البيئـات الزرعية

CULTUR MEDIA

إن غالبية الدراسات والبحوث البكتيريولوجيه تتطلب استعمال بيئات زرع مختلفة تحضر بالمعمل، وهذه البيئات وإن لم تكن متماثلة تماماً مع البيئات التي تعيش فيها أو عليها هذه الكائنات في الطبيعة إلا أنها قريبة الشبه منها قرباً قد يوفر الاحتياجات والمتطلبات الغذائية اللازم لتنميتها. لذا يمكن تعريف البيئة الزرعية بأنها أوساط زراعية مناسبة لنمو الأحياء المجهرية تتوفر فيها متطلبات النمو الأساسية، أو أي مادة يمكن أن تنمو عليها الكائنات الدقيقة.

تصنف البيئـات الزرعية من ناحية التركيب إلى ..

1- بيئات مصنعة (محددة التركيب الكيميائي) Syntific media :

وهي التي تتكون من مواد ذات تركيب كيماوي محدد "بتركيزات معروفة"، ونظراً لأن التركيب الكيماوي لكل مكونات البيئة التركيبية يكون معروفاً ومحدداً، فإنه يمكن تكرار تجهيز مثل هذه البيئات بنفس الدقة في كل مرةٍ من مرات التحضير ومن الامثلة على ذلك Nutient agar و Potato dextrose agar .

2- بيئات طبيعية (غير محددة التركيب الكيماوي) Natural media:

هي التي تحتوي على مايلزم نمو الميكروبات من مواد بشكلها الخام، مثل البيئات التي يدخل في تركيبها المواد الطبيعية كمستخلص اللحم، الدم، أو مستخلص الأنسجة النباتية، ولما كان التركيب الكيماوي الدقيق لمثل هذه المواد غير محدد بمعنى أن جميع مكونات البيئة وكمياتها غير معروفة بالضبط وتختلف باختلاف المادة الطبيعية المستعملة كان من الصعب تكرار تحضيرها عملياً.

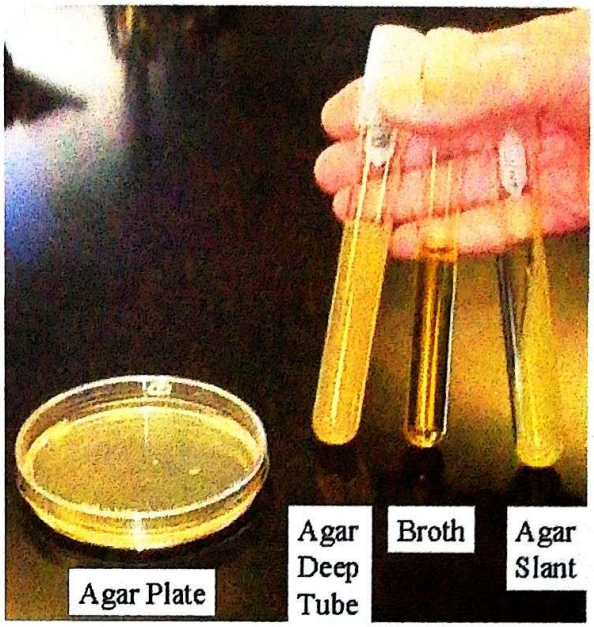
3- بيئات نصف مصنعة Semi synthetic media :

وهي الاوساط التي تحضر من مواد كيميائية محددة وبتراكيز معروفة ثم يضاف اليها مواد طبيعية كالدم والبيض وغيرها ومن امثلة ذلك Blood agar .

ويمكن تقسيمها على أساس قوامها إلى:

1- بيئات صلبة Solid media :

مثل البيئات التي يدخل في تركيبها الآجار أو الجيلاتين، وتستخدم لتمييز المستعمرات.



4- بيئات نصف صلبة Semisolid media :

وهي التي تحتوي على كمية من الآجار لا تزيد عن ربع الكمية التي تضاف إلى البيئات الصلبة القابلة للإسالة.

5- بيئات سائلة Liquid media :

مثل بيئة اللبن أو بيئة المرق المغذي، وتستخدم لتنمية الميكروبات المعزولة بصورة نقية.

