الأوساط الزرعية Culture media

الاوساط (ومفردها الوسط medium) هي البيئات التي تنمى فيها او عليها الاحياء المجهرية لاحتوائها على المتطلبات الغذائية للنمو من النتروجين والكاربون والفسفور والكبريت والعناصر الاخرى. وتختلف الاوساط المستخدمة لتنمية الاحياء المجهرية باختلاف طبيعة تغذية هذا الاحياء ومتطلباتها من العناصر المختلفة .

ان الاحياء المجهرية عموماً تقسم على مجموعتين رئيستين من حيث التغذية هما : ذاتية التغذية Autotrophs وغير ذاتية التغذية (عضوية التغذية) Heterotrophs . فالأولى تتمكن من النمو معتمدةً على مركبات غير عضوية ، اما المجموعة الثانية فبإمكانها استغلال المركبات العضوية بصفتها مصادر للعناصر المذكورة في أعلاه .

والاوساط الزرعية Culture media لا توفر للأحياء المجهرية احتياجاتها من العناصر الغذائية فحسب وانما توفر لها ايضاً الظروف او العوامل الفيزيائية للنمو من النشاط المائي والضغط الازموزي والرقم الهيدروجيني الملائم وكمية الاوكسجين ودرجة الحرارة والعامل الأخير يتم التحكم به خارجياً من خلال حضن الاوساط الملقحة inoculated او المزروعة cultured في الحاضنة incubator .

ولتسهيل دراسة الاوساط الزرعية او الغذائية او كما تسمى احياناً ، تقسم هذه الاوساط على مجاميع مختلفة اعتماداً على اسس متباينة كما موضح في ادناه :-

- **الاوساط الزراعية بحسب الحالة الفيزيائية**

1. الأوساط السائلة Liquid Media :- وتكون خالية من مادة الآكار Agar ، اذ تبقى بالحالة السائلة بعد تحضيرها وتعقيمها . وتنتهي تسمية الأوساط الجاهزة من هذا النوع اما بكلمة Broth او Medium مثال :- Nutrient Broth – MacConky Broth – Litmus milk medium وغيرها .
2. الأوساط شبة الصلبة Semi- Solid Media :- وتحتوي على نسبه من الآكار في حدود 1% اذا تتخذ بعد تحضيرها وتعقيمها قواماً اقل صلابة من قوام الهلام وتستخدم في اغراض خاصة ومنها فحص الحركة مثل :- Semi- solid motility media .

3. الاوساط الصلبة Solid Media :- وتحتوي على 1.5- 2% من مادة الآكار التي تجعل قوام الوسط هلامياً (يشبه الجلي) وتنتهي تسمية الاوساط الجاهزة من هذا النوع بكلمة Agar للدلالة على احتواء الوسط على مادة تساعد في تصلبها بعد التحضير ومن الامثلة عليها Nutrient Agar – MacConky Agar وغيرها .

الآكار Agar

مادة تستخلص من بعض الطحالب الحمراء ولاسيما تلك الانواع التي تعود للجنس Gelidium ، اذا تشكل هذه المادة احدى مكونات الجدار الخلوي في الانواع التابعة لهذا الجنس . وهو مركب كاربوهيدراتي معقد يشكل الكالاكتوز Galactose الوحدات الاساسية فيه . يستخدم بنسبة 1.5الى 2 % في الاوساط الغذائية كعامل يساعد في تصلب هذه الاوساط واتخاذها قوما هلاميا يشبه قوام الجلي . تتميز مادة الاكار بالسمات المذكورة في ادناه والتي أهلتها

في ان تحتل المقدمة ضمن قائمه من المواد التي تستخدم للغرض نفسة :-

1- انها تذوب في حدود درجة غليان الماء وتتصلب عند تبريدها الى 42 م°.

2- تساعد مقادير قليله منها في تصلب كميات كبيره من الاوساط اذا يكفي 1.5– 2 غرام منها على تصلب 100 مللتر من الوسط .

