



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، آزمایشگاه میکروبیولوژی



گزارش کار آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط

جدا سازی و مطالعه ی آزوسپریلیوم

1

جدا سازی آزوسپریلیوم

2

این باکتری جزء باکتری های خمیده می باشد که هم به صورت آزاد در شرایط میکرو آئروفیلیک و هم به صورت همیا در گندم تثبیت ازت انجام می دهد .

روش کار

۱) از نمونه ی خاک مزرعه گندم و برنج و یا عصاره ی تارهای کشنده گندم و برنج استفاده می کنیم .

۲) محیط کشت لازم جهت جداسازی آزواسپریلیوم را تهیه می کنیم .

محیط جداسازی محیط NFB است که حاوی اسید مالیک به عنوان منبع کربن است و ماده ی نیتروژن ندارد و حاوی بیوتین به عنوان ویتامین می باشد .

طرز تهیه محلول معدنی در یک لیتر آب

10 mg	بیوتین	0/4 gr	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5 gr	Malic Acid
20 mg	پیریدوکسین HCl	0/12 gr	ZnSO_4	0/5 gr	K_2HPO_4
		1/4 gr	H_2BO_2	0/2 gr	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
		1 gr	MoO_4Na_4	0/1 gr	NaCl
		1/5 gr	MnSO_4	0/02 gr	$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
				2 ml	محلول معدنی
				2 ml	محمول برموتیمول بلو
				1/64%	Fe EDTA
				1 ml	Vitamin
				1/7 gr	Agar
				1000 ml	D.W

طرز تهیه محلول برموتیمول بلو

پتاس ۲/۰ مولار
برموتیمول بلو ۰/۵/۰

۰۴/۰ سی سی سولفیت آهن یا کلرید آهن به EDTA اضافه می کنیم .

۳) اگر نمونه ریشه بود با وایتکس یا ساولون ضد عفونی کرده سپس با آب مقطر می شوئیم . سپس در هاون استریل می کنیم و عصاره ی آن را می گیریم . از نمونه مایع ۱/۰ سی سی روی سطح لوله می ریزیم و اگر خود ریشه باشد در عمق محیط کشت فرو می بریم و اگر نمونه خاک بود ۱/۰ سی سی از خاک رقیق شده (۱۰ گرم در صد لیتر) در سطح تلقیح می کنیم .

۴) یک هفته در دمای ۲۵ درجه قرار می دهیم .

۵) ظاهر شدن حلقه معمولاً دو میلی متر پایین تر از سطح تشکیل می شود و شروع به رشد می کند و لوله از سبز به زرد تغییر رنگ می دهد . آزواسپریلیوم مانند چتری در داخل محیط کشت رشد می کند .

۶) از کلنی ها برداشته رنگ آمیزی گرم انجام می دهیم . مرفولوژی باکتری گرم منفی و نسبتاً خمیده است . (شبه ویبریو) از روی محیط کشت چتر مانند می توان برداشته و به محیط PDA و اسید مالیک منتقل کرده در مقابل نور کلنی صورتی رنگ می دهد . ولی در تاریکی کلنی شیری رنگ می دهد .

