



كلية : التربية الاساسية – حديثة

القسم او الفرع : العلوم العامة فرع الاحياء

المرحلة: الثانية

أستاذ المادة : لما دلي ابراهيم

اسم المادة باللغة العربية :احياء مجهرية

اسم المادة باللغة الإنكليزية : **Microbiology**

اسم المحاضرة الثامنة باللغة العربية: عزل البكتريا من التربة

اسم المحاضرة الثامنة باللغة الإنكليزية **Isolation of bacteria from soil**

## عزل البكتريا من التربة

تحتل البكتيريا كمجموعة رئيسية من كائنات التربة مكانا بارزا فهي أكثر المجموعات تواجدا في التربة وتتفوق عددا على باقي المجاميع مجتمعة .

من المعروف ان سيادة نوع من الاحياء تتحدد تبعا للظروف البيئية السائدة فالبكتريا والفطريات تصبح سائدة في التربة عندما تتوفر ظروف تهوية مناسبة , اما في حالة نقص الاوكسجين فان البكتريا تكون هي المسؤولة عن التغيرات الحيوية والكيميائية دون الاعفان .

تتميز البكتريا عن باقي المجاميع التي تشترك معها في نفس العمليات الحيوية في التربة بسرعة تكاثرها وقدرتها الفائقة على تحليل انواع كثيرة من المواد الطبيعية .

يمكن تقسيم بكتيريا التربة الى قسمين رئيسيين :

### أ-البكتريا المتأصلة في الموطن (Indigenous) :-

تستوطن التربة بصورة طبيعية ودائمة وتساهم بفعالية في النشاطات الكيميائية الحيوية فيها . وتتميز بقدرتها على مقاومة الظروف غير المناسبة لفترات طويلة وبسرعة استجابتها لاضافة العناصر المغذية العضوية .

### ب-البكتريا الدخيلة على التربة ( Invaders ) :-

تصل هذه البكتيريا الى التربة مع الامطار او الانسجة المريضة او مخلفات الانسان و الحيوان . هذه الانواع تظل حية لفترات قصيرة ولا تشارك بفعالية في عملية تحويل العناصر في التربة , كما لا تشارك في اي نوع من العلاقات مع غيرها من كائنات التربة .

وهناك انظمة اخرى للتقسيم مثل الحاجة الى الاوكسجين او شكل الخلية البكتيرية ....الخ .

يعتبر تقدير اعداد البكتيريا في التربة من الامور المعقدة لأسباب كثيرة منها عدم وجود وسط مثالي لتنمية جميع الانواع إضافة الى ان بعض الانواع لم تحدد متطلباتها تحديدا دقيقا .كذلك فان الخلايا

البكتيرية عادة ما توجد في التربة على هيئة تجمعات يصعب تفتيتها بصورة متجانسة اثناء عملية الرج او الزرع مما يؤثر على التقدير الكمي لها .

تختلف اعداد البكتيريا المتحصل عليها باختلاف الطرق المتبعة في التقدير ,فقد وجد ان طريقة العد في الاطباق عادة ما تعطي اعدادا تتراوح بين عدة مئات الى 200 مليون خلية/ غم من التربة , بينما الطريقة المباشرة باستخدام المجهر العادي تعطي اعدادا تصل الى  $10^8$  -  $10^{10}$  خلية /غم لذلك فان طرق تقدير الميكروبات الحية تعطي ارقاما تمثل على الاكثر 10% من قيمة الاعداد الكلية.

لا توجد البكتريا حرة في محلول التربة عادة وانما ملتصقة بحبيباتها او ملتصقة بالافرازات المخاطية للبكتيريا على سطح التربة .

يؤثر نوع التربة على كثافة البكتيريا حيث تكون المناطق المزروعة أكثر احتواء على البكتيريا و بأنواع كثيرة منها وذلك نتيجة زيادة كثافة الجذور وزيادة المحتوى العضوي والرطوبة كذلك تزداد البكتريا في المناطق الدافئة.

