طرق تنمية وعزل الخمائر

المعمل الثاني

أهمية عزل الخمائر

تستخدم بعض عزلات الخمائر بعد تنقيتها لانتاج

- إنزيم مثل (الليبيز) لتحليل الدهون والذي يمكن أن يدخل في صناعات عديدة أهمها صناعة المنظفات.
- وأيضا تستخدم لانتاج فيتامين ب المركب
- انتاج البروتينات
- استخدام بعض السلالات في الهندسة الوراثية
- احد أهم استخدامات الخمائر هي النتاج كحول الايثانول وهو يلي الماء كمذيب عام للمواد العضوية

يستخدم لعزل الخمائر بيئات مختلفة تحتوي على مواد محفزة لنمو الخمائر من أفضلها

Molybdate agar

PDA

طرائق عزل الخمائر النقية

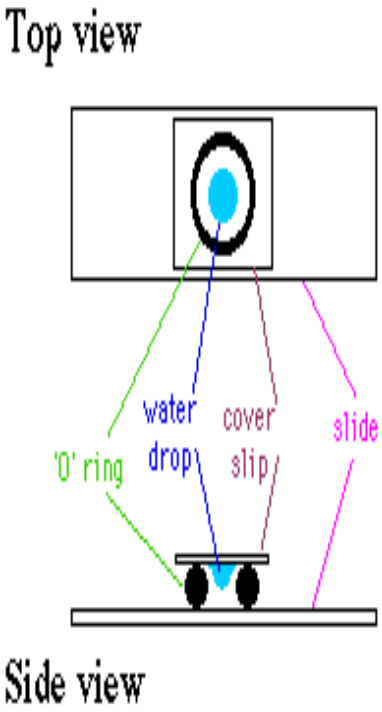
هناك عدة طرق يمكن بواسطتها عزل خميرة نقية من المحلول نذكر منها ما يلي :

١- طريقة الزرع من التخفيف:

- تستعمل بيئة غذائية (وسط زراعي) مناسبة لنمو الخميرة ومحتوية على كائنات دقيقة مختلفة
- يجري تلقيح أنبوبة اختبار تحتوي على بيئة المرق المغذي الذائب بواسطة الإبرة الحلقية Loop
- تنقل قطرة من الأنبوبة الأولى إلى أنبوبة ثانية وثالثة
- ثم تصب الأنابيب الثلاث في أطباق بتري
- تحضن في درجة حرارة 25–30 م لمدة يومين .
- بعدها نلاحظ بواسطة المجهر المستعمرات النامية على سطح الآجار المغذي الصلب ، وينقل واحدة منها إلى بيئة غذائية مناسبة بعدما يتم التأكد من نقاوة المستعمرة.

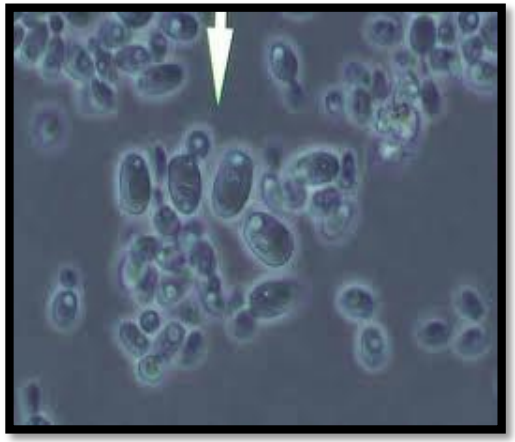
طريقة الشريحة الرطبة
Hansen slide

تتكون من شريحةتشبه شريحةالقطرة المعلقة(معقمة)وغطاءزجاجي
Cover slipمقسم إلى مربعات متساوية تتراوح بين ١-١٦ مربع



- تشمل طريقة الاستعمال وضع قطرة من محلول مخفف يحتوي على خلايا قليلة من الخميرة على الغطاء،ثم يوضع عليها الآجار السائل
- وتوضع قطرة ماء معقم داخل التجويف (التقعر)
- بعد تصلب الآجار يوضع حول الشريحة الشمع الذائب لإغلاقها تماما .
- يجري التركيز على خلية واحدة ويحدد مكانها بالضبط برقم المربع وذلك باستخدام المجهر
- ثم تحضن الشريحة في درجة حرارة (٢٥ م) لمدة يومين ، وقد تنمو الخلية مكونة مستعمرة . وبعد الفحص ينقل جزء من المستعمرة إلى بيئة غذائية ملائمة ، وبذلك نكون قد حصلنا على خميرة نقية .

