الأوساط الزرعية Culture media

تعرف الأوساط الزرعية بأنها البيئة (المادة الغذائية) التي تستعمل لتنمية الأحياء المجهرية المختلفة في المختبر بعد عزلها من مكانها الاصلي مثل العينة المأخوذة من الانسان والحيوان والنبات والبيئة الطبيعية المحيطة بنا ، وتحتوي الاوساط الزرعية على جميع المكونات الضرورية للنمو وابسط تشبيه للأوساط الزرعية هي زراعة النباتات في التربة فعندما نحتاج زراعة وتشخيص البكتيريا نزرعها في بيئة خاصة بالميكروبات تسمى بالوسط الزرعي.

ومهما اختلفت هذه الأوساط في التركيب فلابد من احتوائها على مصادر غذائية رئيسية مثل الكاربون والنتروجين والمعادن وعوامل النمو كالفيتامينات والعوامل المساعدة الأخرى.

تسمية الاوساط الزرعية

تسمى الاوساط احيانا حسب احد مكوناتها ويضاف لها كلمة Agar للاشارة الى ان قوام الوسط صلب مثل وسط سترمايد اكار Cetrimide agar الذي يحتوي على مركب السترمايد او قد تسمى حسب الميكروب الذي تنمو عليه مثل وسط SS agar الخاص ببكتريا السالمونيلا والشايكلا.

تقسيم الأوساط الزرعية حسب طبيعة مكوناتها إلى :-

1- الأوساط الطبيعية Natural media:- وهي الأوساط التي تكون مكوناتها طبيعية أي الأوساط التي تكون مكوناتها مجهولة التركيب والتركيز مثل الحليب والبيض والبطاطا ومصل الدم، فعندما يحوي الوسط على الحليب يسمى Milk media culture واذا احتوى على البيض فيسمى Egg media cultur ، مثال على ذلك وسط المرق المغذي Nutrient broth المتكون من (خلاصة اللحم Beef extract، الببتون Peptone وخلاصة الخميرة Yeast extract) .

2-الأوساط الصناعية Synthetic media:- وهي الأوساط التي تكون مكوناتها معلومة التركيب والتركيز مثل وسط MacConkey agar و Lactose broth، وتعد هذه الأوساط بيئات غذائية غنية وجيدة لتنمية مدى واسع من البكتريا والأحياء المجهرية الأخرى. وتكون هذه الأوساط إما بحالة صلبة أو شبه صلبة أو سائلة.

3-الأوساط شبه الصناعية Semi-synthetic media:- وهي الأوساط التي تكون بعض مكوناتها معلومة التركيب والتركيز وبعضها الآخر مجهولة التركيب والتركيز مثل وسط Potato dextrose agar.

وتقسم الأوساط الزرعية حسب صلابتها Solidity إلى:-

1- الأوساط السائلة Liquid media:- وهي الأوساط التي لا تحتوي على مواد تصليب مثل الآكار والجيلاتين والشركات المنتجة لهذه الأوساط تضع كلمة Broth عليها مثل وسط Nutrient broth.

Scanned with CamScanner

2-الأوساط شبه الصلبة Semi-Solid media:- وهي الأوساط التي يضاف لها مواد تصليب تدعى(الاكار)Agar بنسبة1% .

3-الأوساط الصلبة Solid media:- وهي الأوساط التي يضاف لها مواد تصليب (الآكار والجيلاتين) بنسبة (1.5-2%) مما يسمح بتصليبها عند درجة حرارة بين 40-45 درجة مئوية، ويستخدم الآكار بكثرة في مختبرات الأحياء المجهرية اذ يعتبر مادة مصلبة وهو عبارة عن مواد كاربوهيراتية تستخرج من بعض الطحالب الحمراء الموجودة في أعماق البحر وخاصة التابعة للجنس Geledium.

س: اكتب اصناف الاوساط حسب صلابتها مع ذكر مثال لكل منها

تقسم الأوساط الزرعية حسب وضيفتها والغاية من الإستعمال إلى :-

1-الأوساط البسيطة Simple media:- وهي الأوساط التي تحتوي على المواد الغذائية الأساسية كمصدر للنتروجين والكاربون وتنمو فيها معظم البكتريا التي لا تحتاج إلى مواد غذائية نادرة أو معقدة مثل المرق المغذي Nutrient broth، ماء الببتون Peptone water والآكار المغذي Nutrient agar.

