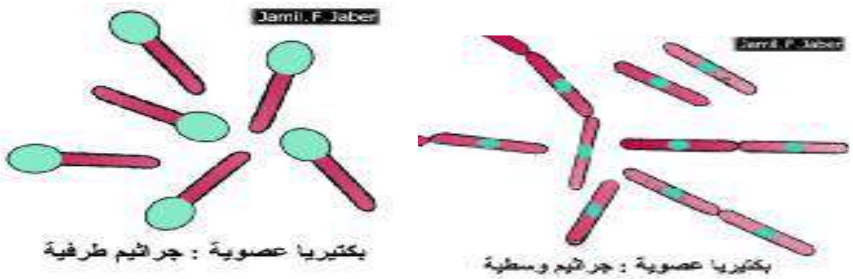
وهنالك طرق عديدة لصبغ الجراثيم وفيما يلى وصفاً

ـ لطريقة شافر ، وفولتون : (Shaeffer & Fulton)

خطوات العمل :

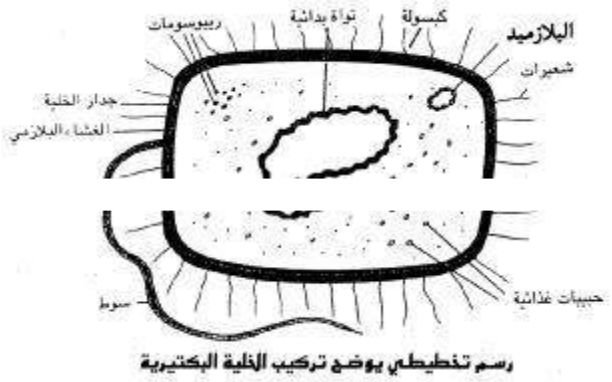
1. تحضر لطخة smear من مستعمرة بكتريا *Bacillus subtitles* النامية على الوسط الغذائي الصلب .
2. تبرد الشريحة ثم تغمر سطح الشريحة بمحلول مائى لصبغة أخضر المالاكيت Malachite green (5%) ، وتسخن الشريحة بتعريض سطحها السفلى للهواء الساخن فوق مصباح بنزن حتى يتصاعد البخار منها دون أن تغلي الصبغة ، لمدة 4-5 دقائق مع الملاحظة عدم جفاف الصبغة وذلك باضافة مزيد من الصبغة كلما لزم الأمر .
3. انتظر حتى تبرد الشريحة ثم اغسلها بالماء .
4. أصبغ اللطخة بمحلول مائي للسفرانين لمدة دقيقة واحدة .
5. أغسل محلول الصبغة بالماء .
6. أترك الشريحة حتى تجف تماماً فى الهواء .
7. افحص الشريحة تحت الميكروسكوب باستخدام العدسة الزيتية . تظهر الجراثيم الداخلية خضراء في حين أن الخلايا الخضرية البكتيرية وبقاياها المتصلة بالجراثيم تكون حمراء اللون . ارسم بعضاً من الخلايا الخضرية والجرثومية مبيناً شكلها ، ووضع الجرثومة من الخلية الخضراء (طرفى ، تحت طرفى ، وسطى) وحجمها (مساوي وأقل أو أكبر من قطر الخلية الخضرية) .

جراثيم وسطية جراثيم طرفية



2- تصبيغ الكبسول Capsule staining

عبارة عن طبقة هلامية خارجية تكون غلافاً حول الخلية من مادة تشبه الجلي و تغطي الجدار الخلوي، وتتكون مادة الكبسولة في العادة من مادة كربوهيدراتية .وتدل الدراسات على أن هذه الكبسولة يمكن أن تفقدها البكتيريا دون أن تموت، كما أنها لا توجد في جميع أنواع البكتيريا . و من وظائف الكبسول حماية الخلية البكتيرية من مهاجمة الفيروسات التي تحطم البكتيريا بعد أن تلتصق بجدارها الخلوي ففي حالة وجود كبسولة فإنها تعزل جدار الخلية ولا تسمح باتصال الفيروس به . وتقوم الكبسولة بحماية الخلية البكتيرية من الظروف البيئية غير المناسبة مثل الجفاف .و عند وجود هذه الطبقة حول خلايا البكتيريا المسببة لبعض الأمراض فيكون دورها هو حماية الخلية من الإفرازات التي يفرزها الجسم لمقاومة هذه البكتيريا. من انواع البكتريا المحتوية على الكبسول *Basillus anthracis* (بكتريا الجمرة الخبيثة) و *Klebsilla pneumoniae*



رسم تخطيطي يوضح تركيب الخلية البكتيرية

ان مادة الكبسول هي كاربوهيدرات لذلك لها القابلية على الذوبان في الماء لذا يجب تجنب غسلها بالماء كلما امكن اثناء عملية التصبيغ . تتلخص عملية التصبيغ باضافة صبغة Crystal violate لمدة 5 دقائق ثم تغسل بلطف بمحلول كبريتات النحاس $cuso_4$ 20% للتخلص من صبغة ال C.V. الزائدة ثم تجفف الشريحة وتفحص تحت المجهر حيث تظهر الكبسولة مصبغة باللون الازرق الفاتح وبقية اجزاء البكتريا باللون الازرق الغامق .

