الجمهوريـــة الجزائريـــة الديمقراطيـــة الشعبيـــة

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح- ورقلة-

كلية العلوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

تصميم وسط زراعي يعتمد على المنتجات المحلية لنمو بكتيريا البروبيوتيك

conception d'un milieu de culture à base de produits locaux pour développement des bactérie probiotique

مذكرة تخرج

لنيل شهادة الماستر

تخصص علم الأحياء الدقيقة التطبيقية.

إعداد الطالبة:

بن سلمة حليمة

نوقشت يوم:2021/06/29

رئيس اللجنة	**بن عيسى عتيقة**	أستاذ محاضر(أ)	جامعة قاصدي مرباح- ورقلة
الأستاذ المشرف	**شوانا توفيق**	أستاذ محاضر(أ)	جامعة قاصدي مرباح -ورقلة
الأستاذ م المشرف	**بوريشة أمحمد**	أستاذ مساعد(أ)	جامعة قاصدي مرباح -ورقلة
الأستاذ المناقش	**عطاب سارة**	أستاذ مساعد(أ)	جامعة قاصدي مرباح -ورقلة

السنة الجامعة : 2021/2020

تشكرات

قال رسول الله صلى الله عليه وسلم:
(إن أشكرَ الناس لله عز وجل أشكرُهم للناس)
نتقدم بجزيل الشكر والعرفان للدكتور شوانا توفيق على مجهوداته ونصائحه وعلى صبره معنا لإنجاز هذا المذكرة.
كما نتقدم بجزيل الشكر المسبق للجنة المناقشة، الأستاذة الفاضلة بن عيسى عتيقة، والأستاذة الكريمة عطاب صارة، على ما سيقدمونه من ملاحظات وتوجيهات والتي لن تزيد هذا العمل إلا إتقانا وجمالا.
و أشكر شكرا خاصا كل من الأستاذ محمد بوريشة و الأستاذ محمد غراب جموعي ،والأستاذ رئيس المجلس العلمي بكلية الآداب عبد الحميد هيمة على التصويبات .
وأشكر كل أستاذة كليتنا على دعمهم وتشجيعهم لنا، دون أن ننسى من مد لنا يد المساعدة من قريب أو من بعيد.

شكرا

الإهـــــــداء ....

الحمد لله الذي حض على طلب العلم ووصى وأحاط بكل شيء علما وأحصى، وصلاة على نبينا محمد خير البشر خلقا حسنا وسلاما أزكى وأسمى أما بعد:

- إلى أبي حفظه الله، الذي بجهده أحصد الآن تعب السنوات، والى لأمي الكريمة اهدي لكما ثمرة تعبكما الذي لن تكفي حقه هذه الكلمات.
- إلى أختاي العزيزتان ولإخوتي ولكل أهل بيتي وأسرتي.
- إلى ابنة خالتي فضيلة وزوجها، إلى فاطمة شبير والى عائلة العربي، واهدي هذا العمل لكل الأصدقاء شيماء، ريان، عقيلة،فاطمة...
- إلى كل من علمني حرفا أنار لي به دربا، دمتم لي عزا وفخرا وجزآكم الله خيرا وأعظم لكم أجرا.
- إلى لكل من أسهم في هذا العمل و لكل طالب علم شغوف محب للعلم والمعرفة ولكل الأمة الإسلامية جمعاء.
- اهدي عملي هؤلاء جميعا، الحمد لله رب العالمين.

حليمة بن سلمة

الكلمات المختصرة:

٪:النسبة المئوية

مل: المليلتر

سم: سنتمتر

ملم: مليمتر

م: مئوية

C : Carbone

D.O : Densité optique.

FAO: Food and agriculture organisation

Lac: *Lactobacillus*

Lb. : *Lactobacillus*

MAD: matières azotées digestibles
MAT : matières azotées totales.

MF: Matière fraîche
Milieu MRS: Milieu de Man, Rogosa et Sharp

MM: matières minérales.

MO: matière organique.

MS : matière sèche.
Nm : Nanomètre

SR : Sucres résiduels.

St : Streptococcus

t: temps

USDA: United States Department of Agriculture

فهرس الجداول

الجدول 1: المعايير الرئيسية لاختيار مرشح الكائنات الحية المجهرية للتطبيق التجاري.. 15

الجدول 2: التركيب المعدني للبرسيم.. 26

الجدول 3:نسب بعض الأحماض الأمنية في تمور جافة 33

الجدول 4: نسب بعض الأحماض الدهنية في دقلة نور :نسب بعض الأحماض الدهنية في دقلة نور. 34

الجدول 5: كمية الفيتامينات المتواجدة في 100 غ لتمور 34

الجدول 6: مكونات الأوساط الزراعية المحضرة..... 47

فهرس الوثائق

الوثيقة 1: صورة لبكتيريا(*Bifidobacterium adolescentis*) بالمجهر الضوئي تكبير G×100..... 18

الوثيقة 2:صورة بالمجهر الالكتروني لبكتيريا(*Bifidobacterium longum*)..... 19

الوثيقة 3: الجزء العلوي من نبات.*Medicago sativa* L..... 23

الوثيقة 4: مخطط مراحل تحضير الوسط الزراعي المحلي..... 46

الوثيقة 5: حضن البكتيريا في جهاز الحضن الاهتزازي..... 48

الوثيقة 6:جهاز المقياس الطيفي المستخدم في التجربة..... 49

الوثيقة 7: مستعمرات بكتيريا البروبيوتيك النامية المعزولة من الزبادي..... 52

الوثيقة 8: نتائج صبغة الجرام بالمجهر الضوئي حيث B تكبير (40×G) وA تكبير (10×G)..... 53

الوثيقة 9: نتائج إختبار الكتلاز..... 53

الوثيقة 10: متوسط أزمنة نمو البكتيريا المستعملة 55

الوثيقة 11: قيم الكثافة البصرية في مختلف الأوساط الزراعية الخمسة (MRS،MS،LC ، MSC،MD)..... 56

فهرس المحتويات

تشكرات.....

الاهداء.....

الكلمات المختصرة:.....

فهرس الجداول.....

فهرس الوثائق.....

فهرس المحتويات.....

مقدمة.....**1**

الجزء النظري

1.الأوساط الزراعية.....**5**

2.1.نبذة عن تاريخ الأوساط الزراعية.....5

3.1.تعريف الوسط الزراعي 6

4.1.تصنيف الأوساط الزراعية 6

1.4.1حسب قوامها.....6

2.4.1. حسب تركيبها.....8

3.4.1. حسب الهدف من استخدامها.....9

5.1. أهمية الأوساط الزراعية.....10

2.البروبيوتيك.....**11**

1.2.دور البروبيوتيك.....13

2.2.معايير اختيار البروبيوتيك..... 15

3.2.بعض أنواع البروبيوتيك..... 17

1.3.البرسيم الحجازي (*Medicago sativa* L.):..... 21

2.3.التاريخ والأصل..... 21

3.3.تصنيف البرسيم الحجازي..... 22

4.3.وصف النبات..... 23

5.3.الأهمية والاستخدامات الزراعية..... 23

6.3.الأهمية البيئية..... 24

7.3.الأهمية الاقتصادية..... 25

8.3.الاستخدامات الغذائية..... 25

9.3.التركيب الكيميائي..... 26

1.4.نبات العدس..... 27

2.4. القيمة الغذائية..... 28

1.البروتينات..... 28

2.الكربوهيدرات..... 28

3.الألياف غير الذائبة في الماء..... 29

4.المعادن..... 29

5.الفيتامينات..... 30

1.5.النخل والتمر..... 30

2.5.موطن شجر النخيل..... 31
3.5.وصف شجر النخيل..... 31
1.4.5.تعريف التمور..... 32
2.4.5المكونات البيو كيميائية للتمر:..... 33
1.5.5.تكوين شراب..... 36
2.5.5.التركيب الكيميائي لنواة التمر..... 37
1.تكوين البروتين..... 37
2.المحتوى المعدني..... 37
3.محتوى الألياف..... 38
3.5.5الأعلاف الحيوانية..... 38
4.5.5. استخراج المضادات الحيوية..... 38
1.6. الهندباء البرية *Cichorium intybus*..... 39
تصنيف الهندباء البرية Cichorium intybus.....39
2.6.العناصر الفعالة..... 40
3.6.مكونات الهندباء البرية..... 40
الجزء التطبيقي
الفصل الأول:المواد وطرق العمل
1.الأوساط الزراعية المستخدمة..... 43
2.1.عزل وتحديد سلالة البروبيوتيك..... 43

1.2.1.الفحص العيني..... 43
2.2.1.الفحص المجهري 43
1.3.عمل مزارع نقية للمستعمرات الناتجة على وسط MRS لغرض الحفظ..... 44
1.4.تحضير الأوساط الزراعية الطبيعية 44
أ.تحضير النباتات..... 44
ب.مراحل تحضير الوسط..... 45
1.5.1تنمية البكتيريا النامية في الأوساط الزراعية المحضرة..... 48
2.5.1مبدأ عمل مقياس الطيف الضوئي 48
1.6.التحليل الإحصائي للنتائج..... 50

الفصل الثاني: النتائج والمناقشة

1.النتائج والمناقشة..... 52
1.1.عزل وتحديد سلالة البروبيوتيك..... 52
1.1.1.الفحص العياني..... 52
3.1.1.اختبار الكتلاز 53
1.2.1. نتائج تحليل التباين (ANOVA ـ analysis of variance)..... 54
2.2.1.إختبار فيشر(Fisher test)..... 54
3.1.التفسير 57
الخاتمة..... 59
المراجع..... 61

الملاحق 70

مقدمة

الأوساط الزرعية المخصصة لتنمية الأحياء المجهرية مهمة في مجال عزل وتشخيص ودراسة هذه الأحياء وان التطورات التي طرأت عليها كان لها دوماً انعكاسات واضحة في تطور علم الأحياء المجهرية بصورة عامة (Mannal Difco, 1977) ومنذ بدايات الاهتمام بهذه الأوساط في النصف الثاني من القرن التاسع عشر كان ولا زال يعمل الباحثون على ابتكار أنواع جديدة وتحوير القديم منها لدعم مستوى كفاءتها سواء كانت أوساط معتمدة على مواد طبيعية أو تركيبية (صناعية) أو نصف تركيبية(Cruickshanlc, 1975; Pirt, 1975).

وحديثاً تستخدم بعض هذه الأوساط كأساس لبعض الأنظمة المعدة أوتوماتيكيا بشكل كامل أو جزئي والمستخدمة للتحري بصورة غير مباشرة من الميكروبات المختلفة حيث تستخدم النظائر المشعة وإنتاج الغازات مثل CO_2, O_2 وغيرها والتي يتم تحسسها بطريقة أوتوماتيكية لغرض بيان حصول النمو من عدمه(Elmer et *al.*,1997).

ونظرا للدور الذي تؤديه الأوساط الزراعية في علم الأحياء الدقيقة اخترت العمل على هذا الموضوع المتمثل في الإسهام في تطوير إنتاج وسط زراعي لتنمية بكتيريا البروبيوتيك من خلال منتجات طبيعية محلية، ومن بين الأسباب التي أسهمت في اختاري لهذا الموضوع، هي الإسهام في الإنتاج العلمي المحلي وتشجيع روح المبادرة العلمية للطلبة والباحثين، والإسهام في تطوير البحث العلمي بالجامعة، واقتراح حلول بديلة وعدم الاكتفاء بالاستيراد، كما أن حالة الحجر الصحي التي سادت العالم في الآونة الأخيرة بسبب جائحة كوفيد والتي تسببت في إضعاف حركة الاقتصاد وحركة المبادلات التجارية خاصة المواد الطبية ومواد اللازمة في البحوث العلمية، فرضت علينا ضرورة إيجاد حلول وبدائل في مثل هذه الحالات حتى لا يتوقف البحث العلمي، كما أن المنتجات المحلية المقترحة في تحضير هذه الأوساط الزراعية المحلية منتجات موجودة ومتوفرة وبأسعار رخيصة وفي المتناول وغير مكلفة، فكان أن اخترنا هذا الموضوع على أمل أن يسهم في فتح آفاق جديدة لتطوير البحث العلمي بالجامعة الجزائرية و تطوير الابتكار العلمي فيها.

ولهذا الغرض تناولنا دراسة خصائص بعض النباتات التي تسهم في تحضير الأوساط الزراعية.

أما الإشكالات التي نطرحها في هذا البحث فتتمثل فيما يأتي:

- هل ستكون هذه الأوساط الزراعية المحلية صالحة لتنمية بكتريا البروبيوتيك ؟ وما مدى فعاليتها مقارنة بالأوساط الزراعية المصنعة ؟

وللإجابة عن الإشكالات المطروح ومعالجتها قسمنا هذه الدراسة إلى قسمين:

- ✓ قسم نظري : تطرقنا فيه بشكل عام للحديث عن الأوساط الزراعية، مركزين حديثنا حول بكتيريا البروبيوتيك، وأخيرا تطرقنا للنباتات المستخدمة في الدراسة.
- ✓ قسم تطبيقي: قسمناه إلى فصلين :
- الفصل الأول: وشمل المواد وطرق العمل.
- الفصل الثاني: وشمل النتائج ومناقشتها وتحليلها.

و قد اتبعنا في تحقيق ذلك المنهج التجريبي اعتمادا على الدراسات السابقة في إنتاج أوساط زراعية محلية نذكر منها:

- دراسة حول استخدام مستخلص نبات البرسيم في تحضير وسط زرعي لتنمية الأحياء المجهرية'' للدكتور الأستاذ محسن أيوب عيسى قسم علوم الحياة كلية العلوم جامعة الموصل(2002)، درس في هذا البحث إمكانية استخدام مستخلص(نبات البرسيم الحجازي *Medicago sativa*) في تحضير وسط زرعي لتنمية الأحياء المجهرية حيث أشارت النتائج أن مستخلص النبات الرطب هو أكثر كفاءة من الحالة الجافة، وان الوسط المحضر منه كان ملائماً لنمو أنواع مختلفة من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام وكان أفضل نمو هو في حالة البكتريا *Staphylococcus aureus* وان جميع أنواع البكتريا المستخدمة كان نموها أفضل على الوسط المحلي مقارنة بوسط الأجار المغذي المستخدم لغرض المقارنة (محسن،2002).
- دراسة أجنبية بعنوان'' تحسين وسط نمو فعال لزراعة بكتيريا بروبيوتيك للتطبيقات في المنتجات الغذائية النباتية الصارمة " Optimization of an effective growthù

medium for culturing probiotic bacteria for applications in strict vegetarian food products " للـ: Manju Pathak وDanik Martirosyan في(2012).

الجزء النظري

1.الأوساط الزراعية:

2.1.نبذة عن تاريخ الأوساط الزراعية:

كان عالم الميكروسكوب الهولندي أنطوان فان ليفينهوك Leeuwenhoek أول من لاحظ البكتيريا أثناء فحص مصادر المياه المختلفة وذالك في 1676 وقبلها في 1667كان هو أيضا أول من وصف الطفيليات،بعد ملاحظة الكائنات الحية الدقيقة بصريًا، أثار نموها أو تكاثرها جدلًا كبيرًا، كان الصراع حول نظرية التوليد التلقائي، وهي فكرة أن الكائنات الحية الدقيقة تنمو تلقائيًا، استمر هذا الجدل لسنوات حتى نفيت هذه النظرية بعد تجربة لويس باستور لكن ظل الجدل قائما حتى بعد تجربة باستور الناجحة فكان هناك حاجة إلى تطورين هامين لكي يتطور علم الأحياء الدقيقة، الأول كان مجهرًا متطورًا، والثاني طريقة لزراعة الكائنات الحية الدقيقة.

ومن تلك التطورات التي شهدها علم الأحياء الدقيقة هو محاولة التفرقة بين البكتيريا حيث استخدم فان ليفينهوك عصير البنجر في عام 1719ثم تلاه روبرت كوخ بتلوين عصيات السل بأزرق المثيلين في 1882 بعد ذلك بعامين، طور هانز كريستيان جرام، عالم الأمراض الدنماركي، صبغة جرام، لا تزال صبغة جرام تستخدم على نطاق واسع في التمييز بين البكتيريا موجبة الجرام والبكتيريا سالبة الجرام.

في عام 1860، كان باستور أول من استخدم وسط استنبات لزراعة البكتيريا في المختبر، يتكون هذا الوسط من رماد الخميرة والسكر وأملاح الأمونيوم،في عام 1881، تطوير طبق بتري كان في أواخر القرن التاسع عشر (بواسطة جوليوس ريتشارد بيتري،عالم البكتيريا الألماني، الذي كان مساعدًا لعالم الأحياء الدقيقة الألماني روبرت كوخ)،آجار أجار (منسوبة إلى أنجلينا فاني هيس، التي كانتWalther hesse التي كان زوجها والتر مساعد آخر لكوخ Koch ؛ استخدمت الأجار في الهلام والحلويات، وأعطت الفكرة لزوجها أثناء نزهة صيفًا عندما لم تذوب حلواها في الشمس الحارقة) واستخدماه كعامل مصلب لنمو البكتيريا، دراسة الفطريات والطفيليات تخلفت عن الكائنات الحية الدقيقة الأخرى(Zimbro et *al*., 2003).

3.1.تعريف الوسط الزراعي:

وسط الزراعي هو وسيلة دعم تسمح بزراعة الخلايا والبكتيريا والخمائر والعفن للسماح بدراستها من حيث المبدأ، تجد الخلايا في هذا الوسط المكونات الأساسية لتكاثرها بأعداد كبيرة بسرعة، ولكن أيضًا في بعض الأحيان العناصر التي تجعل من الممكن تمييز جنس أو عائلة بكتيرية وبالتالي، اعتمادًا على الغرض من الوسط، من الممكن وضع الكائنات الحية الدقيقة في ظروف مثالية، أو وضع الكائنات الحية الدقيقة في ظروف غير مواتية تمامًا،وهو يتألف من قاعدة (أجار أجار، ماء، معادن ...) بالإضافة إلى مؤشر ملون للرقم الهيدروجيني أو تفاعل تقليل الأكسدة لإتاحة صياغة فرضيات على هذا النوع. (Washington, 1996).

4.1.تصنيف الأوساط الزراعية:

تصنف الأوساط الزراعية حسب المعايير الآتية:

1.4.1حسب قوامها:

أ.الأوساط الصلبة Solid media:

سبب صلابة هذه الأوساط هو وجود مادة آجارفيها Agar media، وتستخدم للتعرف على الأشكال المختلفة المستعمرات البكتيرية النامية وتمييزها عن بعضها وبذلك يصبح من السهولة عزل أي نوع منها ونقله إلى وسط زراعي جديد.

ب. الأوساط شبه الصلبة semisolid media:

وهي تقع بين الأوساط الصلبة و السائلة من حيث القوام، يضاف إليها الآجار بنسبة 0,2–1.0 % مما يجعل الوسط هلامية رجراجا، هذه الأوساط تشبه في قوامها وشكلها الجلي وتستخدم في الفحوصات السيرولوجية.

