

الدرس العملي الأول

التكافل (Symbiosis)

• العلاقة التكافلية

هي العلاقة التي تحدث بين الكائنات الحية الدقيقة مع بعضها البعض وكذلك تحدث مع بعض النباتات الراقية وتؤدي في النهاية إلى تبادل المنفعة.

• أمثلة على بعض العلاقات التكافلية

(1) الأشنات (Lichens)

وهي علاقة تكافلية بين فطر وطحلب حيث يقوم الطحلب بعملية البناء الضوئي ويوفر الغذاء للفطر بينما الفطر يقوم بعملية امتصاص الماء والأملاح المعدنية والحماية.

مثل : *Usnea* , *Parmelia*

(2) الفطريات الجذرية (Mycorrhizae)

وهي علاقة تكافلية بين فطر وجذور نبات راقية .

○ يمكن تقسيم الفطريات الجذرية على حسب موقع الفطر

من الجذر الى :

(1) فطريات الجذور الخارجية Ectomycorrhizae تدخل

خيوط الفطر الجذر وتتفرع بين خلايا القشرة وتشكل شبكة

هارتج Hartig دون أن تدخل هذه الخلايا.

(2) فطريات الجذور الداخلية Endomycorrhizae تخترق

الخيوط الفطرية الجذر وتدخل إلى داخل خلايا الجذر.

(3) فطريات الجذور الخارجية الداخلية Ectoendomycorrhizae

موجودة على جذور بعض النباتات الراقية، وتملك خصائص

فطريات الجذور الداخلية أو الخارجية في آن واحد، حيث

تتفرع الخيوط بين وداخل خلايا الجذر وتشكل شبكة هارتج.

1. العقد البكتيرية *Rhizobium*

هي علاقة تكافلية بين بكتيريا *Rhizobium* وجذور النبات ويكون

هذا النبات من الفصيلة البقولية.

Types of lichens

lichens are composed of an algae and fungus hyphae



1. Crustose

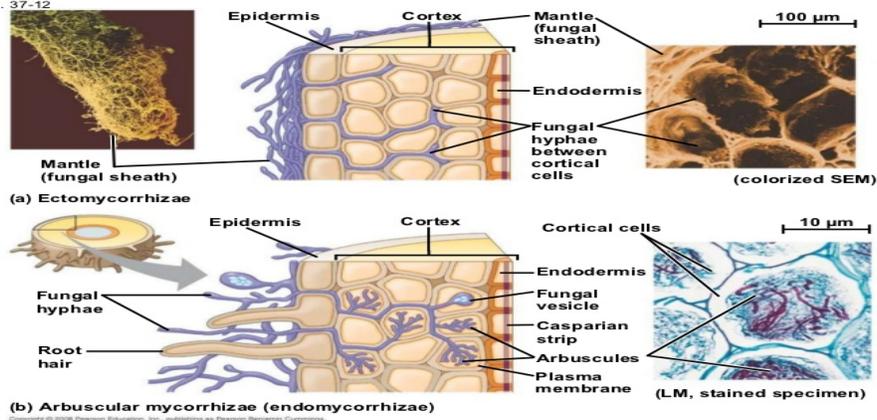


2. Foliose



3. Fruticose

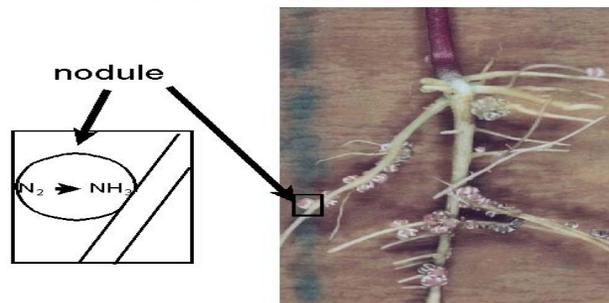
Fig. 37-12



(b) Arbuscular mycorrhizae (endomycorrhizae)

Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. publishing as Pearson Benjamin Cummings

Bean Root Nodules



Inside nodules the bacteria fix nitrogen (i.e., convert N_2 into ammonia).

الدرس العملي الثاني

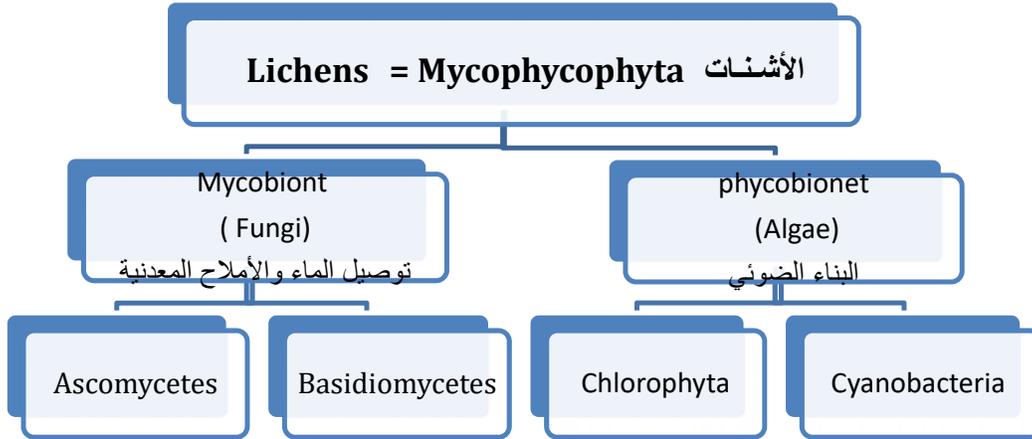
الأشنيات (Lichens)

