

الدرس العملى الثانى

أولاً : طريقة أخذ عينات التربة تجهيزها للفحص الميكروبيولوجي

الأدوات المطلوبة :

- ١- ملعقة معقمة أو أنبوبة معدنية مدرجة طولها ٣٠ سنتيمتر أو أوجر .
- ٢- برطمانات نظيفة أو أكياس بولى إيثيلين نظيفة .
- ٣- رجاج ميكانيكى .
- ٤- مناخل سعة ثقبها ٥ مم وأخرى سعة ثقبها ١ مم .
- ٥- جفئات معدنية لتقدير الرطوبة .
- ٦- فرن تجفيف .

الإجراءات :

١. لدراسة محتوى التربة من الكائنات الحية الدقيقة يفضل أخذ عينات من التربة السطحية أى من الست بوصات الأولى من التربة (من صفر إلى ٦ بوصة) ويتم ذلك بواسطة ملعقة معدنية معقمة أو أنبوبة معدنية مدرجة طولها ٣٠ سنتيمتر ومعقمة ، أما فى حالة الرغبة فى دراسة تواجد الميكروبات على أعماق مختلفة من التربة فيتم أخذ العينات من الأعماق المطلوبة دراستها بواسطة أوجر ومن المهم تنظيف وتعقيم هذه الأدوات قبل إستخدامها فى أخذ كل عينة .
٢. لدقة النتائج يؤخذ عادة ٥ عينات على الأقل وبطريقة عشوائية من خمس مواقع مختلفة للأرض الواحدة ، أو للمعاملة الواحدة ، وتوضع كل منها فى برطمان نظيف ومعقم أو فى كيس بولى إيثيلين نظيف
٣. تمرر العينات فى مناخل سعة ثقبها ٥ ملليمتر وذلك للتخلص من الأحجار والحصى وكذلك جذور النباتات وبقاياها ثم تمرر خلال مناخل سعة ثقبها ١ ملليمتر ثم يعاد تعبئتها فى الأوانى النظيفة والمعقمة
٤. يتم التحليل الميكروبيولوجى للعينات بعد تجهيزها مباشرة خاصة إذا كانت مأخوذة من أماكن قريبة من المعمل ، أما إذا كانت العينات مأخوذة من مكان بعيد فيجب أن تحفظ على درجة حرارة منخفضة أثناء النقل وحتى يتم التحليل . وقد تحلل كل عينة على حدة أو قد تخلط العينات الخمس الممثلة للمعاملة الواحدة خلطاً جيداً لإعطاء عينة متماثلة ثم تقسم إلى جزئين أو ثلاثة .
٥. يؤخذ من كل جزء ١٠ جرامات لعمل معلق التربة والذى يجب أن يرج جيداً يدوياً أو بواسطة رجاج ميكانيكى بغرض تفريق الميكروبات عن حبيبات التربة وتوزيعها توزيعاً متماثلاً فى المعلق حتى تكون النتائج ممثلة للواقع .
٦. تقدر الرطوبة الكلية فى عينات التربة الممثلة حتى يتسنى حساب النتائج على أساس الوزن الجاف تماماً .

ثانياً : دراسة وصفية لميكروبات التربة بطريقة الشريحة المظمورة (طريقة روسى وكلودنى)

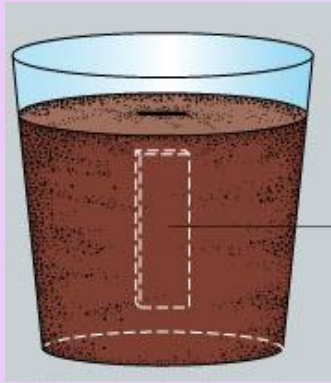
الأدوات والمواد المطلوبة :

- ١- عينة تربة خصبة منخولة نخلاً جيداً .
- ٢- نشا – ردة (نخالة) – ببتون – مسحوق نبات جاف (دريس) .
- ٣- أربعة أوعية زجاجية نظيفة .
- ٤- صبغة كاربول إريثروسين Carbol erythrosin .