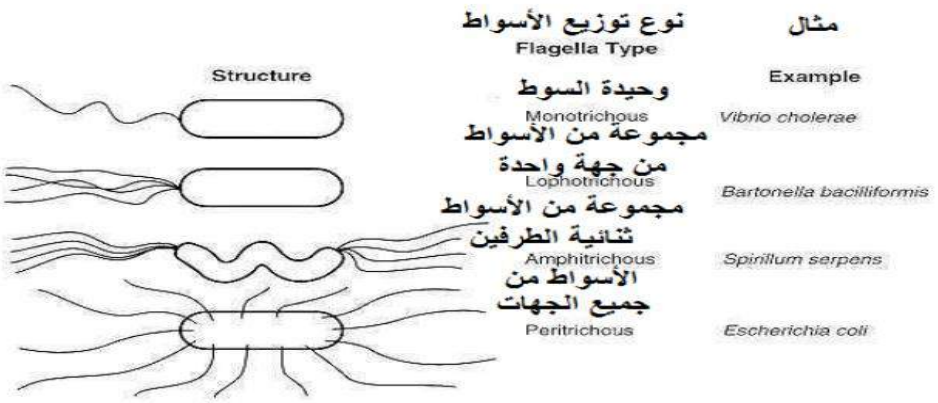
3- تصبيغ الأسواط Flagella Staining

وهذه هي أعضاء الحركة في البكتيريا وتعرف الأسواط بأنها زوائد خيطية رفيعة جداً وطويلة ومكونة من البروتين، وتتصف الخلية التي تحتوي على أسواط بأنها متحركة **Motile** والتي لا تحتوي على أسواط توصف بأنها غير متحركة **Non motile**
وتتواجد الأسواط حول الخلية البكتيرية في الترتيب الآتى:

1- بكتيريا وحيدة السوط **Monotrichous** وفيها يخرج سوط واحد من احد أطراف الخلية
2- بكتيريا سوطية الطرف **Lophotrichous** وفيها تخرج مجموعة من الأسواط من أحد أطراف الخلية
3- بكتيريا سوطية الطرفين **Amphitrichous** وفيها يخرج سوط واحد أو مجموعة أسواط من كلا القطبين
4- بكتيريا محيطية الأسواط **Peritrichous** وفيها تخرج الأسواط من جميع أسطح البكتيريا

تتحرك البكتريا بنوعين من الحركة :

1- حركة حقيقية: تعتمد عادة على وجود الاسواط
2- حركة بروانية: لاتعتمد على وجود الاسواط اذ تتحرك البكتريا بسبب دفع أو سحب جزيئات السائل الذي تنمو فيه

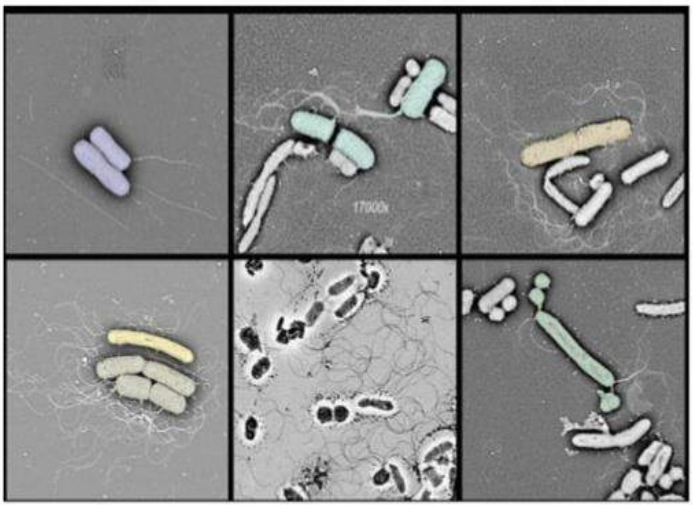


طريقة العمل:

طريقة تصبيغ الأسواط طريقة معقدة لذا يجب اخذ الحيطة والعناية الفائقة لمنع فقدان الاسواط وتتم كما يلي

1- تؤخذ قطعة من وسط الآكر الصلب الذي تنمو عليه البكتريا مع تجنب لمس المستعمرات باليد

2- توضع قطعة الآكر برفق على الشريحة بحيث تكون مواجهه للنمو , ترفع تلك القطعة وتعاد للطبق
3- تترك البكتريا الملتصقة بالشريحة ثم تجفف بالهواء دون استعمال الحرارة
4- تغمر الشريحة بحامض التانيك المثبت لمدة 10 دقائق
5- تغسل الشريحة برفق بالماء المقطر
6- تغمر الشريحة بصبغة Carbolfuchsine لمدة 5 دقائق ثم تغسل برفق بالماء المقطر
7- تترك الشريحة لتجف بالهواء ثم تفحص بالمجهر وتسجل الملاحظات



شكل الاسواط تحت المجهر بعد التصبيغ

المحاضرة 5

طرق عزل وتنمية الأحياء المجهرية على مزارع نقية

Isolation and growing of microorganisms on pure culture

حينما تزرع بكتريا أو أي كائن مجهري أخر على وسط غذائي في المختبر يطلق عليه آنذاك بالمزارع Cultures وتعرف المزرعة الميكروبيه بأنها عبارة عن البكتريا أو الأحياء المجهرية النامية على وسط زرعي معين .

إن الأنواع المختلفة للبكتريا النامية على نفس الوسط الغذائي قد تبدو متباينة تماما فلذلك يعتبر من المهم جدا معرفة المظهر الخارجي أو خصائص المزارع لتمييز الأنواع المختلفة والتي تساعد آنذاك في تشخيص النوع لذا يجب الحصول على مزرعة نقيه كي تحدد صفاتها بدقة قبل دراسة وتحديد خصائص المزرعة أو أي خاصية أخرى .

تعتبر المزرعة نقية Pure culture عندما تتكون من مجموعة خلايا مشتقة جميعها من خلية أم واحده , هناك طرق عديدة تستعمل لعزل وتنمية الأحياء المجهرية بصورة نقية على أوساط غذائية في المختبر .