د. الأوسط السائلة Liquid media (Broth):

تحتوي هذه الأوساط على نفس المواد الغذائية الموجودة في الأوساط الصلبة باستثناء مادة الآجار، ورغم قدرة هذه الأوسط على تنمية البكتريا إلا أن نموها لا يعكس المظاهر الخاصة بها، لذا فهى تعتبر محدودة الفائدة في تمييز أنواع وأصناف البكتيريا إلا إذا كان الغرض من إنحاء البكتيريا يتعلق بالاختبارات الكيميائية الحيوية (هالة،2002).

*** المواد المصلبة:**

يستخدم في تصليب الأوساط السائلة مواد عديدة أهمها:

أ- **الآجار Agar:** وهي مادة كربوهدراتية تستخلص من بعض الطحالب البحرية الحمراء التي تنمو بوفرة على سواحل بعض الدول مثل اليابان، تضاف إلى الوسط المغذي بمعدل 2%, يمتاز الآجار بعدم تأثره بدرجات حرارة التعقيم (121 م) و يعتبر من أفضل المواد المصلبة نظرا لتصلبه عند درجة حرارة المختبر حيث يتصلب بدرجة (47-48 م) و يمكن أن يعود سائلا مرة ثانية عند تعريضه لدرجة (98 م)، كما تنبع أهميته من عدم مهاجمة معظم الكائنات الحية الدقيقة له، أي أن الوسط الحاوي على الآجار لا يتخرب بفعل معظم الكائنات المنماة عليه.

ب- **الجلاتين Gelatin:** كان الجيلاتين أول مادة مصلبة استعملت في تحضير الأوساط الصلبة، وهو عبارة عن مادة بروتينية تحضر بمعاملة عظام الحيوانات حمض كلور الماء HCl و استخلاص الكولاجين Collagen الذي يتحول إلى هلام معاملته بالماء المغلي. يضاف إلى الوسط المغذي بمعدل 10%، يتصلب الجلاتين عند درجة حرارة 16 م و يسيل عند الدرجة حرارة 30 م.

وإذا تعرض الجلاتين لدرجة الغليان فإنه ينصهر ولا يتصلب مرة أخرى و لذلك فالأوساط الحاوية عليه لا تعقم بالصاد الموصد عند 121 م، ولما كان الجلاتين مادة بروتينية غنية فإن العديد من الأنواع البكتيرية يمكن أن تهاجمه وتحلله لذلك يندر استعماله حاليا كمادة مصلبة للأوساط المغذية و يقتصر استخدامه على دراسة قدرة البكتيريا على إفراز أنزيمات محللة للبروتين مثل أنزيم الجلاتيناز.

ج- **السيلكا Silica gel:** و هي مادة تتكون من حمض السلسليك Silicic acid الذي يتخذ قوامة هلامية على درجة حرارة المخبر، و لكنه عندما يتصلب لا يمكن إسالته ثانية. و يمتاز بقلة مهاجمة الكائنات الحية الدقيقة له (عبد الله وميساء،2006).

2.4.1. حسب تركيبها:

1. أوساط تركيبية Synthetic media:

تتكون هذه الأوساط من مواد ذات تركيب كيميائي محدد ومعروف وعلى درجة عالية من النقاوة، مثل هذه الأوساط قد تباع في الأسواق على صورة مسحوق يضاف إليه في المختبر نسبة محددة من الماء المقطر، ونظرا لدقة تركيبها فإنها تستخدم على نطاق واسع في الدراسات والأبحاث المتعلقة بدراسة التبادل الغذائي وتحديد الاحتياجات الغذائية للكائنات الحية الدقيقة.

2.أوساط غير تركيبية non synthetic media:

وقد تسمى بالأوساط الطبيعية بدخل في مكونات هذه الأوساط منتجات ذوات أصل نباتي أو حيواني و هي بالتالي تتكون من مواد تركيبها الكيميائي غير معروف على وجه الدقة، مثل وسط المرق المغذي الذي يدخل في تركيبة البيتون ومستخلص اللحم اللذين يختلف تركيبهما الكيميائي حسب المصادر الطبيعية التي استخلصت منها، و لذلك فمن الصعب تكرار تحضير مثل هذه الأوساط بنفس الدقة في كل مرة.

تستخدم هذه الأوساط في تنمية الكائنات الحية الدقيقة للحصول على منتجاتها الإستقلابية مثل الفيتامينات والصادات الحيوية والأحماض الآمينية وغيرها.

ولما كانت هذه الأوساط ذوات تركيب معقد و غير محدد و متغير باستمرار فإنها تعتبر غير مناسبة لدراسة فيزيولوجيا التبادل الغذائي، لأنه من المتعذر حساب مقدار ما استهلكته الكائنات الدقيقة من العناصر من جهة و معرفة أي المواد التي كونتها الكائنات الدقيقة من جهة أخرى.

3. أوساط شبه تركيبية Semi – Synthetic Media:

وهي التي تحوي على مكونات ذوات تركيب كيميائي محدد و معروف بدقة و مكونات أخرى غير معروفة التركيب بدقة (أي مكونات طبيعية).

3.4.1. حسب الهدف من استخدامها:

1.الأوساط البسيطة العادية SIMPLE ORDINARY MEDIA:

هذه الأوسط تواجه متطلبات والبكتيريا ذاتية التغذية و بعض غير ذاتية التغذية وتحتوي على مركبات غذائية بسيطة مثل: Nutrient agar or broth.

2. الأوساط الغنية Enriched media:

وهي أوساط عادية بسيطة مضافا إليها مواد غذائية غنية مثل الدم والمصل أو مستخلصات النباتات أو الحيوانات لمواجهة متطلبات النمو الجرثومي الصعب الإرضاء مثل:

وسط S-S:يسمح فقط بنمو السالمونيلا (تتطور الشيغيلا هناك أبطأ: حوالي 48 إلى 72 ساعة قبل الحصول على وسط قابلة للاستغلال).

وسط Sabouraud: يسمح بنمو الفطريات.

3. أوساط انتخابية Selective media:

وهي أوساط يتم تركيبها بطريقة تشجع نمو كائنات حية معينة و تثبط نمو كائنات حية أخرى غير مرغوبة، و ذلك عبر إضافة عناصر غذائية خاصة تسمح بنمو النوع المرغوب تنميته دون غيره، أو إضافة مثبطات نمو تؤثر على بعض الأنواع دون الأخرى، مثل إضافة كلوريد الصوديوم NaCl، أو الحموض، أو بعض الصبغات مثل صبغة الكريستال البنفسجي أو المضادات الحيوية مثل الستربتومايسين أو أي مادة أخرى يمكنها إعاقة نمو الكائنات غير المرغوب فيها.

مثال: فإضافة إحدى مكونات صبغة جرام مثل crystal violet بتركيز معين يؤدي إلى منع نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ويسمح لنمو مختلف أنواع البكتيريا السالبة للصبغة كما في وسط ماكونكى MacConkey agar (عبد الله وميساء،2006).

4. أوساط تفريقية Differential media:

وهي الأوساط التي تسمح لنمو نوعين من البكتيريا بحيث يمكن التمييز بينهما لظهورهما بصفات أيضية أو زراعية مختلفة كما في وسط MacConkey ووسط Blood agar إن إضافة الدم إلى الوسط الزراعي يسمح بتمييز البكتيريا المحللة للدم وغير المحللة حيث تظهر حلقة فارغة حول المستعمرة المحللة Haemolytic bacteria وبذا تلعب الأوسط المحتوية على الدم دور الوسيط الغني والمفرق في الوقت ذاته هنالك أنواع أخرى من الأوساط المستخدمة لأغراض بحثية معينة مثل وسط Casein المستخدم للتحري عن الأنزيم المحلل للبروتين وسط DANase المستخدم للتحري عن الأنزيمات الحالة للأحماض النووية (هالة،2002).

5.وسائط التخزين: هذه بيئات فقيرة تحافظ على البكتيريا في حالة حياة بطيئة.

5.1. أهمية الأوساط الزراعية:

مع انتقال علم الأحياء الدقيقة إلى القرن الأول والعشرين كان هناك جدل محتدم حول الحاجة للاستخدام أوساط الزرع البكتيرية، من الواضح أنه منذ العقود الأخيرة في القرن العشرين، كان هناك تحرك نحو تقنيات مستقلة عن الزرع، خاصة أو تشخيص المرض، كما هو محدد من خلال الاستخدام الواسع للأمصال والطرق الجزيئية، والتي لا تحتاج إلى خلايا بكتيرية سليمة وقابلة للحياة،ميزة هذه التقنيات المستقلة عن الزرع هي أنه يمكن دراسة البكتيريا بغض النظر عما إذا كانت تستطيع ذلك أم لا أن تزرع في المختبر وبالتالي يمكن التعرف على مسببات الأمراض مباشرة في المواد المرضية دون الحاجة أو مضيعة للوقت و جهود غير ناجحة للزراعة، ومع ذلك في حالة الأمصال والبيولوجيا الجزيئية، قد يكون من غير الواضح ما إذا كانت المستضدات والحمض النووي، على التوالي، أو جزء من خلية سليمة وقابلة للحياة (أو غير قابلة للحياة) أو تم إطلاق الجزيئات في البيئة، مثل عن طريق التحلل الذاتي للخلية، يمكن أن تشير النتائج الإيجابية إلى وجود خلايا نشطة أو غير نشطة أو نائمة أو شيخوخة إن صلة بعض هذه الأورام بـ: علم الأمراض أمر مشكوك فيه علاوة على ذلك، قد يكون هناك استخدام من البيانات الجزيئية حول الموقع الدقيق الخلايا و دورهم في المضيف. مع ظهور المنشورات العديدة التي تصف وجود الكائنات الحية وحتى تسميتها

كنتيجة لتقنيات مستقلة عن الزرع ومع ذلك لا تزال الثقافات تشكل جزءًا لا يتجزأ من مجموعات الثقافة العامة والخاصة، وهي ضرورية أو العديد من تطبيقات التكنولوجيا الحيوية بما في ذلك استخدامها في اللقاحات والبروبيوتيك، ومع ذلك فباعتبارها مفيدة، تتيح التقنيات المستقلة عن الثقافة عمومًا السرعة والدقة(Austin,2016).

ومن فوائد الأوساط الزرعية المستعملة في مختبرات الجراثيم ما يلي:

1-يتم بواسطتها عزل الجراثيم وتكثيرها بصورة نقية.
2-تستخدم بعض الأوساط لنقل العينات السريرية وتعرف بالأوساط الناقلة.
3-تساعد بعض الأوساط على دراسة بعض الخواص الحيوية وكذلك الوصف الحيوي والكيماوي.
4-المساعدة في التعرف على الجراثيم النامية من خلال وصف المظهر الزرعي لها.
5-تنمية وحفظ النوع الجرثومي
6- دراسة تأثير الجراثيم على أحد محتويات الوسط.

2.البروبيوتيك:

إن البكتيريا الكائن الدقيق التي لا نبصرها بالعين المجردة،موجودة في كل مكان وتغطي أجسامنا وفي الأغشية المبطنة للأمعاء،منها الضار وكثير منها نافع، ومن هذه البكتيريا لدينا بكتيريا البروبيوتيك، فما هي البروبيوتيك؟ وما هو دورها وتأثيرها على صحة الإنسان؟

للبروبيوتيك تعريفات كثيرة اختلفت وتغيرت بتطور العلوم والتقنيات،نذكر منها:

كلمة"بروبيوتيك" مشتق من الكلمات اليونانية proوbiotos وترجمته"للحياة"على عكس "المضادات الحيوية"، تُنسب الملاحظة الأصلية للدور الإيجابي الذي لعبته بعض البكتيريا المختارة إلى إيلي ميتشنيكوف، الحائز على جائزة نوبل الروسي المولد والذي يعمل في معهد باستور في بداية القرن الماضي، والذي اقترح أن "اعتماد الميكروبات المعوية على الطعام يجعل من الممكن أن تساهم في توازن فلورا الأمعاء في أجسامنا واستبدال الميكروبات الضارة بالميكروبات المفيدة (Metchnikoff, 1907).

في هذا الوقت،لاحظ طبيب الأطفال الفرنسي هنري تيسيير أن الأطفال المصابين بالإسهال لديهم عدد قليل من البكتيريا في برازهم تتميز بشكلها الذي يشبه حرف Y الغريبة، كانت هذه البكتيريا "المشقوقة"،على العكس من ذلك،وفيرة في الأطفال الأصحاء (Tissier, 1906). واقترح أنه يمكن إعطاء هذه البكتيريا للمرضى الذين يعانون من الإسهال للمساعدة في استعادة فلورا الأمعاء الصحية،كانت أعمال Metchnikoffو Tissier أول من قدم اقتراحات علمية بشأن استخدام الكائنات الحية المجهرية للبكتيريا، حتى لو لم يتم صياغة كلمة "بروبيوتيك" حتى عام 1960، لتسمية المواد التي تنتجها الكائنات الحية الدقيقة التي عززت نمو الكائنات الحية الدقيقة الأخرى (Lilly and Stillwell, 1965؛Fuller, 1989).

أعاد فولر تعريف البروبيوتيك باسم "المكملات الغذائية التي تحتوي على بكتيريا حية قد تفيد المضيف من خلال تحسين توازن فلورا الأمعاء"، أكد هذا التعريف على الحاجة إلى أن تكون البروبيوتيك قابلة للحياة.

قامت لجنة خبراء نظمتها منظمة الأغذية والزراعة (الفاو) التابعة للأمم المتحدة ومنظمة الصحة العالمية (2002) ، بوضع مبادئ توجيهية لاستخدام مصطلح "البروبيوتيك هي كائنات دقيقة حية والتي عند إعطائها بكميات كافية تمنح فائدة صحية لجسم المضيف " (Pintado et *al*.,2014).

تنتمي غالبية الكائنات الحية الدقيقة بروبيوتيك بشكل أساسي إلى أجناس *Bifidobacterium* و Lactobacillus،وهذا الأخير يقدم أكبر جنس من بكتيريا حمض اللاكتيك التي تشتمل على عصيات موجبة الجرام، وسلبية الكتالاز، توجد العصيات اللبنية بشكل شائع في بيئات متنوعة مثل منتجات الألبان والأسطح المخاطية البشرية، وكذلك في النباتات، جذبت بكتيريا حمض اللاكتيك بروبيوتيك الكثير من الاهتمام للخصائص المعززة للصحة لبعض الأنواع العديد من الخصائص ضرورية عند اختيار سلالات الكائنات الحية المجهرية المحتملة؛ يجب أن تكون الكائنات الحية الدقيقة غير مسببة للأمراض، ويمكن أن تعيش في الجهاز الهضمي يتحمل انخفاض درجة الحموضة في المعدة وتركيزات الصفراء الفسيولوجية، ويجب أن يُظهر مقاومة جيدة للماء السطحي للاستعمار ويجب أن يُظهر نشاطًا مضادًا ضد مسببات الأمراض المعوية(Pedersen et *al*.,2005).

الأنواع الأخرى من بروبيوتيك جنس المعوية ، *Pediococcus*، *Leuconostoc*، *Propionibacterium* ، *Streptococcus*، *Escherichia coli*، *Bacillus* and *Saccharomyces* (**Belhamra,** 2018 ؛Shah , 2005)

1.2.دور البروبيوتيك:

بشكل عام، يمكن التمييز بين ثلاثة مستويات من العمل:

البروبيوتيك يمكن أن يؤثر على الإنسان صحة من خلال التفاعل مع الكائنات الحية الدقيقة الأخرى الموجودة في موقع العمل، من خلال تقوية الحواجز المخاطية، ومن خلال التأثير على الجهاز المناعي للمضيف (leroy,2008).

وتتمثل فوائدها الصحية بتزويد الجسم ببروتينات وفيتامينات محسنة، الوقاية من الإمساك، نشاط مضاد للبكتريا، تعالج أضرار الكبد، نشاط مضاد للأورام، تحفيز استجابة الجهاز المناعي، تخفيض مستويات كوليستيرول الدم، تحسين استقلابات قابلية هضم اللاكتوز (Shimamura et Ishibashi،1993؛Sanders، 1993).

وإن اندماجها كإضافات غذائية في منتجات الحليب المخمر المختلفة يعطي منتجاً ذا قيمة صحية عالية فضلاً عن ارتفاع ضخم لاستهلاك ما يدعى بمنتجات المفيدة صحياً في البلدان المتطورة (Mccann et *al*.,1996 ؛ Adhikari et *al*., 2000).

تفرز بكتريا الـ *Lactobacillus acidophilus* مضاداً حيوياً يدعى Lactocidine وبكتريا الـ Lac *bulgaricus.* مضاداً حيوياً يدعى :bulgaricane وهذه المضادات الحيوية فعالة ضد عدد كبير من البكتريا المرضية مما يسهم في القيمة العلاجية للبن الرائب(Carlsen, 2001).

أكد (Tenbrink et Minekus, 2004) أن البكتريا النافعة تقاوم الأمراض وتطرد السموم وتقوي الجهاز المناعي، كما تمكن من الحفاظ على القوة الحيوية لبكتريا البادئ مدة 35 يوماً عن طريق إضافة*Lactobacillus acidophilus* وهي نوع من أنواع بكتريا البروبيوتيك التي يمكن إضافتها إلى اللبن الرائب، ومحبة للحموضة العالية ونافعة للإنسان وعملها المساعدة على عملية هضم البروتينات التي ينتج من خلالها حمض اللاكتيك وهيدروجين بيروكساید وإنزيمات وفيتامينات) B) المركبة، وكذلك مواد مضادة للجراثيم في اللبن، تعد قدرة بكتريا البروبيوتيك على تحمل الأوكسجين والأحماض والأملاح الصفراء من التحديات المرتبطة

بإضافتها إلى الغذاء، وللتغلب عليها استعملت سلالات مقاومة للأوكسجين والحموضة، ومنهم من استعمل الأحماض الآمينية والببتيدات كملتقطات الأوكسجين مثل-HCL cysteine-Lوحمض الاسكوربيك

. (Champagne et *al*.,2005؛1998Gobbetti et *al*.,1998 ؛ Dave etShah, 1997)

تحفز البروبيوتيك الجهاز المناعي للمضيف بمجرد وجودها، يؤدي اكتشافهم بواسطة الخلايا الظهارية إلى استجابة مناعية ،بالإضافة إلى ذلك فهي تساعد في الحفاظ على سلامة الحاجز المخاطي المعوي، على سبيل المثال عن طريق زيادة التعبير عن الجينات المشاركة في بنية التقاطعات الضيقة، تساعد هذه الآلية في الحد من دخول الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض إلى الخلايا الظهارية، ثانيًا تتنافس مباشرة مع الكائنات الحية الدقيقة الأخرى في أمعاء المضيف.

