الفصل الخامس عشر

استزراع وتكثير الأوالي وتطبيقاته

- تمهيد
- أهداف عملية الاستزراع
- اسس زراعة الأوالي
- مستلزمات وخطوات الاستزراع
- زراعة نماذج من السوطيات
- السوطيات النباتية
- السوطيات الحيوانية
- زراعة نماذج من السوطيات الحيوانية حرة المعيشة
- زراعة نماذج من السوطيات المتطفلة
- زراعة نماذج من اللحميات
- زراعة اللحميات المياه العذبة
- زراعة اللحميات المياه المالحة
- زراعة اللحميات واسعة التحمل للملوحة
- مزرعة الفطريات الحيوانية
- زراعة نماذج من الهدبيات
- زراعة نماذج من الدايتومات
- تطبيقات استخدام الأوالي كمنظفات وكواشف بيئية.
- أهمية زراعة وتكثير الأحياء المائية .
- الأهمية الاقتصادية والبيئية للاستزراع.

الفصل الخامس عشر
استزراع وتكثير الأوالي وتطبيقاته

تمهيد:

تعتبر عملية زراعة وتكثير الأوالي واحدة من الإنجازات المهمة في مجال التقنيات الحيوية لعلم الأحياء نتيجة لتطور وسائل البحث العلمي وإمكانية إقامة نظم بيئية مغلقةclosed ecosystem تتمتع بظروف وإمكانيات خاصة تجعل من الكائن الحي المرغوب في تنميته تحت ظروف مثالية من درجات حرارة ومغذيات واس هيدروجيني وملوحة وضغط وغيرها من متطلبات النمو والتكاثر السريع وزيادة النسل بأعداد هائلة. لذلك فأن عملية الاستزراع تستند بالدرجة الأساس على معرفة جيدة بدراسة العوامل البيئية المطلوبة لإنجاح عملية الاستزراع والتكثير وهذا يتطلب إجراء عديد من التجارب والمتابعات الحقلية لكل كائن مستهدف بعملية التنمية في بيئته الأصلية والتعرف على مواسم انتشاره خلال فصول السنة ومصادر غذائه المفضل والغذاء البديل، معرفة من هم أعدائه الطبيعيين، متابعة نمط العلاقات التي يكونها مع مجتمعه الحيوي من تكافل أو تبادل منفعة أو علاقة من علاقات الإيذاء من تنافس والمفترس وتطفل أو تضاد حيوي، لأن هذه العلاقات إذا لم تراعى قد تدمر عملية الاستزراع رغم توفير كل الإمكانيات المطلوبة. كما أن دراسة السلوك البيئي لكل نوع من الأحياء ومتابعة دورة الحياة وعادات التكاثر ونمط التكاثر وطريقة التخصيب أو التلاقح وطبيعة الانقسام والأعداد الناتجة عنه مهمة جداً في عملية الاستزراع والتنمية.

أهداف عملية الاستزراع:

تهدف عملية استزراع الأوالي إلى تحقيق جملة من الأهداف التي يسعى إليها الباحثون في مجال بيئة الأحياء المائية والأحياء المجهرية للتربة أو علماء التصنيف الحيوي أو المهتمين بمجال تنمية وتكثير الثروة المائية بشكل عام، ويمكن تلخيص هذه الأهداف الأساسية بما يلي:

(1) الاستخدام العلمي المباشر.

حيث يسعى الباحثون والعلماء إلى تنمية هذه الأحياء داخل المعامل وبيوت تربية الأحياء في أحواض أو حاضنات وغيرها لأغراض علمية صرفة لغرض إجراء التجارب التطبيقية للبحث العلمي والتدريس أو لغرض التعرف على الخصائص المظهرية لهذه الأحياء ووصفها وتصويرها أو رسمها أو القيام بعملية تشريح والتعرف على مكوناتها الداخلية أو متابعة الخصائص الفسلجية والوراثية أو متابعة دورة الحياة ومراحل التكاثر وطبيعة الانقسام من كونه مباشر أو تكاثر جنسي وما هو نمط كلا منهما وغيرها من الملاحظات المطلوبة لتوصيف كل نوع من الأوالي بصورة منفردة لغرض وضعة في الطائفة والرتبة والعائلة والجنس الطابق لخصائصة التقسيمية التبعة في علم التقسيم الحيوي.

(2) دراسة السلوك البيئي لهذه الاحياء.

ويتم ذلك من خلال متابعة عملية اختيار الموطن البيئي والعلاقة مع درجات الإضاءة وسلوك التغذية والتخاصب والتطفل واختيار العائل وطبيعة التكيفات التي يبديها كل نوع في حالة التغيير الكبير في ظروفه البيئية نتيجة لتعريضة لعوامل ضاغطة بيئيا من سموم وملوثات أو جفاف ودرجات حرارة مرتفعة أو منخفضة.

(3) التنمية الاقتصادية للأحياء المائية.

تستزرع بعض الأوالي بهدف التكثير والتنمية الاقتصادية حيث تعتبر غذاء مفضل لأسماك الزينة وزريعة الأسماك الكبيرة التي تربى في المزارع السمكية وكذلك القشريات الصغيرة كالدافنيا والكبيرة كالجمبري وغيرها، حيث تعتبر الأوالي السوطية النباتية مثل أجناس الكلوريلا واليوغلينا والسوطيات الحيوانية من طوقية الاسواط وكذلك اللحميات وخاصة الأميبات الحرة والشمسيات والشعاعيات العائمة والقديات كالبرامسيوم والفورتسلا من المصادر الغذائية الغنية بالبروتين والمعادن الضرورية خاصة في المراحل العمرية الأولى لهذه الأسماك والقشريات.

(4) التطبيقات الطبية والصناعية.

تستخدم عديد من الأوالي بعد التنمية المكثفة كمصادر لاستخراج البروتينات والمضادات الحيوية والإنزيمات والأحماض الأمينية وغيرها من الاستخدامات، كما أن بعضها يمتلك قدرة كبيرة

على إنتاج سموم قوية جدا كما في بعض أجناس ثنائية الأسواط الدوارة. أو إنها تدخل في صناعات تطبيقية كما في عمل الطوب الحراري والعوازل الحرارية في أفران الحرق femaces كما هو الحال في خلط الأوالي من الدايتومات في مكونات هذه العوازل الحرارية للحصول على فخار مقاوم جدا لدرجات الحرارة المرتفعة.

(5) التطبيقات البيئية.

تستخدم العديد من الأوالي كمنظفات بيئية حيث تدفع هذه الأحياء التي تم تنميتها بأعداد كبيرة في محطات المعالجة الحيوية ومحطات تنقية المياه لغرض سحب السموم البيئية كالمعادن وبقايا المبيدات كما هو الحال في استخدام السوطيات النباتية المختلفة والهدبيات وخاصة البراسيوم في أحواض وبرك الأكسدة الحيوية. أو أنها تستخدم لغرض تطبيق معايير السمية ومستويات التلوث عندما تدرس على هيئة مزارع نقية من أنواع من الأوالي بصورة منفردة من خلال تعرضها لتراكيز معينة وبذلك تكون أدلة حيوية أو كواشف بيئية لتقدير الحدود المسموح بها بيئيا من هذه الملوثات والسموم.