عبارة عن علاقة تكافلية بين فطر وطحلب، والثالوس الأشني هو عبارة عن جسم نبات خضري يتركب من كائنين حيين وهما:

المكون (المتكافل) الفطري Mycobiont=Fungal Component الذي يكون من الفطريات الزقية Ascomycetes أو الفطريات البازيدية Basidiomycetes والتي نجحت في تكوين علاقة تكافلية مع الطحالب الخضراء Chlorophyta=Green algae أو البكتيريا الزرقاء Cyanobacteria التي هي المكون (المتكافل) الطحلي Phycobiont=Algal Component (الثالوس Thallus أي لا تتميز إلى جذور وسيقان وأوراق حقيقية)

الغالبية العظمى من الأشنيات تحتوي على الفطريات الأسكية (Ascomycetes) وتتميز بتكوين أجسام ثمرية هي: الأجسام الثمرية الكأسية الشكل "القرصية" (Apothecium) والأجسام الثمرية القارورية الشكل "الدورقية" (Perithecium).

أما المجموعة الصغيرة فهي تحتوي على الفطريات البازيدية (Basidiomycetes) الفطر يقوم بتفتيت السطوح التي يعيش عليها بواسطة أنزيمات وأحماض يفرزها ويمتص الماء والأملاح المعدنية ليمد بها الطحلب الذي يقوم بعملية البناء الضوئي لإنتاج الغذاء له وللفطر.



• الخصائص العامة للأشنيات

- 1- بطيئة النمو حيث يزداد قطرها بمعدل 1 _ 10 ملمتر سنوياً.
- 2- لها القدرة على تحمل الجفاف.
- 3- تفرز أحماض خاصة بها تسمى (الأحماض الأشنية).
- 4- حساسة جداً للتلوث.

• أشكال الأشنات

1- الأشنات القشرية (Crustose lichens)

يتميز الثالوس الأشني بنموه على هيئة قشرة تلتصق التصاقاً وثيقاً بواسطة أشباه الجذور إما على الصخور أو على الأشجار.

مثل *Lecanora*

2- الأشنات الشجيرية (Fruticose lichens)

يتكون الثالوس الأشني من أشباه شجيرية ويكون متعلق بالأشجار ومتدلي من أغصان وفروع هذه الأشجار.

مثل *Usnea*

3- الأشنات الورقية (Foliose lichens)

يشبه الثالوس النباتات الراقية وتكون هذه الأشنة على شكل ورقة مفلطحة ومفصصة عميقة التفصص.

مثل *Xanthoria*

4- الأشنات الخيطية (Filamentous Lichens)

وهي التي يكون شكل الثالوسها خيطي وفي بعض الأنواع يتكون معظم الثالوس من الطحالب الخيطية.

5- الأشنات الحرفشية (Squamulose Lichens)

فيها يتكون الثالوس من تراكيب تشبه الفصوص ويوجد فيها قشرة عليا وطبقة طحلبية ونخاع ولكن تنقصها القشرة السفلية و أشباه الجذور الأشنية = الريزينات Rhizines كما في Psora

• أهمية الأشنات

- 1- تستخدم كمصدر غذاء للإنسان والحيوان .
- 2- لها استخدامات طبية لعلاج بعض الأمراض.
- 3- تستخدم في مواد الزينة و إنتاج العطور.
- 4- تستخدم لقياس درجة التلوث البيئي في المدن الصناعية حيث أن الأشنات حساسة تجاه ثاني أكسيد الكربون في الجو حيث تقل عند زيادة تركيزه في الجو.
- 5- تعمل على زيادة خصوبة التربة وتفتيت الصخور.

الدرس العملي الثالث

التركيب الداخلي في الثالوس الأشني

تتميز أشكال الأشنيات بتركيب بسيط جداً وبفحص قطاع من الثالوس الأشني تحت المجهر نشاهد منظومة من الخيوط الفطرية المتشابكة ينتشر عليها الطحلب انتشاراً بسيطاً وهذا التركيب البسيط الشكل يعرف بمتجانس الثالوس (Homomerous) .

أما معظم أنواع الأشنيات فهي غير متجانس الثالوس (Heteromerous) حيث تتكون كل من الطبقتين العلوية والسفلية (القشرة Cortex) من نسيج ضام من الخلايا الفطرية وبينهما منظومة مخلخلة من الخيوط الفطرية المتشابكة تعرف بـ (النخاع Medulla) وتقع الخلايا الطحلبية تحت القشرة العلوية مباشرة مختلطة مع الخيوط الفطرية.

