

Enumeration and isolation of soil microorganism عد وعزل الاحياء المجهرية في التربة

اعداد
م.م. ابتهال ادريس

تتكون بيئة التربة من جزء عضوي وجزء لاعضوي واخر حيوي , يشكل الجزء العضوي واللاعضوي المصدر الرئيسي للكربون والطاقة والنيتروجين والعناصر الغذائية الاخرى الضرورية لنمو الجزء الحيوي وتكاثره في التربة . لذلك يلاحظ ان تعداد الاحياء المجهرية يكون اكبر في التربة المزروعة مقارنة مع اعدادها في التربة غير المزروعة نتيجة زيادة كثافة الجذور وزيادة المحتوى العضوي والرطوبة , كذلك تزداد البكتيريا في المناطق الدافئة والرطبة في الطبقة السطحية من (0 - 30 سم) حيث تتوفر نسبة عالية من المواد العضوية والاكسجين والرطوبة وتقل الاعداد كلما تعمقنا في التربة .

ويزداد نشاط الاحياء الدقيقة في مختلف انواع التربة في فصل الربيع .
لا توجد الاحياء المجهرية حرة في محلول التربة عادة وإنما ملتصقة بحبيباتها او
متجمعة في المواقع المناسبة الدقيقة داخل التربة او ملتصقة بالإفرازات المخاطية
للبكتيريا على سطح التربة.

تقسم الاحياء المجهرية في التربة الى مجاميع هي :

1- البكتريا Bacteria

2 - البكتريا الخيطية Actinomycetes

3- الفطريات Fungi

4- الطحالب Algae

5- الابتدائيات Protozoa

جمع العينات Samples collection

يجب أن تخضع عملية جمع عينات التربة المعده لعزل الأحياء المجهرية منها إلى عدة نقاط هي:

1- العشوائية Randomization:

2- الحجم Size:

3- الحفظ Preserving:

4- الموقع Location:

5- التعليم والتاريخ Labeling & Date:

عد وعزل البكتيريا Isolation of bacteria

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

الخلية البكتيرية المفردة صغيرة في الحجم حيث نادرا ما يتجاوز طولها عدة مايكروونات. من المعروف أن سيادة نوع من الأحياء تتحدد تبعا للظروف البيئية السائدة , فالبكتيريا والفطريات تصبح سائدة في التربة عندما تتوفر ظروف تهوية مناسبة , أما في حالة نقص الأوكسجين فان البكتيريا تكون هي المسؤولة عن التغيرات الحيوية والكيميائية دون الاعفان.

تتميز البكتيريا عن باقي المجاميع التي تشترك معها في نفس العمليات الحيوية في التربة بسرعة تكاثرها وقدرتها الفائقة على تحليل أنواع كثيرة من المواد الطبيعية. يمكن تقسيم بكتيريا التربة إلى قسمين

رئيسيين: -

أ- البكتيريا المتأصلة في الموطن

ب- البكتيريا الدخيلة على التربة

توجد عدة طرق لعد الاحياء المجهرية في التربة وذلك لعدم وجود طريقة مثلى تهئ جميع متطلبات النمو , الا ان هذه الطرق تعطي فكرة تقريبية عن العدد التقريبي , وعدد الاحياء المجهرية الموجودة في التربة من هذه الطرق :

طريقة العد بالاطباق Plate count method

تستعمل الطريقة لحساب اعداد الاحياء المجهرية الحية فقط Viable count

المواد والادوات المطلوبة

- عينات تربة (مزروعة , غير مزروعة , رملية)
- انابيب اختبار حاوية على 9 مل ماء مقطر معقم .
- اطباق بتري وماصات معقمة
- وسط الاكار المغذي Nutrient agar معقم , لغرض عزل البكتريا
- وسط اكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose agar معقم , لغرض عزل الفطريات .