يمكن أن تمنع البروبيوتيك أيضًا السموم التي تفرزها البكتيريا المسببة للأمراض. على سبيل المثال، تفرز boulardii *Saccharomyces cerevisiae* بروتينًا قادرًا على تدمير السموم التي تفرزها المطثية العسيرة*Clostridioides difficile*، وهي العامل المسبب للإسهال الشديد لدى البشر، أخيرًا تعتبر البروبيوتيك مفيدة من خلال العمل على الجزيئات والأطعمة الموجودة في البيئة المعوية.

اقترحت العديد من الدراسات أن حدوث الأرق والاضطراب الاكتئابي مرتبط بالإيقاعات البيولوجية ، ووظيفة المناعة، واستقلاب المغذيات، لكن الآلية الدقيقة لم تتضح بعد هناك أدلة كثيرة تشير إلى أن ميكروبيوم الأمعاء لا يؤثر فقط على وظائف الجهاز الهضمي والتمثيل الغذائي والجهاز المناعي للمضيف، ولكنه ينظم أيضًا نوم المضيف والحالات العقلية من خلال محور ميكروبيوم الأمعاء والدماغ، تشير الأدلة الأولية إلى أن الكائنات الحية الدقيقة والجينات اليومية يمكن أن تتفاعل مع بعضها البعض، ترتبط خصائص ميكروبيوم الجهاز الهضمي والتمثيل الغذائي بنوم المضيف وإيقاع الساعة البيولوجية، علاوة على ذلك يمكن أن تؤثر العاطفة والضغط الفسيولوجي أيضًا على تكوين الكائنات الدقيقة في الأمعاء قد يرتبط ميكروبيوم الأمعاء والالتهاب بفقدان النوم ، واختلال الساعة البيولوجية، والاضطرابات العاطفية، وأمراض التمثيل الغذائي (Yuanyuan et *al*.,2018).

2.2.معايير اختيار البروبيوتيك:

يتم اختيار البروبيوتيك على حسب المعايير التالية:

- النمط الظاهري واستقرار النمط الجيني، بما في ذلك ثبات البلازميد.
- أنماط استخدام الكربوهيدرات والبروتينات؛ تحمل الحمض والصفراء والبقاء والنمو؛ خصائص التصاق الظهارة المعوية.
- إنتاج مواد مضادة للميكروبات؛ أنماط مقاومة المضادات الحيوية.
- القدرة على تثبيط مسببات الأمراض المعروفة كائنات التلف، أو كليهما؛ والاستمناع.
- تعد القدرة على الالتصاق بالغشاء المخاطي المعوي أحد أهم معايير الاختيار بالنسبة للبروبيوتيك لأن الالتصاق بالغشاء المخاطي المعوي يعتبر شرطًا أساسيًا للاستعمار (Tuomola et *al*.,2001).

الجدول 1: يبين الجدول أدناه إلى المعايير الرئيسية لاختيار مرشح الكائنات الحية المجهرية للتطبيق التجاري.

معايير اختيار البروبيوتيك	
معايير الأمان	أصل –الإمراضية والإصابة–عوامل الضراوة – السمية، النشاط الأيضي والخصائص الجوهرية– أي مقاومة المضادات الحيوية
المعايير التكنولوجية	سلالات مستقرة وراثيا–الجدوى المطلوبة أثناء المعالجة والتخزين–خصائص حسية جيدة–مقاومة فج–الإنتاج على نطاق واسع
المعايير الوظيفية	تحمُّل حامض المعدة والعصائر–تحمل الصفراء– التصاق بالسطح المخاطي–تم التحقق من صحة الآثار الصحية وتوثيقها
المعايير الفسيولوجية	التحوير المناعي–نشاط عدائي تجاه الجهاز الهضمي مسببات الأمراض، *Helicobacter pylori*، *Candida albicans*–استقلاب الكوليسترول–استقلاب اللاكتوز–خصائص مضادة للطفرات ومضادة للسرطان

من الأهمية بمكان أن تتمكن سلالة الكائنات الحية المجهرية من البقاء على قيد الحياة في الموقع الذي يُفترض أن تكون نشطة فيه لنشاط أطول وربما أعلى من الضروري أن تتكاثر السلالة وتستعمر في هذا الموقع المحدد،من المحتمل أن السلالات الميكروبية الخاصة بالمضيف فقط هي القادرة على التنافس مع البكتيريا الأصلية واستعمار المنافذ، إلى جانب ذلك يجب أن يتحمل الجهاز المناعي سلالة الكائنات الحية المجهرية ولا تثير تكوين أجسام مضادة ضد سلالة الكائنات الحية المجهرية،لذلك يجب أن يكون المضيف مقاومًا للمناعة تجاه البروبيوتيك، من ناحية أخرى فإن البروبيوتيك يمكن أن تعمل كمساعد وتحفيز جهاز المناعة ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض،وغني عن القول أن البروبيوتيك يجب أن يكون غير ضار للمضيف: يجب ألا تكون هناك تفاعلات مسببة للأمراض أو حساسية

أو مطفرة مسببة للسرطان تسببها الكائنات الحية الدقيقة نفسها أو منتجات التخمير أو مكونات الخلية بعد انخفاض البكتيريا(Sanders,2008).

يستمر سوق البروبيوتيك في النمو مع زيادة الوعي بفوائدها الصحية ، جنبًا إلى جنب مع البيانات العلمية لإثبات ذلك تشمل بعض فوائد البروبيوتيك: تحفيز المناعة، وتعزيز حركة الأمعاء، وتقليل التفاعلات الالتهابية أو التحسسية،ركزت الأبحاث الحديثة حول البيولوجيا الجزيئية وعلم الجينوم لبكتيريا بروبيوتيك لاكتوباسيلوس على تفاعلها مع الجهاز المناعي، وإمكاناتها المضادة للسرطان، وتأثيرها على حجم الخلايا الشحمية ودهون الجسم، وإمكانياتها كعامل علاجي حيوي في حالات المضادات الحيوية الإسهال المصاحب، إسهال المسافرين ، إسهال الأطفال، أمراض الأمعاء الالتهابية ومتلازمة القولون العصبي على وجه التحديد زاد الاهتمام ببكتيريا حمض اللاكتيك بسبب قدرتها على تحسين الكوليسترول بالإضافة إلى خصائصها المضادة للسرطان ومضادات الأمراض ومضادات السكر(Kumar et *al*.,2010).

وفقًا للكلية الأمريكية لأمراض الجهاز الهضمي، هناك 95 مليون شخص في الولايات المتحدة يعانون من مشاكل في الجهاز الهضمي، يُعتقد أن حوالي 60 مليون شخص يعانون من حرقة في المعدة، و 50 مليونًا متلازمة القولون العصبي، بالإضافة إلى ذلك، تشير التقديرات إلى أن حوالي 20 مليون شخص يعانون من قرحة المعدة حتى الآن، الجزء الأكبر من سوق صحة الجهاز الهضمي لا سيما ضمن فئة الغذاء الوظيفي يتم تناوله بواسطة المنتجات المصنوعة من البروبيوتيك، أو "البكتيريا الصديقة" يمكن العثور على العصيات اللبنية في المنتجات المنزلية الحساسة مثل أغذية الأطفال ومجموعة متنوعة من المنتجات الصيدلانية(Kumar et *al*.,2011) (Pathak & Martirosyan, 2012).

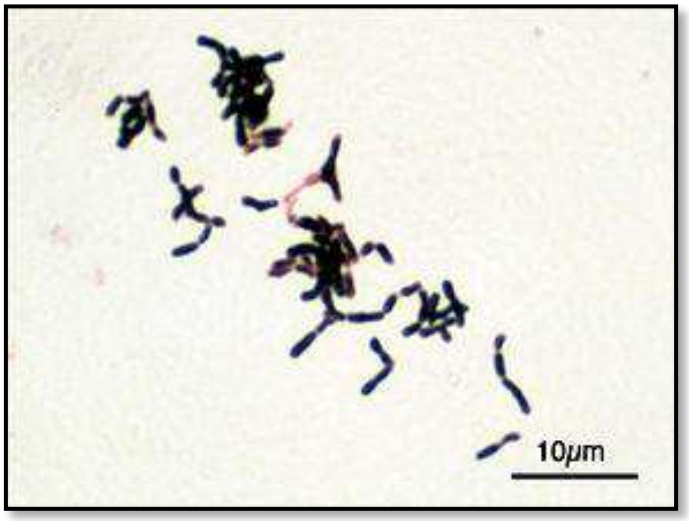
3.2.بعض أنواع البروبيوتيك:

جنس *Bifidobacterium*:

تتكون بكتيريا حمض اللاكتيك من مجموعة غير متجانسة من موجبة الجرام،غالبًا ما تظهر في شكل عصيات أو عصيات، غير مبوغة، غير متحركة، سلبية الكتلاز وخالية من السيتوكروم، كما أنها مقاومة للأحماض ومقاومة للرطوبة، فيما يتعلق بمنتجات التمثيل

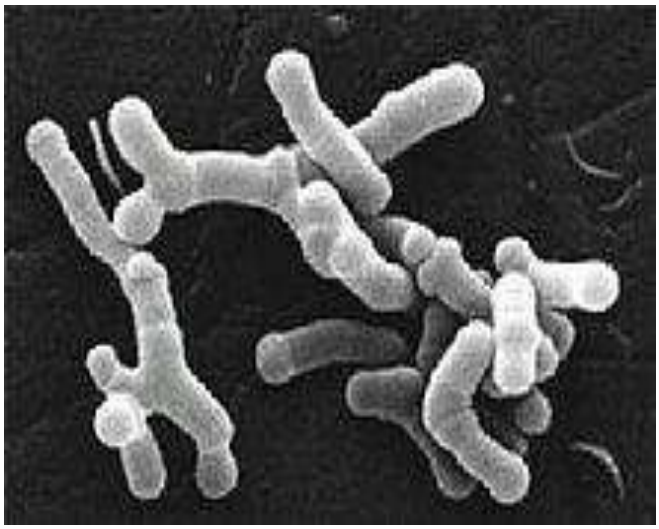
الغذائي، فإن النقطة المشتركة لبكتيريا حمض اللاكتيك هذه هي قدرتها على إنتاج حمض اللاكتيك بعد تخمر الكربوهيدرات. يمكن أن تكون متجانسة التخمير (70٪ من المنتج الأيضي عبارة عن حمض اللاكتيك) أو متغاير (50٪ حمض اللاكتيك مكمل بمركبات أخرى مثل حمض الأسيتيك أو ثاني أكسيد الكربون أو الإيثانول) (Larpent,1996).

موجودة بشكل طبيعي في الأمعاء التي تستعمرها خلال الأسبوع الأول بعد الولادة، وهي جزء من البكتيريا الشعاعية، ولها نسبة عالية في قاعدة GC (بين 55 و 64٪)،يمثل 95٪ من الكائنات الحية الدقيقة للأطفال و 3٪ من البالغين،يوجد حوالي 30 نوعًا مختلفًا ، بعضها يعتبر بروبيوتيك (Watterlot,2010).



الوثيقة 1: صورة لبكتيريا(*Bifidobacterium adolescentis*) بالمجهر الضوئي تكبير G×100

https://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium



الوثيقة 2:صورة بالمجهر الالكتروني لبكتيريا(*Bifidobacterium longum*).

https://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium

جنس *Lactobacillus*:

هو الجنس الرئيسي لعائلة *Lactobacillaceae*، فهو يحتوي على العديد من الأنواع التي تعتبر عوامل التخمير اللبني تشارك في العديد من الصناعات،هذه عصيات طويلة ورفيعة (منحنية أحيانًا) غالبًا ما يتم تجميعها في سلاسل ، وغير متحركة، وغير مدمجة، وسلبية الكاتلاز،وتتطور عند درجة حرارة مثالية تتراوح بين 30 و 40 درجة مئوية،تحتوي العصيات اللبنية على متطلبات غذائية معقدة للغاية من الأحماض الآمينية والفيتامينات والأحماض الدهنية والنيوكليوتيدات والكربوهيدرات والمعادن

.(Leclerc et *al*.,1994؛Khaled et Marth, 1990)

تم تقسيم جنس *Lactobacillus* بواسطة Orla-Jensen إلى ثلاث مجموعات ولا يزال هذا التصنيف مستخدمًا في الصناعة (Guiraud and Rosec,2004 ؛ Tamime,2002).

المجموعة الأولى "بكتيريا *Thermobacterium*": تشمل العصيات اللبنية المتجانسة المحبة للحرارة والتي تتطور عند 45 درجة مئوية ولكن ليس عند 15 درجة مئوية من الأنواع الأكثر شيوعًا في النظام الغذائي (الحليب، الزبادي، الجبن) هي:

Lb. helveticus, Lb. delbrueckii, Lb. acidophilus

المجموعة الثانية "*Streptobacterium*": تشمل العصيات اللبنية mesophilic homofermentative lactobacilli ويمكن أحيانًا أن تكون متغايرة التخمير اعتمادًا على الركيزة. الأنواع الأكثر شيوعًا في النظام الغذائي هي:

Lb. casei, Lb. curvatus, Lb. sake et Lb. plantarum.

المجموعة الثالثة "*Betabacterium*": وهي عصيات لاكتوباسيلي متغايرة التخمير. وهي تتألف من الأنواع :

Lb. fermentum, Lb. brevis et Lb. sanfransisco.

جنس العقدية *Streptococcus*:

جنس *Streptococcus* دائمًا واسع والتصنيف مليء بالأحداث. ينقسم هذا الجنس عمومًا إلى ثلاث مجموعات: قيحية (أكثر الأنواع المسببة للأمراض وانحلاليًا) ، والفم (*St. salivarius, St. bovis*) والمكورات العقدية الأخرى (Schleifer, 1987).

النوع الوحيد من المكورات العقدية المستخدمة في تكنولوجيا الغذاء هو *Streptococcus thermophilus* والذي تم تضمينه في مجموعة "المكورات العقدية الأخرى"، ولكن تم نقله بعد ذلك إلى مجموعة المكورات العقدية الفموية بسبب درجة تماثلها مع الحمض النووي لـ العقدية اللعابية (Stiles et Holzapfel, 1997).

يتم تمييز *Streptococcus thermophilus* من خلال موطنها (الحليب ومنتجات الألبان) وطبيعتها غير المسببة للأمراض، مقاومة درجات الحرارة، والقدرة على النمو عند 52 درجة مئوية،والعدد المحدود من الكربوهيدرات يميز *St. thermophilus* عن معظم العقديات الأخرى (Fedirighi et *al.*,2005 ؛ Haddie, 1986) .

جنس *Lactococcus*:

يمثل جنس *Lactococcus* (المجموعة N العقدية) ما يسمى بالمكورات العقدية "اللبنية"، لأنها مرتبطة بالعديد من التخمر الغذائي وليس لها أي طابع ممرض، المنتجات النباتية هي المستودع الرئيسي لها، لكنها موجودة على نطاق واسع في الحليب ومنتجات الألبان

. (Fedirighi et *al*.,2005)

تعرض المكورات اللبنية على شكل قذائف في أزواج أو سلاسل متفاوتة الطول، وهي عبارة عن بكتيريا لا هوائية اختيارية تنتج حمض اللاكتيك فقط *Lactococcus lactis* ssp. *lactis biovar*، ثنائي الأسيتيل ينتج ثنائي أسيتيل، تقترب درجة حرارة نموها المثلى من 30 درجة مئوية، وهي قادرة على النمو عند 10 درجات مئوية ولكن ليس عند 45 درجة مئوية،

تنتج بعض الأنواع عديدات السكاريد الخارجية والبكتريوسينات، إنها قادرة على النمو إلى 3٪ ميثيلين أزرق وتحلل أرجينين (Tamime, 2002).

حاليًا جنس *Lactococcus* يشمل خمسة أنواع، *Lactococcus lactis* هو أشهر الأنواع مع الأنواع الفرعية الثلاثة:

Lc. lactis ssp. lactis, Lc. lactis ssp. cremoris et Lc. *lactis ssp. hordniae* (Pot et *al*., 1996 ; Pot, 2008).

النباتات المستخدمة في تحضير الأوساط الزراعية:

1.3.البرسيم الحجازي (*Medicago sativa* L.):

البرسيم ذو أهمية كبيرة في تناوب المحاصيل، حيث كان معروفًا منذ فترة طويلة باسم البقوليات القيمة كمحصول يعمل على تحسين التربة؛ تم إجراء أول مجموعة كاملة من الدراسات حول السمية الذاتية للبرسيم بواسطة (Webster et *al*., 1967)؛ في وسط ألبرتا، كندا، واجه ويبستر صعوبة في إعادة تأسيس البرسيم، مشيرًا إلى أن النباتات كانت قزمة، وشكل مغزل، وخضراء مصفرة، وتفتقر إلى العقيدات الفعالة.

2.3.التاريخ والأصل:

وفقًا لـ (Waligora,2010) و (Mauriès,1994)، فإن زراعة البرسيم قديمة جدًا، ويعود تاريخها إلى أكثر من 700 عام قبل الميلادJC، موطنها جنوب غرب آسيا في مرتفعات القوقاز وإيران وأفغانستان وتركيا حيث يقال إنها انتشرت في جميع أنحاء العالم،

يعتبر هذا النبات العشبي من أكثر النباتات المزروعة في العالم،ويشكل غذاءً قيمًا للماشية (Schouteten, 2004)، لأنه يتمتع باهتمام يرتبط بشكل خاص بمحتواه وإمداداته العالية جدًا من البروتين (Suttie, 2004؛Mauriès, 2003).

كان العرب سادة تربية الخيول بلا منازع، هم أول من استخدم البرسيم لزيادة القيمة الغذائية للأعلاف المخصصة لحيواناتهم (Bourjois Bach ,2005).

البرسيم (*Medicago sativa* L.) هو أهم علف في الجزائر، إنه محصول يتكيف بشكل جيد مع المناخ الصحراوي ومنتج للغاية، إنه العلف الأكثر استخدامًا في علف الحيوانات، يمكن أن تنتج في ظروف جيدة (Baameur, 1998).

3.3.تصنيف البرسيم الحجازي:

مملكة:	Plantes
تحت مملكة:	Tracheobionta
شعبة: البذريات	Spermatophytes
قسم:	Magnoliophyta
الفئة:	Magnoliopsida
الرتبة:	Fabale
العائلة:	Fabacées
الجنس:	*Medicago*
النوع:	*Medicago sativa* L.

وفقًا لـ(Singh, 2011 ; Akhtar et al. 2016).

4.3.وصف النبات:

من الناحية الشكلية، ينقسم نبات البرسيم، الذي يتراوح ارتفاعه من 30 إلى 80 سم، إلى ستة أجزاء: التاج والسيقان والأوراق والزهور والقرون والجذر.

الوثيقة 3: الجزء العلوي من نبات.*Medicago sativa* L (Childers,2OO8).