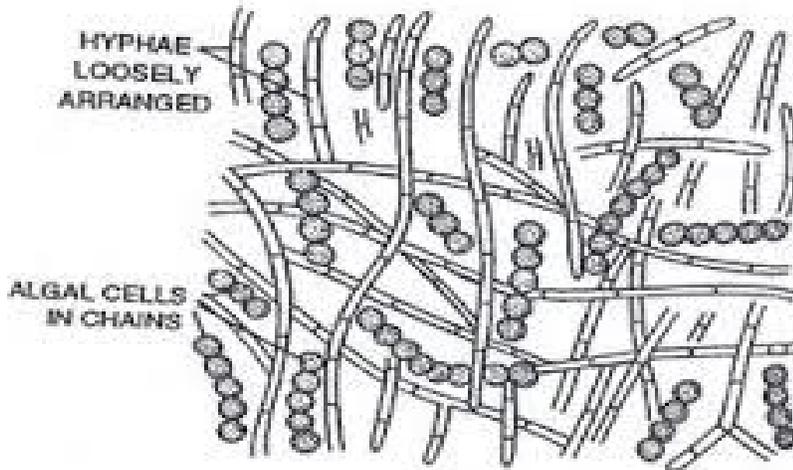
• يمكن تمييز الثالوس الأشني إلى نوعين على حسب تواجد الخلايا الطحلبية

هما

1- متجانس الثالوس (Homomerous) .

2- غير متجانس الثالوس (Heteromerous) .

1- متجانس الثالوس (Homomerous)

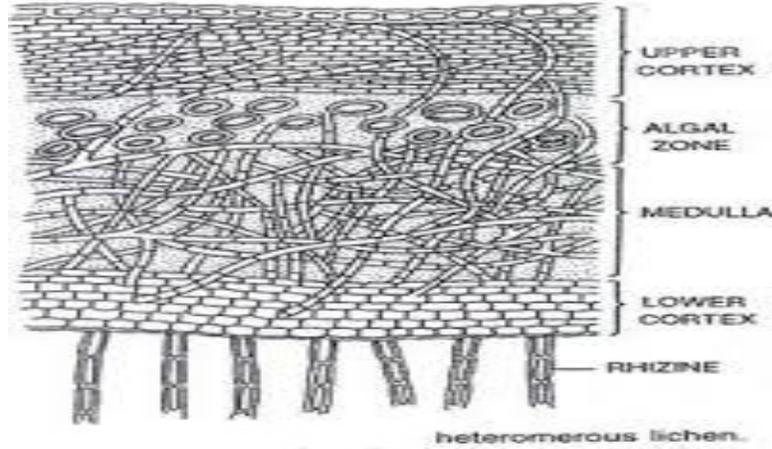


homomerous lichen.

يلاحظ على المقطع العرضي توزيع خيوط الفطر والطحلب في كل أنحاء الثالوس بدون تمييز.

ويعتبر هذا النمط في بنية الأشنة ابتدائياً.

2- غير متجانس الثالوس (Heteromerous)



يلاحظ على المقطع العرضي للثالوس تحت المجهر تميزه الى عدة طبقات وهي

1. القشرة العليا (Epithallus upper cortex)

تعمل القشرة كغطاء حماية حول سطح الثالوس كما تفعل البشرة في النباتات الخضراء الا انه لا يوجد فيها أدمه ولا ثغور.

2. الطبقة الطحلبية (الطبقة الجونيدية) (algal layer (Gonidial layer)

تكون الطحالب الأشنية محاطة تماما بنسيج فطري من الثالوس وغالبا ما تكون محصورة في طبقة مميزة ومستمرة الى حد ما تحت القشرة العليا مباشرة وفوق النخاع. كان يعتقد هذه الخلايا الطحلبية أن تكون الخلايا التناسلية من الأشنيات، وتعرف بـ جونيدات ، وبالتالي وحتى اليوم غالبا ما تسمى طبقة الطحالب gonidial.

3. النخاع (Medulla)

يتألف جسم الثالوس الأشني من نسيج نخاعي والخيوط الفطرية تكون جيلاتينية (غروية) ضعيفة مقارنة بخيوط القشرة وتحتوي على تجاويف كبيرة والخيوط الفطرية تكون متشابكة ومتشعبة بشكل مفكك على هيئة طبقة قطنية أو ليفية.

النخاع لديه سعة مائية أكبر وهو موقع تخزين المانيتول Mannitol ومعظم المواد الأشنية التي تملأ الخيوط.

في بعض الأنواع القليلة من الأشنيات لا يوجد فيها قشرة سفلية تحمي النخاع ولذا يبدو النخاع كطبقة ليفية بيضاء.

4. القشرة السفلى (Hypothallus lower cortex)

معظم الأشنيات القشرية Crustose Lichens يوجد طبقة عليا Upper Cortex وطبقة قشرة سفلى Lower Cortex.

الدرس العملي الرابع

التكاثر في الأشنات

1- التكاثر الجنسي (Sexual Reproduction)

الثالوس الأشني لا يتكاثر جنسياً ولكن يتم التكاثر الجنسي في الأشنات منفصلاً، حيث يتكاثر المكون الطحلي بنفس طريقة تكاثر الطحالب الأخرى وينتج خلايا جنسية، بينما يتكاثر المكون الفطري بواسطة إنتاج الأبواغ الأسكية (الزقية) أو البازيدية التي تنطلق من الأجسام الثمرية وتنبت وعندما تقابل خلايا المتكافل الطحلي تنمو وتكوّن ثالوساً جديداً.

