



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، آزمایشگاه میکروبیولوژی



گزارش کار آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط

بررسی و مطالعه سیانوباکترها

1

2 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 باکترها دارای چندین خصوصیت ویژه و منحصر به فرد می باشند . دیواره سلولی سیانوباکترها 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 ۱-۱۰ نانومتر است اما اسلاتوریاپرینسپس به ۲۰۰ نانومتر هم می رسد .

سیانوباکترها تثبیت ازت انجام می دهند .

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

❖ تجمع بعضی از سیانوباکترها مانند میکروسیستیس و سینکو کوکوس باعث مرگ آبزیان می شود و توکسین آن ها که با اتوکلاو مهم 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

۲. هتروسیت ها

۳. آکینت ها

در سیانو باکتر ها سه نوع سلول وجود دارد:

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 کلون 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 .

۲. هتروسیست ها

6

▶ 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 .

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.

➤ آکینت ها کاملاً گرانولار بوده دارای سیانوفیسین ، گلیکوژن ، لیپدوپیگمانهای 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 .

➤ ۱. سیانوباکترهای منفرد

➤ ۲. سیانوباکترهایی که در چند جهت تقسیم می شوند

➤ ۳. سیانوباکترهای رشته ای بدون هتروسیست

➤ ۴. سیانوباکترهای رشته ای تشکیل دهنده ی هتروسیست

➤ ۵. سیانوباکترهای انشعاب دار

انواع سیانوباکترها

۱. سیانوباکترهای منفرد

- معمولاً تک سلولی هستند و تیت 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 .
- سیکوکوکوس ، 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 .

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 غیرم تحرک است. در هگزانو کوس 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 میکسو سارسینا تقسیم سلول اولیه در چهار جهت است. بعد از تولید یک توده مکعب بائوسیتها از آن خارج می شوند.

۳. سیانوباکترهای رشته ای بدون هتروسیست

اسپیرولینا یک سیانوباکتر فتر می باشد. آرتروسپیرا هم فتری بوده و ی کسویه مهم برای تولید SCP می باشد. لینگ بیا، اوسیلاتوریا، میکرو کولئوس هم جزء این دسته می باشند.

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 .

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 .

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 سانوباکتر حساس آب شیرین استفاده می شود.

ویتامین ها شامل

۱/۰ mg/l	نیکوتینیک اسید
۰۱/۰ mg/l	آمینو بنزوئیک اسید
۰۰۱/۰ mg/l	بیوتین
۲/۰ mg/l	تیامین
۰۰۱/۰ mg/l	اسید فولیک
۰۰۱/۰ mg/l	سیانو کوبال آمین
۰۰۱/۰ mg/l	اینوزیتول
۱/۰ mg/l	تیمین
۱/۰ mg/l	پنتوتنات

عناصر کمیاب شامل

۲ g/lit	اسید بوریک
۲ g/lit	MnSO ₄
۵/۰ g/lit	ZnSO ₄
۸/۱ g/lit	MnCl ₂
۰۸/۰ g/lit	CuSO ₄
۳/۰ g/lit	مولیبدات سدیم
۰۴/۰ g/lit	نیتрат کبالت
۰۲/۰ g/lit	کلرور فریک
۳ g/lit	کلروفریک

۳۰ mg/l	اسید سیتریک
۴۰-۶۰ mg/l	نیترات کلسیم
۱۳ mg/l	K ₂ HPO ₄
۳۵ mg/l	MgSO ₄
۲۱ mg/l	CaSO ₄
۲۱ mg/l	MgCl ₂
۲۰ mg/l	Na ₂ LO ₃
۳ mg/l	نیترات آمونیوم فریک
۳ mg/l	کلروفریک
۱ ml	عناصر کمیاب
۵/۰-۱ ml	مخلوط ویتامین

بعد از اینکه سیانوباکترها در مجاورت نور در این محیط غنی شدند آن ها را به محیط کشت جامد همین مواد انتقال می دهند. ریشه هایی که در محیط جامد به وجود می آیند به محیط مایع انتقال داده و می توان سیانوباکتر را جدا کرد.