مستلزمات وخطوات الأستزراع:

لغرض القيام بعملية استزراع ناجحة للأوالي المختلفة وخاصة حرة المعيشة والمائية منها بشكل خاص لابد من توفي العديد من المستلزمات والشروط المناسبة لكل منها والتي يقع في مقدمتها عملية انتخاب الأوالي المستزرع وتحديد الهدف من عملية الاستزراع ودراسة ظروف البيئة المحيطة. وقد أثبتت الدراسات التطبيقية بأنه يمكن إجراء عملية الاستزراع لهذه الأحياء في حاويات مختلفة الأحجام ويفضل أن لا يقل حجمها عن 40 لتر ويتطلب للإكثار أعماق لا تقل عن 50 سم ولا تزيد عن 100 سم، واهم العوامل اللازمة لنجاح عملية الاستزراع ما يلي:

- تنظيف الخزانات والأحواض جيدا قبل البدء في دورة استزراع جديدة.
- توفير مصدر إضاءة مستمر بمصباح قوة 150 فولت بمقدار 1/ 3 من سطح الخزان ذات السعة 1 م^3.
- إجراء عمليات التسميد العضوي والكيميائي بصورة متواصلة وفقا لمتطلبات التنمية.
- مراعاة عدم زيادة معدلات التغذية لكي لا تتغير الصفات الكيموفيزيائية للمياه وكذلك الإقلال من انتشار الطفيليات والأحياء المجهرية المرضية.

- مراعاة الأعداد المناسبة لأجراء عملية التلقيح في الحاويات التي تم تسميدها بما يتناسب مع معايير النمو والطاقة الاستيعابية للوسط من أجل المحافظة على معدلات نمو متوازنة.
- المحافظة على درجة الأس الهيدروجيني بين 7- 8 لأن هذا المستوى يفضل العمل المناسب لأغلب الأحياء المائية.
- أجراء عملية الفحص المجهري المستمر للتأكد من خلو الوسط من التلوث المجهري من كائنات غير مستهدفة بالتنمية.

ولغرض المحافظة على ديمومة وحيوية الوسط الزرعي وزيادة خصوبة المياه المستخدمة في الاستزراع يمكن القيام بعمليات منظمة وبالطرق الآتية:

- إضافة من 8 - 20 جرام خميرة جافة وكميات من الطحالب المراد استخدامها في التلقيح على أن يتم تلقيح الوسط بعد 24 ساعة من ملء الأحواض بالماء النظيف.
- إضافة حوالي 1500 جرام سماد بلدي جاف من مخلفات (مواشي) أو 500 جرام من سماد زرق الدواجن الجاف.
- يتم تلقيح الوسط بين فترة وأخرى بإضافة كميات من الطحالب حسب شفافية الماء لتساعد في تنظيم الأس الهدروجيني والعلاقة بين O_2 و CO_2.
- في حالة النمو المفرط للطحالب أو زيادة التحلل العضوي وخاصة في الاستزراع خارج المعمل يجب القيام بعمليات حصاد وإضافة مياه جديدة وتخفيف نسب التسميد العضوي بشكل خاص.

زراعة نماذج من الأوالي السوطية:

(أ) السوطيات النباتية Phytomastigophora

استطاع العلماء استزراع العديد من الأوالي السوطية من طائفة Phytomastigophora ومن بينها الأجناس *Chlorella* و *Tetraselmis* من رتبة السوطيات الخضراء *Chloromonida* والأجناس *Isochrysis*، *Nannochloropsis*، *Chaetoceros* من رتبة السوطيات الذهبية *Chrysomonadida* وغيرها، وقد وجد الباحثون أن عملية التنمية والاستزراع تمر بخمسة مراحل وتستغرق كل مرحلة من ستة إلى عشرة أيام طبقا لظروف التربية ونظام الإنتاج الحيوي لهذه المزارع (AL- salman,1989 ، الجمل و صادق 1996) وهذه المراحل هي:

1- **مرحلة التخلف أو البداية:** وهي المرحلة التي يتم فيها نقل الطحالب إلى الوسط السائل لأقلمتها وزيادة انتشارها .

2- **مرحلة النمو والتضاعف الأسي:** وهي مرحلة الزيادة المضاعفة للسوطيات خاصة عند توفر ظروف التربية الملائمة والمناسبة من حرارة وكمية الأملاح المغذية وكثافة الإضاءة.

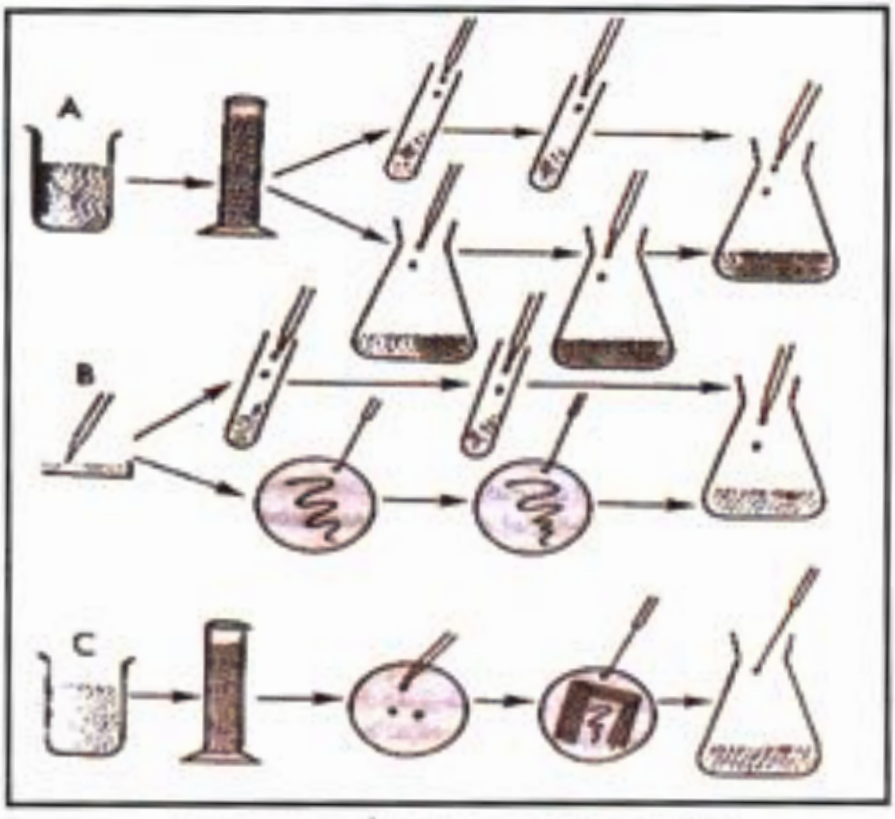
3- **مرحلة انخفاض معدل النمو:** وينم خلالها نقل الأوالي من المعمل إلى الاستزراعي الخارجية، حيث تنخفض معدلات النمو.

4- **مرحلة السكون:** وتتميز بثبات نمو السوطيات لفترة محددة وتتصف بقصر مدتها.

5- **مرحلة الموت:** وتظهر عند زيادة كميات هذه السوطيات، وتغير المواصفات الكيميائية للماء مثل انخفاض تركيز الأوكسجين أو تغير في الأس الهيدروجيني، وتدهور صفات المياه المستخدمة كوسط للتنمية من أهم العوامل التي يجب مراعاتها قبل الدخول في هذه المرحلة من خلال التغير المستمر للماء وكذلك مراقبة التغيرات في عوامل DO و pH.

ويتم إنتاج هذه الأوالي أما في المعمل أو خارج المعمل حسب الكمية المطلوبة والهدف من عملية الاستزراع، أما الأدوات اللازمة للعمل وتنمية السوطيات النباتية فهي مشابهة لما هو مطلوب في تنمية معظم الطحالب المجهرية، وهي عبارة عن حجر للتعقيم وحجر مكيفة وحجر للغسيل والتخزين وحاضنات مزودة بإضاءة كافية وأنابيب اختبار وأطباق بتري وميكروسكوب لفحص العينات وموازين حساسة وأخيراً حاضنا لغرض التثبيت الحراري والتنمية المستديمة وكما في الشكل (1-15) التالي.

