



# نمو وتكاثر البكتيريا

## Growth and Reproduction of Bacteria



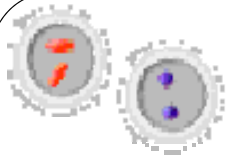
ماذا تعني كلمة نمو؟

طرق التكاثر في البكتيريا

منحنى النمو البكتيري (أطوار منحنى النمو)

نظم تنمية البكتيريا

طرق تقدير النمو البكتيري



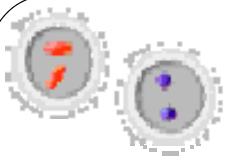
## تنمية البكتيريا



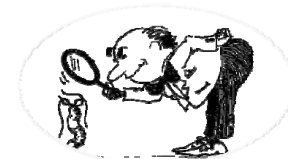
يمكن تنمية البكتيريا بطرق عديدة – توضع تلك الطرق جميعها تحت نظامين أساسيين هما:

١- نظام مزرعة الدفعة الواحدة Batch culture method

٢- نظام المزرعة المستمرة Continuous culture method



# تنمية البكتيريا



## ١- نظام مزرعة الدفعة الواحدة Batch culture method



مزرعة ثابتة

تنمية البكتيريا في دورق زجاجي



مزرعة على جهاز الرج

وفيها يتم تلقيح بيئة غذائية بالبكتيريا

وتحضن تحت الظروف البيئية المناسبة

حيث تنمو البكتيريا وتتكاثر

وتستهلك المواد الغذائية الهامة واللازمة للنمو

دون إضافة أي مواد غذائية جديدة

أو سحب أية نواتج خلال فترة التحضين



# تتمة البكتيريا



## ١- نظام مزرعة الدفعة الواحدة Batch culture method

عيوب أو مشاكل هذا النوع من التتمة

👍 تتناقص تركيزات المواد الغذائية تدريجياً نتيجة تزايد نمو

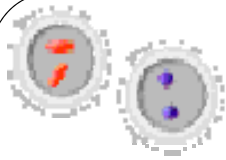
الخلايا البكتيرية بالمزرعة

👍 تراكم إفرازات الأيض الميكروبية الضارة مثل الأحماض

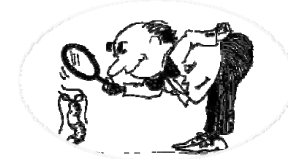
👍 مما يؤثر على النمو البكتيري







# تتمة البكتيريا

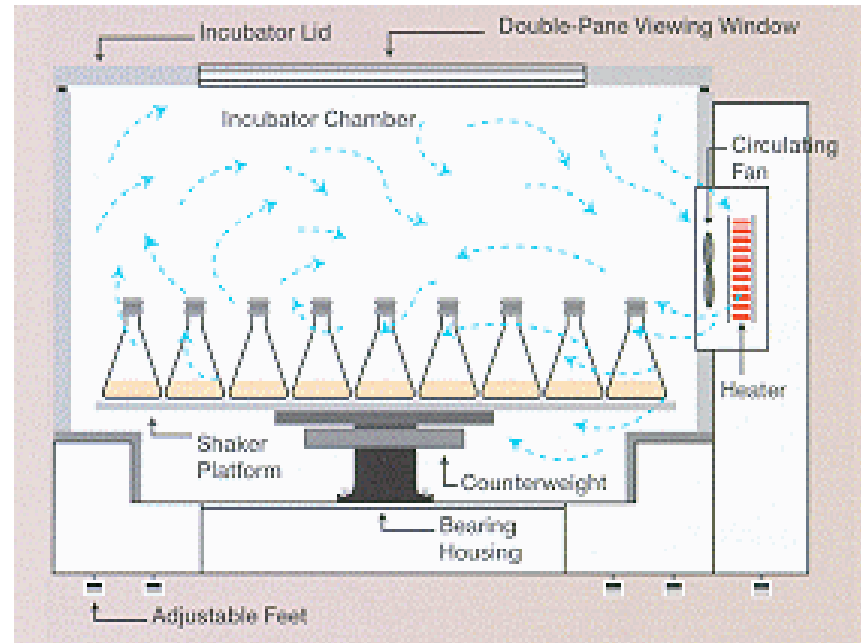


## ١- نظام مزرعة الدفعة الواحدة Batch culture method

### Shake Flask Incubator

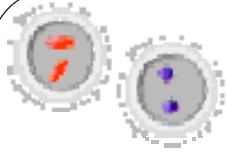


جهاز حضان هزاز



جهاز حضان هزاز - من الداخل وما يحتويه من دوائر زجاجية

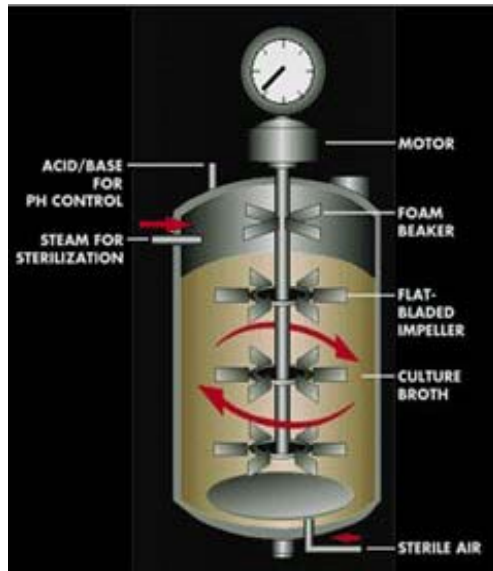
مثال لمزارع الدفعة الواحدة



# تنمية البكتيريا

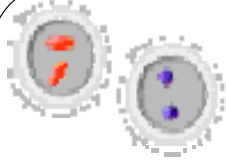


## ١- نظام مزرعة الدفعة الواحدة Batch culture method

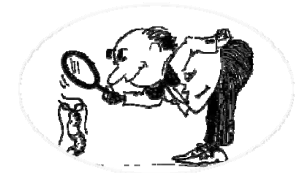


مخمر يستخدم لتنمية البكتيريا  
مزرعة الدفعة الواحدة

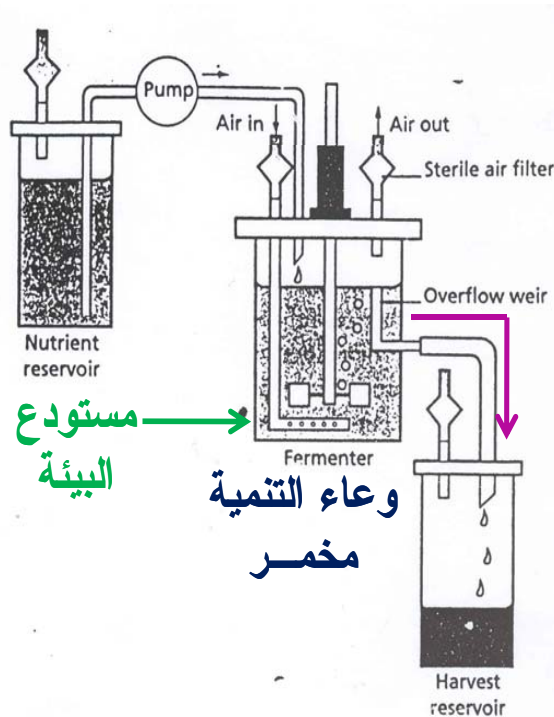
Stirred Tank Fermentor/Bioreactor



# تتمة البكتيريا



## ٢- نظام المزرعة المستمرة Continuous culture method



تجميع نواتج المزرعة

وفيها يتم تلقيح بيئة غذائية بالبكتيريا

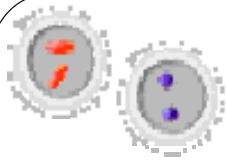
