

التربة كوسط لنمو الأحياء المجهرية

المجهرية اكثر في المستوى القريب من سطح التربة ضمن اعماق تتراوح بين 5-15 سم لان اغلبها هوائية المعيشة اجبارا **Obligate aerobic** وبعضها هوائية اختياريا **Facultative aerobic**.

تزداد أعداد هذه الاحياء بزيادة المحتوى العضوي للتربة وتقل بنقصانها لذلك يلاحظ ان تعدادها يكون اكبر في التربة المزروعة مقارنة مع اعدادها في التربة غير المزروعة، كذلك فان لسرعة نمو هذه المجاميع اهمية في تحديد سيادة مجموعة على اخرى.

تقسم الأحياء المجهرية في التربة الى مجاميع هي:-

- 1- البكتيريا **Bacteria**
- 2- البكتيريا الخيطية **Actinomycetes**
- 3- الاعفان **Molds**
- 4- الخمائر **Yeast**
- 5- الطحالب **Algae**
- 6- الابدانيات **Protozoa**

ولعزل الأحياء المجهرية من التربة تستخدم طرق كثيرة واطراف زرعية اعتيادية حاوية على الكربون والنايتروجين والاملاح ضمن مدى (PH = 7) خاصة فيما يتعلق بالبكتيريا او باستخدام اوساط زرعية إغناية **Enrichment media** أو اوساط زرعية اختيارية **Selective media**.

جمع العينات Samples collection

يجب أن تخضع عملية جمع عينات التربة ألمعدة لعزل الأحياء ألمجهرية منها إلى عدة نقاط هي:

1. العشوائية **Randomization**: يجب أن تجمع عينة التربة بطريقه عشوائية لكي تعطي تمثيلا حقيقيا للمجتمع الميكروبي في موقع محدد لان عملية الاختيار وتحديد موقع محدد لا يعين المجتمع الميكروبي بشكل حقيقي.

2. الحجم **Size**: يجب أن يكون حجم العينة المراد دراسة المحتوى الميكروبي لها بحجم مناسب (1-2 كغم) من كل موقع من المواقع الخاصة بالدراسة لاحتمال حصول تلف في أكياس الحفظ أو حصول خطأ في التجربة أو غيرها من الأسباب.

3. الحفظ **Preserving**: يجب أن تحفظ العينات بدرجة حرارة واطئه وينقل بدرجة حرارة (4°م) أو بدرجة حرارة الغرفة.

يقصد بمصطلح التربة soil ذلك الجزء الهش من قشرة الأرض والذي يتمثل بمستويات أفقية تكونت نتيجة لتأثير عوامل فيزيائية وكيميائية. تختلف التربة في قوامها (soil texture) من حيث نسبة مكوناتها من الحصى و الحجر و الغرين والطين والرمل إذ إن نسبة هذه المكونات تؤثر في وجود وكثافة الأحياء المجهرية وذلك لارتباط قوام التربة ببعض العوامل البيئية التي تساعد على انتشارها مثل قدرتها على الاحتفاظ بالماء.

من المعروف ان الأحياء المجهرية تحتاج الى كمية من الماء تسمى (active water) كي تقوم بفعاليتها الحيوية ، لذلك تكون كثافتها اعلى في التربة الثقيلة قياسا بالتربة الخفيفة. كذلك يؤثر المحتوى العضوي على وجود وكثافة الأحياء المجهرية اضافة الى المواد الاعضوية.

تركيب التربة

تتركب التربة من خمس مكونات رئيسية هي :-
1- المادة المعدنية :

ونسبتها اقل قليلا من نصف حجم التربة الكلي وتنشأ من تقنت الصخور وتحللها، وهي تؤثر على معدل تحول العناصر الغذائية الى المركبات الاولية وعلى تهوية التربة ومعدل احتفاضها بالماء وبالتالي على وجود ونشاط وكثافة الأحياء المجهرية فيها.

2,3- الماء والهواء :

ويشكلان حوالي 50% من حجم التربة وهو مايعرف بالفراغات البيئية ونسبتها متغيرة بصورة دائمة.

4- المادة العضوية :

وتشكل 3-6% من حجم التربة.

5- الكائنات الحية :

تشكل اقل من 1% من حجم التربة.