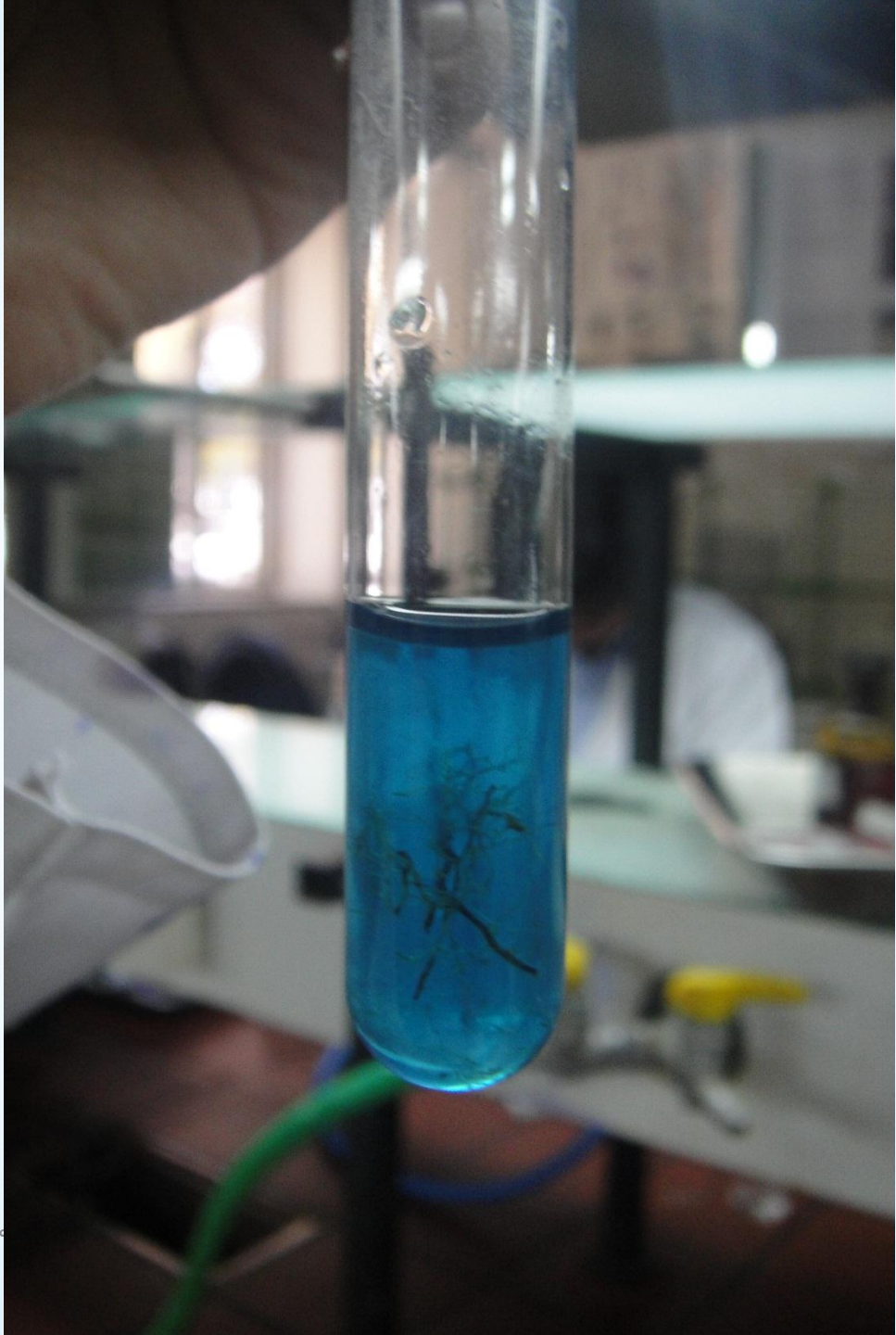
نکته :

اگر از خاک استفاده می شود چون خاک دارای منبع ازت است بهتر است پاساژهایی به محیط دیگر داده شود تا منبع ازت حذف شود .

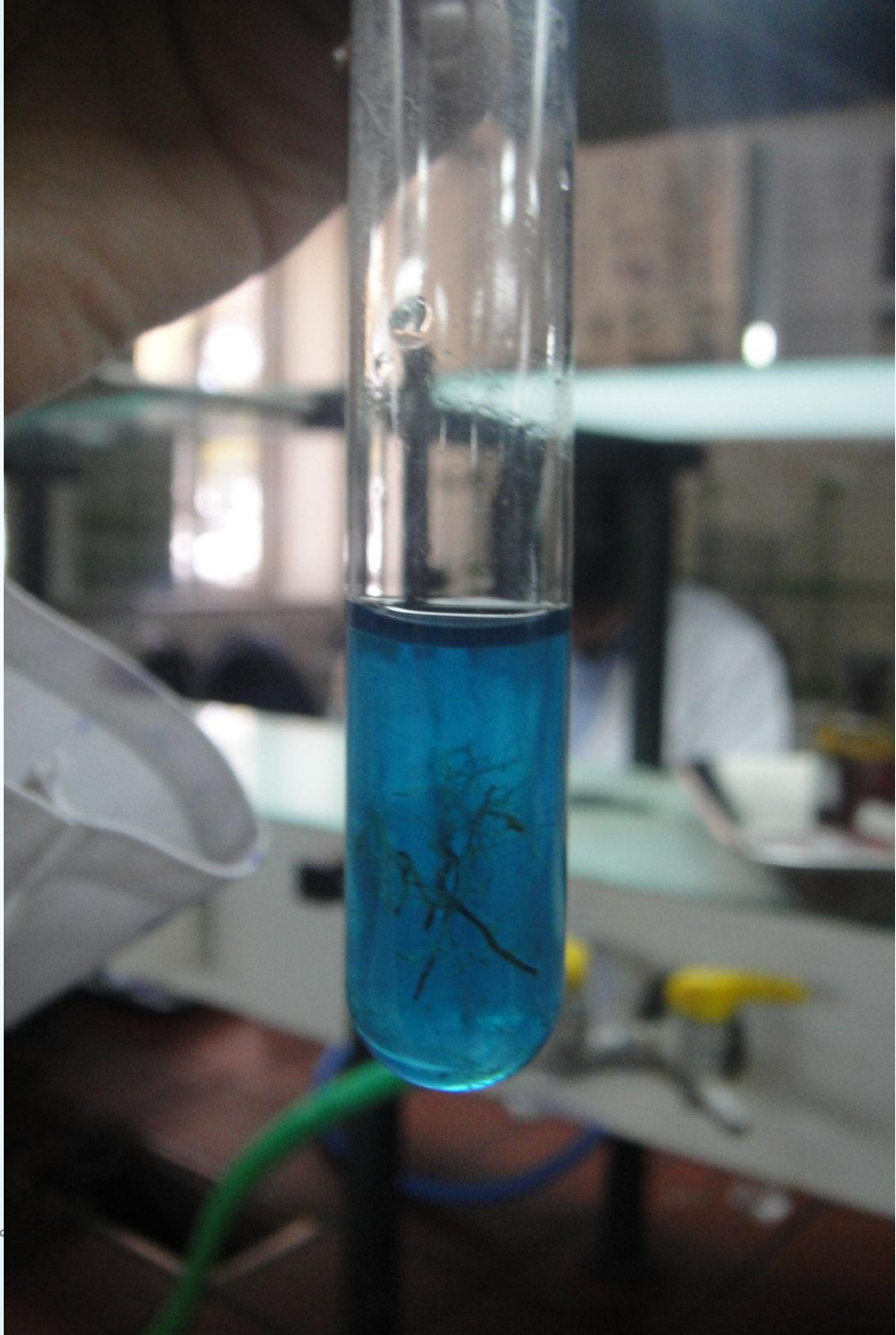
از محیط NFB نیمه جامد و نهایتاً به NFB جامد انتقال می دهیم . سپس از محیط جامد تک تک کلنی ها را به محیط جامد دگیر که حاوی نشاسته باشد انتقال می دهیم . PDA بدین منظور از همه مناسب تر است . یکی از پلیت ها را در نور و پلیت دیگر را در تاریکی اتوگذاری می کنیم .