5.3.الأهمية والاستخدامات الزراعية:

من بين البقوليات اكتسب البرسيم حقًا اسم "ملكة المحاصيل العلفية" لأنه يوفر علفًا غنيًا بالمغذيات والبروتين والمواد النيتروجينية القابلة للهضم والفيتامينات.

(Benabderrahim et *al*.,2008).

هو لا يوفر النيتروجين فحسب، بل يعيده أيضًا إلى المحصول التالي، وهكذا وفقًا ل Thiebeau في (2001)، يبلغ متوسط إنتاج البرسيم لمدة عامين 689 كجم نتروجين / هكتار، ولن يحتاج المزارع إلى إضافته كسماد معدني.

يتم إزالة هذا النيتروجين من البيئة لنقله إلى علف الحيوانات من خلال زراعة البرسيم، يذكر Waligora في(2010) أن البرسيم وحده يمكنه تخصيب نظام زراعة كامل دون إضافة النيتروجين.

هذه الخصوصية للقدرة على استخدام النيتروجين في الغلاف الجوي بالإضافة إلى جذوره التي تنحدر إلى عمق مترين أو ثلاثة أمتار، تضمن تحسين الصفات الفيزيائية والكيميائية للتربة (Thiebeau et *al*.,2003). إنه يحشد النترات بقوة من التربة، مما يحد من ارتشاحها (Hnatyszyn and Guais,1988) وبالتالي يمنع الأعشاب الضارة من النمو (Abdelguerfi and Chebouti، 2002). وهكذا وفقًا لروبرت وآخرون. (2010) ، ستؤدي زراعة البرسيم إلى تربة المحصول التالي مع مخزون منخفض من بذور الأعشاب الضارة، مما يحد من استخدام منتجات الصحة النباتية.

6.3.الأهمية البيئية:

تتجلى الوظيفة البيئية للبرسيم في الحفاظ على التربة وخصوبتها (Beaudoin et *al*.,1992).

يسمح نظام الجذر المحوري عالي التطور والعميق (حتى مترين) بتقسيم التربة وتحسين هيكلها (Thiebeau et *al*.,2003). يقوم بتثبيت النيتروجين في الغلاف الجوي وعزل الكربون المرتبط بعملية التمثيل الضوئي، التي يحققها البرسيم الحجازي، أنه يساعد في الحد من تأثيرات النشاط البشري على بيئته.

وفقًا لـ Thiebeau في (2001)، إجمالي الكربون الذي حدده المحصول بعد عامين من الاستغلال هو 16.0 طن C / هكتار، هذا التثبيت للكربون والنيتروجين يجعل من الممكن وضع البرسيم كمحصول "مزيل للتلوث".

دراسة قام بها روبرت أن المؤشرات المقاسة (الطيور، الفراشات، الجراد، الجنادب، الخفافيش والنحل) أعلى بشكل ملحوظ في قطعة أرض البرسيم مقارنة بقطعة من الحبوب(Robert et *al*.,2010).

بالإضافة إلى ذلك، يؤكد شاتلر أنه من خلال تغطية الأرض بشكل دائم والازدهار على مدار السنة، يوفر البرسيم المأوى وقبل كل شيء غطاءًا مفضلاً للحيوانات التي يتم تربيتها والعديد من المكونات الأخرى للتنوع البيولوجي العادي(Chatelier,2010) .

يبقى البرسيم في مكانه لمدة 26 إلى 38 شهرًا، ويقلل بشكل كبير من تعرض التربة المزروعة التي يشغلها لظواهر التعرية بسبب الجريان السطحي من الأمطار أو الرياح (Robert et *al*.,2010).

7.3.الأهمية الاقتصادية:

يُطلق على البرسيم اسم نبات "نتراتوفاجوس" بسبب النيتروجين الذي يأخذه من التربة والجو (Thiebeau et *al*.,2001). أفاد هؤلاء المؤلفون أنفسهم أن البرسيم يصدر 2 إلى 3 طن / هكتار / سنة من البروتين، دون أي مدخلات من الأسمدة النيتروجينية من المزارع.

يُظهر البرسيم انتظامًا أكبر في الغلة من شركائه، وبالتالي يؤمن محصول العلف للمزرعة، ينتشر إنتاجها بشكل جيد إلى حد ما على مدار العام بأكمله، ويتميز هذا التوزيع باحتوائه على علف أخضر خلال الصيف والقدرة على حمل مخزون أقل في مواقف معينة (Renault,2003).

8.3.الاستخدامات الغذائية:

أظهر العمل الذي قام به العديد من المؤلفين تأثيرًا إيجابيًا للبرسيم المجفف على جودة الأحماض الدهنية في الحليب، وهكذا أظهر (Mauriès,2001) أن دمج 3.6 كجم من البرسيم المجفف في سيلاج الذرة يحسن تناول الحيوانات ومحتوى الدهون وقابلية هضم الحصص الإجمالية،وجد المؤلف زيادة بمقدار 8 نقاط في تناول المادة الجافة دون أي انتفاخ أو مشاكل أخرى في الجهاز الهضمي.

إن إضافة مستخلصات البرسيم إلى الحصة الغذائية يزيد من إجمالي المدخول وإنتاج الحليب ويغير أيضًا صورة الأحماض الدهنية للحليب من خلال تعزيز وجود المنتجات المفيدة للصحة بما في ذلك حمض الأوليك (C 18: 1) وحمض الإينوليك (C 18: 2) وحمض اللينولينيك (C 18: 3)(Dewhurst et Coulmier, 2004).

وبالمثل، من خلال دراسة تأثير إدخال البرسيم على أداء تربية الحيوانات، لوحظ زيادة في محتوى الدهون ومحتوى الأحماض الدهنية في الحليب (Peyraud et *al*.,1998)، وكذلك (Ballard,2009).

9.3.التركيب الكيميائي:

المكونات الجدارية الخلوية:

وهي تشمل السليلوز، والهيميسليلوز، والمواد البكتيرية واللجنين، والتي تميل إلى تقليل قابلية هضم العلف (Amrane,2002).

يتكون البرسيم الحجازي من حوالي 50٪ جدران خلوية وتكوين ألياف متوازنة: 8٪ بكتين، 10٪ هيموسليلوز، 25٪ سليلوز و 7٪ لجنين (Mauriès,1994).

1-مكونات الهيولى الخلوية للنبات:

نيتروجين:

يتميز البرسيم باحتوائه على نسبة عالية من مادة MAT، ويمكن أن يتفاوت من 14 إلى 29٪ من MS حسب المرحلة والأوقات وطرق الحصاد (Mauriès, 1998). يذكر المؤلف نفسه أن البرسيم مصدر مثير جدًا للبروتين لأنه يوفر بروتينًا لكل هكتار أكثر من فول الصويا (الجدول 02).

جميع الأحماض الآمينية موجودة، ولا سيما كل تلك التي تعتبر ضرورية في علف الحيوانات (Mauriès,1994).

العناصر المعدنية:

يحتوي البرسيم الحجازي على مزيج مثير للاهتمام من المعادن (الجدول 03). وفقًا لدراسة أجريت في سويسرا، استشهد بها (Python et *al*.,2009) ، المحتوى المعدني الرئيسي للبرسيم هو 3.7 غرام من الفوسفور و 30.5 غرام من البوتاسيوم لكل كيلوغرام من المادة الجافة MS.

أفاد(Schoutteten, 2004) في تجربة الأغنام أن إضافة البرسيم المكلس ضاعف التصنيع الميكروبي في كرش الأغنام.

الجدول 2: التركيب المعدني للبرسيم:.(Schoutteten, 2004) .

المعادن	الفوسفور	الكالسيوم	صوديوم	المغنيسيوم	البوتاسيوم
قيم المادة الجافة (% de MS)	0,2-0,35	1,1-1,9	0,06-0,23	0,12-0,22	**1,2-2,3**

2-**فيتامينات:**

البرسيم مصدر جيد لفيتامينات ب القابلة للذوبان في الدهون ، وخاصة الكولين والنيكوتيناميد وحمض البانتوثنيك، فيتامين سي وفير في الأعلاف الخضراء (0.5٪)، ولكن التجفيف أو الجفاف يدمره جزئيًا، يزيد محتوى فيتامين د، على العكس من ذلك أثناء التجفيف. (Schoutteten, 2004).

1.4.نبات العدس:

العدس، ويقال له الأدس باللغة الهيروغليفية، من البقوليات التي عرفتها الأمم القديمة مثل الفراعنة والإغريق،الموطن الأصلي للعدس إن الموطن الأصلي للعدس وهو الجنوب الغربي من آسيا وتركستان في آسيا الوسطى ويقال بأنه كان قد وجد بشكل بري في الجهة الشرقية من قارة آسيا كما عرف العدس في فلسطين منذ القدم، وعرف العدس في الهند منذ آلاف السنين وقد زرع فيها بمساحات واسعة كما زرع لدى دول الشرق الأدنى وفي حوض البحر الأبيض المتوسط في فرنسا وإسبانيا وإيطاليا ورومانيا بالإضافة إلى زراعته في مصر وفي تشيلي إذ يعد لدىهما المحصول الرئيسي ولقد اكتشف آثار زراعته في كل من مصر وسويسرا على جدران مقابر و المعابد الفراعنة(Ferguson and Erskine, 2000).

تصنيف نبات العدس:

المملكة: Plantes

شعبة: Magnoliophyta

الفئة: Magnoliopsida

الفئة الفرعية:	Rosidae
الرتبة:	Fabales
العائلة:	Fabacées
الجنس:	*Lens*
النوع:	*Lens culinaris*

وفقا لـ:(Cokkizgin and Shtaya ،2013)

2.4. القيمة الغذائية:

للعدس خصائص مميزة تجعله دون غيره من سائر الحبوب والبقول ذو أهمية وقيمة إضافية في مجال التغذية السليمة والمحافظة على صحة الجسم وحمايته من الأمراض. إذ أشارت العديد من الدراسات التحليلية إلى احتواء العدس على عديد من العناصر الغذائية الأساسية، الكبرى منها كالبروتينات والنشويات أو الصغرى كالمعادن والفيتامينات وبكميات معتبرة. كما تشير نتائج العديد من الدراسات إلى احتواء العدس على طيف واسع من المركبات النباتية الطبيعيةPhytochemicals Bioactive ذات التأثيرات الصحية الإيجابية (USDA , 2008).

1.البروتينات:

تحوي بذور العدس على كمية عالية من البروتين تقرب إلى 25 %من وزنها.

2.الكربوهيدرات:

يعتبر العدس مصدراً حيوياً وهاما 60 %من وزن البذور للكربوهيدرات، والتي يصل محتواها الكلي إلى الجاف، وتتوزع الكربوهيدرات الكلية في العدس على ثلاثة مكونات رئيسة وهي: الألياف الغذائية الكلية (30%)والنشويات (28%) والسكريات بأنواعها (2 %من وزن البذور الجاف). أما بالنسبة للألياف الغذائية، فيمكن اعتبار العدس من ضمن الأطعمة الغنية بهذه المركبات الضرورية والهامة لصحة الجسم، والتي لها من دور في المحافظة على

صحة الجهاز الهضمي ودرء العديد من المشكلات الصحية عنه والتي من أهمها الإمساك وسرطان القولون، وفي التخفيف من ارتفاع سكر الدم والدهون فيه (USDA , 2008).

3.الألياف غير الذائبة في الماء:

تشكل الألياف غير الذائبة في الماء قرابة 90 %من وزن الألياف الكلي في بذور العدس، بينما تشكل الألياف الذائبة الجزء الباقي منها ومن بين الكربوهيدرات، تحتل السكريات المعقدة النشويات حيزاً كبيراً في بذور العدس وهي بالإضافة إلى أهميتها كمصدر هام للطاقة في جسم الإنسان فإنها تحوي مركبات وظيفية هامة تدعى النشويات المقاومة Resistant starches، وهي نوع من النشويات التي تتشكل خلال عمليات التصنيع وتمتاز بقدرتها على مقاومة عمليات الهضم التي تتعرض لها النشويات الأخرى العادية، وهي بهذا تسلك سلوكا مشابها للألياف الغذائية غير الذائبة ولها بهذا دور حيوي ووظيفي هام يحاكي دور الألياف الغذائية الذي ذكر آنفاً ويزيد عنه بقدرتها على العمل كبادئات حيوية Prebiotics وفي تشجيع نمو وتكاثر البكتيريا النافعة في القولون Probiotics ومما بات مقرراً تلك الأهمية الحيوية والفسيولوجية للبكتيريا النافعة في القولون والتي أثبتت العديد من الدراسات قدرتها على زيادة مقاومة الجسم ضد الأمراض المختلفة كالإمساك وسرطان القولون والتخفيف من ارتفاع سكر ودهون الدم وزيادة مقاومة الجهاز الهضمي ضد أمراض الإسهال والالتهابات.

وفي الجزء المتبقي من السكريات، تتواجد كميات قليلة من السكريات الأحادية والثنائية والعديدة Oligosaccharides، حيث تمتاز الأخيرة بقدرتها على القيام بدور المحفز للبكتيريا النافعة آنفة الذكر وذلك لتعذر هضمها في جوف الإنسان مما يجعلها مرتعاً خصباً حصول تخمر لهذه السكريات ومن ثم تكون للغازات في لتلك البكتيريا، وهو ما ينتج عنه منطقة الجوف مسبباً ما بعرف بالانتفاخ (Issa et *al*., 2006).

4.المعادن:

تشمل العناصر المعدنية للعدس:Fe، Zn، Cu، Mn، Mo، بينما توجد Mg و P و Ca و S بمستويات عالية نسبيًا، بالإضافة إلى ذلك يحتوي العدس على نسبة منخفضة من الصوديوم ومحتويات عالية نسبيًا من البوتاسيوم(Paucean et *al*.,2018) .

ويتميز العدس بتدني محتواه من عنصر الصوديوم

5.الفيتامينات:

إن بذور العدس تعد إحدى أهم المصادر الغذائية لعدد من الفيتامينات الذائبة في الماء وأهمها حمض الفوليك (479 ملغم/100غم، وهي كمية تغطي 119 %من احتياجات الجسم اليومية من هذا الفيتامين وهو بهذا يعد مصدراً استثنائياً متميزاً دون سائر أنواع البقول، ولا غرو في ذلك إذا عرفنا لهذا الفيتامين أن لهذا الفيتامين دوراً مهما في تكوين الدم ودرء خطر فقر الدم المتميز بتضخم كريات الدم بالغ الحمراء، علاوة على دوره الهام في عملية إستقلاب الحمض الآميني الميثيونين، وكذا في انقسام الخلايا الجسمية؛ حيث أثبتت الدراسات المتعددة أثر نقصه في الجسم في حصول سرطان القولون، كما يعتبر العدس مصدراً حيويا مهما للفيتامينات ب1(الثيامين) و ب6(البيرودوكسين) وحمض البانتوثين، وهي عناصر غذائية مهمة لعمليات الأيض والإستقلاب للكربوهيدرات والبروتينات وفي عمليات تمثيل وإنتاج الطاقة في الجسم. وتبعاً لتدني محتوى العدس من الدهون، فإن محتواه من الفيتامينات الذائبة في الدهن يعد قليلاً، حيث يحوي كميات قليلة من البيتا كاروتين المولد لفيتامين أ وكذا من فيتامين ه المضاد للتأكسد(Amarowicz et *al*., 2004) .

1.5.النخل والتمر:

شجرة النخيل هي شجرة الحياة في المناطق الصحراوية هي من أقدم الأشجار التي عرفها الإنسان وعمل على زراعتها منذ أقدم العصور،أدخل العرب زراعة النخيل إلى الأندلس في القرنين السابع والثامن ميلادي، وأدخلت النخلة منذ زمن بعيد إلى المكسيك، وأما في أمريكا الشمالية والجنوبية فقد دخلتها زراعة النخيل في نهاية القرن الثامن عشر ميلادي، كما أدخلت إلى الولايات المتحدة الأمريكية عام 1967 (نهى،2009).

في الجزائر عرفت زراعة النخيل مند زمن بعيد حيث تدل الدراسات والأبحاث التي أجريت في صحرائنا على أن منطقة الواحات كانت تعرف نشاطاً اقتصادياً ضخما تمثله شبكة تجارية متطورة بين مختلف القبائل والأسواق التجارية. فمنطقة" عين صالح "كانت تستقبل

البضائع التجارية الوافدة من نهر السنغال "وصحراء " منغولا "وصحراء" السند " بالهند حيث كانت التمور سلع تبادلية أساسية (مصطفى، 2007).

2.5.موطن شجر النخيل:

اختلف المؤرخين حول مكان نشأتها فأعرب بعض المؤرخين عن اعتقادهم أن تكون قد نشأت حول الخليج العربي ومنهم من يقول إن أقدم ما عرف عن النخل كان في بابل قبل 4 آلاف سنة قبل الميلاد. ويعرف عن المصريون القدماء استخدام التمر في النبيذ وهناك أدلة أثرية عن زراعة النخيل في شرق السعودية يعود تاريخها إلى 6 آلاف سنة قبل الميلاد. (محمد محمود،1983).

3.5.وصف شجر النخيل:

وهي شجرة معمرة دائمة الخضرة ذات ساق أسطوانية غير متفرعة تغطى بقواعد الأوراق، الأوراق كبيرة ريشية تتجه فيها وريقاتها ناحية القمة، يصل طول الورقة ما بين 3إلى 6أمتار فيما يصل ارتفاع الشجرة إلى 20متر،وهي تلفت النظر بجمال أزهارها وأغصانها وطولها ما يدل على عظيم قدرة الخالق سبحانه وتعالى الذي خلقها وأبدعها على هذه الصورة والشكل والهيئة، وجعلها ذات مزايا عديدة وفوائد كثيرة للإنسان.

تصنيف نخلة التمر (Munier,1973):

المملكة: نباتية	Plantes
الشعبة: كاسيات البذور	Angiospermes
الصنف:أحادية الفلقة	Monocotylédon
الرتبة:	Palmae
العائلة:النخيلية	Palmaceae
تحت العائلة:	Coryphoideac
الجنس:	*Phoenix*

النوع : *Phoenix dactylifera* L.

ينمو التمر على شكل عناقيد تسمى عرا جين ويمكن أن يحتوي عرجون واحد لبعض أنواع التمر الناضج ما بين 600إلى 1700تمرة وقت القطف، وتنتج النخلة سنوياً مالا يقل عن45 كيلوجراماً من التمر، النخل ثنائي المسكن، أي أن هنالك نخلة تحمل أزهارا ذكرية وتسمى النخلة الذكر أو الفحل، ونخلة أخرى تحمل أزهارا أنثوية وتسمى النخلة الأنثى وهي التي تثمر،ونخلة التمر لها برعم طرفي ضخم واحد فقط موجود في أعلى الساق الوحيد وإذا أصاب ذلك البرعم الوحيد تلف فإن النخلة تموت، يقول بلاتر Blatteأن هناك نحوا من اثنتي عشر نوعا النخيل(سهيلة، 2003) (محمد إبراهيم،1996).

