الكلية	العلوم
القسم	علوم الحياة
المادة باللغة الانجليزية	Microbiology
المادة باللغة العربية	الاحياء المجهرية
المرحلة الدراسية	الثانية
اسم التدريسي	عبدالباسط محمد جاسم حمادي
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	Bacterial isolates preservation
عنوان المحاضرة باللغة العربية	حفظ العينات البكتيرية وأنواع الحفظ
رقم المحاضرة	الثامنة
المصادر والمراجع	• الزعبي، علي أحمد .أساسيات علم الأحياء الدقيقة .عمان: دار المسيرة للنشر والتوزيع، ٢٠١٢. • Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. Microbiology. 9th Edition. McGraw-Hill, 2014

المختبر الثامن

حفظ العينات البكتيرية وأنواع الحفظ

أولاً: أهداف المحاضرة

١. التعرف على أهمية حفظ العينات البكتيرية في المختبرات.
٢. معرفة الطرق المختلفة لحفظ العينات على المدى القصير والطويل.
٣. تدريب الطالب على اختيار الطريقة المناسبة للحفظ حسب نوع التجربة والمدة المطلوبة.

ثانياً: مقدمة

حفظ العينات البكتيرية يعد من أهم الخطوات في مختبرات الأحياء المجهرية، حيث يضمن بقاء العزلات البكتيرية حية وسليمة لفترات مختلفة، مما يسمح بإعادة دراستها واستخدامها في البحوث أو التطبيقات الصناعية والطبية.
تتأثر كفاءة الحفظ بعدة عوامل، مثل: نوع البكتيريا، الوسط المستخدم، ودرجة الحرارة.

ثالثاً: أنواع الحفظ

1- الحفظ قصير الأمد (Short-term preservation)

يستعمل عندما نحتاج البكتيريا لفترة قصيرة (من أيام إلى أسابيع).

الطرق:

- **الحفظ على الأوساط الصلبة:(Agar slants)**

يزرع البكتيريا على مائل أغار.

تحفظ عند ٤ °م في الثلاجة.

مدة الحفظ: ١ – ٤ أسابيع.

- **الحفظ في المرق:(Broth cultures)**

زراعة البكتيريا في مرق غذائي.

تحفظ في درجة ٤ °م.

✦فائدة: سهلة وسريعة.

✦عيب: لا تصلح للحفظ الطويل حيث تفقد البكتيريا حيويتها تدريجياً.

-2الحفظ متوسط الأمد(Intermediate-term preservation)

يُستخدم إذا كان مطلوب الاحتفاظ بالعزلات من عدة أشهر حتى سنة.

الطرق:

- **التغطية بالزيت المعدني:(Mineral oil overlay)**

زرع البكتيريا على مائل أغار.

تغطية السطح بطبقة من الزيت المعدني المعقم.

يمنع الجفاف ويحافظ على البكتيريا.

مدة الحفظ: حتى ١ سنة أو أكثر.

- **التجفيف على أقراص ورقية أو حبوب معقمة:**

تستعمل لبعض البكتيريا المقاومة للجفاف.

-3الحفظ طويل الأمد(Long-term preservation)

يستعمل لحفظ البكتيريا لسنوات طويلة دون فقدان حيويتها.

الطرق:

- **التجميد العميق:(Deep freezing)**

حفظ البكتيريا عند -٧٠ °م أو -٨٠ °م.

يضاف غليسيرول (Glycerol 15-20%) كمادة واقية من التجميد.

مدة الحفظ: عدة سنوات.

- **الحفظ في النيتروجين السائل:(Liquid nitrogen)**

درجة حرارة: -١٩٦ °م.

تحفظ العزلات لعشرات السنين.

تُستخدم للعينات البكتيرية المهمة جداً أو السلالات المرجعية.

- **التجفيف بالتجميد:(Lyophilization)**

إزالة الماء من البكتيريا تحت ضغط منخفض بعد تجميدها.

تبقى البكتيريا في صورة مسحوق جاف.

عند الحاجة تُعاد إماهة البكتيريا وتزرع.

مدة الحفظ: ١٠–٢٠ سنة.

رابعاً: مناقشة

- اختيار طريقة الحفظ يعتمد على **مدة الحاجة** و**نوع البكتيريا**.
- الحفظ قصير الأمد مناسب للاستخدام الروتيني.
- الحفظ طويل الأمد ضروري للبحوث العلمية وحفظ السلالات المرجعية.
- بعض البكتيريا حساسة وتتطلب ظروف خاصة عند الحفظ مثل إضافة مواد واقية (كالجلسرين أو الحليب المجفف).

خامساً: أسئلة للمراجعة

١. ما الفرق بين الحفظ قصير الأمد وطويل الأمد للبكتيريا؟

٢. لماذا نضيف الجلسرين عند التجميد العميق للبكتيريا؟

٣. ما هي ميزة طريقة **Lyophilization** مقارنة بطرق الحفظ الأخرى؟

المصدر:

- الزعبي، علي أحمد .**أساسيات علم الأحياء الدقيقة** .عمان: دار المسيرة للنشر والتوزيع، ٢٠١٢.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. **Microbiology**. 9th Edition. McGraw-Hill, 2014