طريقة العمل

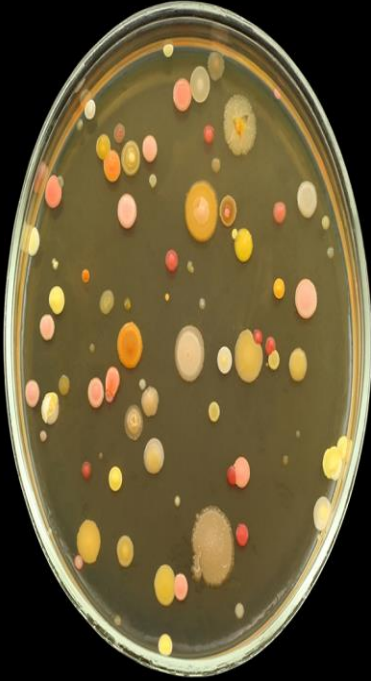
- 1- تؤخذ نماذج التربة من عمق 5 – 10 سم , وتجلب بسرعة الى المختبر واذا طال الوقت عن الـ3 ساعات فيجب ان تحفظ العينة في الثلجة او في صندوق خاص معد لتبريد وحفظ العينات .
 - 2- وزن 1 غرام من التربة وتعلق فيانبوب زجاجي حاوي على 9 مل ماء مقطر معقم وبذلك يتم الحصول على التخفيف 1-10¹يرج جيداً مدة 5 دقائق ويترك فترة من الزمن كي تترسب دقائق التربة .
 - 3- ينقل 1 مل من راشح التخفيف 1-10¹ويضاف الى انبوبة حاوية على 9 مل ماء مقطر معقم للحصول على التخفيف 10²-2 , وهكذا يتم عمل التخفيف الى 10⁵-5.
 - 4- استخدام طريقة الصب في الطبق ، وطريقة النشر في الطبق
 - 5- في حالة عزل البكتريا الهوائية والمكونة للابواغ توضع أنابيب التخفيف في حمام مائي عند درجة 62.9 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة ، وتعاد نفس الخطوات السابقة .
 - 6- لعزل الفطريات تتبع نفس الطريقة(الصب او النشر) , مع فرق استخدام الوسط PDA وتحضين الاطباق عند درجة 28 م لمدة 3 – 5 ايام .
- تسجل النتائج بملاحظة اشكال المستعمرات (البكتريا والفطريات) وحساب العدد حسب القانون .

متوسط عدد المستعمرات × مقلوب التخفيف

=

عدد الخلايا / 1 غرام تربة

وزن نموذج التربة (غرام)



2- عزل البكتريا الخيطية Actinomycetes

تحتل البكتريا الخيطية مكانة مهمة في البيئة فهي مسؤولة عن انتاج نصف المواد الايضية الفعالة والتي لها تطبيقات واسعة في مجالات مختلفة منها الزراعة والطب والصيدلة اذ لها القدرة على انتاج المضادات الحيوية ومضادات الاورام وانتاج الانزيمات . تعد البكتريا الخيطية من المجاميع الموجبة لصبغة كرام , حرة المعيشة , رمية وتكون مستعمراتها جلدية القوام هشة ، طباشيرية شمعية او متميعة او مخاطية . وتكون غزلا هوائيا وارضيا ، تظهر المستعمرات بالوان مختلفة منها العسلي والرمادي الغامق والفاتح والاحمر والبرتقالي .

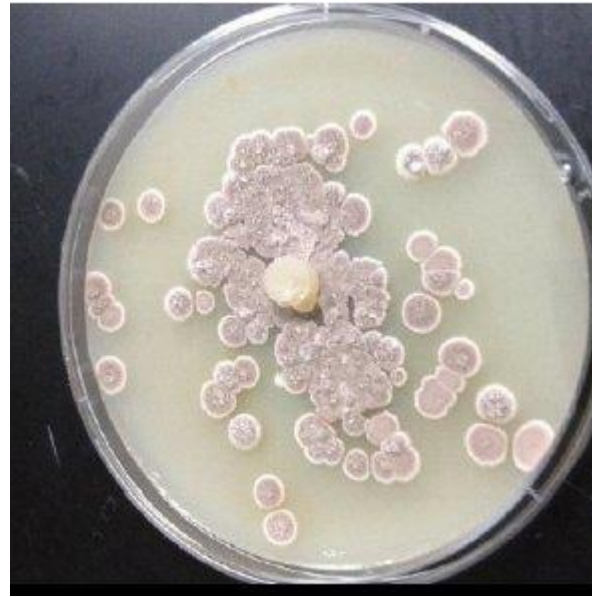
تنتشر البكتريا الخيطية وخصوصا الجنس *Streptomyces* في الماء والهواء والتربة ولاسيما المنطقة المحيطة بالجذر . ولها دور مهم في تحليل المواد العضوية في التربة واذابة الفوسفات .

