وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى / كلية التربية الاساسية / قسم العلوم

المرحلة الرابعة / طحالب وفطريات (عملي)

مدرس المادة

م.م منار عبد القادر عبد الستار

المختبر الخامس

الفطريات Fungi: كائنات حية غير ذاتية التغذية Heterotrophic اي تعيش معيشة مختلفة اما ان تكون :

1- رمية Saprophytic 2- طفيلية Parasite 3- تكافلية Symbiotic

وعلم الفطريات هو فرع من علم الاحياء المجهرية لان الكثير من الفطريات تحتاج الى مجهر لرؤيتها بصورة واضحة.

<u>*الاجهزة المختبرية:</u>

1- المجهر Microscope: يستعمل لتكبير الاشياء التي لايمكن رؤيتها بالعين المجردة.

2- الموصدة Autoclave: جهاز تعقيم باستخدام البخار (حرارة رطبة) عمله يشبه قدر الضغط، الغرض من استعماله لتعقيم الاوساط الزرعية، الماء المقطر، القطن والشاش الطبي، الانابيب البلاستيكية وتحت ظروف (121 ْم وضغط 15 باوند/انج2 لمدة 15-30 دقيقة).

3- فرن كهربائي Oven: يستعمل لتعقيم الزجاجيات، الادوات المعدنية الكبيرة، التربة وتحت ظروف (160-180 ْم ولمدة 1.5-2 ساعة).

4- الحاضنة Incubator: تستعمل لتوفير درجات حرارية مثلى لنمو الفطريات حيث تختلف الفطريات في درجة نموها المثلى فبعضها يحتاج الى 37 ْم وبعضها 25 ْم او30 ْم.

5- حمام مائي Water bath: جهاز يوضع فيه ماء مقطر يستخدم لتذويب الاوساط الزرعية المحضرة مسبقاً.

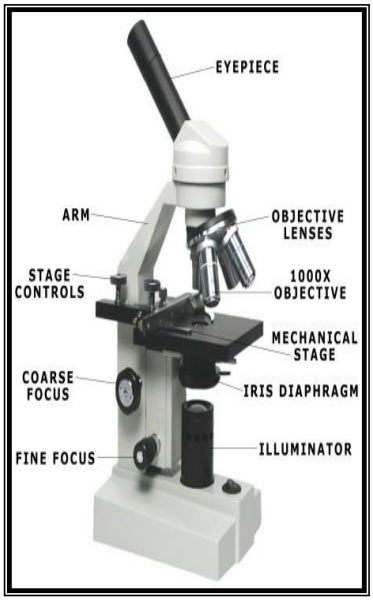
6- الثلاجة Refrigerator: تستعمل لحفظ العزلات الفطرية او البكتيرية وكذلك الاوساط الزرعية المعقمة.

7- pH-meter: جهاز قياس الدالة الحامضية او الاس الهيدروجيني حيث تفضل الفطريات النمو في الاوساط الحامضية وتختلف عن البكتريا التي تنمو في الاوساط القاعدية اي يستخدم لضبط pH المثلى والتي تتراوح للفطريات مابين (5-6).

8- غرفة العزل Isolating chamber: تستعمل لعزل الفطريات لتجنب التلوث من المحيط الخارجي.

9- جهاز التقطير Distillator: جهاز تقطير الماء والذي هو احد المكونات المهمة في تحضير الاوساط الزرعية.

10- ميزان حساس Sensitive balance: يستعمل لغرض قياس اوزان قد تصل الى اجزاء الغرام في تحضير الاوساط الزرعية.



المجهر

الفرن

الموصدة

الحاضنة

الحمام المائي

جهاز قياس الدالة الحامضية

غرفة العزل

جهاز التقطير

ميزان حساس

*الادوات المختبرية:

1- اوراق الترشيح الدقيق Millipore filter paper: تستخدم لتعقيم المواد التي تتلف بالحرارة مثل السوائل (الدم والهرمونات) حيث تبلغ اقطار ثقوبها بين (0.45-0.22)µm.

2- الناقل المعدني Loops: يستخدم لزرع العينات او نقلها من طبق الى طبق.

3- الابر Needles: تستخدم لقطع الاجزاء الحاوية على الفطريات.

4- الملاقط Forceps: لنقل الاجزاء المراد الكشف عن الفطريات فيها.

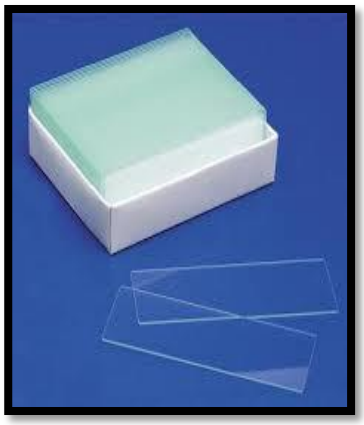
5- الشرائح الزجاجية Slides & cover slides: تستخدم للفحص.