وتهدف عملية توفير هذه المستلزمات إلى تنظيم مراحل الاستزراع والحصول على مزارع نقية pure cultures لكل نوع من الأوالي السوطية المستهدفة بعملية الاستزراع والتنمية وكذلك ضمان عملية الدقة في نظافة هذه المزارع لغرض نقلها فيما بعد إلى أوساط محدودة وصغيرة داخل المعمل أو لغرض القيام بتنمية موسعة باستخدام (أحواض التنمية) خارج المعمل واستخدامها كقاعدة أساسية في الإنتاج الصناعي والطبي أو كقواعد غذائية أساسية لتغذية يرقات الأسماك وغيرها من أهداف الاستزراع.



شكل (15-1) خطوات عزل وزراعة الأوانى السوطية النباتية
عن (برانية وآخرون 1996).

وفي حالة الرغبة في تنمية هذه الأوانى في أجواء المختبرات والمعامل البحثية لأغراض التطبيق العلمي المباشر في مجال الدراسات التصنيفية أو البيئية أو الطبية وغيرها من التطبيقات العلمية المباشرة التي أشرنا إليها سابقاً، يمكن عندها تنمية الزارع النقية المتحصل عليها من تطبيق عملية التنقية والحضانة البينة في الشكل السابق (15-1) على أوساط اصطناعية محضرة من إذابة مجموعة من المغذيات المهمة للنمو في دوارق زجاجية أو أحواض زجاجية بأحجام صغيرة مسيطر عليها من حيث التهوية والإضاءة والتخصيب لكي يمكن ضمان عدم تلوثها من قبل أحياء أخرى، وتستخدم لغرض إدامة هذه الأوانى أوساط مختلفة مثل وسطك Suzbenski ووسط Guillard & Ryther ووسط EDTA-Trace elements للأوانى السوطية البحرية ووسط Goldy لأوانى المياه المويلحة وغيرها، والجدول التالي يبين مكونات أحد هذه الأوساط المستخدمة.

جدول (15-1) مكونات وسط Suzbenski مذابة في واحد لتر من ماء المقطر (السلمان 1995).

المادة	النسبة المئوية	الوزن المطلوب
KNO_3	5%	0.025 g\L
$MgSO_4$	5%	0.025 g\L
$Ca(NO_3)_2$	20%	0.1 g\L
KH_2PO_4	5%	0.025 g\L
$K2CO_3$	1%	0.045 g\L

أما عملية الزراعة والتنمية الموسعة خارج المعمل لغرض استخدامها كمصادر غذائية لتنمية زريعة الأسماك أو لغرض الإدخال في عمليات التنقية وإنتاج العلائق الغذائية وغيرها من التطبيقات فيتم ذلك من خلال تنميتها في حاويات خرسانية تصل أحجامها من 25 إلى 60 طن (توفيق بورزق وتشارلز جيمس 1990). ومما يجب الإشارة إليه أن هذه الأوساط تحتاج إلى متابعة مستمرة وتوفير الأملاح المغذية والتزود بالعوامل المساعدة مثل الأسمدة العضوية والخميرة وغيرها من مستلزمات التنمية.

(1) مزرعة اليوجلينا والكلاميدوموناس.

يمكن جمع اليوغلينا أو الكلاميدوموناس من برك المياه الخضراء الراكدة التي توجد عادة في الحقول والمساحات الزراعية وغيرها من الأماكن الأخرى التي تحتوي التربة فيها على كميات لا بأس بها من السماد العضوي أو القش والمخلفات النباتية الأخرى. ويمكن تحضير وسط مناسب لزراعة اليوغلينا بأن يضاف إلى وسط حجمه 100 سم^3 من الماء المقطر أو ماء الصنبور النظيف احد الإضافات التالية:

- ثلاث أو أربعة حبات من الأرز أو القمح.
- 5-6 عيدان من القش بطول 2.5 سم تقريبا لكل منها.
- 1 سم^3 من حليب معقم خالي من دسم الزبدة.
- كمية صغيرة جدا من روث البقر أو الخيل.

وفي جميع الحالات يغلى المزيج لنحو 10 دقائق ثم يترك ليهدئ ويستقر لمدة يومين أو ثلاثة أيام

في دوارق أو قوارير ويتم سدادها بقطع من القطن النظيف لمنع التلوث المباشر وكذلك ضمان التهوية النقية.

يفضل وضع الأواني المذكورة في رفوف خشبية على شكل حاضنات في المعمل في ظروف ذات إضاءة مستمرة ودرجة حرارة مناسبة مسيطر عليها بصورة جيدة، بعد ذلك يحقن كل دورق أو قارورة بعينات اليوغلينا أو الكلاميدوموناس المأخوذة من مزرعة نقية كما بينا سابقا، أما في حالة عدم توفر الحاضنات فيفضل أن توضع العينات في نافذة بها أضاءه كافية.

ومن التجارب الطيبة تبين بأنه يمكن الحصول على مزرعة كثيفة مخضرة اللون غنية بإعداد اليوغلينا خلال مدة أسبوعين إلى ثمانية أسابيع، وعندما يأخذ اللون الأخضر بالاختفاء التدريجي أو يصبح اللون اخضر مصفر فهو دليل على أن المزرعة أصبحت متقدمة بالعمر وبدأت المغذيات بالنفاذ التدريجي كذلك، لذا يتطلب إجراء عملية التجديد من خلال إعادة الخطوات التي تم ذكرها سابقاً.

شكل (15-2) عينات من مزرعة اليوجلينا.

(2) مزرعة الكوريلا Chlorella:

يمكن جمع السوطي الأولي من الكلوريلا من أي موقع مائي نظيف حيث ينتشر هذا الأولي في معظم المياه العذبة ويمتاز بجسم صغير ثنائي الأسواط وهو يعود إلى رتبة السوطيات الخضراء، ولغرض الحصول على مزرعة نقية منه يتم اخذ قطرة من الماء وفحصها تحت المجهر وباستخدام

تبدأ عزل البكتريا المعقم يتم اخذ خلايا من هذا الأوالي وزرعها داخل أنبوبة مخبرية تحتوي على وسط من الأجار ويكرر العمل عدة مرات للحصول على عدد جيد منه. بعدذلك تنبل الأنبوبة بعد غلقها بقطن نظيف وتوضع في حاضنة أو في ثلاجة اعتيادية لكي إلى نلاحظ تكون طبقة خضراء من السوطي على سطح الأجار.

ترفع الأنبوبة من الحاضنة ونحضر وسط اصطناعي كوسط Suzbenski أو أية وسط آخر مناسب في حاوية زجاجية أو دورق نظيفين ثم نقوم بعملية نقل بواسطة الكلورلا من وسط الأجار بواسطة نفس الأله التي استخدمت بالعزل أو فرشاة صغيرة ونظيفة وتفرد محتوياتها داخل الوسط المائي. تترك العينة بين خمسة أيام إلى أسبوع ونقوم بإجراء الفحص الدوري وحساب الكثافة العددية لحين الوصول إلى أعلى معدل نمو ثم يتم حصاد المحصول ونقله إلى المكان المرغوب استزراعه فيه والهدف المطلوب من التكثير والاستزراع.

شكل (15-3) نموذج من مزرعة الكلوريلا.