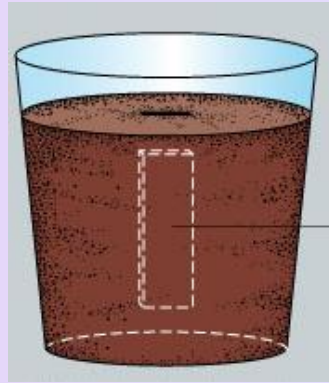
خطوات العمل :

- ١- ضع حوالي ١٠٠ جرام من التربة فى وعاء زجاجى وكرر ذلك فى ثلاثة اوعية أخرى.
- ٢- إخلط التربة جيدا فى الوعاء الأول مع نصف جرام نشا وفى الوعاء الثانى مع نصف جرام ردة والثالث مع نصف جرام بيتون وفى الوعاء الرابع مع نصف جرام مسحوق نباتى جاف ثم عدل الرطوبة فى كل وعاء إلى ٤٠-٥٠٪.
- ٣- ضع فى كل وعاء من ٢-٣ شرائح زجاجية نظيفة واضغط التربة حولها ثم غطى الأوعية بغطاء ليمنع البخر وضعها فى الحضان على درجة حرارة ٢٢-٢٥°م أو على درجة حرارة المعمل لمدة حوالي إسبوع
- ٤- بعد فترة التحضين أخرج الشرائح بملقط ثم نظفها مما يكون قد علق بها من التربة وذلك بإمرار تيار خفيف من الماء عليها ثم جففها هوائياً وبعد ذلك ثبت الغشاء بإمراره على لهب ضعيف.
- ٥- أصبغ الغشاء بصبغة الإيرثروسين وذلك بوضع الصبغة على الشريحة لمدة ٥-٦ دقائق مع وضع الشريحة على كأس به ماء يغلى (حمام مائى) ولا تجعل الصبغة تجف خلال هذه المدة.
- ٦- إغسل الشريحة جيداً بعد ذلك ثم جففها وإفحص الغشاء ميكروسكوبياً باستخدام العدسة الزيتية المنغمسة.
- ٧- صف الميكروبات التى فحصتها وإرسمها وقارن بين أشكالها ومدى سيادة أى منها فى الأوعية الأربعة.

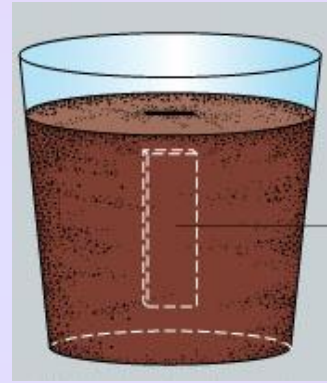
طريقة الشريحة المظمورة (طريقة روسي و كلودني) للدراسة الوصفية لميكروبات التربة



مسحوق نبات جاف
(دريس)

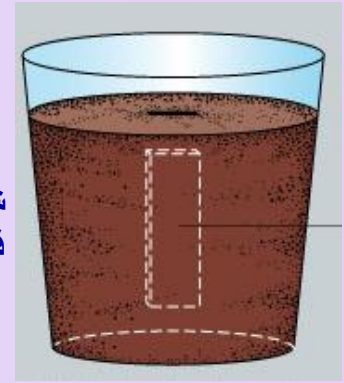


ببتون



ردة (نخالة)

شرائح مغمورة
في عينة التربة



نشأ

المراجع :

http://www.reproductionresources.com/cgi-bin/quikstore.cgi?category=Equine_Breeding

www.alibaba.com/catalog/.../Disposable_Products.html

<http://www.uvsc.edu/eath/photoGallery/envtMgmt/slide6.html>

library.thinkquest.org/.../studying_cells.html

http://faculty.maryvillecollege.edu/Kneas/CHEM121L/lab_equipment.htm

<http://www.apsnet.org/education/LabExercises/Microscopes/#comp1>

<http://www.personal.psu.edu/faculty/j/e/jel5/biofilms/buriedslide.html>

<http://www.microbelibrary.org/>

<http://www.micro.magnet.fsu.edu/primer/anatomy/introduction.html>

<http://www.denniskunkel.com/index.php?cPath=3>