وتتضمن تحت الظروف البيئية المناسبة

حيث تتنمو البكتيريا وتتكاثر

وتستهلك المواد الغذائية الهامة واللازمة للنمو

يتم إضافة مواد مغذية

و سحب نواتج الأيض الضارة



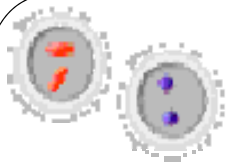
## تتمة البكتيريا



الجدول يوضح الفروق الأساسية بين نظام مزرعة الدفعة الواحدة

ونظام المزرعة المستمرة

نظام المزرعة المستمرة Continuous culture method	نظام مزرعة الدفعة الواحدة Batch culture method	
نظام مفتوح	نظام مغلق Closed system	١
يتطور الميكروب في طور النمو اللوغاريتمي – لهذا نمو الميكروب بحالة ثابتة دائما	يتطور الميكروب النامي بأطوار النمو الأربعة – لهذا نمو الميكروب متغير	٢
ظروف المزرعة ثابتة	تتغير ظروف المزرعة	٣



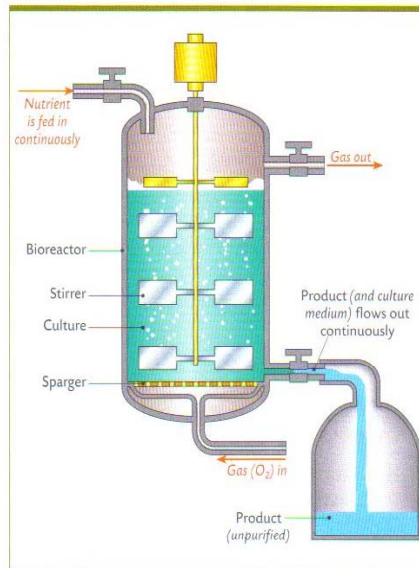
# تربية البكتيريا



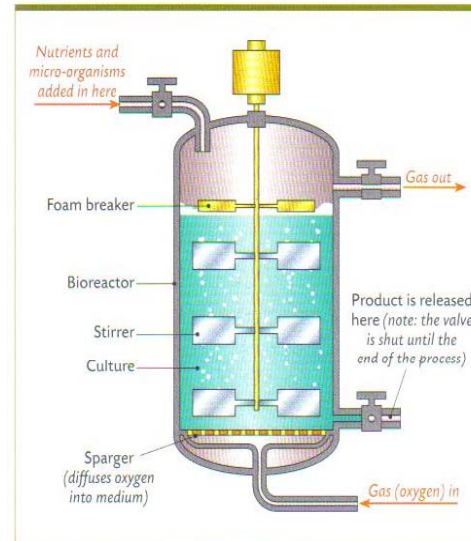
الجدول يوضح الفروق الأساسية بين نظام النمو ذو الدفعة الواحدة ونظام المزرعة المستمرة

نظام المزرعة المستمرة  
Continuous culture method

نظام مزرعة الدفعة الواحدة  
Batch culture method



21.22 A bioreactor for continuous flow processing

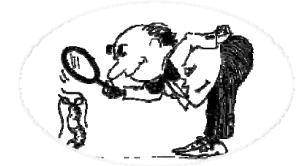


21.20 A bioreactor for batch culture



## طرق تقدير النمو البكتيري

### Methods of Estimating Bacterial Growth



يقدر النمو البكتيري بعدة طرق

تعتمد تلك الطرق على واحدة أو أكثر من القياسات التالية:

١. **عدد الخلايا Cell count** يتم ذلك في طرق العد المباشر بالمجهر أو

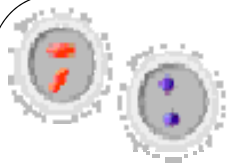
العد غير المباشر للمستعمرات المتكونة على الأطباق البتري

٢. **كتلة الخلايا Cell mass** يتم ذلك مباشرة بالوزن أو بتقدير

النيتروجين الخلوي أو بطرق غير مباشرة بتقدير درجة التعكير

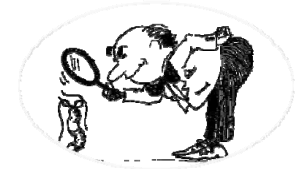
٣. **نشاط الخلايا Cell activity** يتم ذلك بطرق غير مباشرة تعتمد على

الربط بين درجة النشاط البيوكيميائي للخلايا وحجم المجموع البكتيري



## طرق تقدير النمو البكتيري

### Methods of Estimating Bacterial Growth



- ١- العد المباشر بالمجهر
- ٢- العد بطريقة الأطباق
- ٣- العد بالمرشحات الغشائية
- ٤- العد بطريقة التخفيف التقريبية
- ٥- تقدير الوزن الجاف للخلايا
- ٦- تقدير المحتوى النيتروجيني للخلايا
- ٧- تقدير النمو البكتيري باستخدام القياسات البصرية

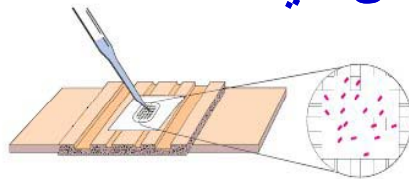
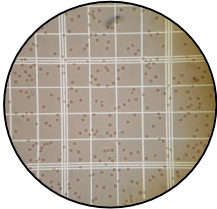