ثمرة النخيل بيضاوية إلى مدورة ذات ألوان متعددة، وتنمو من النخلة نبتات صغيرة تسمى فسائل قرب أسفل الجذع ويمكنها أن تتطور إلى شجيرات، تنتج الأشجار الذكرية من النخل حبوب اللقاح أما الأشجار الأنثوية فهي التي تعطي التمر(نهى، 2009) (محمد محمود،1983)

يعتبر التمر فاكهة وغداء ودواء وشراب وحلوى وتعتبر التمور من الأغذية ذات القيمة العالية، ويعد غدا كاملا وعنصرا هاما في النظام الغذائي في معظم المناطق الجافة وشبه الجافة الساخنة من العالم، لاحتوائه على المواد الغذائية الرئيسية مثل الكربوهيدرات والأملاح والمعادن والفيتامينات (خالد،2003).

1.4.5.تعريف التمور:

تعرف التمور بأنها ثمار شجرة النخيل«*Phoenix dactylifera* L. » ذات الشكل المستطيل المتطاول، والتي تحوي بداخلها نواة صلبة القوام محاطة بنسيج يدعى بالنسيج اللحمي الجزء الذي يؤكل هو الجزء اللحمي والمتكون من:

- ❖ غشاء سليلوزي جد رقيق.
- ❖اللب: وهو القوام المتغير حسب كمية السكر ولون الثمرة.
- ❖الغشاء الداخلي: وهو النسيج الليفي يكون محيط بالنواة وذو لون واضح.

أبعاد الثمرة متغيرة جدا حسب النوع، فيتراوح طولها من 2 إلى 8 سم، ووزنها كذلك من 2 إلى8 غ ويتبع هذا، التغير في الشكل والوزن و اللون من الأبيض المصفر إلى الأسود أو الأحمر حسب نوعية التمر (Amellal,2008).

2.4.5المكونات البيو كيميائية للتمر:

1.الماء:

كمية الماء متغيرة في التمور حسب نوع التمر ومرحلة نموه، يمثل الماء من 8 إلى 30 %من وزن الثمرة أي بنسبة متوسطة تصل إلى 19 % (Amellal,2008).

2.السكريات:

ووجد أن فاكهة التمر تحتوي على 70 %من الكربوهيدرات معظمها عبارة عن سكريات(السكريات الكلية 44%-88)وتكون على شكل سكريات أحادية (فركتوز و الجلوكوز)،والتي من السهل امتصاصها من قبل الجسم البشري أو سكريات ثنائية (سكروز) والتي تتطلب وقت أطول لتحويلها عن طريق الهضم إلى سكريات أحادية ،بسبب هذا يعتبر هذا الثمار مصدر عالي من الطاقة ،حيث نجد أن 100غ من لحمية التمر توفر 314 سعرة حرارية وهذا ما يعادل 1 كيلو غرام من لحم الضأن.

3.الأحماض الأمنية:

تتميز التمور باحتوائها على نسب ضعيفة من البروتينات، ما بين 38.0 إلى 5.2 %من وزن الثمرة، كما يوضح الجدول التالي نسب بعض الأحماض الآمينية في تمور جافة (Amellal,2008).

الجدول 3:نسب بعض الأحماض الأمنية في تمور جافة (قمولي،2011) .

الأحماض الأمنية	الغلوتاميك	الأسبرتيك	البرولين	الألنين	اللوسين
الكمية(100غ/مغ)	258	174	144	130	103

4.الأحماض الدهنية:

تحتوي التمور على نسب ضئيلة من الدسم ما بين 43.0 إلى 9.1 %عند مرحلة الرطب وتتغير هذه النسبة من 25.1 %عند مرحلة الحبابوك إلى 33.6 %عند مرحلة الكمرى ثم تنخفض عند مرحلة الرطب لتصل إلى 97.1 %عند مرحلة التمر.

الجدول 4:لجدول أدناه يبين نسب بعض الأحماض الدهنية في دقلة نور :نسب بعض الأحماض الدهنية في دقلة نور (قمولي،2011).

الأحماض الدهنية	لينوليك	الستيريك	الميريستيك	البالميتيك
الكمية(%)	10.47	8.66	7.89	11.47

5.العناصر المعدنية:

تعتبر التمور من المواد الغذائية المهمة التي تحتوي على مصدر جيد للعناصر المعدنية حيث تتراوح نسبتها بين2-4%منسوبة إلى الوزن الجاف للثمار منزوعة النوى الفصل الثاني عموميات حول التمور(الثمرة، النواة 29)ويأتي في مقدمة هذه العناصر: البوتاسيوم والفسفور والحديد ثم المغنيسيوم والكالسيوم والصوديوم والفلورين يليها وبنسب اقل كل من: السيليكون والكبريت والكلور والألمنيوم واليود والنحاس هذا وتقل نسبة الأملاح المعدنية في النواة عنها في لحم الثمرة حيث تصل نسبتها في النواة نحو 1.1.%(شحاته،2009).

6.الفيتامينات:

تعتبر التمور مصدرا هاما للفيتامينات حيث تتواجد فيه مجموعة فيتامين A وفيتامينB

الجدول 5:يبين في الجدول أدناه كمية الفيتامينات المتواجدة في 100 غ لتمور(Messaid,2007) .

نوع الفيتامين	فيتامينC	الثيامين B1	ريبوفالفين B2	النياسين B3	فيتامين B6
الكمية	2 mg	0.06mg	0.10mg	1.70mg	g 0.15

6.الألياف:

التمر غنى جدا بالألياف بنسبة ما بين 1.8 إلى 7.12 من وزن التمر ومن أهم هذه الألياف البيكتين، السليلوز، الهيموسيللوز، اللجنين، من ناحية القدرة الهيدروفيلية(الكره الشديد للماء)تمر الألياف بسهولة في الأمعاء وهذا مما يقي من مرض السرطان (القباني،1965) .

من فوائد التمر:

- ✓ مقوى عام للجسم ويعالج فقر الدم ويمنع اضطراب الأعصاب لما يحتويه من نسبة عالية من السكر و البوتاسيوم.
- ✓ زيادة إفراز الهرمونات التي تحفز إفراز اللبن للمرضعة (مثل: هرمون بروﻻكتين).
- ✓ يستخدم لعلاج حالات الإمساك المزمن لتنشيطه حركة الأمعاء ومرونتها بما تحتويه من ألياف سيليولوزية.
- ✓ الوقاية من السرطان: يعتبر التمر والرطب من أهم الأغذية التي تلعب دورا وقائيا ضد مرض السرطان وذلك لما تحتويه من فينولات ومضادات أكسدة.
- ✓ كما أنه يحتوي على مضادات السرطان والهرمونات المهمة مثل هرمون البيتوسين الذي له خاصية تنظيم الطلق عند النساء بالإضافة إلى انه يمنع النزيف أثناء وعقب الولادة ومخفض لضغط الدم عندما تتناوله الحوامل.
- ✓ يحتوي على فيتامين [أ] الذي يطلق عليه الأطباء اسم [عامل النمو[
- ✓ يحتوي على الفيتامين [ب1] [ب2] [ب المركب] ومن شأن هذه الفيتامينات تقوية الأعصاب وتليين الأوعية الدموية وترطيب الأمعاء وحفظها من الالتهاب والضعف
- ✓ يحفظ رطوبة العين وبريقها ويمنع الغشاوة الليلية ويجعل البصر نافذاً وثاقباً في الليل فضلاً عن النهار.
- ✓ يفيد الشيوخ الذين بدؤوا يعانون قلة السمع والشعور بطنين الآذان أو بالأصح ضعف الأعصاب السمعية.

- ✓ و يساهم التمر في الوقاية من الأمراض الناتجة عن نقص الفيتامينات مثل:
  - ✓ جفاف الجلد.
  - ✓ أمراض اللثة والأسنان وعدم التئام الجروح.
  - ✓ تكرار الإصابة بالسعال ونقص فيتامين أ.
  - ✓ لين عظام الحوض عند الحامل ونقص فيتامين د.

5.5.دبس التمر أو شراب التمر:

شراب التمر، ويسمى أيضًا عسل التمر، هو شراب حلو داكن (دبس الفاكهة) يتم الحصول عليه من مستخلص التمر وهو نموذجي للمطبخ العربي ويطلق عليه رب التمر في العالم العربي.

يصنع الشراب من التمر المطبوخ في الماء ثم يصفى يتركز العصير المستخرج عن طريق الطهي على نار خفيفة حتى الحصول على سائل ملون وشراب،يحتوي الشراب بشكل أساسي على السكريات بما في ذلك السكروز والجلوكوز والفركتوز، تعتبر مركبات الميلانويد والفيربوليفينول مسؤولة عن اللون الغامق للشراب (Abaibia et Rachedi,2018).

1.5.5.تكوين شراب:

العسل هو مستخلص طبيعي 100٪ من التمور العضوية المختارة،لا يحتوي على أصباغ كيميائية أو مواد حافظة، تمت إزالته من التاريخ من خلال عملية تقليدية شديدة النظافة.

شراب التمر أو العسل غني بالعناصر المعدنية (كالسيوم – مغنيزيوم – نحاس – صوديوم – فوسفور – زنك – سيلينيوم) بالإضافة إلى السكر والفيتامينات المفيدة للجسم: (أ – ب 1 – ب 2 – ج) (Abaibia et Rachedi,2018).

2.5.5.التركيب الكيميائي لنواة التمر:

1.تكوين البروتين:

توجد بروتينات في حبات التمر، لكنها تختلف حسب المنطقة والأصناف المختلفة، أظهرت العديد من الدراسات مستويات تتراوح من 2 إلى 7٪ (ليشب، 2010؛ الفارسي وآخرون، 2007؛ رحمن وآخرون، 2007؛ جربي، 1994).

وفقًا ل-(Boudechiche et *al.*,2009) ،نوى التمر غنية جدًا بالدهون، وتحتوي على أحماض دهنية مشبعة وغير مشبعة، بتنوع كبير جدًا تتراوح قيمتها بين 5 و 12٪ (ليشب

محتوى السكر تحتوي نواة التمر على سكريات مختزلة وغير مخفضة، سلطت دراسات عديدة الضوء على محتوى الكربوهيدرات في منتجات التمر.

كما يوجد جلاكتومانان قابل للذوبان في الماء و هيتيروكسيلان قابل للذوبان في القلويات في نواة التمر

يُظهر تكوين الكربوهيدرات من التحلل المائي للسكريات القابلة للذوبان في الماء وجود الجالاكتوز من مانوز الزيلوز من الأرابينوز وحمض الجلوكورونيك تقرير عن وجود الجلاكتومانان في بذور تمور الصنف آبل من ليبيا(Ishurd et *al.*, 2001)

بالنسبة إلى التحلل القلوي القابل للذوبان، نلاحظ وجود الزيلوز، والأرابينوز، والمانوز، وحمض الجلوكورونيك؛ ولكن وفقًا لإيشورد وآخرون (Ishurd et *al.*, 2003)، بعد تحليل الأجزاء القلوية من الصنف آبل من ليبيا، أظهر وجود الزيلوز والأرابينوز والمانوز وحمض الجلوكورونيك وكذلك الجلوكوز والجلاكتوز بتركيزات مختلفة.

2.المحتوى المعدني:

تعتبر نوى التمر فقيرة في المواد المعدنية، حيث تراوح معدلها من 1.28٪ إلى 3.17٪ ولم يلاحظ أي فرق معنوي بين نوى التمر العشرين التي تم تحليلها (P = 0.07). هذه القيم قريبة من تلك التي قدمها 2.22) (Munier et *al* (1973٪ لنوى التمر من موريتانيا) و 1.12٪ (نوى التمر من العراق) من ناحية أخرى، فإن الأخيرة غنية جدًا بالمواد

العضوية، وتتأرجح قيمها بين 97.65٪ و 98.74٪. تحتوي نوى التمر أيضًا على نسبة عالية من الدهون(Boudechiche et *al*.,2009).

لكن نتائج التحليلات التي أجراها (Besbes et *al*.,2004) إلى صنف Deglet-Nour و Allig أظهرت وجود لمختلف المعادن مثل: Na Fe P Zn Ca Mg ... إلخ

3.محتوى الألياف:

حسب نتائج التحليلات التي أجراها الفراسي وآخرون. (2007)، محتوى حبات الألياف أكبر من محتوى أجزاء أخرى من الفاكهة، تم تقييم هذه المركبات في دراسات أخرى.

الاستخدامات المختلفة لنوى التمر

3.5.5الأعلاف الحيوانية:

تمت دراسة استخدام منتجات التمر الثانوية في علف الماشية لأول مرة بواسطة ALL وآخرون ، 1956، وفي العلف من هذا المنتج الثانوي لنخيل التمر يعتبر غذاءً جيدًا لتغذية الإبل والإبل الأغنام (Chahma et *al*., 2005).

يمكن استخدام أحجار التمر في علف الحيوانات في مناطق الإنتاج، وخاصة في المجترات التي تميل إلى تقييم العلف السليلوزي ولكن بمعدلات محدودة(Boudechiche et *al*.,2009).

4.5.5. استخراج المضادات الحيوية:

وبحسب بحث أجري في جامعة الإمارات في سياق حماية الطيور من الأمراض فقد استغل الباحث العليلي وآخرون حفر التمور لاستخراج المضادات الحيوية التي أعطت نتائج جيدة أيضا لتطور هذه الحيوانات (Abaibia et Rachedi,2018).

تمت دراسة التأثير التثبيطي للفلافونويد على نمو البكتيريا حيث أظهرت أن العديد من مركبات الفلافونيك (apigenin، kaempferol وغيرها) لها تأثير كبير على السلالات البكتيرية المختلفة سالبة الجرام (Escherichia coli ...) وموجبة الجرام (Staphylococcus aureus...)(Kętrzyn et *al*.,2007).

1.6. الهندباء البرية *Cichorium intybus*:

أسماء أخرى : هندباء مرة، قبيحة

نبات معمر,ذو سيقان منتصبة قاسية متفرعة متشعبة، ارتفاعه من (0,3)إلى (1)متر، أوراقه في القسم الأعظم طرفية، في وريدة حادة، ذات أسنان غير متساوية،الأوراق الساقية أكثر صغرا، نادرة متطاولة،حادة، متعانقة متشابكة زغبية من الأسفل،إزهراراته رؤيات منفردة وحيدة،أو من 2 إلى 3 زهرات إبطية ذات لسينات.

إن الهندباء هي واحدة من أقدم النباتات التي قد دونت في القائمة الغذائية والطبية الإنسانية فحسب المؤرخين، فإن ورقة البردي المصرية المؤرخة من أكثر من ثلاثة آلاف عام قد ذكرت فيها. ومن بين الذين يمتدحون ويطرون خصائص هذا النبات المر.

- تصنيف نبات الهندباء البرية *Cichorium intybus*:

مملكة:	Plantes
تحت مملكة:	Tracheobionta
شعبة: البذريات	Spermatophytes
قسم:	Magnoliophyta
الفئة:	Magnoliopsida
الفئة الفرعية:	Asteridae
الرتبة:	Asterales
العائلة:	Asteraceae
الجنس:	*Cichorium*
النوع:	*Cichorium intybus*

http://www.plants.usda.gov/java/profile.symbol=CIIN. [Last accessed on 2014 Aug 29].

إن المكونات الرئيسية الفعالة للهندباء هي الأنولين والأنتيبين: منهما يحتسبان مع كمية عظيمة من النشاء في جذرها، إن الإينولين هو سكر عدادي والذي يتحول إلى سكر الفواكه (وهو عبارة عن قلون سريع التمثل والهضم من الأنسجة الحية)، إن الأنتيبين، فما أن يبدأ بتحميصه حتي يحرر سكر آخر هو (سكر الثمار) بالاشتراك مع زيت أساسي الذي يعطي للكرمليه (سكر محروق) الحاصلة أريجها العطري المميز الخاص،وهكذا فإن الهندباء، تنتج بالتحميص، مادة مصنعة على شكل بودرة مسحوق، من البذرة أو من مستخلص سائل شراب مر حلو يعتبر كبديل للقهوة بالنسبة للبعض أو كمشارك بالنسبة للبعض الآخر.

الأقسام المفيدة هي الأوراق المقطوفة قبل الأزهار،جذورها الجافة بسرعة.

2.6.العناصر الفعالة:

عنصر مر،الاكتيسين،لاكتيبكرين،بيتايين،كولين،أحماض آمينية ألبومين، ....فيتامين ث,ك,ب,ب,.

في الجذر: لبن النبات، مزيج صمغي، نشاء، اينولين وأنتيبين أملاح معدنية،بروتيدات ...(فريد,2002).

نبات Linn *Cichorium intybus* (عائلة: Compositae، Asteraceae) المعروف باسم Chicory أو Kasni.

يستخدم أيضًا كمقوي للكبد، مقوي للقلب، مدر للبول، مدر للبول، مطهر، تضخم الكبد، صداع، التهاب، فقدان الشهية، عسر الهضم، انتفاخ البطن المغص واليرقان وتضخم الطحال وانقطاع الطمث وعسر الطمث والربو (Sala, 1994).

3.6.مكونات الهندباء البرية:

تحتوي الهندباء الطازجة عادةً على 68٪ أنولين، 14٪ سكروز، 5٪ سليلوز، 6٪ بروتين، 4٪ رماد، و 3٪ مركبات أخرى، بينما تحتوي الهندباء المجففة على ما يقرب من

98٪اينولين و 2٪ مركبات أخرى (Meehye & Shin، 1996). تعتبر أوراق الهندباء مصادر جيدة للأنثوسيانين والفيتامينات A و C وكذلك البوتاسيوم والكالسيوم والفوسفور (Mulabagal et *al*.,2009).

علاوة على ذلك فإن الهندباء غنية بحمض السيكوريك، الذي يحفز جهاز المناعة وكذلك يمنع الالتهابات والالتهابات البكتيرية إلى حد محدود، الهندباء لها تأثير قوي في حماية الكبد ، ومضادات الأكسدة، ونقص السكر في الدم، (Nayeemunnisa, 2009).

الجزء التطبيقي

1.1.الأوساط الزراعية المستخدمة:

ولما كان تحضير وسط زراعي هو هدف ولب هذه البحث وبناءا على المعلومات المذكورة آنفا في الجزء النظري واعتمادا على بعض الدراسات السابقة تمحور العمل على العناصر الأساسية التالية:

1-عزل وتحديد سلالة بروبيوتيك من الزبادي.
2-تحضير الأوساط الزراعية.
3-لتنمية البكتيريا في الأوساط المحضرة وقياس تركيزها بدلالة نسبة الكثافة البصرية(D.O).

2.1.عزل وتحديد سلالة البروبيوتيك:

لغرض عزل وتحديد سلالة البروبيوتيك تم تحضير وسط زرعي جاهزMRS يتم إذابة كمية معينة من البودرته بحجم معين بحسب تعليمات الشركة المصنعة على العلبة في الماء المقطر ثم يعبأ الوسط الغذائي بعد تمام انصهاره في الزجاجة الخاصة بذلك وتغلق ثم توضع في جهاز المؤصدة Autoclave من أجل تعقيمه ثم يتم حفظها في ثلاجة.