بواسطة الماصة الدقيقة
Micromanipulator



- باستعمال ماصة دقيقة جدا وبواسطة المجهر البسيط يتم التقاط واحدة من خلايا الخميرة ، التي تنقل مباشرة إلى بيئة غذائية مناسبة
- تحضن بدرجة حرارة الغرفة
- تعتبر هذه الطريقة من أسهل وأسرع الطرائق المستخدمة

تنميه الخمائر

النمو عبارة عن الزيادة في عدد الخلايا أو الكتلة mass

فإذا جرى تلقيح خلايا خميرة في بيئة غذائية (وسط زرعي) مناسبة ومحتوية على جميع العناصر الغذائية .

فإن الخلايا تقوم بامتصاص المواد الغذائية الذائبة مثل المواد الكربوهيدراتية والآزوتية والأملاح المعدنية علاوة على عوامل النمو.

تمر المواد الغذائية الممتصة بعدة تحولات مختلفة حتى تحصل الخلية على المواد اللازمة لبناء بروتوبلازمها وخلاياها الجديدة

كما تؤمن في الوقت نفسه الطاقة اللازمة لتفاعلات البناء المختلفة .

وقد يؤثر نوع البيئة الغذائية ومكوناتها وكذلك الظروف البيئية المحيطة على معدل النمو ،وأحياناً على شكل الخلية ولون الجراثيم اللاجنسية

و تتناول الخميرة غذاءها بوساطة الانتشار الغشائي عن طريق جدرانها السيتوبلازمية

توجد طرائق مختلفة لتنمية فطر الخميرة ويتوقف استخدام أي طريقة على نوع الفطر والغرض من تنميته .ويستخدم عادة بيئات صلبة أو سائلة تحتوي على المواد الغذائية المناسبة.وفيما يلي أهم الطرائق المستخدمة:

البيئات (الأوساط الزرعية) الصلبة
Solid media

- تستخدم البيئات الغذائية الصلبة (المحتوية على الآجار أو الهلام) لعزل الخميرة ودراسة خواصها المزرعية وتكوين الجراثيم وكذلك دراسة تأثير الضوء والحرارة .
- يمكن تقدير معدل النمو باستخدام البيئات الصلبة وذلك بقياس قطر المستعمرة على فترات مختلفة .وقد تفرز بعض الفطريات صبغات ذائبة بالبيئة الصلبة يمكن تمييزها بتغير لونها بإضافة نقطة من الهيدروجين .
- تستخدم البيئات الصلبة للكشف على قدرة الخميرة على انتاج حمض أثناء النمو وذلك بوضع دليل (كاشف) يتغير لونه بتغير الـ **PH** أو بإضافة كربونات الكالسيوم فيلاحظ تغير اللون أو تشكل هالة رائعة حول النمو عندما يغير الفطر درجة **PH** الوسط الذي ينمو فيه نتيجة للتحولات الغذائية المختلفة وقد تتشكل هالة كبيرة مما يدل على أن الفطر يفرز كمية كبيرة من الحمض .