(ب) زراعة السوطيات الحيوانية:

(1) زراعة السوطيات الحيوانية حرة المعيشة:

تنتمي السوطيات حرة المعيشة في البيئة المائية في الغالب أو كأوالي تربة في قسم قليل منها إلى عدة رتب من طائفة السوطيات الحيوانية Zoomastigophora ومن أهم هذه الأجناس *Codosiga* و *Monosiga* و *potoeriodendron* أو على هيئة مستعمرة يرتبط أفرادها بغلاف شفاف لزج القوام كما في أفراد جنس *Proterospongra* و *Codonosiga* و *Symura splendid* من رتبة طوقية الأسواط Choanoflagelida (Hegner, et al 1968). ومن رتبة الجيليات الحركية *Kinetoplastida* الأجناس *Oikomonas termo* و *caudatus* و *Cercomonas longicauda* و *Monas vulgaris* (Henger & Engemann, 1968). ومن رتبة ملتويات الأسواط *Retortamonadida* أوالي ذات معيشة حرة في المياه الملوثة عضويا كما في حالة أجناس *Phanerobia* و *Helkesimastix* و جنس *Chilomastix* (Sleigh, 1989 و Brugerolle, 1973) *faecicola*. ومن رتبة جذرية الأسواط *Rhizomastigida* الأجناس *Actinomonas* و *Pteridomonas* و *Dimorpha* و *Pteridomonas* وغيرها.

ويمكن تكثير وتنمية أغلب هذه السوطيات لأغراض التطبيقية المختلفة التي أشرنا إليها وسوف نعطي بعض الأمثلة عن استزراع هذه الأوالي منها:

(أ) زراعة الأوالي السوطية الطوقية Choniflagellates:

ينتمي إلى هذه الرتبة مجموعة كبيرة من الأوالي حرة المعيشة كما بينا أعلاه وتتوزع بين الماء البحري والعذب والمياه المويلحة brackish water ومن بين الأجناس التي قام الباحثون Goldy & Co-authors, 1970 الذين لكنا من عزل جنسين مهمين من المياه المويلحة هما جنس *Acanthoecopsis* و *Diaphanoeca grandis* حيث تم تنمية هذه الأوالي على وسط بكتيري يدعى وسط DVLA مع قليل من المواد العضوية ومزود بعدد من المركبات الملحية والفيتامينات وغيرها من المغذيات الضرورية كما يظهر في الجدول (15- 2).

- ولغرض ضمان ذوبان السليكات الموجودة في المركب $Na_2SiO_3.H_2O$ بحمض محلول من الماء المقطر بعدة قطرات من حمض الهيدروكلوريك المركز HCl ويحرك جيدا ويضاف

تدريجياً للمحلول الأصلي للوسط.

- أما مخلوط المعادن *Metals mix بحجم 1 ملل فإنه يتكون من الصوديوم Na_2 ومادة EDTA بمقدار 10 ملجم و كلوريد الحديديك $FeCl_3$ المائي بتركيز 0.6 ملجم و H_3BO_3 بتركيز 10 ملجم و كلوريد المنجنيز $MnCl_2$ المائي بتركيز 1.5 ملجم و كلوريد الزنك $ZnCl_2$ بتركيز 0.1 ملجم وكلوريد الكوبلت $CoCl_2$ المائي بتركيز 0.05 ملجم.

ولغرض المحافظة على نشاط الوسط وكفاءته يفضل أن يزود بشكل متواصل ببكتريا مغذية، كما يمكن تقوية الوسط بإضافة بعض المضادات الحيوية، ويمكن إدامة الوسط إلى حوالي شهر ونصف من بداية التجربة. كذلك أمكن إدخال بعض التطويرات على هذا الوسط بإضافة خليط من الفيتامينات – 8 و dextrose و peptone ليعطي وسط أكثر غنىً بالمغذيات الداعمة للنمو وتكاثر هذه الأوالي.

جدول (15-2) مكونات وسط DVLA لاستزراع أجناس *Diophanoeca* و *Acanthoecopsis*
(Goldy & Co-authors, 1970).

المادة والرمز	الكمية المطلوبة	المادة والرمز	الكمية المطلوبة
$NaCl_2$	18 جرام	B-12	1 مكروجرام
$MgSO_4.7H_2O$	5 جرام	Biotin	1 مكروجرام
KCL	0.6 جرام	Thiamine	1 مكروجرام
Ca(as CL)	0.1 جرام	Liver concent. 1:20	40 ملجم
$NaNO_3$	0.5 جرام	Na acetate	0.2 جرام
$K2HPO_4$	30 جرام	Tris	1 جرام
$Na_2SiO_3.9H_2O$	0.2 جرام*	Dist. water	1 لتر
Metals mix*	1 ملل *	PH	7.8 – 7.5

(ب) زراعة أوالي سوطية بحرية:

من الأوالي المستهدفة في هذا الاستزراع جنس Noctiluca miliaris ذات المعيشة البحرية وهو أولي سوطي ذات تغذية حيوانية كاملة بالترمم و التناضح Osmotrophic-phagotrophic وأول من درس هذا الأولي هو الباحث Gross,1934 حيث عزله من خلال الترشيح الدقيق لمياه بحرية من نوع pasteurized باستخدام ورق ترشيح مختلف الفتحات ولكن من تنميته من يوم إلى أسبوع، أما الباحثان McGinn & Gold فقد نجحا في الأعوام 1969 و 1970 على التوالي من تنميته داخل اسطوانات مدرجة محلومة بماء البحر حيث تجمعت السوطيات في أعلى الأسطوانة وباستخدام ماصة أوتوماتيكية أمكن نقلها إلى وسط معقم من ماء البحر، ووجد أن هذه الأوالي تنمو بشكل سريع عند درجة حرارة 20 م° في وسط مزود ببكتريا طبيعية من بيئة الأوالي البحرية حيث يمكن تكثيرها عندما يعامل الوسط الزراعي بمجموعة مختلطة من المضادات الحيوية مثل البنسلين والستربتومايسين وتوفايبوسين.

كما أشار الباحثان McGinn & Gold بأن هذه الأوالي يمكن تنميتها على وسط معقم وساخن heat- strenlized medium يتكون من محلول مائي يحتوي على خليط من الفيتامينات سكر الكلوكوز كمصدر للكاربون و RNA، DNA ومستخلص تربة soil extract حيث أعطى هذا الوسط نتائج جيدة وتم ملاحظة انقسام الخلايا وأعطت إنتاجاً متباينا فعلى سبيل المثال كان المحصول النهائي للخلايا final cell densities بعد عشرة أيام في حالة monoxenic و 38 خلية/ مول Axenic و16 خلية مول -1. وقد لاحظ الباحثون بأن هذه السوطيات تستطيع التكاثر بالانشطار المباشر وبالتبرعم وفقا لعمر المزرعة.

(2) زراعة نماذج من السوطيات المتطفلة:

تشمل السوطيات الحيوانية المتطفلة جميع الاجناس التي ذكرت في الفصل الخامس في دراسة رتب السوطيات الحيوانية إذا استثنينا الاجناس الحرة المعيشة التي ذكرت في الفقرة (1) اعلاه والاجناس المتعايشة التي تعود لبعض رتب هذه الطائفة. وتعتبر زراعة نماذج من هذه المجموعة من الأوالي على يد الباحثين (Tobie,Brand,Mehlman-1954 ,Lwoff-1951) بوابة النجاح في تكثير وتنمية السوطيات الطفيلية مثل أجناس اللشمانيا *Leishmania* والتريبانوسوما *Trypanosoma* خارج جسم المضيف والعائل، حيث أثبتت تجارب الباحث Lwoff إمكانية تنمية مزارع من كلا

السوطيين المذكورين من رتبة ذوات البانية الحركية Kinetopustida لفترة طويلة من الزمن على أوساط صناعية ولكن شرط وجود الدم ضمن الوسط الزرعي و حيث قام هذا الباحث بتنميتها على وسط يتكون من Heematin وهيمكلوبين زائدا فيتامين C وكذلك وجد أن إضافة فيتامين B إلى الفصل ضرورية التنمية.