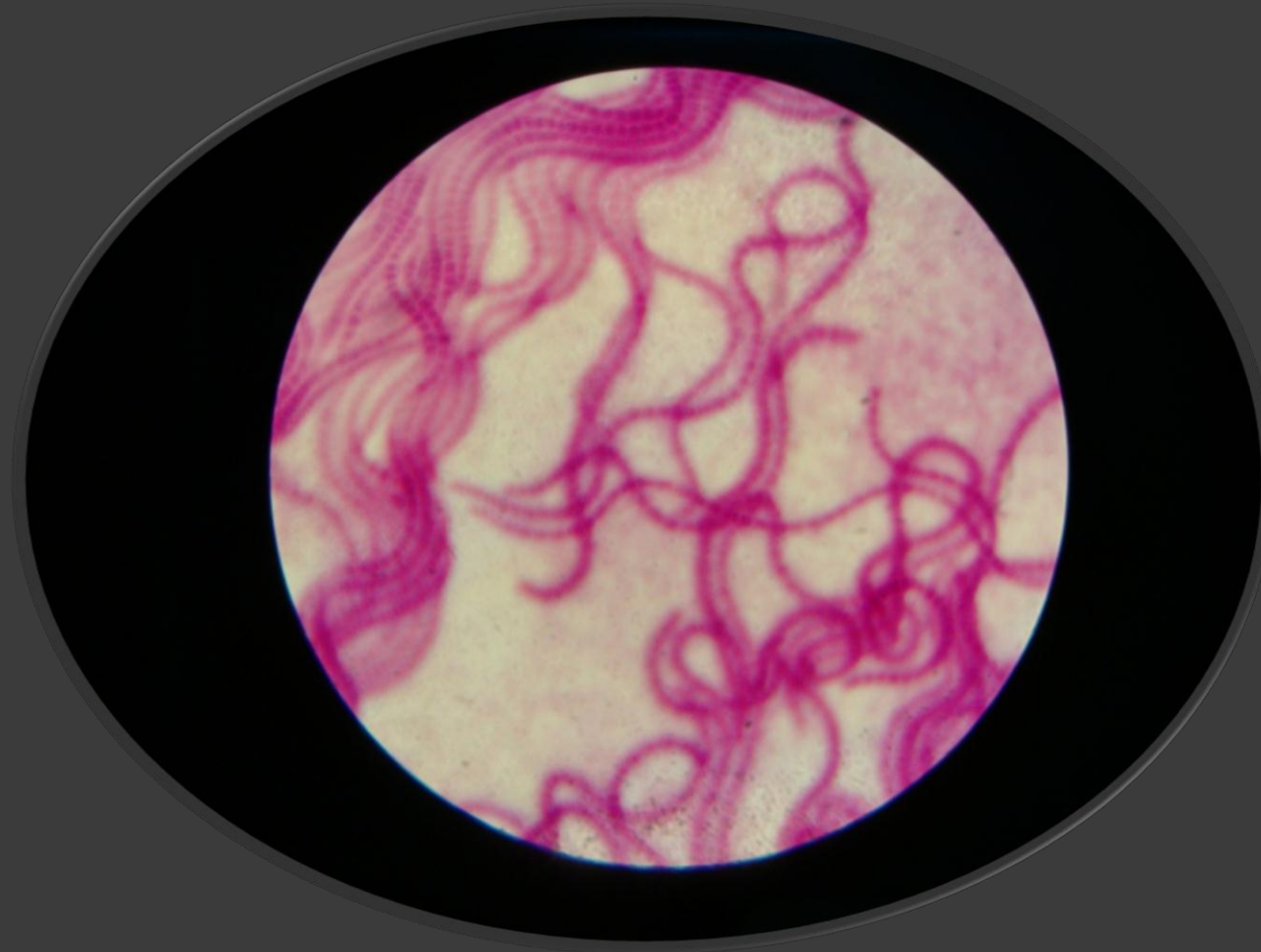
اگر سیانوباکتر تثبیت کننده ازت در نظر است می توان منبع ازت را حذف نمود.

برای جداسازی سویه های آب دریا یا آب شور، آب رودخانه را استریل می کنیم و به آن ۲۰-۳۰ درصد نمک می زنیم نمونه جلبکهای 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 روشنائی احتیاج دارند.

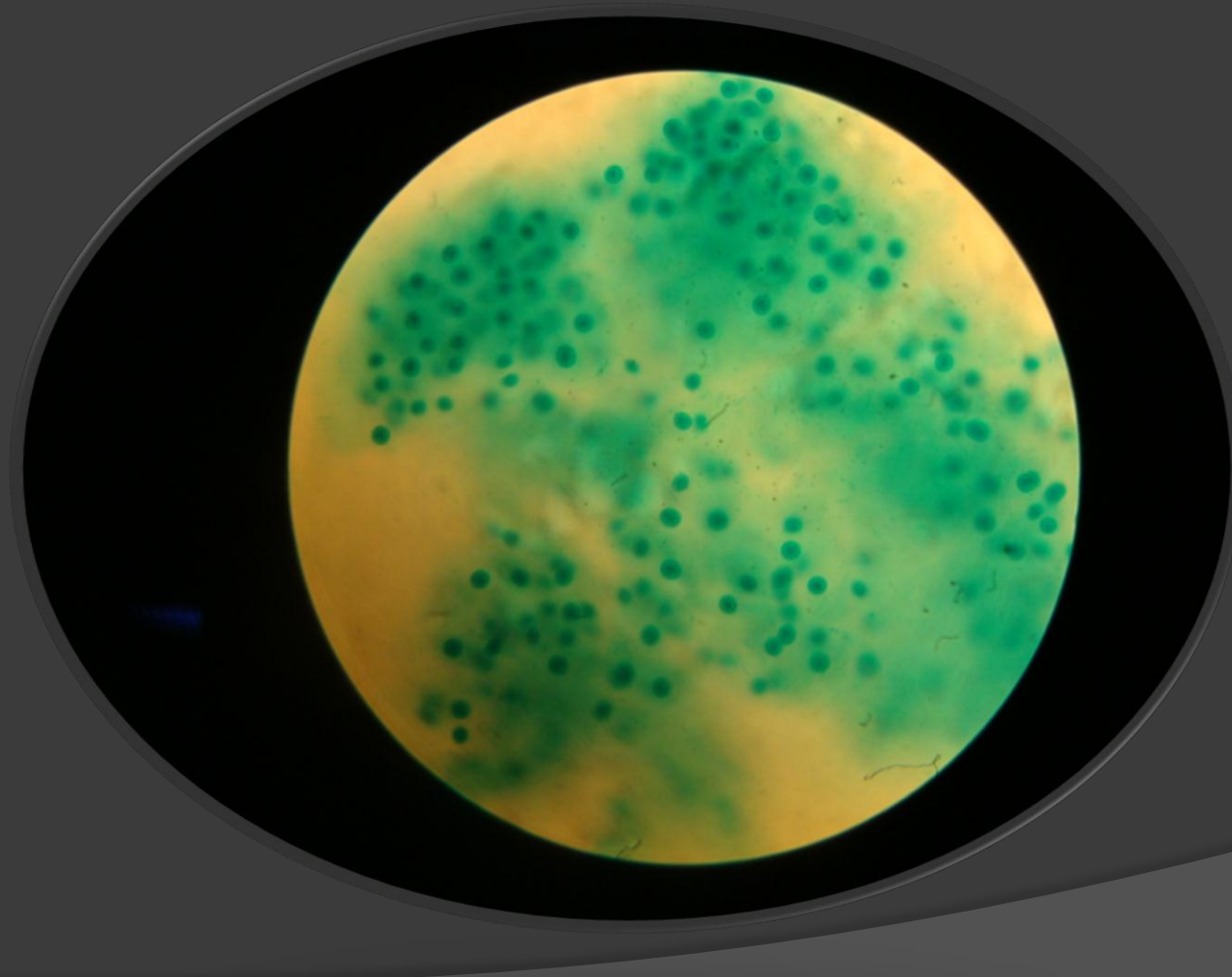
جلبکهای سبز و سبز - آبی هر دو به نور UV مقاومند.

