دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی، آزمایشگاه میکروبیولوژی

آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط

بررسی و مطالعه سیانوباکترها

تهیه کننده : سهیلا عباسی

- سیانوباکترها گروهی از باکتریها می باشند که از لحاظ داشتن کلروفیل و انجام فتوسنتز شبیه جلبک ها بوده ولی از لحاظ داشتن دیواره ی مورئین و نداشتن هسته جزء باکتریها می باشند و در گروه پروکاریوتها قرار می گیرند.

- سیانوباکترها علاوه بر داشتن اجزای ساختمانی باکتری ها دارای چندین خصوصیت ویژه و منحصر به فرد می باشند. دیواره سلولی سیانوباکتر ها به صورت گرم منفی می باشد اما در بعضی از آن ها لایه پپتیدوگلیکان به طور قابل ملاحظه ای از بقیه باکتریها ضخیم تر می باشد. این ضخامت معمولاً ۱۰-۱ نانومتر است اما *اسیلاتوریا* پرینسپس به ۲۰۰ نانومتر هم می رسد.

سیانوباکتر ها تثبیت ازت انجام می دهند .

- اخیراً سیانوباکترها را در تولید موادی مانند پلی ساکارید، آلژینات و آگار استفاده می کنند. از بیوماس سیانوباکتر برای خوراک دام و حتی از *اسپیرولینا* برای خوراک انسان (به دلیل پروتئین بالا و ویتامین A و E) استفاده می شود.

- تجمع بعضی از سیانوباکترها مانند *میکروسیستیس* و *سینکوکوکوس* باعث مرگ آبزیان می شود و توکسین آن ها که با اتوکلاو هم از بین نمی رود باعث فلج سیستم عصبی می شود.

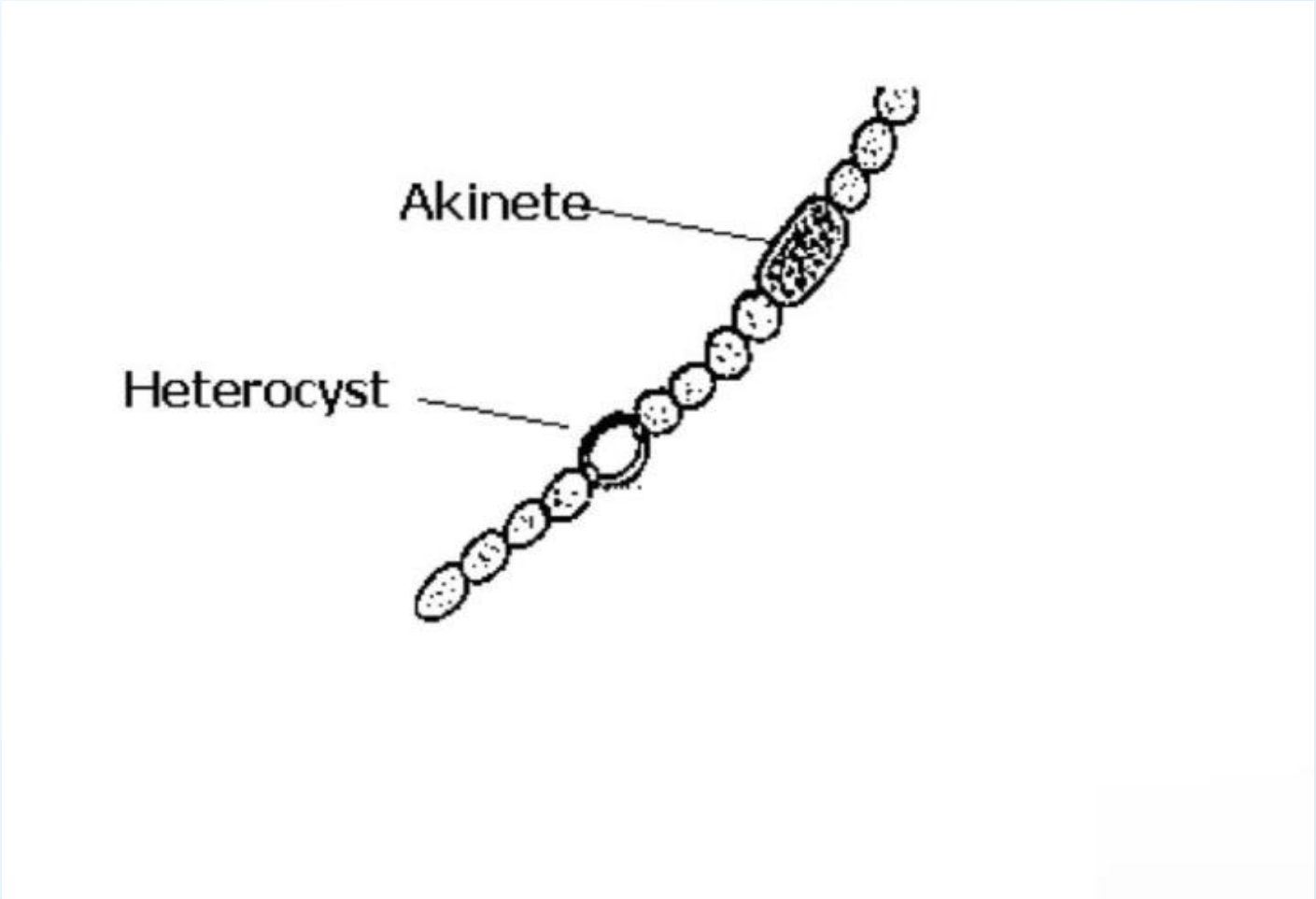
- *آنابنا* سیانوباکتری است که بیشترین مطالعات بر روی آن انجام می شود و از آن به عنوان *اشرشیا کلی* در سیانوباکترها یاد می شود.

- ۱. سلول های رویشی
- در سیانو باکتر ها سه نوع سلول وجود دارد: ۲. هتروسیست ها
- ۳. آکینت ها

۱. سلول های رویشی

- سلول های رویشی دارای تمام نیازمندیهای فتوسنتز از قبیل استفاده از آب به عنوان منبع الکترون و آنزیم های تثبیت CO_2 توسط چرخه کلوین می باشند.
- پیگمانهای فتوسنتز کننده در تیلاکوئیدها در نواحی خارجی سلول قرار دارند علاوه بر کلروفیل a کاروتن ها و گزانتوفیل ها و پیگمانهای کمکی یا فیکوبیلی پروتئین ها در بین سلول های رویشی قرار گرفته و یا به صورت انتهایی وجود دارند.

Anabaena sp



۲. هتروسیست ها

- هتروسیست ها به خاطر بی رنگ بودن و تو خالی به نظر رسیدن در زیر میکروسکوپ نوری از بقیه سلول ها متمایز می باشند. وقتی که غلظت نیتروژن در محیط کشت اطراف سیانوباکترها کاهش یابد از تمایز سلول های رویشی، سلول های هتروسیست به وجود می آیند. هتروسیست ها فقط در سیانوباکترها وجود دارند.

- ساختمان، تکامل و عملکرد هتروسیست به طور وسیعی مطالعه شده است. به طور خلاصه سلول های رویشی معمولاً با اضافه شدن یک دیواره چند لایه ای به خارج غشاء طبیعی و با تشکیل یک کانال سیناپتیک بین سلول و سلول و یا سلول های رویشی مجاور به سلولهای هتروسیست تبدیل می شوند.

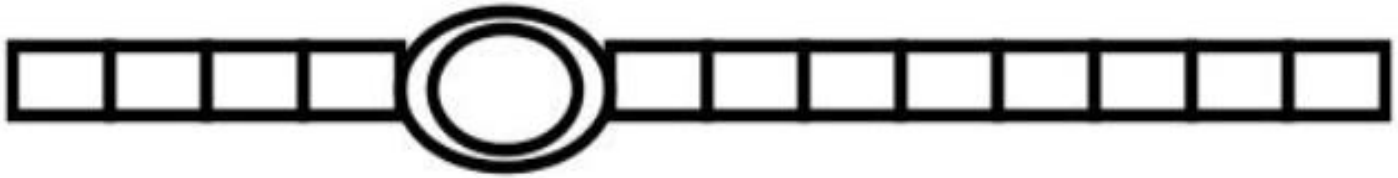
- هتروسیست ها نمی توانند تثبیت CO_2 انجام دهند ولی می توانند توسط فتوفسفریلاسیون تولید ATP کرده و می توانند نیتروژن را تثبیت کنند.

