



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، آزمایشگاه میکروبیولوژی



گزارش کار آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط

مطالعه و جداسازی اکتینومیسیت ها

1

این گروه از موجودات ذره بینی دارای خصوصیات مشترکی با باکتری ها و قارچ ها می باشد که به دلیل همین تشابه دو جانبه معمولاً به صورت گروهی مستقل و حد واسط آن ها به حساب می آیند.

شباهت آن ها با قارچ ها به خصوص در چند مورد زیر مشخص می گردد:

1. تشکیل میسیلیوم با انشعاب حقیقی
2. ایجاد میسیلیوم های هوایی
3. تولید کولیدی و اسپورهای غیر جنسی کاملاً مشابه با اسپور قارچ ها به منظور تولید مثل
4. چگونگی رشد در محیط کشت مایع

در ضمن رشد در محیط مایع بر خلاف باکتریها هرگز باعث کدر شدن محیط نمی شود بلکه به صورت توده متراکم و یا به حالت پوسته و ورقه در کنار هم جمع می گردد.

اکتینومیست ها در عین حال دارای خصوصیات مشترکی با باکتریها می باشند که مهمترین آن ها عبارتند از:

1. رشته های میسیلیوم دارای قطر کوچکی حدود یک میکرون

2. یاخته آن ها پروکاریوت است

3. در دیواره ی سلولی آن ها سلولز و کیتین وجود ندارد.

این راسته دارای ۸ خانواده به نام های:

آکتینوماسیتاسه ، میکوباکتریاسه ، فرانکیاسه ، اکتینوپلاتاسه ، درماتوفیلایاسه ، نوکاردیاسه ، استرپتومیتاسه و میکرومونوسپراسه می باشند.

این میکروارگانیزم‌ها واجد میسلیوم‌های رویشی و هوایی می‌باشند. میسلیوم‌های هوایی زایا و یاسترون‌باشند. فرم هیف‌های حامل اسپور و بخصوص در انواع مارپیچی، طرز انحنا و جهت چرخش هیف و تعداد حلقه‌های تشکیل شده ممکن است از ۱ تا ۲۰ تغییر کند و بالاخره مقدار باز و یا بسته بودن حلقه به تشخیص گونه‌های مختلف کمک می‌کنند. میسلیوم‌ها گاهی سفید و بی‌رنگ هستند. ولی تعداد زیادی از گونه‌ها قادر به تولید دانه‌های رنگی می‌باشند که بعضی از این مواد رنگی در آب قابل حل بوده و در نتیجه در محیط کشت پخش می‌شود.

این موجودات اکثراً بدون حرکت هستند و وجود تاژک در گونه‌های آن‌ها بسیار نادر است، بیشتر اکتینومیست‌ها بویی شبیه خاک دارند.

تولید مثل آن ها غیر جنسی است و با تولید اسپوره های مختلف و یا تقسیم مستقیم مسیلیو می انجام می شود .

پیدایش اسپورها اکثراً مشابه با تولید کونیدی ها است . برای تشکیل کونیدی ها معمولاً سیتوپلاسم مسیلیوم های هوایی از قسمت سرهیف به صورت قطعات کوچک مدرو ، بیضی یا میله ای شکل به طول حدود ۱ تا ۲ میکرون تقسیم شده و کونیدی ها را تشکیل می دهند .

تهیه کننده : سهیلا عباسی

▶ اکتینومیست های مهم و فراوان در خاک دارند :

1. خانواده ی نوکاردیاسه (جنس مهم آن نوکاردیا)

▶ به دلیل عدم وجود مسیلیوم های هوایی کلنی آن ها مشابه باکتری هاست در این انواع مسیلیوم رویشی به قطعات باسیلی شکل تقسیم می شود و گاهی هم از راه جوانه زدن صورت می گیرد .

1. خانواده استرپتومیسیتاسه :

▶ در این انواع مسیلیوم ها به رشد کافی نرسیده ، انشعابات فراوان پیدا می کند تولید مثل به وسیله ی کنیدی است و اسپورها به صورت زنجیری شکل در رأس آن ها قرار می گیرد .

1. خانواده میکرومونوسپوراسه :

▶ در این ها مسیلیوم های هوایی معمولاً وجود ندارند و در موارد استثنایی ظاهر می گردند و به تمایز اصلی این جنس ، تولید کنیدی های بیضی شکل و یا مدرن است که بلور منفرد و در رأس شاخه های جانبی کوتاه تر از مسیلیوم رویشی قرار می گیرند . گونه های این جنس هوازی و مزوفیل هستند .

خانواده اکتینو پلاماسه :

دارای میسیلیوم حقیقی است و تولید مثل بیشتر بوسیله ی اسپورانژ مشخص می شوند . بعضی از انواع اسپورانژیدسپورها تاژک دار و بعضی از انواع آن ها بدون تاژک هستند .