3- لا تهاجم او تحلل من معظم الاحياء المجهرية وهذا يعني انها لا تستهلك في الوسط الزراعي كمادة مغذية من قبل الاحياء التي يتم تمنيتها في هذه الاوساط . ويذكر ان الجيلاتين (وهو مادة بروتينه) كان قد استخدم في تصلب الاوساط قبل الشروع في استخدام مادة الاكار . بينما ان الجيلاتين يهاجم ويستهلك من الاحياء المجهرية وان الجيلاتين لا يتصلب الا عند خفض درجة حرارته الى 25 مْ او دون ذلك مما يحول دون امكانية استخدامه في الاسواط المختبرية لتنمية الاحياء المجهرية المحبة للحرارة Thermophilic ويتطلب تصلب 100 ملليتر من الوسط حوالي 20 غم من الجيلاتين . لذلك كان البحث مستمراً عن مادة بدلية عن الجيلاتين يمكن استخدمها لتصلب الاوساط الغذائية .

- **الاوساط الزراعية بحسب الغرض من الاستخدام**

تقسم الاوساط الغذائية او الزراعية بحسب الاغراض التي تستخدم من اجلها الى الانواع الأتية :-

1. اوساط عادية / اعتيادية Ordinary :- وهذه تصلح لتنمية معظم الاحياء المجهرية وليس جميعها مثل Nutrient Agar .
2. اوساط غنية Enriched Media :- وهذه الاوساط تدعم ببعض المكونات والمواد التي تشجع نمو الاحياء المجهرية الشرهة Fastidious اي التي تحتاج الى العديد من عوامل النمو ومن الأمثلة عليها : Blood Agar infusion – Brain heart .
3. اوساط تفريقيه Differential Media :- وفيها تنمو اكثر من واحد من الاحياء المجهرية، غير ان احد هذه الانواع تكون مميزه عليها، اذا يمكن تفريقها عن الانواع الاخرى من حيث اللون وشكل المستعمرات مثل Eosin methylene Blue Agar (EMB-Agar) و MacConky Agar وقد تسمى مثل هذه الاوساط بـ Indicator Media ، اذا انها

تحتوي على دلائل او كواشف يتغير لونها بتغير الرقم الهيدروجيني للوسط بفعل تخمر انواع معينه من السكريات من قبل الاحياء النامية عليها . فالوسطان المذكوران في اعلاه يمكن استخدامها لتمييز بكتريا *Escherichia coli* تميزاً اولياً مباشراً في عينه من الماء او الحليب مثلاً . فالوسط MacConky Agar يحتوي على صبغة Neutral Red التي يتغير لونها من الاصفر الشاحب الى الاحمر القاني بتغير الرقم الهيدروجيني pH الوسط، نتيجة استهلاك سكر اللاكتوز (مصدر الكاربون الوحيد في الوسط) بوساطة بكتريا القالون القادرة على استهلاك هذا السكر من بين البكتريا السالبة لصبغة كرام .

4. الاوساط الانتقائية Selective Media :- وهذه تحتوي على مواد تثبط نمو انواع معينة او مجاميع معينه وتشجع نوعا او مجموعة من البكتريا على النمو ومن هذه المواد ازايد الصوديوم NaN_3 ويضاف الى وسط عزل بكتريا حامض اللاكتيك Lactic acid bacteria ، ذلك لان هذه المادة لا تؤثر في البكتريا الخالية من انزيم Cytochrome oxidase ومنها بكتريا حامض اللاكتيك بخلاف البكتريا السالبة لصبغة كرام . ويكمن تأثيره في شل فعالية الانزيم المذكور بالارتباط غير العكسي مع مجموعة الهيم فيه . عليه فان وجوده في الوسط يحول دون نمو البكتريا السالبة لصبغة كرام ، الامر الذي يوفر فرصة اكبر لعزل بكتريا حامض اللاكتيك . كما تستخدم صبغة Crystal violet في بعض الاوساط لجعلها اكثر انتقائية للبكتريا السالبة لصبغة كرام ، وكذلك الحال فيما يتعلق بأملاح الصفراء والمضادات الحيوية مثل Brilliant green agar الذي يستخدم لعزل بكتريا *Salmonella* .

5. اوساط الاختبار Assay Media :- وهذه تستخدم في تقدير كمية المضادات الحيوية او الفيتامينات المنتجة من الاحياء المجهرية او الموجودة في العينات قيد الدراسة نحو بعض الاغذية مثلاً.

ومن حيث التصنيف المذكور في اعلاه يمكن وضع وسط غذائي معين في اكثر من موضع واحد .

- **الاوساط الزرعية بحسب مكوناتها او تركيبها :-**

1. اوساط معروفة التركيب كيميائيا Chemical defined media :- ويمكن تسميتها بالأوساط التركيبية او الاصطناعية Synthetic media وهي الاوساط التي تتألف من مركبات كيمياوية معروفه التركيب مثل Glucose inorganic salt mediaالذي يحتوي على المكونات معروفة التركيب .