أوراق ترشيح

الناقل المعدني

الابر

ملقط



الشرائح الزجاجية

*الاوساط الزرعية Culture Media:

يقصد بها الاوساط الغذائية التي تزرع عليها الفطريات وتقسم:

أ- حسب التركيب الكيمياوي:

1- اوساط طبيعية Natural media: هي مستخلصات لاجزاء نباتية (جذور، ثمار، سيقان، بذور) او حيوانية (مستخلص اللحم، نقيع الدماغ). مثل وسط خلاصة البطاطا Potato media او وسط الجزر Carrot media اووسط مستخلص اللحم Beef extract.

2- اوساط صناعية Synthetic media: هي الاوساط التي تتكون من عدة مواد كيمياوية محدودة الحجم او التركيب تحتوي على عنصر كاربوني وعنصر نايتروجيني واملاح مثل وسط Czapeck´s media.

3- اوساط شبه صناعية او تركيبية Semi-synthetic media: هي الاوساط التي تحتوي على مستخلصات طبيعية (نباتية اوحيوانية) مضافاً لها مواد كيميائية معلومة الحجم والتركيب مثل وسط البطاطا دكستروز اكار Potato-Dextrose-Agar.

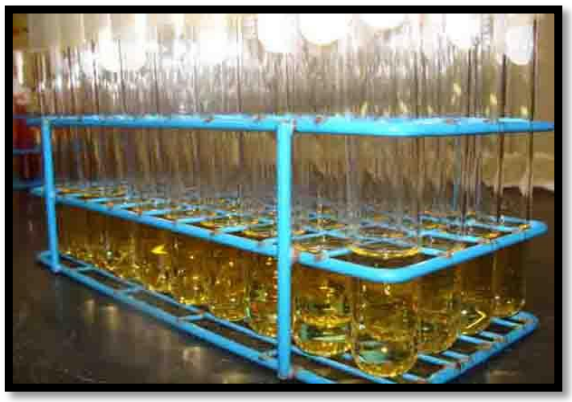
ب- حسب الصفات الفيزياوية:

1- الوسط الصلب Solid media: قد يكون وسط طبيعي او صناعي او شبه صناعي مضافاً لها مادة الاكار (Agar).

الاكار (Agar): وهي مادة كاربوهيدراتية معقدة مستخلصة من بعض الطحالب الحمر البحرية ليس لها قيمة غذائية (اي ليس للاحياء المجهرية القابلية على تحليل الاكار) يستخدم لتصليب الاوساط الزرعية السائلة.

2- الوسط السائل Liquid media: تشبه الاوساط الصلبة من حيث المكونات فيما عدا خلوها من مادة الاكار.

أوساط زرعية مختلفة



وسط زرعي سائل

*التعقيم Sterilization:

هي عملية قتل او ابادة جميع الاحياء المجهرية الموجودة في المادة المراد تعقيمها.

***طرق التعقيم:**

أ- الطرق الفيزيائية Physical methods:

1- الحرارة Heat: وتقسم الى: a-الحرارة الجافة مثل اللهب Flame والفرن Oven

b-الحرارة الرطبة مثل الموصدة Autoclave

2- الاشعاع Radiation ويقسم الى: a-الاشعة المؤينة مثل X-ray و Gama ray

b-الاشعة فوق البنفسجية U.V. ray

3- الترشيح الدقيق: باستخدام ورق ترشيح filter paper Millipore ويكون قطر مساماتها µm(0,45-0,22) .

ب- الطرق الكيمياوية Chemical methods:وتتم باستخدام المعقمات Disinfectant والمعقمات على نوعين: a-الكحول، الديتول.

b-التبخير Fumigation باستخدام الغازات Gasses مثل

الفورمالديهايد Formaldehyde.

اللهب

الاشعة فوق البنفسجية

أوراق ترشيح دقيق

الكحول

* طريقة تحضير وسط P.D.A (Potato-Dextrose-Agar):

ونعني به وسط (اكار-دكستروز-البطاطا)

المكونات: 200 غم قطع بطاطا

20غم سكر الدكستروز

20غم الاكار

1000سم^3 (لتر) ماء مقطر

***طريقة العمل:**

1- تطبخ البطاطا في 500 سم^3 (500مل) في الماء ولمدة 20-30 دقيقة في بيكر.

2- تؤخذ البطاطا المطبوخة وتصفى بواسطة طبقتين من الشاش ويؤخذ المستخلص ويكمل الحجم الى 500سم3 بالماء المقطر.

3- يذاب الاكار في 500 سم^3 من الماء المقطر ويوضع في بيكر على الهيتر مع التحريك حتى يتجانس المخلوط.

4- يضاف مستخلص البطاطا الى الاكار ويكمل الحجم الى 1000 سم^3 ثم يضاف الدكستروز بعد ذلك.