ARTHROSPIRA

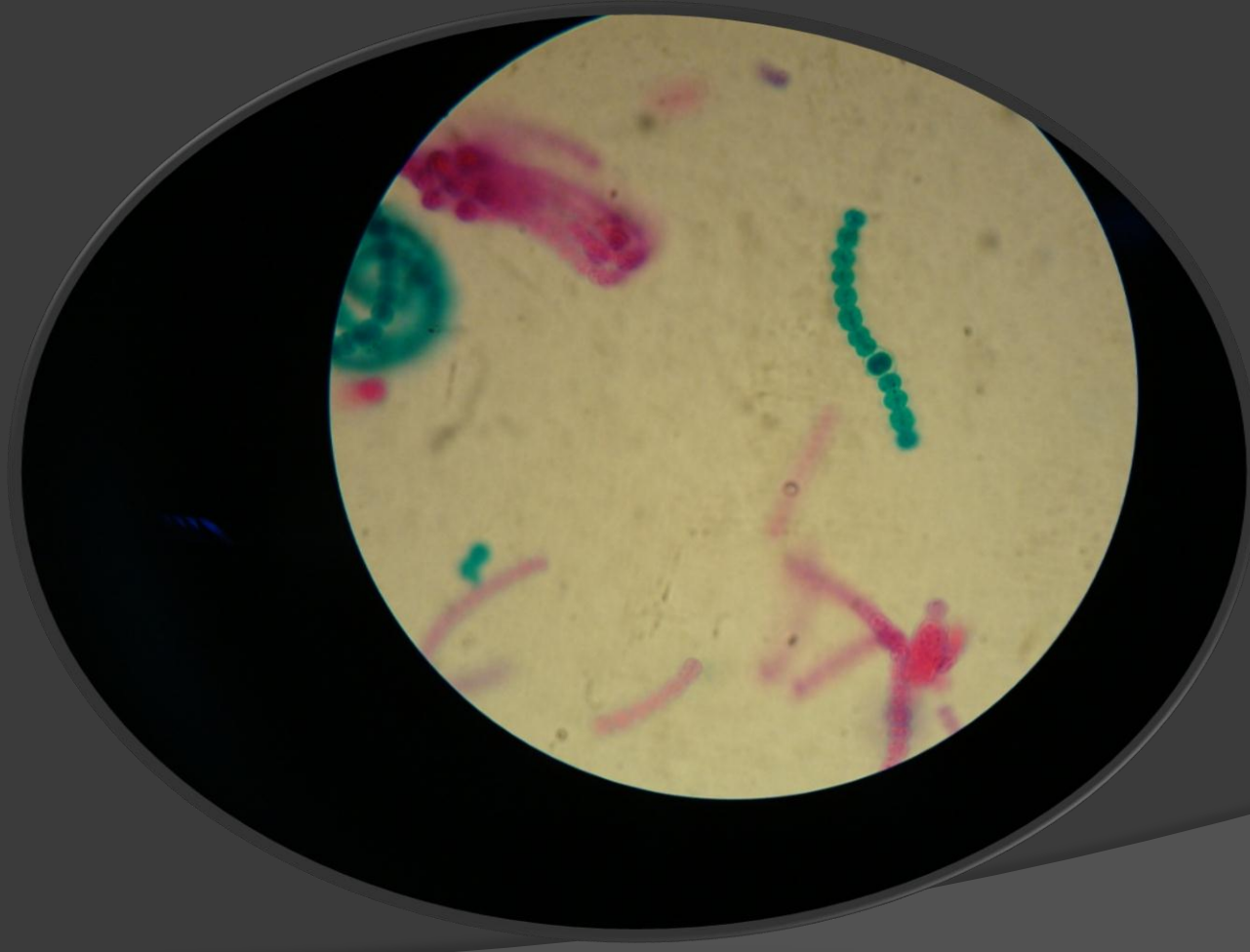




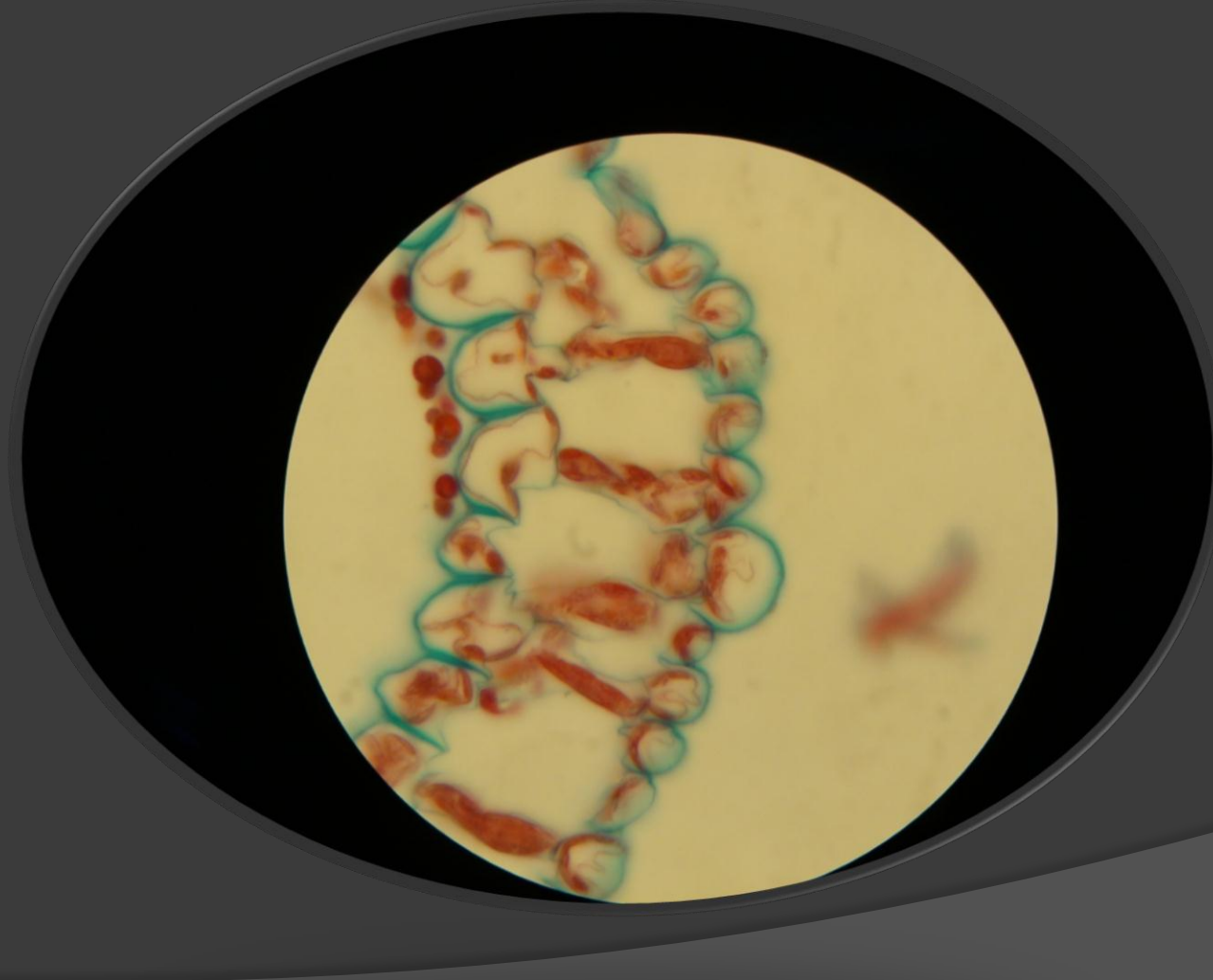