المواد والادوات المطلوبة

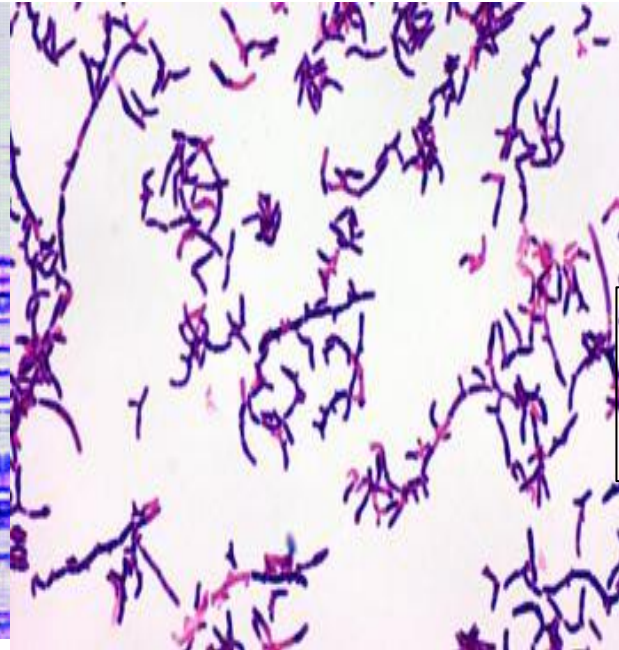
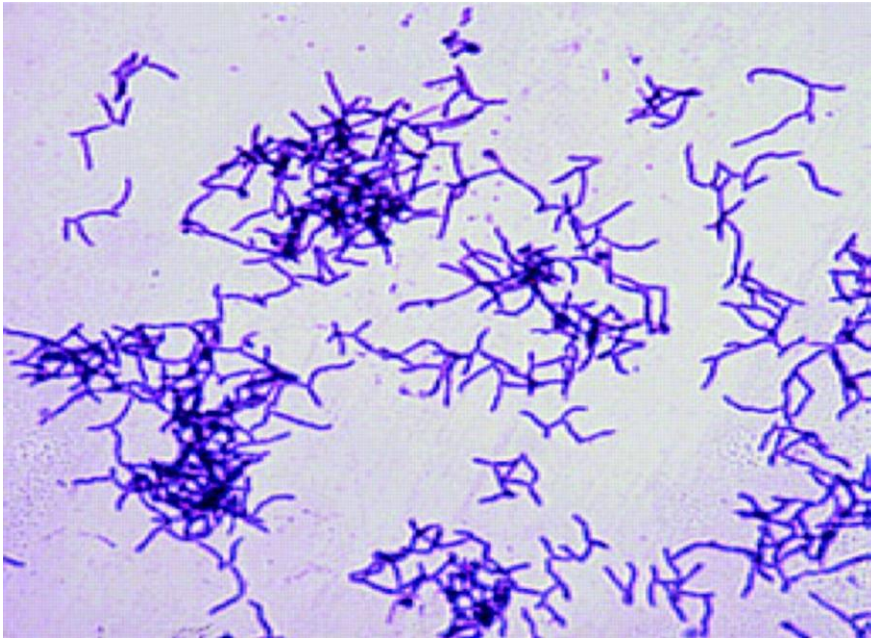
عينة تربة مضاف لها كاربونات الكالسيوم بنسبة (10 تربة: 1 كاربونات) .
انابيب اختبار حاوية على 9مل محلول ملحي معقم , واطباق بتري معقمة .
وسط اكار مستخلص الخميرة والكليسيرول

طريقة العمل

- 1- بعد مزج عينات التربة مع كاربونات الكالسيوم حضنت في الحاضنة عند درجة حرارة 40 م لمدة 4 ايام .
- 2- بعد التحضين عمل سلسلة تخافيف من التربة بوضع 9 مل محلول ملحي في كل تيوب زجاجي وكما مذكور سابقا حسب طريقة الصب في الاطباق .
- 3- حضن الاطباق المزروعة عند درجة حرارة 28 م لمدة 7 – 14 يوم
- 4- قراءة النتائج يعتمد على ملاحظة شكل المستعمرات الطباشيري او الشمعي ورائحة المستعمرات المشابه لرائحة نزول الامطار على التربة .
- 5- ملاحظة شكل الخلايا اعتمادا على صبغة كرام .



شكل يوضح
Actinomycetes
على الاوساط الصلبة



شكل يوضح
actinomycetes
تحت المجهر



شكل يوضح الفرق بين Actinomycetes والفطريات على
الوسط الصلب