

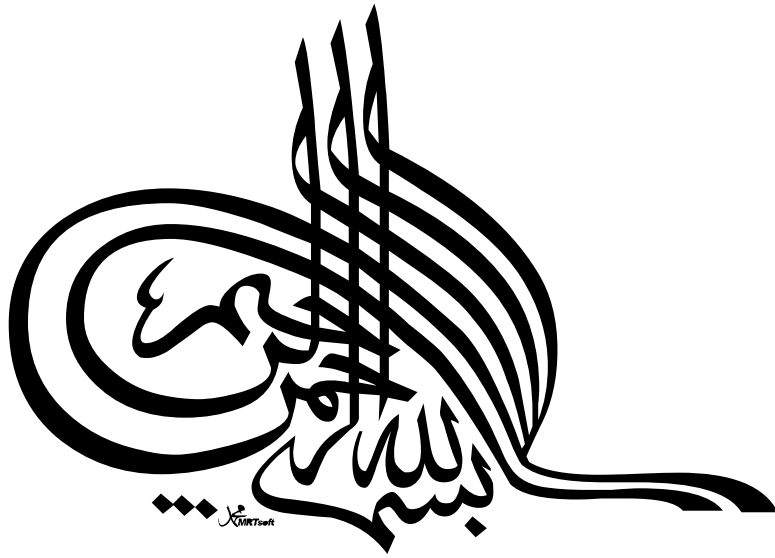


ProjectCenter

www.ProjectCenter.ir

📷 | @projehcenter

➔ | @projehcenter_ir



...

عنوان آزمایش :

۱- جمع آوری و نگهداری نمونه های خاک

۲ - تهیه لام های دفن شده در خاک

فهرست مطالب

صفحه	موضوع
۱.....	آشنایی با روش نمونه برداری، نگهداری و تهیه لام از خاک
۲.....	مرحله انجام آزمایش:
۳.....	انجام آزمایش:
۴.....	عنوان آزمایش:
۴.....	انجام آزمایش:
۹.....	عنوان آزمایش : ۱- تهیه میکروکالچه (اسلایه کالچه) یا میکروکشت
۱۰.....	عنوان آزمایش ۲- MPN (Most Probable Number)

آشنایی با روش نمونه برداری، نگهداری و تهیه لام از خاک

میکرو بیولوژی و شیمی خاک حایز اهمیت می باشند که بر اساس اصول صحیح جمع آوری و نگهداری کرده و آزمایش مورد نظر را انجام می دهیم نکته مهم اینکه خاک از جمله محیطهایی است که حتی در یک محدوده معین ویژگیها و شرایط آن از نظر فیزیکی- بیولوژیک و شیمیایی با همدیگر فرق دارند. مثلاً در یک محدوده خاص مثل بلندی تپه در مقایسه با ارتفاع کم ویژگیهای متفاوت می باشد و حتی در یک باغچه که به آن کود داده می شود جاهایی که کود بیشتری دریافت کرده و یا کمتری دریافت کرده شرایط متفاوتی دارد، بنابراین تهیه این نمونه ها یا به منظور انجام آزمایشهایی میکروبیولوژی انجام می شود و یا آزمایشهای شیمیایی که این دو تفاوتی کوچک از نظر جمع آوری و نگهداری دارند. برای نمونه برداری و جمع آوری از دستگاههای نمونه بردار خاصی آگلر استفاده می شود که غالباً نوعی لوله نمونه برداری است که طول و قطر مشخص دارد و جنس آن عموماً فلزی می باشد و ویژگی که دارند روی سطح آنها مدرج شده است که به منظور اندازه گیری از عمق مورد استفاده قرار می گیرد که به شکل عمودی بر روی نقطه ای که برای برداشت نمونه مشخص شده است قرار گرفته است و با فشار دادن دست یا فشارمکانیکی در خالک فرورفته تا عمق مورد نظر از خاک پر می شوند و بعد محتویات آنها با یک ظرف ترجیحاً استریل یا یک کیسه پلاستیکی منتقل می شوند. مرحله دوم نگهداری نمونه ها می باشد که اگر مجبور به نگهداری شویم

بایستی نمونه های جمع آوری شده در شرایطی که از نظر دما و رطوبت تشابه زیادی با زمان برداشت نمونه دارند نگهداری شوند که مثلاً در مورد نمونه های میکروبی دمای مشابه دمای برداشت نمونه (4°C) مناسب بوده که فعالیت میکرو لرگانسیم ها را کند می کند در مورد آزمایشهای شیمیایی روشهایی مانند منجمد کردن و خشک کردن برای نگهداری مورد نظر می باشد .

