- تعريف البيئة الغذائية:

الوسط الغذائي الذي يحتوي على العناصر الغذائية التي يحتاج اليها الكائن الحي للنمو والتكاثر بصورة ذاتية.

- أهمية البيئة الغذائية:

١- تنمية الميكروبات واكثارها.
٢- عزل أنواع من الميكروبات على بيئات متخصصة
٣- دراسة بعض الخواص الفسيولوجية للميكروبات.
٤- حفظ المزارع الميكروبية النقية.
٥- تشجيع الميكروبات لانتاج مواد معينة مرغوبة.

smile

• شروط البيئة الغذائية :

توفر بعض العناصر ← ١- مصدر طاقة (Photo-Chemo) ← ضوئية ذاتية التغذي

٢- مصدر كربون "بعض أنواع البكتريا تحتاج لأوكسجين والبعض الآخر لا يحتاج".

٣- مصدر نيتروجين. ٤- مصدر أملاح معدنية.

٥- الماء. ٦- احتياجات هوائية.

٧- عوامل مشجعة للنمو. ٨- درجة حموضة البيئة (PH).

• ضبط درجة PH للبيئة الغذائية :

١- استخدام ورق الـ PH ٢- استخدام الأدلة وجهاز مقارنة الألوان ٣- استخدام جهاز PH meter

• طرق تعقيم البيئات الغذائية المختلفة :

١- الأوتوكلاف ← في حالة البيئات التي تتحمل مكوناتها درجات حرارة أعلى من 100°

٢- أرنولد ← " " " " لا " " " " " " "

٣- المرشحات ← " " " السائلة التي لا تتحمل مكوناتها أي درجات حرارة.

سؤال هل يصلح تعقيم اللبن بالمرشحات؟

لا لأن اللبن كثيف أو سميك لذا لا يعقم بالمرشحات.

• تجميد البيئات المعملية :

إضافة مواد مجمدة Solidifying agents للبيئات السائلة وتحويلها إلى شبه صلبة وصلبة

وهذه المواد لا علاقة لها بالقيمة الغذائية للبيئة.

ومنها ← مادة الأجار - مادة الجيلاتين.

• أهمية التجميد ← سهولة تناولها - إعطاء سطوح مختلفة الشكل

أولاً الأجار :

مادة كربوهيدراتية معقدة التركيب تستخلص من بعض الطحالب البحرية - لا تحللها الميكروبات.

مداها الحراري ← 43-100° أي تتجمد عند 43 وتنصهر عند 100 - يضاف بنسبة 1.5-2% للبيئة.

ثانياً الجيلاتين :

مادة بروتينية ناقصة التركيب تستخرج من الكولاجين من أظافر وعظام الحيوانات - تحللها بعض الميكروبات

لها القدرة على إفراز إنزيم الجيلاتينيز - مداها الحراري ← 25-27 - يضاف بنسبة 15-20% للبيئة.

• خطوات تحضير البيئة المعملية :

وزن المكونات وإذابتها بالكمية اللازمة المطلوبة - طبخ المكونات بالغليان مع التقليب - ترشيح البيئة

ضبط الـ (PH) - تعبئتها وتغطيتها بالقطن الغير ماص - تعقيمها وتركها للتصلب.

* في التحضير عند قياس الـ PH لمادة صلبة يتم القياس قبل إضافة الأجار.

تقسم البيئات تبعاً لقوامها الى :-

١) بيئات سائلة ← بيئة بويون مغذى - بيئة اللبن
" " السكريات - بيئة بويون السكريات لاختبار التخمر.

٢) بيئات صلبة ← بيئة جيلاتين مغذى - بيئة آجار مغذى
" سترات الصوديوم - " " السكريات.

٣) بيئات شبه صلبة ← يضاف الاجار بنسبة 0.5 - 1.0 % للبيئة.
"تقليل نسبة المواد الصلبة لجعلها سائلة الى حد ما"

- بيئة بويون المغذى Nutrient broth :- "مستخلص لحم + ببتون"
- تضبط درجة الـ PH على 7.
- تعقم في الاوتوكلاف.
- تنمية معظم البكتيريا ويشتق منها بيئات اخرى.
- بيئة بويون السكريات :- "بويون مغذى + سكر"
- " " " " " "
- " " أرنولد.
- تنمية الميكروبات التي تحتاج سكر للنمو مثل ← الخمائر - الاكتينوميسيتات.
- بيئة بويون السكريات لاختبار التخمر :- "بويون سكريات + دليل حموضة وقلوية + انبوبة درهام مقلوبة"
- " " " " " "
- " " أرنولد.
- اختبار وتمييز المجاميع الميكروبية التي تخمر السكريات وتنتج حامض وغاز.