أما الباحثين Citri & Grossowicz فقد قاموا بتنمية التريبانوسوما أو Schizo trypanium cruzi على وسط يتكون من casein hydrolysate وbovin albumin وHaematin وأملاح salts و عصير طماطم مفلتر Filtered tomota juice (Kinne, 1977).

كذلك وجد الباحثون Tobie et al بان التريبانسوما المرضة للإنسان مثل الأجناس *T.rhodesiese* و *Trypanosoma gambiense* يتطلب وسط متكامل ولكن لا يشترط أن يكون دم الإنسان من ضمن مكوناته، حيث تمكنوا من تنميتها على وسط صلب من bacto-beet أو bacto-peptone ، bacto-agur مخلوط مع دم الأرانب rabbit blood حيث وضعت هذه المكونات في محلول لولكس Loclces solution الملحي.

- **زراعة وتنمية أفراد رتبة Trichomonida**

حيث يعتبر الباحثون Johnson & Trussel من أوائل الذين قاموا بمحاولات تنمية أفراد طفيلية من رتبة شعرية الأسواط في الخمسينات من القرن الماضي بتنمية جنس *Trichomonas vaginal* الذي يتطفل على الإنسان وخاصة في الأجهزة التناسلية للإناث وينتقل لإصابة الذكور. حيث قام الباحثون بتنمية هذه الأوالي على أوساط صلبة من مواد مختلفة هي bacto-agur peptone ، bacto- أو bacto–liver in fusion و humcin serum وcysteine و maltose ومحلول رنجر الملحي Ringers solution .

أما الباحث Diamand فقد زرع وكثر أنواع مختلفة من هذه الأوالي أخذت من الإنسان ومن حيوانات مختلفة أخذت من (pancreatic digest of casein) وتم تنميتها على أوساط مختلفة من Trypticase والخميرة yeast extract والمالتون maltos والسستين cystein و فيتامين e، وأضاف لها مصل دم الأغنام sleep serum ووضعها في ظروف لاهوائية Anuerabic condition أو في وسط قليل الأوكسجين فحصل على نموات جيدة من هذه الأوالي.

كما وضع الباحثون Lilly,1967، O. Kinne ,1977 عديد من الطرق المهمة في تنمية وتطوير استزراع مختلف الأوالي كما يظهر في الجدول (15-3) التالي:

جدول (15-3) بعض طرق زراعة نماذج مختلفة من السوطيات (Lilly,1967، O. Kinne ,1977).

Species	Remarks	Food	Medium	Author
Tintinnopsis beroidea	12.5° C; requires special conditions during conjugation	Bacteria-free unicellular algae	See T.tubulosa	Gold (1971a,b,c)
T.tubulosa	10° to 12° C ; sea Water .	Yeast ; mixture of Rhodomonas lens Isochrysis galbana, Platymonas tetrahele, ete .	Modification of DC medium (Provasoli and co-authors, 1957); see Table 5-15	Gold (1968,1969b)
Uronema marinum	Mainly sustained under axenic conditions (see also Ch aptwr 5- 11).	Pseudomonas SP .for details consult PP. 613,614.	Pp. 614,1309	Lee et.al, (1971) Hanna and Lilly (1970, 1971,1972, 1974)
U.nigjricans	Maximum population growth : 22° to 27° C; SEA Water of 1.010 density.	Tables 5-11 , 5-12 , 5-13 , 5-14	C-,M-,and S-medium for details-see p.607	Soldo and Merlin (1971,1972)
Uronema. sp	Subdued light : ;optimum temperature 25°c; artificial sea water; optimum salinity: between 17 and 43‰ S	Bacteria , e .g. S erratia marisorubra	Algal medium (Guillard and Ryther,1962); artificial see water	Hamilton and Preslan (1969)

زراعة نماذج من اللحميات:

(أ) زراعة لحميات المياه العذبة

1- اجمع كتلة صغيرة من طحالب بركة المياه العذبة من جنس *Cerato-phylum* أو جنس *Sphagnum* أو غيرها وضعها في طبق زجاجي مسطح وبعد أيام قليلة تتحلل وتتفسخ الطحالب ويظهر على سطح الماء طبقة بنية اللون ، إن هذه الطبقة تحتوي على الأميبا التي يمكن فحصها حية تحت المجهر .

2- يمكن الحصول على هذا الحيوان الأولي بسهولة ويسر من سطح الوحل أو الأوراق المتعفنة بقيعان البرك الجداول المائية أو من بين كتل الطحالب سالفة الذكر، كما يمكن أيضاً الحصول على الأميبا من أنواع التربة الرطبة كافة تقريباً.

3- لإكثار ولمضاعفة أعداد الاميبا جهز أعدادا من الأطباق الصحلة بحيث يحتوي كل منها على 100 سم^3 مئة ماء الصنبور (لا ينبغي أن يزيد عن عمق 2.5 سم) أضف لكل طبق ثلاث أو أربع حبات نيئة من الأرز أو القمح ، أضف لكل طبق كمية صغيرة من وحل أو طحالب البركة على إن يحتوي هذه الكميات على بعض سنتيمترات مكعبة من ماء البركة ثم غطي الأطباق بألواح زجاجية ورجها بحذر قليلا ثم ضعها بعيدا عن ضوء الشمس في مكان تكون درجة حرارته بين 15 و 25 م° وبعد مضي أسبوع أو أسبوعين ينبغي أن يكون لديك مزارع بها وفرة من الأميبا .

وإذا رغبت في الحفاظ على مزرعة نقية فعليك تعزل الأميبا وفحصها ووضعها في وسط نقاعي يمكنه تحضيره على النحو التالي:

أضف كل 100 سم من الماء المقطر ثلاث أو أربع حبات من الأرز أو القمح أو 5-6 عيدان من القش (التبن) طول كل منها نحو 5.2 سم ضعها على نار هادئة حتى تغلي لمدة 10 دقائق ، ثم اتركها جانباً لتهدأ وتترسب وتبقى دون حراك لبضعة أيام قبل استعمالها كوسط نقاعي.

عند وضع الأميبات في هذا الوسط النقاعي فأنها تتغذى على كائنات أصغر منها يحدث أن تدخل معها إلى المزرعة ومن هذه الكائنات مثلا الحيوان السوطي *Chilomonas* أما الكائنات الأكبر حجما من الأميبا مثل الدولابيات والقشريات التي قد يصادف أيضا إدخالها إلى الوسط النقاعي مع الأميبا فيجب التقاطها وإبعادها ولاستمرار الحفاظ على المزرعة نقية فانه من الضروري تحديث المزرعة عن طريق إعادة تنقيتها في مزارع فرعية بنفس الكيفية التي تقدم وضعها وذلك مدة واحدة في كل شهرين تقريبا.