# طرق تقدير النمو البكتيري

## Methods of Estimating Bacterial Growth

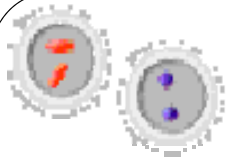


### ١- العد المباشر بالمجهر Direct Microscopic count



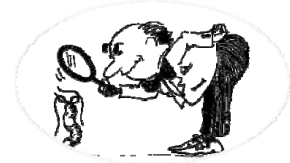
- حجم معلوم من المعلق البكتيري
- ينشر على مساحة محددة من شريحة الفحص الزجاجية مثل
  - شريحة الهيموسايتومتر Haemocytometer
  - أو شريحة بريد Breed slide
- يثبت الغشاء ويصبغ ويفحص وتعد البكتيريا في عدة مجالات
- يحسب العدد الموجود في ١ جم تربة جافة أو ١ مل عينة سائلة



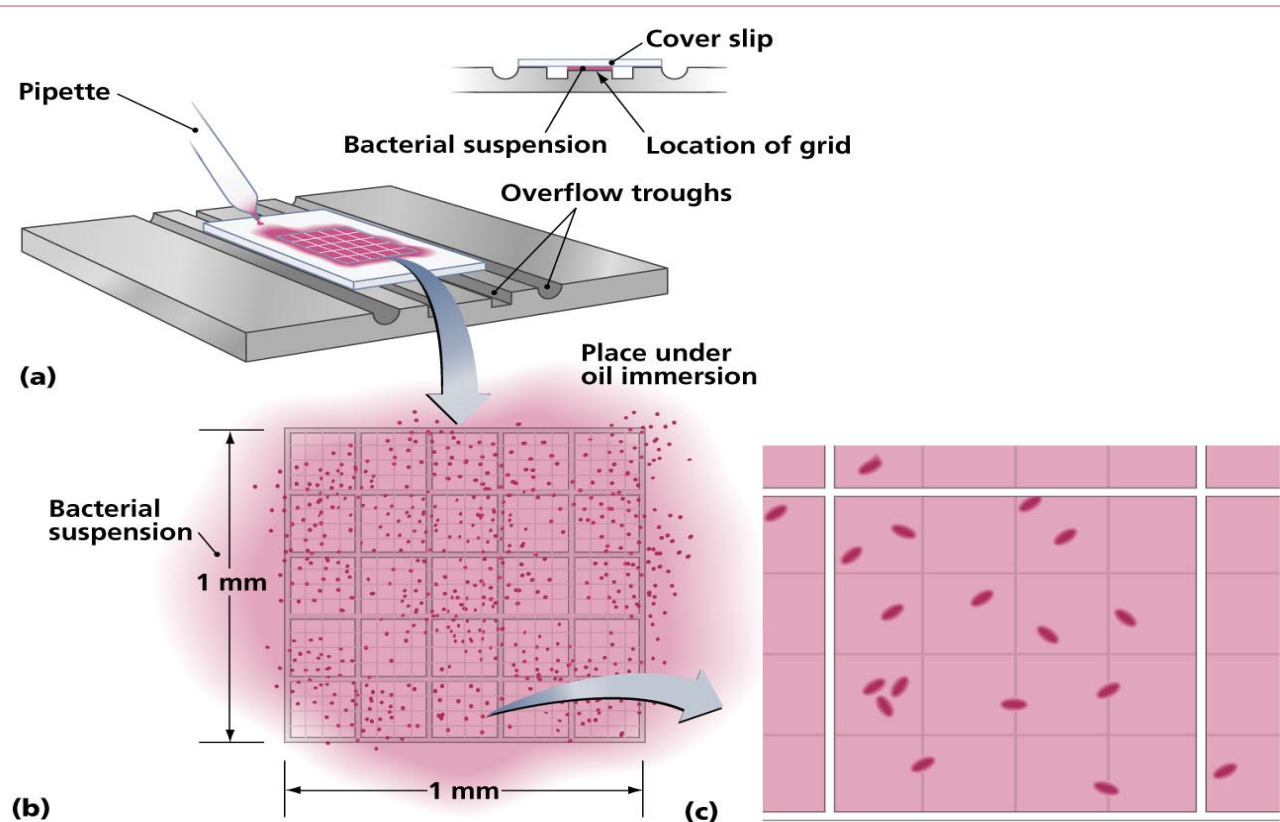


# طرق تقدير النمو البكتيري

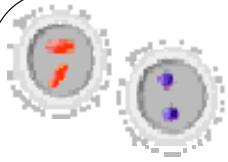
## Methods of Estimating Bacterial Growth



### تابع: العد المباشر بالمجهر Direct Microscopic count



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



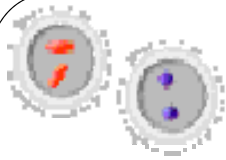
### تابع: العد المباشر بالمجهر Direct Microscopic count

#### • من مميزات تلك الطريقة

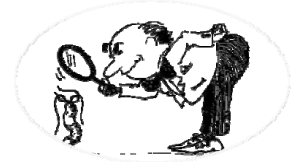
- ١- سريعة
- ٢- سهلة – لا تحتاج إلى تجهيزات خاصة
- ٣- يمكنك ملاحظة الشكل المورفولوجي للبكتيريا أثناء عدها تحت المجهر

#### • من عيوب تلك الطريقة

- ١- تجهد نظر الفاحص باستمرار إجرائها
- ٢- يصعب استخدامها لعد البكتيريا النامية في بيئات صلبة – لتكتل الخلايا وصعوبة فردها
- ٣- يصعب التمييز بين الخلايا البكتيرية الحية والخلايا البكتيرية الميتة



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### تابع: العد المباشر بالمجهر Direct Microscopic count

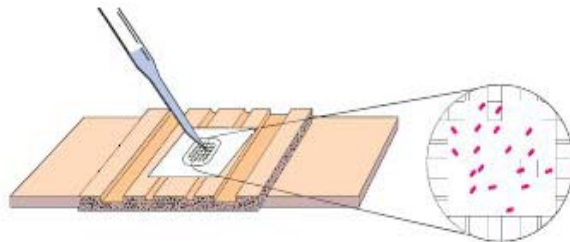
من الشرائح الزجاجية المستخدمة في العد المباشر بالمجهر

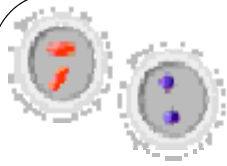
١- شريحة بريد Breed slide

تستخدم بكثرة في عد البكتيريا الموجودة في اللبن

٢- شريحة الهيموسايتومتر Haemocytometer

تستعمل غالباً في أغراض طبية منها عد خلايا كرات الدم الحمراء





## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٢- العد بطريقة الأطباق Plate Count Methods