1- طريقة التخطيط The streak plate method

وهي الطريقة الروتينية المعتاده لعزل البكتريا او الاحياء المجهرية الاخرى في مزارع نقية على سطح وسط غذائي متصلب في طبق بتري بنشر قطرة من المحلول الالمحتوي على البكتريا بواسطة الـ Loop والتخطيط يكون على سطح الوسط الغذائي . يتم تهيئة وسط غذائي مثل Nutrient agar ويصب في طبق بتري ويترك ليتصلب ثم بواسطة الـ Loop يتم اخذ قطرة من المحلول البكتريا بعد تعقيم اللوب و تعمل خطوط على سطح الوسط الغذائي بعدها يجرى الحضن على درجة 32-35 º م لمدة 24-48 ساعة حيث تفحص المستعمرات النامية و ملاحظة نموها و كثافتها على سطح الوسط إضافة الى الحجم و لون و صفات المستعمرات الاخرى و عمل تصبيغ بصبغة كرام لبعض البكتريا .

2- طريقة النثر The Spread plate method

و تتم هذه الطريقة بنثر حوالي 0.1 مل من المحلول المحتوي على الميكروبات بعد ان ينقل هذا الجزء بواسطة ماصة معقمة Sterile pipette و تنثر بواسطة L-shape على سطح الوسط الغذائي و تتبع هذه التقنية في دراسة البكتريا المحبة للبرودة Psychrophiles .

إن هاتين الطريقتين (1 و 2) تخفف من تركيز الميكروبات تدريجيا" بحيث تظهر البكتريا بصورة منعزلة الواحدة عن الأخرى .

3- طريقة الصب بالأطباق The poure-plate method

و تستعمل هذه الطريقة للحصول على مزرعة نقية من مزرعة نامية عليها أنواعا" مختلفة من الاحياء المجهرية و تختلف هذه الطريقة عن طريقة الخطوط بأن نقل الاحياء المجهرية الى الوسط الغذائي يتم و الوسط في حالة سائلة و قبل تصلبه و تجرى الطريقة كما ياي :

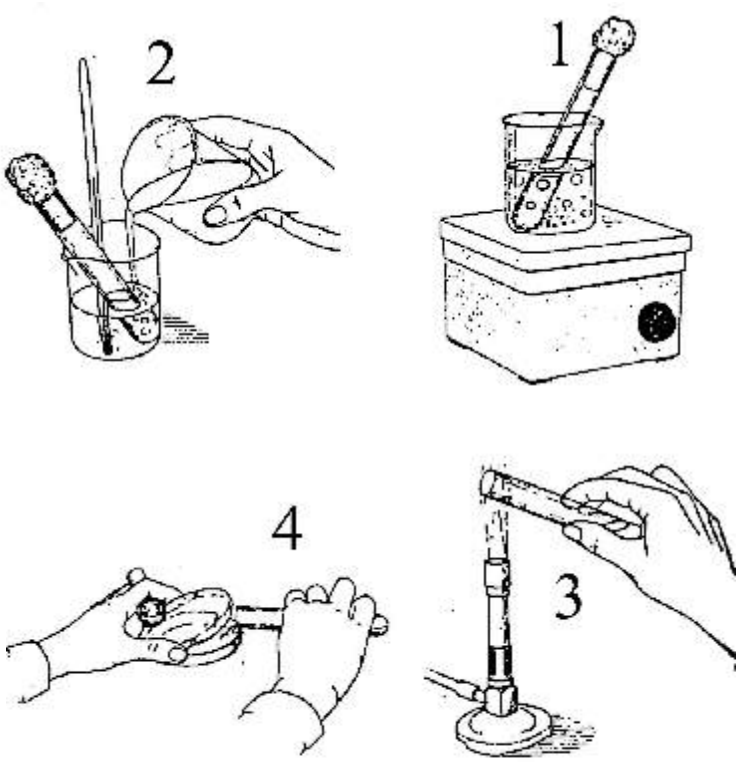
1. **يتم تذويب الوسط الغذائي Nutrient Agar و الموجود في أربعة انابيب إختبار كل أنبوبة تحتوي حوالي 12-15 سم ^{3} من الوسط الغذائي و توضع الأنابيب في حمام مائي تحت درجة حرارة 45 º م .**

2. **يتم نقل بواسطة اللوب و بصورة معقمة قطرتين من المحلول المحتوي على البكتريا المراد فحصها الى أحد أنابيب الإختبار و ترقم هذه الأنبوبة برقم 1 مع رج الانبوبة جيدا" .**
3. **ينقل و بصورة معقمة قطرتين بواسطة اللوب من الانبوبة رقم 1 الى انبوبة رقم 2 و ترج جيدا" ثم ترقم برقم 2 .**
4. **تكرر العملية بنقل قطرتين من الانبوبة رقم 2 الى انبوبة رقم 3 و ترج جيدا" .**
5. **تترك الانبوبة الرابعة بدون تلقيح لتستعمل كمقارنة Control .**
6. **تسكب محتويات كل انبوبة إختبار في طبق زجاجي معقم وتترك حتى تتصلب (حفاظا على عدم تصلب الوسط الغذائي في انبوبة الاختبار يجب اجراء خطوات العمل اعلاه بصوره سريعة كما ويمكن سكب الوسط الغذائي في الطبق مباشرة بعد نقل القطرات في كل خطوة**
7. **تحضن الاطباق على حرارة 25-27 º م ولمدة 24-48 ساعة**
8. **بعد فترة الحضن يتم مقارنة كثافة النمو للمستعمرات على الطبق ثم تصبغ بطرقة كرام وتفحص تحت المجهر**