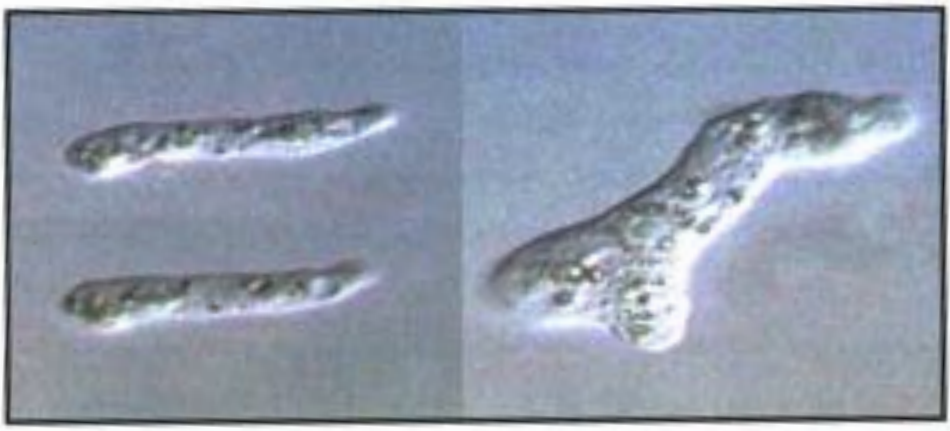
- **زراعة افراد جنس Negleria gruberi:**

هذا الجنس من الحميات المغلفة تعيش في المياه العذبة درست من قبل لباحث Chang 1958 حيث يمكن عزلها من الوسط المائي العذب ووضعها على وسط من الأجار يدعى Czapek agar

وهذا الوسط يحتوي 100 وحدة من البنسلين و 200 ميكروجرام في مل من الستربتومايسين وبعد عدة نقلات لهذه الأوالي على نفس الوسط يدعم الوسط بواسطة بكتريا عصوية سالبة ليصبح أكثر وضوحا حيث وجد من التجارب أن Negleria تنمو بشكل جيد عند تنميتها على بكتريا مختلفة وخاصة عندما تزود المزارع النقية لها بمغذيات سائدة من بكتريا حيه على وسط متعادل من الترتسوز آجار والسلمونلا تايفوزه.

(ب) زراعة لحميات المياه المالحة:

بدأت زراعة أميبات المياه المالحة منذ زمن طويل عندما اقترح كل من Frosch 1897 و Tsujitany 1898 بدايات طرق لتحضير المزارع النقية من هذه الأميبات وبعد ذلك تطورت هذه الدراسات على يد كل من Arndt 1922 و Kirby 1950 و Schmoler 1965 حيث اقترحوا العديد من التقنيات التي يمكن بواسطتها الحصول على أعداد كبيرة من هذه الكائنات صغيرة الحجم وعزل أفرادها من مصادرها الطبيعية raw culture ونقلها إلى المزرعة الاصطناعية culture media حيث يمكن استخدام كائنات أولية صغيرة مثل البكتريا الطحالب وأجزاء من كائنات عديدة الخلايا وجزيئات النبات العضوي detritus كمصادر أساسية لتجهيز المزارع المذكورة بالمصادر الغذائية السائدة للنمو (Kinne, 1977).



شكل (15-4) عينات من مزرعة الأميبا الحرة.

ويشير الباحث (Rao 1971) إلى أن الأميبات الصغيرة بحجم 20- 30 ميكرون يمكن تغذيتها على البكتريا ثم تكثيرها وزراعتها على وسط زراعي من الآجار (agar media). كذلك وجد أن الأميبات الحرة المعيشة الصغيرة تتراكم على عيدان القش أو التبن بمقدار 20- 30 غم في 11 مل من الماء وتكثر على صفيحة من الآجار تحتوي على بكتريا مجففة heat killed كغذاء، وأشار كل من الباحثين Schmoller & Schwarz 1964 بأنه قبل عملية الزراعة يفضل أن نظيف عيدان القش إذا كانت الأميا قليلة أو نادرة، وتكثر من خلال عملية putrefaction بالتعاقب إذا كانت بحالة تكيس أو على شكل أكياس مقاومة لظروف الوسط، أما في حالة وجودها حرة في الماء فيضاف 1-2 سم^3 من مادة peptone broth إلى كل 100سم^3 من نموذج الماء لغرض تحفيز نمو وحركة الأميا في الماء الحر.

ولغرض الحصول على عينات من هذه الأوالي يوضع على صفائح الآجار ماء البحر الحاوي على أميا بعد أن يضاف في وسط الصفيحة مخلوط منه يتكون من 2٪ الآجار مع ماء البحر، وبعد ذلك بالتتابع يتم عزل أفراد الأميا المطلوبة للدراسة وتمرر تدريجيا إلى مزرعة نقية ثابتة تحتوي على مجموعة من المكونات الكيمياوية ومغذيات أخرى حسب الجنس المطلوب للتكثير، كما سيتم التعرض إليه في الأمثلة التالية:

(ج) زراعة لحميات واسعة التحمل للملوحة جنس *Acanthamoeba griffin*:

يعتبر هذا الجنس من الأميبات الواسعة التحمل للملوحة لذلك يعيش في المياه البحرية عالية الملوحة ويمكن تكثيره على أوساط صناعية من الآجار كما أشار الباحث Sawyer, 1971 حيث وضع هذا الباحث 6.5 مل من الآجار في صحن بلاستيكي حجم 66 مل وبعد ذلك وضع صفيحة حديثة التحضير تحتوي على طبقة رقيقة من بكتريا Aerobacter earogenes وزرع فيها الأميبا الاعتيادية أو المتكيسة على جزيئات صغيرة من الآجار من نفس المزرعة.

الوسط الزراعي يحتوي على 1.5٪ من الآجار و 0.01٪ من المالتوز وخميرة 0.01٪ وتحضر هذه المواد في ماء مقطر أو ماء البحر وتحفظ في درجة حرارة بين 22- 25 مئوية. ومن الأمثلة التطبيقية الأخرى لأميبات المياه المالحة من أفراد جنس *Hexeramoeba clara* ما وصفه الباحث Droop ,1966 من وسط اصطناعي لتكثيرها وكما يلي:

جدول (15 - 4) المواد والتراكيز المطلوبة لتحضير وسط لزراعة وتكثير الاميبات.

المركب أو المادة	الرمز	الكمية المطلوبة
مواد تربة	Soil extract	25 ملجرام
نترات البوتاسيوم	KNO_3	100 ملجرام
فوسفات البوتاسيوم	K_2HPO_4	10 ملجرام
ثيامين	Thiamine	50 ميكروجرام
فيتامين ب12	Vitamin B_{12}	100 ملميكروجرام
جلايسين	Glycine	50 ملجرام
ارجنين	Arginine	50 ملجرام
خلات الصوديوم	H_3COO Na	500 مكروجرام
ماء بحر طبيعي	Natural sea	250 مل
ماء مقطر	Distilled water	750 مل

كما وجد الباحثان Allen & Unwin بعد تطبيق طريقة Droop بأن العديد من الطحالب لها القدرة على تدعيم النمو السكاني للأميا المذكور بشكل جيد من خلال عدد كبير من الاختبارات التي أجروها على إضافة طحالب من رتب Volvocales، Bacillariophyceae، Rodophyceae و Crysophyceae.

(د) استزراع الفطريات الحيوانية:

كما بينا سابقا أن هذه المجموعة تنتشر في أراضي الغابات وخاصة الغنية بالمواد العضوية فلذلك يمكن الكشف عنها ودراستها وتكثيرها باستخدام عدة طرق حيث تشير الدراسات إلى أن الغرام الواحد يمكن أن يعطي 200 -2000 كيم من مختلف الفطريات ، ومن ابرز الطرق المستخدمة في تكثير الفطريات هي طريقة Wercurp, 1950 وفي هذه الطريقة يؤخذ نموذج من التربة بشكل عشوائي بوزن 5 - 15 ملغم ويوضع في طبق بتري معقم ويضاف إليه وسط غذائي مناسب ويترك لفترة ويلاحظ نمو هذه الفطريات وتحسب بطرق مختلفة .

