كليـة الزراعـة
Faculty of Agricultural

جامعة دمياط
Damietta University

ميكروبيولوجيا زراعية - عام

أشكال البكتيريا وطرق الصبغ المختلفة

(لطلاب الفرقة الثانية)

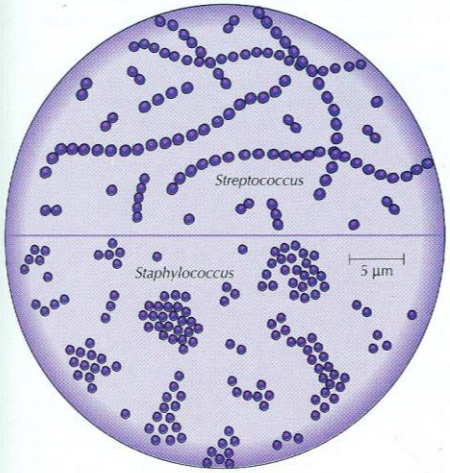
إعداد

د/ شريف محمد القاضى

قسم الميكروبيولوجيا الزراعية

أشكال البكتيريا وطرق الصبغ المختلفة

FIGURE 9.26
Drawing of the cells of *Staphylococcus* and *Streptococcus*, which belong to the group *Gram-Positive Cocci*.



let fever, and rheumatic fever. Another important pathogen is *S. pneumoniae*, which is the major cause of bacterial pneumonia in humans. Other species such as *S. faecalis* are normal inhabitants of the intestinal tract of humans and animals. *Streptococcus lactis* is a harmless contaminant of milk and other dairy products. It is widely used as a "starter culture" in the manufacture of fermented milk products such as cheese.

A third subgroup of Gram-positive cocci contains anaerobic genera such as *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, and *Coprococcus*. Most species are normal inhabitants of humans or other warmblooded animals.

Endospore-Forming Bacteria. Some bacteria form endospores, which are highly resistant to drying, staining, disinfectants, radiation, and heat. Most endospore formers stain Gram-positive, at least in young cultures, but species of one genus, *Desulfotomaculum*, stain Gram-negative. Endospore formers are rod-shaped, except for the coccoid *Sporosarcina* cells [FIGURE 9.27]. The genera *Bacillus* and *Sporosarcina* are aerobic or facultative, whereas *Clostridium* and *Desulfotomaculum* [see FIGURE 9.27] are anaerobic. Most species are harmless saprophytes in soil, fresh water, or seawater. However, some can cause disease; for example, *Bacillus anthracis* causes anthrax, and *Clostridium perfringens* causes gas gangrene and food poisoning. *Clostridium botulinum* and *C. tetani* secrete powerful nerve poisons (*neurotoxins*) which are responsible for the symptoms of botulism and tetanus, respectively. Some *Bacillus* species are pathogenic for insects and have been widely used as "microbial insecticides" to destroy various insect pests [DISCOVER 9.2].

FIGURE 9.27
Drawing of members of the group *Endospore-Forming Bacteria*.

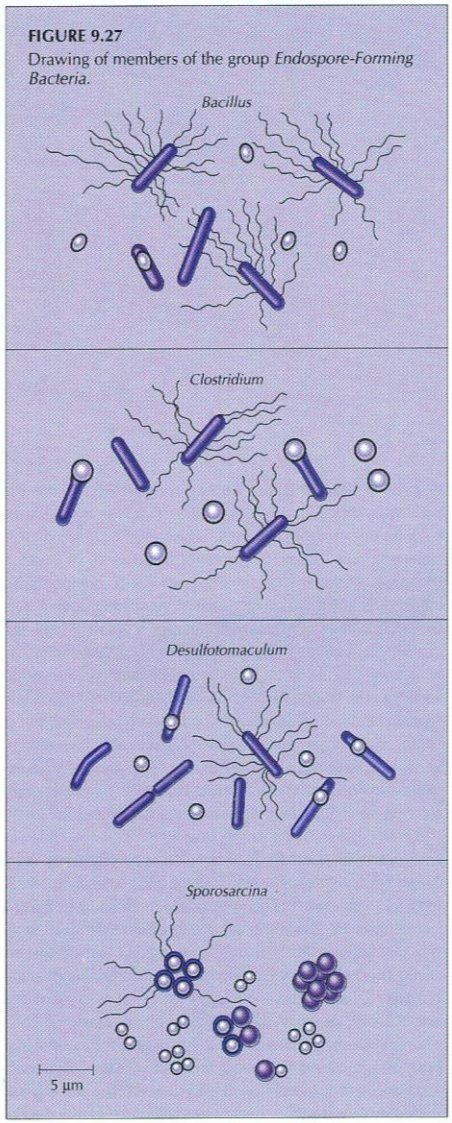


FIGURE 2.11
Bacteria. Bacterial cells are generally one of the following shapes: **[A]** spherical (cocci); **[B]** rodlike (rods or bacilli); **[C]** helical (spirilla). There are, however, many modifications of these three shapes, and bacteria of all shapes vary in sizes.

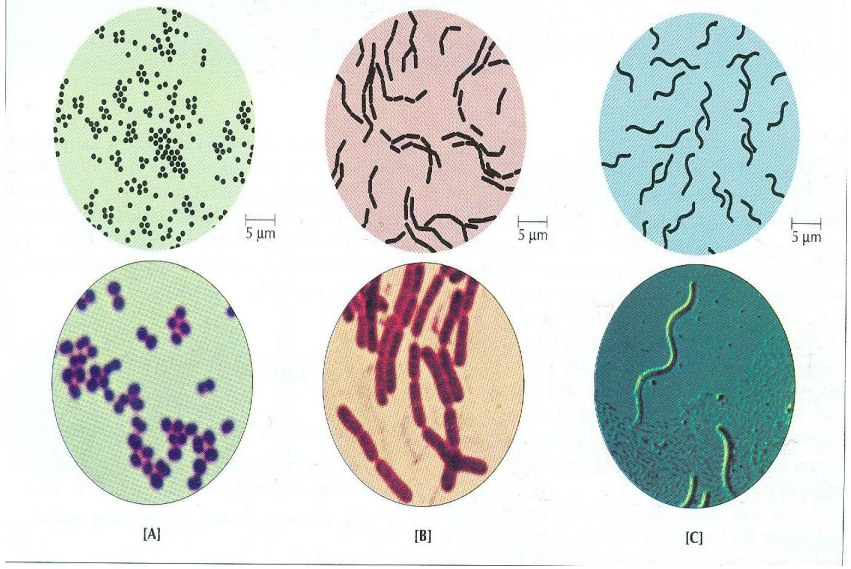
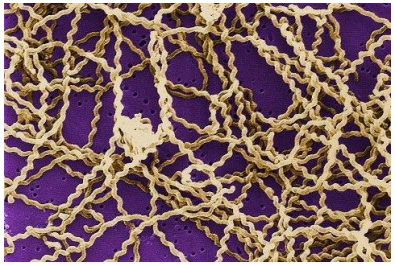


Figure 7.2 Common Bacterial Shapes.

Shape		Arrangement	
Spherical	coccus (pl., cocci)	diplococcus (pairs)	
		streptococcus (chains)	
		staphylococcus (random or grapelike clusters)	
		micrococcus (square groups of four cells)	
Rod-shaped	bacillus (pl., bacilli)	streptobacillus (chains)	
Spiral	spirillum (pl., spirilla)	sarcina (cubical packets of eight cells)	
Incomplete spiral	vibrio (pl., vibrios)		
Irregular or variable shape	pleomorphic		



Bacterial Differentiation تمييز البكتيريا

يتميز كل جنس وكل نوع من البكتيريا بخصائص مورفولوجية وفسيولوجية ومزرعية تجعله مختلفاً تماماً عن الأجناس والأنواع الأخرى. ولتمييز البكتيريا عن بعضها تجرى مجموعة من الإختبارات مثل صبغ البكتيريا بطرق الصبغ المختلفة (بسيط – جرام – جراثيم – مقاومة للأحماض – غلاف - سالب)، وقياس أحجامها (بالشريحة والعدسة الميكرومترية) ودراسة قدرتها على الحركة (إختبار النقطة المعلقة) وكذلك دراسة العوامل التى تؤثر على نموها (الحرارة – الضغط الاسموزى – الـpH – التهوية - المواد الكيماوية – التضاد الحيوى) ، بالإضافة إلى دراسة النشاط الإنزيمى لها (الأميليز – البروتينيز – الجلاتينيز – الليبيز – السليوليز – الأوكسيديز – الكاتاليز). وفيما نتناول هذه الإختبارات بشئ من التفصيل.

Bacterial staining صبغ البكتيريا

من المعروف أن الخلايا البكتيرية عديمة اللون شفافة لإحتوائها على نسبة عالية من الماء لذا يصعب تميزها عن الوسط الموجوده فيه ولا يمكن فحصها وتمييزها ميكروسكوبيا إلا بعد صبغها بصبغات خاصة وعلى هيئة أغشية مثبتة . ويجب تهيئة أنسب الظروف لرؤيتها ميكروسكوبياً، من حيث : نظافة الميكروسكوب - إضاءة مناسبة - ودقة التحضيرات المجهزة للفحص.

Dye : الصبغة

الصبغة هى عبارة عن مركبات عضوية مشتقة من مادة الأنيلين تحتوى على شقين أحدهما حامل للألوان ويسمى Chromogene والآخر مساعد للألوان متصلة بحلقة بنزين. ويمكن تقسيمها إلى مجموعتين الأولى منها صبغات حامضية والتى فيها يسلك الجزء المنتج للون من الصبغة مسلك الأنيونات فيشار إليها على أنها صبغات حامضية مثل صبغة النيجروسين، وتستعمل فى صبغ السيتوبلازم الخلوى – وهى أملاح للصوديوم وأحيانا للبوتاسيوم أو الكالسيوم أو الألمونيوم. بينما الثانية هى صبغات قاعدية حيث يسلك الجزء المنتج للون من الصبغة مسلك الكاتيونات فتكون بذلك صبغات قاعدية مثل معظم الصبغات المستخدمة فى المعمل مثل صبغة الفوكسين وأزرق الميثيلين والجنسيان البنفسجى (الكريستال) وأخضر الملاكيت، وتستعمل فى صبغ الحبيبات والمركبات الحامضية بالخلية – وهى أملاح لقواعد ملونة ملونة للكبريتات أو الكلوريدات أو الخلات.

أهم الصبغات المستخدمة فى معامل الميكروبيولوجى

1- الفوكسين القاعدى Basic Fuchsin
2- أزرق الميثيلين Methylene blue
3- الجنسيان Gentian (الكريستال البنفسجى Crystal violet) .
4- أخضر الملاكيت Malachite green
5- الحبر الهندى Indian ink
6- كاربول فوكسين Carbol fuchsin

صبغات أخرى

1- النيجروسين. Negrossin
2- الأيوسين Eosin
3- الفوكسين الحامضى Acid Fuchsin
4- أسود سودان Black sodan
5- أخضر بريلينت Brillian green
6- السفرانين Safranin
7- رايت Wright
8- اريثروسين Erythrosine

النظريات التى تفسر عملية الصبغ

هناك عدة نظريات لتفسير عملية الصبغ منها ما يستند إلى أسس فيزيائية وأخرى كيماوية :

1- النظرية الفيزيائية:

تفسر هذه النظرية عملية الصبغ على أنها تحدث نتيجة الخاصية الشعرية أو القوى الإسموزية أو الإدمصاص أو الإمتصاص، دون تكون مركب كيمائي جديد. والدليل على صحة تلك النظرية أنه يمكن بسهولة إسترجاع الصبغة من الخلايا البكتيرية المصبوغة بعد نقعها لمدة طويلة فى الماء أو الكحول أو أى مذيب آخر مناسب.

(تابع) النظريات التى تفسر عملية الصبغ

2- النظرية الكيميائية:

عملية الصبغ تفسر هنا على أساس كيميائي بحت، حيث تتفاعل الصبغات الحامضية مع المكونات القاعدية بالخلية (السيتوبلازم)، بينما تتفاعل الصبغات القاعدية مع المكونات الحامضية بالخلية (الأحماض النووية)، أى يحدث تفاعل كيميائي بين الصبغة ومكونات الخلية البكتيرية فيتكون مركب جديد له صفات مختلفة عن المكونات الأصلية المشتركة فى هذا التفاعل الكيميائى، والدليل على صحة تلك النظرية أنه لا يمكن إسترجاع الصبغة بواسطة الماء أو أى مذيب آخر.

معمق اللون Mordant : وهى مواد تضاف لمحاليل الصبغات لتجعل التركيبات الخلوية تأخذ اللون بدرجة أغمق مثل اليود والفينول.

(تابع) النظريات التى تفسر عملية الصبغ

3- النظرية الفيزيائية الكيميائية:

فى بعض الحالات، لا تتم عملية الصبغ بالبساطة السابق ذكرها وبالتالى لا تستطيع النظريات السابقة تفسير عملية الصبغ ، وهى تعتمد على أنه قد يكون صبغ الخلايا البكتيرية عبارة عن عملية فزيائية وكيميائية معا أى تحدث فى نفس الوقت.

أنواع الصبغ

الصبغ الموجب :

وفيه تستطيع الصبغة الدخول للخلية من خلال جدارها الخلوى نظراً لصغر حجم جزيئات الصبغة.

الصبغ السالب :

وفيه يتم صبغ الوسط ولا تصبغ الخلية لأن الصبغة لا تستطيع دخول الخلية حيث يعوقها جدار الخلية بسبب كبر حجم جزيئات الصبغة.

طرق الصبغ

تقسم طرق الصبغ على حسب عدد الصبغات المستخدمة :

1- الصبغ البسيط : Simple stain

وفيه تستخدم صبغة واحدة فقط فتكسب الميكروب لونها .

2- الصبغ المركب: Compound stain

وفيه يستخدم صبغتين أو أكثر ويسمى أيضا الصبغ المزدوج Double stain أو الصبغ التفريقي Differential stain.

ومن أمثلة الصبغ المركب :

1- الصبغ بطريقة جرام Gram stain

2- صبغ الجراثيم البكتيرية Spore stain

3- صبغ البكتيريا الصامدة (المقاومة) للأحماض Acid fast stain

4- صبغ الغلاف أو الكبسولة Capsule stain

Simple Staining الصبغ البسيط

الهدف من صبغ الميكروبات بالصبغ البسيط هو التعرف على شكل الخلية ونظام التجمع.

يمكن إستخدام إحدى الصبغات التالية :

1- الفوكسين المخفف Diluted fuchsin

2- السفرانين Safranin

ولونهما أحمر, ومدة التعرض لهما من نصف إلى دقيقة واحدة.

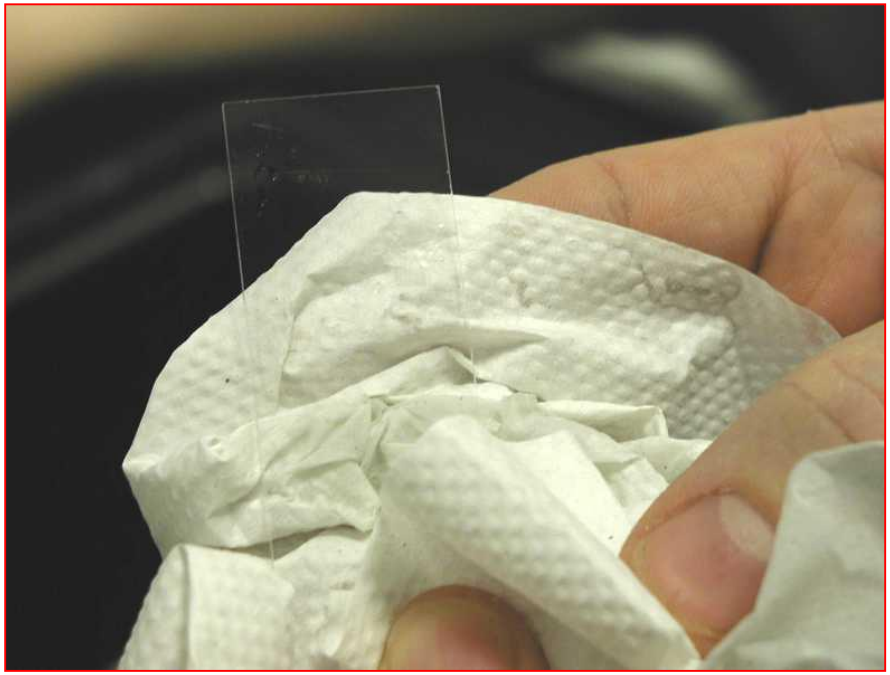
3- صبغة أزرق الميثيلين Methylene blue

وهى صبغة ضعيفة نسبياً ومدة التعرض لها من 3 إلى 5 دقائق.