* انبوبة درهام المقلوبة يتكون داخلها فقاعات دليل على تكون غاز وحدوث التخمر.

- بيئة اللبن :- "لبن فرز طازج + دليل عباد الشمس 2% من محلول 5%"
- " " " " " "
- " " أرنولد.
- التمييز والتعرف على الميكروبات تبعا للتغيرات التي تحدثها في مكونات البيئة.
- بيئة الاجار المغذى Nutrient agar :- "بويون مغذى + آجار"
- " " " " " "
- " " الاوتوكلاف.
- تنمية معظم الميكروبات.

• بيئة أجار السكريات ← "ببتون - سكريات + آجار"

• تضبط درجة الـ PH على 7 .

• تعقم في أوتوكلاف.

• تنمية الميكروبات التي تحتاج السكر للنمو.

• بيئة الجيلاتين المغذي ← "ببتون مغذي - جيلاتين"

• " " " " " " " " " "

• " " أوتوكلاف.

• دراسة قدرة الميكروبات على تحليل الجيلاتين.

• بيئة سترات الصوديوم ← "أملاح معدنية + سترات صوديوم + آجار + دليل Bromothymol Blue"

• " " " " " " " " " "

• " " الأوتوكلاف.

• دراسة قدرة الميكروب على استخدام السترات كمصدر وحيد للكربون

* مستخلص اللحم ← مصدر كربون.
* السترات ← " " .
* الببتون ← مصدر نيتروجين.
* الكاشف أو الدليل يستخدم للكشف عن التخمر.
* التخمر يعني انتاج بكتريا وحموضة.
* عندما يكون الميكروب له القدرة على إفراز انزيم الجيلاتينيز "يحلل الجيلاتين" تستبدل الجيلاتين بالآجار.

• تقسم البيئات تبعًا لطبيعتها الى :

١) بيئات طبيعية ← بيئة اللبن - بيئة اللحم.

٢) بيئات تركيبية ← مخلقة معروفة التركيب ← عضوية "الآجار المغذي"
← معدنية "بيئة الطحالب"
← غير مخلقة غير معروفة التركيب ← "بيئة مستخلص التربة - بيئة سيرم الدم - بيئة مطحون النبات"

* سيرم الدم يتم تعقيمه بالترشيح أما الدم نفسه يعقم بالمواد الكيميائية.

• تقسم البيئات تبعًا للغرض من استخدامها الى :

١) بيئات اختيارية ← سترات الصوديوم

٢) بيئات مفرقة ← لبن عباد الشمس

٣) بيئات إكثار ← Tetrathionate broth

* اذا نمت البيئة في السترات "قلوي" تكون لونها أزرق وفي الوسط المتعادل تكون لونها أخضر.
* البيئة المفرقة تفرق بين اكثر من نوع من البكتريا حسب اللون والشكل
* بيئة الاكثار غالبًا تكون سائلة.

المزارع الميكروبية:
ادخال البكتريا الى بيئات غذائية معقمة.

أنواعها ←
1) نقية أي تحتوي على نوع واحد من البكتريا.
2) مختلطة " " " نوعين أو أكثر من البكتريا.

طريقة تحول البيئة الغذائية الى مزرعة ميكروبية:
يتم تلقيح البيئة الغذائية لتصبح بيئة ملقحة محتوية على ميكروبات حية ثم يتم التحضين لتصبح مزرعة ميكروبية.

تلقيح تحضين
بيئة غذائية ← بيئة ملقحة "خلايا حية" ← مزرعة ميكروبية "خلايا حية نامية".

التلقيح Inoculation:
ادخال ميكروبات أو مواد بها ميكروبات حية على بيئة غذائية معقمة "ابرة التلقيح".

التحضين Incubation:
توفير درجة حرارة مناسبة لنمو الميكروب وتوفير احتياجات الهوائية "المحضن".

المحضن:
جهاز مزدوج الجدار - رفوف مثقبة - مصدر حراري - منظم حرارة "ثرموستات".

احتياطات استخدام المحضن:
عدم فتح الباب لتجنب انخفاض الحرارة - تحضن الانابيب في وضع عمودي
تحضن الاطباق مقلوبة علل؟
لمنع التكثيف من السقوط على البيئة وتقليل نسبة التبخر.