كذلك توجد طريقة أخرى هي طريقة الأنابيب الزجاجية المثقبة حيث يؤخذ أنبوب زجاجي يحتوي على وسط غذائي مناسب لنمو الفطريات ثم نعمل أخدود في التربة ونضع فيه الأنبوب الزجاجي المثقب أو المفتوح من إحدى النهايتين (أنبوبة اختبار) يترك النموذج لمدة أسبوع حيث تنمو الفطريات الموجودة في جزيئات التربة المتغلغلة داخل الأنبوبة على مكونات الوسط الغذائي، بعد ذلك ترفع الأنبوبة وتحسب الفطريات باستخدام طريقة الأطباق plate count التي ذكرها الباحث (Alexander, 1977).

زراعة نماذج من الهدبيات:

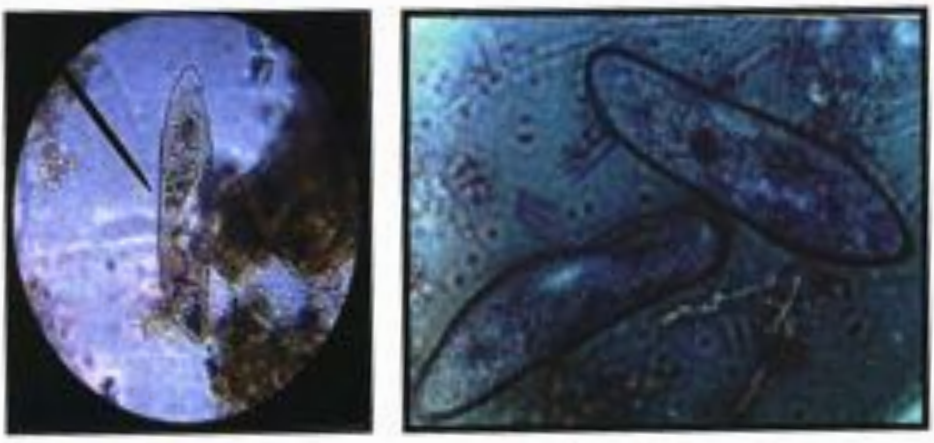
مزرعة البرامسيوم:

1- يوجد هذا الحيوان الهدبي-وأقرانه من الهدبيات بوفرة في البرك والمستنقعات المائية الراكدة التي تحتوي على الكثير من المدى النباتية المتحللة.

2- يمكن تحضير محلول مناسب لزراعة هذه الهدبيات عند طريقة غلي ثلاث أو أربع حبات من الأرز والقمح أو 5-6 عيدان من القش بطول 5.2 سم تقريباً في 100 سم من ماء الصنبور لمدة 10 دقائق ، اترك المحلول يبرد في أطباق ضحلة غطها بألواح زجاجية ودعها تستقر لمدة 3 أو 4 أيام حتى تتكون بها مزارع غنية بالبكتريه ، عندها أضف عينات البرامسيوم الحية إلى تلك المحاليل بالأطباق وبعد مضي أسبوع أو أسبوعين يكتمل تطور مزرعة البرامسيوم بكل طبقة.

ودراستنا الحالية هي محاولة إخضاع الأوليات الهدبية Cilia ممثلة في بجنس البرامسيوم (الذي وجد بكميات كبيرة في المسطحات المائية) إلى تجارب زراعة الأحياء المائية وذلك باستخدام 7 أوساط زراعية اصطناعية ممثلة (وسط الدواجن ، وسط الأغنام، وسط الأبقار، وسط الخميرة وسط أوراق الذرة، وسط قش الشعير وسط ليف النخيل).

ومعروفة فعالية هذه الأوساط في تكثير وتنمية الحيوان الأولي البرامسيوم الذي يستخدم كمنظف بيئي لقدرة عالية على افتراس الأحياء المجهرية وخاصة البكتريا، إضافة هذا الحيوان يشكل سلسلة غذائية في مختلف البيئات المائية.



شكل (15-5) عينات من مزرعة البراميسيوم.

تطبيقات استخدام الأوالي كمنظفات وكواشف بيئية:

الاهمية الاقتصادية لزراعة البراميسيوم:

استخدم الحيوان الهدبي الأولي البراميسيوم في عملية التنقية الذاتية للمياه وتخليصها من التلوث الميكروبي وذلك من خلال متابعة قدرة افتراس هذا الحيوان لبعض أنواع البكتريا المتواجدة في المياه الملوثة بالمواد العضوية ومياه الصرف الصحي ومن هذه البكتريا *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

وقد طبقت العديد من هذه الدراسات في ظروف معملية واستخدمت فيها مزارع البكتريا وأما البراميسيوم فتم الحصول عليه من مياه الصرف الصحي أو من مياه البحيرات وكانت النتائج ايجابية ومشجعة لاستخدام البراميسيوم كمواد منظفة لمياه البحيرات التي تعتبر وسط لنمو كثير من الأحياء المائية كالأسماك القاعية والمفترسات للحشرات والعديد من الطيور المائية وغيرها من الأحياء الاقتصادية ، لذلك استخدم هذه الدراسة المعملية وإجراء الاختبارات المطلوبة وقسم العمل فيها إلى قسمين :

العمل الحقلي:

ويتم فيه جمع عينات البراميسيوم من مياه البحيرات أو مياه الصرف الصحي في قناني زجاجية يسجل عليها رقم أو ... ة ويسجل أيضا عليها المعلومات المطلوبة لإجراء التجربة ومنها تاريخ

جمع العينة وموقع جمع العينة وغيرها من المعلومات المطلوبة .

العمل المختبري:

ويستخدم فيه الكثير من الأدوات الزجاجية مثلاً الدوارق والقناني وأطباق بتري والأنابيب والماصات والشرائح الزجاجية وغيرها ويراعا فيها النظافة والتعقيم حرصا على نجاح التجربة والحصول على نتائج صحيحة ، ويستخدم أيضا الأجهزه المختبرية ويراعا فيها الطريقة الصحيحة في الاستخدام والمحافظة عليها ومن أهمها المجهر الالكتروني ويكون العمل على عدة مراحل هي

1- تجهيز القناني مختلفة الأحجام والأشكال و التي سوف يتم بها تحضير العينات للتجربة مع مراعات التعقيم وذلك باستخدام أجهزة الأوتوكلاف Autoclave.

2- تحضير الأوساط لزراعة للبكتريا المستخدمة، وقد تكون صلبة وتسمى Agar media وتصب في أطباق بتري أو تكون سائلة خالية من مادة Agar وتصب في دوارق زجاجية معقمة .

3- تحضير المزارع البكتيرية حيث تزرع البكتريا في ماء خالي من البرامسيوم داخل قناني وأخرى تحتوي على الماء والبرامسيوم في قناني أخرى.

4- عملية الزرع وتتم في جهاز التعقيم داخل أطباق بتري المعقمة سلفا وتوضع الأطباق بعد الزرع في الحاضنة لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م°.

5- حساب وعد البكتريا ويستخدم عادة شريحة الهيموسيتومتر وهي مكونة من منطقتين منطقة علوية وأخرى سفلية مكونة كل منها إلى 9 مربعات والمربع الأوسط مقسم إلى 25 مربع صغير أي ما يقارب 400 مربع صغير ويقدر حجم الماء في المربع الأوسط 0.1 من ألف ملليتر ومن ثم يتم تقدير عدد البرامسيوم طبقا لنوع كثافة البرامسيوم .

كذلك يمكن استخدام شريحة (سيدويك رافتر) وهي شريحة لعد الطفيليات النباتية والحيوانية وتصنع من البلاستك أو الزجاج وتقدر أبعادها (5 سم × 2 سم × 1سم) ويمكن تحميلها بحجم ملليتر بالضبط بعد وضع الغطاء الزجاجي المحكم عليها ويصل مسطح العينة على الشريحة 1000 ملليتر مربع.