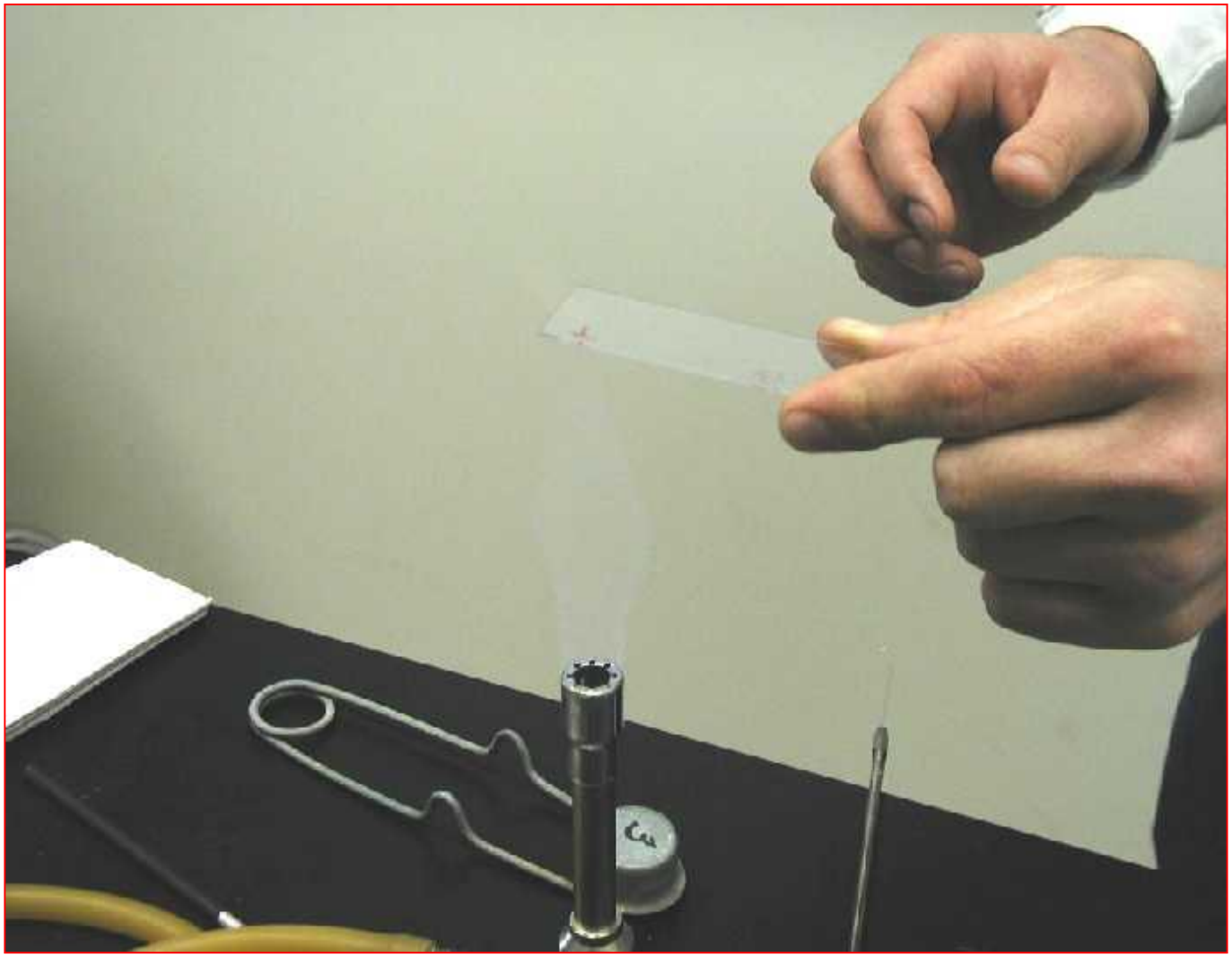
تجهيز التحضيرات البكتيريولوجية للفحص الميكروسكوبى

يمكن تلخيص الخطوات فى تحضير غشاء من المزرعة البكتيرية وتثبيته وصبغه وتجفيفه وفحصه باستعمال العدسة الزيتية المنغمسة .

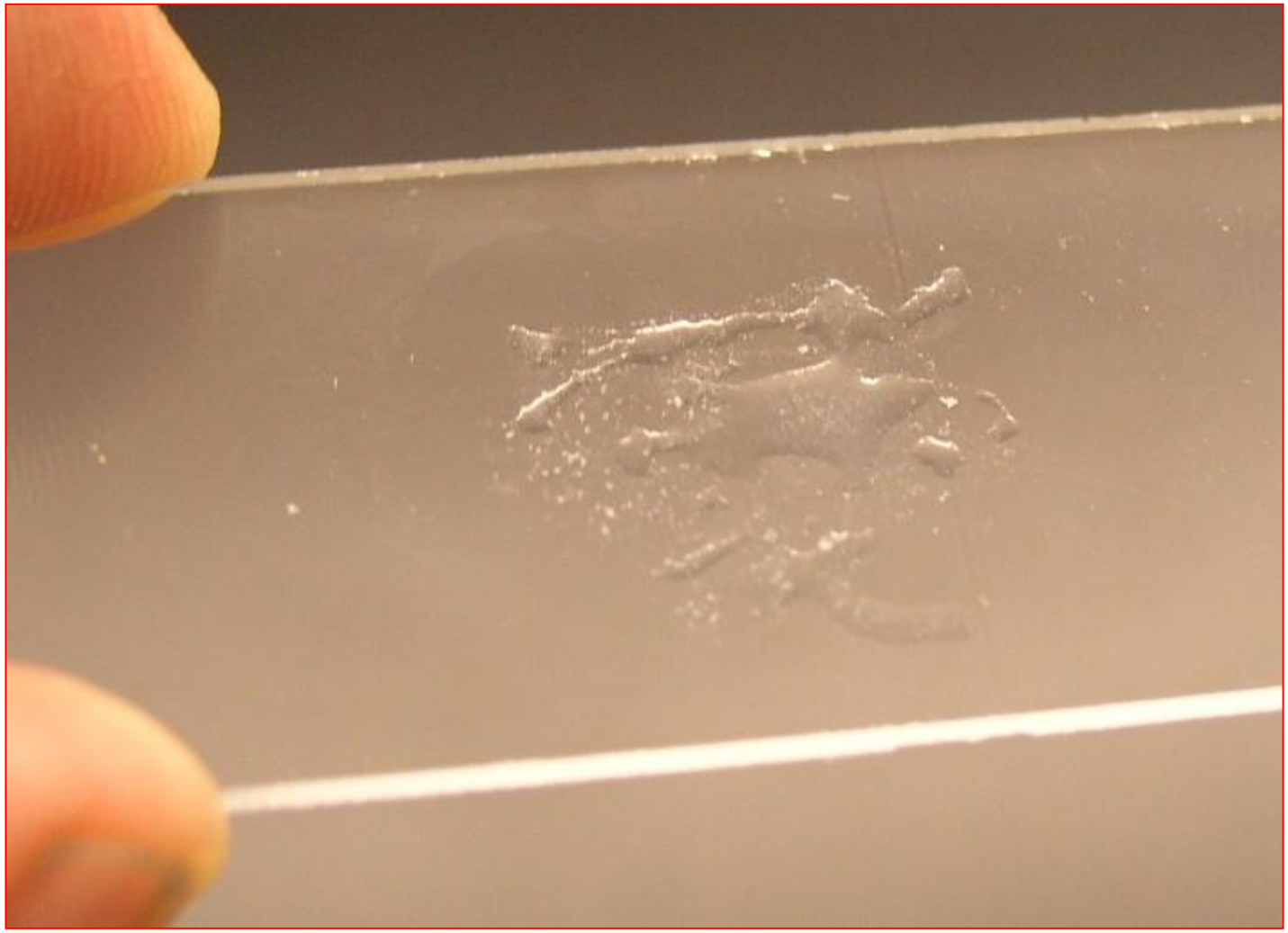
أولاً : تحضير الغشاء وتثبيته
Preparation and fixation of bacterial smear



1- نظف الشريحة الزجاجية جيداً

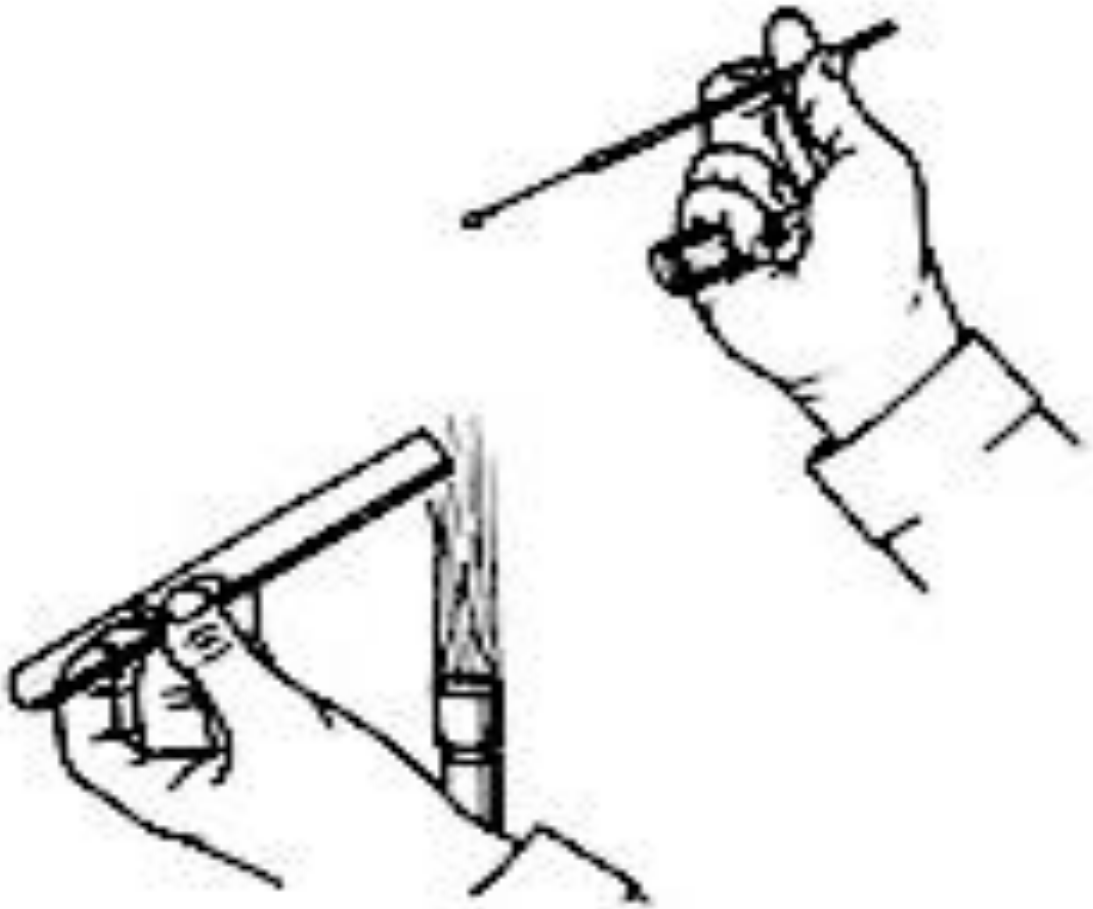


2-عقم الشريحة الزجاجية بإمرارها عدة مرات فى اللهب وللتخلص من أثار ما قد يكون عالقاً بها من حبيبات دهنية



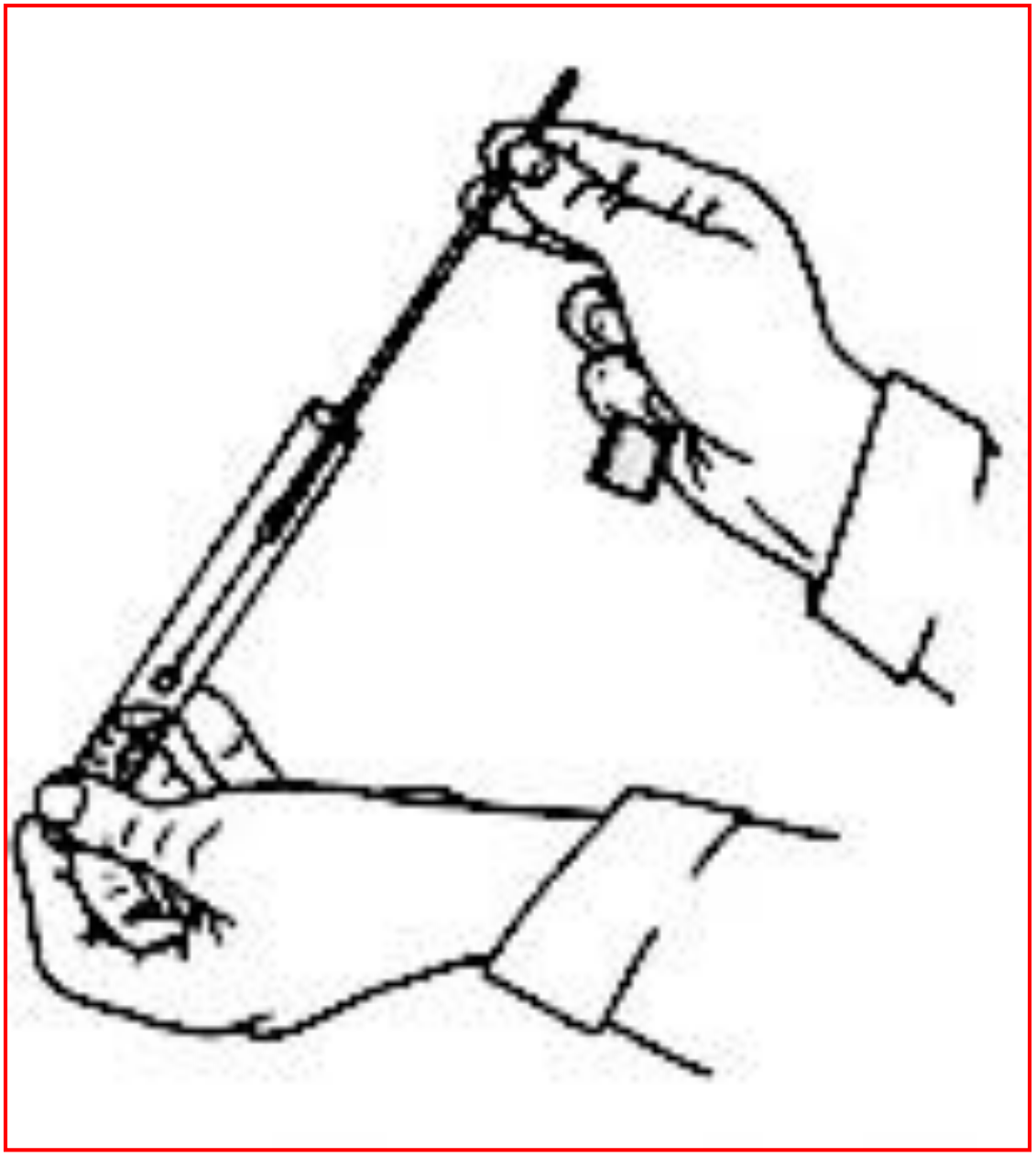
3- ضع نقطة من الماء فى منتصف الشريحة الزجاجية

4- إمسك إبرة التلقيح ذات العقدة باليد اليمنى ثم عقمها بوضع السلك فى اللهب رأسياً تقريباً إلى درجة الأحمرار ثم مرر يد الإبرة أيضاً فى اللهب مع إدارتها ثلاث مرات



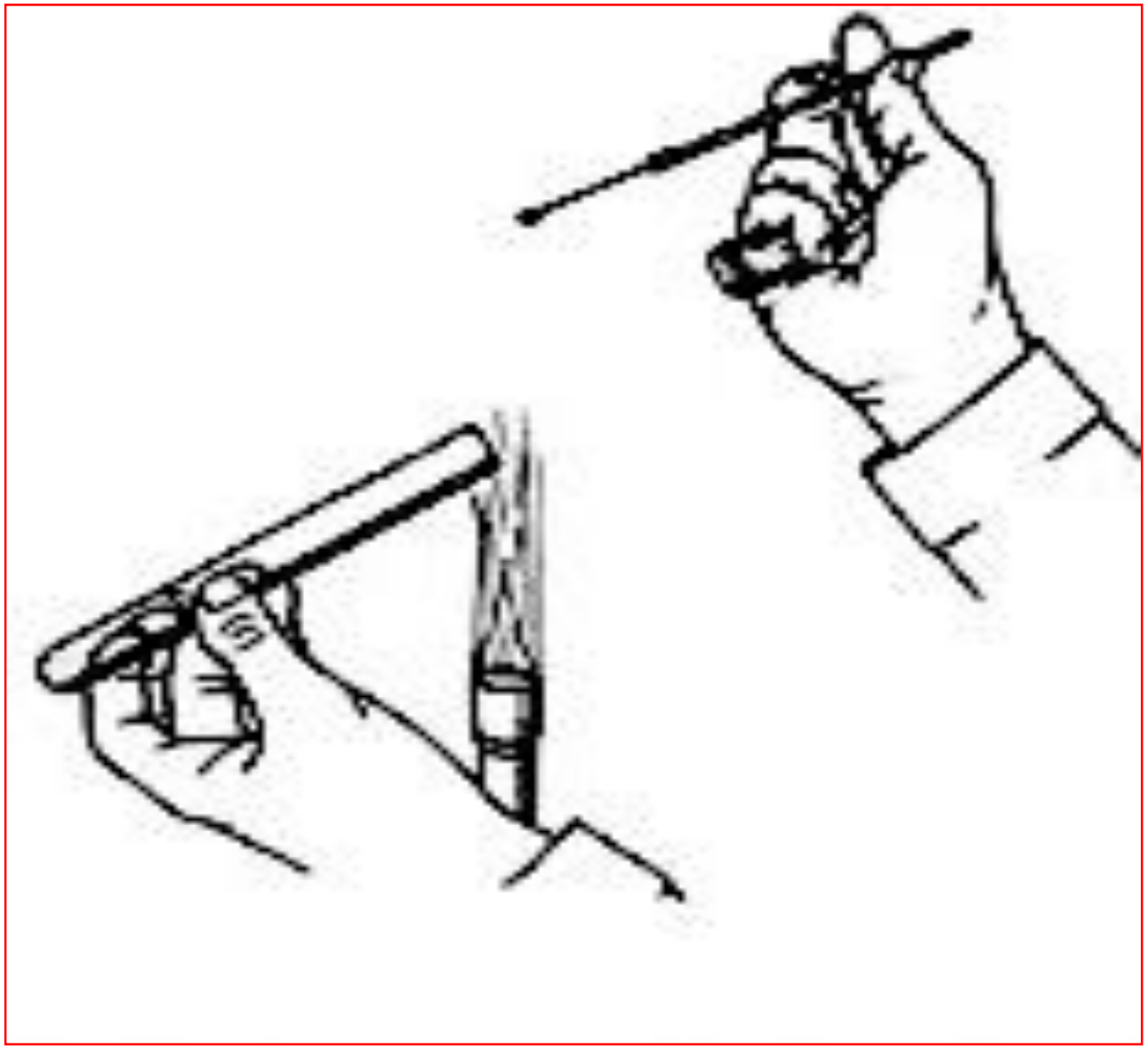
5- إمسك الأنبوية التى تحتوى على المزرعة باليد اليسرى فى وضع مائل بحيث يظهر النمو البكتيري إلى أعلى .

- إنزع السدادة القطنية للمزرعة بواسطة الإصبع الصغير لليد اليمنى مع مراعاة عدم ملامسة طرفها الذى يدخل الإنبوبة لأى سطح خارجى.
- عقم فوهة المزرعة بإمرارها مرتين فى اللهب.

