



Ministry of Higher education and scientific research

University of Tikrit

College of science

Department of Biology

Lab. of Practical Microbiology (1)

For second stage - 2025-2026



مدرس المادة : بشري علي كاظم

المختبر الخامس

طريقة التخطيط الرباعي (Quadrant Streaking Method)

تتضمن تقليل عدد الخلايا البكتيرية في العينة تدريجياً عبر أربعة أجزاء من الطبق للحصول على مستعمرات منعزلة منفردة في النهاية.

تتضمن طريقة التخطيط الرباعي الهدفين التاليين:

1. تقوم بتخفيف العينة الميكروبية أو الملقح على سطح وسط الأجار عن طريق التقطيع المتتالي حتى تنتشر البكتيريا بشكل جيد بما يكفي لإنتاج مستعمرات معزولة.
2. ينتج وحدات منفصلة مكونة للمستعمرات على سطح الأجار (مزارع نقية) قد تُسبب طرق الزرع الأخرى (مثل الصب والنشر) ازدحاماً كبيراً للمستعمرات الميكروبية، مما يُصعب عزلها وحصرها.

المزارع النقية Pure culture: هي المزرعة التي تحتوي على نوع واحد فقط من الأحياء المجهرية وتكون هذه المزارع مهمة في الدراسات البحثية والعلمية .

المزارع المختلطة Mixed culture: هي المزرعة التي تحتوي على أكثر من نوع واحد من الأحياء المجهرية وعادة يجب فصل هذه الأنواع إلى مزارع نقية بواسطة طريقة التخطيط الرباعي لغرض دراستها .

الأدوات المطلوبة للتجربة:

- طبق بتري يحتوي على وسط زرع صلب (أجار).
- حلقة تلقح (إبرة زرع) معقمة Loop.
- لهب (موقد بنمن) للتعقيم.
- عينة بكتيرية مختلطة.

خطوات الطريقة :

1. التعقيم وأخذ العينة: قم بتعقيم حلقة التلقح حتى تتوهج باللون الأحمر في اللهب، ثم اتركها تبرد قليلاً. اغمس الحلقة في العينة البكتيرية المختلطة لانتقاط كمية صغيرة من البكتيريا.

2. الربع الأول (1Q): ارفع غطاء طبق بتري قليلاً وارسم خطوطاً متقاربة ومتعرجة (تخطيط) على سطح الآجار في الربع الأول من الطبق. يجب أن تكون هذه الخطوط كثيفة في البداية.
3. التعقيم والتبريد: قم بتعقيم حلقة التلقيح مرة أخرى واركها تبرد.
4. الربع الثاني (2Q): اسحب حلقة التلقيح المعقمة والمبردة عبر نهاية منطقة التخطيط الأولى (حوالي 2-3 خطوط) ثم قم بعمل خطوط متعرجة في الربع الثاني من الطبق. يجب أن تكون الخطوط أقل كثافة من الربع الأول.
5. التعقيم والتبريد: قم بتعقيم حلقة التلقيح مرة أخرى واركها تبرد.
6. الربع الثالث (3Q): كرر العملية بسحب الحلقة من نهاية الربع الثاني إلى الربع الثالث، مع عمل خطوط أقل كثافة مرة أخرى.
7. التعقيم والتبريد: قم بتعقيم حلقة التلقيح مرة أخرى واركها تبرد.
8. الربع الرابع (4Q): اسحب الحلقة من نهاية الربع الثالث إلى الربع الرابع، مع عمل خطوط متباعدة قليلاً. هنا، يجب أن تحصل على مستعمرات بكتيرية منعزلة بشكل جيد بعد التحضين.
9. التحضين: اترك الطبق ليجف قليلاً (مقلوباً لمنع تكاثف الرطوبة على السطح)، ثم ضعه في الحاضنة عند درجة الحرارة المناسبة (مثل 37 درجة مئوية لمدة 24-48 ساعة).

