الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
المدرسة العليا للأساتذة
القبة القديمة (الجزائر)
قسم العلوم الطبيعية

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
ECOLE NORMALE SUPERIEURE
Vieux –kouba (ALGER)
Departememt des sciences
naturelles

طرق عملية في عزل وتشخيص الأنواع البكتيرية من جنس *Bacillus* من التـــــربـــــة

مذكرة لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي

إعداد:

- سميـــرة بعلاش
- نـــــوال رزيق
- يمينـــة بوعروج

تحت إشراف الأستاذة:

ليندة لعماري

لجـــنة المناقشـــــة:

الأستاذة: عبد الغني زيتوني..... رئيسا
الأستاذة: حكيمة نخيلـــــي..... ممتحنا
الأستاذة: ليندة لعمـــــاري..... مشرفا

السنة الدراسية 2007/2006
دفعة جوان 2007

- الملخص
- المقدمة..... 1

الفصل الأول

I ــ تعريف البكتيريا.....3
II ــ أشكال البكتيريا.....3
III ــ البكتيريا من جنس *Bacillus*.....4
III-1ــ خصائص ومميزات البكتيريا من جنس *Bacillus*.....4
III-2ــ التكاثر عند البكتيريا من جنس*Bacillus*.....8
III-3ــ أماكن تواجد البكتيريا من جنس*Bacillus* 8
III-4ــ العوامل المؤثرة في نمو البكتيريا من جنس *Bacillus*.....9
III-4-1ــ العوامل الغذائية.....9
III-4-2ــ العوامل الفيزيائية.....9
III-4-2-1- درجة الحرارة.....9
III-4-2-2- الأس الهدروجيني.....9
III-4-2-3-الاحتياجات الهوائية.....10
III-4-2-4- الضغط الأسموزي.....10
III-5-ــ تصنيف البكتيريا من جنس *Bacillus*.....11
IV ــ الأيض البكتيري.....12
IV-1ــ استقلاب المواد المعدنية.....12
IV-2ــ الأيض الغلوسيدي.....13
IV-2-1ــ هدم السكريات الثنائية.....13
IV-2-2- هدم السكريات المعقدة.....14

IV-3 ــ الأيض البروتيدي.....14
IV-3-1- هدم الجيلاتين.....14
IV-3-2- هدم الكازئين.....14
IV-3-3ــ هدم التيروزين.....14
IV-4-الايض الدهني.....14
IV-4-1- هدم توين.....14
IV-4-2-هدم اللوستين.....14
V ــ ادوار البكتيريا من جنس *Bacillus*.....15
V-1- الإيجابيات.....15
V-2-السلبيات.....16

الفصل الثاني

I ــ الوسائل والطرق.....19
I-1ــ الوسائل.....19
I-1-1- الأجهزة المخبرية.....19
I-1-2- الأدوات الزجاجية.....19
I-1-3 أدوات ومواد أخرى.....20
I-2 ــ مكان العمل.....20
I-3- أوساط الزرع.....20
I-4 ــ مواد ومحاليل أخرى.....21
II ــ خطوات العمل.....21
II-1 ــ تحضير الأوساط المغذية وتعقيمها في الصاد الموصد.....21
II -2 ــ عزل البكتيريا من جنس *Bacillus* من التربة.....22
II -3 ــ عملية الزرع.....22
II -4 ــ التحضين.....22
II-5 ــ تقدير عدد البكتيريا.....23

III ــ تقنيات الدراسة.....23
III -1 ــ الدراسة المورفلوجية والخلوية.....23
III -1 ــ1 ــ الدراسة الماكرومرفولوجية.....23
III -1 ــ2 ــالدراسة الميكرومرفولوجية.....23
III -2ــ عمليات صبغ البكتيريا من جنس *Bacillus* 24
III-2-1-مفهوم الصبغة.....24
III-2-2- أنواع الصبغات.....24
III-2-3- مزايا الصبغ.....24
III -2-4ــ تقنية غرام.....25
III -2-5 ــ تقنية تلوين البوغة.....26
IV ــ الدراسة الفيزيولوجية.....27
IV -1 ــ اختبار النمط التنفسي.....27
IV-4-2 ــ اختبار مانتول- الحركة.....28
IV-3- إختبار الكتالاز.....29
IV-4 ــ إختبارإرجاع النترات.....30
IV-5 ــ دراسة مشتقات حمض البيروفيك.....31
IV-6- الهدم اللاهوائي للاكتوز.....32
IV-7- الأيض الغلو سيدي.....33
IV-7-1 ــ هدم النشاء.....33
IV-7-2 ــ استعمال سكريات مختلفة.....34
IV-8- أيون السيترات.....35
IV-9 ــ الأيض البروتيدي.....36
IV-9-1 ــ هدم الجيلاتين.....36
IV-9-2- هدم الكازئين.....37
IV-9-3- هدم التيروزين.....38