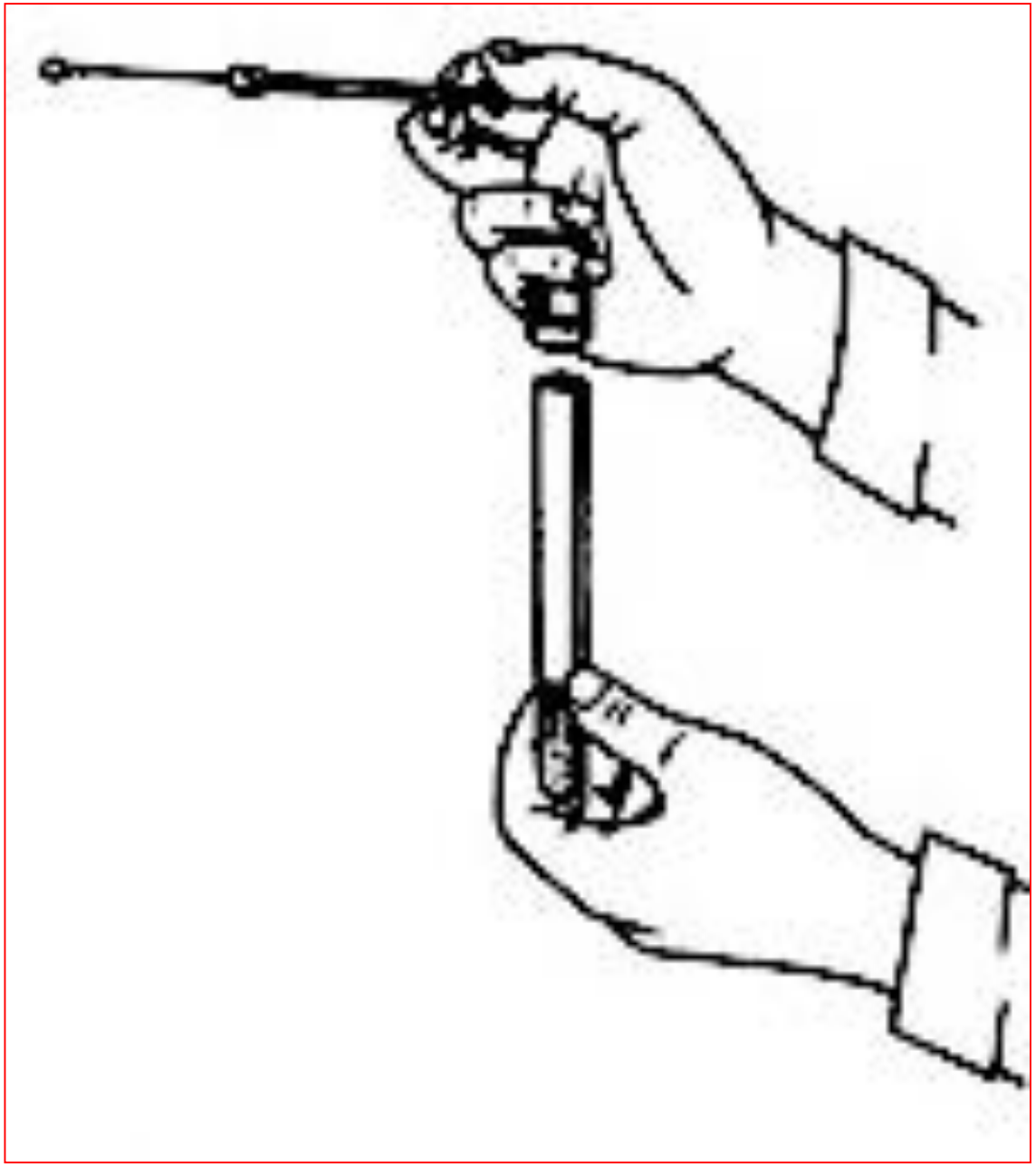


6- خذ جزء صغير من النمو البكتيري على طرف إبرة التلقيح السابق تعقيمها.

- إحذر من خدش البيئة حتى لا ينتقل جزء منها إلى الشريحة ويعوق رؤية البكتريا.

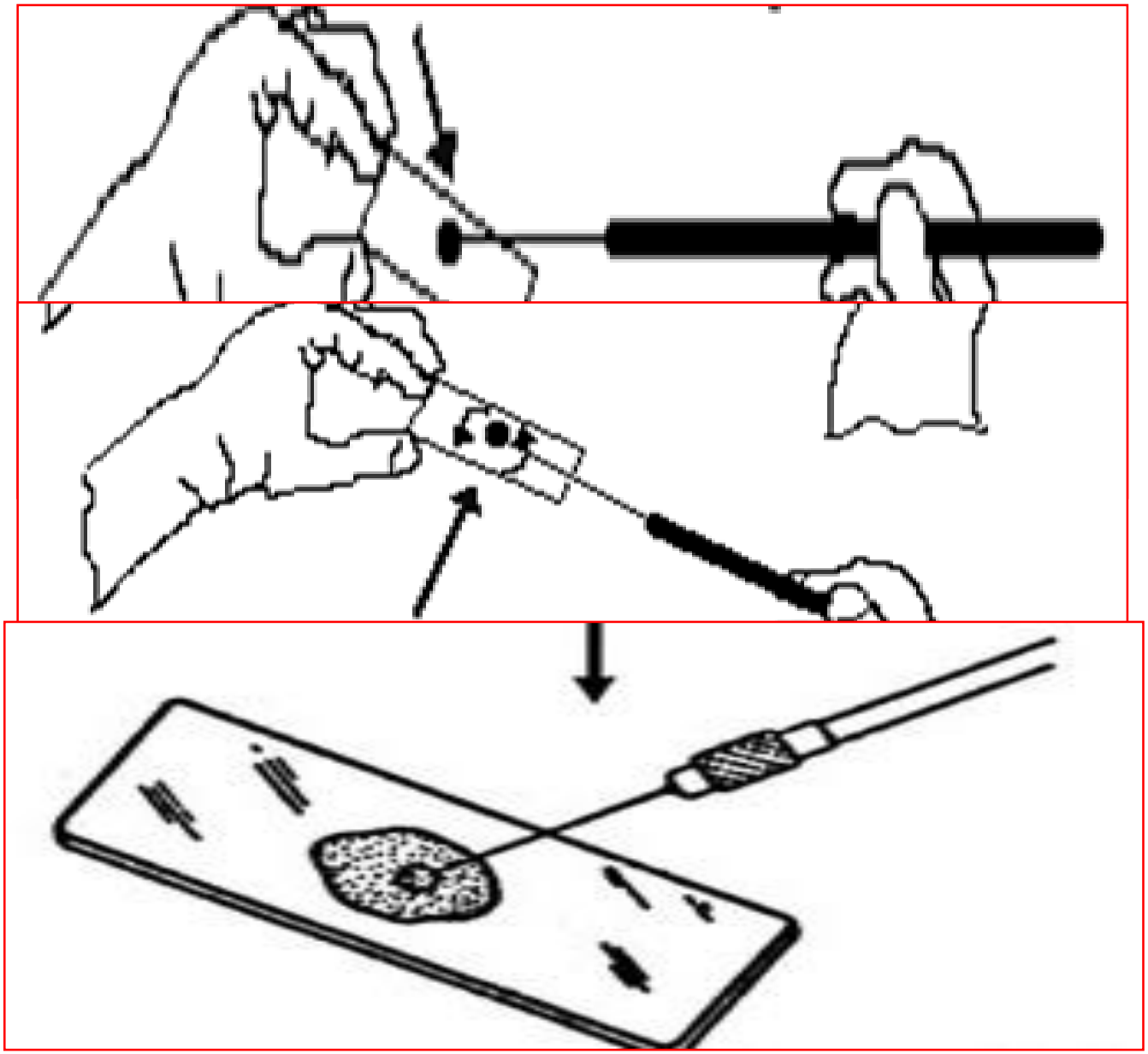


7- عقم فوهة المزرعة مرة أخرى بإمرارها مرتين فى اللهب.



8- ضع السدادة القطنية مكانها لسد فوهة الأنبوبة ولتجنب تلوث المزرعة ثم ضعها مكانها.

- إحرص على عدم ملامسة عقدة إبرة التلقيح الحاملة للنمو البكتيري لأى سطح خارجى.

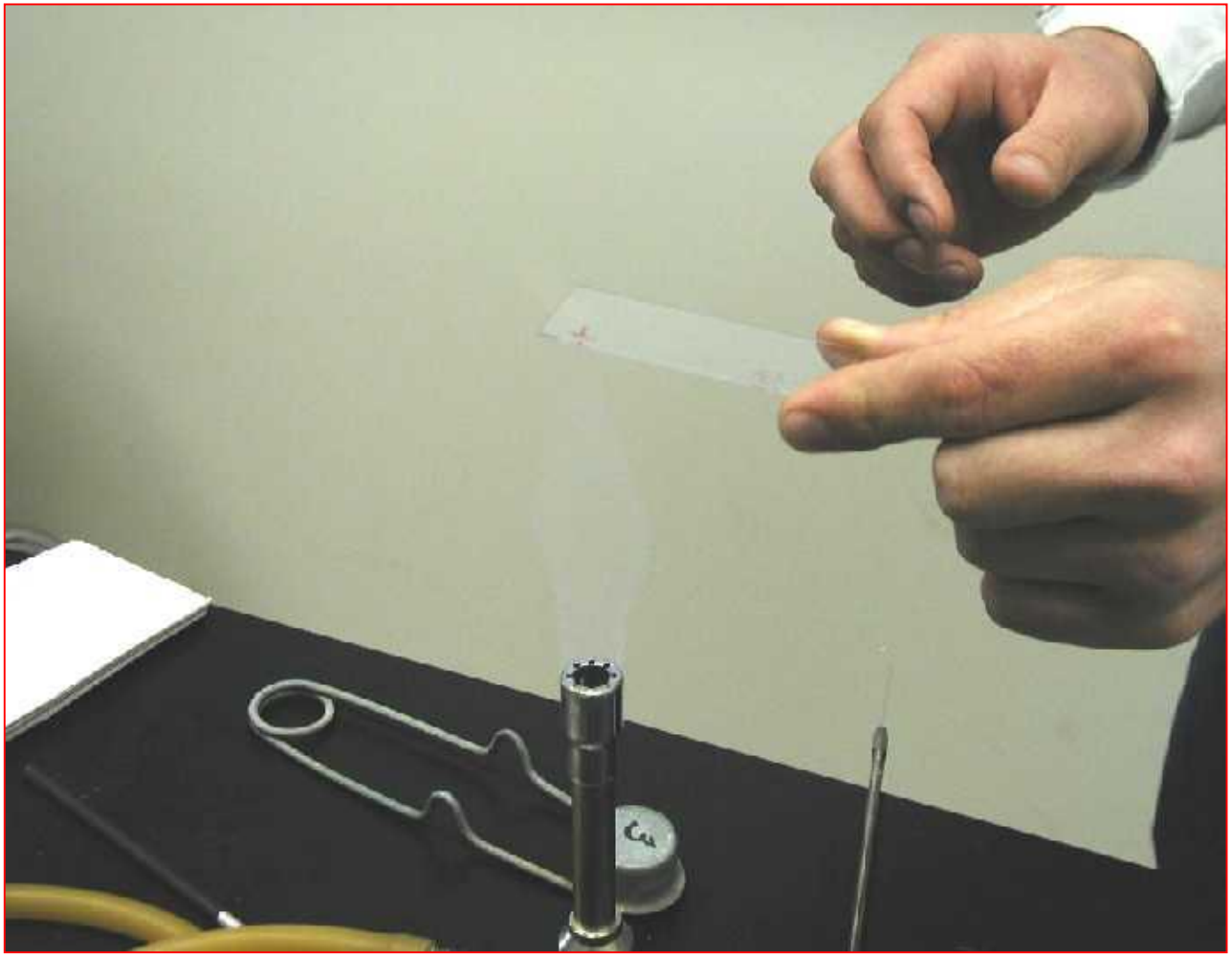


9- ضع النمو البكتيري فى نقطة الماء التى فى منتصف الشريحة.

- إمزج النمو البكتيري جيدا بنقطة الماء.

- إنشر المعلق المتكون على مساحة مناسبة تسمح بظهور غشاء رقيق.

10- عقم إبرة التلقيح مرة أخرى بوضع السلك فى اللهب رأسياً تقريباً إلى درجة الأحمرار ثم مرر يد الإبرة أيضاً فى اللهب مع إدارتها ثلاث مرات, وذلك للتخلص من البكتيريا العالقة بها ثم ضعها مكانها على الحامل المخصص لذلك (تعقم الإبرة دائماً قبل وبعد الإستخدام)



11- جفف التحضير عن طريق تعريض الشريحة أعلى اللهب على مسافة 15 – 20 سم بحيث يكون المعلق إلى أعلى.

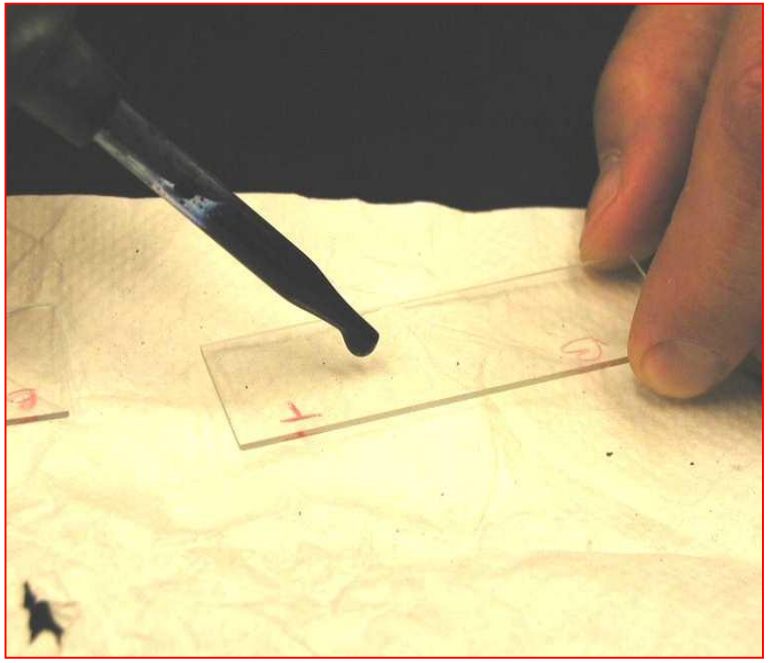
12 - ثبت الغشاء وذلك لضمان عدم زوال الغشاء فى الخطوات التالية وذلك بإمرار الشريحة فى منتصف اللهب ثلاث مرات.

13- إترك الشريحة على حاملها لتبرد.

ثانياً : صبغ الغشاء (كيفية إجراء الصبغ البسيط ؟):
Staining of smear

1- ضع قليل من صبغة الفوكسين المخفف أو صبغة أزرق الميثيلين على الغشاء وليس على الشريحة كلها.

2- أتركها على الحامل المخصص لذلك لمدة ½ - 1 دقيقة فى حالة إستخدام صبغة الفوكسن المخفف أو لمدة 3-5 دقائق فى حالة إستخدام صبغة أزرق الميثيلين .



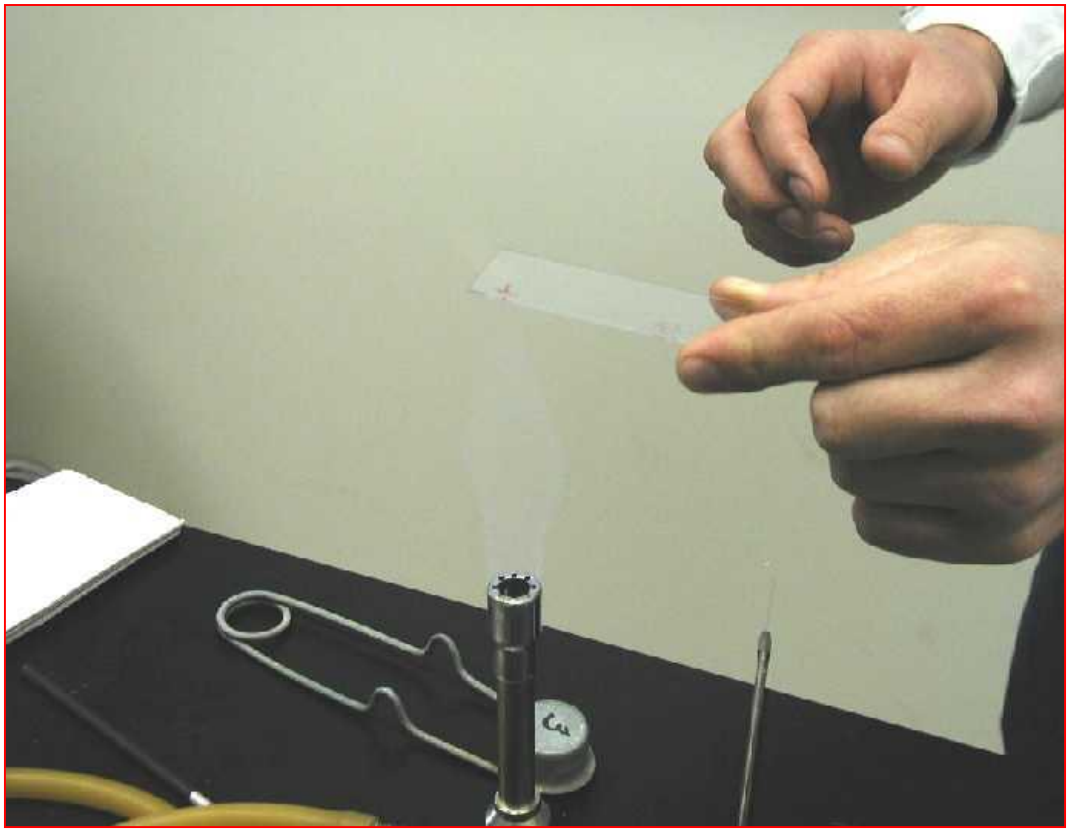
3- تخلص من الصبغة الزائدة بصبها فى حوض الصبغ .

4- إغسل الشريحة بتيار هادئ من الماء.

5- جفف الشريحة بين ورقتى نشاف نظيف.

- تجنب مسح الشريحة من أعلى (الجهة التى بها الغشاء) حتى لا يفقد الغشاء البكتيري.

6- جفف الشريحة أعلى اللهب على مسافة 15 - 20 سم ثم مررها فى اللهب مرتين.