تم تحضير الوسط الزراعي MRS صلبا وكذالك السائل:

ثم عمل تخفيف للعينة من الزبادي''فايدة'' حيث ثم باستخدام طريقة الزرع العميق MRS أجار، تحضين الأطباق لمدة 24 ساعة في درجة حرارة C37 °

1.2.1.الفحص العيني:

إجراء اختبارات الفحص العيني لدراسة الصفات الظاهرية للمستعمرات البكتيرية النامية كالشكل والقوام ولون المستعمرة الارتفاع...)، المستعمرات تم الحصول عليها باستخدام عدسة مكبرة مجهر (Joffin et Leyral, 2006).

2.2.1.الفحص المجهري:

عمل صبغة جرام للتعرف على شكل الخلايا البكتيرية و للتفريق بين البكتيريا الموجبة لجرام و السالبة لجرام اعتمادًا على طبيعة الجدار ، يتم تمييز البكتيريا إلى: موجبة الجرام ،

والتي بكتيريا حمض اللاكتيك جزء منه وسلبية الجرام. تم إجراء صبغ غرام وفقًا للبروتوكول الذي وصفه (Joffin et Leyral, 2006).

ب.إختبار بيوكيميائي:

1.اختبار الكتلاز:

الكاتلاز هو إنزيم يحفز تحلل بيروكسيد الهيدروجين إلى ماء وأكسجين وفقًا للتفاعل التالي:

$H2O2\ O2 + 2H2O2$

يتم إنتاج هذا الإنزيم من قبل العديد من الكائنات الحية الدقيقة ويستخدم لتحديد البكتيريا،تؤخذ مستعمرة معزولة من الأجار وتوضع في قطرة من بيروكسيد الهيدروجين على شريحة زجاجية نظيفة، يشير ظهور فقاعات الهواء إلى استجابة إيجابية،البكتيريا المحتجزة هي تلك الخالية من الكاتلاز (Boubekri et Ohta, 1996) .

3.1.عمل مزارع نقية للمستعمرات الناتجة على وسط MRS لغرض الحفظ:

بعد الاختبارات وتأكد من سلالة البروبيوتيك تم زراعتها لغرض تنقيتها لتنتج لنا عزلة نقية وذالك بالعملية التنقية بزرع في الوسط الصلب وتناوب بالوسط السائل حتى الوصول لعزلة نقية لها نفس الصفات.

حفظ مزارع MRS الآجار المائل في الثلاجة 4 °C

4.1.تحضير الأوساط الزراعية الطبيعية:

أ.تحضير النباتات:

1-جمع عينات النباتات المراد استخدامها حيث أخذت العينات من بساتين مختلفة من ولاية المنيعة بالنسبة للنباتات ، اما مخلفات دبس التمر فتم تحضيرها في المنزل بنوعين من التمر الغرس والدقلة، أما بالنسبة لعينات بذور العدس فكانت عبارة عن عدس تجاري ذو لون بني.

2-تجفيفها في ظروف ملائمة درجة حرارة منخفضة و في مكان ظلي وغير مشمش.

3-طحن وغربة النبات المجفف. (الملحق)

ب.مراحل تحضير الوسط:

1-وزن الكمية المطلوبة من البودرة النبات المطلوب .

2-يخلط المسحوق بالحجم المناسب من الماء في دورق مخروطي Erlenmeyer

3-غليه لبضع دقائق على طبق التسخين

4-ترشيحه بواسطة شاش نظيف

5-صب الوسط في قنينات زجاجية مناسبة تمت كتابة عليها البيانات الخاصة بالوسط.

6-تعقيمه بواسطة جهاز المؤصدة (Autoclave).

7-حفظه في الثلاجة (Refrigerator) لحين استخدامه .

جدول الأوزان والأحجام المستخدمة في الأوساط الزراعية في الملحق.

الوثيقة 4: تمثل مخطط لمراحل تحضير الوسط الزراعي المحلي.

تم ضبط الأوزان اللازمة من النباتات المستخدمة في الوسط الزراعي البرسيم MS حسب الوزن المستخدم في الدراسة العراقية:

في الحالة الطرية للنبات اخذ الجزء العلوي الخضري الحاوي على اكبر كمية من الأوراق ووزن 60غ (وجد عملياً خلال البحث أن هذا الوزن هو الأفضل بين أربعة أوزان هي 80 ،60 ،40 ،20/غ (منه ثم فرمت وقطعت بصورة جيدة ووضعت في بيشر زجاجي سعة 1 لتر وأضيف لها حوالي 500سم ماء مقطر (أو ماء حنفية مبيت) غلي على النار لمدة 5 دقائق رشح بعد ذلك باستخدام قطع من الشاش ثم كمل الحجم إلى 1 لتر وأضيف له 18غم

من مادة الأجار لغرض التصليب ثم ضبط الرقم الهيدروجيني للوسط على 2.7 وعقم بالموصدة بدرجة حرارة 121م لمدة 15 دقيقة.

أما الحالة الجافة للنبات فان الوزن الطري (60غم) وضع في الفرن بدرجة 50م لمدة 24 ساعة لغرض التجفيف ثم سحقت على مسحوق ناعم وضع في بيشر سعة 1 لتر وأعيدت عليه جميع الخطوات المذكورة آنفا بالنسبة للحالة الطرية للنبات (محسن،2002).

نشير أننا قمنا بتعديلات على الطريقة المتبعة وذالك بعملنا فقط بالمادة الجافة من نبات البرسيم الحجازي، وكما إعتمدنا الوسط الزراعي السائل.

أما بخصوص الأوساط الزراعية الأخرى(MD،LC ،MSC) فكانت الأوزان المستخدمة من اجتهادي الشخصي ،أما الوسط الزراعي المصنع(MRS) تم تحضيره حسب توصيات الشركة المصنعة له.

الجدول 6:يبين مكونات الأوساط الزراعية المحضرة.

الوسط الزراعي	المكونـات
الوسط الزراعي(**MRS**)	الماء المقطر:500مل البودرة الجاهزة
الوسط الزراعي من نبات البرسيم الحجازي(MS)	الماء المقطر:1ل مسحوق أوراق نبات البرسيم60غ
الوسط الزراعي من نبات البرسيم + بذور نبات العدس (LC)	الماء المقطر:500مل مسحوق أوراق البرسيم :25غ مسحوق بذور نبات العدس:10غ
الوسط الزراعي من نبات (البرسيم+الهندباء البرية) (MSC)	الماء المقطر:500مل مسحوق أوراق البرسيم :25غ مسحوق نبات الهندباء البرية:10غ
الوسط الزراعي من مخلفات دبس	الماء المقطر 500مل مسحوق مخلفات دبس التمر:50غ

التمر(MD)

1.5.1تنمية البكتيريا النامية في الأوساط الزراعية المحضرة:

تم تحضير الأوساط الزراعية وتعقيمها ثم اخذ مقدار 50مل من الوسط الزراعي السائل وضعه في قنينة زجاجية معقمة بالقرب من موقد بنزن لتوفير شروط تعقيم، ثم نأخذ بالماصة المجهرية 0,1 مل من معلق البكتيري تمت تنميته في وسط زراعي MRS في غضون 24ساعة، ثم حضنها في حاضنة اهتزازية (incubateurs d'agitation) بدرجة 37˚ لمدة 24 ساعة وثم قياس قيمة الكثافة البصرية في طول الموجة(600نانومتر) كل ساعتين مع مراعاة شروط التعقيم بفتح القنينات قرب موقد بنزن.

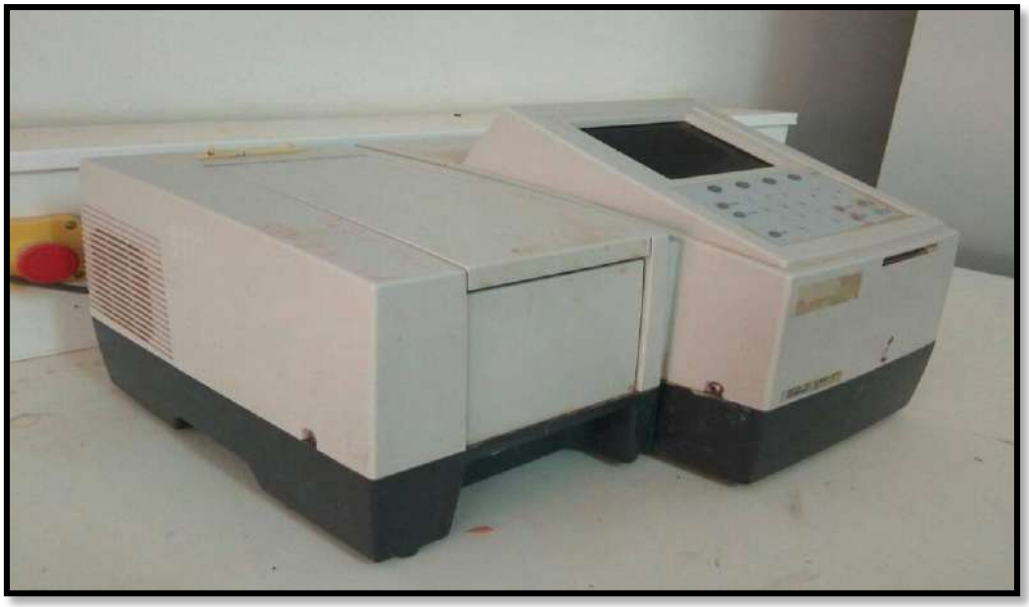
الوثيقة 5:صورة لحضن البكتيريا في جهاز الحضن الاهتزازي

2.5.1مبدأ عمل مقياس الطيف الضوئي:

تعتمد الطريقة على التناسب الموجود إلى حد ما بين الكثافة البصرية (التعكر) للمعلق الميكروبي وكمية الكتلة الحيوية (Gautier,1984)

طريقة العمل:

العلاقة بين الكثافة الضوئية D.O = f (كتلة الخلية) تتناسب فقط ضمن فاصل زمني محدد جيدًا. يحكمها قانون Beer–Lambert وصالح فقط حتى قيمة معينة من (D.O)وبالتالي، يجب تحديد هذا الفاصل الزمني، وهذا يعني أنه يجب إنشاء المنحنى القياسي، لهذا من الوقت t = 0 وفي الأوقات العادية، من الضروري قياس الكثافة الضوئية بطول موجة محدد جيدًا وفي نفس الوقت قياس المعلمة المراد دراستها (عدد الخلايا، وزن المادة الجافة ...) (Nagata et *al*., 2010).



الوثيقة 6:جهاز المقياس الطيفي المستخدم في التجربة.

ملاحظات:

- الطريقة قابلة للتكرار فقط في ظل نفس الظروف التجريبية بنفس السلالة الميكروبية وجهاز القياس.
- إذا كنا في التطبيق، أي أننا نريد معرفة القيمة المسموح بها (عدد البذور) للتعليق وعند قياس الكثافة البصرية، يبدو أن قيمة OD المقاسة تقع خارج منطقة القياس، فيجب بعد ذلك تخفيف التعليق (Oğuzet et *al*.,2002 ; Chemaly et *al*., 2003).

- في حالة العد، فإن الطريقة ليست دقيقة لأنها تقيس الخلايا الحية والخلايا الميتة في نفس الوقت، ومع ذلك تستخدم على نطاق واسع في البيئات الصناعية (Sigrist – Gas et *al*.,1976).

6.1.التحليل الإحصائي للنتائج:

تم تحليل النتائج بقيام بتحاليل إحصائية معتمدة على:

تحليل التباين (ANOVA ـ analysis of variance)

هو مجموعة من النماذج الإحصائية (statistical model) مع إجرائيان مرافقة لهذه النماذج تمكن من مقارنة المتوسطات لمجتمعات إحصائية مختلفة عن طريق تقسيم التباين variance الكلي الملاحظ بينهم إلى أجزاء مختلفة.

أول طرق تحليل التباين تم وضعها من قبل الإحصائي رونالد فيشر في العشرينات والثلاثينات من القرن العشرين لذلك تعرف أحيانا بتحليل فيشر للتباين.

https://www.jmasi.com/ehsa/tabin/variance.htm

إنه اختبار حدودي يجعل من الممكن المقارنة عالميًا بين متغيرين أو أكثر بينهما، ويسمح بتأكيد ما إذا كان هناك فرق كبير بينهما(Dress, 2007) .

من أجل تحديد ما إذا كان هناك فرق ذو دلالة إحصائية بين النتائج التي تم الحصول عليها لاختبارات نمو البكتيريا في الأوساط الزراعية المحضرة تم إجراء تحليل التباين الثنائي (ANOVA) (الوقت والمتوسط) باستخدام برنامج XLSTAT 2009.

الفصل الثاني:

النتائج والمناقشة

1.النتائج والمناقشة:

1.1. تحديد سلالة البروبيوتيك:

بعد تنمية وإجراء الفحوصات (الفحص العيني و الفحص المجهري) وكذلك الاختبارات الأخرى مثل الصبغة التفريقية أو صبغة الغرام كانت النتائج كالآتي:

يمكن الفحص العيني من وصف مظهر المستعمرات التي تم الحصول عليها على وسط MRS الصلب عند درجة الحموضة 6.5 بعد 24 ساعة من الحضانة عند 37 درجة مئوية بعد 24 ساعة،الحضانة عند 37 درجة مئوية ولتحديد المعايير المتعلقة بمستعمرات بكتيريا حمض اللاكتيك (الحجم، التصبغ، الشكل الخارجي، المظهر، اللزوجة) للعزلات المختبرة، لوحظت مستعمرات صغيرة بحجم حوالي 1 مم على وسط صلب، قطر، عدسي، أبيض أو حليبي اللون (Mami, 2013).

1.1.1.الفحص العيني:

الوثيقة 7: **صورة للمستعمرات بكتيريا البروبيوتيك النامية المعزولة من الزبادي**.

شكل المستعمرات: مستعمرات صغيرة ومستديرة – كروية.

الحجم: مستعمرات صغيرة حوالي 1 ملم

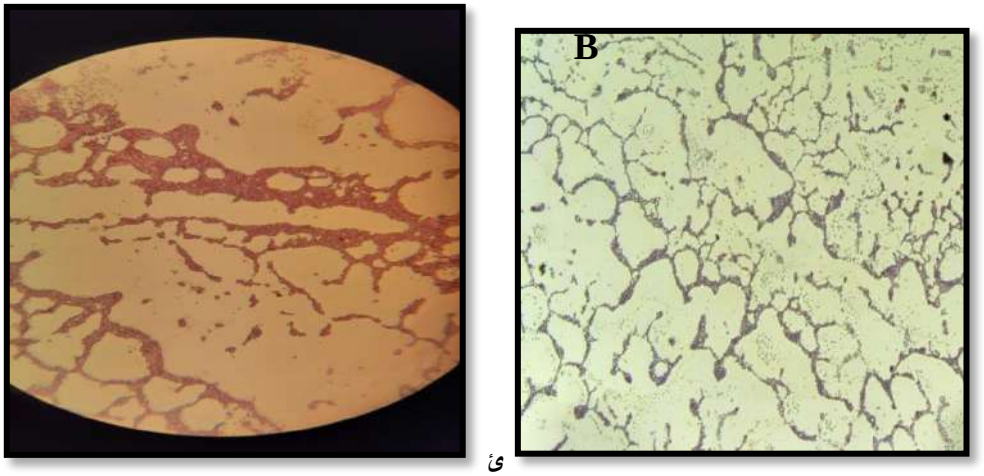
اللون: أبيض إلى كريمي

العتامة: غير شفافة

السطح:ناعم.

الفحص المجهري:

أظهرت نتائج الفحص المجهري للعزلات النامية بكتيريا موجبة الجرام.



الوثيقة 8: نتائج صبغة الجرام بالمجهر الضوئي حيث B **تكبير(G×40) وA تكبير(G×10).**

- شكل الوحدة: كروية.
- شكل التجمع: سلسلة.
- تحديد الجرام:إيجابي.

3.1.1.اختبار الكتلاز:

أظهرت نتائج إختبار الكتلاز أن البكتيريا النامية سالبة الكتلاز.

الوثيقة 9:صورة تبين نتائج إختبار الكتلاز.

أظهرت نتائج الفحوصات على العزلات البكتيرية أن هذه البكتيرية عبارة عن" *Streptococcus Sp*، يتم التخزين على المدى القصير عن طريق زرع مستعمرة على آجار صلب مائل، بعد الحضن عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة.

يتم تخزين الأجار عند 4 درجات مئوية لمدة أسابيع قليلة (Saidi et *al*., 2002).

بعد إجراء تحاليل إحصائية للنتائج المتحصل عليها بعد حضن البكتيريا في الأوساط الزراعية المحضرة كانت النتائج كالأتي:

1.2.1. نتائج تحليل التباين (ANOVA ـ analysis of variance):

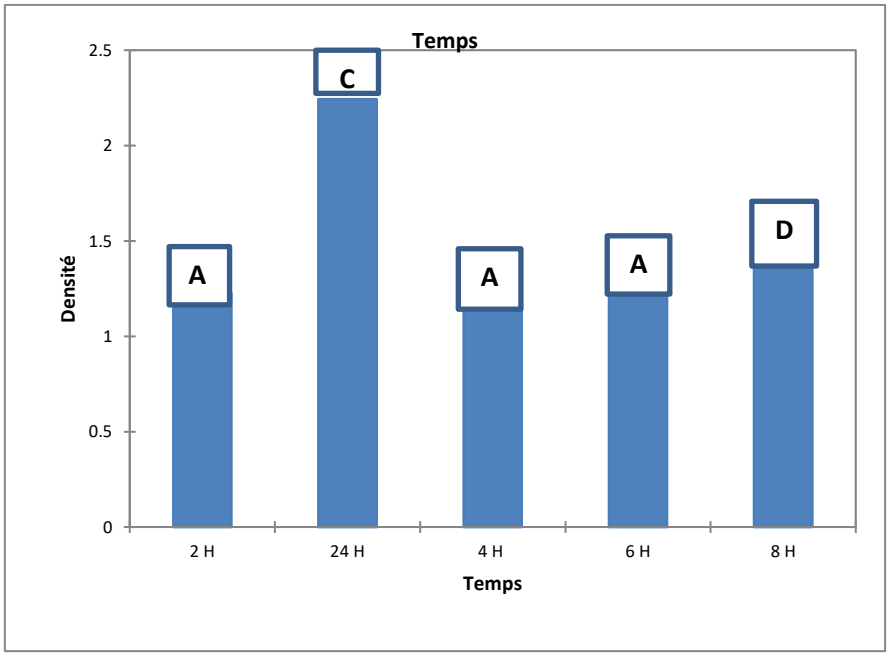
افرز هذا التحليل أن هناك فرق اعتباري من حيث المتغيرين الوقت والأوساط الزراعية المستخدمة

وفقًا لتحليل جدول08، يوجد فرق كبير للغاية بين الأوقات الخمس مع احتمال خطأ بترتيب <0.0001. أظهر تحليل التباين أيضًا فرقًا مهمًا للغاية بين الأوساط الزراعية الخمسة مع احتمال خطأ بترتيب <0.0001. نتائج تحليل التباين موضحة في الملحق.