عزل وعد الأحياء المجهرية الموجودة في التربة

Isolation and enumeration of soil microorganisms

يتأثر وجود وعدد الأحياء المجهرية في التربة بعوامل بيئية كثيرة منها عوامل فيزيائية وكيميائية وحيوية وتكون اعداد الأحياء

احياء التربة و المياه المجهرية... علوم الحياة... المرحلة الثالثة... عملي

4. الموقع Location: إن عملية اختيار الموقع عملية مهمة وهي واحدة من النقاط الاساسيه التي من خلالها يتم إعطاء بيانات تعزز المجتمع الميكروبي لذلك الموقع وبعكسها سوف تصبح عديمة الجوده لأنها لا تمثل موقعا محددًا.

5. التعليم والتاريخ Labeling & Date: تعد عملية تعليم العينات ووضع تاريخ على الحاويات التي تحتوي على النموذج (التربة) مهمة جدا لكي لا تختلط العينات الماخوذه من مناطق مختلفة وفي أزمان مختلفة.

تأثير العوامل البيئية على محتوى التربة من الأحياء المجهرية:

تؤثر العوامل البيئية على تركيب المجتمع المايكروبي وكثافته في التربة وتؤدي العوامل غير الحيوية إلى تغيير في ذلك المجتمع ونشاطه الحيوي. وتشمل العوامل الرئيسية:-

- 1- الرطوبة
- 2- التهوية
- 3- درجة الحرارة
- 4- المادة العضوية
- 5- الحموضة (pH)
- 6- معدل الإمداد بالعناصر الغذائية غير العضوية

ويمكن إيجاز تأثير كل عامل كآلاتي:

- 1- تأثير الرطوبة: تتحكم في النشاط المايكروبي بطريقتين:

الأولى: أنها توفر قدرا مناسبًا من الرطوبة المطلوبة للتكاثر الخضري للخلايا المايكروبية.

الثانية: إن زيادة مستوى الرطوبة في التربة يحد من نشاط المايكروبات وتكاثرها بسبب تأثيره على معدل تبادل الغازات والتهوية. ومستوى الرطوبة الأمثل لنشاط البكتيريا الهوائية هو (50-75%) من السعة المائية للتربة.

- 2- تأثير التهوية: تنتشر البكتيريا الهوائية في الطبقات العليا للتربة وتكون سائدة على البكتيريا اللاهوائية. لكن زيادة العمق أو زيادة الرطوبة تتحول الضرر وف إلى اللاهوائية مما يعيق نمو البكتيريا الهوائية ويشجع نمو الأنواع اللاهوائية.
- 3- تأثير الحرارة: تتحكم الحرارة في جميع الفعاليات الحيوية وهي من أهم العوامل المؤثرة على كثافة وتنوع المجتمعات المايكروبية. وقد قسمت الأحياء إلى وسطية الحرارة

4- تأثير المادة العضوية: تزداد أعداد الأحياء بزيادة محتوى التربة من المواد العضوية، ويزداد نشاطها عند إضافة المواد الكربونية أو التسميد أو حرث المحاصيل في التربة، حيث يلاحظ نشاط ملحوظ خلال الفترة القصيرة المباشرة من تحلل هذه المواد ثم يقل تدريجيا.

5- تأثير دالة الحموضة: معظم الأحياء تفضل الأوساط المعتدلة لذلك تقل أعدادها في الترب القلوية أو الحامضية ولكنها لا تختفي تماما، فقد وجدت أعداد كبيرة منها في ترب حامضية وصل أسها الهايدروجيني إلى (pH=3).

6- العناصر المعدنية: تحتاج الأحياء بالإضافة إلى المواد العضوية إلى المواد غير العضوية، ويكون لإضافة الأسمدة والمغذيات المعدنية أثرا مزدوجا على النبات والأحياء المجهرية إلا أن إضافة المواد النايتروجينية قد يكون له اثر مثبط لنمو البكتيريا بسبب تأثيره على حموضة التربة نتيجة أكسدة الأمونيا إلى حامض النتريك.

1- عزل البكتيريا Isolation of bacteria

تحلل البكتيريا كمجموعة رئيسية من كائنات التربة مكانا بارزا ، فهي أكثر المجموعات تواجدا في التربة وتتفوق عددا على باقي المجموع مجتمعة.

