

الإختبارات الفسيولوجية لتعريف الخمائر Physiological tests for yeasts identification مازالت الخواص الفسيولوجية هامة في تعريف سلالات الخميرة وفيما يلي نتناول الإختبارات الفسيولوجية لتعريف الخمائر: يمكن ملاحظة الإستفادة من السكريات تحت الظروف غير الهوائية بصفة عامى عن طريق تقدير كمية غاز ثاني أكسيد الكربون المتكونة والتي يتم تجميعها في أنابيب وقد ثار جدل بين العلماء حول أهمية هذه الإختبارات حيث اعتبر البعض أنها غير دقيقة بالنسبة للخمائر المعروفة بأن لها نشاط تخميري بطيئ وذلك لأن كمية ثاني أكسيد الكربون الناتجة بواسطة هذه الخمائر لا تتكون بسرعة بسبب ذلك اعتبرت بعض الخمائر أن ليس لها نشاط تخميري وظل هذا الإعتقاد سائد بالنسبة لبعض أنواع الخمائر ومع ذلك مازالت تتبع طريقة تجميع غاز ثاني أكسيد الكربون في أنابيب دورهام في تعريف الخمائر وذلك بسبب سهولة القيام بها. التخمير للخميرة بإستخدام سكر الجلوكوز. فإذا لم يلاحظ حدوث تخمر لسكر الجلوكوز فلا يكون هناك حاجة لإجراء مزيد من التخمير على السكريات الأخرى لأن الخميرة التي لا تستطيع أن تخمر سكر الجلوكوز لن تستطيع تخمر باقي السكريات. المستخدمة في تعريف الخمائر هي (الجلوكوز، التريهاوز والزيلوز). يتم اختبار السكريات عند تركيز 2% (وزن/حجم) (أو 4% بالنسبة لسكر اليرافينوز) في البيئة الأساسية التي يحتوي على 2% (وزن/حجم) مستخلص خميرة و 5. وذلك في أنابيب اختبار تحتوي كل أنبوبة على 3 إلى 5 أنبوبة صغيرة في وضع مقلوب لتتجمع بها فقاعات غاز ثاني أكسيد الكربون المتكونة. إلى البيئة المعقمة والمحتوية أيضا يضاف السكر الذي تم تعقيمه منفصلا البروميثايمول blue Bromthymol وهو دليل يبين التغير في رقم ال pH. الأنابيب بلقاح مكثف من المزرعة المراد اختبارها، ويجب أن يكون اللقاح من مزرعة تحضن الأنابيب على درجة حرارة من 25 إلى 28 م الأنواع المحبة للحرارة المنخفضة تحتاج إلى تحضين على 0 درجة حرارة 12 إلى 17 م Carbon assimilation test: الكربون تمثيل إختبار - 2 تمثيل مركبات الكربون يمكن أن يختبر بطريقة النمو في بيئة النمو في أنابيب تحتوي على بيئة سائلة وهي طريقة حساسة وتستعمل في التعريف. وفي هذه الطريقة يتم اختبار قدرة الخمائر على النمو في بيئات تحتوي على أي من السكريات الأتية: 1 - الهكسوزات أو السكريات السداسية (الجلوكوز، 2 - النتوزات أو السكريات الخماسية (الزيلوز، 5 - السكريات المتعددة (النشا الذائب، 6 - الكحولات (الإريثريتول، 7 Erythritol - الأحماض العضوية (السكسينيك، 8 - الجليكوسيدات (ألفا - ميثيل - د - جلوكوسيد - D-glucoside methyl-α، تتلخص الخطوات العملية لإختبار تمثيل الكربون فيما يلي: - يضاف مصدر الكربون المراد اختبار قدرة الخميرة على تمثيله إلى بيئة نمو الخميرة 5% ماعدا سكر اليرافينوز الذي يضاف بنسبة 1. - يتم ضبط رقم ال pH بعد ذلك ليكون 6.5 ذلك بالنسبة لمصادر الكربون التي يكون مصدرها غير طبيعي مثل الأحماض العضوية. - تعبا أنابيب اختبار بالماء المقطر بحيث تحتوي كل أنبوبة على 5.0 مل من محلول السكر المراد اختبار قدرة الخلايا على تمثيلة. - تلقح الأنابيب بمعلق الخمائر المراد اختبارها ثم يقاس النمو عن طريق قياس العكارة 0 وذلك بعد التحضين على درجة حرارة 25 م - سوف يكون النمو أسرع إذا تم رج الأنابيب لمدة نصف ساعة. الخمائر المتوقع أنها تحب الحرارة المنخفضة أو التي ثبت في أي اختبار احتمالي أنها 0 محبة للحرارة المنخفضة على 12 إلى 17 م Nitrogen assimilation tests: النيتروجين تمثيل إختبارات - 3 تستخدم المركبات النيتروجينية التي تشمل النترات، الإيثيل