2.2.1.إختبار فيشر(Fisher test):

عامل الزمن:

تم في هذا التحليل إجراء مقارنة بين الأزمنة التي تم فيها الزرع لمعرفة أي فترة كان فيها النمو البكتيري أكثر ونتائج موضحة في الشكل الآتي:



الوثيقة 10: رسم بياني يمثل متوسط أزمنة نمو البكتيريا المستعملة .

التحليل بواسطة اختبار فيشر (LSD)، أعطى تحليل الفروق بين الأنماط بفاصل ثقة 95٪ ثلاث مجموعات (الوثيقة 09):

مجموعةA (الزمن 2 سا 4 سا و6 سا) والمجموعة B(الزمن 8سا)،حيث تميزت هاتين المجموعتين بنمو متقارب وليس هناك فرق كبير، وذالك راجع للتكيف البكتيريا مع أوساط الزرع وقيامها بالعمليات الأيضية.

المجموعة C(الزمن 24سا) تميزت هذه المجموعة بأنها كانت أعلى قيمة في النمو بفرق كبير وواضح ويدل ذالك على نمو البكتيريا بشكل أفضل في هذا الزمن .

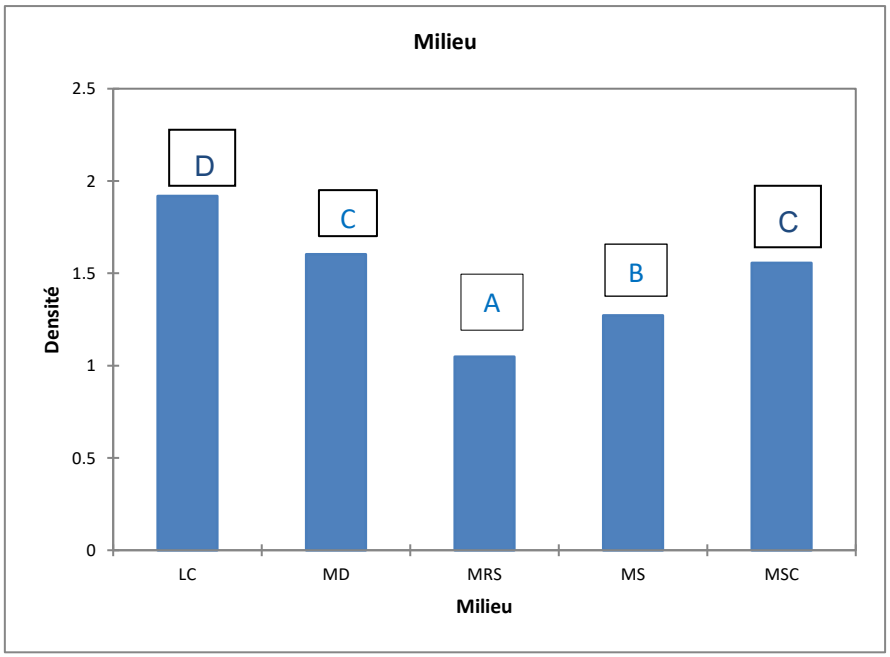
التفسير:

كانت المجموعةA (الزمن 2 سا 4 سا و6 سا) متقاربة النمو وليس هناك فرق كبير يرجع ذالك لتكيف البكتيريا مع الأوساط الزراعية من جهة، ومن جهة أخرى ربما كان سبب عدم استقرار درجة الحرارة بسبب نقل العينات كل ساعتين لقياس تركيز البكتيري ولبعد جهاز الحضن عن جهاز القياس لبعد المختبر عن الأخر.

استند على رسم البيان قيم المتوسط المقدر، انظر الجدول الملحق.

عامل الوسط الزراعي:

في هذا قمنا بتحليل قيم الكثافة البصرية في مختلف الأوساط الزراعية المحضرة(MRS،MS،LC، MD، MSC) وكانت النتائج كالآتي:



الوثيقة 11: رسم بياني يمثل قيم الكثافة البصرية في مختلف الأوساط الزراعية الخمسة (MRS،MS،LC، MD، MSC).

التحليل بواسطة اختبار فيشر (LSD)، أعطى تحليل الفروق بين الأنماط بفاصل ثقة 95٪ أربعة مجموعات (الوثيقة10):

- المجموعة Aوتمثلت في الوسط الزراعي (MRS) حيث أعطى أدنى قيمة للكثافة البصرية بين جميع الأوساط.
- المجموعة B وتمثلت في الوسط الزراعي (MS) حيث أعطى هذا الوسط نتائج أعلى من الوسط السابق .
- المجموعة C وتمثلت في الوسطين الزراعيين (MSC،MD) حيث كانت نتائج هذين الوسطين نتائج جيدة بقيم الكثافة البصرية أعلى من المجموعتين السابقتين.
- المجموعة D وتمثلت هذه المجموعة في الوسط الزراعي (LC) لاحظنا إن هذا الوسط الزراعي أعطى أعلى قيمة للكثافة البصرية

3.1.التفسير:

اختلفت نتائج الأوساط الزراعية من وسط إلى آخر وذالك حسب سرعة نمو البكتيريا في كل وسط حيث أعطت كل الأوساط المحضرة المحلية قيما أعلى وأحسن من الوسط الزراعي الصناعي (MRS) وذالك لغناها بالمواد الغذائية و حاجيات الضرورية التي تحتاجها البكتيريا المستخدمة في التجربة، حيث اثبت هذا نتائج الدراسة السابقة للوسط الزراعي المحضر للأنواع البكتيريا *Streptococcus. Sp* والذي طبقناه نحن بدورنا على تنمية بكتيريا البروبيوتيك وتجدر الإشارة إلى أن المستخلص المحضر من الجت لتحضير الوسط غير مدعم بأي مادة إضافية إلى تركيبه لتشجيع نمو البكتريا، حيث تشير المراجع إلى أن للجت محتوى جيد من المواد البروتينية، والكاربوهيدراتية والفيتامينات فضلاً عن العناصر الأساسية والأثرية المهمة للتغذية والنمو (صفر، 1985؛ الأنصاري،1982؛رضوان والفخري، 1976).

كما نشير إلى أن الوسط الزراعي (MS) كانت نتائجه أقل من غيره من الأوساط المحلية(LC،MD ،MSC) وأفضل من الوسط الزراعي المصنع (MRS) ويرجع ضعف نتائجه إلى: إن عملية التجفيف ربما أدت إلى فقدان هذا النبات بعض إمكانياته الغذائية المهمة لتغذية هذه الميكروبات وان الحرارة (خصوصاً الجافة) عادة ما تؤدي إلى مثل هذا التأثير على العناصر الأساسية لنمو الكائن المجهري خاصة فيما يتعلق بالمحتوى البروتيني والفيتامينات (السعد، 1982).

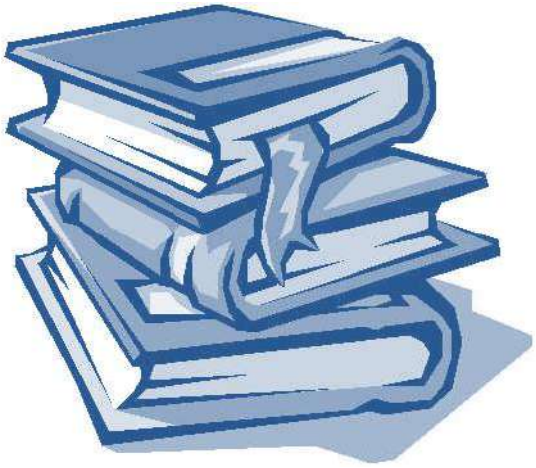
كما أن أحسن نتائج كانت في الوسط الزراعي المحضر من مسحوق بذور العدس ومسحوق أوراق البرسيم المجفف ''ثبت أن وسط الاختبار الذي يحتوي على مسحوق بذور العدس هو المصدر الأكثر خصوبة لنمو وحدات تكوين المستعمرات مقارنة بالوسائط الأخرى التي تم اختبارها (Pathak & Martirosyan, 2012).

الخاتمة

الخاتمة

في ختام بحثنا هذا المتمثل في تحضير وسط زراعي للبكتيريا البروبيوتيك من مواد محلية وطبيعية، مثل مخلفات دبس التمر والبرسيم والعدس ونبات الهندباء، حيث تمت تنمية بكتيريا فيها، وعلى ضوء النتائج المتحصل عليها من خلال هذا العمل المتواضع، خلصنا إلى نجاح كل الأوساط الزراعية المحضرة محليا مقارنة بالوسط الزراعي المصنع مع وجود فروق بين الأوساط ، وبناء على هذه النتائج ندعو إلى مواصلة البحث في هذا الموضوع، وألا نتوقف عند هذا الحد بإذن الله عز وجل، بل ينبغي أن يفتح مجال البحث في هذا الموضوع، وأن يستمر العمل على هذه الأوساط الزراعية المحضرة محليا، وإمكانية استخدامها كأوساط أساسية ودراسة طرق تعديلها بضبط التراكيز، والأوزان المناسبة والرفع من كفاءتها أكثر، كما يمكن جعل هذه الدراسة منطلقا لاستحداث أوساط زراعية أكثر كفاءة، وكذلك دراستها بتقنيات أكثر دقة، من أجل تطوير الجانب العملي العلمي.

المراجع



المراجع

المراجع العربية:

1. أحمد علي ف.(2005)."نخلة التمر... شجرة الحياة بين الحاضر والماضي والمستقبل "، الدار العربية للنشر والتوزيع، الطبعة الأولى، القاهرة، مصر، 580ص.
2. أيوب عيسى، محسن.(2002)."دراسة حول استخدام مستخلص نبات الجت في تحضير وسط زرعي لتنمية الأحياء المجهرية". قسم علوم الحياة كلية العلوم. جامعة الموصل. مجلة علوم الرافدين، المجلد 19 ،العدد 1 ،ص94-100 ،2008.
3. بابا عيسى، فريد. (2002). "موسوعة النباتات المفيدة".ترجمة:محمد خير جمعة،دار عكرمة للنشر والتوزيع،الطبعة الأولى،سوريا،ص418-419.
4. بن ناصر الرضيمان، خالد .(2003)."القيمة الغذائية والعلاجية للتمور"،إصدار جامعة ملك سعود.السعودية.
5. بنت عتيق الله الصبحي ، نهى .(2009). "إستخدامات سعف النخيل في إبداعات زخرفية باستخدام غرز التطريز" ، مذكرة ماجستير . جامعة أم القرى، المملكة العربية السعودية.
6. بوقوادة، مصطفى. (2007)."دراسة فيتو كيميائية للبيبيدات و فينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي "، مذكرة ماجستير. جامعة ورقلة.
7. الداغستاني، هالة. (2002)."علم الأحياء المجهرية العملي"،دار صفاء للنشر والتوزيع،الأردن،ص63-64.
8. شحاته، ا. (2009)."موسوعة النخيل والتمور"، دار الطلائع للنشر والتوزيع والتصدير،القاهرة،مصر،80ص.
9. صفر، ناصر حسين. (1985)." محاصيل العلف والمراعي". دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة بغداد.
10. عبد الله العيسى وميساء،علوش.(2006)."أساسيات علم الأحياء الدقيقة. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية"،سوريا،ص50-53.
11. العقون، سهيلة. (2003). فصل وتحديد الأيض الثانوي الفلافونيدي لنبتة طبية تنتمي إلى العائلة الشفوية (lamiaceae)و دراسة التأثير المضاد للبكتيريا ، مذكرة ماجستير ، جامعة منتوري. قسنطينة.
12. غيابه ز.(2015)."دراسة تحليلية للبيبيدات و فينولات بعض أصناف التمر المحلي" ،مذكرة دكتوراه . جامعة ورقلة ،165ص.
13. القباني، ص. (1965)."الغذاء لا الدواء"، دار العلم للملايين الطبعة الأولى، بيروت، لبنان.
14. قمولي ا.(2011)."دراسة الكتروكيميائية لفينولات بعض نوى التمر المحلي"، مذكرة ماستر. جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة،3-4ص.
15. محمد إبراهيم عبد المجيد، د. زيدان هندى عبد الحميد، د. جميل برهان السعدي. (1996).أفات النخيل والتمور في العالم العربي ، المكتبة الأكاديمية .

16.محمد السيد، رضوان، وعبد الله قاسم الفخري.(1976). "محاصيل العلف والمراعي". الجزء الثاني، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

17.محمود محمدين، محمد.(1983) . نخيل التمر في العالم العربي ، مجلة كلية التربية ، جامعة الملك سعود ، م5 ، ص 127- 157

المراجع الأجنبية:

1. Abaibia, H &Rachedi, H. (2018). Caractérisation nutritionnels et morphologiques de trois variétés de dattes : « Deglet-Nour », « Mech-Degla », « Ghars ».mémoire master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
2. Abdelguerfi, A., & Laouar, M. (2002). Les espèces fourragères et pastorales, leurs utilisations au Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). *Editions Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), Bureau régional de la FAO pour le Proche-Orient et l'Afrique du Nord*
3. Adhikari, K., Mustapha, A., Grün, I. U., & Fernando, L.(2000). Viability of microencapsulated bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage. *Journal of dairy science*, *83*(9), 1946-1951.
4. Akhtar, F., Bashir M., Baig, W., Zahoor F., Shujaat N., Humayun ,E., Jamshaid B., Hayat, A., Mujaddad UR Rehman M., Jadoon M.A., Abdulmalik, A., Ullah z., Gul S., Mallick, M.A., Ul haq Q.I., (2016) . In Vitro Antibacterial Activity of Spinacia Oleracea and Melilotus Indicus Used In Pakistani Folk Medicines against Some Specific Bacterial Strains , IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS), Volume 11, PP 77-84
5. Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M., & Al-Rawahy, F. (2007). Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food chemistry*, *104*(3), 943-947.
6. Amarowicz, R., Troszynska, A., Ko-Pikelna, N. and Shahidi, F. (2004), Polyphenolics Extracts from Legume Seeds: Correlations Between Total Antioxidant Activity, Total Phenolics Content, Tannins Content and Astringency (Electronic Version). Journal of Food Lipids, 11, 278–286.
7. Amellal nee Chibane, H. (2008). *Aptitudes technologique de quelques variétés communes de dattes: formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé* (Doctoral dissertation, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara
8. Amrane, R. (2002). *Prévision de la valeur nutritive des fourrages par des méthodes de laboratoire. Application à des fourrages Algériens* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat. Institut National d'Agronomie. Alger) , p 150.
9. Baameur, M. (1998). Comportement de quelques variétés introduites et populations sahariennes de luzerne (*Medicago sativa L.*) dans la région de Ouargla, Thèse ING.
10. Beaudoin, N., Denys, D., MILLER, J., Monbrun, M. D., & Ledain, C. (1992). Influence d'une culture de luzerne sur le lessivage du nitrate dans les sols de Champagne crayeuse. *Fourrages (Versailles)*, (129), 45-57.

11. Belhamra, Z. (2018). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires (Doctoral dissertation).
12. Benabderrahim, M. A., Haddad, M., & Ferchichi, A. (2008). Essai d'adaptation de 16 cultivars de luzerne pérenne (*Medicago sativa L*.) dans un système oasien du sud tunisien: Gabès (local) et 15 cultivars étrangers. *Revue options méditerranéennes, série A*, (79), 419-422.
13. Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N. E., & Attia, H. (2004). Date seeds: chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction. *Food chemistry*, *84*(4), 577-584.
14. Boubekri, K., Ohta, Y. (1996). Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, el-klila. Journal of Science and Food Agriculture, 70: 501-505
15. Boudechiche, L., Araba, A., Tahar, A., & Ouzrout, R. (2009). Etude de la composition chimique des noyaux de dattes en vue d'une incorporation en alimentation animale. Livestock Research for Rural Development, 21(5).
16. Bourgeois Bach, S. (2005). Culture et utilisation de luzerne. Proconseil. Moudon. Association pour le développement de la culture fourragère. Domaine de changins.
17. Carlsen, B. (2001). The role of lactic bacteria in the prevention and the treatment of diseases. The Nutrition Digest of Essential Nutrients, 11(1):11-44.
18. Champagne, C. P., Gardner, N. J., & Roy, D. (2005). Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, *45*(1), 61-84.
19. Chatelier, D. (2010). La luzerne alliée naturelle de la biodiversité. COOP de France Déshydratation, Réseau Biodiversité pour les Abeilles, Fotolia.
20. Chehma, A. (2005). Étude floristique et nutritive des parcours Camelins du Sahara septentrional algérien. Cas des régions de Ouargla et Ghardaïa. Thèse de Doctorat en Biologie Appliquée. Université Badji Mokhtar, Annaba, 198 P.
21. Chemaly RF, Hall GS, Keys TF, Procop GW.(2003). Evaluation of middle ear fluid in acute otitis media with Gram-stained smear.Diagn Microbiol Infect Dis. 46(4):245-8.
22. Childers, W. R. (2008). Encyclopédie Canadienne. (http://www.thecanadianencyclopedia.com)
23. Cokkizgin A. et Shtaya M.J.Y. (2013). Lentil: Origin, Cultivation Techniques, Utilization an Advances in Transformation. Agricultural Sciences 1 (1):55-62.
24. Cruickshank, J.P.,(1975). Medical Microbiology. 12th Ed. Vol. 2, Published by Churchill Livingstone. Edenbrugh London and New York.
25. Dewhurst, R., Coulmier, D. (2004). Effets des extraits à base de luzerne sur les acides gras du lait de vaches laitières Holstein. Renc. Rech. Ruminants.
26. Djerbi, M. (1994). Précis de phéniculture, F.A.O, Rome.p191
27. Dress, F. (2007). Les probabilités et la statistique de A à Z. Ed. Dunod. 205p.
28. Elmer, W.K., Sephen, D.A., William, M.J., Pual, C.S. and Washington, C.W., 1997. Diagnostic Microbiology 5th Ed. Published by Lippinctt – Raven

29. Federighi, M. (2005). *Bactériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments* (p. 290p). Lavoisier
30. Ferguson, M. E., Maxted, N., Van Slageren, M. I. C. H. A. E. L., & Robertson, L. D. (2000). A re-assessment of the taxonomy of Lens Mill.(Leguminosae, Papilionoideae, Vicieae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *133*(1), 41-59.
31. Fuller, R. (1989): Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 66: 365–378.
32. Gas, W. Sigrist, Wasser, Abwasser. (1976)."Stray light in turbidity measurements". Notices techniques de turbidimètres .Ed N° 5 éditée par l'Association Suisse de l'eau et du gaz.
33. Gautier, B. (1984). Projet de norme sur la mesure de l'indice de turbidité dans les boissons spiritueuse.
34. Gobbetti, M., Corsetti, A., Smacchi, E., Zocchetti, A., & De Angelis, M. (1998). Production of Crescenza cheese by incorporation of bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, *81*(1), 37-47.
35. Haddie, J.M. (1986). Other streptococci. In: Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1 : 1070.
36. Hnatyszyn, M., Guais, A. (1988). Les fourrages et l'éleveur. Agriculture
37. Ishibashi, N., & Shimamura, S. (1993). Bifidobacteria: research and development in Japan. *Food technology (Chicago)*, *47*(6), 126-136.
38. Ishrud, O., Zahid, M., Zhou, H., & Pan, Y. (2001). A water-soluble galactomannan from the seeds of Phoenix dactylifera L. *Carbohydrate Research*, *335*(4), 297-301.
39. Ishurd, O., Ali, Y., Wei, W., Bashir, F., Ali, A., Ashour, A., & Pan, Y. (2003). An alkali-soluble heteroxylan from seeds of Phoenix dactylifera L. *Carbohydrate research*, *338*(15), 1609-1612.
40. Issa, A. Y., Volate, S. R. and Wargovich, M. J. (2006) . The Role of Phytochemicals in Inhibition of Cancer and Inflammation: New Directions and Perspectives (Electronic Version). Journal of Food Composition and Analysis, 19, 405–419
41. Joffin, J. N., Leyral, G. (2006). Microbiologie technique « Tome 1 »: Dictionnaire des techniques. CRDP Aquitaine, Bordeaux.
42. Katarzyna U., Anna M., Marta M., Joanna J.B. and Grzegorz W. (2007). Assessment of antibacterialeffects of flavonids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. Biologia.62(2) :132-135.
43. Khalid, N. M., & Marth, E. H. (1990). Lactobacilli—their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese: a review. *Journal of Dairy Science*, *73*(10), 158-167.
44. Kim, M., & Shin, H. K. (1996). The water-soluble extract of chicory reduces glucose uptake from the perfused jejunum in rats. *The Journal of nutrition*, *126*(9), 2236-2242.
45. Kumar, M., Kumar, A., Nagpal, R., Mohania, D., Behare, P., Verma, V., ... & Yadav, H. (2010). Cancer-preventing attributes of probiotics: an update. *International journal of food sciences and nutrition*, 61(5):473–496. 13.