2-الأوساط التفريقية Differential media:- وهي الأوساط التي تسمح بنمو نوعين من البكتريا يمكن التمييز بينهما مثل :-

a- وسط آكار الماكونكي MacConkey agar:- يعمل على التفريق بين البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز عن البكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز، فالبكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز تظهر بلون وردي، أما البكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز فتكون عديمة اللون (ذات لون شاحب).

b- وسط آكار الدم Blood agar:- يعمل على التفريق بين البكتريا المحللة للدم عن تلك غير المحللة للدم ويتكون آكار الدم من الوسط الأساس Blood agar base يضاف له الدم المعقم بتركيز نهائي (5- 10%).

3- الأوساط الانتخابية Selective media :- وهي الأوساط التي تسمح بنمو مجموعة من البكتريا دون غيرها وتحتوي هذه الأوساط على مواد مثبطة للبكتريا الغير مرغوب فيها وبنفس الوقت تعزز من نمو البكتريا المراد عزلها مثل:-

a- وسط بزموث سلفايت Bismuth sulphite agar:- ويستعمل هذا الوسط لعزل جراثيم السالمونيلا Salmonella ، أهم مكونات الوسط هي الأخضر اللماع Brilliant agreen الذي يعمل كمثبط لنمو البكتريا بالإضافة إلى احتواءه على كاشف Bismuth sulphite indicator وبهذا يعد هذا الوسط انتخابي وتفريقي في نفس الوقت.

b- وسط سكر المانيتول Mannitol salt agar:- يستعمل هذا الوسط لعزل جراثيم المكورات العنقودية Staphylococci حيث يتم تثبيط البكتريا الأخرى باحتوائه على تركيز عالي (7.5 %) من ملح الطعام NaCl كما يحتوي الوسط على سكر المانتول الذي يعمل على

Scanned with CamScanner

التفريق بين جراثيم المكورات العنقودية المخمرة للسكر والتي تظهر بلون أصفر عن غير المخمرة للسكر والتي تظهر بلون أحمر وبهذا يعد هذا الوسط انتخابي وتفريقي في نفس الوقت.

4-الأوساط الغنية Enriched media:- وهي أوساط بسيطة مضافا" إليها مواد غذائية غنية مثل الدم، المصل، مستخلصات النباتات أو الحيوانات لمواجهة متطلبات النمو الصعب الإرضاء مثل آكار الدم Blood agar، جوكليت اكار (Chocolate agar) التي تنتج من غليان الدم Heated blood agar، آكار نقيع المخ والقلب Brain heart infusion agar.

5-الأوساط الناقلة Transport media:- وهي أوساط بسيطة تستعمل لنقل العينات من مناطق بعيدة وذلك للحفاظ عليها من الجفاف لحين وصول العينة إلى المختبر مثل وسط Stuart Transport medium.

س: اكتب اصناف الاوساط حسب وضيفتها مع ذكر مثال لكل نوع

طريقة تحضير الوسط الزرعي:-

1- قم بتشغيل الميزان الحساس المختبري *(راجع المختبر الاول لمشاهدة الصورة)*.
2- ضع قطعة من ورق القصدير على قرص الوزن المثبت في وسط الميزان .
3- قم بتصفير الميزان من خلال الضغط على زر TARE .
4- خذ الكمية التي تريد وزنها باستعمال الملعقة Spatula او المغرفة Scoopula وبشكل خفيف لتلافي الخلل في عملية الوزن كما بإمكان سحب الكمية الزائدة لحين الوصول للوزن المطلوب.
5- ع الكمية في الدورق المخروطي ذو الحجم المطلوب.
6- قم بإضافة الحجم المحدد من المذيب أي الماء المقطر باستعمال الاسطوانة الحجمية Graduated cylinder .
7- ضع الدورق المخروطي الحاوي على الوسط والماء على الطبق الساخن الخلاط Hotplate with magnetic stirrer وفي هذه الخطوة ضع قطة المغناطيس Magnetic bar داخل الدورق المخروطي لتسريع المزج والاذابة ولا تنسى سحب قطعة المغناطيس من الدورق قبل وضع الوسط في الاوتوكليف.
8- ضع القارورة في جهاز التعقيم بالبخار (Autoclave) لمدة 15 دقيقة تحت ضغط 1 بار او 0.15 MPa ودرجة حرارة 121 درجة منوية لهدف التعقيم.
9- اخرجها من الجهاز وأنتظر حتى تبرد قليلا من خلال امكانية لمسها وبعدها يتم صب الوسط في أطباق بتري من مصدر حراري وتبقى الأطباق مفتوحة حتى لا يتكثف البخار على غطاء الطبق بعد التصليب وتغطى الأطباق وتحفظ في الثلاجة .إذا كان الوسط سائلا فلا داعي للصب وتخرج الأنابيب من جهاز التعقيم وينتظر حتى تبرد ثم تحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال.

Scanned with CamScanner