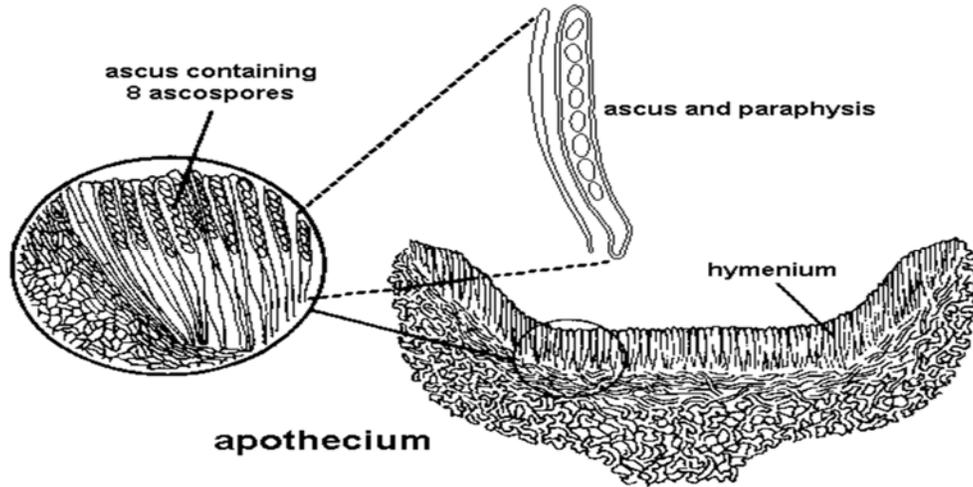
* عند فحص القطاع الرأسي في الجسم الثمري المحتوي على الأكياس والجراثيم الاسكية،

وجد أن الأكياس الاسكية تترتب في الأجسام الثمرية وتأخذ شكلين هما

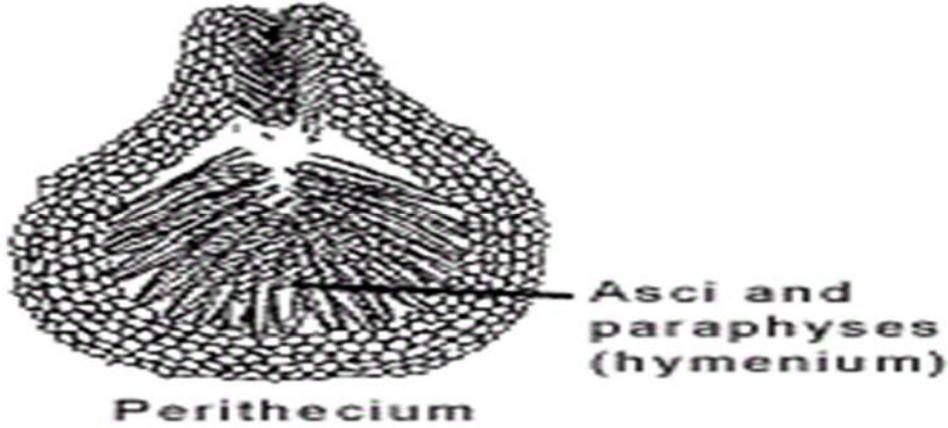
1. الشكل الكأسي "القرصي" (Apothecium).

2. الشكل القاروري "الدورقي" (Perithecium).

1- الشكل الكأسي "القرصي" (Apothecium)



2- الشكل القاروري "الدورقي" (Perithecium)



*في الأجسام الثمرية القارورية (الدورقية) فهي بصفة عامة أصغر حجماً من الأجسام الثمرية الكأسية (القرصية).

*ويبين القطاع الطولي عند فحصه ميكروسكوبياً أنها قارورية أو دورقية الشكل مبطنة بأكياس زقية وعادة ما تكون الخيوط العقيمة قليلة أو منعدمة.

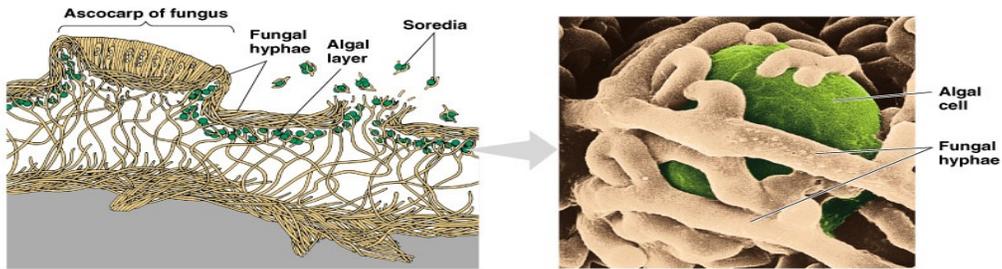
*وعندما تنضج الأكياس الزقية نجد أن الجراثيم تندفع بقوة من طرفها القمي ولفرط صغر الجراثيم تظل معلقة في الهواء حيث تستطيع الرياح حملها إلى مسافات بعيدة.

2- التكاثر اللا جنسي (Asexual Reproduction)

هناك أعضاء لا جنسية تقوم بعملية التكاثر اللا جنسي:

1- السوريدات (Soredia)

وهي عبارة عن تجمع غير قشري منفصل تتركب من خلايا طحلبية قليلة محاطة بخيوط فطرية تزداد في الحجم عندما يتماسك العديد منها مع بعض بشكل كتل محبية كبيرة . تنشأ السوريدات في النخاع والطبقة الطحلبية بعد فترة النمو المزدهر للطحالب وتطلق عبر الفتحات أو الشقوق في القشرة.