خصوصیات آزواسپرلیوم :

▶ اکسیداز ، فسفاتاز و اوره آز مثبت است . از قند ها اسید تولید نمی کند . بطوریکه مصرف لاکتوز ، ساکارز ، رامنوز ، دولسیتول در آن منفی است . تولید اندول و پیگمان محلول در آب نمی کند . روی نشاسته و ژلاتین هم قادر به رشد نیست .

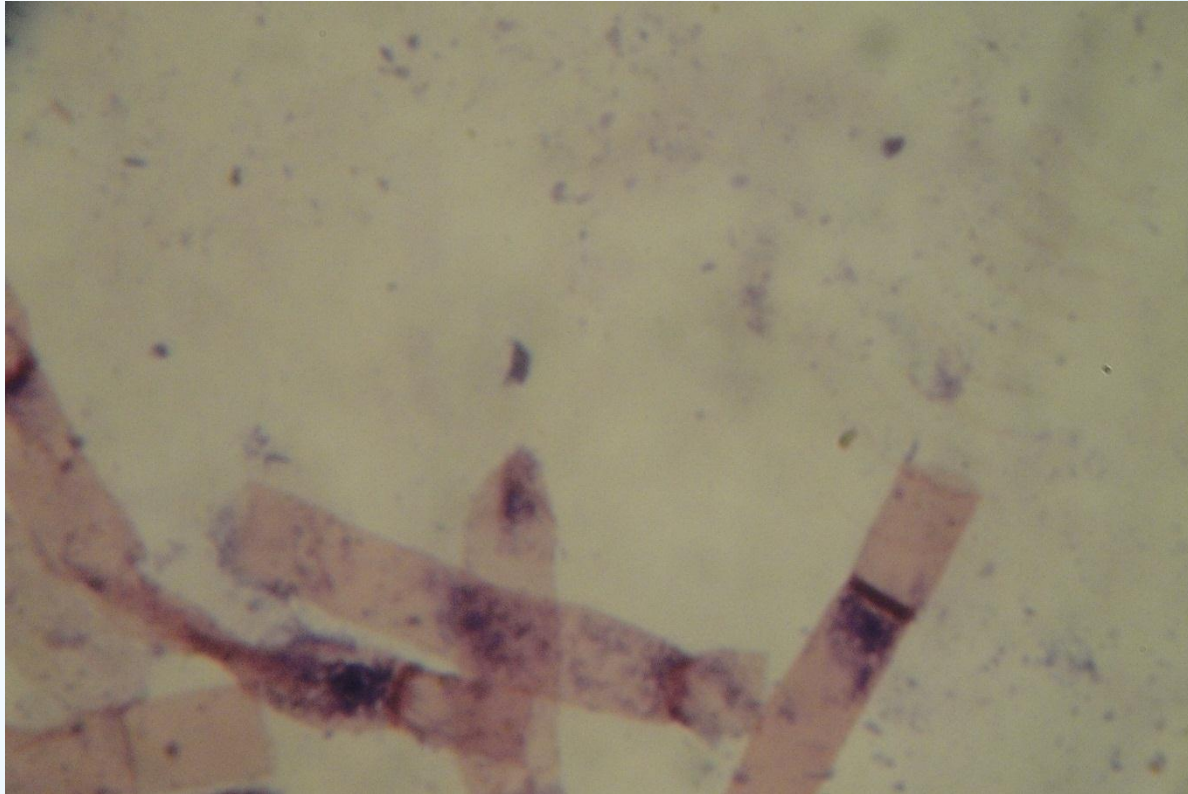


کننده : سهیلا عباسی

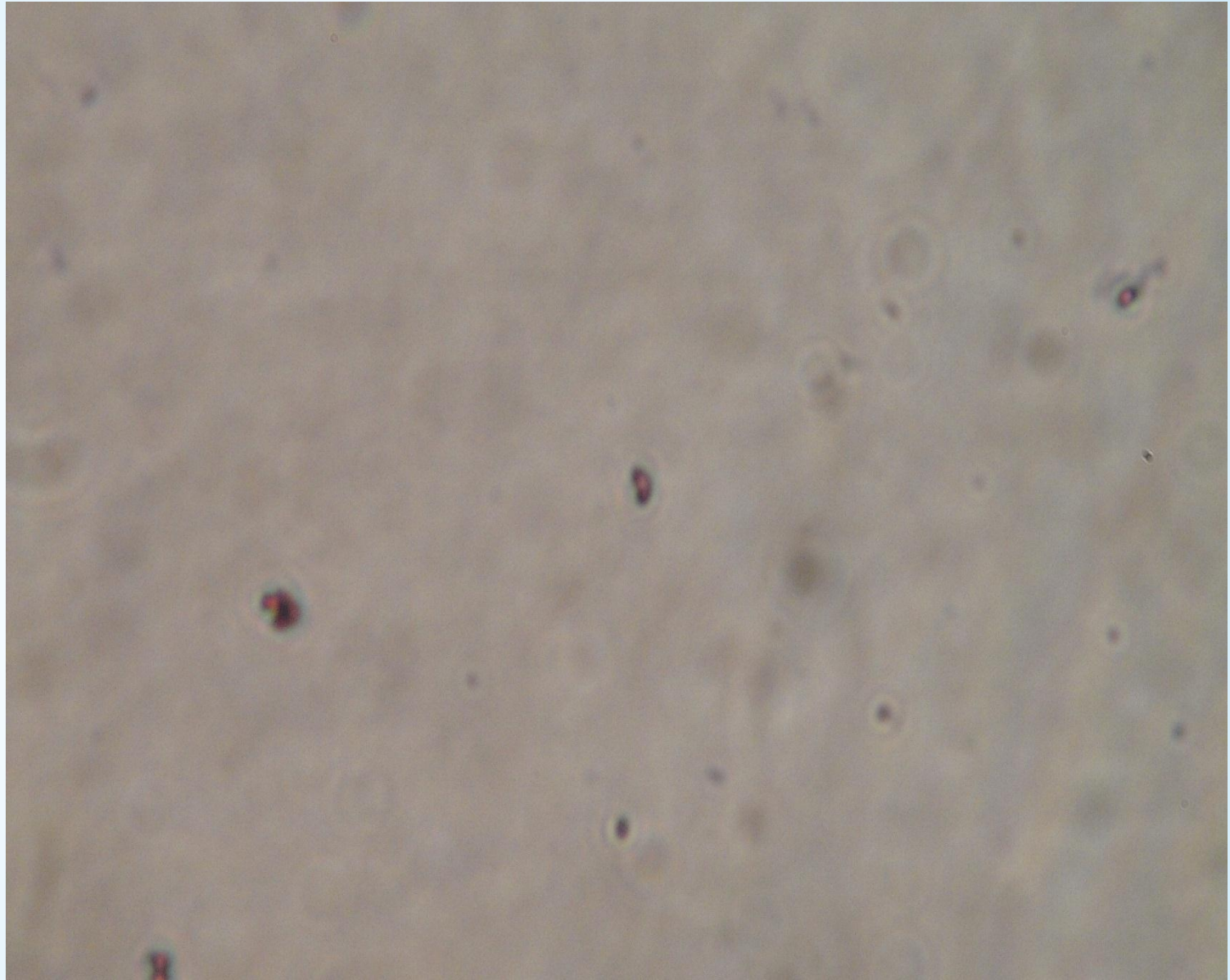


کننده : سهیلا عباسی





تهیه کننده : سهیلا عباسی



تهیه کننده : سهیلا عباسی



با سپاس فراوان از توجه شما