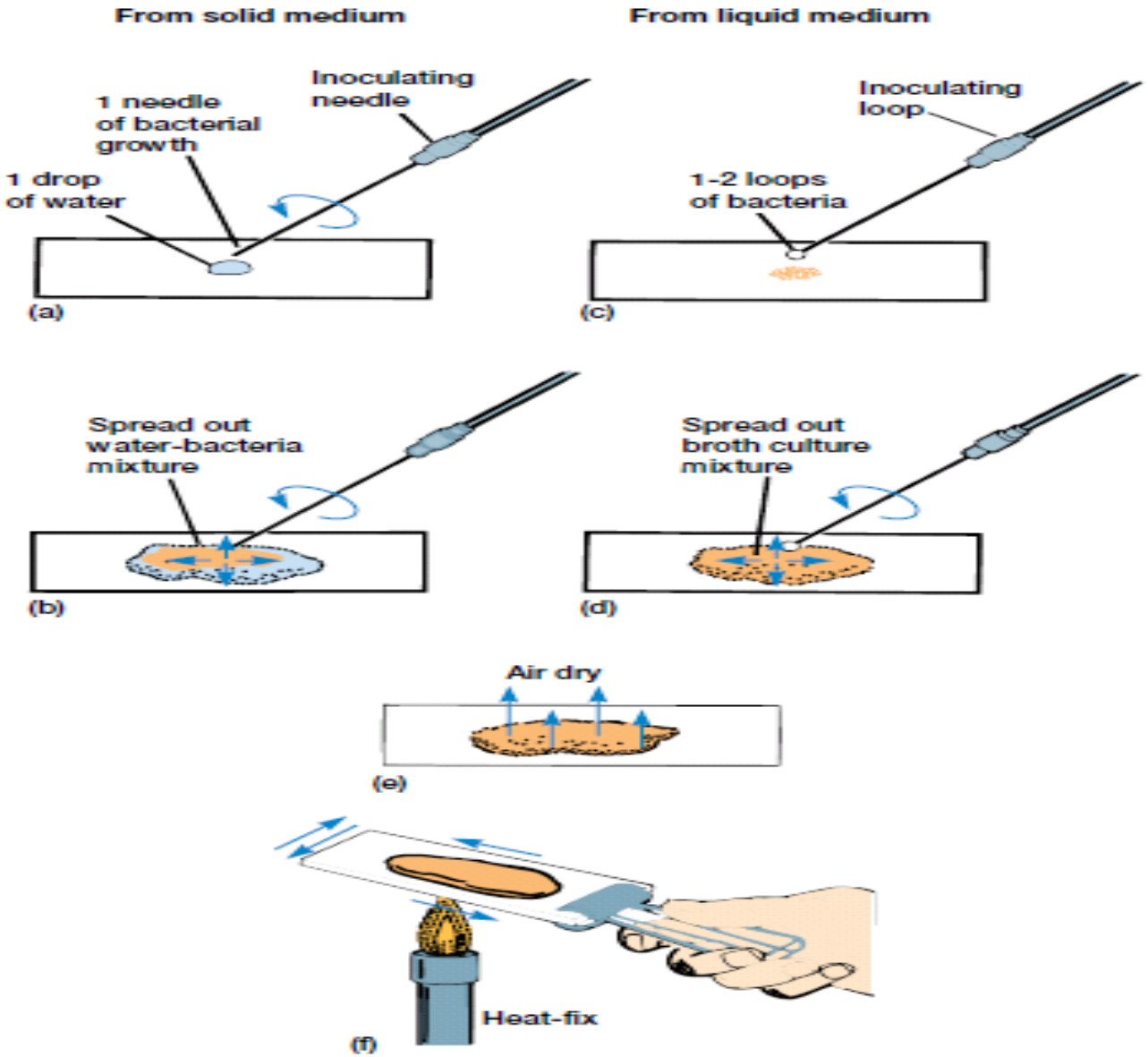


7- ضع نقطة من زيت السيدر على الغشاء.

8- إفحص الغشاء ميكروسكوبياً مستعملاً العدسة الزيتية.

9- صف الميكروب من حيث شكل الخلية المفردة ونظام التجمع السائد وإرسم ما تشاهده.

Figure 7.1 Bacterial Smear Preparation.



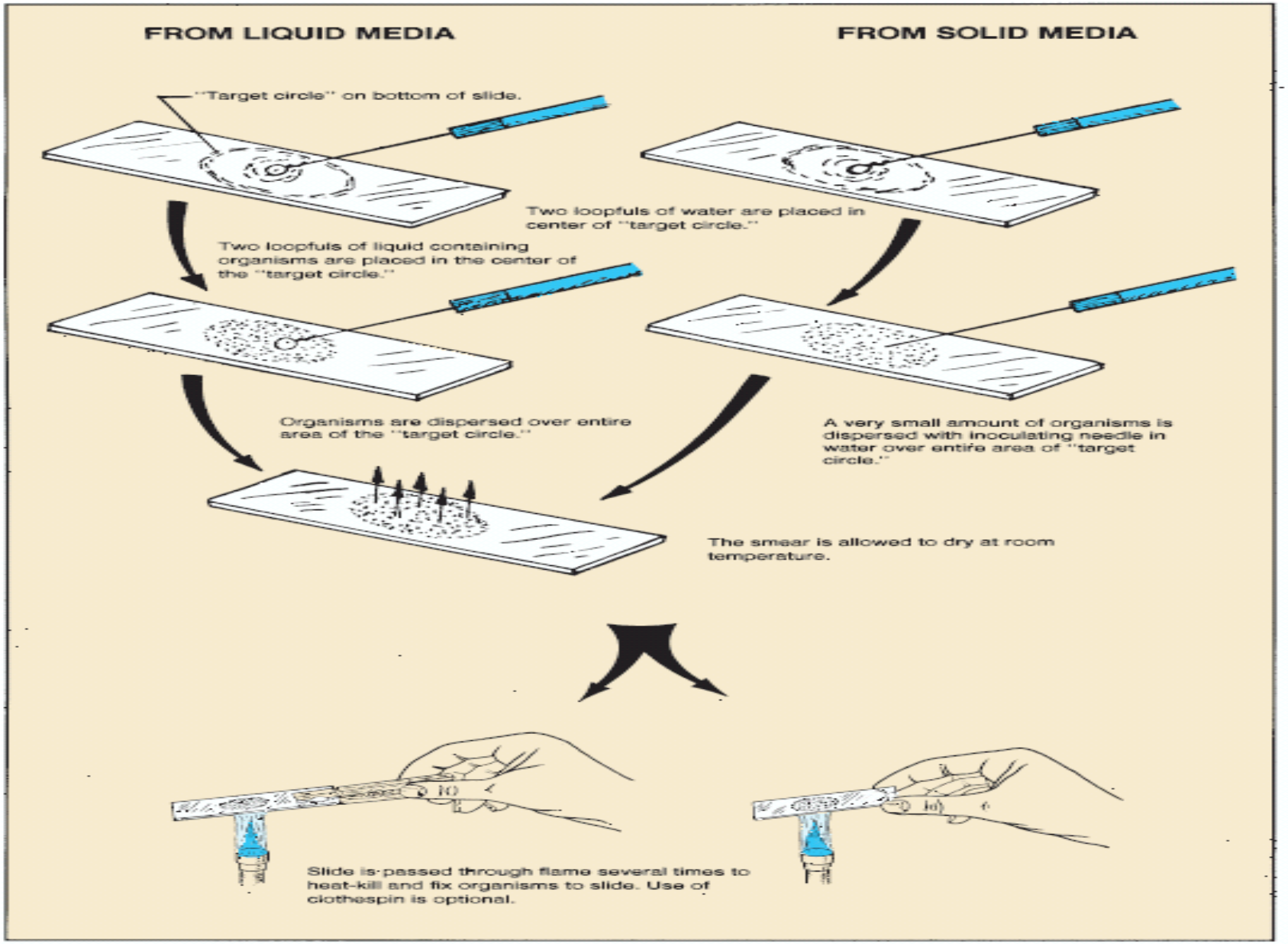


Figure 12.1 Procedure for making a bacterial smear

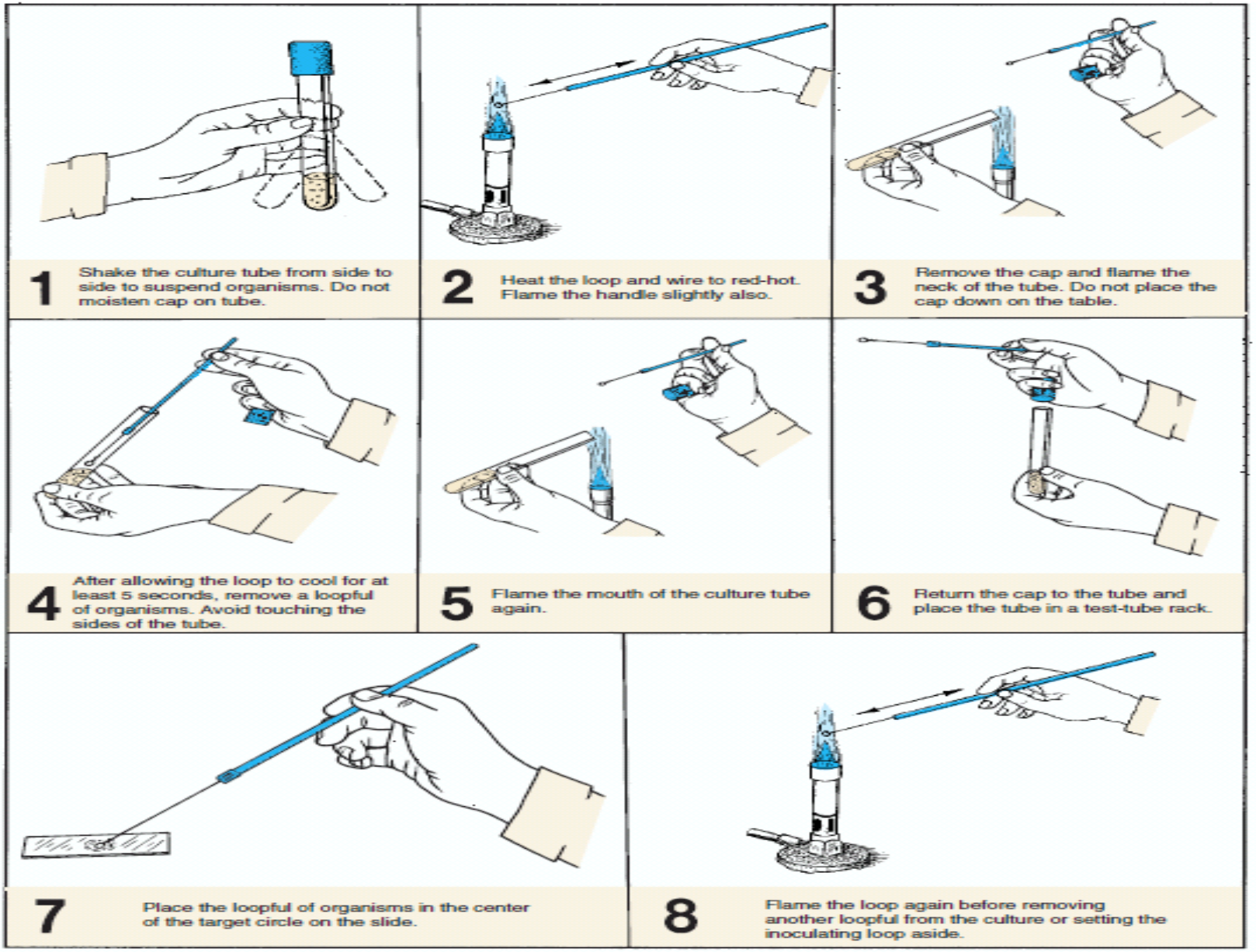
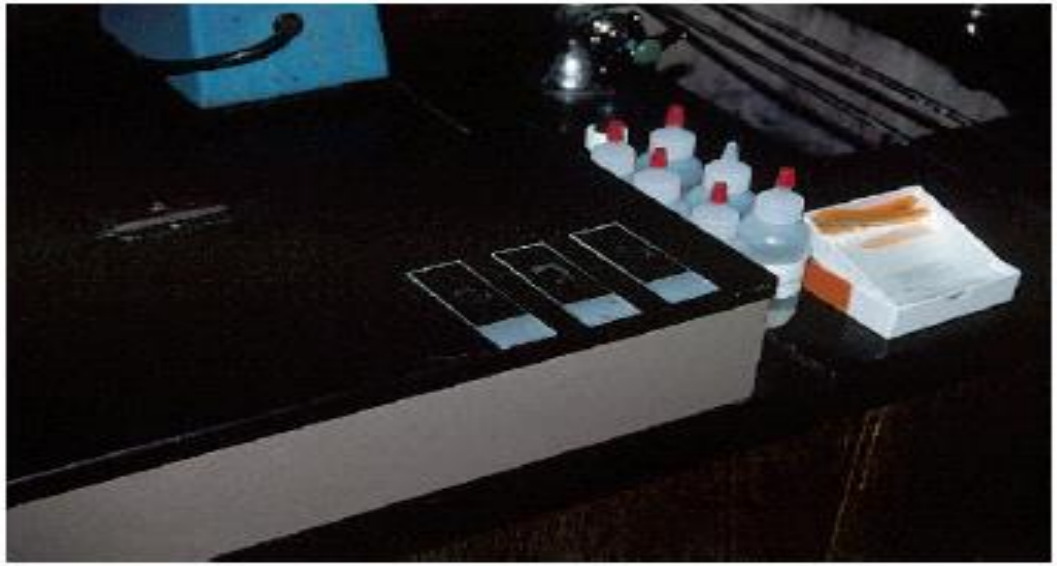


Figure 12.2 Aseptic procedure for organism removal

Figure 7.3 A Typical Slide Warmer Used to Speed Up the Drying of Slides.



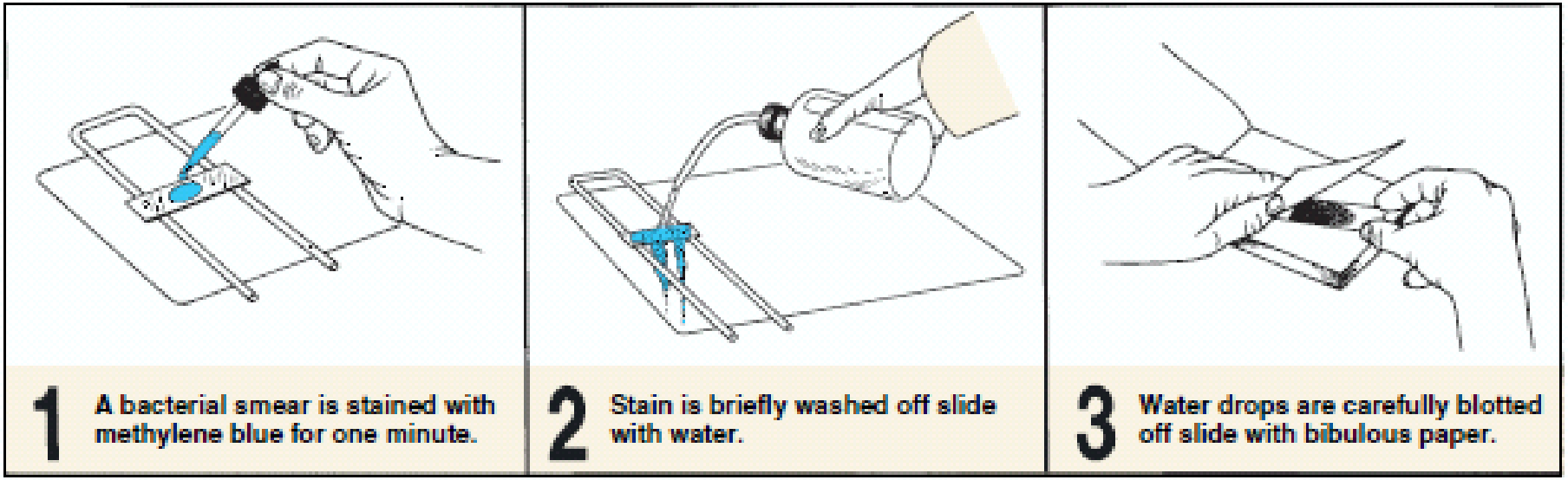


Figure 13.1 Procedure for simple staining

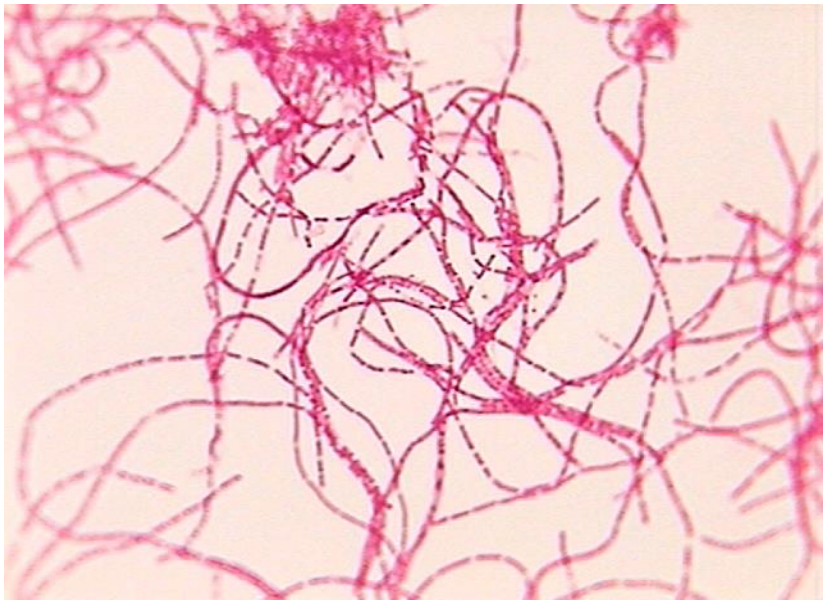
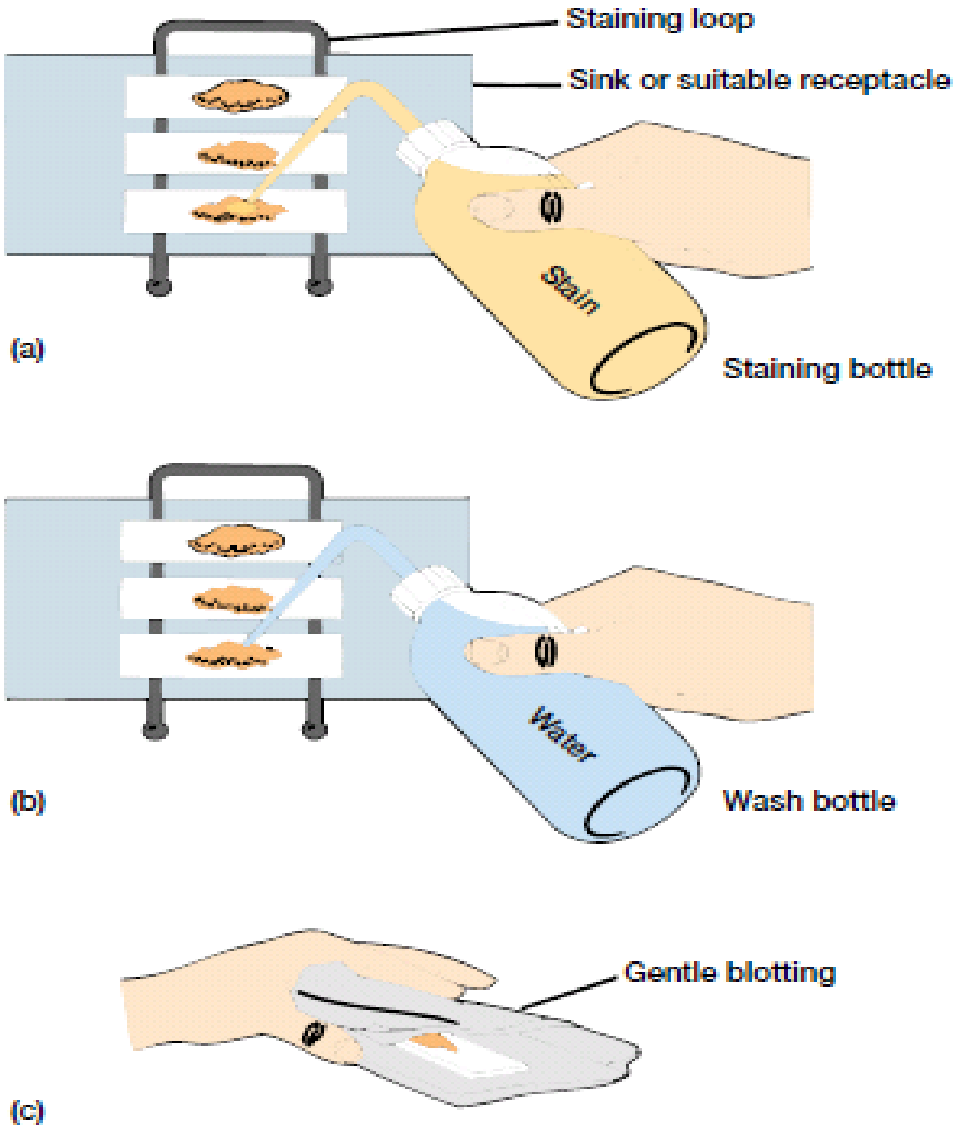


Figure 7.4 Simple Staining Procedure.