2- الاسيدات (Isidia)

هي عبارة عن نموات خارجية من القشرة العليا وهي تشبه الأصابع أو الأسطوانيات في الشكل وفيها تكون الأنسجة الفطرية والطحلبية مندمجة مع بعض الى حد ما، وتعتبر جزء من الثالوس مع أنها تعمل أساسا كأعضاء تكاثر خضري.

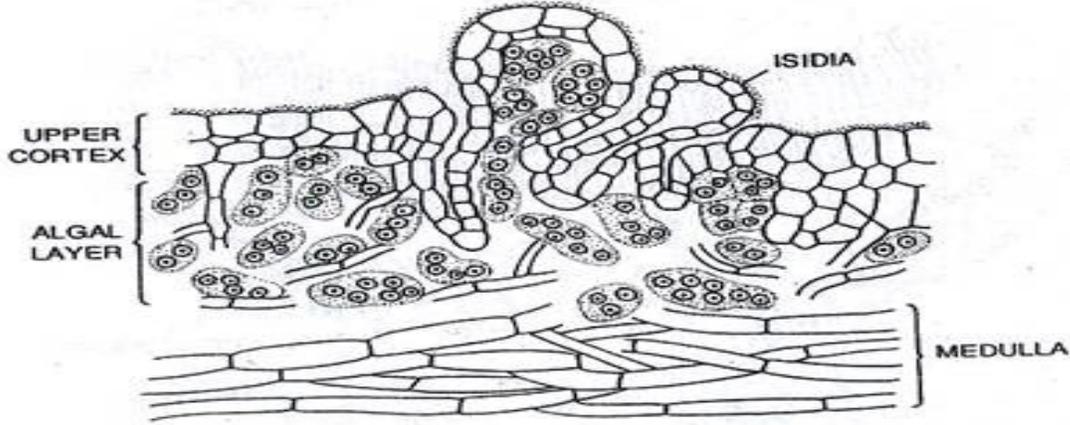
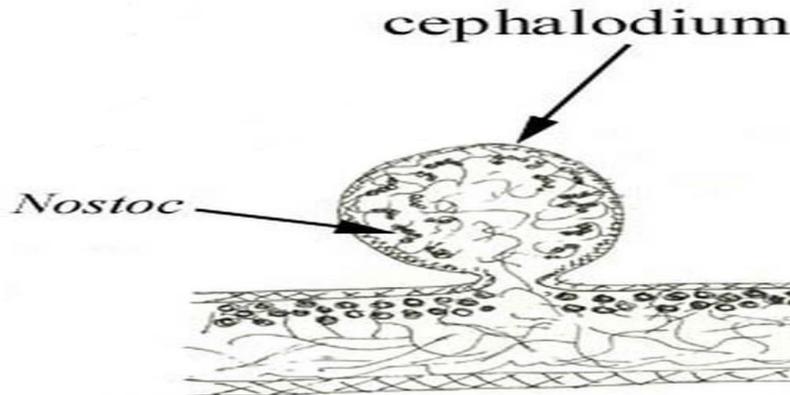


Fig. 18.12. Isidia (*Peltigera* sp.) V.S. thallus.

3- السيفالودات (Cephalodia)

وهي عبارة عن نمو خارجي من الثالوس الأشني تحتوي على طحلب أجنبي يختلف عن الطحلب المكون للأشنة.

كما في جنس *Peltigera* يبدأ تكوينها عندما تسقط مستعمرة بكتيريا *Nostoc* على سطح الثالوس وتقع في شراك الخيوط الفطرية الهوائية. ويبلغ قطر الثالوس المميز الصغير المتكون حوالي مليمتر أو أكبر. وحيث أنها تحتوي على بكتيريا *Nostoc* الزرقاء، التي تستطيع تثبيت النيتروجين وتزويد الثالوس العائل بهذا العنصر المهم ولا يبدو أن لها تأثير ضار على العائل.



الدرس العملي الخامس

الفطريات الجذرية Mycorrhizae

عبارة عن علاقة تكافلية بين الفطريات وجذور نباتات راقية. (ينتج عن هذه العلاقة تبادل المنفعة). كلمة Mycorrhizae مأخوذة من الكلمتين التاليتين Myco = fungi أي فطر Rhizae = root وتعني الجذر

نجد أن فطريات الجذور تزيد من كمية العناصر الغذائية المتاحة للنبات وتزيد من امتصاص هذه العناصر كما تزيد من مقاومة النبات للظروف البيئية القاسية مثل درجة الحرارة العالية والجفاف الشديد وبإمكانها أن تزيد من قدرة النبات على تحمل سمية بعض المعادن الثقيلة مثل الزنك Zn والنحاس Cu. ولها دور أيضاً من حماية الجذور من بعض الكائنات الممرضة.

ويقدم النبات لفطريات الجذور خلايا الجذر من أجل نمو الفطر وكذلك يزود الفطر بالمركبات الضرورية مثل الكربوهيدرات والفيتامينات ويوفر النبات للفطر الجو المناسب لنموه بما في ذلك الرقم الهيدروجيني pH المناسب.

وتقسم الي أربع مجاميع رئيسية وذلك حسب تركيبها و مجاميع النباتات التي تكون معها العلاقات

1- فطريات الجذور الحويصلية الشجرية

Vesicular – arbuscular mycorrhizae (VAM)

لا تكون غلاف والخيوط داخل خلوية والخيوط غير مقسمة.