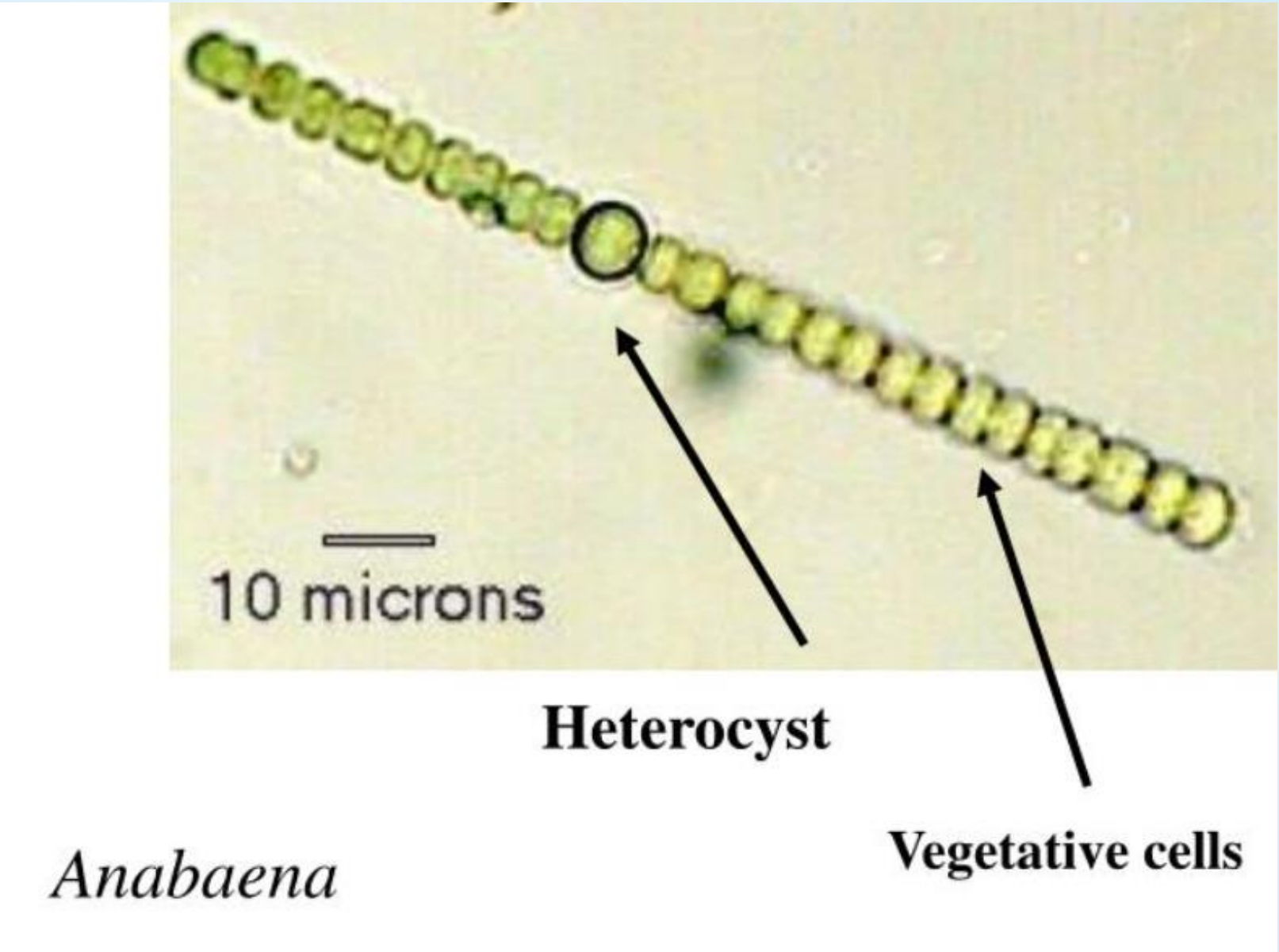
Features

Heterocyst – thick walled cell, hollow looking. Larger than vegetative cells.

FUNCTION – provides the anerobic environment for N fixation.

H- heterocyst




10 microns
Heterocyst
Vegetative cells
Anabaena

۳.آکینت ها

- در حقیقت یک اسپور مقاوم می باشند و در شرایط غیر معمول از سلول های رویشی حاصل می شوند. اگر آکینت در شرایط رویشی مناسب قرار گیرد به سلول رویشی تبدیل می شود.
- بسیاری از سیانوباکترها هتروسیست دار تولید آکینت (اسپورهای در حال استراحت از سلول های رویشی بخصوص، تحت شرایط کمبود غذا یا محدودیت نوری) می کنند.

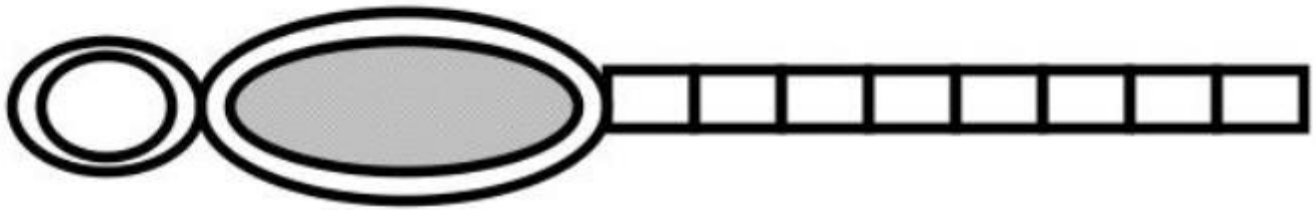
Asexual Reproduction

Akinete – thick walled resting spore

Function – resistant to unfavorable environmental conditions.

Appear as larger cells in the chain and different than heterocyst. Generally lose buoyancy

H A - akinete



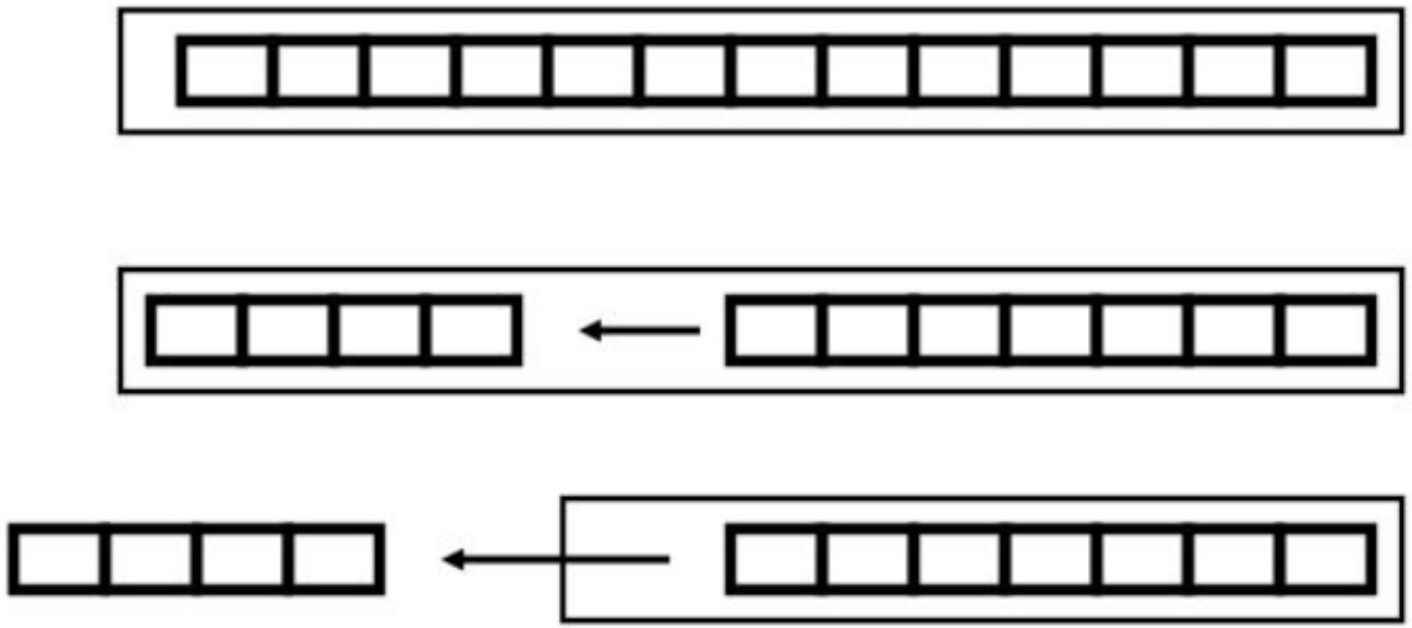
- آکینت ها کاملاً گرانولار بوده دارای سیانوفیسین، گلیکوژن، لیپد و پیگمانهای کاروتنوئید می باشد. پلی فسفات ها در آکینت از بین رفته اما محتوای RNA افزایش می یابد. ظرفیت فتوسنتزی به طوری زیادی کاهش یافته یا متوقف می شود.

- الگوی تشکیل آکینت معمولاً وابسته به موقعیت هتروسیست ها می باشد. آکینت ها معمولاً باعث موفقیت تشکیل هتروسیست شده و موقعیت آن ها در مجاور هتروسیست بوده و یا در فاصله ی زیادی قرار دارند.

- در بعضی از سیانوباکتر ها مانند *اوسیلاتوریا*، سلول ها دارای هورموگونی می باشد. هورموگونی در حقیقت سلول های مرده هستند که می توانند باعث جدا شدن میسیلیوم و تکثیر آن شوند. بعضی از سیانوباکترها ممکن است انشعاب دار باشند که ممکن است انشعاب آن ها حقیقی یا کاذب باشد.

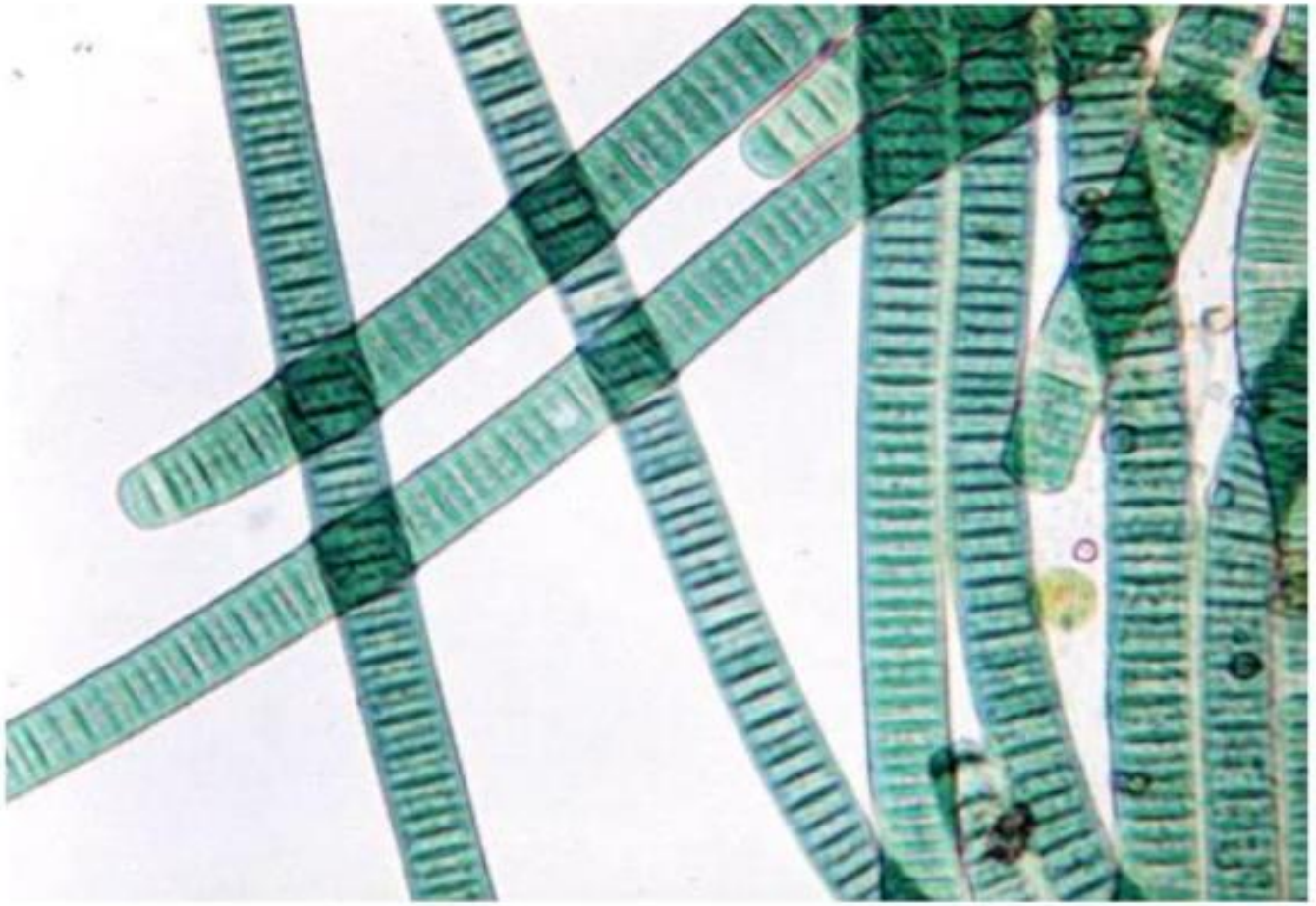
Asexual Reproduction

Hormogonia – short piece of trichome found in filaments. It detaches from parent filament and glides away