زراعة وتكثير الدايتومات:

تجمع الدايتومات من المسطحات المائية باستخدام قناني من البولي اثلين النظيفة وذلك بإدخالها في العمق المائي بحوالي عشرين سنتمتر وبعد ذلك ترشح العينات باستخدام ورق ترشيح خاص بالطحالب المجهرية والبكتريا، تحضر مبدئيا (وسط زرعي) من الأجار في أنابيب اختبار معقمة ونظيفة جيدا تغلق بالقطن الطبي لمنع دخول الغبار والأتربة وبقية الملوثات، ومن ثم تقوم بإمرار ورق الترشيح برفق على سطح الأجار لكي تلتصق بهي خلايا الدايتومات وتترك في الحاضنة على درجة حرارة بين 25-28 م°، حتى تنمو الخلايا ويصبح اللون الأخضر المصفر واضحا على سطح المبدياء بعد ذلك نحضر وسط صناعي من الأوساط التي ذكرناها في تنمية السوطيات النباتية أنظر جدول (15-1) السابق مع ملاحظة إضافة مادة السليكات وإذابتها في الوسط أو استخدام الرمل النظيف ليعطي أو كسيد السليكا SiO_2 في قاع الوسط بكمية اسم وذلك لتأمين توفر عنصر السليكون الضروري لبناء الأغلفة الدايتومية. ويفضل تطبيق هذه الطريقة في حالة الرغبة في تنمية مزارع نقية من أنواع محددة من الدايتومات المستهدفة بالدراسة.

أما في حالة التربة المختلطة فيمكن أن تأخذ عينات الماء أو التربة الرطبة أو الدايتومات الملتصقة بأي طريقة من الطرق التي أشرنا إليها لجمع الأحياء المائية كما تم تفصيله في الفصل 14، ونحضر قناني زراعة الطحالب والدايتومات المبينة في الشكل التالي (15-6) الحاوية على الوسط المبين في الجدول (15-1) بعد إضافة مصدر للسليكا. نأخذ منه كمية بمقدار 50 مل في كأس نظيف كوسط مؤقت، بعد ذلك نقوم بسحب 1 مل من العينة المستهدفة للزراعة بواسطة ماصة أو توماتيكية أو قطارة بلاستيكية ونضع قطره منها على شريحة زجاجية ونفحص العينة جيدا ولتحدد الدايتومات المطلوبة للزراعة وباستخدام اللوب تعزل بدقة النوع المقصود ويوضع في الكأس الصغير وهكذا تكرر العملية لعدة مرات بعدذلك تقوم بإفراغ محتوياته في حاوية التربة الدائمة.

شكل (15-6) حاويات تربية وزراعة الدايتومات والمطحالب المجهرية.

كما يقترح الباحث WRDNJ، 2001 طريقة أخرى لزراعة وتكثير الدايتومات الموجودة في البحيرات، حيث يوصي بأخذ عينات الماء بحجم 1 لتر وبعد تحريك العينة جيدا نأخذ منها 50- 100 ملل في أنابيب اختبار نظيفة وتوضع في جهاز الطرد المركزي لفترة من 10- 15 دقيقة لكي تتركز في القاع ، بعد ذلك يسكب الماء الزائد وتبقى الخلايا مع كمية بسيطة منه، ثم يتم حساب الخلايا الدايتومية بواسطة جهاز يسمى plate spectrophotometer وكما مبين في الشكل (15-7) وخاصة الأجناس *Aulacoseira granulata, Fragilaria crotonensis, and* *Fragilaria crotonensis* وغيرها بعد تعزل حسب الرغبة أو تترك مختلطة وتنقل إلى حاويات التربية المستديمة.

شكل (15-6) جهاز حساب الدايتومات (Moule. A, 2007) plate spectrophotometer.

أهمية زراعة وتكثير الأحياء المائية:

من الأهمية أن تتوفر بعض أنواع الطحالب الساكنة وحيدة الخلية داخل أحواض التربية حيث إنها مصدر هام للأحماض الأمينية والدهنية سهلة الامتصاص لبعض أنواع اليرقات وزريعة الأسماك كما إنها بيئة مناسبة لنمو الطفيليات الحيوانية ولابد من المحافظة على الطحالب لكي تكون متوفرة ونقية باستمرار.

شكل (15-8) نموذج لأحواض زراعة الأحياء المائية.

الأهمية الاقتصادية والبيئية للاستزراع:

ويعتبر مجال الزراعة المائية من المجالات التي أصبحت لها بأهمية اقتصادية كبيرة منذ بداية القرن العشرين وذلك لتناقص كميات إنتاج المصائد العالمية من الأسماك ، القشريات ،الرخويات ،في الوقت الذي يزداد فيه الطلب على المنتجات البحرية واثر ذالك في خلق فجوة المنتج المستهلك لهذه المادة الغذائية المهمة في حياة الإنسان بصفة عامة (القلبي 2002) والزراعة المائية أصبحت أكثر أهمية، فهي لا تؤدي إلى استنزاف منتج البحر أو تؤدي إلى انقراض أنواع بحرية، فيها يتم إنتاج مكثف وتحت رعاية بيطرية وعلمية صارمة ، وفيها يقل استهلاك الإنسان الأسماك الملوثة كما هو الحال عند صيد الأسماك على الشواطئ ولذلك تعرف الزراعة المائية بأنها توليد وتربية إنتاج الكائنات الحية في المنظومة المائية المفتوحة أو المقفولة المالحة أو العذبة. ونتيجة لتزايد الاحتياجات الغذائية لسكان كوكب الأرض يوم بعد يوم نتيجة لتزايد عدد السكان ، لذالك سعت كل الدول لتوفير احتياجات سكانها الغذائية ووضعت الخطط والبرامج العلمية المتنوعة لتحقيق الأمن الغذائي ومن هذه الخطط هي الزراعة المائية (الحامدي،2002) وتتمحور أهمية هذه الزراعات في تصديها ومعالجتها الجوانب التالية في حياة المجتمع البشري:

- الزيادة في عدد السكان وارتفاع معدلات الاستهلاك والحاجة الملحة لمصادر البروتين الضروري للحياة والنشاط الحيوي.
- انخفاض معدلات الإنتاج الحيوي وقلت مصادر المواد الغذائية نتيجة لتنوع عوامل التلوث وانحصار الأراضي الصالحة للزراعة.
- الحاجة إلى إنتاج كائنات بحرية متنوعة ومتزجة بكثافات عالية في مساحات محدودة وبكلف مالية قليلة.
- تحسين سلالات الكائنات المائية من خلال الإكثار الصناعي والتهجين في ظروف معملية وإطلاقها وتكثيرها في الأوساط المائية المختلفة.
- وإمكانية تنمية مناطق لا تصلح فيها الزراعة في الظروف التقليدية، ويمكن إقامة المزارع في أي مكان.
- استخدام الأحياء المائية المستزرعة في إنتاج المضادات الحيوية والأدوية والإنزيمات المختلفة كما هو الحال في تنمية الدايتومات والكلوريلا وغيرها.

- استخدام الأحياء المستزرعة في المختبرات للأغراض العلمية وإجراء التجريب كما هو الحال الدافئيا والسوطيات النباتية والقواقع وغيرها.
- استخدام الزراعة كوسيلة لمعالجة التلوث البيئي من خلال استخدام الكائنات المائية ذات القدرة الكبيرة على الترشيح كما في عديد من القواقع أو سحب السموم والملوثات كما هو الحال مع مختلف النباتات المائية مثل نبات ورد النيل ونبات القصب والبردي والبوص وغيرها.