بالإضافة إلى ذلك توجد بيئات ذات أغراض خاصة لسهولة تنمية وعزل مجموعات معينة من البكتيريا مثل:

1- الأوساط الغنية Enriched media :

وهي أوساط عادية بسيطة مضافاً إليها مواد غذائية غنية مثل الدم، المصل، مستخلصات النباتات أو الحيوانات لمواجهة متطلبات النمو الصعب الإرضاء مثل

Serum agar – Milk agar – Blood agar

2- الأوساط الاختيارية Selective media :

وهي الاوساط التي تضاف لها بعض المواد بتركيز معين كالصبغات، أملاح الصفراء، المضادات الحيوية، الأحماض للسماح بنمو مجموعة من البكتيريا دون غيرها كإضافة صبغة الكريستال البنفسجي بتركيز معين يؤدي إلى نمو مختلف أنواع البكتيريا السالبة لصبغة جرام ويمنع نمو البكتيريا الموجبة

3- الأوساط المفرقة Deferential media :

هي الأوساط التي تسمح بنمو نوعين من البكتيريا يمكن التمييز بينهما، مثل بيئة آجار الدم فبإضافة الدم إلى الوسط الزراعي يسمح بتمييز البكتيريا المحللة للدم وغير المحللة، حيث تظهر حلقة فارغة حول المستعمرة المحللة، وبذا تلعب الأوساط المحتوية على الدم دور الوسيط الغني المفرق في الوقت ذاته.

4- بيئات التقدير الحيوي Biological assay media

5- بيئات عد البكتيريا Media for eneumeration of bacteria

6- بيئات التعرف على البكتيريا Media for characterization of bacteria

المكونات الأساسية للأوساط الزراعية:

تشترك معظم الأوساط الزراعية في احتوائها على المواد التالية:

❖ الببتون Peptone

يعتبر مصدراً هاماً للنتروجين العضوي في البيئات المعدة لتنمية البكتيريا غير ذاتية التغذية، يحضر من اللحم الخالي من الدهون بعد تحلله بإنزيم الببسين.

❖ خلاصة اللحم Beef extract

تحضر من اللحم البقري الخالي من الدهون بعد غليه وترشيح الخلاصة وتركيزها، يحتوي المستخلص على بعض الأحماض غير العضوية وبعض المواد العضوية مثل الأحماض الأمينية، الجلوكوز، اليوريا، حامض اللكتيك، الفيتامينات، عوامل النمو الأخرى.

❖ خلاصة الخمير Yeast extract

تحتوي على بعض الأحماض الأمينية، وبعض العوامل المساعدة للنمو، وأملاح معدنية.

❖ الماء Water

تحتاج الخلايا الحية إلى الماء لنموها ولإتمام عملياتها الأيضية، وعلاوة على استخدامه كمادة مذيبة للمواد الغذائية، ويفضل استخدام الماء المقطر لخلوها من الأملاح المعدنية.

❖ المواد التصليبية Solidifying agents :

تضاف إلى بيئة الزرع السائلة بعض المواد لتساعدها على تحولها إلى بيئة صلبة تساعد على تكوين مستعمرات فرديه.

وفيما يلي بعض المواد التصليبية التي تضاف إلى بيئات الزرع ..

❖ الجيلاتين Gelatin

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

❖ الأجار أجار Agar agar

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

تحضير الاوساط الزرعية :

1- **وزن الوسط الزرعي المراد تحضيره ويعتمد هذا على ما مكتوب على علبة الوسط الجاهزة من الشركة المصنعة .**
2- **ضبط الاس الهيدروجيني (pH) للوسط .**
3- **تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة لمدة زمنية تعتمد على الوسط المحضر .**
4- **صب الاوساط / في حالة الاوساط الزرعية السائلة يحضر الوسط ويوضع في انابيب قبل التعقيم ، اما في حالة الاوساط الصلبة فبعد التعقيم تبرد الاوساط الى درجة حرارة 45 °م بحيث لايؤدي الى تصلبه ثم تصب اما في اطباق معقمة مسبقا ويترك ليتصلب ثم توضع الاطباق بشكل مقلوب في الحاضنة لتقليل التبخر كما انه يمنع تكثف الماء على السطح او / يصب الوسط الصلب في انابيب ويوضع بشكل مائل ليتصلب بعد فترة ويسمى Slant .**
5- **اختبار العتمة Sterility test :**

العتمة : هو عدم وجود الاحياء المجهرية داخل الاوساط الزرعية المعقمة .

توضع الانابيب والاطباق والدوارق الحاوية على وسط معقم في الحاضنةقبل الاستعمال للتأكد من خلوه من التلوث ثم يوضع في الثلاجة او يستعمل مباشرة .