Hormogonia

Oscillatoria (filamentous) with hormogonia



Oscillatoria with hormogonia

- short pieces of a trichome that become detached from the parent filament and glide away to form new filament.

انواع سیانو باکتر ها

- ۱. سیانوباکتر های منفرد
- ۲. سیانوباکتر هایی که در چند جهت تقسیم می شوند
- ۳.سیانوباکتر های رشته ای بدون هتروسیست
- ۴. سیانوباکترهای رشته ای تشکیل دهنده ی هتروسیست
- ۵. سیانوباکترهای انشعاب دار

۱.سیانوباکترهای منفرد

- معمولاً تک سلولی هستند و تبیت ازت خیلی پایینی داشته و در بعضی از گونه ها تثبیت ازت وجود ندارد از باکتریهای این گروه می توان موارد زیر را نام برد:

- *کامی سیفون* ، شبیه مخمر و با جوانه زدن تقسیم می شوند.

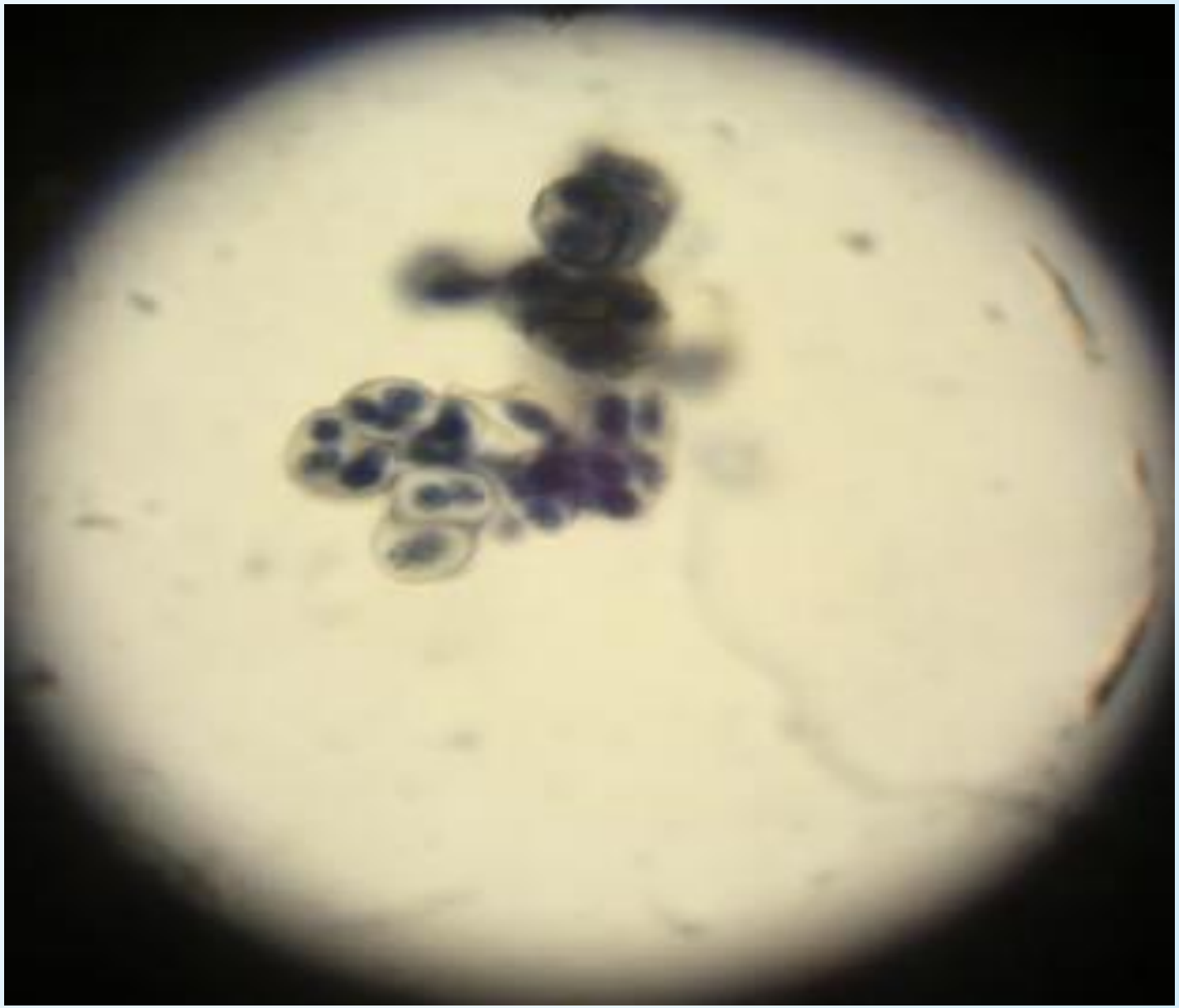
- *سینکوکوکوس* ، منفرد بزرگ و به صورت تقسیم دوتایی تقسیم می شوند.

- *سیانوتکا* ، فاقد دیواره ژلاتینی و به صورت دوتایی در غلاف مشترک می باشند.

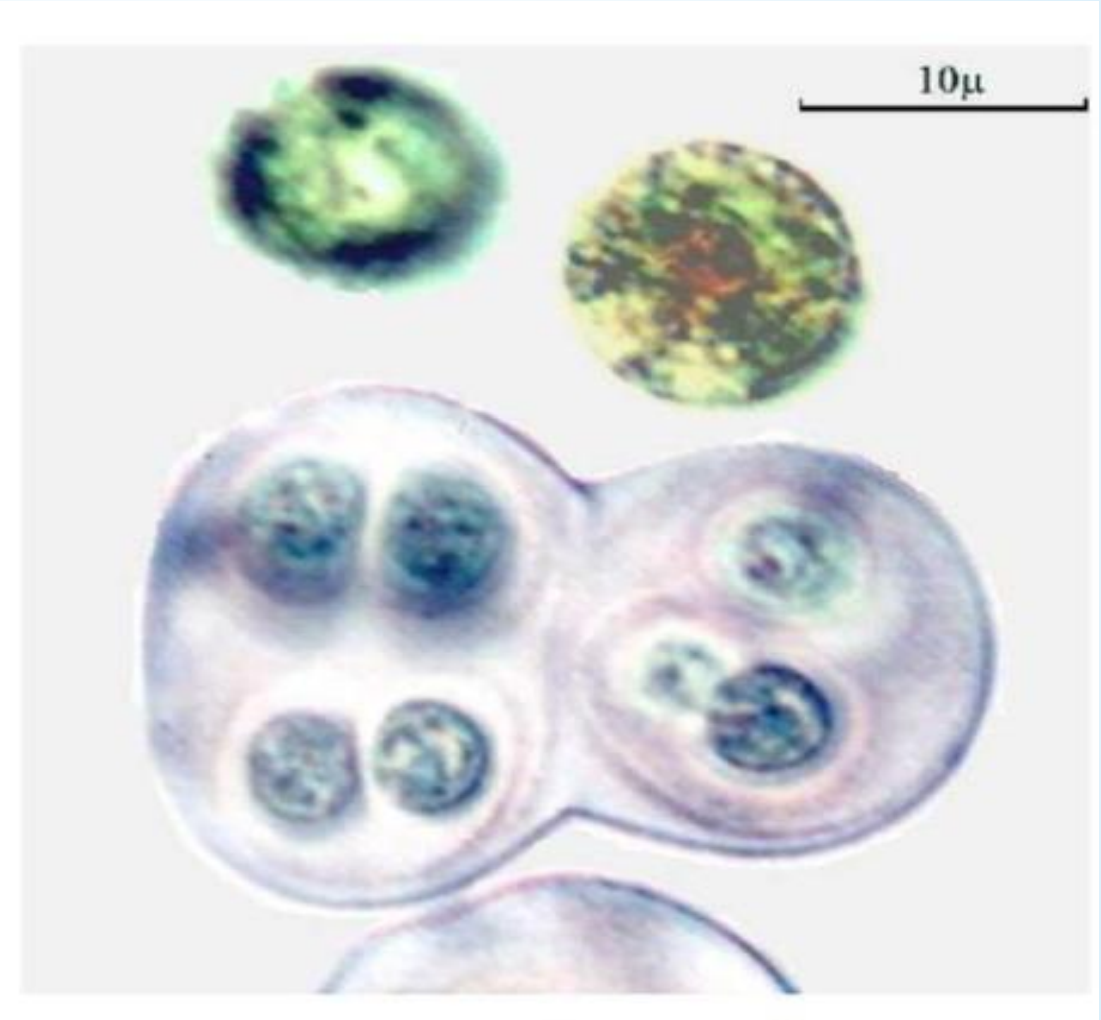
- *گلوتکا* ، چهارتایی در غلاف مشترک می باشند.

- *گلوکاپسا* ، دیواره ژلاتینی چند لایه دارد.