النتيجة:

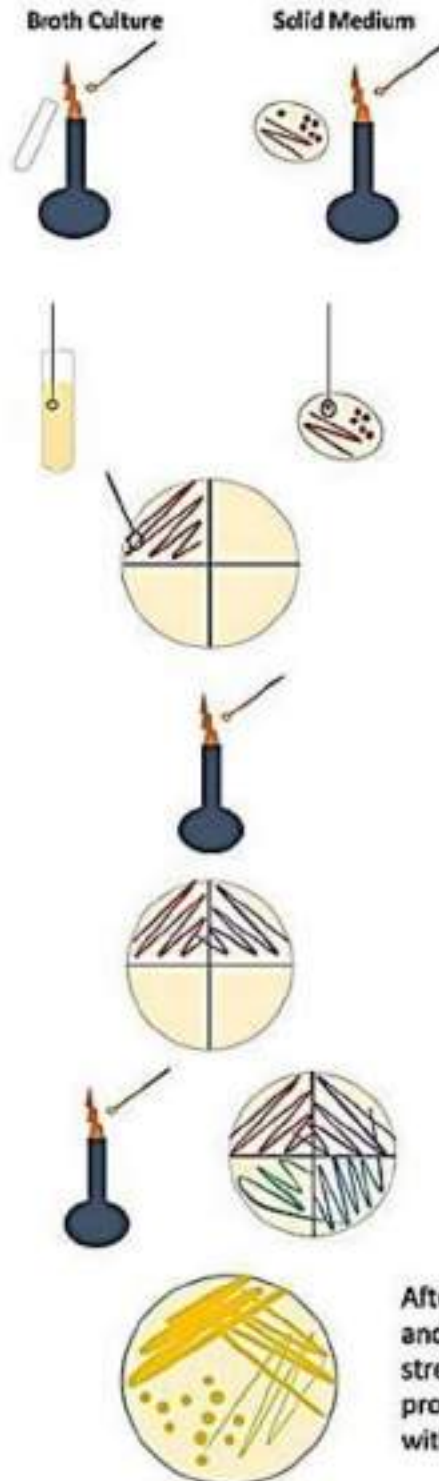
بعد فترة التحضين، ستلاحظ نمواً بكتيرياً كثيفاً في الربع الأول يقل تدريجياً في الربعين الثاني والثالث، بينما تظهر مستعمرات بكتيرية منفصلة ومعزولة بوضوح في الربع الرابع، والتي تمثل مزرعة بكتيرية نقية يمكن استخدامها في دراسات أخرى.

ينبغي مراعاة بعض التدابير الوقائية أثناء إجراء التجربة:

1. أولاً، يجب عليك تعقيم كافة المعدات.
2. من الأفضل وضع علامة على طبق الزرع قبل التخطيط لتجنب الفوضى غير المرغوب فيها.
3. يجب أن تكون اوساط الآجار صلبة بشكل مناسب، أو يجب أن تكون خالية من الرطوبة المكثفة.
4. لزرع سطح الآجار الصلب، خذ كمية صغيرة فقط من العينة الملقحة.

5. تجنب حفر طبق الأجار أثناء زرع الكائنات الحية الدقيقة.

Broth Culture **Solid Medium**



1) Flame the loop and shaft in a Bunsen burner until they are bright orange. Briefly flame the opening of the tube for a broth culture or open the plate near the flame for a solid medium. Let the loop cool near the flame for about 10 seconds.

2) For a broth culture, submerge the loop into the broth. For a solid medium, pick up an isolated colony far from any other colonies with the loop.

3) Streak the loop in a zig zag pattern on one quadrant of the plate.

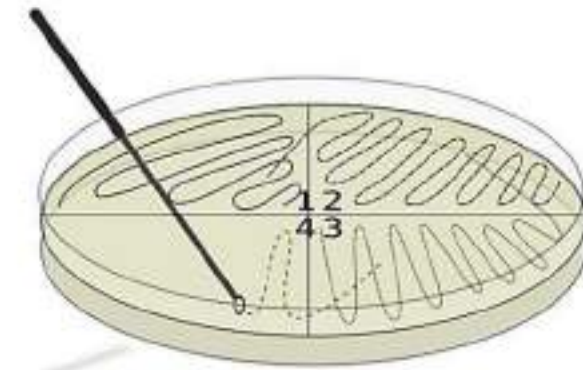
4) Completely re-flame the loop and let it cool near the flame.