البيئات السائلة liquid media :

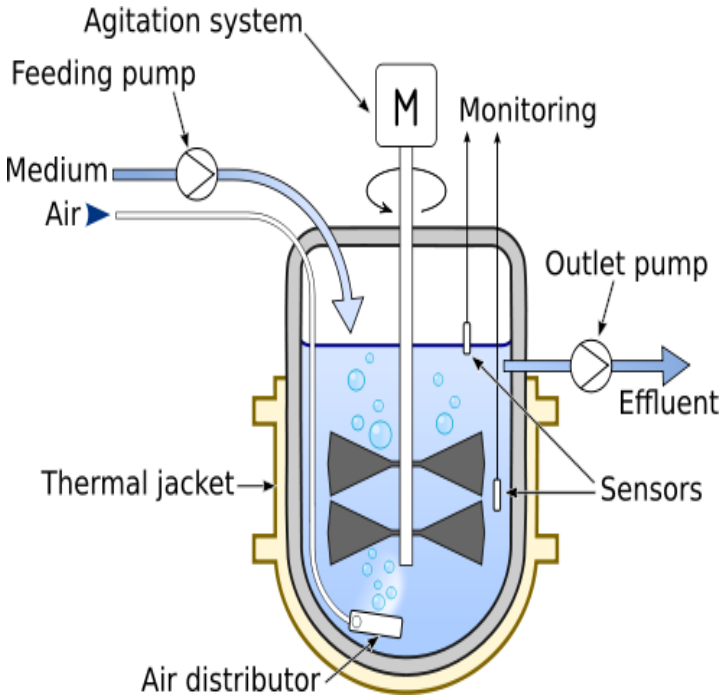
أ- المزارع السطحيةSurface cultures

- يستخدم في هذه الطريقة دوارق زجاجية توضع فيها البيئات الغذائية السائلة ،ثم تلقح بجراثيم الفطر أو بجزء من (الميسيليوم) أو الخلايا ثم تحضن على درجة حرارة مناسبة
- يلاحظ بعد فترة ظهور الميسلوم النامي على سطح البيئة مكونة حصيرة من النمو والتي تزداد مساحتها حتى تملأ البيئة كلها
- من عيوبها أن الميسلوم لا يكون متجانس فيكون جزء من الهيفات معرضا للظروف الهوائية مما يؤدي إلى تكوين الجراثيم ،ويكون الجزء الآخر مغموراً بالبيئة بعيداً عن الهواء.

ب- المزارع المهتزة (الهزازة):shaken cultures

- توضع في هذه الطريقة الدوارق الزجاجية (المحتوية على البيئة الغذائية الملقحة في جهاز هزاز **shaker** (ذي سرعة مناسبة) حتى يمكن هز البيئة السائلة باستمرار لإذابة جزء من الأوكسجين الجوي فيها .
- يلاحظ هنا أن النمو يكون متجانساً ومنتشراً في كل البيئة ولا تتكون جراثيم ولكن نحصل على نمو خضري فقط .

ج- المزارع المهواة: stirred aerated cultures



- يستخدم بالمزارع المهواة وعاء خاص يسمى بالمخمر (المفاعل الحيوي) يمرر بداخله الهواء مع التقليب ويدخل الهواء معقماً وبكميات تتوقف على كمية السكر المضافة وعلى معدل نمو الفطر
- وتفضل هذه الطريقة لإنتاج بعض النواتج الفطرية الهامة مثل انتاج الأنزيمات والمضادات الحيوية

د–المزارع المستمرة: continuos cultures

- يستخدم في هذه الحالة الأجهزة ذاتها المستخدمة بالمزارع المهواة ولكن يتم إضافة البيئة الغذائية باستمرار مع سحب (استجرار) جزء من المزرعة في الوقت نفسه بما تحتويه من خلايا الفطر أو نواتجه
- في هذه الحالة يكون التخمر بشكل مستمر وبسرعة ثابتة
- تعتبر المزارع المستمرة من الطرائق الهامة بدراسة التخمرات الميكروبية حيث يمكن التحكم (تنظيم أو ضبط) بمعدل الإضافة أو معدل السحب.

العوامل البيئية (الطبيعية و الكيميائية) المؤثرة على نمو الخمائر

يتاثر نمو الخمائر و تكاثرها بعدة عوامل من أهمها:

١. درجة الحرارة
٢. الماء (الرطوبة)
٣. الحموضة (PH)
٤. التهوية (الاوكسجين)
٥. الضغط
٦. نوع الغذاء
٧. مواد مانعة للنمو