أشكال البكتيريا ونظام تجمعها

FIGURE 2.11

Bacteria. Bacterial cells are generally one of the following shapes: **[A]** spherical (cocci); **[B]** rodlike (rods or bacilli); **[C]** helical (spirilla). There are, however, many modifications of these three shapes, and bacteria of all shapes vary in sizes.

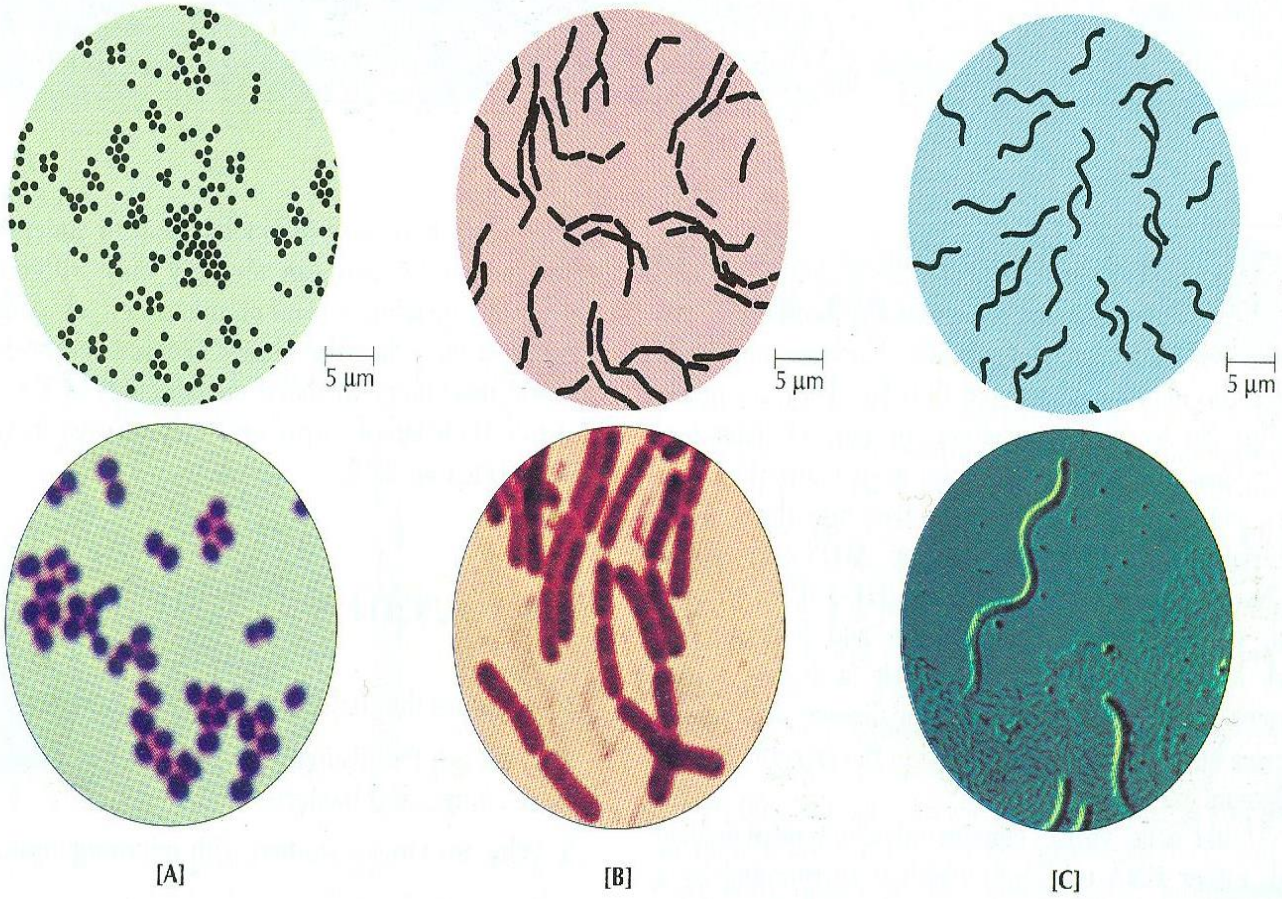
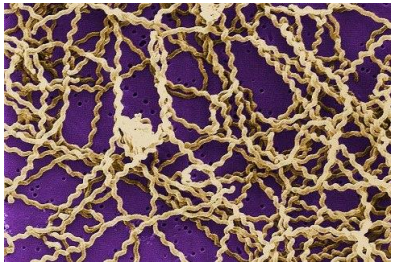
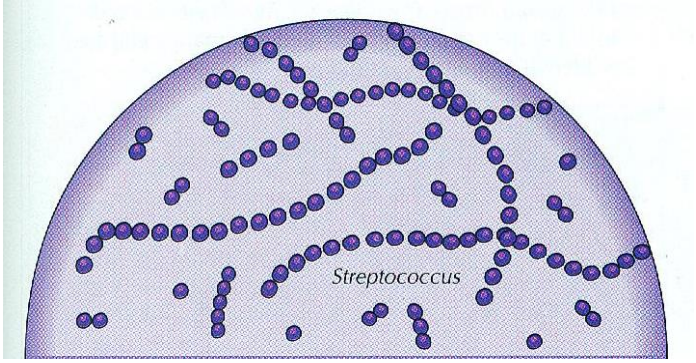


Figure 7.2 Common Bacterial Shapes.

Shape		Arrangement	
Spherical	coccus (pl., cocci)	diplococcus (pairs)	
		streptococcus (chains)	
		staphylococcus (random or grapelike clusters)	
		micrococcus (square groups of four cells)	
Rod-shaped	bacillus (pl., bacilli)	streptobacillus (chains)	
Spiral	spirillum (pl., spirilla)	sarcina (cubical packets of eight cells)	
Incomplete spiral	vibrio (pl., vibrios)		
Irregular or variable shape	pleomorphic		

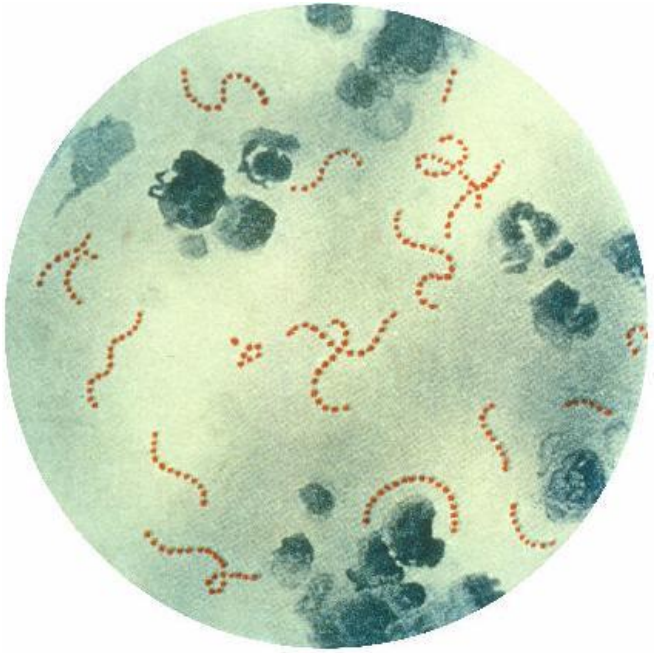


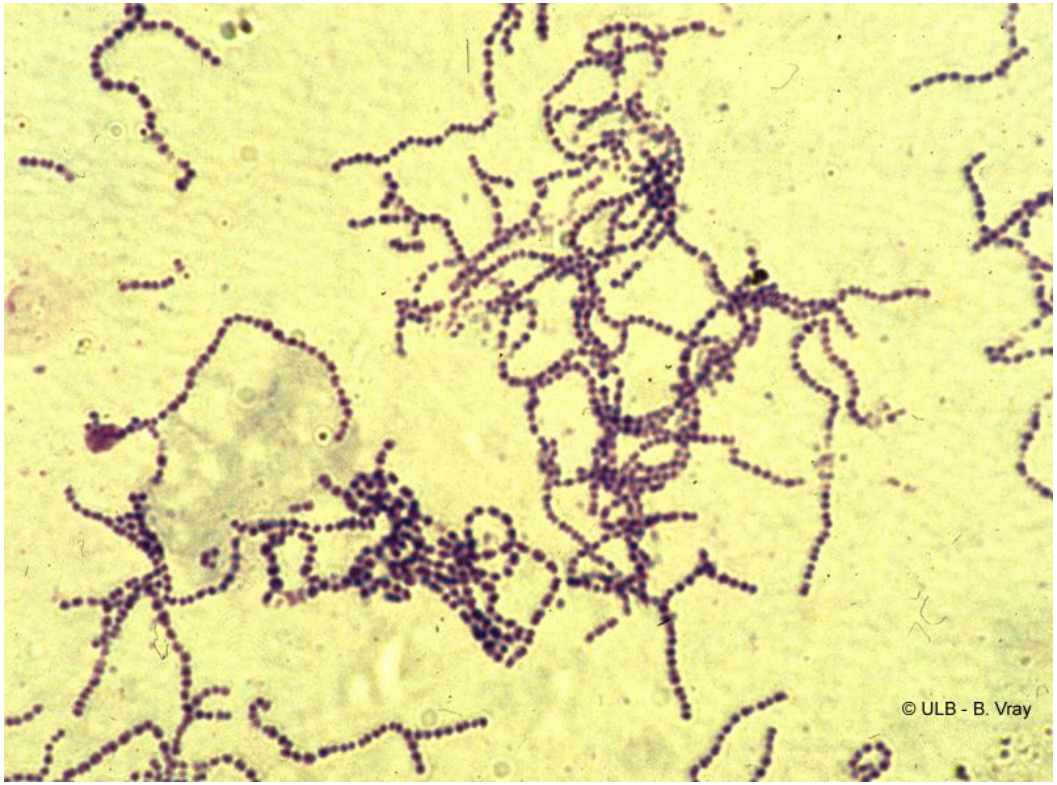
أولاً : الشكل الكروى



Streptococcus sp. - شكل الميكروب كروى

- نظام التجمع فى سلاسل





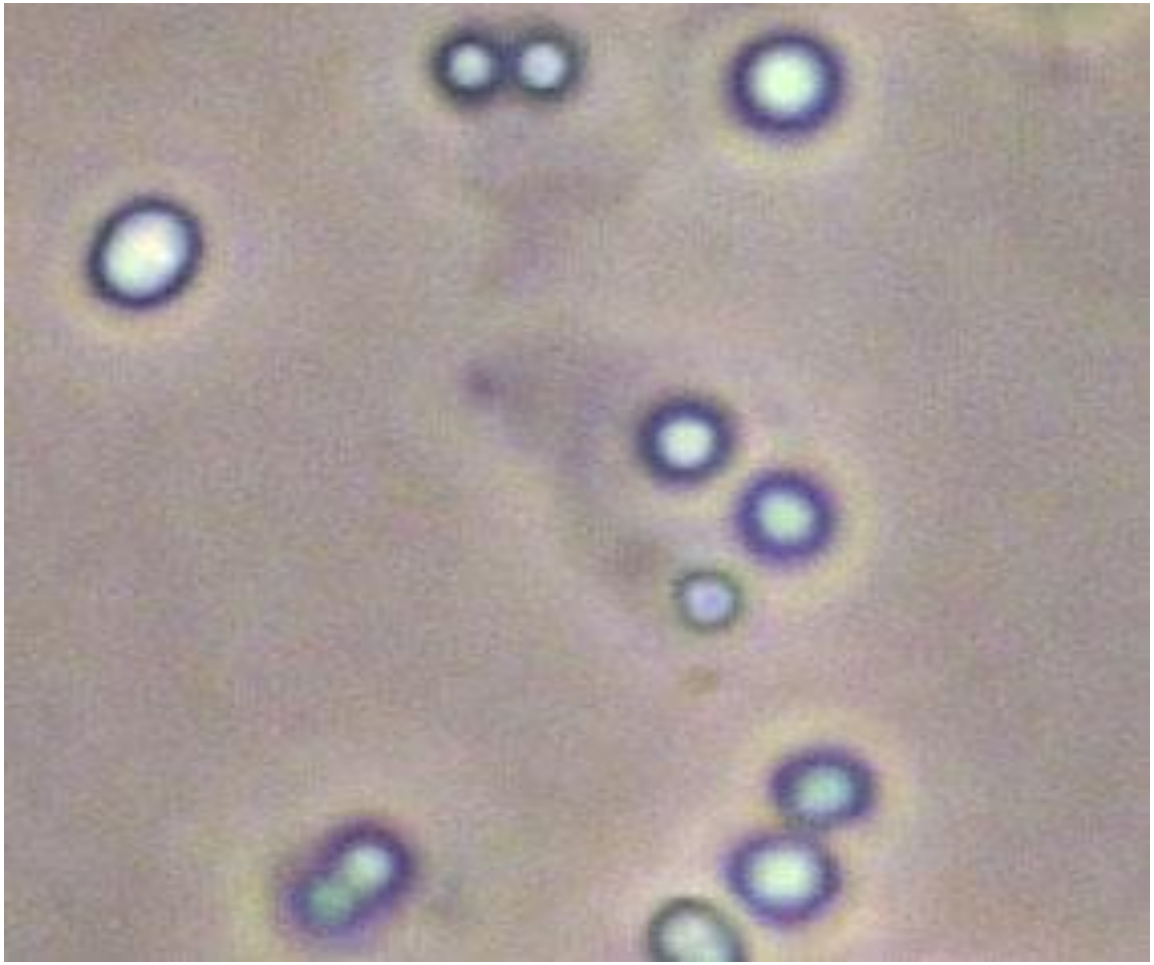
مكتشف حتى الآن 29 نوع من جنس *Streptococcus* sp أشهرها ما يلى :

- *S. bovis*
- *S. faecalis*
- *S. faecium*
- *S. lactis*

- *S. pyogenes*
- *S. pneumoniae*
- *S. thermophilus*

Azotobacter chroococcum - شكل الميكروب كروى

- نظام التجمع فى أزواج



مكتشف حتى الآن 6 أنواع من جنس ***Azotobacter*** **sp** وهم كما يلى :