5) Drag the loop through one portion of the streaked quadrant and continue a zig zag pattern into the next quadrant.

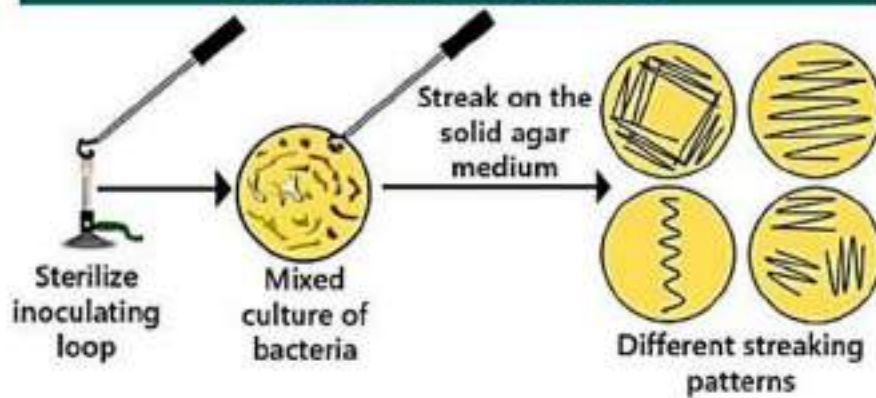
6) Repeat steps 4 and 5 for the remaining quadrants. Be sure to let the loop cool after flaming between streaks.

After given time for growth and/or incubation, a successfully streaked plate will show progressively thinning colonies, with completely isolated colonies.

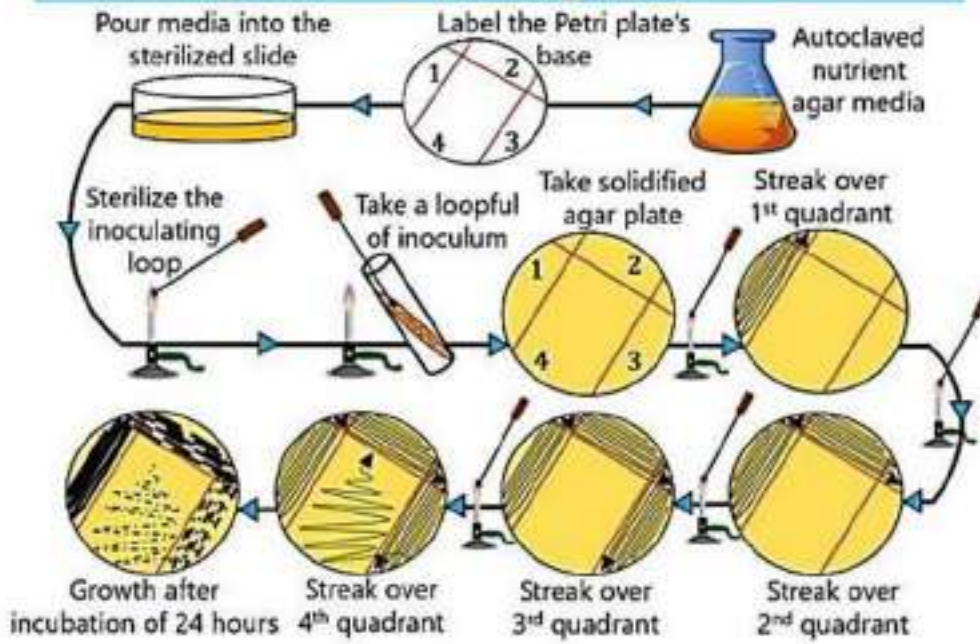




STREAKING METHOD



Quadrant Streaking Procedure



الواجب البيتي: (يسلم المختبر القادم ان شاء الله)

س1/ ماهي الغاية من استخدام طريقة التخطيط الرباعي ؟

س2/ عرف المصطلحات التالية :

المزارع النقية - المزارع المختلطة - التخطيط الرباعي