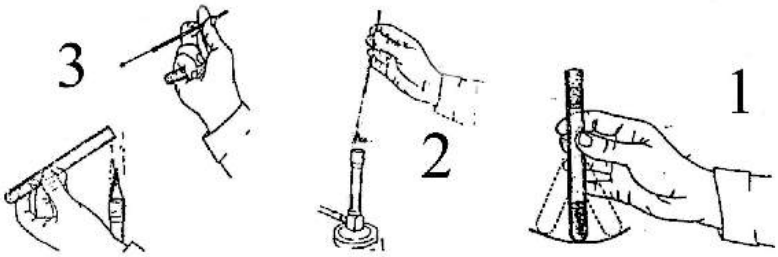
4- طريقة عمل السلانت The agar slope (slant) method

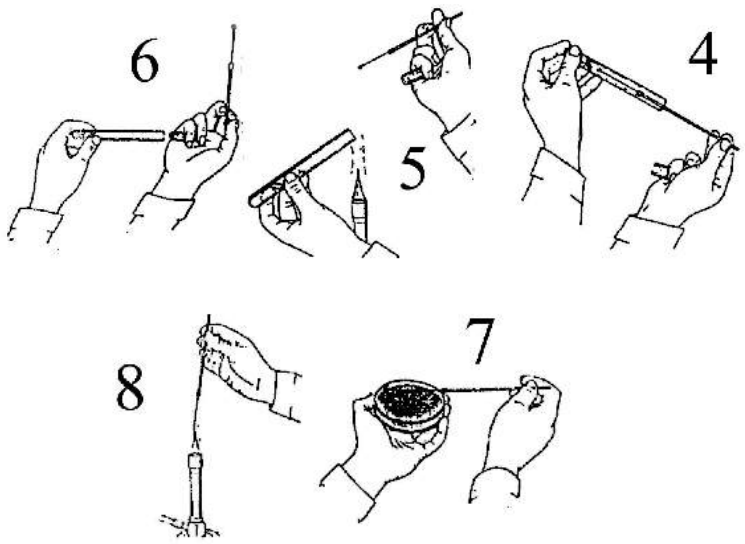
السلانت عبارة عن وسط غذائي متصلب بصوره مائلة داخل أنبوبة اختبار حيث تستعمل هذه الطريقة لعزل وحفظ المزارع الميكروبية بصورة نقية كما ان الوسط الغذائي المتصلب بصورة مائلة يعطينا مساحة سطحية أفضل للنمو علاوة على سهولة التلقيح على سطح السلانت .

يتم تحضير وسط غذائي مثل Nutrient agar ويصب في انابيب اختبار وتعقم بالـ Autoclave وبعد التعقيم يوضع بصورة مائلة حتى يتصلب ثم يجرى تلقيح سطح الوسط الغذائي داخل الانبوبة بالبكتريا المراد فحصها وتتم عملية التلقيح بنقل قطرة من المحلول البكتيري بواسطة اللوب ثم نشرها على سطح الوسط الغذائي بشكل حلزوني مع مراعاة عدم تخديش الوسط الغذائي عند التلقيح بعدها يجرى التحضين على درجة حرارة 32-35 º م لمدة 24-48 ساعة مع ملاحظة النمو .

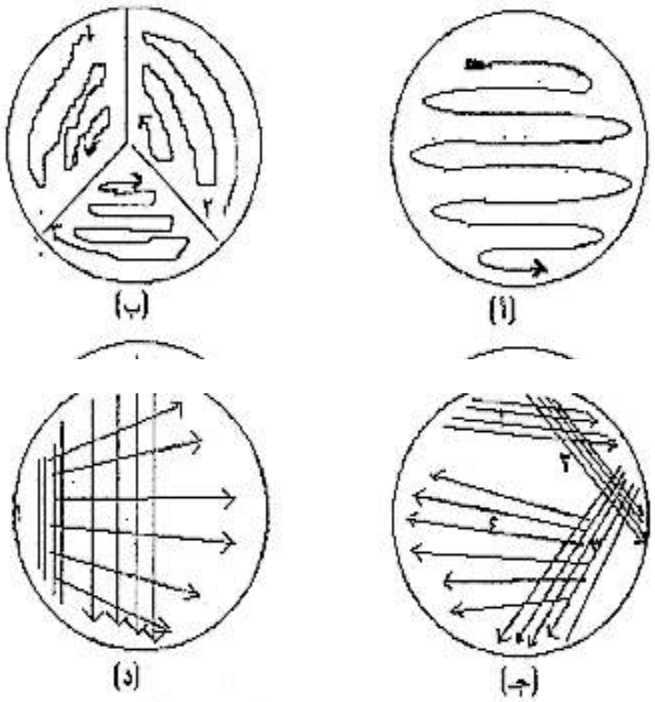


خطوات صب البيئة في أطباق بتري

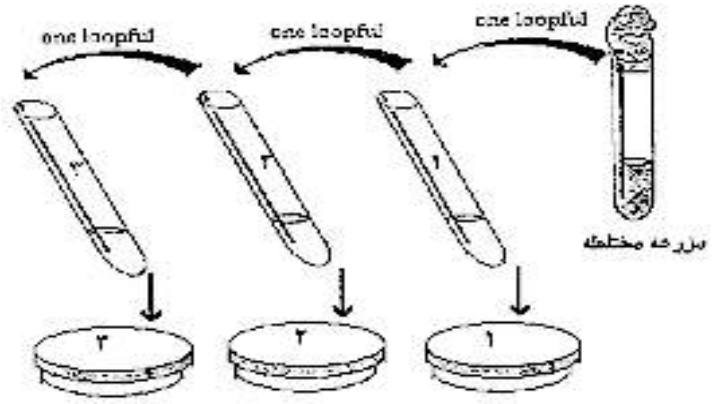




خطوات إجراء عملية التلقيح



الطرق المتبعة فى تخطيط سطح الأجار



طريقة الصب فى الأطباق

المحاضرة 6

فحص حركة البكتريا :