فراوانی انتشار در خاک :

8

شمارش دقیق اکتینومیست های خاک هم مانند شمارش سایر موجودات ذره بینی خالی از اشکال نیست . به خصوص برای شمارش مستقیم میکروسکوپی ، یک نواخت نبودن انتشار میسیلیوم در ضمن تهیه ی سوسپانسیون خاک ، از مشکلات اساسی به شمار می رود . در شمارش اکتینومیست ها گونه های استریپتومیسس حداکثر تعداد را دارند . انواع گرمادوست بیشتر در داخل کودهای در حال تجزیه فراوانند . در خاک تعداد آن ها بسیار کم بوده و بدون فعالیت هستند .

تعداد کل اکتینومیست ها در علفزار ها و مراتع به علت تراکم ریشه ها خیلی بیشتر از زمین های زراعتی و خاک های بایر و بدون پوشش گیاهی حداقل است .

در خاک های قلیایی سرشار از مواد آلی و نسبتاً خشک تعداد آن ها به حداکثر می رسد .

تغذیه اکتینومیست ها

▶ اکتینومیست های خاک عموماً هتروتروف هستند و به وجود انواع اتوتروف به ندرت اشاره شده است . این موجودات اکثراً به حالت ساپروفیت در خاک بسر می برند و تعداد گونه های بیماریزا در گیاهان بسیار کم است بعضی از گونه ها قادر به تجزیه ی اسید های چرب و هیدروکربورها لیگنین و تانن ها می باشند املاح آمونیاکی را می توانند از لحاظ تأمین ازت مورد استفاده قرار دهند قدرت تولید مواد رنگی ، ویتامین و آنتی بیوتیک را دارند . عناصری مانند : Ca , Su , Zo , Fe , Mg , K , P برای اکثر آن ها ضروری می باشد .

تأثیر فعالیت اکتینومیست ها در خاک :

▶ اکتینومیست ها نقش بسیار موثری در تجزیه ی بازمانده های گیاهی و حیوانی به خصوص در تجزیه بافت های مقاوم به عهده دارند . به این ترتیب که در مصرف مواد کربن دار ساده با باکتری ها و قارچ ها رقابت دارند .

▶ تعداد و شدت فعالیت آن ها خیلی کم است . ولی به تدریج کاهش مواد ساده و میکروارگانیزم های وابسته مقاوم باقیمانده شروع می کنند این موجودات در تجزیه پکتین ، همی سلولز ، کتین و کراتین به صورت موثری دخالت دارند . گونه های استرپتومایست در تجزیه ی همی سلولز بسیار موثرند .

انواعی از اکتینومیست ها ، به خصوص گونه های نوکاردیا که قادر به استفاده از اسید اگزالیک به عنوان منبع کربن و انرژی هستند ، می توانند در شرایط طبیعی نقش بسیار مهمی در برطرف کردن سمیت حاصل از اگزالات کلسیم موجود در بازمانده های گیاهی اضافه شده به خاک داشته باشند اکتینومیست ها قادر به تجزیه ی کراتین ، کتین و چربی های موجود در تجزیه بافت های گیاهی و حیوانی دخالت دارند ، اکتینومیست ها در تغییر و تبدیل ترکیبات از ته خاک ، هم دخالت دارند .

اکتینومیست ها قادر به تولید ویتامین B_1 ، B_2 ، B_6 ، B_{12} ، بیوتین و اسید فولیک می باشند . به خصوص در ویتامین B_{12} به وسیله گونه های متعددی از استرپتومیس ها به مقدار بسیار زیاد تولید می شود .

تنها اثر مضر اکتینومیست ها مربوط به چند گروه محدود و بیماری زاست که از راه خاک به گیاهان به خصوص سیب زمینی حمله می کند . بعضی هم برای انسان بیماریزا هستند .

جداسازی استرپتومیست ها :

استرپتومیست ها جمعیت اصلی خاک را تشکیل می دهند بیش از ۲۰ نوع آنتی بیوتیک ها توسط این باکتری ها تولید می شود که پاتوژن ها را از بین می برد و چون به صورت رشته ای هستند خاک را از باد و باران حفظ می کنند . برای جداسازی آن ها از محیط کشتی به نام جنسون استفاده می شود که کازئین به عنوان تنها منبع کربن است . معمولاً میسیلیوم هوایی تشکیل می دهند و به راحتی قابل تشخیص می باشند . تشخیص استرپتومیست ها نیاز به میکروسکوپ الکترونی دارد .

روش کار :

از انواع خاک به عنوان نمونه استفاده می کنند .

0/4 gr

دکستروز

0/04 gr

کازئین

0/1 gr

K_2HPO_4

0/04 gr

$MgSO_4$

A little gr

$FeCl_3$

3/6 Lit

Agar

200 ml

D.W

محیط کشت مورد استفاده محیط جنسون می باشد .

pH مساوی ۶/۶ می گیریم

محیط های جامد ۵/۱ گرم درصد آگار دارند .