IV-10 ــ الأيض الدهني.....39
IV-10-1 ــ هدم توين.....39
IV-10-2 ــ هدم اللوستين.....40
IV-11 ــ القدرة على تحليل الدم.....41
Vــ النتائج.....43
V-1-نتائج تحديد معدل الرطوبة وتقدير عدد البكتيريا.....43
V-2- نتائج الدراسة الماكرومرفولوجية.....44
V-3- نتائج الدراسة الميكرومرفولوجية.....45
V-4 ــ نتائج عمليات الصبغ 46
V-4-1 ــ نتائج صبغة غرام.....46
V-4-2 ــ نتائج تلوين البوغة.....46
V-5 ــ نتائج الدراسة الفيزيولوجية.....46
VIــ مناقشة النتائج.....48
VI -1 ــ مناقشة نتائج عمليات الصبغ.....48
VI-1-1 ــ مناقشة نتائج صبغة غرام.....48
VI-1-2 ــ مناقشة نتائج تلوين البوغة 49
VI-2ــ مناقشة نتائج الدراسة الفيزيولوجية.....49
VI-2-1- تحديد النمط التنفسي.....49
VI-2-2-هدم المانتول.....50
VI-2-3- إختبار الكتالاز.....50
VI-2-4- إختزال النترات.....51
VI-2-5- مشتقات حمض البيروفيك.....53
VI-2-6- هدم اللاهوائي للاكتوز.....55
VI-2-7- هدم النشاء.....55
VI-2-8- أيون السيترات.....56
VI-2-9- هدم الجيلاتين.....57

VI-2-10- هدم الكازئين.....58
VI-2-11- هدم التيروزين.....58
VI-2-12- هدم توين.....58
VI-2-13- هدم اللوستين.....59
VI-2-14- تحليل الدم.....59
VI-2-15- إستعمال سكريات مختلفة.....60
VII-المناقشة العامة.....61
VII -1- تحديد الجنس *Bacillus*.....63
VII-2- تحديد النوع.....63
VII-3- مخطط تصنيف البكتيريا.....65
VIII- الخاتمة.....66
IX- الملحق.....67
IIX- المراجع.....68

المقدمة

تعتبر البكتيريا القسم الأكثر أهمية في الأحياء الدقيقة من حيث الأعداد، الأجناس، الأنواع و النشاط. كما تلعب دورا بالغ الأهمية من ناحية التغيرات الحيوية التي تحدث على مستوى التربة، فمنها من تستوطنها بصفة طبيعية، بحيث تتكاثر فيها و تساهم بفاعلية كبيرة في النشاطات البيوكيميائية. و منها من يصل إليها مع مياه الأمطار، أو عن طريق دخول الأنسجة المريضة و مخلفات الإنسان و الحيوان.

تتميز البكتيريا بقدرتها الكبيرة على تحمل و مقاومة الظروف الغير ملائمة، فتظل ساكنة دون نشاط لفترات طويلة، و تبقى حية، إما في حالة سكون أو تنمو لفترات قصيرة، و لكنها لا تشارك بطريقة فعالة في عمليات تحويل العناصر في التربة و هذه البكتيريا يمكن أن تكون متغايرة التغذية أو ذاتية التغذية.

و من أهم المجاميع البكتيرية ذات الانتشار الواسع في التربة: البكتيريا العصوية التي تتواجد بأعداد كبيرة جدا تفوق أشكال البكتيريا الأخرى كالشكل الكروي و غيرها.

و من بين الأجناس البكتيرية المتواجدة في التربة جنس *Arthrobacter* الذي تصل نسبته 35% و جنس *Bacillus* الذي تفوق نسبته 40% و يعتبر من الأجناس المسيطرة نظرا لدوره المهم في دورات الكربون و الآزوت.[5-6]

و نهدف من خلال هذا البحث إلى:

- التعرف على طريقة عزل البكتيريا من جنس *Bacillus* من التربة.
- التعرف على طريقة الوصول إلى تحديد الجنس.
- التعرف على طريقة الوصول إلى تحديد النوع.

و لقد أنجزنا هذا العمل من خلال جانبين:

الجانب النظري:تطرقنا فيه إلى معالجة معلومات نظرية حول الجنس *Bacillus*.

الجانب التطبيقي:أنجز هذا الجانب في مخبر الأحياء الدقيقة بالمدرسة العليا للأساتذة بالقبة.

و تناولنا فيه بالدراسة مختلف الوسائل و الطرائق التي استخدمناها لتحقيق الهدف من بحثنا هذا.