A. armeniacus

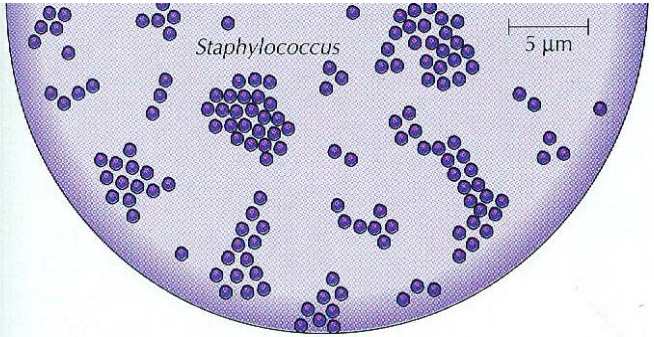
A. beijerinckii

A. chroococcum

A. nigricans

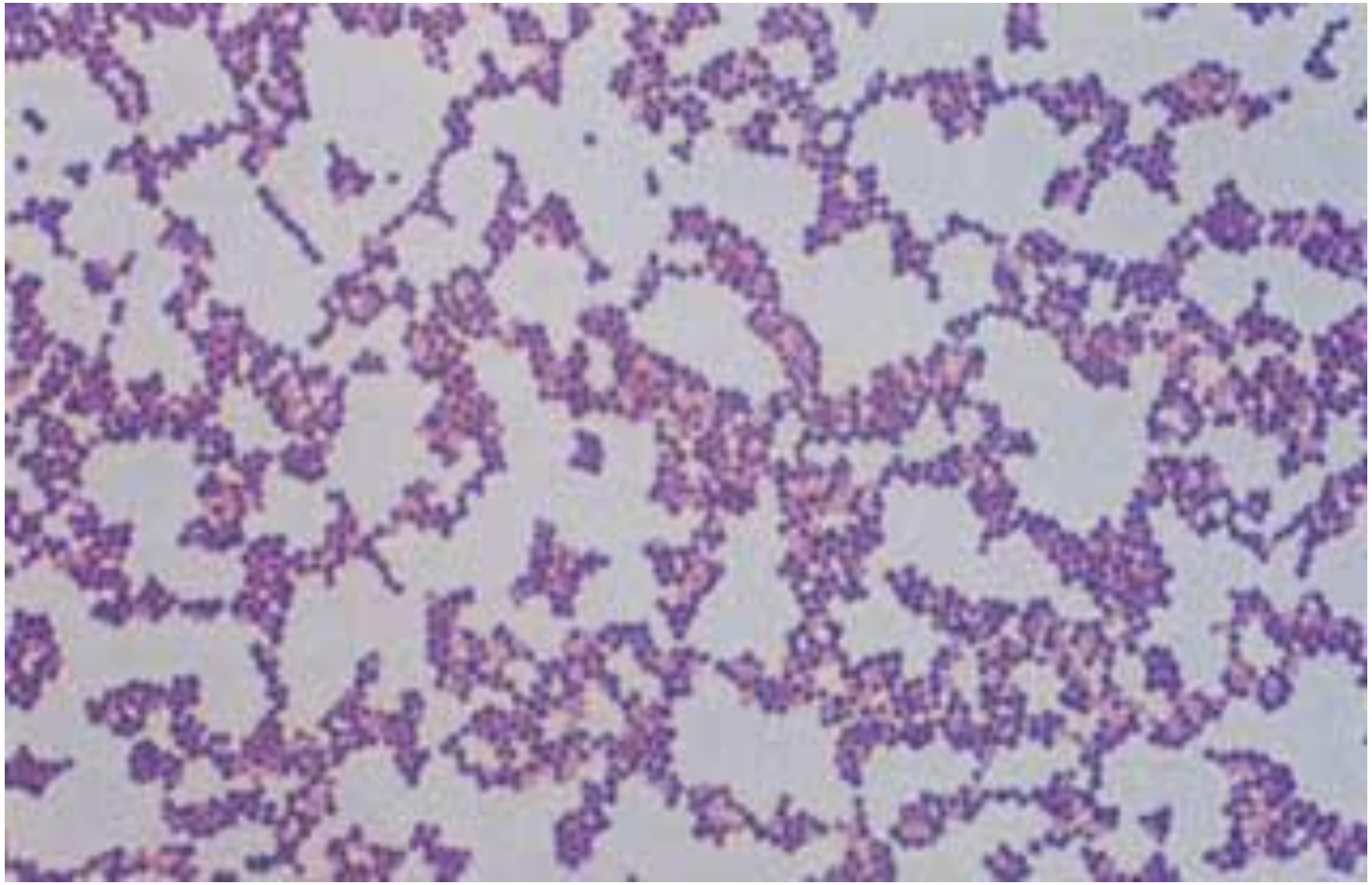
A. paspali

A. vinelandii



Staphylococcus sp. - شكل الميكروب كروى

- نظام التجمع فى عناقيد



مكتشف حتى الآن 19 نوع من جنس ***Staphylococcus*** sp وأهمها ما يلى :

S. aureus

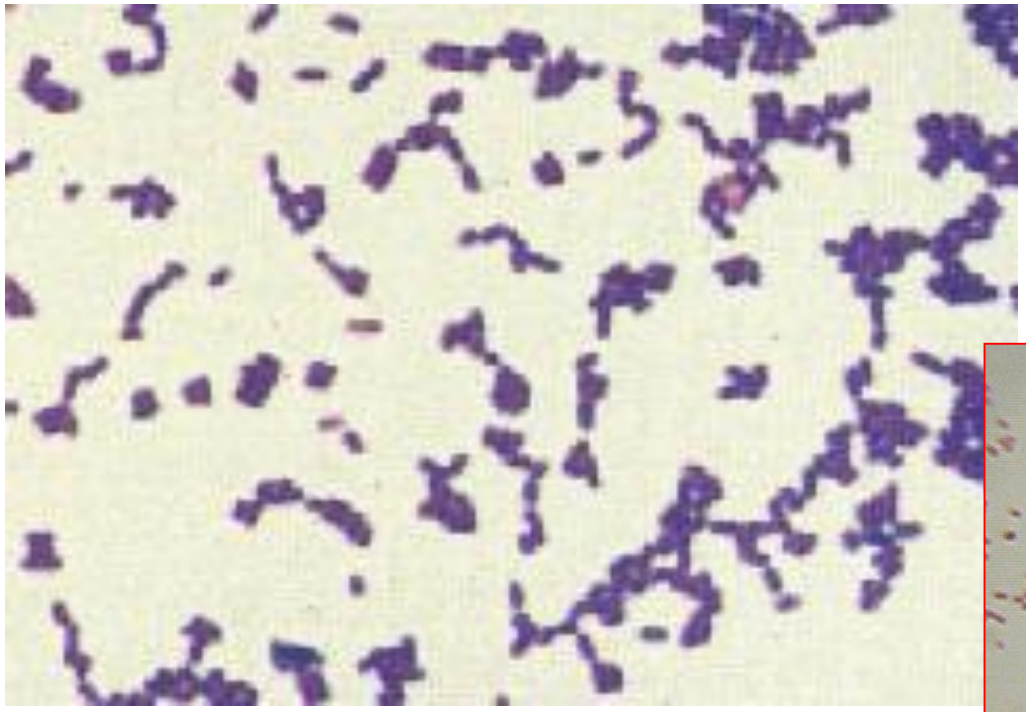
S. epidermidis

S. haemoluticus

S. saccharolyticus

Micrococcus luteus - شكل الميكروب كروى

- نظام التجمع مفرد أو فى تجمعات غير منتظمة

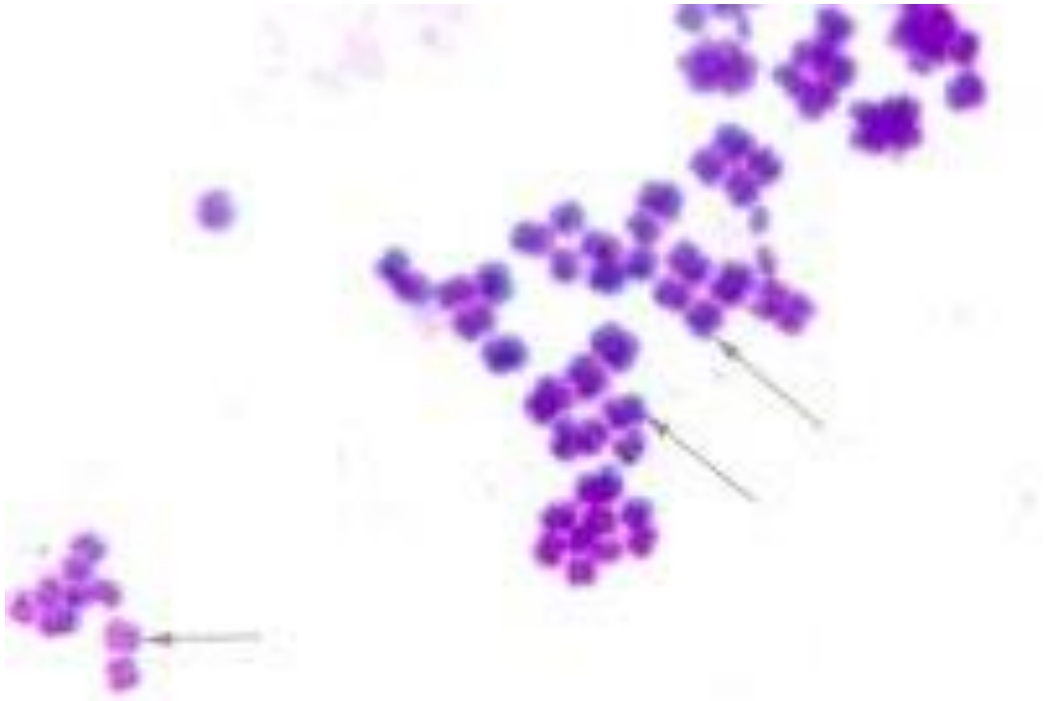


مكتشف حتى الآن 9 أنواع من جنس *Micrococcus* sp أهمها :

M. luteus

***Pediococcus* sp .** - شكل الميكروب   كروى

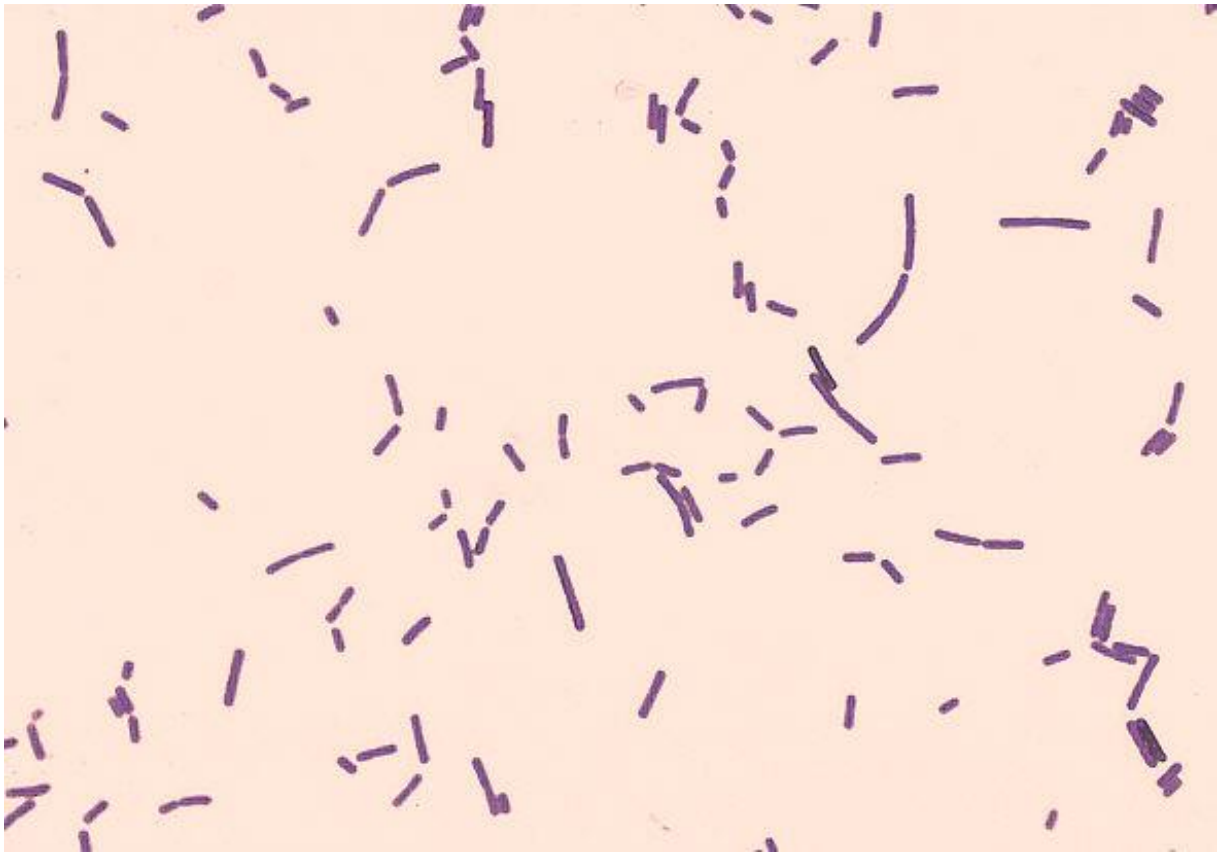
- نظام التجمع   فى شكل رباعى



ثانياً : الشكل العصوى

***Bacillus* sp.** - شكل الميكروب عصوي طويل

- نظام التجمع مفرد أو فى أزاج او فى سلاسل



مكتشف حتى الآن 34 نوع من جنس **Bacillus sp** أشهرها ما يلى :

- *B. alvei*
- *B. anthracis*
- *B. cerculans*
- *B. cereus*
- *B. coagulans*
- *B. lentimorbus*
- *B. licheniformis*
- *B. megaterium*

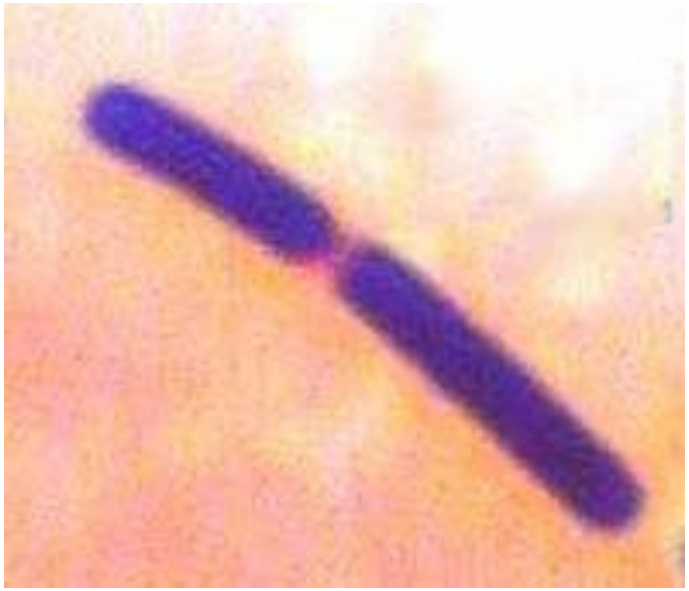
- *B. sphaericus*
- *B. stearothermophilus*
- ***B. subtilis***
- *B. pasteurii*
- *B. polymaxa*
- *B. popilliae*
- *B. thuringiensis*

مكتشف حتى الآن 44 نوع من جنس ***Lactobacillus*** sp أشهرها ما يلى :

L. plantarum

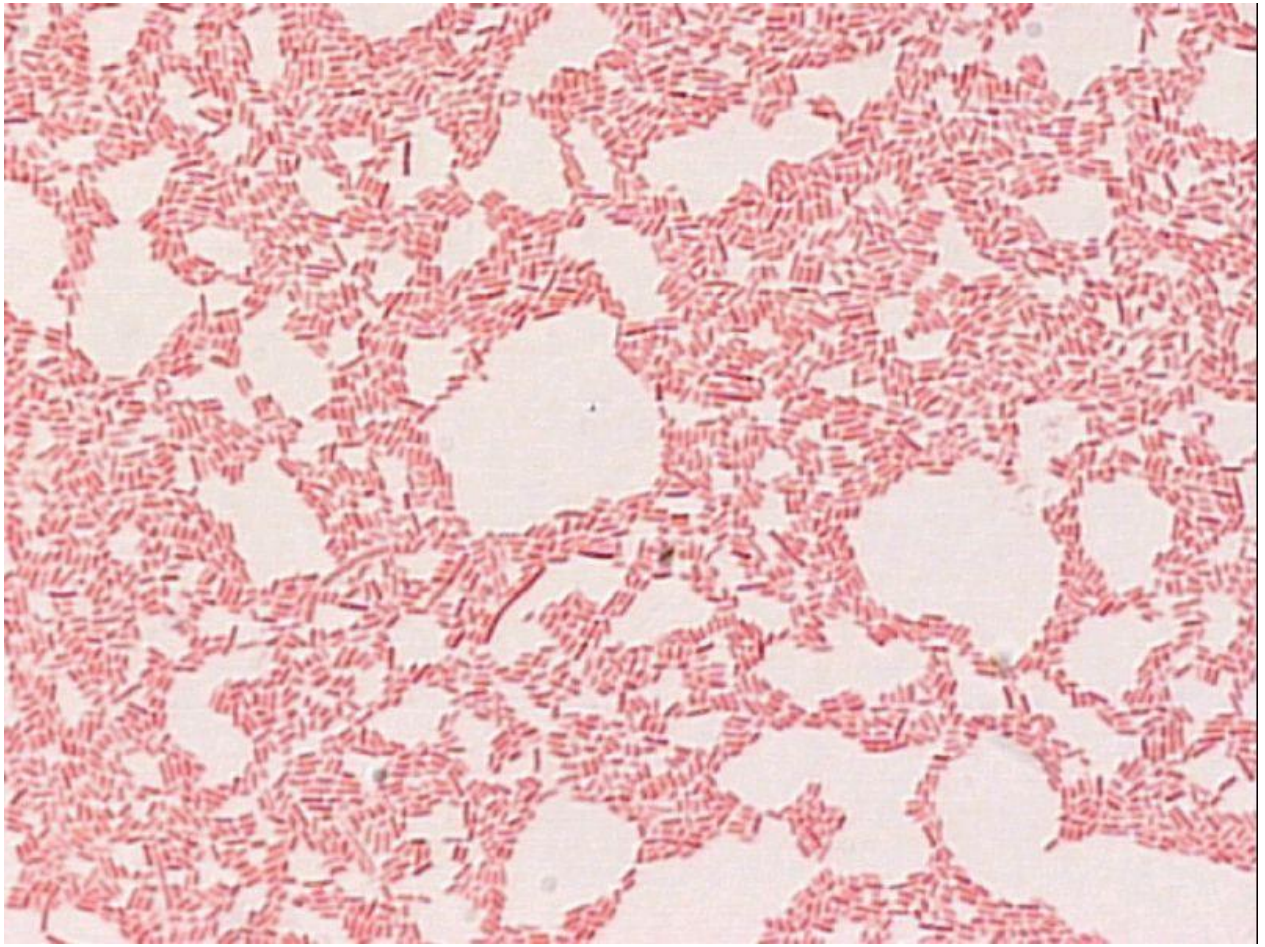
L. acidophilus

L. delbruechii var. bulgaricus



Pseudomonas **sp.** - شكل الميكروب عصوي قصير

- نظام التجمع مفرد



مكتشف حتى الآن 27 نوع من جنس ***Pseudomonas sp*** أشهرها ما يلى :