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

تتميز البكتيريا عن باقي المجموع التي تشترك معها في نفس العمليات الحيوية في التربة بسرعة تكاثرها

احياء التربة و المياه المجهرية... علوم الحياة... المرحلة الثالثة... عملي

الأجناس البكتيرية الشائعة في التربة:

عند عزل وتشخيص البكتيريا الموجودة في التربة، يمكن ملاحظة أن البكتيريا العصوية المكونة للسبورات والعصوية غير المكونة للسبورات ذات الأحجام المختلفة والكروية والعصوية القصيرة التي تتحول إلى الأشكال الكروية مع الوقت هي الأنواع الواسعة الانتشار في التربة. وهناك أنواع كثيرة تتميز بظاهرة تعدد الأشكال خلال مراحل النمو. فالأنواع العصوية القصيرة التي تتحول إلى كروية عادة ما تتبع جنس *Arthrobacter* أما العصوية المكونة للسبورات فتتبع الجنس *Bacillus* وهي هوائية المعيشة أو اختيارية، ومنها تتبع الجنس *Clostridium* وهي لاهوائية إجبارية. كذلك تنتشر أنواع تابعة لـ *Pseudomonas* في الأراضي المزروعة وغير المزروعة. وتنتشر كذلك الأنواع الرمية للجنس *Corynebacterium*.
يكثر وجود الأنواع التي تعرف بـ *Myxobacteria* في كل من التربة ومخلفات الحيوان الصلبة، الخلايا الخضرية له عبارة عن عصيات مرنة تتحرك بالزحف. معظمها تدخل طور السكون مكونة خلايا ساكنة فوق أجسام ثمرية متخصصة وتتم دورة حياتها بخروج الخلايا العسوية من الأجسام الثمرية وتبدأ في عملية التحول الغذائي النشطة.
وتنتشر الأنواع الممرضة للإنسان مثل *Streptococcus*, *Salmonella*, *Staphylococcus* وغيرها والممرضة للنبات مثل *Erwinia*, *Agrobacterium* وغيرها.
تعتبر البكتيريا ذاتية التغذية من أهم المجاميع الموجودة في التربة ولها دور مهم في تخصيب التربة وتغذية النباتات ومن هذه الأنواع *Nitrosomonas* التي تؤكسد الامونيا إلى نترت و *Nitrobacter* التي تؤكسد النترت إلى نترات و *Thiobacillus* التي تحول مركبات الكبريت المعدنية إلى كبريتات.

الغرض من التجربة:

عزل وعد وتشخيص الأنواع البكتيرية الموجودة في عينة التربة ودراسة صفاتها المظهرية.

المواد المستخدمة:

1. يستخدم الوسط (Soil Extract Agar) أو وسط الاكار المغذي كبديل في حالة عدم توفر الاول.
2. أنابيب اختبار، ماء مقطر معقم، حمام مائي، اطباق زجاجية معقمة، بصيغة كرام، صبغة malachite green.

وقدرتها الفائقة على تحليل أنواع كثيرة من المواد الطبيعية.

يمكن تقسيم بكتيريا التربة إلى قسمين رئيسيين:

أ- البكتيريا المتأصلة في الموطن (Indigenous) :-

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

ب- البكتيريا الدخيلة على التربة (Invaders) :-

وهي التي تصل التربة مع الأمطار أو الأنسجة المريضة أو مخلفات الإنسان والحيوان. هذه الأنواع تظل حية لفترات قصيرة ولا تشارك بفعالية في عملية تحويل العناصر في التربة، كما لا تشارك في أي نوع من العلاقات مع غيرها من كائنات التربة.

وهناك أنظمه أخرى للتقسيم مثل الحاجة إلى الأوكسجين أو شكل الخلية البكتيرية..... الخ.

يعتبر تقدير أعداد البكتيريا في التربة من الأمور المعقدة لأسباب كثيرة منها عدم وجود وسط مثالي لتنمية جميع الأنواع اضافة إلى أن بعض الأنواع لم تحدد متطلباتها تحديدا دقيقا.

كذلك فإن الخلايا البكتيرية عادة ما توجد في التربة على هيئة تجمعات يصعب تفكيتهما بصورة متجانسة أثناء عملية الرج أو الزرع مما يؤثر على التقدير الكمي لها.

تختلف أعداد البكتيريا المتحصل عليها باختلاف الطرق المتبعة في التقدير، فقد وجد أن طريقة العد في الأطباق عادة ما تعطي أعدادا تتراوح بين عدة مئات إلى 200 مليون خلية /غم من التربة، بينما الطريقة المباشرة باستخدام المجهر العادي تعطي أعدادا تصل الي 10^8 - 10^{10} خلية /غم لذلك فإن طرق تقدير المايكرو بات الحية تعطي أرقاما تمثل على الاكثر 10% من قيمة الأعداد الكلية.