تستعمل لعد البكتيريا الموجودة في الماء واللبن والأغذية والتربة وغيرها

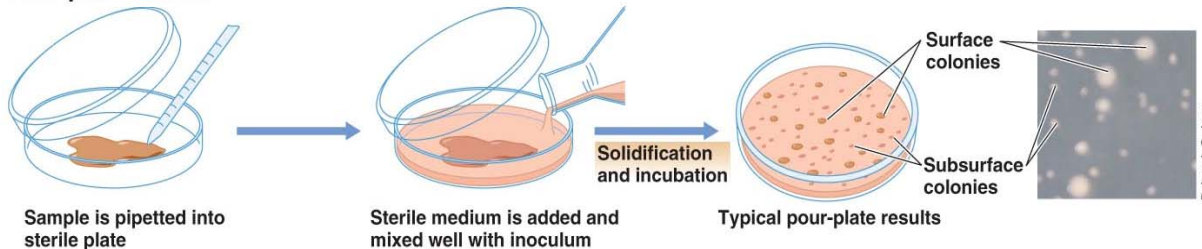
١- يتم عمل سلسلة من التخفيفات

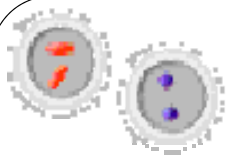
٢- يوضع ١ مل من كل تخفيف في طبق بتري معقم

٣- تصب بيئة الاجار بالطبق ويحضن

٤- تنمو كل خلية بكتيرية لتكون مستعمرة يمكن مشاهدتها بالعين المجردة

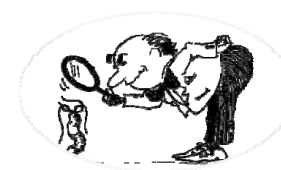
Pour-plate method



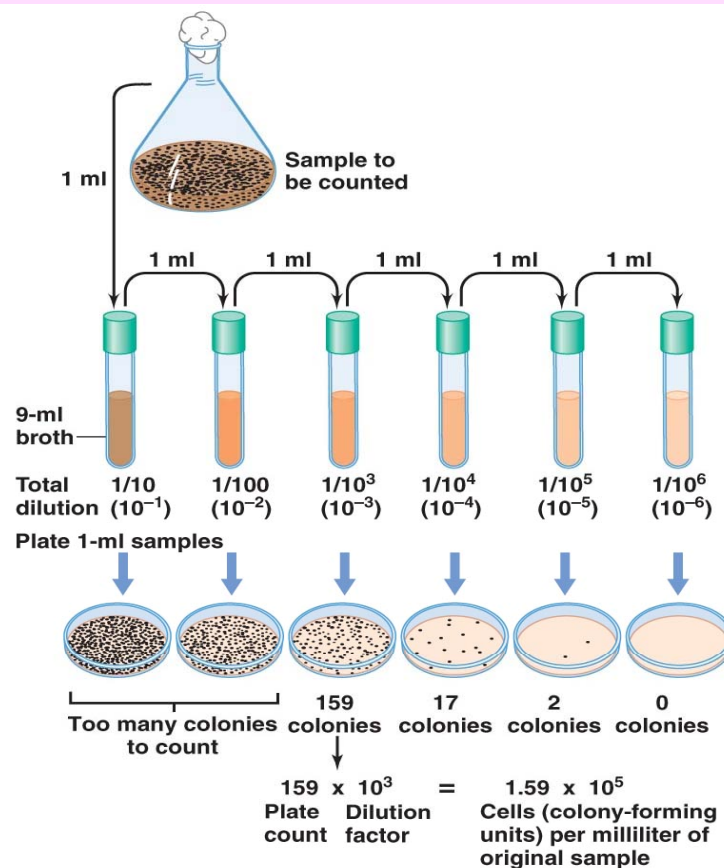


# طرق تقدير النمو البكتيري

## Methods of Estimating Bacterial Growth

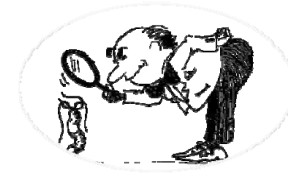


### تابع: العد بطريقة الأطباق Plate Count Methods





## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٢- العد بطريقة الأطباق Plate Count Methods

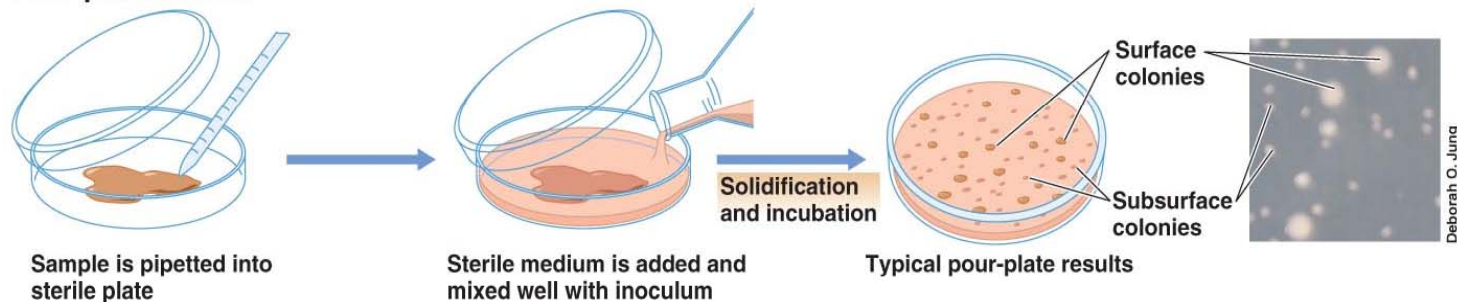
٥- تختار الأطباق ذات العدد المناسب من المستعمرات

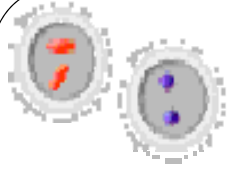
(ما بين ٣٠-٣٠٠ مستعمرة بالطبق)

٦- بمعرفة عدد المستعمرات بالطبق يمكنك حساب عدد البكتيريا الموجودة

في ١ مل أو ١ جم تربة جافة

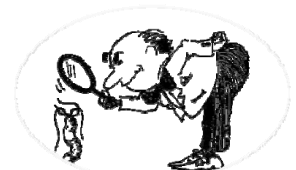
Pour-plate method



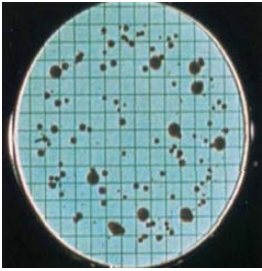


# طرق تقدير النمو البكتيري

## Methods of Estimating Bacterial Growth



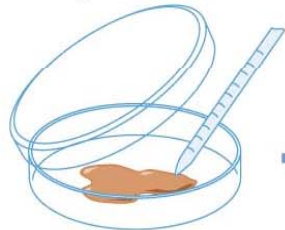
### تابع: العد بطريقة الأطباق Plate Count Methods