تستخدم عدة طرق لاختبار قدرة البكتريا الحية على الحركة وملاحظة مدى حركتها خلال الحقل المجهري وهناك نوعان من الحركة :

1- حركة حقيقية فعلية (الحركة من مكان لاخر)
2- حركة كاذبة على شكل اهتزازات او ارتجاجات (حركة بروانية)

والطرق المستخدمة لاختبار قدرة البكتريا على الحركة هي:

1- الطريقة الرطبة Wet- Mount 2- طريقة القطرة المعلقة Hanging Drop 3- الطريقة الزرعية Culture Method

يمكن ملاحظة حركة البكتريا اما بشكل مباشر بوضع قطرة من المحلول المحتوي على البكتريا على منتصف الشريحة الزجاجية ومن ثم تغطيتها بغطاء الشريحة والفحص تحت المجهر وهذه تسمى بالطريقة المباشرة او بـ

طريقة القطرة المعلقة Hanging Drop

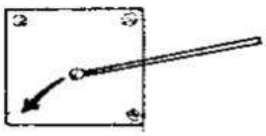
تمتاز هذه الطريقة بـ

1- مراقبة حركة البكتريا في نقطة معلقة داخل تجويف زجاجي مغلق
2- نادرا ما يحدث جفاف للشريحة
3- تبقى الخلايا البكتيرية نشطة لمدة أطول من الطريقة الرطبة

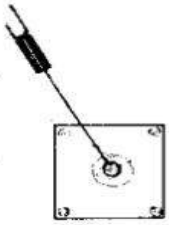
طريقة العمل :

1- **تستخدم شريحة زجاجية ذات تجويف (مقعرة) Depression slide في هذه الطريقة , تنظف الشريحة جيدا بالماء الساخن والصابون للتخلص من المواد العالقة بها**

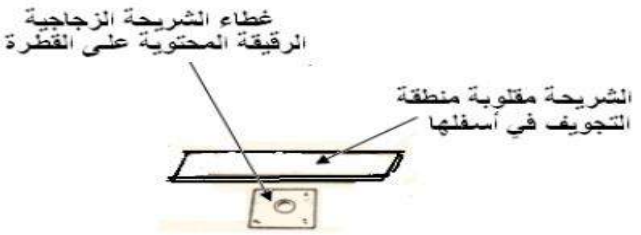
2. توضع أربعة نقط من الماء أو الفازلين أو الهلام النفطي على كل زاوية من غطاء الشريحة بواسطة ناقل البيئة.



3. توضع قطرة من البيئة البكترية في وسط غطاء الشريحة الزجاجية الرقيقة.



4. **توضع الشريحة على غطاء الشريحة الزجاجية الرقيقة ، بحيث يكون التجويف مقابلا للقطرة في وسط التجويف، بحيث يكون الغطاء ملتصقا مع الشريحة.**
5. **تقلب الشريحة بسرعة مع الحفاظ على وجود نقطة البيئة البكتيرية في منتصف التجويف.**



6 – تفحص النقطة المعلقة (القطرة) تحت المجهر مع خفض الإضاءة للتمكن من رؤية حركة البكتريا بوضوح .

تنمية بعض أنواع الأحياء المجهرية المتواجدة في البيئة على أوساط غذائية في المختبر :

تتواجد الاحياء المجهرية في كل مكان فعند تعريض طبق بتري معقم محتوي على وسط غذائي ملائم للهواء لفترة معينة فأنه سيلوث بالعديد من الاحياء المجهرية أو سبوراتها ويتم التأكد من ذلك بحضن الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة ملائمة ولفترة زمنية معينة مع ملاحظة نمو المستعمرات في الاطباق . ويمكن الحصول على الاحياء المجهرية من مصادر مختلفة مثل الهواء , التربة , الاشخاص , الماء ,...الخ

أما في المختبر فيمكن تنمية الاحياء المجهرية في بيئات معينة تدعى بالاوساط الغذائية (الاوساط الزرعية) , وتفضل البكتريا الأوساط الغذائية المحتوية على البروتين وحموضتها متعادلة اما الفطريات فتفضل الأوساط الغذائية المحتوية على الكربوهيدرات وذات وسط حمضي ومن أكثر الأوساط الغذائية إستخداما في مختبرات الميكروبولوجيا وسط الاجار المغذي Nutrient Agar وهو وسط غذائي متصلب يصب في اطباق بتري ويعرض الى مصادر التلوث المختلفة كالهواء , التربة , النفخ داخل الطبق , ...الخ مع اجراء معاملة المقارنة control لمعرفة مدى التلوث وبعدها تحضن الاطباق بالحاضنة ثم يلاحظ حجم وشكل المستعمرات النامية.

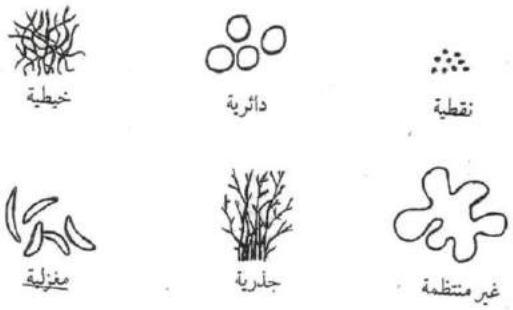
الصفات المزرعية البكتيرية Bacterial cultural characteristics

تشمل الصفات المزرعية للكائن البكتيري المظهر المرئي بالعين المجردة للنمو فوق أو في بيئات مختلفة . والهدف من دراسة الصفات المزرعية لمستعمرات البكتيريا هو التعرف على أنواع البكتيريا المختلفة.ويمكن تقسيم الصفات المزرعية للبكتيريا إلى:

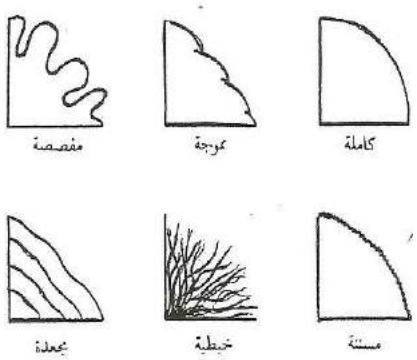
1- صفات المستعمرات البكتيرية في الاوساط الزرعية الصلبة Agar plates colonies

A. **الحجم Size :** تتراوح احجام المستعمرات من صغير جدا والتي يكون قطرها جزء من الملم الى مستعمرات كبيرة . وبعض انواع البكتريا تكون ذات احجام محدده مهما طالت فترة الحضانة والبعض الاخر مثل *Protus* و*Pseudomons* فهي تنتشر على سطح الوسط الغذائي .