يستخدم وسط Glucose inorganic salt media لتنمية بكتريا *Escherichia coli* وهناك العديد من الاوساط التركيبة الاخرى لتنمية الانواع الاخرى من البكتريا بما في ذلك البكتريا ذاتية التغذية Autotrophs . بل ان الاوساط الاصطناعية غالبا ما تستخدم لتنمية البكتريا او الاحياء ذاتية التغذية شريطة ان لا تكون خالية من مصدر الكاربون (الكلوكوز في الغالب) .

2. الأوساط الطبيعية Natural Media :- ويمكن تسميتها بالأوساط غير الاصطناعية Non Synthetic Media وتتكون من مواد طبيعية أو مشتقاتها أو أجزاء منها ، كالحليب واللحم والبيض وبعض الانسجة النباتية ، والتي تحتوي على الاحتياجات الغذائية المطلوبة للأحياء المراد تنميتها ، وعلى شكل مركبات عضويه معقده ومن الامثلة عليها Nutreint Broth كما موضح في الجدول ادناه وهو من الاوساط العامة والطبيعية :-

المكونات	غرام /لتر
Peptone (ببتون)	5
Meat extract(مستخلص اللحم)	3
ماء مقطر	1000 مل

وفي ادناه امثلة لبعض المواد المستخدمة لتحضير الاوساط الزرعية الطبيعية ومواصفاتها :-

1) **مستخلص او خلاصة اللحم Meat extract** :- وهو المستخلص المائي للحم المركز ويحتوي على المواد الذائبة في انسجة الحيوانات مثل الكاربوهيدرات والمركبات النتروجينية العضوية والفيتامينات والاملاح وغيرها .
2) **الببتون Peptone** :- ويحضر من هضم المواد البروتينة مثل اللحوم والكازين او البروتينات النباتية ، هضماً انزيمياً . ويحتوي على ببتيدات ذات اوزان جزيئية مختلفة. تستخدمها الاحياء المجهرية مصدراً للنتروجين . وقد يحتوي احياناً على بعض الفيتامينات والكاربوهيدرات اعتماداً على المصدر الذي يحضر منه .
3) **مستخلص الخميرة Yeast extract**:- وهو المستخلص المائي لخلايا الخميرة وهو مصدر غني بالفيتامينات والاملاح ويعد مصدراً للنتروجين العضوي والكاربوهيدرات ايضاً.

ويذكر ان هناك شركات متخصصه لتحضير الاوساط الزرعية مثل شركة Oxoid وDifco و Fluka وغيرها ، تجهزها وتكون بصوره مسحوق ذو لون بني فاتح في الغالب في عبوات تكون معلمة تتضمن المعلومات الأتية:- اسم الوسط ، نوع الوسط ، مكونات الوسط ، طريقة تحضير الوسط ، الاغراض التي يستخدم لأجلها (عزل Isolation - تشخيص Identification– تمييز Differentiation - عد enumeration) .

المستعمرة Colony

تدعى بقع نمو الاحياء المجهرية على الاوساط الصلبة في اطباق بتري بالمستعمرات والتي تختلف من حيث الحجم والشكل واللون تبعاً لنوع الاحياء المجهرية التي تكونها وعادة ما تنشأ كل مستعمرة من خلية واحده على الاقل، من خلال تكاثرها في الوسط مستفيدة من مكوناته الغذائية والظروف الفيزيائية المحيطة بها كدرجة الحرارة الحضن ، فتكون مجموعة من الخلايا في الموقع الذي تتواجد فيه فتظهر على سطح الوسط في ذلك الموقع على نحو بقعةٍ من النمو (عدد كبير من الخلايا) يمكن تميزها بالعين المجردة .

المصادر :

1- قازانجي ، محمد عمر محي الدين (2017) . التجارب العملية في علم الاحياء المجهرية . كلية الزراعة- جامعة بغداد . العراق .

2- الدليمي، خلف صوفي داود (1988) . علم الاحياء المجهرية للأغذية – الجزء العملي. جامعة بغداد . العراق .

3- الشريفي ، حسن رحيم وسالم حسين محمد (1992). مايكروبايولوجيا الالبان العملي . مطبعة دار الحكمة – جامعة البصرة .