من مميزات تلك الطريقة

يتم عد الخلايا البكتيرية الحية فقط أي القادرة على النمو والتكاثر

#### Pour-plate method

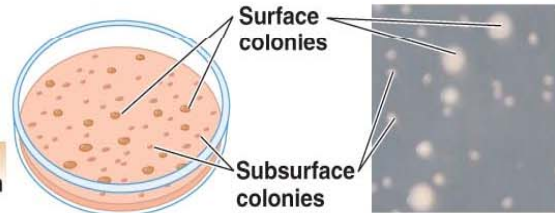


Sample is pipetted into sterile plate



Sterile medium is added and mixed well with inoculum

Solidification and incubation

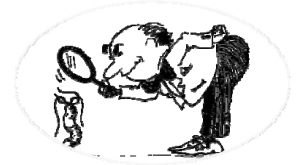


Typical pour-plate results

Deborah O. Jung



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth

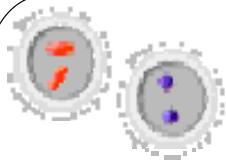


### تابع: العد بطريقة الأطباق Plate Count Methods

من عيوب تلك الطريقة

- ١- تحتاج إلى وقت طويل
- ٢- تحتاج إلى أجهزة وأدوات
- ٣- تعطي عدد أقل من الحقيقي – لان البيئة المستخدمة وظروف التحضين لا تناسب كل الأنواع البكتيرية الموجودة بالعينة الجاري فحصها – كذلك المستعمرة المتكونة قد تكون ناتجة من خلية واحدة أو سلسلة من الخلايا أو كتلة متجمعة من الخلايا





## طرق تقدير النمو البكتيري

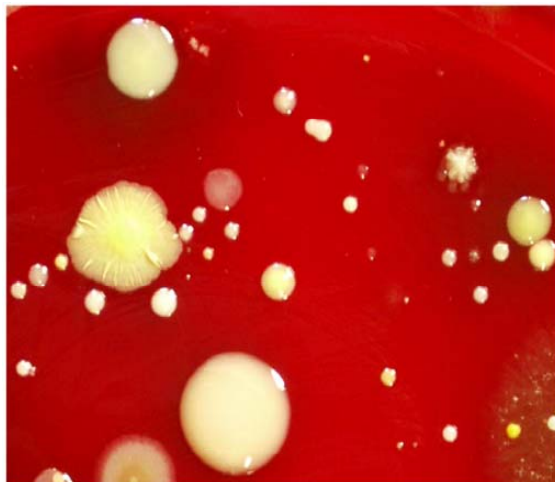
Methods of Estimating Bacterial Growth



### تابع: العد بطريقة الأطباق Plate Count Methods

لذلك يشار إلى الأعداد البكتيرية التي تم تقديرها بهذه الطريقة بتعبير  
الوحدات المكونة للمستعمرات لكل مل

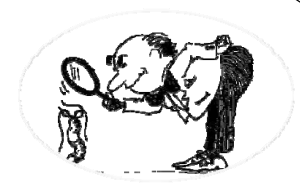
Colony-forming units/ml (CFU/ml)



بدلاً من خلية بكتيرية لكل مل

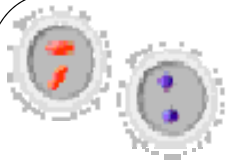


## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٣- العد بالمرشحات الغشائية Membrane Filter count

- المرشحات الغشائية هي عبارة عن أقراص مصنعة من مواد متبلمرة (مثل الكلوديون) أو من خلاات السليولوز
- ذات ثقوب دقيقة - متجانسة التوزيع
- تستعمل المرشحات لفصل الكائنات الدقيقة الموجودة في المحاليل المختبرة - كما تستعمل في تعريف الميكروبات - وفي عد البكتيريا الموجودة في السوائل

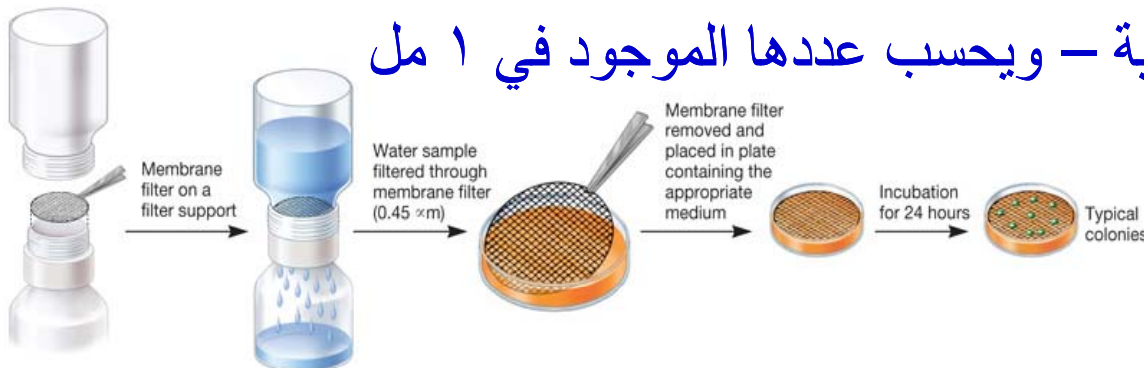


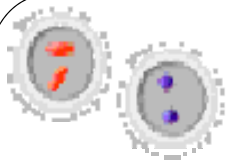
## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### تابع: العد بالمرشحات الغشائية Membrane Filter count

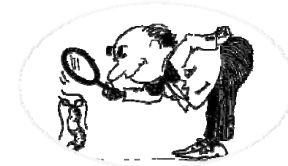
- تستعمل مرشحات غشائية ذات ثقب سعتها حوالي ٠.٤٥ ميكرومتر – لحجز البكتيريا الموجودة بحجم معين من السائل – على سطح المرشح الغشائي – ثم تنمى البكتيريا المحبوسة على المرشح بوضع المرشح بما عليه من بكتيريا – على بيئة مناسبة – بعد التحضين يقدر عدد البكتيريا النامية – ويحسب عددها الموجود في ١ مل