46. Kumar, M., Kumar, A., Nagpal, R., Mohania, D., Behare, P., Verma, V., ... & Yadav, H. (2010). Cancer-preventing attributes of probiotics: an update. *International journal of food sciences and nutrition*, *61*(5), 473-496.
47. Kumar, M., Verma, V., Nagpal, R., Kumar, A., Gautam, S. K., Behare, P. V., ... & Aggarwal, P. K. (2011). Effect of probiotic fermented milk and chlorophyllin on gene expressions and genotoxicity during AFB1-induced hepatocellular carcinoma. *Gene*, *490*(1-2), 54-59.
48. Larpent, J.P.(1996).les bacteries.In: Microbiologie alimentaire, Aliments fermentes et fermentations alimentaires (Tome 2), 2° Edition, (eds Bourgeois C.M. et Larpent J.P.). Lavoisier, Tec. & Doc., Paris. pp. 6-33
49. Leclerc, H., Gaillard, F. L., & Simonet, M. (1994). Les grands groupes de bactéries. *Microbiologie générale: la bactérie et le monde microbien. DOIN. Paris*, *445*.
50. Leroy, F., G. Falony, and L. de Vuyst. (2008). Latest Developments in Probiotics. In Toldrà F. (ed.), Meat Biotechnology, Springer Science Business Media, LLC. 217-229 pp.
51. Li, Y., Hao, Y., Fan, F., & Zhang, B. (2018). The role of micro biome in insomnia, circadian disturbance and depression. *Frontiers in psychiatry*, *9*, 669.
52. Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, *147*(3659), 747-748
53. Mami, A. (2013). *Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis à vis des germes impliqués dans les intoxications alimentaires* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf des Sciences et de la Technologie-Mohamed Boudiaf d'Oran). 25, 77.
54. Mauriès, M. (1994). La luzerne aujourd'hui. ed. *France agricole 254p*.
55. Mauriès, M. (1998). Cour luzerne, module FO : production et gestion du système fourrager. GNIS et du SNDF. France. 22p.
56. Mauriès, M. (2003). Luzerne culture, récolte, conservation, utilisation. Ed. France Agricole. 239 p.
57. McCann, T., Egan, T., & Weber, G. H. (1996). Assay procedures for commercial probiotic cultures. *Journal of food protection*, *59*(1), 41-45.
58. Metchnikoff, E. (1907). Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. *The prolongation of life: Optimistic studies. W. Heinemann, London*, 161-183.
59. Mulabagal, V., Wang, H., Ngouajio, M., & Nair, M. G. (2009). Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (Cichorium intybus) varieties. *European Food Research and Technology*, *230*(1), 47-53.
60. Munier, P. (1973).Le palmier dattier. Collection techniques agricoles et productions tropicales. Editions G-P. Maisonneuve et la rosse, Paris, 1973, 211 pages.
61. Nagata K, Mino, H., Yoshida, Rinsho, S. Byori. (2010). Microbiology of liver abscesses and the predictive value of abscess gram stain and associated blood cultures. 58(5):490-7.

62. Nayeemunnisa, A. (2009). Alloxan diabetes-induced oxidative stress and impairment of oxidative defense system in rat brain: neuroprotective effects of cichorium intybus. *Int J Diabetes & Metabolism*, *17*, 105-109.
63. Oguz, F., Ünüvar, E., & Dündar, G. (2002). Evaluation of middle ear fluid in acute otitis media with gram-stained smear. *The Pediatric infectious disease journal*, *21*(10), 986-987.
64. Pathak, M., & Martirosyan, D. (2012). Optimization of an effective growth medium for culturing probiotic bacteria for applications in strict vegetarian food products. Functional Foods in Health and Disease, 2(10), 369-378.
65. Paucean, A., Moldovan, O. P., Mureșan, V., Socaci, S. A., Dulf, F. V., Alexa, E., & Muste, S. (2018). Folic acid, minerals, amino-acids, fatty acids and volatile compounds of green and red lentils. Folic acid content optimization in wheat-lentils composite flours. Chemistry Central Journal, 12(1), 1-9.
66. Pedersen, G., Andresen, L., Matthiessen, M. W., Rask-Madsen, J., & Brynskov, J. (2005). Expression of Toll-like receptor 9 and response to bacterial CpG oligodeoxynucleotides in human intestinal epithelium. *Clinical & Experimental Immunology*, *141*(2), 298-306.
67. Peyraud, J.L., Delaby, L. & Lebois, S. (1998). Comparison of dehydrated lucerne and straw to reduce sub-acute ruminal acidosis syndrome in dairy cows fed highly energetic diets. Coop de France Déshydratation.
68. Pintado, M. M., Gomes, A. M., & Freitas, A. C. (2014). Probiotics and their therapeutic role. *Probiotic bacteria: fundamentals, therapy and technological aspects, 1st edn. Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., Singapore*, 47-94.
69. Pirt, S.J., 1975. Principle of Microbe and Cell Cultivation. Blackwell Scientific Publication, Oxford, London.
70. Pot, B. (1996) Devriese L.A., Uris D., Vandamme P., Haesebrouck F. et Kersters K. Phenotypic identification and differentiation of Lactococcus strains isolated from animals. Syst. Appl. Microbiol. 19 : 213-222.
71. Pot, B. (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris.1-106.
72. Python, P., Boessinger, M., & Buchmann, M. (2009). Teneur moyenne en minéraux majeurs des fourrages secs ventilés selon l'altitude et la situation géographique. AGRIDEA-Lausanne, Production animale, Jordils 1.
73. Quezel, P. et Santa, S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre nati. rech. sci. Paris. T. p: 1- 565
74. Renault, J.C. (2003). La luzerne : culture- utilisation. Co édité par le GNIS, Aravalis Institut du végétal et l'élevage.
75. Robert, P., Thiébeau, P., Coulmier, D. et Larbre, D. (2010). Luzerne et eau: mieux vaut prévenir que guérir. COOP de France Déshydratation.

76. Saidi, N., Guessas, B., Bensalah, F., Badis A., Hadadji, M., Henni, D. E, Prcrost, H. &Kihal, M. (2002). Caractérisation des Bactéries Lactiques Isolées du lait cru de chèvre des régions arides d'Algérie. Journal Algérien des régions arides. , 01 : 01-14.
77. Sala, AV. (Ed.). (1994). Indian Medicinal Plants: A Compendium of 500 Species. 1st ed. Origent Longmen Ltd., Chennai, p. 74.
78. Sallie, R., Tredger, J.M., William, R. (1991) Drugs and the liver biopharmaceutical drug disposition. 12, 251–259.
79. Sanders, M. E. (1993). Effect of consumption of lactic cultures on human health. *Advances in food and nutrition research*, *37*, 67-130.
80. Sanders, M. E. (2008). Probiotics: definition, sources, selection, and uses. *Clinical infectious diseases*, *46*(Supplement_2), S58-S61.
81. Schleifer, K. H. (1987). Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, *3*(3), 201-203.
82. Schoutteten, F. (2004). La luzerne. Fiche Technique. Agro industrie. CRCI/ARIST Champagne Ardenne p, 15.
83. Shah, N.P. (2005). Functional cultures and health benefits. Int. Dairy J. 17 : 1262-1277.
84. Singh, R J. (2011). Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement
85. Stiles, M.E. & Holzapfel, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food Microbial. 36: 1-29.
86. Suttie, J. M. (2004). Conservation du foin et de la paille pour les petits paysans et les pasteurs, collection FAO. 97p.
87. Tamime, A. Y. (2002). Microbiology of starter cultures. *ROBINSON, RK Dairy Microbiology Handbook*, 261-366.
88. Tenbrink, B & Minekus, M. (2004). Antimicrobial activity of lactobacilli: preliminary characterization and optimization of production of acidosis B., a novel bacteriocin produced by L. acidophilus M46. Journal Appl. Bacteriol, 77(9):140-148.
89. Thiebeau, P., Justes, E., & Vanloot, P. (2001). Filière luzerne en France: des atouts en faveur de l'environnement. *Perspectives agricoles*, (266), 32-36.
90. Thiébeau, P., Parnaudeau, V., & Guy, P. (2003). Quel avenir pour la luzerne en France et en Europe. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, *49*(49), 29-46.
91. Tissier, H. (1907). *Traitement des infections intestinales par la méthode de transformation de la flore bactérienne de l'intestin*. CR.Soc Biol, 60 : 359-361.
92. Tuomola, E., Crittenden, R., Playne, M., Isolauri, E., & Salminen, S. (2001). Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *The American journal of clinical nutrition*, *73*(2), 393s-398s.
93. United States Department of Agriculture (USDA). (2008), USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21. (Electronic Version).

94. Waligora, C. (2010). Introduire la luzerne. De l'azote en quantités industrielles. Technique. Cultivar-mars. 42-45.
95. Watterlot, L. (2010).- Analyse des effets de souches probiotiques anti-inflammatoires. Thèse de doctorat de l'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement de paris : 65-66.
96. Webster, G.R., Kahn, S.V. & Moore, A.W.(1967). Poor growth of alfalfa (Medicago sativa) on some Alberta soils. Agronomy Journal 59 : 37-41

المراجع من الانترنت:

https://www.jmasi.com/ehsa/tabin/variance.htm

Plants Profile. Natural Resources Conservation Service, United States Department of Agriculture. Available from: http://www.plants.usda.gov/java/profile.symbol=CIIN. [Last accessed on 2014 Aug 29].

الملاحق

الملاحق

الملحق(1):

.الأجهزة والأدوات المستخدمة:

- جهاز الطبق الحار أو طبق التسخين (plate Hot)لتحضير الأوساط الغذائية وتسخينها.
- المؤصدة(Autoclave) لتعقيم الأوساط الغذائية.
- ميزان حساس(balance Sensitive)، لوزن الأوساط الغذائية الجافة.
- فرن باستور(Pasteur's Oven) لتعقيم الزجاجيات .
- جهاز حضن (Incubator)، لتحضين المزارع البكتيرية.
- مقياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer) لقياس الكثافة البصرية.
- حمام مائي(Water bath) لتسخين الأوساط الزراعية.
- الماصة المجهرية (Micropipette) ماصة باستور.
- مجاهر (Microscopes)للفحص المجهري للبكتيريا.
- الثلاجة (Refrigerator) لحفظ العزلات البكتيرية.

1.الأدوات: زجاجيات معقمة، أطباق بتري، أنابيب الاختبار، دورق مخروطي، صفيحة وشريحة زجاجية،ورق pH،

3.المواد الكيميائية المستخدمة: ايثانول (CH_3CH_2OH) ، بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، كلوريد صوديوم(NaCl).

4.الأصباغ: صبغة الكريستال البنفسجي، اليود، **فوشين** أو **هيدروكلوريد الروزالينين.**

أ.صبغة جرام (الصبغة التفريقية):

خطوات العمل:

1 – أخذ مستعمرة صغيرة من البكتيريا النامية من الزبادي.

2 – تثبيت المعلق البكتيريا .

3 – نضيف صبغة الكريستال البنفسجي لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف

4 – نضيف اليود لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

5 – نضيف الكحول لمدة30ثانية ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

6 – نضيف **فوشين** لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

7 – تجفف الشريحة ثم تفحص.

الوثيقة 01: تحضير الوسط الزراعيMRS.

الوثيقة02: اختبار الكتلاز لعينات أخرى بعد تنقية العزلات البكتيرية.

النباتات المستخدمة قبل وبعد التجفيف:

الوثيقة03:مخلفات دبس التمر بعد التجفيف والطحن.

الوثيقة 04:بذور العدس المستعملة قبل وبعد الطحن.

الوثيقة 05:نبات الهندباء البرية قبل وبعد التجفيف والطحن.

صور للتحضير بعض الأوساط الزراعية المحلية:

الوثيقة 06:الوسط الزراعي المحلي المحضر من مخلفات دبس التمر.

الوثيقة07:الوسط الزراعي المحلي المحضر من أوراق البرسيم الحجازي.

الجدول(1) الذي اعتمد عليه في رسم مخطط الأعمدة في التحليل الإحصائي المتعلق بمتغير الزمن:

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
4 H	1,199	A
2 H	1,227	A

6 H	1,285	A		
8 H	1,444		B	
24 H	2,244			C

الجدول(2) الذي اعتمد عليه في رسم مخطط الأعمدة في التحليل الإحصائي المتعلق بمتغير الوسط الزراعي:

Modalité	Moyenne estimée	Groupes				
MRS	1,048	A				
MS	1,272		B			
MSC	1,556			C		
MD	1,603			C		
LC	1,919					D

الجدول 2: يبين نتائج تحليل التباين.

Tableau analyse de la variance :					
Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Temps	4	11,452	2,863	64,229	< 0,0001
Milieu de culture	4	6,865	1,716	38,503	< 0,0001
Erreur	68	3,031	0,045		
Total corrigé	76	21,348			
Calculé contre le modèle Y=Moyenne(Y)					

ملخص الدراسة:

بناءا على أهمية الأوساط الزراعية في دراسة الكائنات الحية الدقيقة، تم في هذا العمل دراسة " تصميم وسط زراعي يعتمد على المنتجات المحلية لنمو بكتيريا البروبيوتيك" قمنا بزرع بكتيريا (*Streptococcus. Sp*) المعزولة من الزبادي في أربعة أوساط زراعية محضرة محليا (LC MD MSC MS) لمعرفة قابلية نمو هذه البكتيريا، وما مدى كفاءة هذه الأوساط مقارنة بالوسط الزراعي المصنع(MRS) وتبين بعد التحليل الإحصائي للنتائج المتحصل نجاح الأوساط الزراعية المحلية جميعها مع فرق بين الأوساط حيث أعطى الوسط الزراعي(LC) أحسن نتائج بين بقية الأوساط الزراعية الأخرى، كما كانت كفاءة هذه الأوساط الزراعية المحلية أفضل مقارنة بالوسط الزراعي (MRS)، هذا ما يشجع على متابعة العمل على هذا الموضوع بشكل أفضل وأدق واستخدامها كأوساط أساسية أو تعديلها بإضافة مواد تزيد من فعاليتها، والمساهمة في البحث والإنتاج العلمي، والحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات.

الكلمات المفتاحية: وسط زراعي محلي، بكتيريا البروبيوتيك، MRS ،LC ،MD ،MSC ،MS .

Résumé de l'étude:

Sur la base de l'importance des milieux de culture dans l'étude des micro-organismes, dans ce travail, " conception d'un milieu de culture à base de produits locaux pour développement des bactérie probiotique " a été étudié. Nous avons cultivé la bactérie (Streptococcus. Sp) isolée du yaourt dans quatre préparations locales. milieu de culture (LC MD). MSC MS) pour connaître le potentiel de croissance de ces bactéries, et le degré d'efficacité de ces milieux par rapport au milieu de culture (MRS). Après l'analyse statistique des résultats obtenus, il a été constaté que tous Les milieux de culture locaux ont réussi avec une différence entre les cercles, où le milieux de culture (LC) a donné les meilleurs résultats parmi le reste des autres milieux De plus, l'efficacité de ces milieux de culture locaux était meilleure par rapport au milieu de culture (MRS) , qui encourage la poursuite des travaux sur ce sujet d'une manière meilleure et plus précise et en les utilisant comme supports de base ou en les modifiant en ajoutant des matériaux qui augmentent leur efficacité, et contribuent à la recherche et à la production scientifique, et louange à Dieu dont la grâce est fait de bonnes actions

Mots clés : milieu de culture local, bactéries probiotiques,(*Streptococcus. Sp*), MRS, LC, MD, MSC, MS

Abstract the study:

Based on the importance of culture media in the study of microorganisms, in this work, "Designing a culture medium based on local products for the growth of probiotic bacteria" was studied. We cultured the bacteria (Streptococcus. Sp) isolated from yogurt in four local preparations. Culture medium (LC MD). MSC MS) to know the growth potential of these bacteria, and the degree of efficiency of these media compared to the culture medium (MRS). After the statistical analysis of the results obtained, it was found that all the local culture media were successful with a difference between the circles, where the culture media (LC) gave the best results among the rest of the other media. , the effectiveness of these local culture media was better compared to the culture medium (MRS), which encourages further work on this topic in a better and more precise way and using them as basic media or by using them. modifying by adding materials which increase their efficiency, and contribute to research and scientific production, and praise be to God whose grace is done good deeds

Key words: local culture medium, probiotic bacteria, (*Streptococcus. Sp*), MRS, LC, MD, MSC, MS