B. **الشكل Shape :** يلاحظ شكل المستعمرات بالعين المجردة اما دائرية او حبيبية (نقطية) او غير منتظمة او خيطية او متفرعة او مغزلية او جذرية .



C- **حافة المستعمرة Marginal Edge :** تتخذ حافات المستعمرات البكتيرية اشكال مختلفة اعتمادا على النوع قد تكون دائرية متساوية تماما او مفصصة او مسننة او خيطية او مجعدة او متموجة .



D- **الارتفاع Elevation :** قد تكون المستعمرات مسطحة او مرتفعه وهذه الاخيرة تأخذ درجات كبيرة من التحدب ويلاحظ ارتفاع المستعمرة بوضع مستوى الوسط .

E- **اللون Color :** قد تكون المستعمرات ملونة او غير ملونة وتلاحظ الالوان كالاصفر والاحمر والبني والبنفسجي وتكون خاصة بالنوع مثل بكتريا *Xanthomonas* التي تظهر مستعمراتها باللون الاصفر.

F- **الاضاءة (الصفات الضوئية للمستعمرة)** : قد تكون المستعمرات

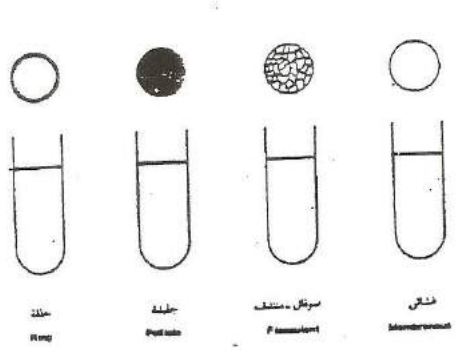
- معتمة: لا تسمح للضوء بالمرور خلالها.
- نصف شفافة: تسمح للضوء بالمرور خلالها ولكن لاتسمح بالرؤية الكاملة للأشياء خلفها.

G – **القوام Consistency :** قد تكون المستعمرات مائية او لزجة او صلبة او غشائية وتختبر بواسطة Needle معقم .

2- صفات المزارع البكتيرية في الاوساط الزرعية السائلة Growth in Nutrient Broth

A. كمية النمو Amout of growth :يلاحظ اذ كان كثير او معتدل او قليل

B. توزيع النمو Distribution of growth : يلاحظ النمو اذا كان متوزع بصورة متساوية او محدد بسطح السائل كالقشرة او متجمع كراسب في قعر الانبوبة ويكون اما حبيبياً او لزجاً .



C. الرائحة Odor : فد تكون رائحة البكتريا متعفنة او عطرية او عديمة الرائحة.

3- صفات المزارع البكتيرية في الاوساط الزرعية الصلبة المائلة (سلانت)

A. معدل النمو Amont of growth : يلاحظ فيما اذ كان قليل او معتدل او كثيف.

B. حافة النمو Edge of growth : تلاحظ حافة النمو اذا كانت متساوية او غير منتظمة كما في الوسط الصلب.

C. القوام: يلاحظ اذ كان خفيف يمكن رفعه بـ Needle او لزج او مخاطي او متكسر

D. اللون: يشابه ذلك الالوان المذكورة في الوسط الزرعي الصلب .

المحاضرة 7

حساب العدد الكلي للبكتريا

1- العد المجهري المباشر Direct microscopic count (D.M.C.)

يتم تقدير عدد البكتريا مباشرة بواسطة المجهر وذلك بنثر حجم معين من المحلول المحتوي على الاحياء المجهرية على مساحة او حجم محدد موجود في سلايد خاص خاص معد لهذا الغرض ويقدر عدد الحقول المجهرية من المساحة المحددة ثم يحسب معدل عدد البكتريا في الحقل الواحد ويضرب الرقم في عدد الحقول لاستخراج عدد البكتريا في النموذج المأخوذ وهناك طريقتان رئيسيتان للعد المجهري المباشر :

A- طريقة Breed

ينشر 0.01 سم^3 على مساحة 1 سم^2 من الشريحة ثم يثبت ويصبغ بالمثلين الازرق ويفحص تحت المجهر وبما انه ليس من العملي حساب عدد الخلايا في المساحة جمعياً لذا تنتخب عدة حقول مجهرية بصورة عشوائية ومن ثم تحسب بالمعادلة التالية:

عدد البكتريا /1مل = معدل عدد البكتريا في الحقل الواحد × عدد الحقول المجهرية في المساحة المحددة × 100

من عيوب هذه الطريقة عد كافة الخلايا الحية والميتة وكذلك صعوبة نشر العينة بصورة متجانسة تماماً .