MICROCYSTIS



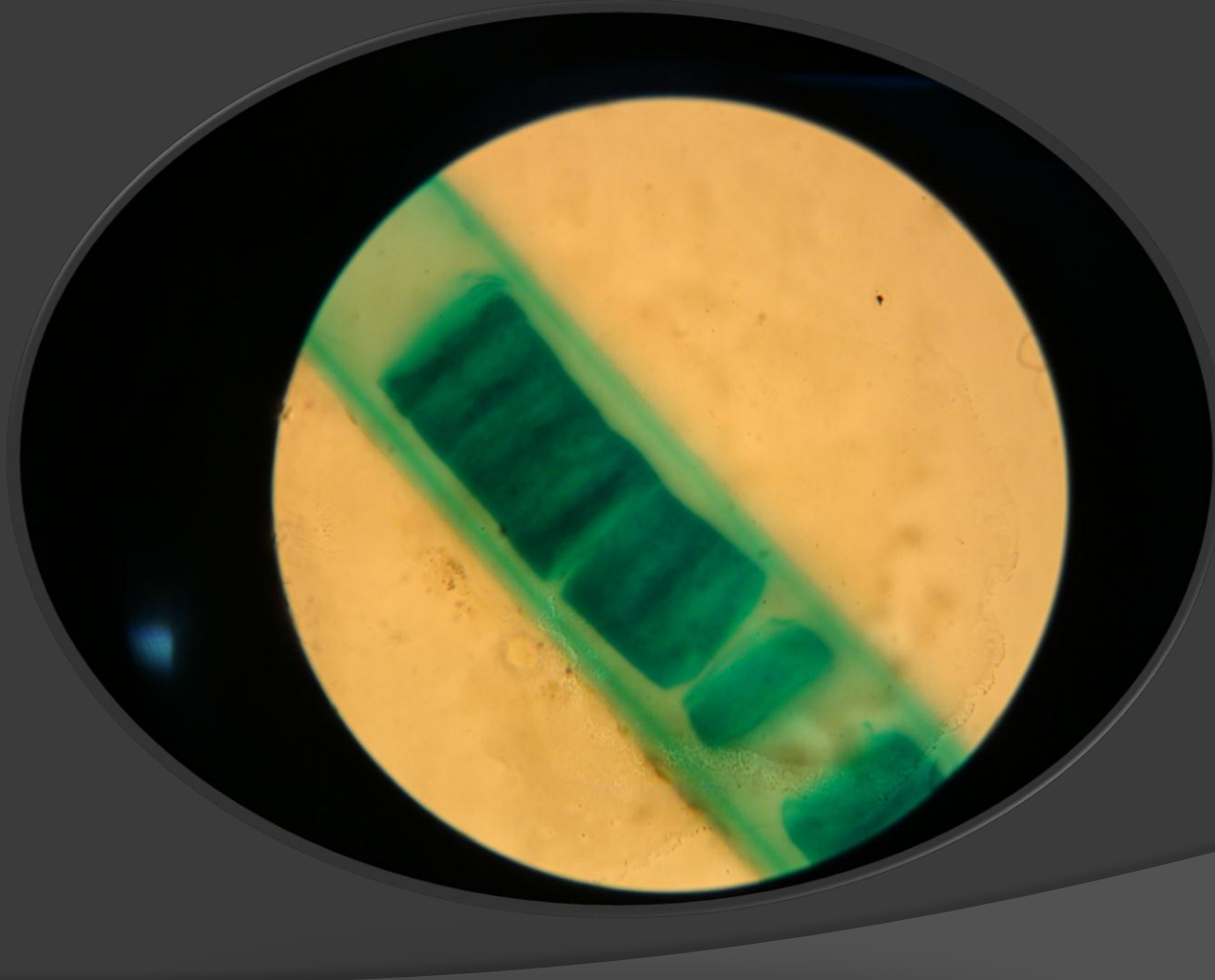
ANABAENA