Gloeocapsa



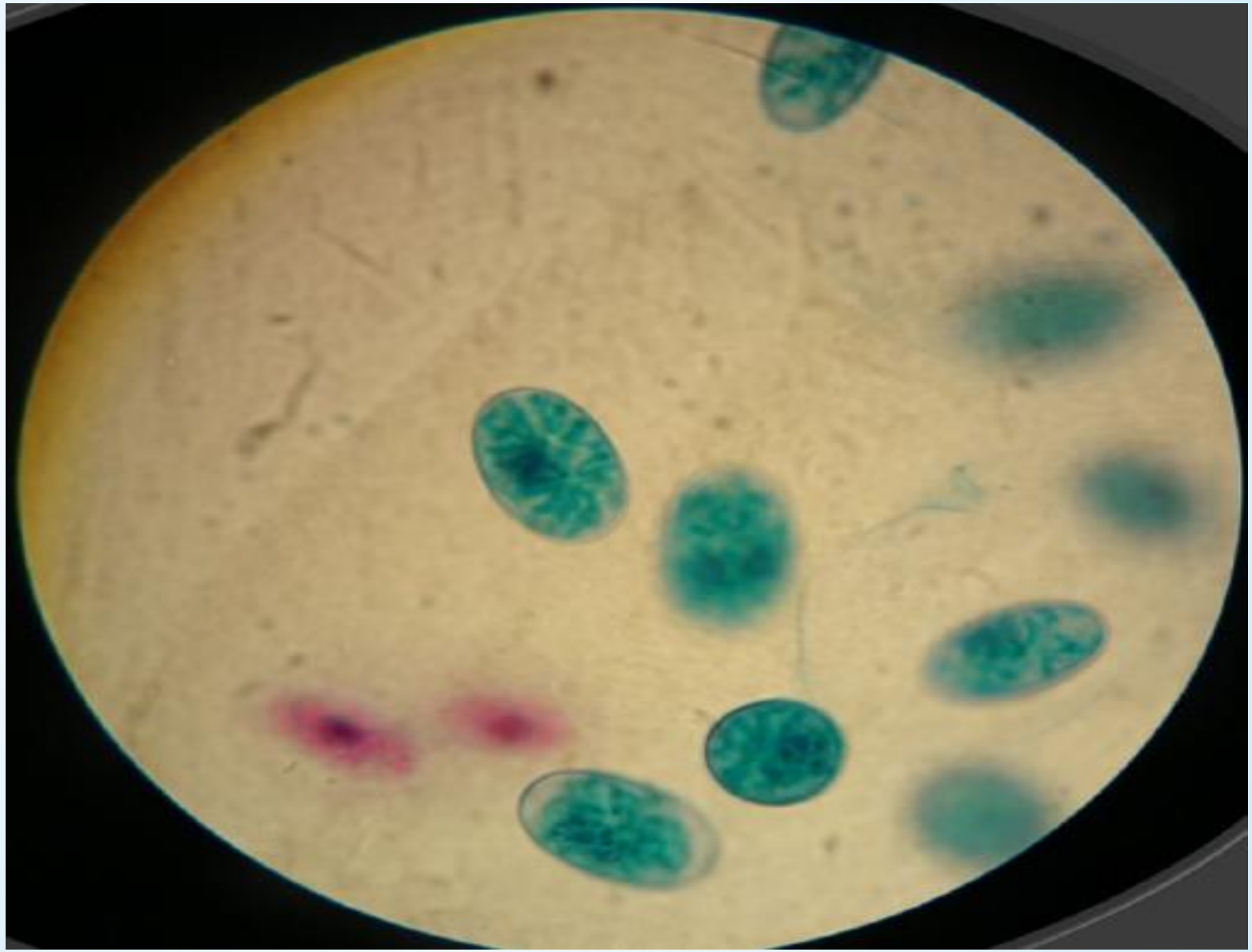
Gloeocapsa sp



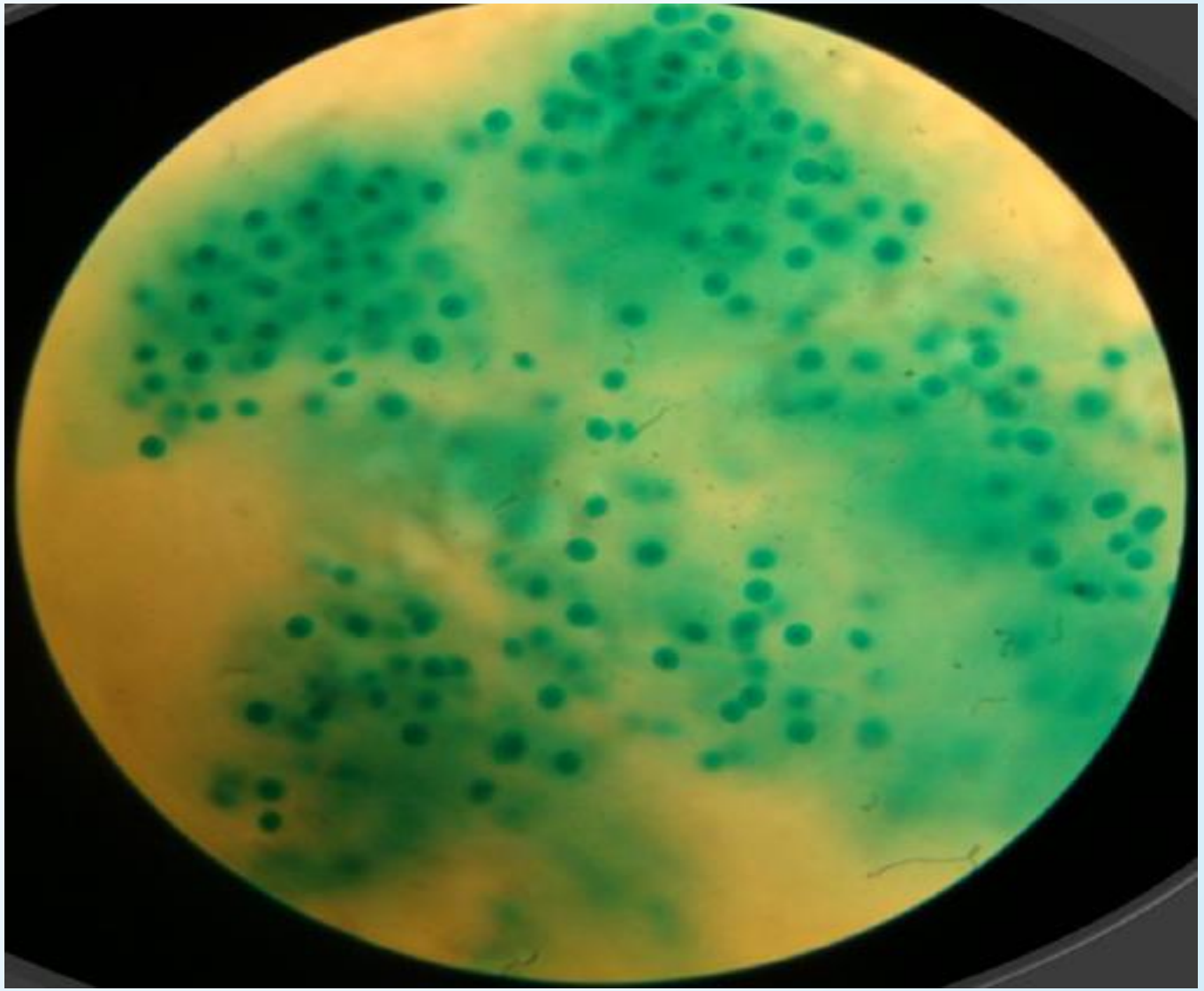
۲. سیانوباکتر هایی که در چند جهت تقسیم می شوند

- این دسته می توانند هم به صورت منفرد و هم به صورت مجتمع وجود داشته باشند.
- مهم ترین باکتریهای این گروه *درماکارپا* می باشد. که در اثر تکثیر خود سلول های مجتمعی به نام بائوسیت تولید می کند. *درماکارپا* دارای بائوسیت های غیر متحرک است.
- در *هگزانوکوکوس* بائوسیت های متحرک تشکیل می شود.
- در *درموکارپلیا* سلولها تقسیم نامساوی دارند که با جوانه زدن متفاوت به وجود آمده است. ابتدا سلول های بزرگ شده، یک سلول بیضوی تولید کرده و با تقسیم نامساوی به دو سلول تقسیم می شوند.
- در میکرو *سارسینا* تقسیم سلول اولیه در چهار جهت است. بعد از تولید یک توده مکعب بائوسیتها از آن خارج می شوند.