مرحله انجام آزمایش:

برای شروع کار ابتدا یک نقطه مناسب را برای برداشت نمونه در نظر می گیریم و در مرحله اول باید یک برچسب تهیه کرده و مشخصات دقیق محل برداشت نمونه را روی آن برچسب می نویسیم یعنی اینکه اگر برای برداشت مجدد نیاز باشد بایستی بتوانیم نمونه برداری را عیناً تکرار کنیم که بتدریج فناوریهای جدید مثل GPS نیز مورد استفاده قرار می گیرد در درجه دوم مشخصات ظاهری خاک را بایستی یادداشت کنیم که شامل: نوع دانه بندی خاک- پستی و یا بلندی - خشکی و دیگر مشخصات و بعد از مدتی که مراجعه کردیم متوجه تغییرات آن شویم معمولاً این برچسبها حاوی تاریخ، شرایط اقلیمی، نام نمونه بردار و هر اطلاعات دیگری که لازم بوده و به تفسیر نتایج آزمایش کمک کند می باشد.

انجام آزمایش:

پس از تحویل گرفتن وسایل مورد نیاز شامل یک کیسه نایلون تمیز و دماسنج و تیغه محل نمونه برداری پشت آزمایشگاه کنار درخت بزرگ زبان گنجشک و قسمت شمال غربی آن تعیین گردید و ضمن مراجعه در محل با استفاده از لوله مخصوص که برای نمونه برداری پیش بینی شده بود با فشار مکانیکی در محل مورد نظر اقدام به نمونه برداری و تخلیه آن داخل یک پلاستیکی گردید البته قبلاً با استفاده از دماسنج مخصوص و با فرو کردن آن در داخل و ایست چند دقیقه ای درجه حرارت خاک 7° تعیین گردید سپس درجه حرارت هوا نیز اندازه گیری و 10° بود. پس از ثبت مشخصات شامل ۱- نام نمونه بردار: علی اکبر نوروزی ۲- ساعت ۱۵/۱۵ روز دوشنبه ۱۳۸۴/۱۲/۳- مکان: آموزشکده محیط زیست پشت آزمایشگاه میکرولوژی جنب درخت بزرگ زبان گنجشک و قسمت شمالی آن ۴- درجه حرارت هوا 10° ۵- درجه حرارت خاک 7° ۶- شرایط اقلیمی : هوا مرطوب و پس از حدود ده ساعت بارندگی متناوب در مرحله بعد از تحویل گرفتن یک عدد بوکال (وسیله قراردادن خاک و لام ها و تماس آنها با همدیگر به منظور ایجاد تماس مناسب محیط کشت با خاک) و ۶ عدد لام یا اسلاید که با استفاده از میکروفیلم آنها را به هم چسباند هو نفوذ ناپذیری آن را تضمین می کنیم که یک طرف آنها را با سوپ که قبلاً با استفاده از محیط کشت نوترینت برات (NB) آغشته می کنیم (در شرایط استریل) پس از آماده کردن سه عدد اسلاید دو طرفه که یک طرف آن آغشته به محیط کشت NB می باشد آنها را با فاصله در داخل بوکال

قرار می دهیم و سپس با استفاده از قاشقک میان آنها را با آرامی با خاک پر می نمایم و درب بوکال را بسته و در دمای $20-25^{\circ}\text{C}$ گرما گذاری می کنیم که اگر شرایط دمای اطاق این باشد مطلوب است در غیر اینصورت آن را داخل انکوباتور به مدت دو هفته قرار می دهیم تا میکروارگانیم ها روی آن رشد کند.

عنوان آزمایش:

الف) شمارش باکتریهای هتروتروف هوازی خاک به روش Plate count

هدف: آشنایی با روش کلاسیک شمارش باکتریهای زنده

تاریخ: ۸۴/۱۲/۱۰

انجام آزمایش:

باکتریها غالبترین جمعیت میکروارگانیم های خاک را تشکیل می دهند و در خاکهای معمولی بین 10^8-10^9 عدد در هر گرم خاک موجود می باشند در خاکهای فاضلاب و لجن فعال یا کشاورزی یا کود دهی بالا با میکروبی بالایی دارند. استفاده از رفتهای متوالی و کشت در پلیت به روش pour plate می باشد خاک بدلیل اینکه دارای باکتریهای زیادی می باشد قابل کشت بصورت مستقیم نمی باشد لذا ابتدا سوسپانسیون را تهیه و با استفاده از مایع مناسب که آسیبی به سلولها نرساند ماده جامد را وارد آن می کنیم و با استفاده از روشهای مکانیکی آن را به هم می زنیم یا با استفاده از دستگاهی بنام shaker که با دور مشخص (مثلاً 2000RPM یادویست دور در دقیقه) به مدت