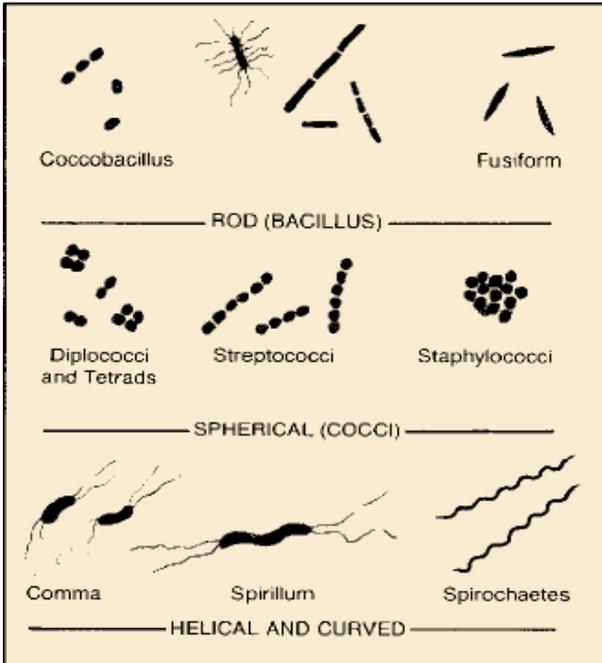
لا توجد البكتيريا حرة في محلول التربة عادة وإنما ملتصقة بحبيباتها او متجمعة في المواقع المناسبة الدقيقة داخل التربة او ملتصقة بالإفرازات المخاطية للبكتيريا على سطح التربة.

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

احياء التربة و المياه المجهرية... علوم الحياة... المرحلة الثالثة... عملي

طريقة العمل:

- * **حافات المستعمرات:**
(دائرية تامة، مدببه، مسننه، متموجة، .. الخ)
- * **شفافية المستعمرات وصبغتها:**
(شفافة، شفاقة لماعة، معتمة، ملساء، ناعمة أو خشنة الحبيبات، شجيريه السطح،.... الخ)
- * **دراسة مظهر الخلايا البكتيرية:**
● شكل الخلايا:
● عسوية Rods، كروية Micrococci، عنقودية Staphylococci، مسبحية Streptococci، حلزونية (Spirillum).
- تكوين الابواغ
- اشكال البكتيريا وترتيبها:



1. يوزن (1 غم) من كل نموذج من النماذج المختلفة (تربة زراعية وتربة رملية) ويضاف إلى أنابيب 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 أنابيب التخفيف في حمام مائي عند درجة حرارة (80°م) لمدة 20 دقيقة لقتل الخلايا الخضرية الغير مكونه للابواغ وضمان الحصول على الابواغ التي تستطيع البقاء حيه عند هذه الدرجة ضمن تلك المده.
3. تنقل كميته (0.1-1 مل) من كل أنبوب إلى طبق زجاجي معقم ثم يصب الوسط الغذائي (درجة حرارة الوسط 50°م) تخلط العينة مع الوسط بتحريك محتويات الطبق أفقيا باتجاه وعكس عقارب الساعة مباشرة بعد صب الوسط ثم يترك ليتصلب.
4. تحضن الأطباق في حاضنة بدرجة (30°م) مدة أسبوع واحد.
5. تلاحظ المستعمرات وتعد ثم تعمل مسحه من تلك المستعمرات وتصبغ بصبغة الابواغ أو بصبغة كرام. تلاحظ الخلايا الخضرية والخلايا المكونة للابواغ وكذلك موقع البوغ في الخلية.
6. لحساب العدد الكلي للبكتريا؛ تعد المستعمرات البكتيرية في كل طبق ويسجل معدل المستعمرات لمكررات كل تخفيف (المكررات ثلاث). تهمل الأطباق التي تحوي عدد مستعمرات اقل من 30 وأكثر من 300.
7. تسجل النتائج وينظم جدول لهذا الغرض معدل عدد المستعمرات المقابله لكل تخفيف وتدون مجموعة الأحياء ألمجهرية ثم يحسب عدد الخلايا في 1 غم من التربه الجافة بتطبيق القانون التالي:

عدد الخلايا في 1 غم تربة = (متوسط عد المستعمرات × مقلوب التخفيف) / وزن نموذج التربة (غم)

ملاحظة:

- الصفات الواجب ملاحظتها هي:
- * **مستوى المستعمرات على المستوى الصلب:**
(مسطحه، مرتفعه، محدبه، متعرجه، متموجة، متشعبة،..... الخ)