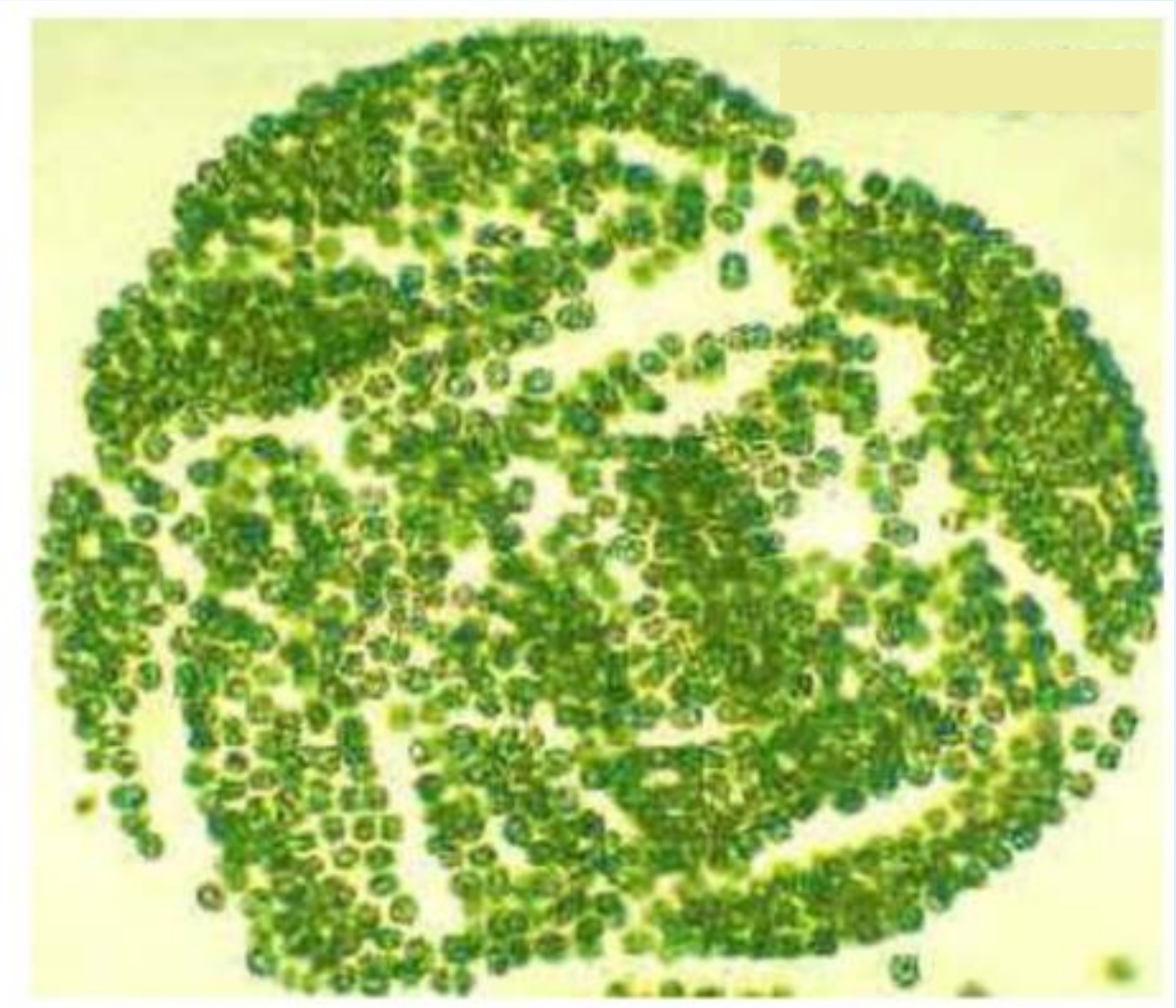
Gaucocystis



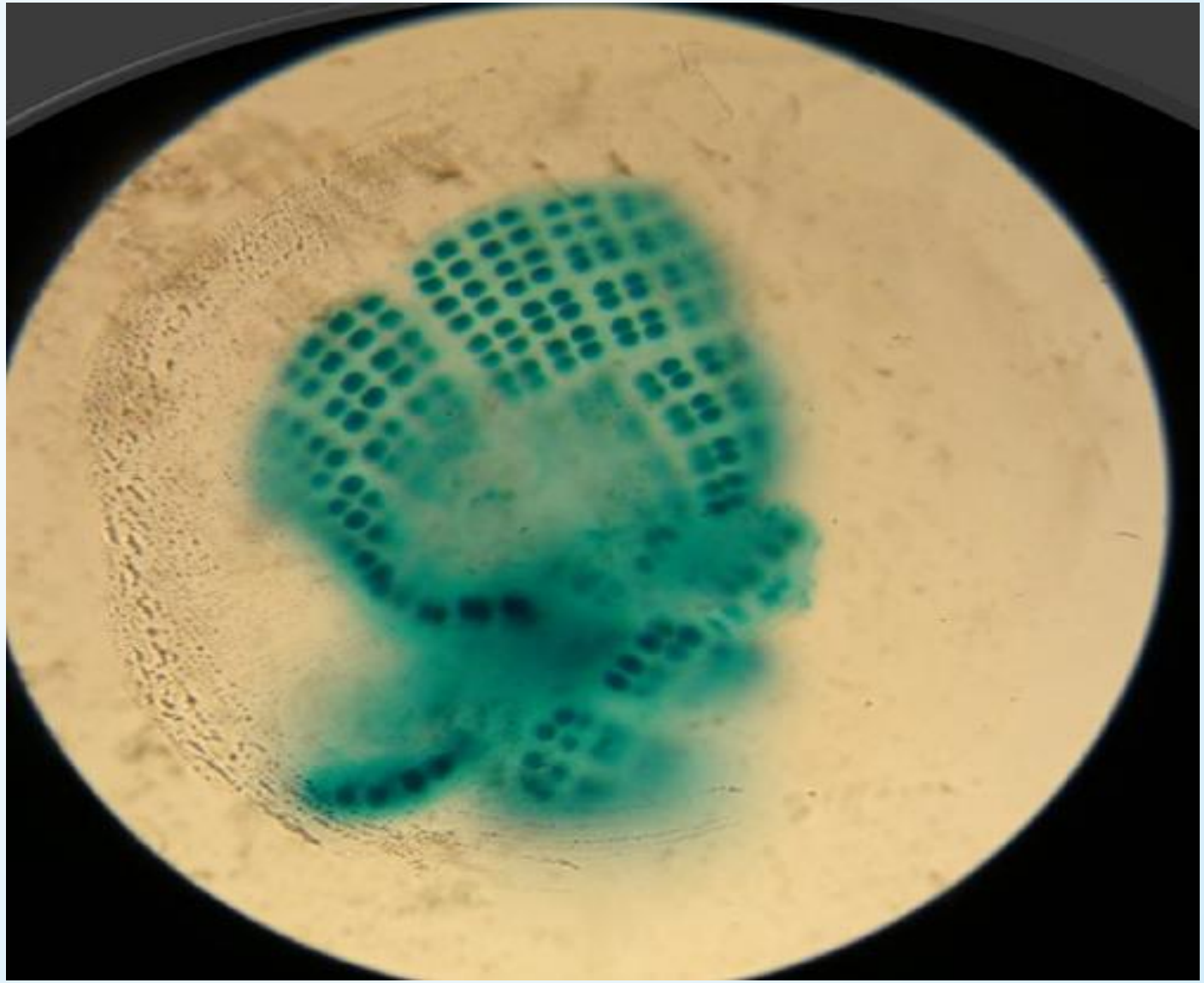
Microcystis



Microcystis sp



Merismopedia



۳. سیانوباکترهای رشته ای بدون هتروسیست

- *اسپیرولینا* یک سیانوباکتر فنر می باشد.
- *آرتروسپیرا* هم فنری بوده و یک سویه مهم برای تولید SCP می باشد.
- *لینگ بیا، اوسیلاتوریا، میکروکولئوس* هم جزء این دسته می باشند.

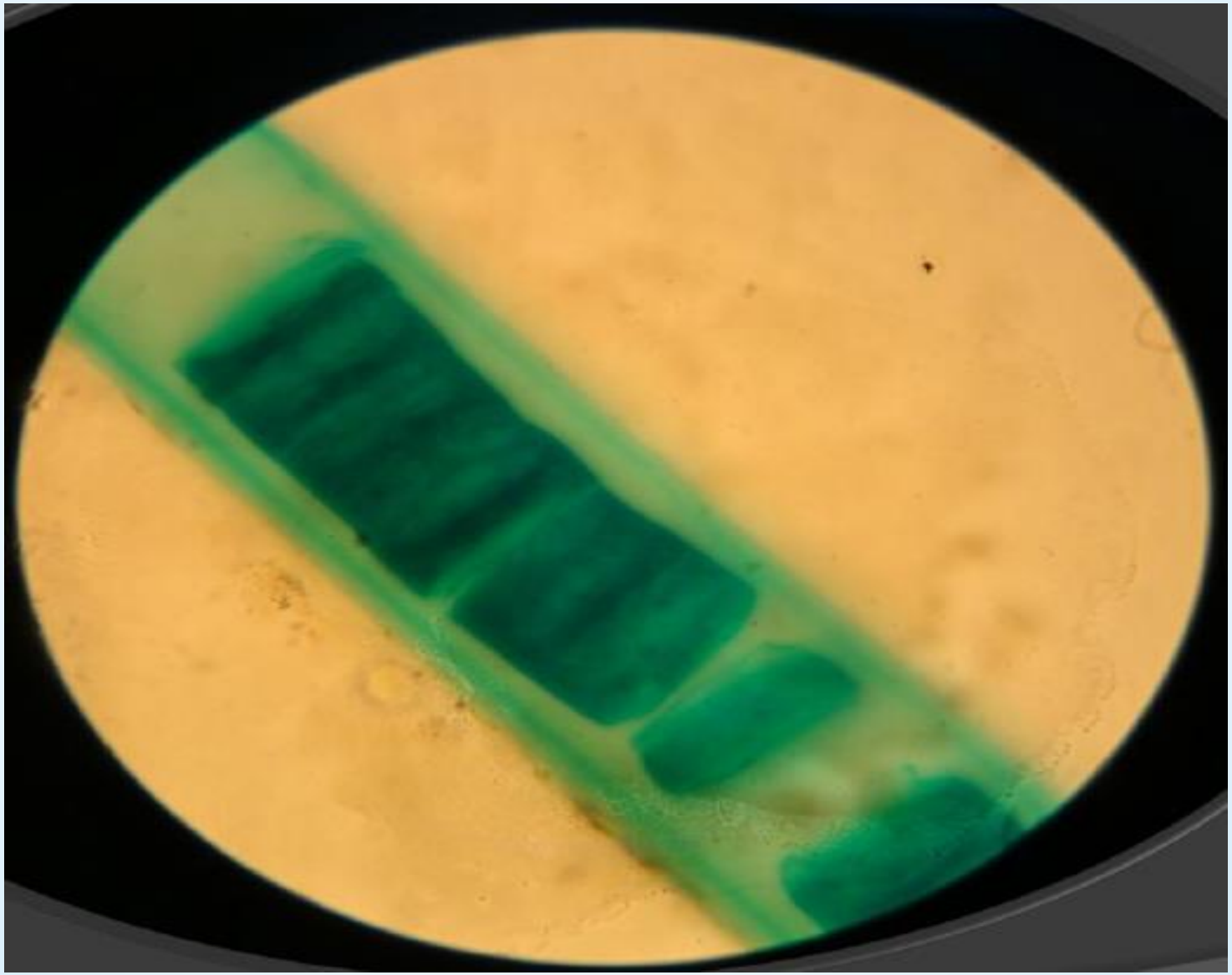
Spirulina

- filamentous
- common in lakes with high pH
- major food for flamingo populations
- commercial food source