### الاجناس البكتيرية الشائعة في التربة

عند عزل وتشخيص البكتيريا الموجودة في التربة تظهر العديد من الانواع البكتيرية ومن ضمنها البكتريا العصوية المكونة للسبورات والعصوية غير المكونة للسبورات ذات الاحجام المختلفة والكروية والعصوية القصيرة التي تتحول الى الاشكال الكروية مع الوقت هي الانواع الواسعة الانتشار في التربة وهناك انواع كثيرة تتميز بظاهرة تعدد الاشكال خلال مرحلة النمو , فالأنواع العصوية القصيرة التي تتحول الى كروية عادة ما تتبع جنس *Arthrobacter* أما العصوية المكونة للسبورات فتتبع الجنس *Bacillus* وهي هوائية المعيشة او اختيارية ومنها تتبع الجنس *Clostridium* وهي لاهوائية اجبارية , كذلك تنتشر أنواع تابعة ل *Pseudomonas* في الاراضي المزروعة وغير المزروعة , وتنتشر كذلك الانواع الرمية للجنس *Corynebacterium* .

يكثر وجود الانواع التي تعرف ب *Myxobacteria* في كل من التربة ومخلفات الحيوان الصلبة والخلايا الخضرية له عبارة عن عصيات مرنة تتحرك بالزحف , معظمها تدخل طور السكون مكونة خلايا ساكنة فوق أجسام ثمرية متخصصة وتتم دورة حياتها بخروج الخلايا العصوية من الاجسام الثمرية و تبدأ في عملية التحول الغذائي النشطة .

وتنتشر الانواع الممرضة للانسان مثل *Staphylococcus Salmonella* , *Streptococcus* وغيرها الممرضة للانسان مثل *Agrobacterium* , *Erwinia* وغيرها .

تعتبر البكتيريا ذاتية التغذية من أهم المجاميع الموجودة في التربة ولها دور مهم في تخصيب التربة وتغذية النباتات ومن هذه الانواع *Nitrosomonas* التي تؤكسد الامونيا الى نترت و *Nitrobacter* التي تؤكسد النترت الى نترات و *Thiobacillus* التي تحول مركبات الكبريت المعدنية الى كبريتات .

**اسم التجربة : عزل وعد وتشخيص الانواع البكتيرية الموجودة في عينة التربة**

**الغرض من التجربة :**

عزل وعد وتشخيص الانواع البكتيرية الموجودة في عينة التربة ودراسة صفاتها المظهرية

**المواد المستخدمة :**

يستخدم الوسط الزراعي ( Soil extract agar or Nutrient agar ) كما تستخدم الاوساط التفريرية لعزل انواع محددة من البكتريا .

انابيب اختبار . ماء مقطر معقم , حمام مائي اطباق زجاجية معقمة , صبغة كرام , صبغة malachite green .

**طريقة العمل :**

1- يوزن ( 1غم ) من كل نموذج من النماذج المختلفة ( تربة زراعية وتربة رملية ) ويضاف الى انبوبة اختبار حاوية على 9 مل من الماء المقطر المعقم بذلك يتم الحصول على تخفيف 10/1 ثم تعمل التخفيف التالية 100/1 و 1000/1 ( ثلاث مكررات لكل تخفيف ) .

2- في حالة عزل البكتريا الهوائية والمكونة للابواغ توضع انابيب التخفيف في حمام مائي عند درجة حارة 80 لمدة 20 دقيقة لقتل الخلايا الخضرية غير المكونة للابواغ وضمان الحصول على الابواغ التي تستطيع البقاء حية عند هذه الدرجة ضمن تلك المدة .

3- تنقل 1- مل) من كل أنبوب إلى طبق زجاج معقم ثم صب الوسط الغذائي (درجة حرارة الوسط 50°م) تخط العينة مع الوسط بتحريك محتويات الطبق أفقياً باتجاه وعكس عقارب الساعة مباشرة بعد صب الوسط ثم يترك ليتصلب

4- تحضن الاطباق في الحاضنة بدرجة 30 لمدة اسبوع

5-تلاحظ المستعمرات وتعد ثم تعمل مسحه من تلك المستعمرات وتصبغ بصبغة كرام تلاحظ الخلايا المكونة للابواغ وكذلك الخلايا الخضرية .

6- لحساب العدد الكلي تحسب المستعمرات من كل تخفيف ويهمل الاطباق التي تحتوي على مستعمرات اقل من 30 واكثر من 300

ويطبق القانون الاتي / عدد الخلايا ا في 1 غم تربة = متوسط عدد المستعمرات x مقلوب التخفيف ( / وزن نموذج التربة ) غم