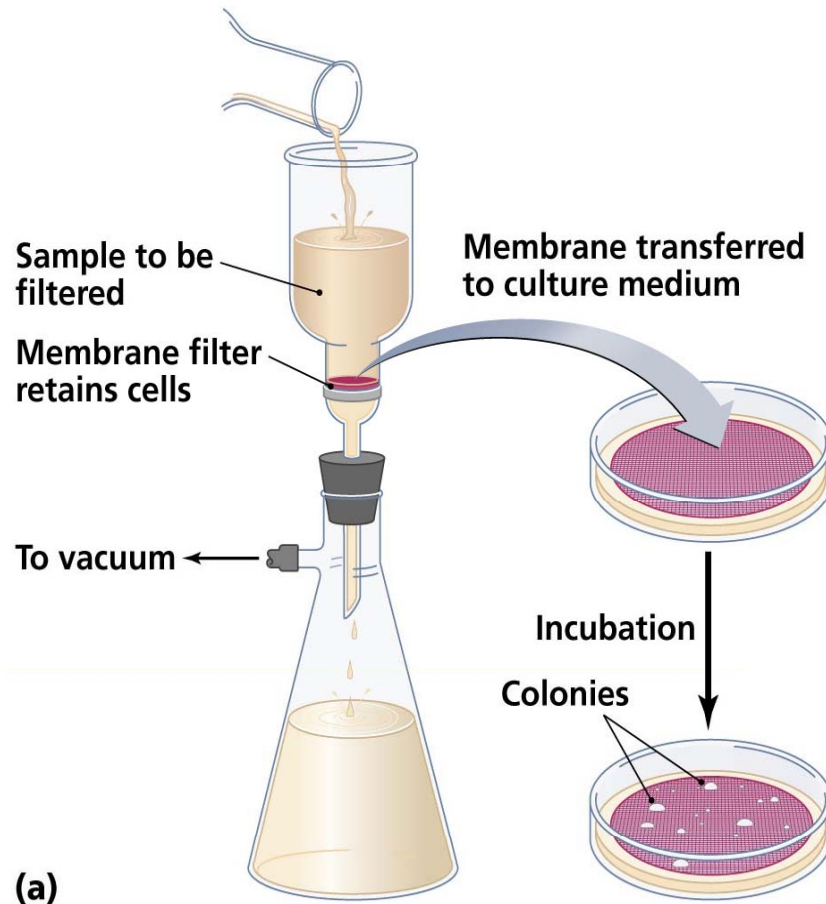


# طرق تقدير النمو البكتيري

## Methods of Estimating Bacterial Growth



### تابع: العد بالمرشحات الغشائية Membrane Filter count





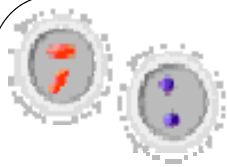
## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



تابع: العد بالمرشحات الغشائية Membrane Filter count

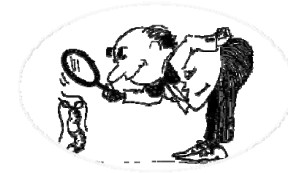
من مميزات تلك الطريقة

- ١- سرعة إجرائها
- ٢- سهولة عد البكتيريا مع إمكانية التمييز بين أنواعها باستخدام  
البيئات المناسبة
- ٣- يمكن عد البكتيريا في كميات كبيرة من المياه والسوائل بسهولة  
لتعطي نتائج أكثر تمثيلاً



## طرق تقدير النمو البكتيري

### Methods of Estimating Bacterial Growth

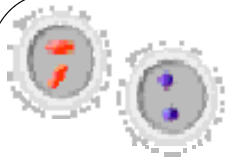


#### ٤- العد بطريقة التخفيف التقريبية Dilution frequency method

- تعرف أيضاً باسم طريقة العدد الأكثر احتمالاً

#### Most probable number method (MPN)

- تستخدم هذه الطريقة في فحص عينات المياه والمجاري والأراضي

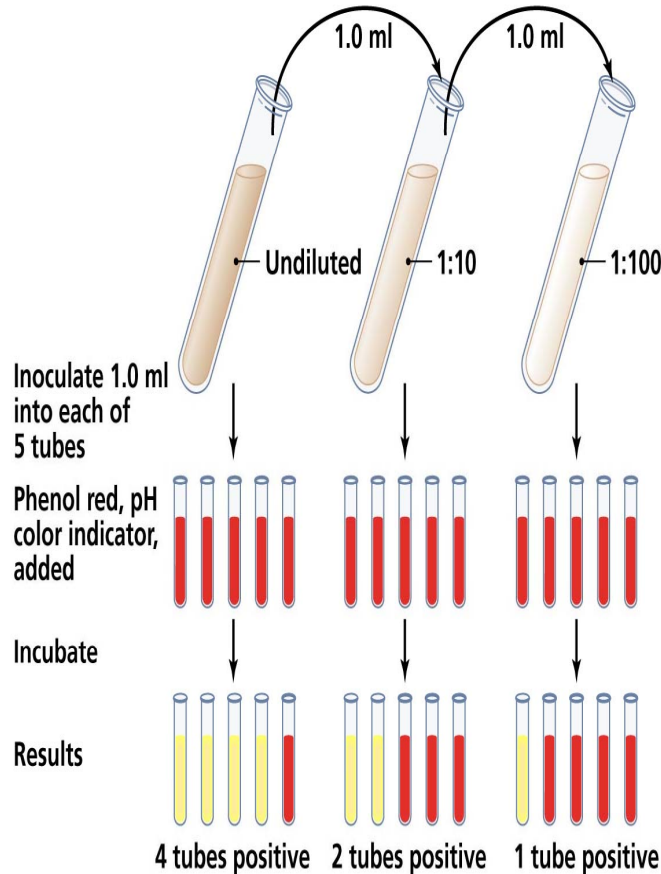


## طرق تقدير النمو البكتيري

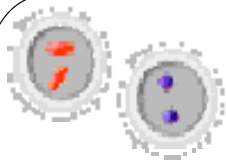
### Methods of Estimating Bacterial Growth



#### ٤- العد بطريقة التخفيف التقريبية Dilution frequency method



- يتم عمل عدة تخفيفات من المزرعة المراد عد البكتيريا بها
- يؤخذ ١ مل من كل تخفيف لتلقيح أنابيب بيئة سائلة مناسبة – مع عمل مكررات (٥ مكررات)
- بعد تحضين الأنابيب الملقحة ومكرراتها
- يقدر عدد الأنابيب الموجبة للنمو في ثلاث تخفيفات متتالية