Lyngbia martensiana

Releases chemicals causing dermatitis

Lyngbia



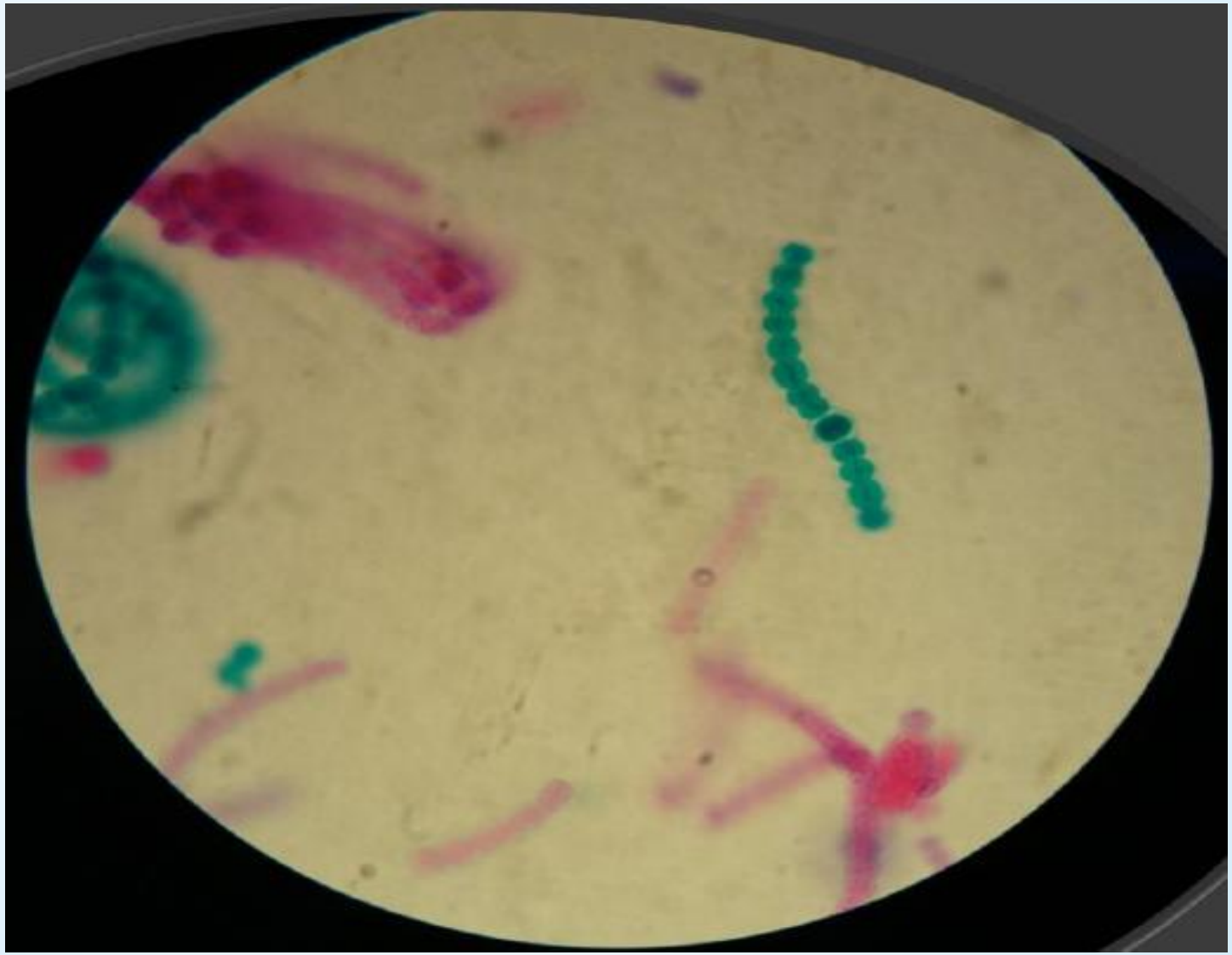
Arthrospira

Artherospira

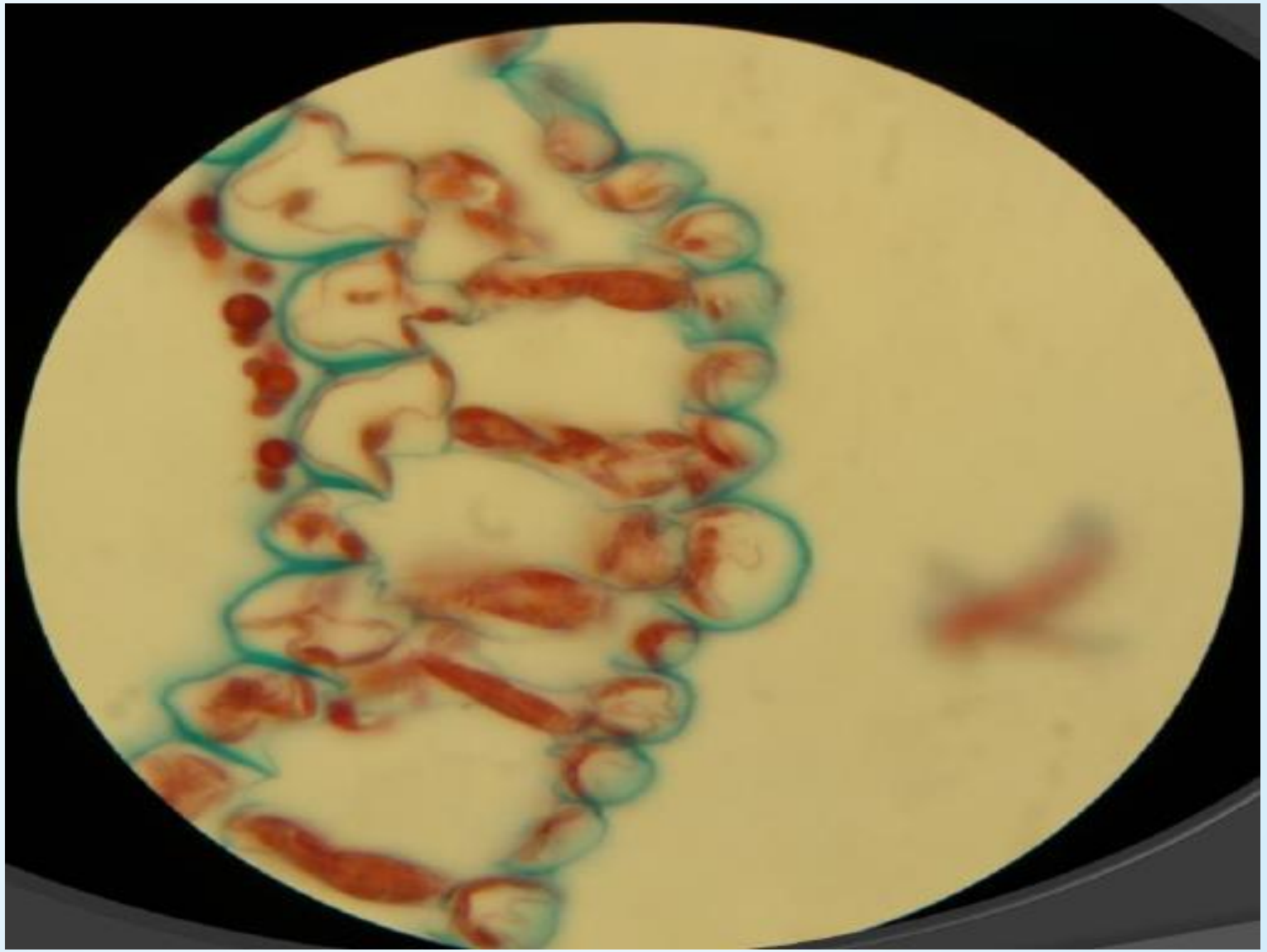
۴. سیانوباکترهای رشته ای تشکیل دهنده هتروسیست

- مانند *آنابنا* و *نوستوک* که معمولاً سلول های تسبیح مانند دارند و گاهی حاوی آکینت و سلول های هتروسیست می باشند. در همزیستی با گلسنگ هم می توانند تثبیت کننده ی ازت باشند .
- *نودولاریا*، آکینت ها مانند دانه های تسبیح بوده و سلول های هتروسیست به صورت عمود با سلول های رویشی قرار دارند .
- *کالوتریکس*، هتروسیست به صورت انتهایی بوده و از قطر سلول های دیگر به ترتیب کاسته می شود.
- *فیمبریا*، هتروسیست انتهایی بوده و سلول های طوری روی هم قرار گرفته اند که به نظر می آید انشعاب دار می باشد.