B - طريقة Petroff –Hausser chamber

عبارة عن سلايد خاص مقسم بصورة دقيقة ومضبوطة الى مربعات مساحة كل منها تساوي 400/1 ملم^2 ومغطاة بغطاء زجاجي يرتفع عن الشريحة بمقدار 50/1 ملم اذ ان الحجم في المكعب الواحد يساوي 20000/1 ملم ^{3} يوضع المعلق البكتيري غير المصبغ بحجم معلوم ومن ثم يفحص بالمجهر وهي طريقة سهلة وسريعة وتحتاج القليل من الادوات ويمكن ملاحظة الشكل الخارجي للخلايا اثناء عملية العد كما يجب تخفيف المعلق الكثيف جدا اذ يحسب العدد بالمعادلة التالية:

عدد البكتريا /1مل= عدد البكتريا المحسوبة في الحقول × 20000 ×مقلوب التخفيف

عدد الحقول المجهرية

2- الطريقة غير المباشرة

طريقة العد القياسي للاطباق Standard plate method :

يتم في هذه الطريقة حساب عدد الخلايا الحية فقط الموجودة في العينة الاصلية تفترض هذه الطريقة ان كل مستعمرة نامية في الطبق ناتجة من خلية واحدة وبهذا يكون عدد المستعمرات ممثلا لعدد البكتريا او الاحياء المجهرية الاخرى . يتم تخفيف النموذج المراد حساب العدد فيه الى الدرجة التي يمكن الحصول فيها على عدد من المستعمرات يتراوح بين 30-300 مستعمرة نامية في الطبق الواحد ونظرا لصعوبة التنبؤ بالتخفيف الذي يعطي مثل هذا العدد يجب عمل سلسلة من التخافيف للمحلول البكتيري في انابيب اختبار ثم يسكب محتوى كل انبوبة في طبق بتري حاوي على وسط N.A. ، تحضن الاطباق تحت درجة حرارة 30-35 ºم لمدة 24 او 48 ساعة ثم يتم اختيار الطبق الحاوي على التخفيف الملائم وتحسب اعداد البكتريا كالآتي :

عدد البكتريا /1مل = عدد المستعمرات النامية × مقلوب التخفيف

في هذه الطريقة نلاحظ تناقص اعداد المستعمرات الناتجة بسبب عملية التخفيف والذي يساعد في الحصول على مستعمرات معزولة بصورة جيدة ويمكن بواسطة هذه الطريقة الحصول على معلومات جيدة عن كمية ونوعية البكتريا الموجودة في العينة الاصلية .

المحاضرة 8

بكتريولوجيا المياه

عادة تختبر المياه للتعرف على مدى صلاحيتها للإستعمال البشري وخاصة للتأكد من عدم وجود بكتيريا ممرضة وضارة بالصحة مثل مجموعة القولون ***Escherichia*** التي يدل وجودها على

تلوث المياه بمياه الصرف الصحي والتي يفرز منها الإنسان حوالي 200 مليون خلية وتسبب التهاب للجهاز البولي للإنسان كما تسبب الإسهال عند الأطفال لإجراء ذلك يراعي ما يلي:

1- تؤخذ عينات من المياه في زجاجات نظيفة ومغسولة جيداً ومعقمة في الفرن – يراعى في أخذ العينة الشروط البكتيرولوجية للتعامل مع العينات مع عدم ملىء الزجاجة إلى آخرها ليسهل الرج قبل الفحص.

2- إذا أريد اختبار مياه الحنفية يشترط فتحه لمدة ٥ دقائق قبل أخذ العينة وعند أخذ العينة من مياه احواض السباحة أو مياه الشرب المعاملة بالكلور يجب معاملتها بأحدى المواد المضادة للكلور مثل الثيوكبريتات حتى يصبح تركيزها في الماء ١٠٠ ملغرام / لتر ماء.

عد البكتيريا الكلية في عينة المياه بطريقة التخافيف

1- ترج عينة المياه جيدا 25 مرة (وذلك لضمان توزيع البكتيريا في العينة)

2- ينقل بماصة معقمة 1 مل من عينة المياه إلى أنبوبة محتوية على 9 مل ماء مقطر معقم فيصبح التخفيف 1/10

3- يرج التخفيف1/10 جيدا وبواسطة ماصة معقمة جديدة ينقل 1 مل إلى 2 طبق بتري معقم يمثل التخفيف10/ 1 وبنفس الماصة ينقل 1مل أخرى من الأنبوبة 1/10 إلى أنبوبة ماء مقطر معقم 9مل لنحصل على التخفيف 1/100 وهكذا تعاد نفس الخطوات لعمل سلسلة من التخافيف

4- يصب على كل طبق بيئة Nutrient agar ويخلط جيداً بالعينة المخففة وتترك لتتصلب

5- تحضن الإطباق مقلوبة في الحاضنة على درجة حرارة 37º م لمدة 48ساعة

6- تحسب عدد المستعمرات في الطبق الواحد لكل تخفيف , تعتمد التخافيف التي تتراوح عدد المستعمرات فيها مابين 30- 300 مستعمرة" ومنه تحسب عدد الخلايا الحية في 1 مل من عينة المياه الأصلية ، وذلك بضرب متوسط عدد المستعمرات في الطبق في مقلوب التخفيف المستخدم

عدد الخلايا الحية في 1مل من عينة المياه الأصلية= متوسط عدد المستعمرات في الطبق×مقلوب التخفيف المستخدم

إن تقدير العدد الكلي للبكتريا في عينة المياه لاتكفي في الحكم على صلاحية المياه للاستهلاك البشري وذلك لسببين: إن التجربة السابقة"عد البكتيريا الكلية عينة المياه بطريقة التخافيف" لاتعطي سوى جزء من العدد الكلي للبكتيريا إذ إن معظم الميكروبات الموجودة في الماء لاتنمو على البيئات المختبرية, وكما أن هذه الأعداد ليس بالضرورة إن تكون ممثلة

للميكروبات الممرضة وليست معيارا مثاليا لسلامة مياه الشرب حيث يمكن إن توجد عينة ماء محتوية على عدد قليل من الأحياء الدقيقة ولكنها ممرضة..ولذلك فان الاعتماد على تقدير العدد الكلي للميكروبات في تقييم صلاحية المياه للاستهلاك البشري يكون غير مجدي...