P. aeruginosa

P. alcaligenes

P. mendocina

P. syringae

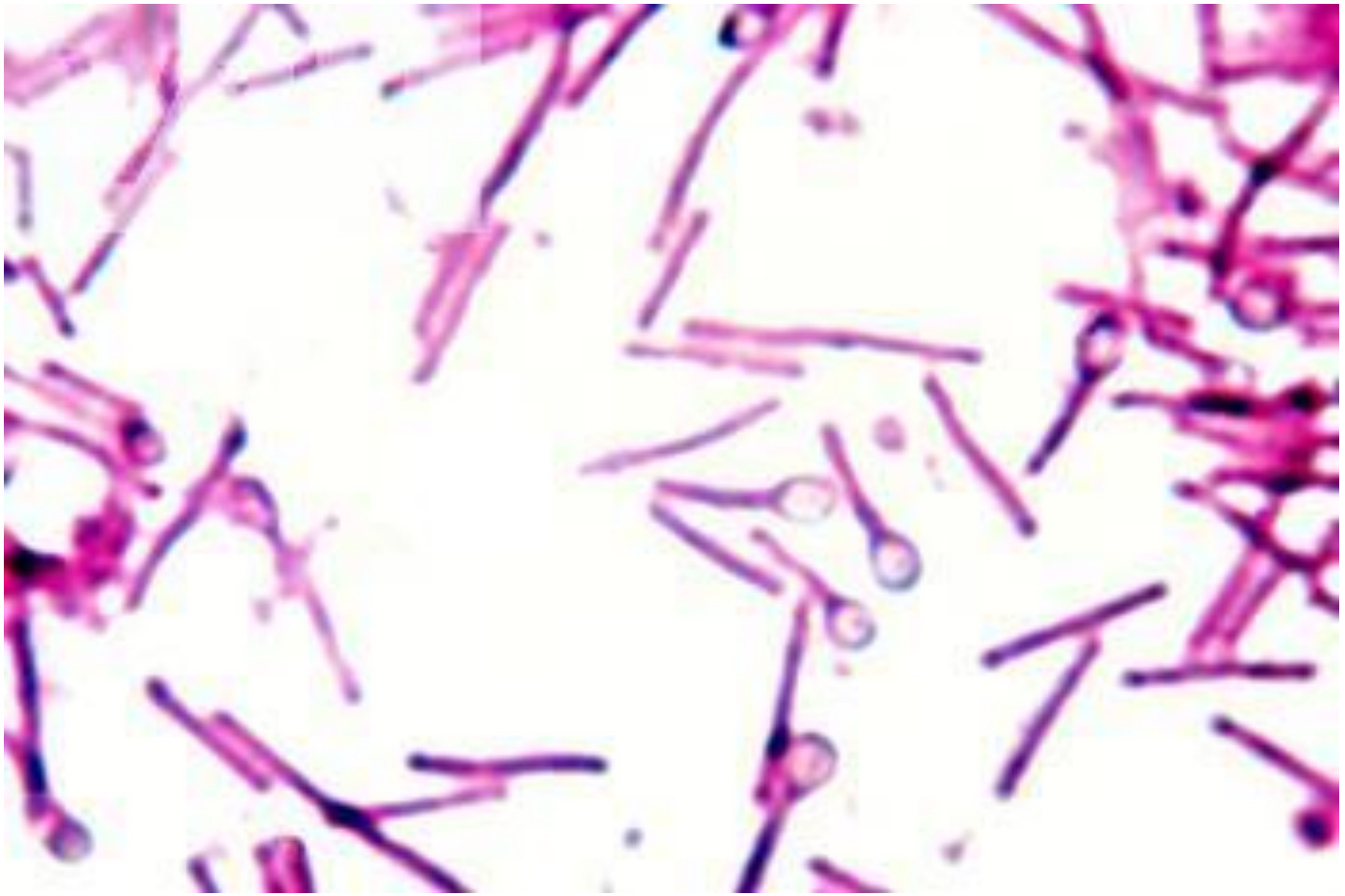
P. solanasearum

P. fluorescens

P. putida

***Clostridium* sp.** - شكل الميكروب عصوى طويل

- نظام التجمع مفرد



مكتشف حتى الآن 82 نوع من جنس **Clostridium sp** أشهرها ما يلى :

C. aceticum

C. acetobutylicum

C. botulinum

C. butyricum

C. haemolyticum

C. pasteurianum

C. perfringens

C. polysaccharolyticum

C. propionicum

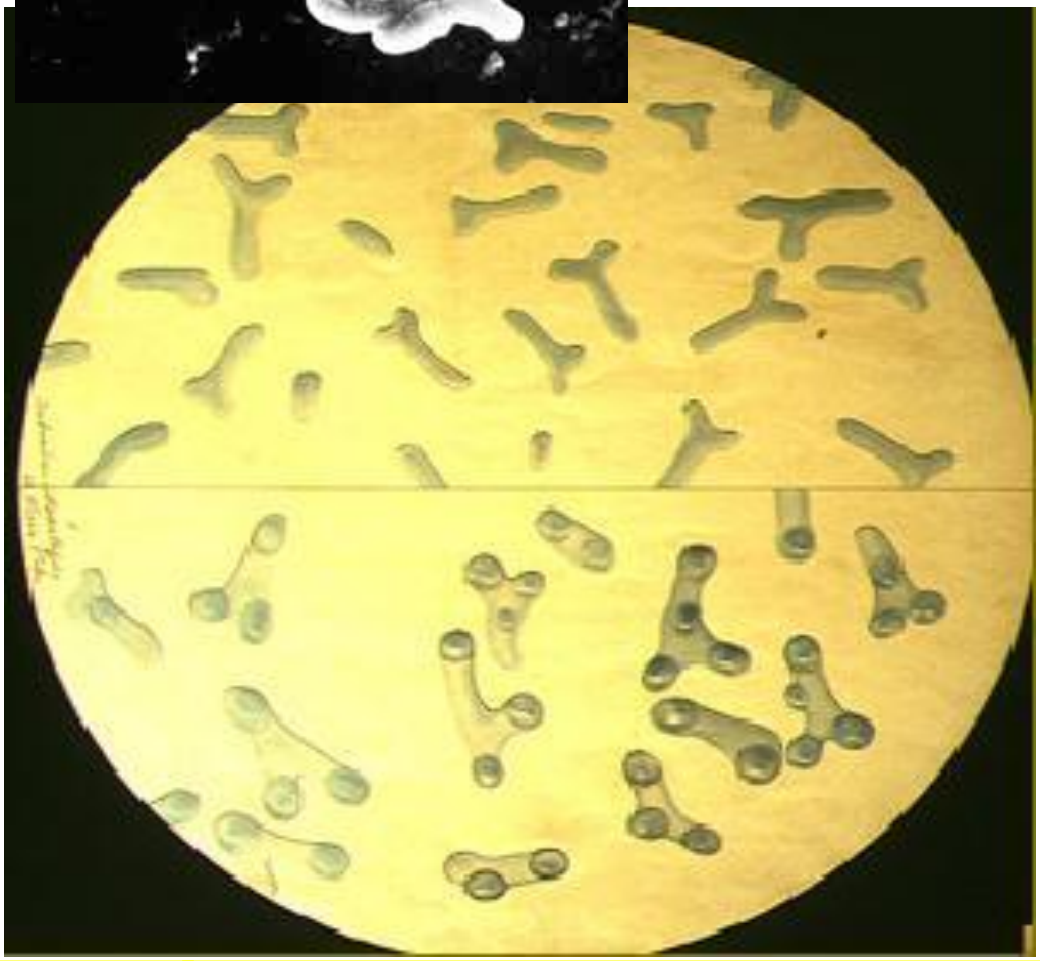
C. purinilyticum

C. putrificum

C. sporogenes

C. tetani

C. thermosaccharolyticum



***Rhizobium* sp.** - يأخذ شكل حروف اللغة الإنجليزية

Y، T، L ، X - نظام التجمع مفرد

***Bradyrhizobium* sp.**

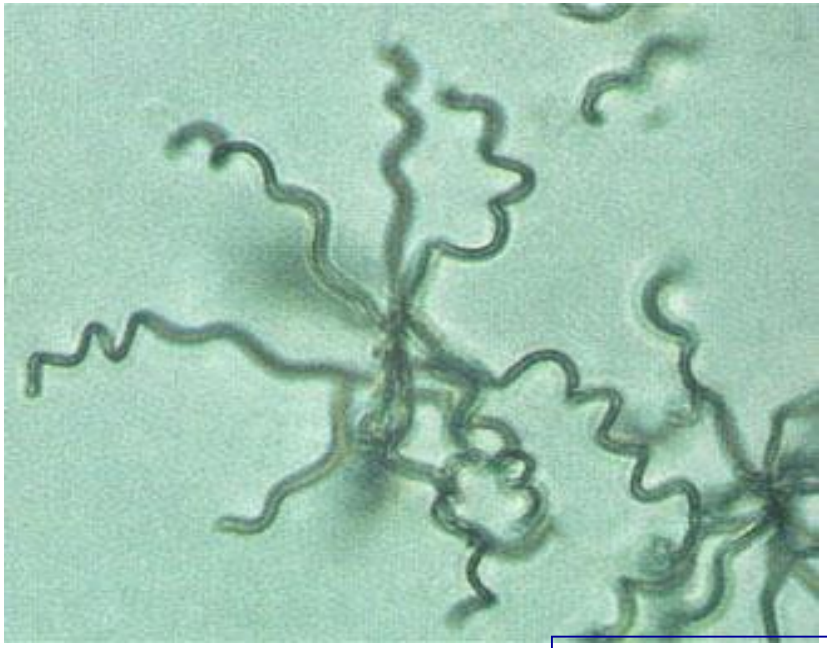
أشهر الأنواع

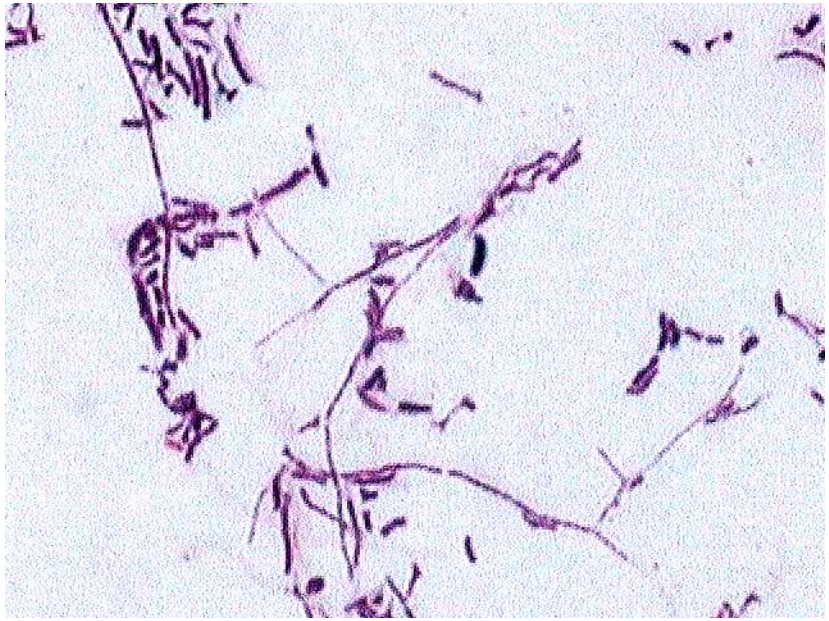
- ***R. meliloti***
- ***R. leguminosarum***
- ***R. trifolii***
- ***R. phaseoli***
- ***B. lupini***
- ***B. japonicum***

ثالثاً : الشكل الخيطى

***Streptomyces* sp.** - شكل الميكروب خيطى متفرع

- نظام التجمع مفرد

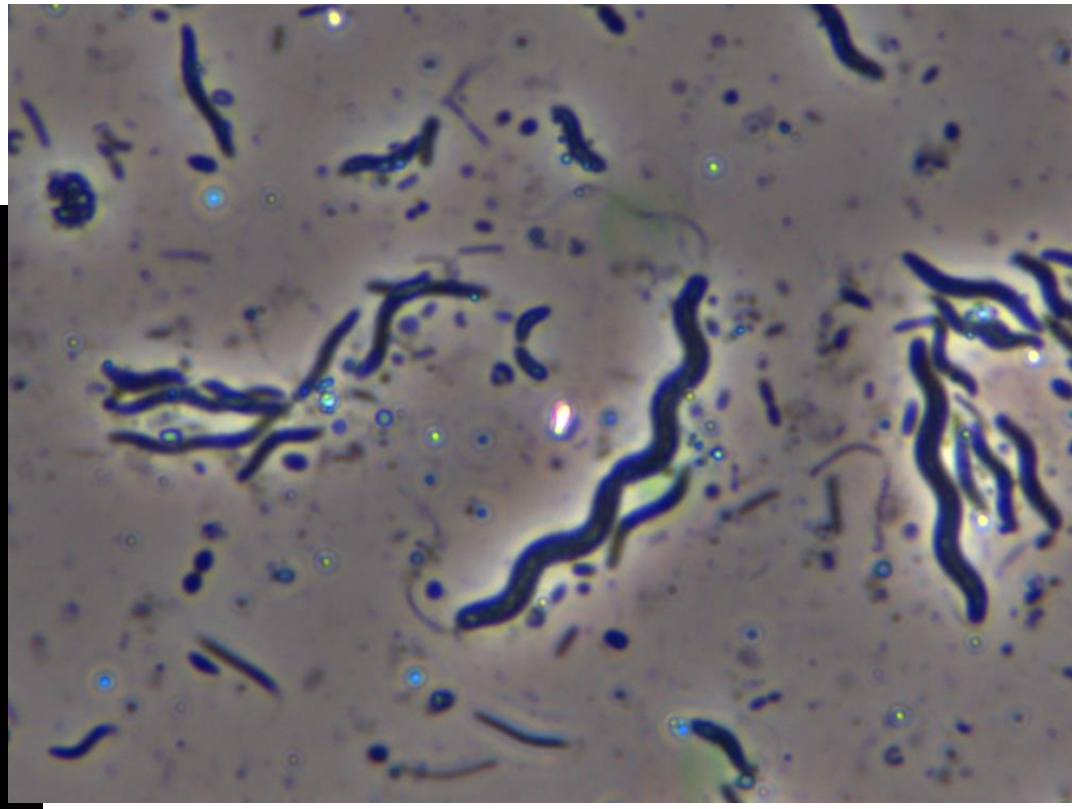


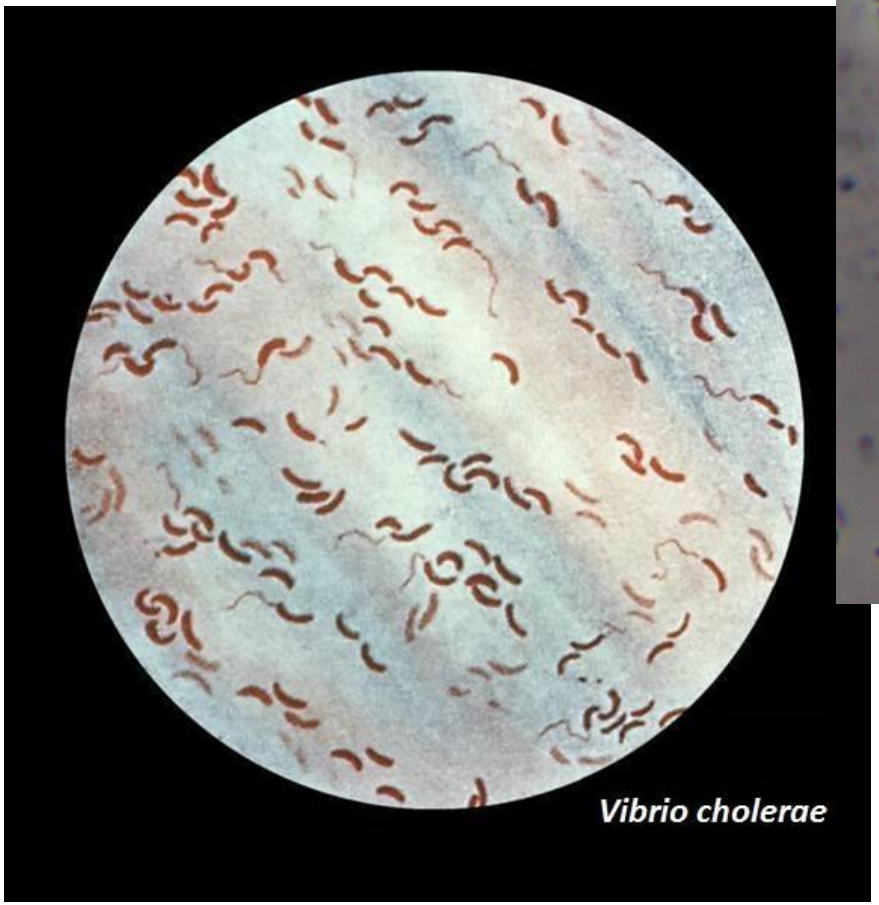


أشهر أنواع جنس ***Streptomyces* sp** ما يلى :