* التحضين من أهم طرق لحفظ المزارع.

• أنواع المزارع الميكروبية:
تقسم على حسب طبيعة النمو في البيئة الى:
1) مزارع صلبة ← مائلة - عميقة - مصبرة - مزارع أطباق
2) " سائلة ← ادخال الميكروب للمزرعة السائلة ينتج عنه عكارة "Turbidity".

* المزارع المصبرة تكون شبه صلبة والعميقة صلبة.

طرق حفظ المزارع: نقلهم على بيئات معقمة - حفظهم على درجات حرارة منخفضة في الثلاجة - التجفيد
أهمية " ": دراسة الصفات الفسيولوجية والمورفولوجية للميكروبات - استخدامهم في مجال الهندسة الوراثية
أشكال خلايا البكتريا: كروية Cocci - عصوية قصيرة Short rods - عصوية طويلة Bacilli "متفرعة - غير متفرعة"
حلزونية Spiral - ضمية أو واوية الشكل Vibrio - خيطية Actinomycetes

أشكال الفطريات: خيطية Molds - خمائر Yeasts

• الفطريات الخيطية ← هيفات أو خيوط طويلة متفرعة مقسمة بجدر عرضية تتكاثر بالكونيديا.

• البكتريا " ← " " " " رفيعة " غير " " " " " " "

• الخمائر ← خلايا بيضاوية كبيرة توجد في مجاميع غير منتظمة تتكاثر بالتبرعم.

• أجزاء الميكروسكوب: "ميكانيكية - بصرية"

الميكانيكية ← القاعدة - الذراع - المسرح - الضابط الكبير - الضابط الصغير.

يحرك المسرح   يثبت وضوح الشريحة.

البصرية ← المرآة - المكثف - الجهاز المكبر.

تعكس الضوء   يجمع أو يكثف الضوء   "عدسات" من أهم الاجزاء

• الجهاز المكبر:

1) عدسات شيئية ← عدسات جافة "صغرى - كبرى"

ملاصقة للشريحة ← " زيتية منغمسة "يستخدم زيت سيدر"

2) عدسات عينية.

قوة تكبيرها ثابتة "10"

• العدسة الجافة الصغرى قوة تكبيرها ← 10 X

• " " الكبرى " " ← 40 X

" الزيتية المنغمسة " " ← 100 X

* هناك علاقة طردية بين العدسة والاضاءة "عدسة صغرى - إضاءة ضعيفة"

بدون استخدام زيت سيدر ← معامل انكسار الضوء في الشريحة الزجاجية مختلف عن معامل انكسار الضوء في الهواء

لذا يحدث تشتت للضوء وينكسر ولا يظهر على العدسة.

باستخدام زيت سيدر ← معامل انكسار الضوء في الزجاج = معامل انكسار الضوء في الزيت

لذا لا يحدث تشتت ويعمل على تجميع الأشعة الى العدسة.

سؤال لماذا لا يوضع زيت في العدسات الجافة الصغرى والكبرى؟

لأن العدسات الجافة لا تستخدم لفحص الأغشية المصبوغة على عكس العدسات الزيتية.

طرق صبغ الميكروبات :

1) صبغ بسيط ← نوع واحد من الصبغة.

الاهمية البكتريولوجية ← دراسة الشكل المورفولوجي للخلايا الميكروبية

2) صبغ مركب ← نوعين أو أكثر من الصبغة

الاهمية البكتريولوجية ← تعتمد على الطريقة المستخدمة

- الصبغ البسيط ← صبغة أحمر الفوكسين

حامضية قوية - المدة من 0,5 الى دقيقة

سؤال علل لا تستخدم صبغة احمر الفوكسين في صبغ البكتريا العالقة في وسط قابل للتلون

لأنها صبغة قوية وسيتم صبغ الوسط والبكتريا لذا لن يتم التفرقة بينهم.

- الصبغ المركب ← صبغة أزرق المثيلين

قاعدية ضعيفة - من 3 الى 5 دقائق - تستخدم في صبغ البكتريا العالقة في وسط قابل للتلون

سؤال لماذا نصبغ الميكروبات ؟

حتى نتمكن من معرفة أشكالها أو توضيح الشكل المورفولوجي.

- الفحص الميكروسكوبي للبكتريا يتطلب :

تحضير الغشاء وتثبيته - صبغ الغشاء - فحص الغشاء بالعدسة الزيتية.