2- فطريات الجذور الخارجية (المغلقة)

Ectomycorrhizae (sheathing mycorrhizae)

تكون غلاف أو حصيرة والخيوط بين خلوية.

3- فطريات الجذور الأرشيدية Orchid Mycorrhizae

سميت بالأرشيدية لأنها تكون علاقة تكافلية مع النباتات الأرشيدية والخيوط مقسمة.

4- فطريات الجذور الإريكانية Ericalean Mycorrhizae

وتكون الخيوط الفطرية مقسمة وتقسّم إلى

- أ- الاريكودية Ericoid mycorrhizae وتكون داخلية Endomycorrhizae
 ب- الأربوتودية Arbutoid mycorrhizae وتكون خارجية داخلية
 Ectoendomycorrhizae
 ج- المونوتروبودية Monotropoid mycorrhizae وتكون خارجية داخلية
 Ectoendomycorrhizae.

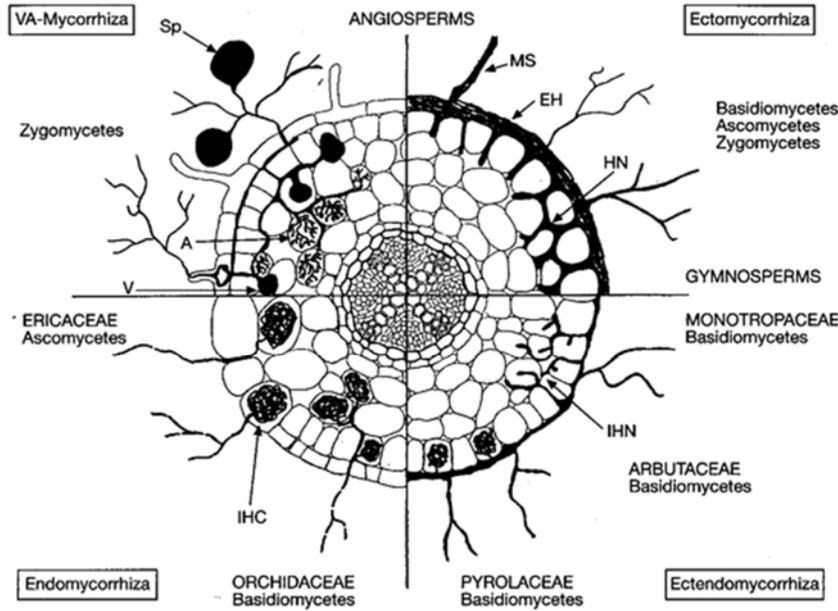


Fig. 1.10. A schematic overview of the different forms of mycorrhiza. *MS* Mycelial strands; *EH* external hyphal mantle; *HN* Hartig net; *IHN* intercellular hyphal net; *IHC* intracellular hyphal complexes; *V* fungal vesicle; *A* arbuscule; *Sp* spore. (After Gianinazzi and Gianinazzi-Pearson 1988)

طريقة العمل

1. جمع النباتات (العينات) من الحديقة النباتية وذلك بالمحافظة على منطقة الجذر حتى نتوصل الى منطقة الشعيرات الجذرية وبالتالي نحصل على الفطريات الجذرية وتغسل بالماء لإزالة الأتربة العالقة بها .
2. تحفظ هذه الشعيرات الجذرية في محلول الحفظ والتثبيت.
 من أمثلة محاليل الحفظ والتثبيت:
 ✓ فورمالين اسيتيك اسيد 4% (F.A.A) . " وهذا المحلول يسبب سرطان للجلد "
 ✓ ايثانول 50% (Ethanol) " سنستخدم الايثانول لأنه الافضل ".
 تحفظ وتثبت مدة لا تقل عن 24 ساعة ويمكن أن تستمر المدة لفترة طويلة.

الدرس العملي السادس

دور فطريات الجذور كمخصبات حيوية

المخصبات الحيوية :

عبارة عن كائن حي دقيق أو مجموعة متوافقة من الكائنات الحية الدقيقة أو انها كل الإضافات من أصل حيوي تضاف إلى التربة بوجود الجذور لأجل إمداد النبات بإحتياجاتها الغذائية. وتسمى باللقاح أي لها دور في المحافظة على خصوبة التربة. ومن أمثلة المخصبات الحيوية من فطريات الجذور:

1 - *Betula spp.*

2 - *Amanita muscaria*

3 - *Lactarius sp.*

4 - *Glomus intraradices*

5 - *Paxillus sp.*

وتستخدم هذه الفطريات الجذرية كمخصبات حيوية للأسباب التالية

1. قليلة التكلفة.
2. فيها نوع من الأمان البيئي حيث أنها لا تلوث البيئة وقليلة المخاطر للمزارع والمستهلك.

العوامل التي تؤثر على الإصابة بالفطريات الجذرية

1. عوامل نباتية (نوع النبات – نسبة نمو الجذور – المحتويات المعدنية للجذور)
2. عوامل التربة (الرقم الهيدروجيني – الحرارة – الوضع المائي في التربة)
3. كثافة اللقاح والجذر (هناك علاقة طردية بين اللقاح والجذور بكميات متساوية)
4. المسافة بين اللقاح والجذر (كلما كان اللقاح قريب للجذور كلما زادت نسبة الإصابة)

الأدوات المستخدمة

1. جذور نباتات مصابة بالفطريات الجذرية . " محفوظة سابقاً بالإيثانول " .
2. أمواس .
3. كؤوس سعة 50 مل.
4. محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) 10% .
5. حمام مائي ثنائي .