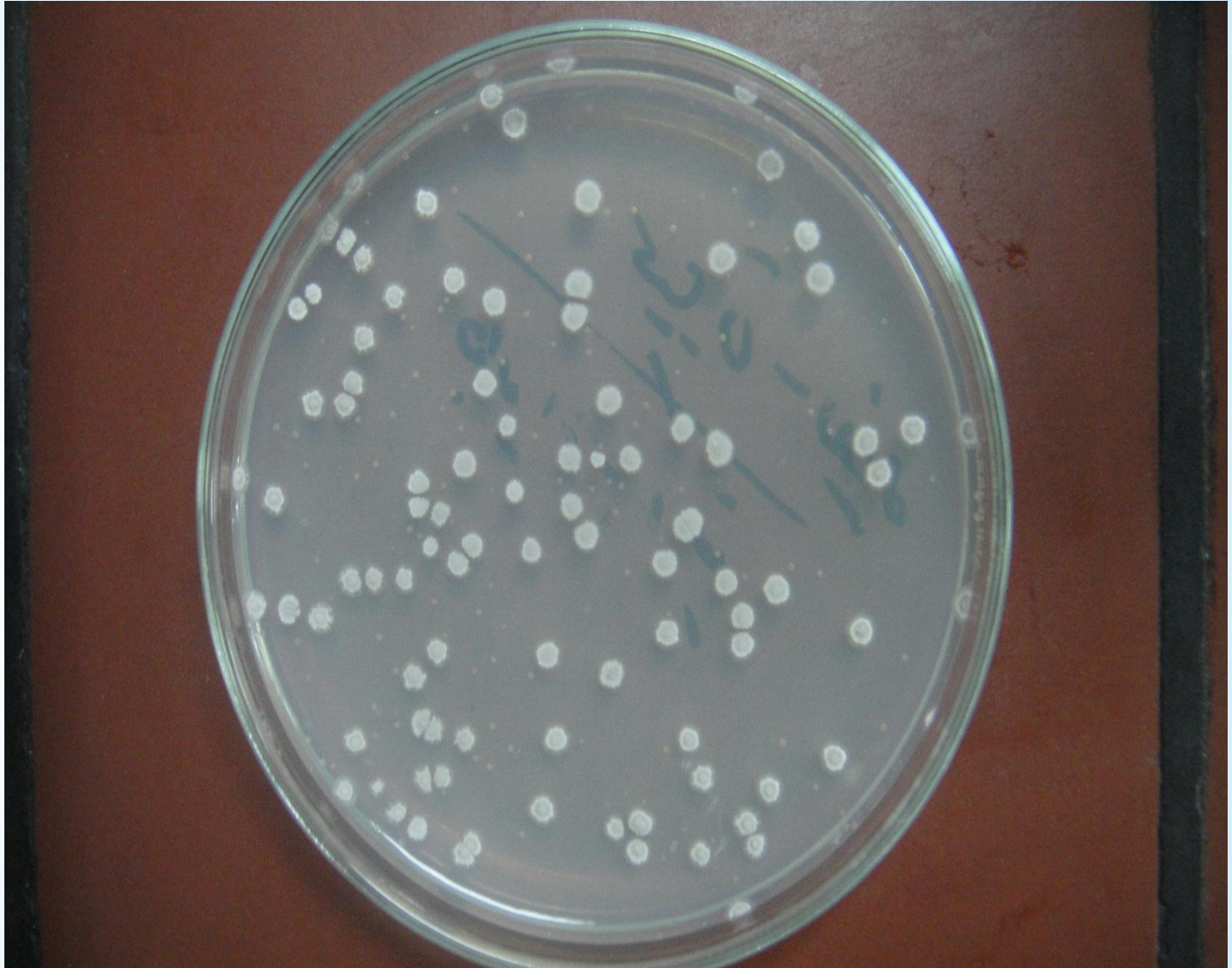
۴. از خاک مورد نظر روی محیط جنسون به صورت مستقیم می‌پاشیم .

۵. کلنی‌هایی که حالت گچی یا پودری دارند و فرورفته در محیط کشت است مورد بررسی قرار می‌گیرد . این باکتری‌ها بوی خاک هم می‌دهند . رنگ کلنی‌ها سفید یا خاکستری و در مورد بعضی باکتری‌ها سبز رنگ می‌باشند . (در مورد ترموسفرها کلنی‌ها سبز رنگ است.) چون کلنی فرو رفته در آگار است به راحتی بالا می‌آید .

۶. کلنی را روی لام خرد می‌کنیم و بعد از رنگ آمیزی گرم زیر میکروسکوپ می‌بینیم .

۷. باکتری به صورت گرم مثبت رشته‌ای با انشعابات زیاد و در سر اسپور مشاهده می‌شود .

۸. در کشت خالص بهترین کار تشخیص استفاده از اسلاید کالچر می‌باشد .



تهیه کننده : سهیلا عباسی

تهیه کننده : سهیلا عباسی





با سپاس فراوان از توجه شما