أمين Ethylamine، ل - والكادافرين Cadaverine، بشكل روتيني في تعريف الخمائر، وذلك على نفس الأساس المتبع في اختبارات تمثيل الكربون. ومن ناحية أخرى، و Fel, and Kurtzman سنة 1998 م خطوات بسيطة لمعرفة الوضع التقسيمي للخميرة تعتمد على قدرة الميكروبات على تمثيل 43 نوع من المواد العضوية كمصدر وحيد للكربون ومقدرتها على تمثيل 9 مواد نيتروجينية كمصدر وحيد للنيتروجين. فبالنسبة لإختبار النمو على 0% خلية/مل. ويقدر تمثيل هذه المواد - 5 بدون أحماض أمينية بحيث يكون حجم اللقاح 10x2 مي الخمائر أن تنأما بالنسبة لإختبار قدرتها على تمثيل المواد النيتروجينية فيجب أولابغرض تجويعها للنيتروجين. بعد ذلك تلقح الخمائر الجائعة للنيتروجين في أنابيب إختبار 1% من بيئة YCB.29 للتعرف للتعرف Diazonium Blue B (DBB) color test الدايزونيم إختبار أزرق يجري على الخمائر الأسكية والخمائر البازيدية. خلال تكون مركبات الأميلويد Amyloid وهي عبارة عن سكريات مختلفة تتكون 0% و 1.0% سيكلوهيكساميد Cycloheximide، وحامض الخليك كما يلاحظ الشكل المورفولوجي للخلايا ولونها وتكون الخيوط. تستخدم اختبارات حاجة الخميرة إلى الفيتامينات في عملية التعري. وتجري هذه من الفيتامينات فإذا حدث نمو تلقح أنبوبة ثانية من الأولي للحكم على مدى احتفاظ هذه السلالة بخاصية عدم الحاجة إلى الفيتامينات، الفيتامينات المختلفة ويتم الحكم على حاجة الخمائر إلى الفيتامينات من خلال ملاحظة النمو بعد إضافة كل فيتامين. يوجد عدد آخر من الإختبارات الفسيولوجية التي قد تسهل عملية تعريف سلالات الخميرة. هذه الإختبارات تشمل الأتي: A يجري هذا الإختبار في بيئة خميرة تحتوي على نيتروجين حيث يضاف 5. محلول

السيكلوهيكساميد 1.0% أو 1% والذي تم تعقيمه عن طريق الترشيح إلى 5.4 مل من محلول الجلوكوز 5.0% السيكلوهيكساميد قيمة 100 جزء في المليون أو 100 جزء في المليون علي التوالي. Growth on 50% glucose: 30: جلوكوز 50% في النمو. بيئة آجار- مستخلص الخميرة المحتوية علي 50% جلوكوز. أسبوع من التحضين. Production of Acetic acid: الخليك حامض إنتاج. بيئة آجار- جلوكوز- بيتون- مستخلص الخميرة والمضاف لها 5.0% (وزن/حجم) ويلاحظ إنتاج حامض الخليك من خلال تكون منطقة رائحة حول المزرعة النامية بعد التحضين. في أنابيب (5.0 مل) وتخزن الأنابيب في أو علي درجة الحرارة 0 الفريزر. بعد التلقيح تحضن الأنابيب علي درجة حرارة 37م يدل تغير اللون إلي 0 القصوي بالنسبة للسلاطات التي لها درجة نمو قصوي أقل من 37م E. تفاعل ملح ب ديازونيوم الأزرق: reaction B blue Diazonium يذاب قبل الإستعمال مباشرة ملح ب ديازونيوم الأزرق (1.0% وزن/حجم) في 1. حامض الهيدروكلوريك المثلج. مستخلص الخميرة بالسلاطة المراد اختبارها وتحضن لمدة تتراوح بين عشرة أيام وثلاثة أسابيع. تضاف قطرات من الملح المحضر طازجا ون علي المزرعة النامية. المستعمرات السريع إلي الأحمر الداكن علي تفاعل موجب. F Lugol بإذابة اليود (33.0% (ويوديد البوتاسيوم 66. تضاف نقطة من المحلول إلي المزرعة النامية في أنبوبة يدل تكون اللون الأزرق الداكن علي وجود مركبات النشا بعد أسبوع وبعد أسبوعين من التحضين. Candida. G هي وسيلة جديدة انتقائية، سريعة، وفعالة للفرقة بين مزارع المبيضات Candida. تستخدم هذه الوسيلة لعزل بعض أنواع المبيضات Candida المهمة سريعاً وتحديدها باستخدام Candida CHROMagar، المبيضات علي أساس لون المستعمرة. تتمثل الميزة الرئيسية لـ CHROMagar Candida في قدرتها على اكتشاف المزارع المختلطة من المبيضات في العينات الجلد، الحلق، البول، البراز،