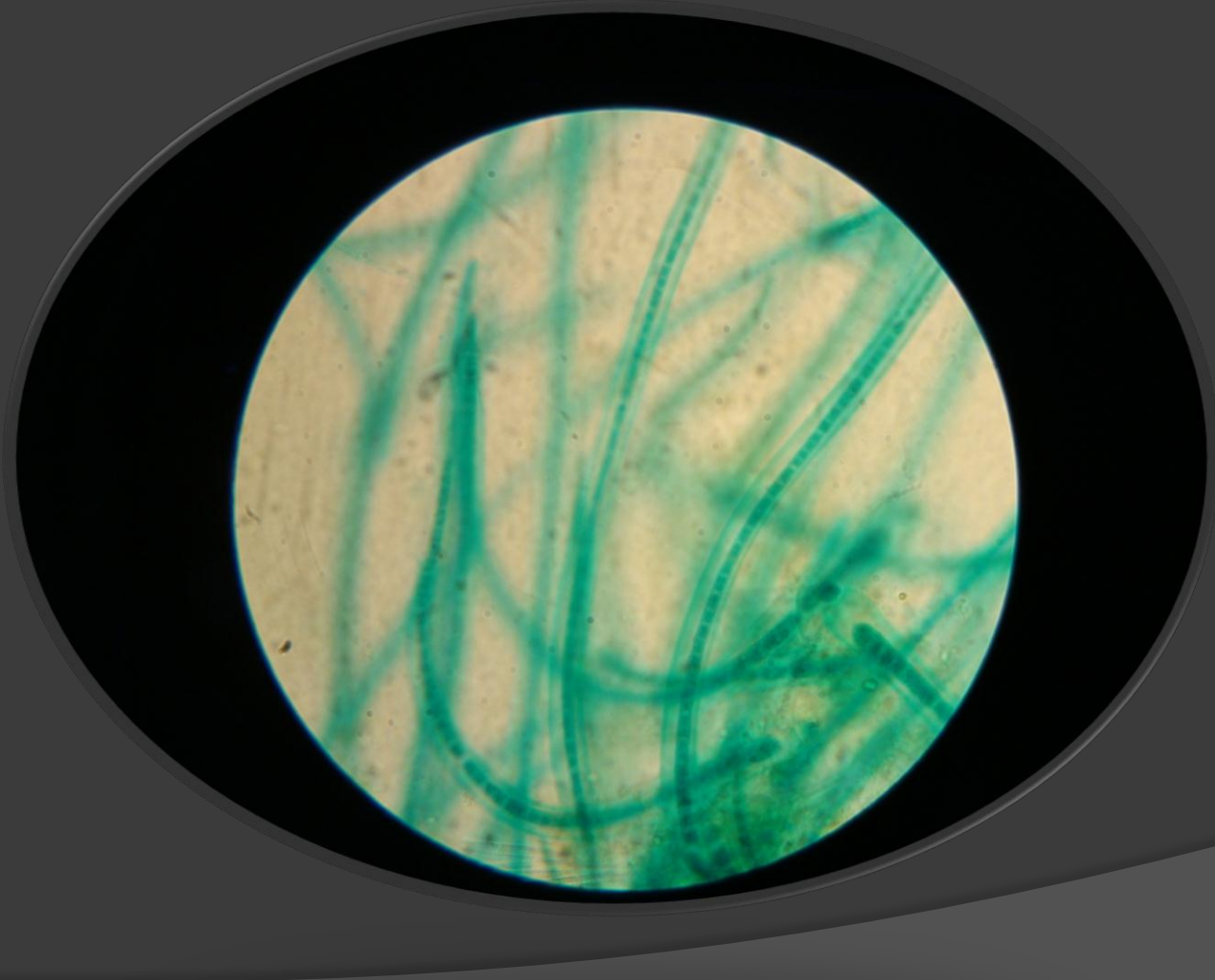
ANABAENA AZOLLAE



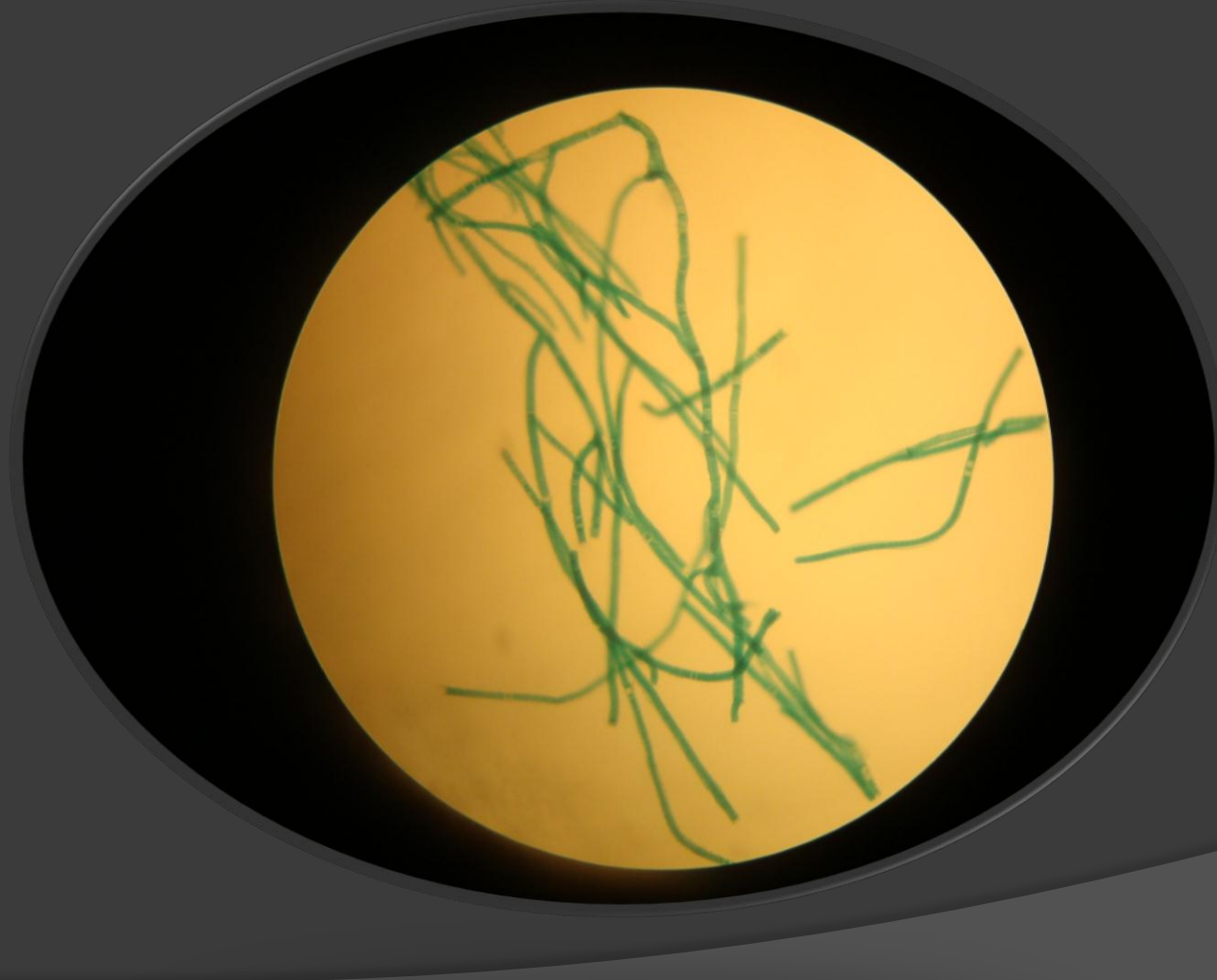