المحاضرة 9

مملكة الفطريات Kingdom Mycota (Fungi)

الفطريات كائنات حية تنتشر في الأوساط المختلفة في التربة الرطبة و الجافة وفي المياه العذبة والمالحة وفي الهواء و يهاجم الكثير منها النبات والحيوان و الإنسان كما يستعمل بعضها كغذاء وتعتبر من الكائنات الدقيقة الخالية من الكلوروفيل كما إن لها جدار خلوي صلب يحدد شكلها ماعدا الفطريات الهلامية وهي عادة عديمة الحركة ولكن لها خلايا تكاثرية متحركة.

تركيب الفطريات:

تشبه الفطريات الطحالب في تركيبها إلا إنها خالية من الكلوروفيل وتتكون بعض الفطريات . من خلية واحدة وبعضها عديد الخلايا .و يتركب الفطر من ثالو س أي لا يتميز إلى جذور وسيقان و أوراق ولكن ينتظم في خيوط تعرف بالهيفات سمى(Hyphae) مجموع الهيفات التي تكون جسم الفطر ميسيليوم (Mycelium) قد تكون هيفات الميسليوم وحيدة الخلية غير مقسمة بجدر عرضية وقد تكون عديدة الخلايا أي مقسمة بجدر عرضية. ويتكون الجدار في خلايا الفطر من مادة الكيتين (Chitin) وقد يتكون من السليلوزوتحتوى خلايا الفطر على نواة واحدة أو نواتين أو عدة انوية و يبطن جدار خلية الفطرغشاء بلازمي ويفصل بينة بين الجدار في بعض المناطق حبيبات صغيرة غير معروف وظيفتها بالضبط تسمى لوماسومات(Lomasomes) كما توجد فجوة وميتوكوندريا وشبكة اندوبلازمية وجليكوجين وريبوسومات منغمسة في سيتوبلازم الخلايا .

التغذية في الفطريات:

نظراً لعدم احتواء الفطريات على الكلوروفيل فأنها تتغذى تغذية غير ذاتية فتعيش رمية أو طفيلية أو رمية وطفيلية معا حسب الظروف ويعيش البعض معيشة تعاونية (تكافلية) ولهذا فالفطريات لديها القدرة على إفراز أنزيمات خارجية لتحليل المواد الغذائية الموجودة في

الوسط المحيط بها وجعلها في صورة قابلة للامتصاص وتنقسم الفطريات من حيث التغذية إلى:

1- فطريات إجبارية التطفل (Obligate parasitic fungi) مثل -: فطر صدأ القمح *Puccinia graminis* والفطريات الممرضة

2- فطريات اختيارية التطفل(Facultative parasitic fungi) مثل : فطر فيوزاريوم *Fusarium*

3- فطريات إجبارية الترمم(saprophytic fungi Obligate) مثل : جميع الفطريات ذات الاهمية الاقتصادية.

4- فطريات اختيارية الترمم (Facultative saprophytic fungi) مثل :الفطريات المسببة لأمراض التفحم (Smuts)

5- فطريات متكافلة(fungi Symbiotic) مثل : فطر عيش الغراب *Agaricus*

الصدأ البرتقالي على الحنطة

التفحم اللوائي على الحنطة

فطر عش الغراب *Agaricus*

حركة الفطريات:

الفطريات غير متحركة عادة ولكن يتكون لها وحدات تكاثرية متحركة عاده بالأسواط ، وهناك نوعين من الأسواط ، الأسواط الكرباجية (whiplash) و الأسواط الريشية (tinsel) ويتكون السوط القرباجى من جزء قاعدي طويل وجزء طرفي قصير مرن ، أما السوط الريشى فيتكون من محور طويل تخرج من جانبية زوائد شعرية كثيرة

التكاثر:

أولا : التكاثر الخضري: ويكون ذلك بتجزئة الهيفات أو انفصالها ثم نمو كل منها إلى ميسليوم جديد.

ثانيا : التكاثر اللاجنسي: ويكون بإحدى الطرق الآتية-:

1- التجزئة (Fragmentation): -

تتجزأ المكونات الخلوية للفطر ثم تنفصل الخلايا عند الحواجز ويطلق عليها الأويدات(Oidia) وأحيانا الجراثيم المفصلية (Arthrospores) وقد يتغلظ الجدار قبل انفصال الخلايا مع تخزين مواد غذائية وتعرف الخلية حينئذ بالجرثومة الكلاميدية (Chlamydospore) وهي إما مفردة أو في سلسلة متصلة .

2- الإنقسام الثنائي البسيط (الإنشقاق) (Binary fission) :

وهو من مميزات بعض فطريات الخميرة Yeast وتشبه البكتريا في هذا النوع من التكاثر.

3- التبرعم (Budding)**:**

يتكون نمو خارجي من الخلية الأم يعرف بالبرعم bud وتنقسم نواة الخلية الأم إلى نواتين أحداهما كبيرة والأخرى صغيرة تنتقل الصغيرة إلى البرعم المتكون وكذلك ينقسم السيتوبلازم ثم ينفصل البرعم عن الخلية مكوناً فطراً جديداً .

4- الجراثيم (Spores) :

تعد أكثر طرق التكاثر اللاجنسي شيوعاً بين الفطريات ، وهي أجسام دقيقة تعمل على تكاثر وانتشار الفطريات وقد تكون ، الجراثيم داخلية وهي إما متحركة zoospores مسوطة أو غير متحركة اسبورانجية sporangiospores أو خارجية وتعرف بالجراثيم الكونيدية conidia .