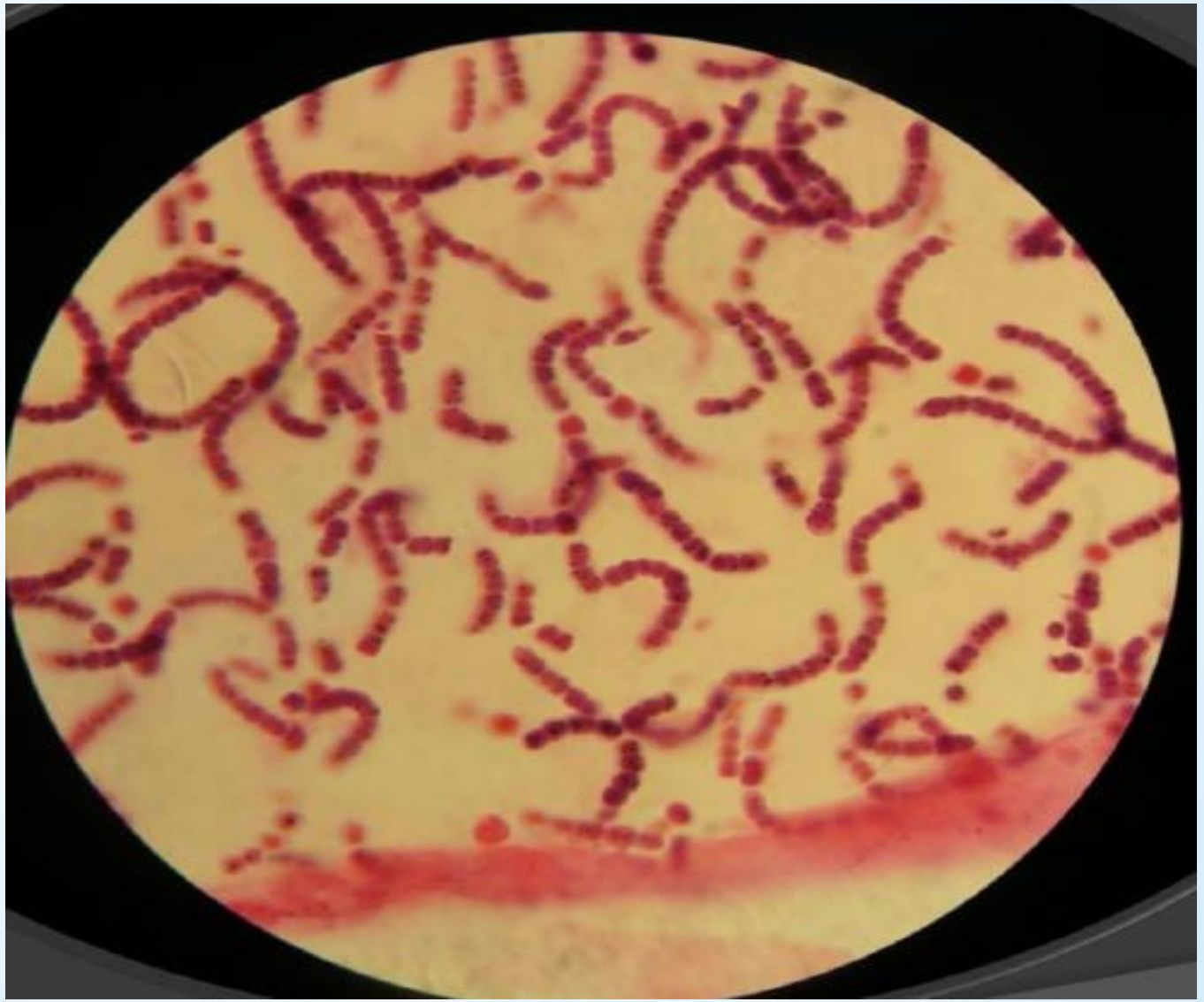
Anabaena



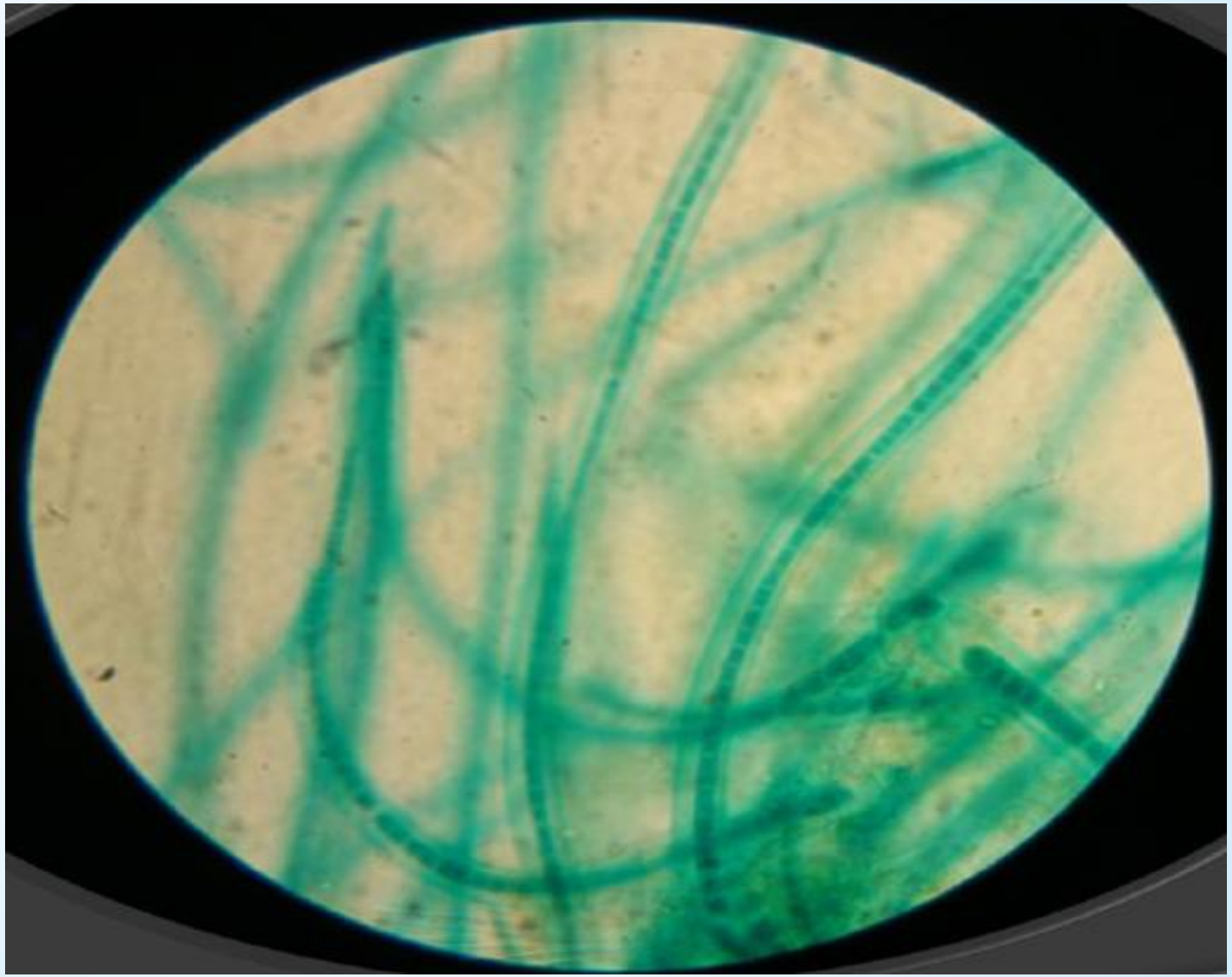
Anabaena Azollae



Nostoc



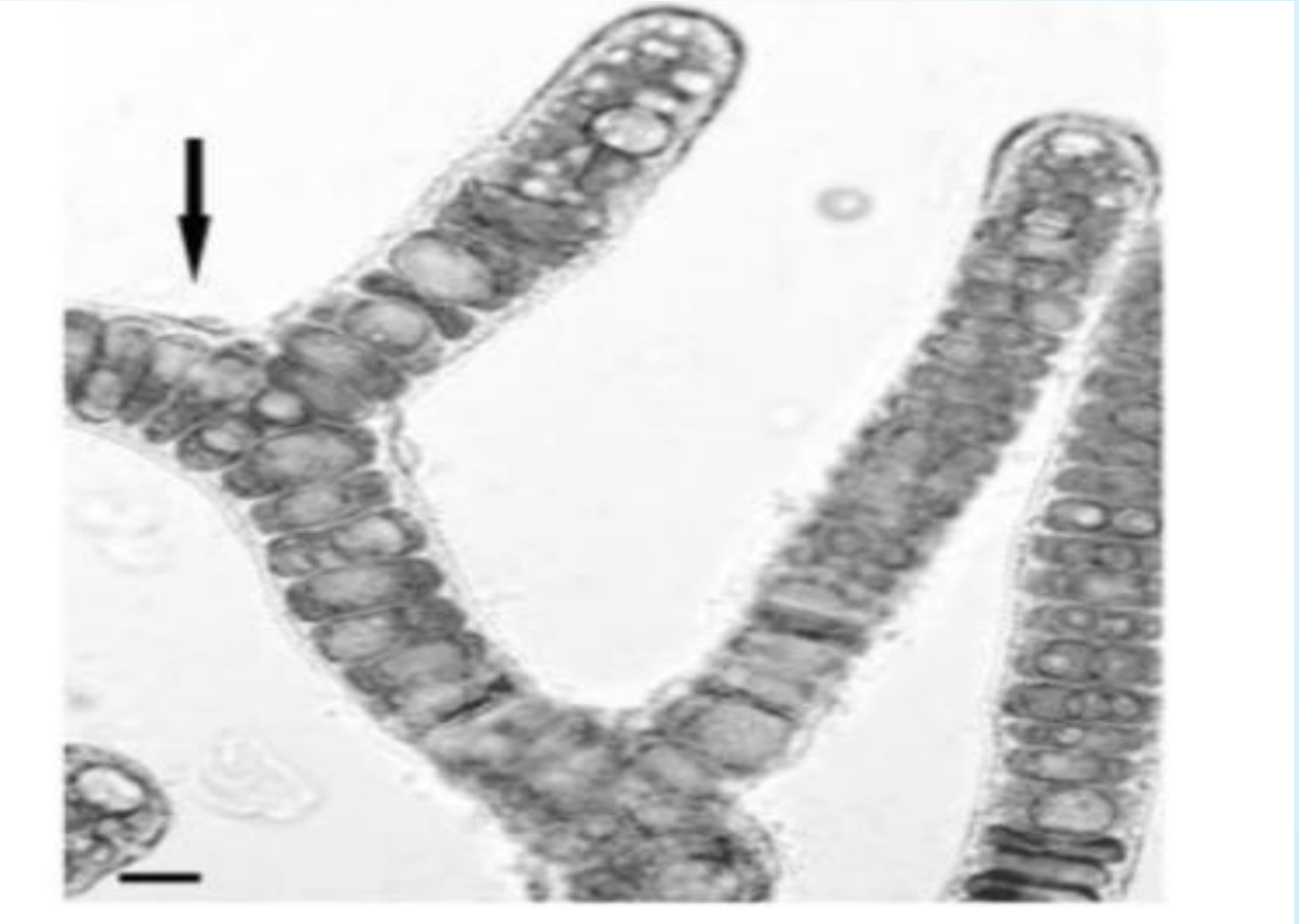
Rivularia



۵. سیانوباکترهای انشعاب دار

- *استیگونما*، پر سلولی است و هتروسیست ندارد.
- *اسکیتونما*، هتروسیست دارد.
- *فیشرلا*، تشکیل بلوم در دریا می دهند.
- نکته : سیکلوهگزامید رشد جلبکهای سبز را متوقف می کند.

Stigonema sp



Scytonema

جداسازی سیانوباکترها

- با توجه به اینکه سیانوباکترها در محیط های آب شور و شیرین زندگی می کنند از مواد معدنی برای جداسازی و شمارش آن ها استفاده می شود و ترکیبات زیر بیشتر برای جداسازی سیانوباکتر حساس آب شیرین استفاده می شود.