LYNGBYA



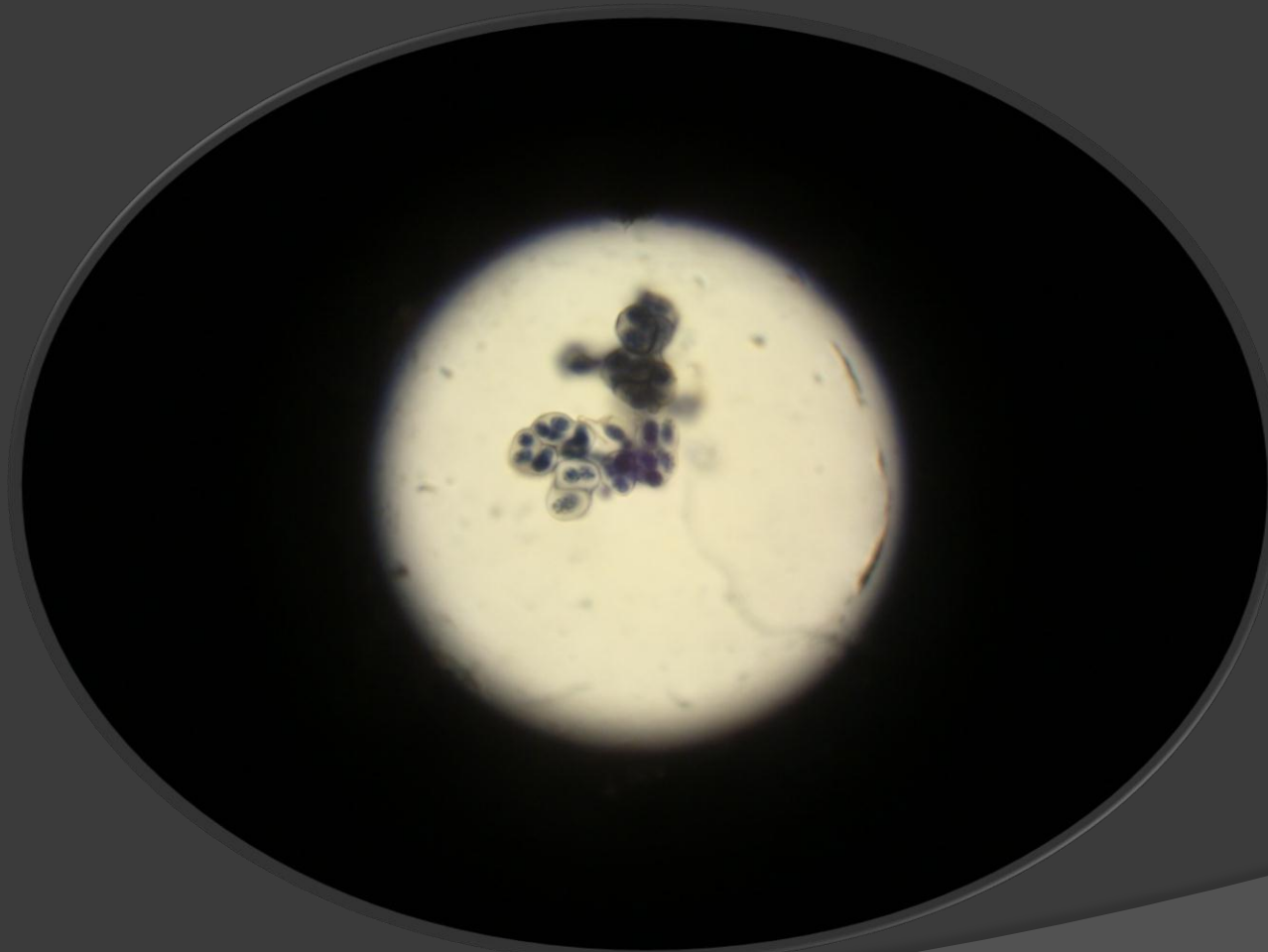
RIVULARIA