S. albus - S. bovis - S. griseus - S. scabies

ربعاً : الشكل الحلزونى

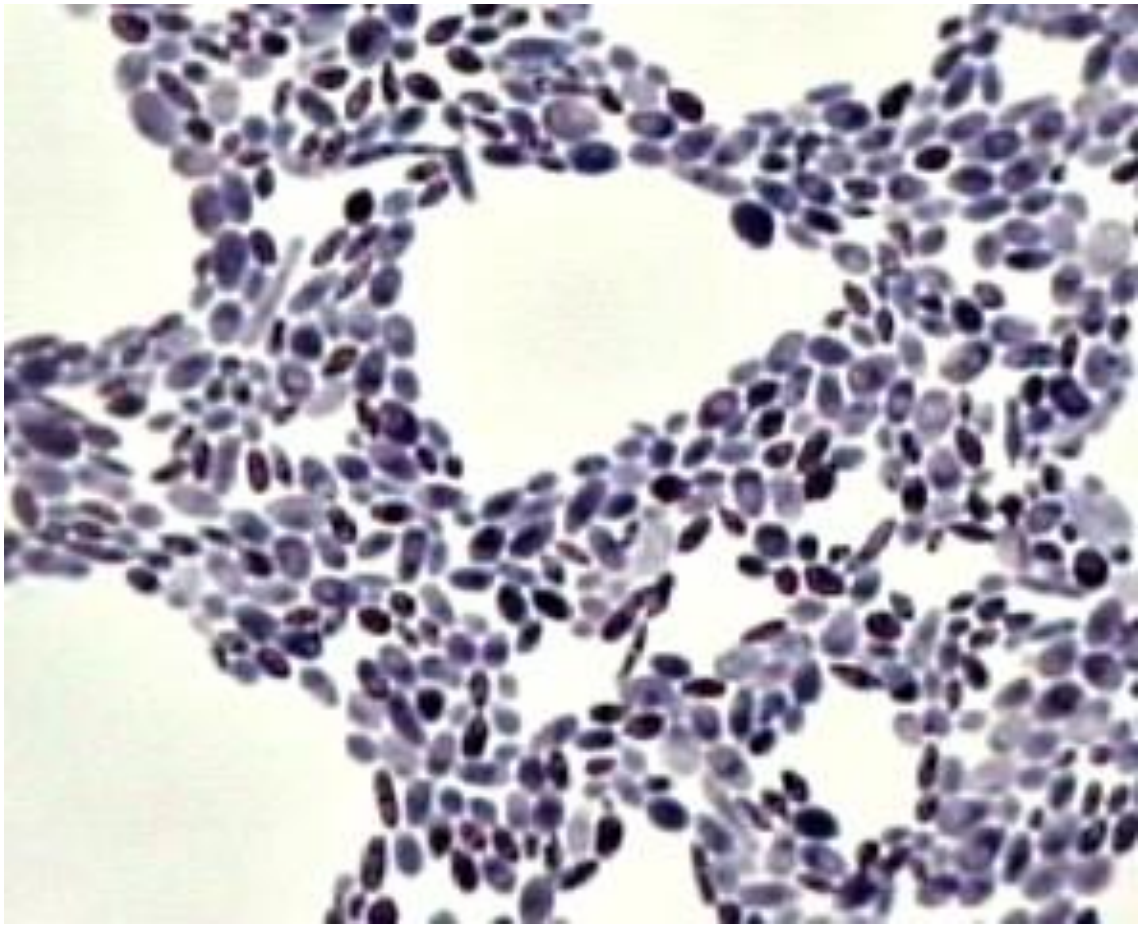




***Spirochaeta* sp.**

Sacharomyces cervisiae - شكل الميكروب بيضاوى

- نظام التجمع مفرد



Negative stain الصبغ السالب

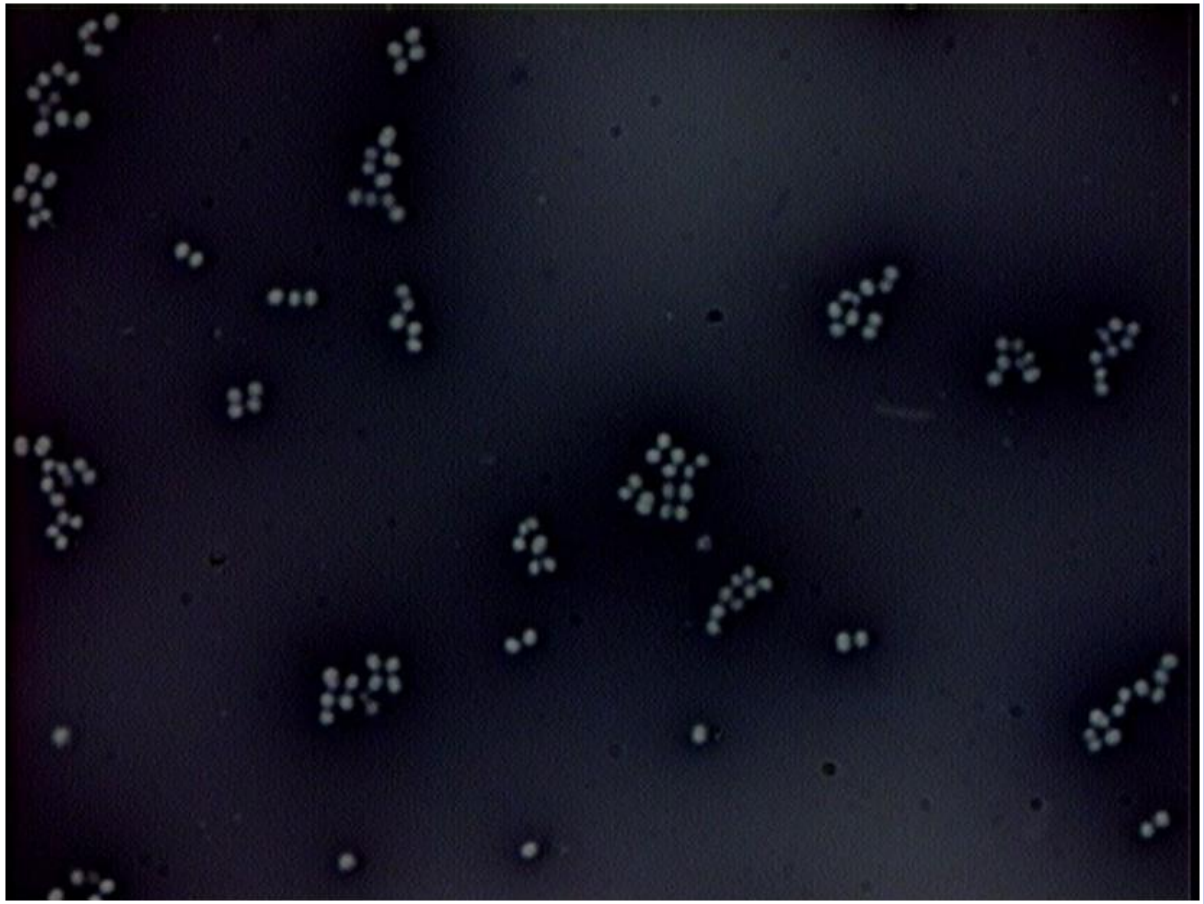
تستخدم هذه الطريقة عند قياس حجم البكتيريا الحقيقى حيث تظهر الخلايا بحجمها الطبيعي وذلك لأن الغشاء يتم تحضيره على البارد ولا تستخدم الحرارة مطلقاً، كما يمكن أيضا التعرف على شكل الخلية البكتيرية ونظام تجمعها. وفى هذه الطريقة يتم صبغ الشريحة ولا تصبغ الخلايا البكتيرية، فتظهر الخلايا شفافة غير مصبوغة، أو تظهر بلون إضاءة الميكروسكوب، وكأنها نجوم لامعة فى سماء مظلمة.

ويختلف سبب عدم دخول الصبغة المستخدمة فى هذا التكنيك إلى الخلية البكتيرية بإختلاف نوع الصبغة المستخدمة :

1- إما أن تكون الصبغة المستخدمة ذات جزيئات كبيرة لا تنفذ من خلال جدار الخلية مثل الحبر الهندى India ink.

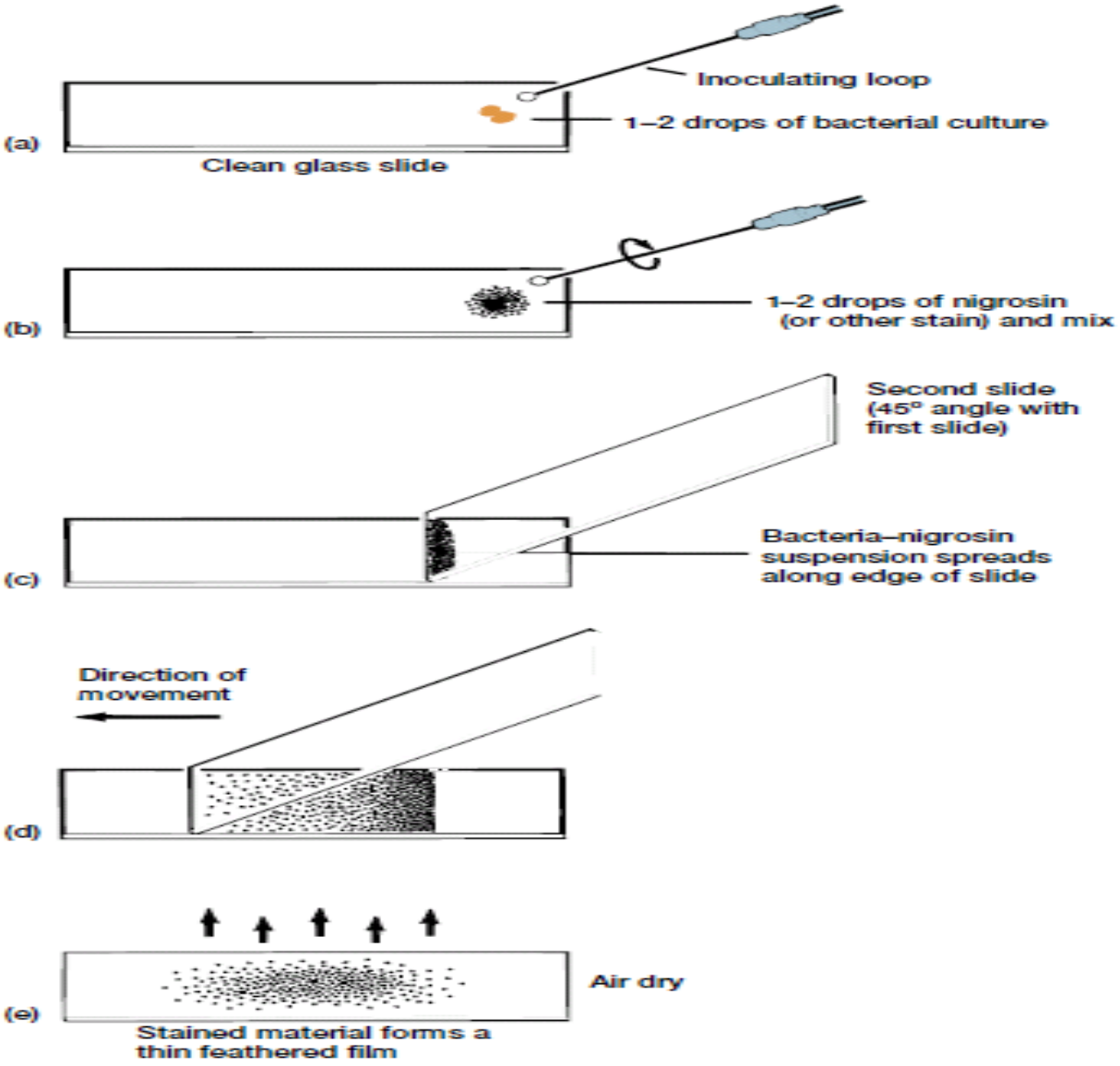
2- أو قد تكون صبغات حامضية ونظرا لإرتفاع محتوى الخلية من الأحماض النووية فإن الشحنة السالبة هى الغالبة على سطح الخلية البكتيرية وبالتالى يحدث تنافر بين الصبغة الحامضية وشحنة الخلية السالبة فلا تدخل الصبغة الخلية مثل النيجروسين Nigrossin.

تكنيك الصبغ السالب



1- ضع غمسة من المزرعة الموجودة أمامك على شريحة زجاجية نظيفة مع وضع نقطة من الحبر الهندى.
2- إنشر المخلوط على الشريحة.
3- أترك الغشاء ليجف فى الهواء.
4- إختبر بإستعمال العدسة الزيتية ، وصف وإرسم ما تشاهده حيث يظهر الحقل الميكروسكوبي ملوناً بينما تظهر الخلايا شفافة.

Figure 6.2 Negative Staining Procedure and Thin Smear Preparation.



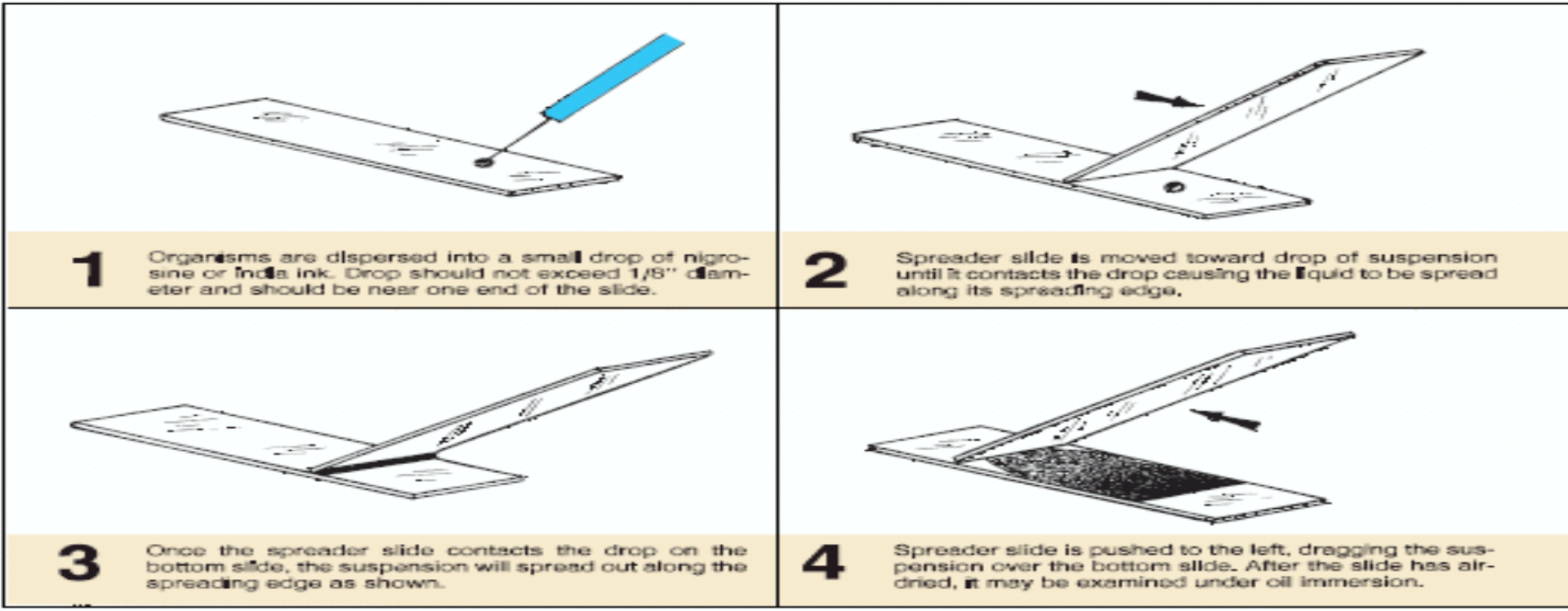


Figure 11.1 Negative staining technique, using a spreader slide

References

Benson, H.J (2001). Microbiological Applications Lab Manual, 8th ed., The McGraw−Hill Companies, USA.

Halt, J.G.; N.R. Krieg; P.H.A. Sneath; J.T. Stanley and S.T. Williams (1994). Bergy's Manual of Determinative Bacteriology. The 9th ed., Williams & Wilkins, Baltimore.

Harley, J.P and L.M. Prescott (2002). Laboratory Exercises in Microbiology. 5th ed., The McGraw−Hill Companies. USA.

Mirsal, I.A (2008). Soil Pollution, Origin, Monitoring and Remediation. 2nd ed., Springer-Verlag Berlin, Germany.

Norris, J.G.; and D.W. Ribbons (1969). Methods in Microbiology. Academic Press INC, London.

Pelczar, M.J.; Jr.E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1993). Microbiology Concepts and Applications. 1st ed., McGraw-Hill, Inc. USA.

Rogers, P.H. (1993). Bacterial Cell Structure. 1st ed., Van Nostrand Reinhold (UK) Co., Ltd. England.

Singleton, P (1997). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine, 4th ed., John Wiley & Sons Ltd, England.

Walstra, P.; T.J. Geurts; A. Noomen; A. Jellema and M.A.J.S van Moekel (2005). Dairy Technology, Principles of Milk Properties and Processes. 1st ed., Marcel Dekker, Inc. USA.

أعضاء هيئة التدريس بقسم الميكروبيولوجيا الزراعية (1999). مذكرات فى الميكروبيولوجيا الزراعية العملية - قسم الميكروبيولوجيا الزراعية – كلية الزراعة – جامعة المنصورة – مصر.

حسين عبد الله محمد الفضالى (2007). الميكروبيولوجيا العامة – الطبعة الأولى - مكتبة نانسى - دمياط الجديدة – مصر.

حسين عبد الله محمد الفضالى (2008). تدريبات عملية فى الميكروبيولوجيا العامة – الطبعة الأولى - مكتبة نانسى - دمياط الجديدة – مصر.

حسين عبد الله محمد الفضالى (2008). ميكروبيولوجيا التربة الزراعية – الطبعة الأولى - مكتبة نانسى - دمياط الجديدة – مصر.

سعد على زكى محمود (1988). الميكروبيولوجيا التطبيقية العملية – مكتبة الأنجلو المصرية – شارع محمد فريد – القاهرة – مصر.

سعد على زكى محمود وعبد الوهاب محمد عبد الحافظ ومحمد الصاوى مبارك (1980). ميكروبيولوجيا الأراضى . مكتبة الأنجلو المصرية – ش محمد فريد – القاهرة.

الشحات محمد رمضان طه وراوية فتحى جمال (2005). ميكروبيولوجيا التخمرات . دار الفكر العربى . الطبعة الأولى . المكتبة العصرية . المنصورة . مصر.

فتحى اسماعيل حوقة وسامية مرسى بيومى وشريف محمد القاضى (2010). تلوث البيئة إلى أين . المكتبة العصرية - المنصورة – مصر.

فتحي إسماعيل علي حوقه وتوفيق سعد محمد شادى (2004). الأسمدة الحيوية ودورها فى حماية البيئة وسلامة الغذاء . الطبعة الأولى . المكتبة العصرية . المنصورة . مصر.

محمود محمد عوض الله السواح (2002). الإنزيمات الميكروبية . المكتبة العصرية . الطبعة الأولى . المنصورة.

محمود محمد عوض الله السواح (2003). إستراتيجيات التحولات الحيوية . المكتبة العصرية . المنصورة.

محمود محمد عوض الله السواح (2003). البيوتكنولوجيا والميكروبات. المكتبة العصرية . المنصورة.

محمود محمد عوض الله السواح وآخرون (2002). الميكروبيولوجيا العامة العملية . الطبعة الأولى . المكتبة العصرية . المنصورة.

محمود محمد عوض الله السواح وإيمان حسين عاشور يوسف (2002). الميكروبيولوجيا العامة . المكتبة العصرية . الطبعة الأولى . المنصورة.

مصطفى كمال أبو الدهب ومحمد عبد القادر الجعرانى (1984) . البكتيريا - الجزء الثانى - التمارين المعملية الأساسية - الطبعة الثانية – دار المعارف – الإسكندرية – مصر.

مصطفى كمال أبو الدهب ومحمد عبد القادر الجعرانى (1984) . البكتيريا . دار المعارف – القاهرة – الطبعة الثانية.

http://biology.uwsp.edu/faculty/TBarta/hydrolysis.html

http://medic.med.uth.tmc.edu/path/oxidase.htm

http://www.austin.cc.tx.us/microbugz/38nutgel.html

http://www.cat.cc.md.us/courses/bio141/labmanua/lab8/catpos.html

http://www.mans.edu.eg/heepf/daac/

http://www.medicalliterature.bravepages.com/diff%20media.htm

http://www.mhhe.com/prescott5

http://www.mmc.edu/microb/dentmicro/PQ/Quizes/Clin_cases99/Lab%20Enterics/Lab_EntCase8.html

http://www.sterilizers.com/

http://www2.austincc.edu/microbugz/31citrate.htm