طريقة العمل

1. بعد عملية تثبيت الجذور بالايثانول 50% نستخرج الجذور من المادة المثبتة ثم نغسلها بالماء وذلك لإزالة المادة الحافظة .
 2. نقطع الجذور إلى وصلات صغيرة بطول 1سم .
 3. نضع هذه الوصلات في كأس سعة 50 مل ثم نضع هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) 10% ثم نغطي الكأس بقصدير .
 4. نضع الكأس في حمام مائي ثنائي وتسخن عند 90م لمدة ساعة .
- " نضع الجذور مع المحلول KOH في الثلاجة للعملي القادم "

ملاحظات

- أ- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH يعمل على تنظيف خلايا الجذور من الأنوية ويجعل الوسط قاعدي. (لتسهيل عملية الفحص وحتى يكون الفطر واضح)
- ب- الهدف من استخدام حمام مائي ثنائي هو أن التجربة تعتمد على بخار الماء.
- ج- الهدف من الغسيل بالماء لإزالة المادة الحافظة الايثانول (Ethanol)

الدرس العملي السابع

الأدوات المستخدمة

- 1- ماء مقطر .
- 2- محلول فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 30% .
- 3- محلول حمض الهيدروكلوريك (HCL) بتركيز 10%.
- 4- 0.05% من Aniline blue/Lactic acid

طريقة العمل:

- 1- إضافة نقطة من فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 30% إلى هيدروكسيد البوتاسيوم وإبقائها عند درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق.
- 2- أغسل الجذور بماء مقطر و ذلك لإزالة آثار محلول H_2O_2 .
- 3- توضع الجذور في محلول حمض الهيدروكلوريك بتركيز 10% وإبقائها عند درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق.
- " أصبح الوسط حامضي والفائدة لتثبيت الصبغة "
- 4- يتم إضافة 0.05% من Aniline blue/Lactic acid إلى حمض الهيدروكلوريك وتوضع في حمام مائي درجة حرارته 80م لمدة 30 دقيقة.
- 5- تنتقل الجذور إلى Lactic acide بتركيز 85% إبقائها عند درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق.
- 6- توضع الجذور على شرائح زجاجية نظيفة وفحصها باستخدام المجهر الضوئي.

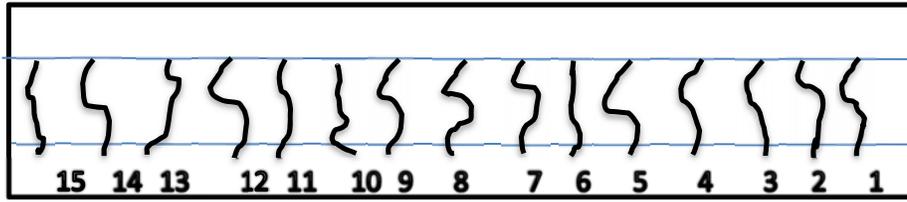
ملاحظات:

- أ- فائدة الماء المقطر لغسل هيدروكسيد البوتاسيوم ونجعل الوسط متعادل.
- ب- H_2O_2 مادة سامة و الهدف منها إزالة الصبغات الملونة للجذور.

الدرس العملي الثامن

حساب النسبة المئوية للإصابة بالفطريات الجذرية

بعد استخراجها من الحمام المائي تترك الجذور حتى تبرد ثم توضع الشعيرات الجذرية على الشريحة بحيث كل طالب يأخذ ثلاث شرائح بحيث كل شريحة يكون عليها 15 وصلة وتوزع على الوضع التالي



• بعد ترتيب الجذور على الشريحة يوضع عليها صبغة اللاكتوفينول وتغذى بالغطاء وتكون جاهزة للفحص.

- ثم نقوم بعمل جدول كالآتي :

مصابة (+) = غير مصابة (-)

رقم العينة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
الإصابة (-,+)															

- ثم بعد ذلك يتم حساب النسبة المئوية كالتالي :

$$\text{النسبة المئوية} = \frac{\text{مجموع عدد الوصلات المصابة}}{\text{مجموع الوصلات}} \times 100$$

* ملاحظة

تكون أشكال الإصابة بعد الفحص إما بالحويصلي أو الشجري.

مثال:

رقم العينة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
الإصابة (-, +)	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-

• الشريحة الأولى عدد الإصابات = 9 إصابات

رقم الإصابة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
الإصابة (-, +)	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

• الشريحة الثانية عدد الإصابات = 12 إصابة

رقم الإصابة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
الإصابة (-, +)	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-

• الشريحة الثالثة عدد الإصابات = 10 إصابات

$$\text{النسبة المئوية} = \frac{\text{مجموع عدد الوصلات المصابة}}{\text{مجموع الوصلات}} \times 100$$

$$\% 68.88 = 100 \times \frac{31}{45}$$

الدرس العملي التاسع

الفطريات الجذرية الخارجية

الكمأة (الفقع)

تعتبر الكمأة (الفقع) من الفطريات الجذرية الخارجية وهي من العلاقة التكافلية وتكون هذه العلاقة مع الجذور ولكن خارجياً .

النبات الذي تكون معه العلاقة هو نبات الرقروق . *Helianthemum sp.*
وتصنّف الكمأة كالتالي :

Division : Amastigomycota .