## طرق تقدير النمو البكتيري

### Methods of Estimating Bacterial Growth



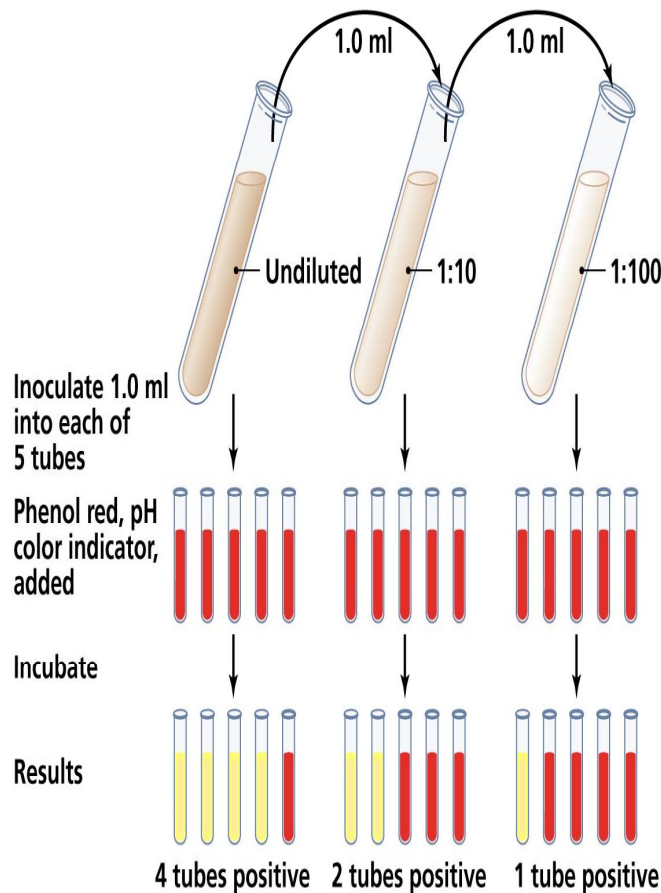
#### ٤- العد بطريقة التخفيف التقريبية Dilution frequency method

• ومن جداول خاصة تعرف باسم

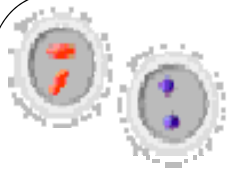
جداول الأعداد الأكثر احتمالاً

Most probable number tables

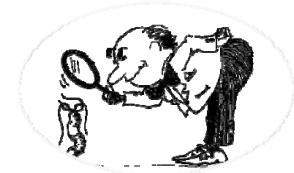
يقدر عدد البكتيريا الموجودة في ١ مل عينة







## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٤- العد بطريقة التخفيف التقريبية Dilution frequency method

من مميزات تلك الطريقة

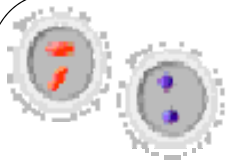
يتم نمو البكتيريا الحية فقط الموجودة بالعينة

من عيوب تلك الطريقة

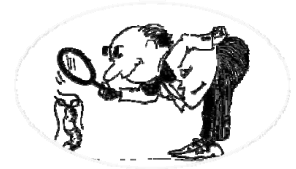
١- تحتاج إلى وقت طويل

٢- تحتاج إلى أدوات وأنباب كثيرة

٣- تعطي نتائج تقريبية

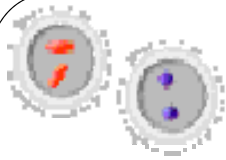


## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٥- تقدير الوزن الجاف للخلايا Dry weight

- يؤخذ عينة من المزرعة المراد تقدير كمية النمو بها
- يتم فصل خلايا المزرعة بترسيبها بالطرد المركزي
- تجفف الخلايا على ١٠٥ درجة مئوية لمدة ١٢ ساعة – تترك لتبرد
- توزن – ثم يقدر الوزن الجاف للخلايا



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٥- تقدير الوزن الجاف للخلايا Dry weight

من مميزات هذه الطريقة

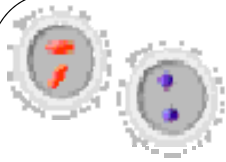
١- سرعة وبساطة إجرائها

من عيوب تلك الطريقة

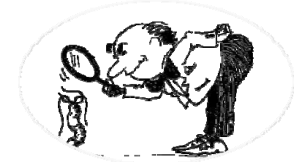
١- تقدر الوزن الجاف لكل من الخلايا الحية والخلايا الميتة الموجودة

بالعينة

٢- لا تصلح إلا في المعلقات البكتيرية كثيفة النمو



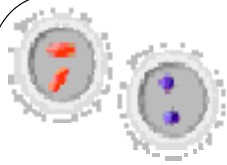
## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٥- تقدير الوزن الجاف للخلايا Dry weight

من عيوب تلك الطريقة

٣- في بعض الخلايا البكتيرية لا يمكننا الربط بين وزن الخلايا البكتيرية وعددها مثال ذلك بكتيريا *Azotobacter* في مرحلة متأخرة من النمو (نهاية الطور اللوغاريتمي وأثناء الطور الثابت) تزداد محتويات الخلية الداخلية نتيجة تكوين مادة البولي هيدروكسي بيوتيرات عدة مرات دون أن يقابل تلك الزيادة في الكتلة ما يتكافأ معها من زيادة في عدد الخلايا البكتيرية



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth

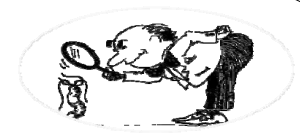


### ٦- تقدير المحتوى النيتروجيني للخلايا Nitrogen content of cells

- يعتبر البروتين من أهم مكونات الخلية البكتيرية
- ويشكل النيتروجين أهم عناصر البروتين
- إن كمية النيتروجين الخلوي للبكتيريا ستكون متكافئة مع عدد وحجم خلايا المزرعة
- في أغلب أنواع البكتيريا – نسبة النيتروجين بالبروتين البكتيري حوالي ١٤ % من الوزن الجاف للخلية



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth

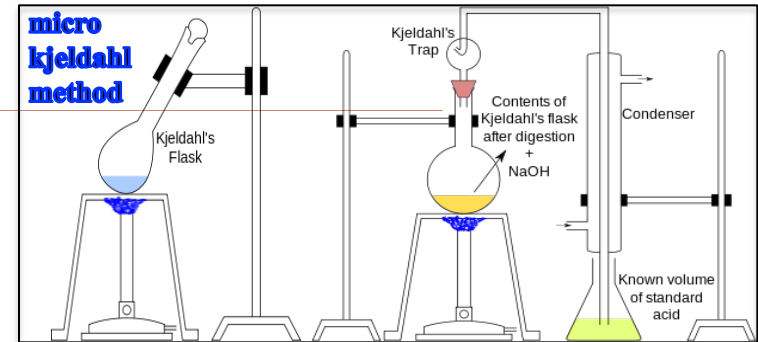


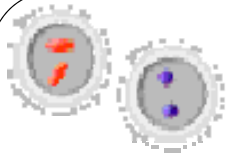
### ٦- تقدير المحتوى النيتروجيني للخلايا Nitrogen content of cells