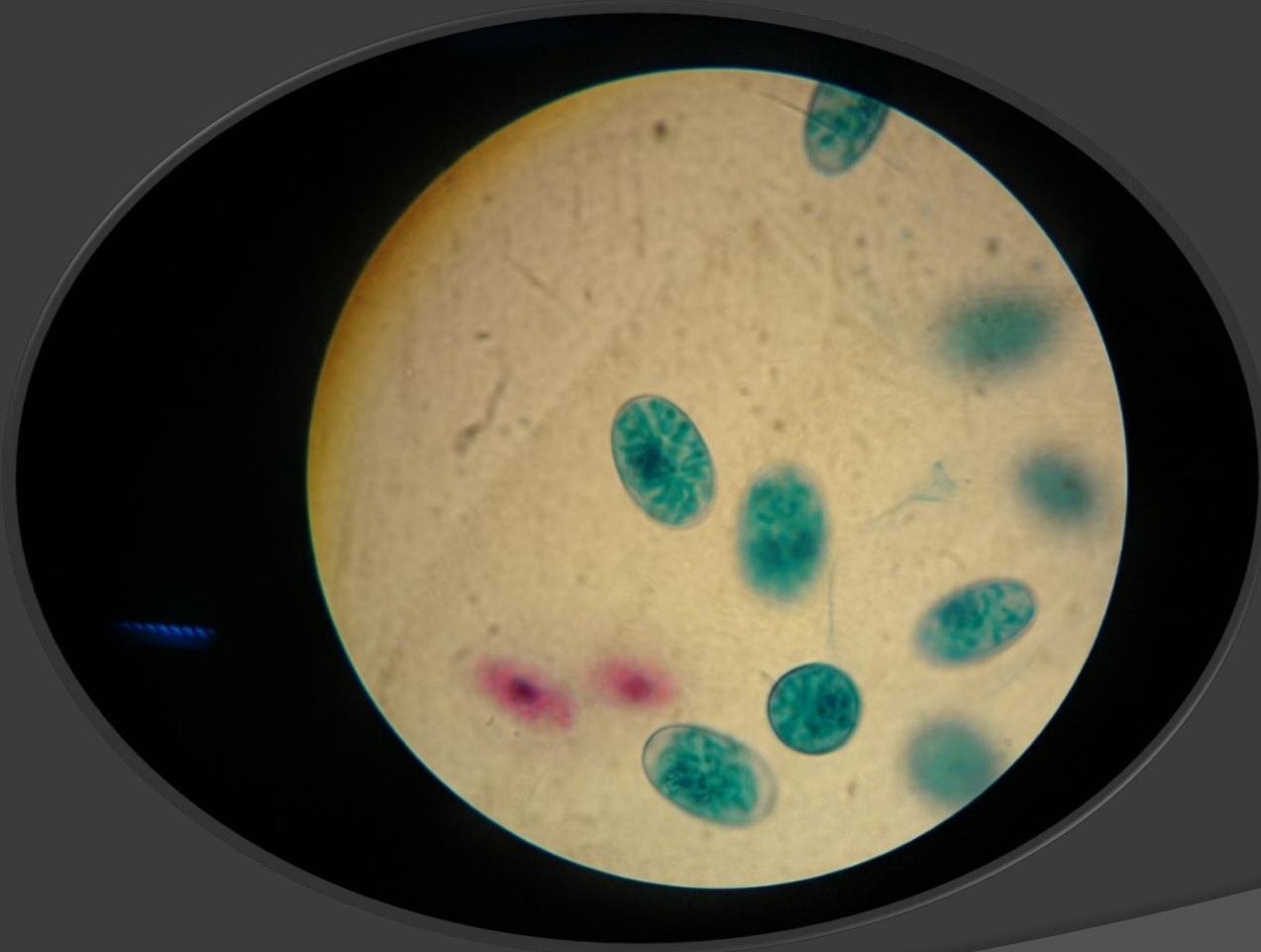
SCYTONEMA



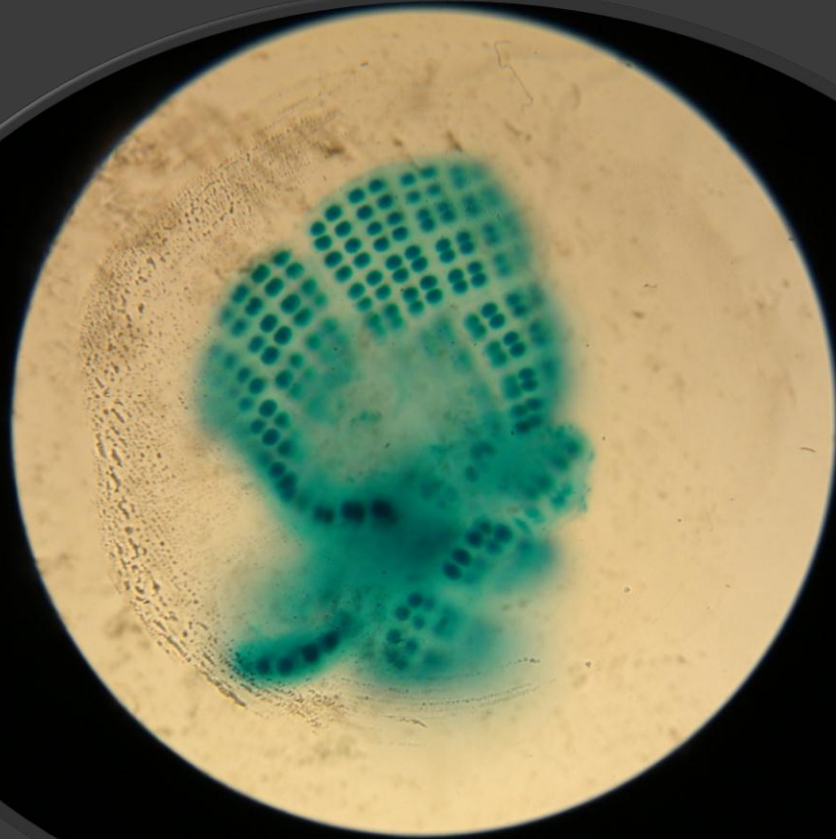