Class : Ascomycetes ..

Order : Tuberales .

Family : Terfeziaceae .

تنقسم العائلة (Terfeziaceae) إلى عدة أجناس منها :

1 – *Tirmania sp.*

2 – *Terfezia sp.*

1 – *Tirmania sp.* وهما نوعان :-

(A) *Tirmania nivea*

(B) *Tirmania pinoyi*

ويعرفان محلياً بالزبيدي (الكمأة البيضاء) تتميز ثمارها الزقية بالشكل الكمثري ويتكون الغلاف الخارجي من سطح املس أو متجدد قليلاً , ويتلون الغلاف الخارجي بين درجات الأصفر الفاتح والأبيض المحمر .

2 – *Terfezia sp.* ويشمل عدة أنواع منها :

(A) *Terfezia boudieri*

(B) *Terfezia leonis*

(C) *Terfezia olbiensis*

Terfezia boudieri

ويعرف بالكمأة السوداء , تتميز ثمارها الزقية (الجسم الثمري) بالشكل الكروي , لون الغلاف الخارجي بني فاتح وأحياناً بني داكن .

الأدوات المستخدمة

1. كمأة (الفقع) .
2. إبر تلقيح .
3. شرائح زجاجية .
4. غطاء للشريحة (Cover) .
5. اللاكتوفينول .

طريقة العمل

1. ضع نقطة من اللاكتوفينول في منتصف الشريحة .
2. خذ بواسطة إبرة التلقيح جزء قليل من الثمار الزقية .
3. ضعها على الصبغة وافردھا بلطف .
4. غط الشريحة بواسطة الغطاء (Cover) .
5. افحص تحت المجهر ولاحظ الأكياس الزقية المبعثرة وهي تحتوي على جراثيم زقية .

(عددها من 4 – 8)

الدرس العملي العاشر

عزل البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوي

هناك نوع من البكتيريا تقوم بعملية تثبيت النيتروجين الجوي وهي *Rhizobium* وذلك عن طريق تكوين علاقة تكافلية مع جذور الكثير من النباتات وخاصة النباتات البقولية في النهاية يحصل عملية تبادل المنفعة .

النبات البقولي يسمى المتكافل الأكبر Macro symbiont والبكتيريا تسمى المتكافل الأصغر Micro symbiont

تواجد البكتيريا

تتواجد هذه البكتيريا داخل عقد جذرية وتسمى بالعقد البكتيرية وهذه العقد موجودة في جذور النباتات البقولية.

يمكن لهذه البكتيريا تثبيت النيتروجين الجوي في المزارع البكتيرية (المعمل) اذا توفرت لها الظروف المناسبة , واثبت ان هذه البكتيريا رغم أنها غير ذاتية التغذية لها القدرة على النمو كبكتيريا ذاتية التغذية وذلك باستعمال الهيدروجين كمصدر للطاقة وثاني اكسيد الكربون (CO₂) كمصدر للكربون . كذلك لوحظ تغير أشكال البكتيريا عندما تكون داخل العقد البكتيرية وتأخذ أشكال وهذه الأشكال إما أن تكون نجمية * أو صولجانية  أو على شكل حرفي X , Y وتعرف بالبكتيرويدات (Bacteroids) .

الهدف من التجربة

عزل البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوي معملياً .

الأدوات المستخدمة

- 1- جذور بقوليات تحتوي على عقد بكتيرية .
- 2- محلول معقم مخفف.
- 3- ماء مقطر ومعقم .
- 4- ابر تلقيح ذات العقدة .
- 5- ملاقط
- 6- كحول
- 7- ساق زجاجية .
- 8- بيئة مناسبة لنمو البكتيريا (ولتكن "N.A" Nutrient Agar)

طريقة العمل

- 1- قم بتحضير البيئة .
- 2- اغسل الجذور التي تحتوي على العقد البكتيرية بالماء (لإزالة الشوائب والأتربة العالقة بها).
- 3- بواسطة ملقط معقم افصل بعناية العقد البكتيرية من الجذور .
- 4- قم بتمرير العقد على طبق بتري يحتوي على المحلول المعقم المخفف. (لإزالة أي نمو يكون متواجد على سطح العقدة " تعقيم سطح العقدة ") .
- 5- قم بتمرير العقد على ثلاثة أطباق تحتوي على ماء مقطر ومعقم (لإزالة اثر المحلول المعقم) .
- 6- بواسطة ساق زجاجية معقمة قم بهرس هذه العقد وذلك لاستخراج البكتيريا من العقدة .
- 7- بواسطة الإبرة ذات العقدة خذ قليلاً من الجزء المهروس وقم بتخطيطه تخطيط ثلاثي على بيئة النمو .
- 8- حضّن الأطباق عند 37 م .

• ملاحظات (المشاهدة)

- 1) النمو يكون من 4 – 10 أيام وتكون هذه المستعمرة مرتفعة ملساء مخاطية الشكل .
- 2) إذا كانت البكتيريا سريعة النمو فهي تنمو خلال 4 أيام وتصنف ضمن مجموعة البسلة.
- 3) إذا كانت البكتيريا بطيئة النمو فهي تنمو من 7 – 10 أيام وتصنف ضمن مجموعة فول الصويا .
- 4) تعقيم الساق الزجاجية يكون عن طريق الكحول واللهب.