- ١- يؤخذ جزء من المزرعة البكتيرية المراد تقدير كمية النمو بها
- ٢- تفصل الخلايا من المزرعة بترسيبها بالطرد المركزي
- ٣- تغسل الخلايا عدة مرات لتخليصها تماما مما حولها من عناصر البيئة الغذائية

٤- يقدر كمية النيتروجين الكلي بالخلايا كيميائياً (بطريقة ميكروكلداهل)  
أو بطرق بصرية لونية (مثل طريقة Lowry)

**Lowry method**  
principle of  
determining protein  
concentrations lies in  
the reactivity of the  
peptide nitrogen[s]  
with the copper ions





## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth

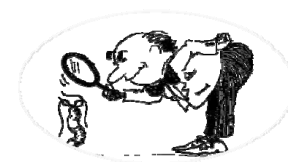


### ٦- تقدير المحتوى النيتروجيني للخلايا Nitrogen content of cells

- من عيوب تلك الطريقة (تتشابه مع عيوب طريقة التقدير بالوزن الجاف)
- يقدر نيتروجين كل من الخلايا البكتيرية الحية والميتة الموجودة بالعينة
- لا يمكن إجراؤها إلا مع المزارع الكثيفة النمو والمغسولة جيداً
- طريقة معقدة – لذلك تستعمل عادة في الأغراض البحثية



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٧- تقدير النمو البكتيري باستخدام القياسات البصرية Optical methods for estimating bacterial growth



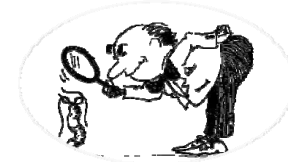
(a)

- نتيجة نمو الخلايا البكتيرية يتكون معلق غروي يحجب ويعكس الضوء المار من خلاله
- كمية الضوء الذي يمتص Absorbed أو ينعكس Reflected بواسطة معلق الخلايا يتناسب طردياً مع تركيز الخلايا الموجود بالمعلق



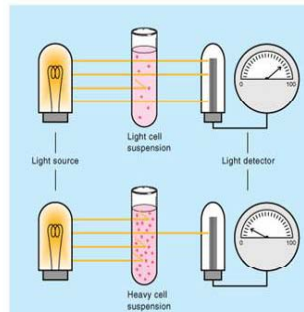


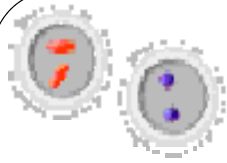
## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٧- تقدير النمو البكتيري باستخدام القياسات البصرية Optical methods for estimating bacterial growth

- كمية الضوء أو الأشعة النافذة من المعلق تتناسب عكسياً مع تركيز الخلايا الموجودة بالمعلق
- أي أنه كلما زاد تعكير البيئة نتيجة زيادة النمو البكتيري كلما قلت قراءة جهاز قياس التعكير





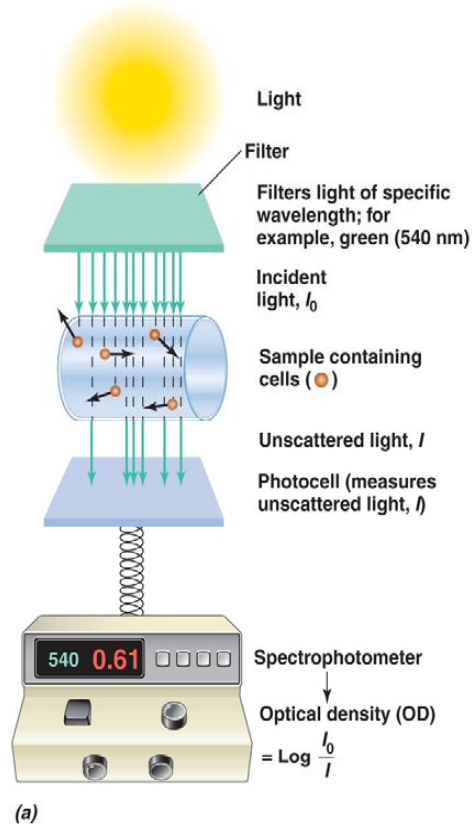
# طرق تقدير النمو البكتيري

## Methods of Estimating Bacterial Growth



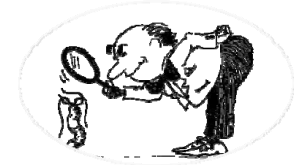
### ٧- تقدير النمو البكتيري باستخدام القياسات البصرية

### Optical methods for estimating bacterial growth





## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



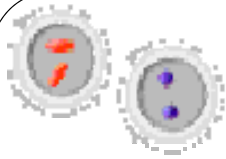
### ٧- تقدير النمو البكتيري باستخدام القياسات البصرية Optical methods for estimating bacterial growth

من أجهزة القياس البصرية :

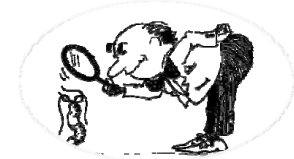
جهاز قياس الألوان Colorimeter

جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer

جهاز قياس التعكير Turbidimeter



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٧- تقدير النمو البكتيري باستخدام القياسات البصرية Optical methods for estimating bacterial growth

- بقياس نسبة الأشعة الممتصة – يمكنك تقدير عدد الخلايا الموجودة بالمعلق
- تتم معظم تلك التقديرات باستخدام جهاز قياس التعكير Turbidimeter
- لقياس الأشعة النافذة
- تقدر درجة تعكير المعلقات البكتيرية الملونة على طول موجي ٤٢٠ nm
- أما المعلقات البكتيرية ذات اللون الأصفر أو المائل إلى اللون البني على طول موجي ٦٠٠ نانومتر



## طرق تقدير النمو البكتيري Methods of Estimating Bacterial Growth



### ٧- تقدير النمو البكتيري باستخدام القياسات البصرية Optical methods for estimating bacterial growth

من مميزات تلك الطريقة

سريعة ودقيقة

من عيوب تلك الطريقة

١. تقدر الخلايا الحية والميتة معا

٢. لا يمكن استعمالها في المعلقات التي تحتوي على مواد أخرى

عالقة غير البكتيريا