اسید سیتریک	۳۰ mg/l	
نیترات کلسیم	٤٠-٦٠ mg/l	
K_2HPO_4	۱۳ mg/l	
$MgSO_4$	۳٥ mg/l	
$CaSO_4$	۲۱ mg/l	
$MgCl_2$	۲۱ mg/l	
Na_2LO_3	۲۰ mg/l	
نیترات آمونیوم فریک	۳ mg/l	
کلروفریک	۳ mg/l	
عناصر کمیاب	۱ ml	
مخلوط ویتامین	۱-۵/۰ ml	

عناصر کمیاب شامل

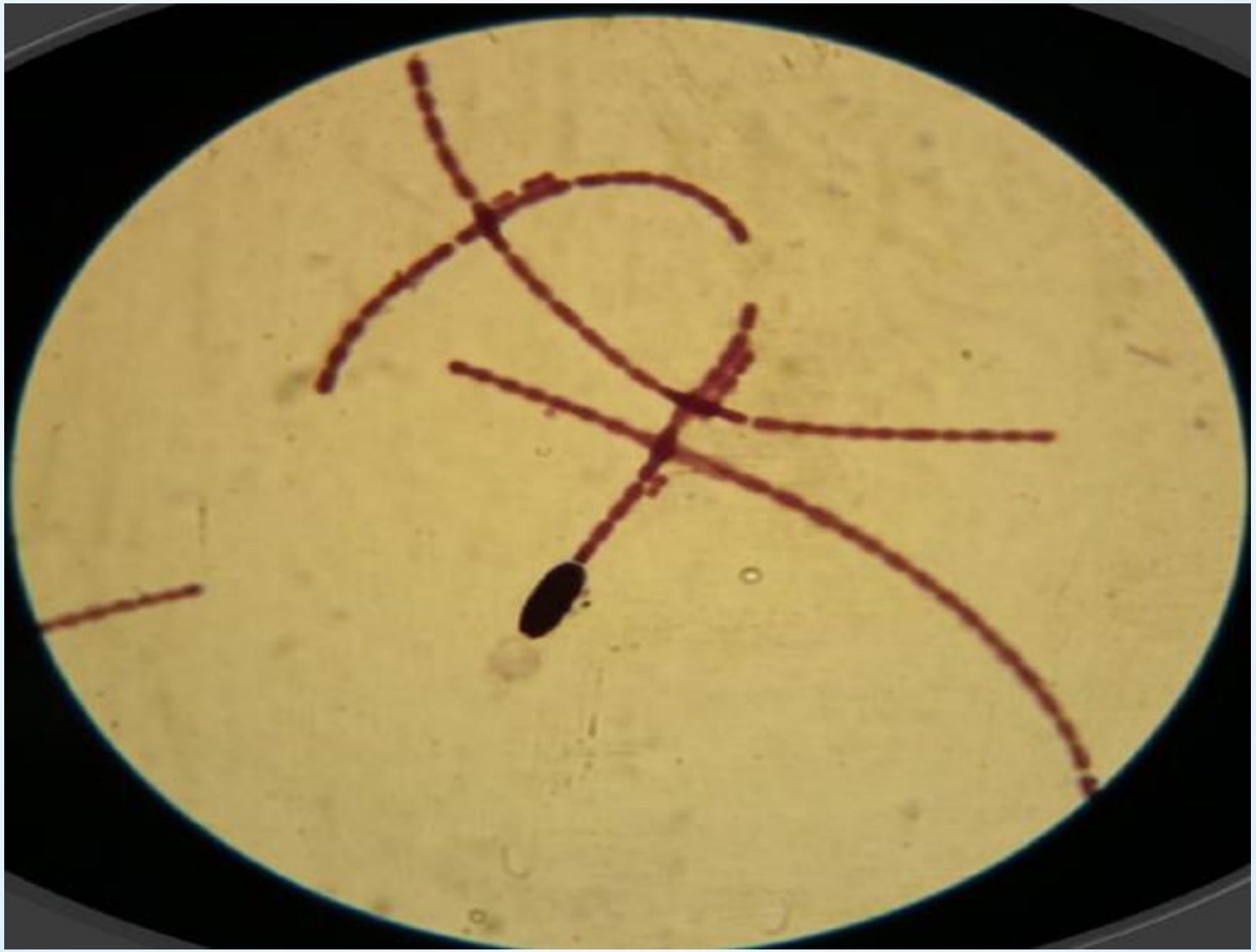
اسید بوریک	۲ g/lit	
$MnSO_4$	۲ g/lit	
$ZnSO_4$	۵/۰ g/lit	
$MnCl_2$	۸/۱ g/lit	
$CuSO_4$	۰۸/۰ g/lit	
مولیبدات سدیم	۳/۰ g/lit	
نیترات کبالت	۰٤/۰ g/lit	
کلرور فریک	۰۲/۰ g/lit	
کلروفریک	۳ g/lit	

ویتامین ها شامل

نیکوتینیک اسید	۱/۰ mg/l	
آمینو بنزوئیک اسید	۰۱/۰ mg/l	
بیوتین	۰۰۱/۰ mg/l	
تیامین	۲/۰ mg/l	
اسیدفولیک	۰۰۱/۰ mg/l	
سیانوکوبال آمین	۰۰۱/۰ mg/l	
اینوزیتول	۰۰۱/۰ mg/l	
تیمین	۱/۰ mg/l	
پنتوتنات	۱/۰ mg/l	

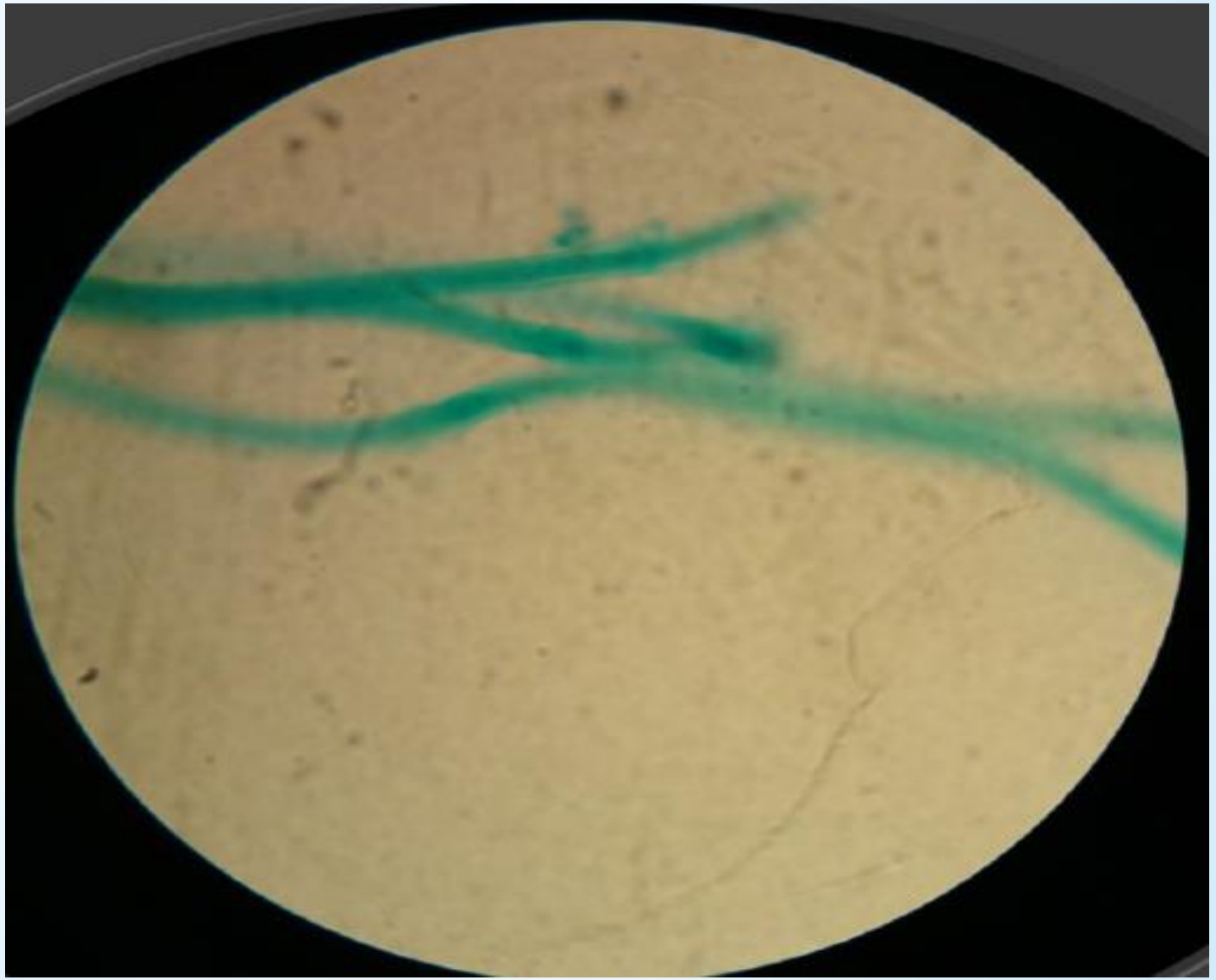
- بعد از اینکه سیانوباکترها در مجاورت نور در این محیط غنی شدند آن ها را به محیط کشت جامد همین مواد انتقال می دهند. ریسه هایی که در محیط جامد به وجود می آیند به محیط مایع انتقال داده و می توان سیانوباکتر را جدا کرد.
- اگر سیانوباکتر تثبیت کننده ازت در نظر است می توان منبع ازت را حذف نمود.
- برای جداسازی سویه های آب دریا یا آب شور، آب رودخانه را استریل می کنیم و به آن ۳۰-۲۰ درصد نمک می زنیم نمونه جلبکهایی که از آب دریا یا آب شور تهیه کردیم اضافه کرده در مقابل نور مهتابی قرار می دهیم البته مدت زمان نوردهی سیانوباکترها را باید تحقیق کنیم. جلبکهای سبز ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی احتیاج دارند.
- جلبکهای سبز و سبز – آبی هر دو به نور UV مقاومند.

Cylindrospermum



Wasserbluthe

Tolypothrix



با سپاس فراوان از توجه شما