GLOEOCAPSA



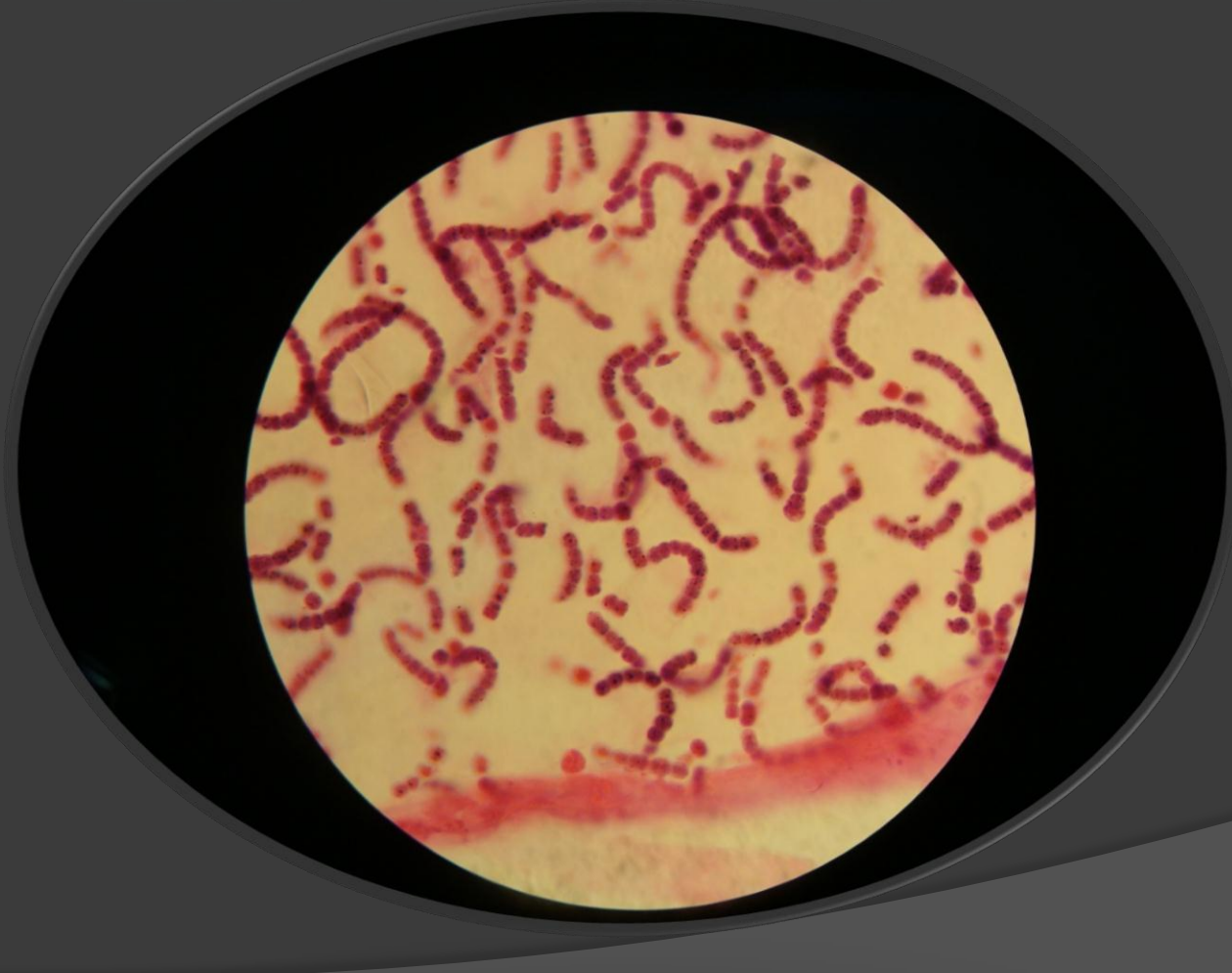
GAUCOCYSTIS



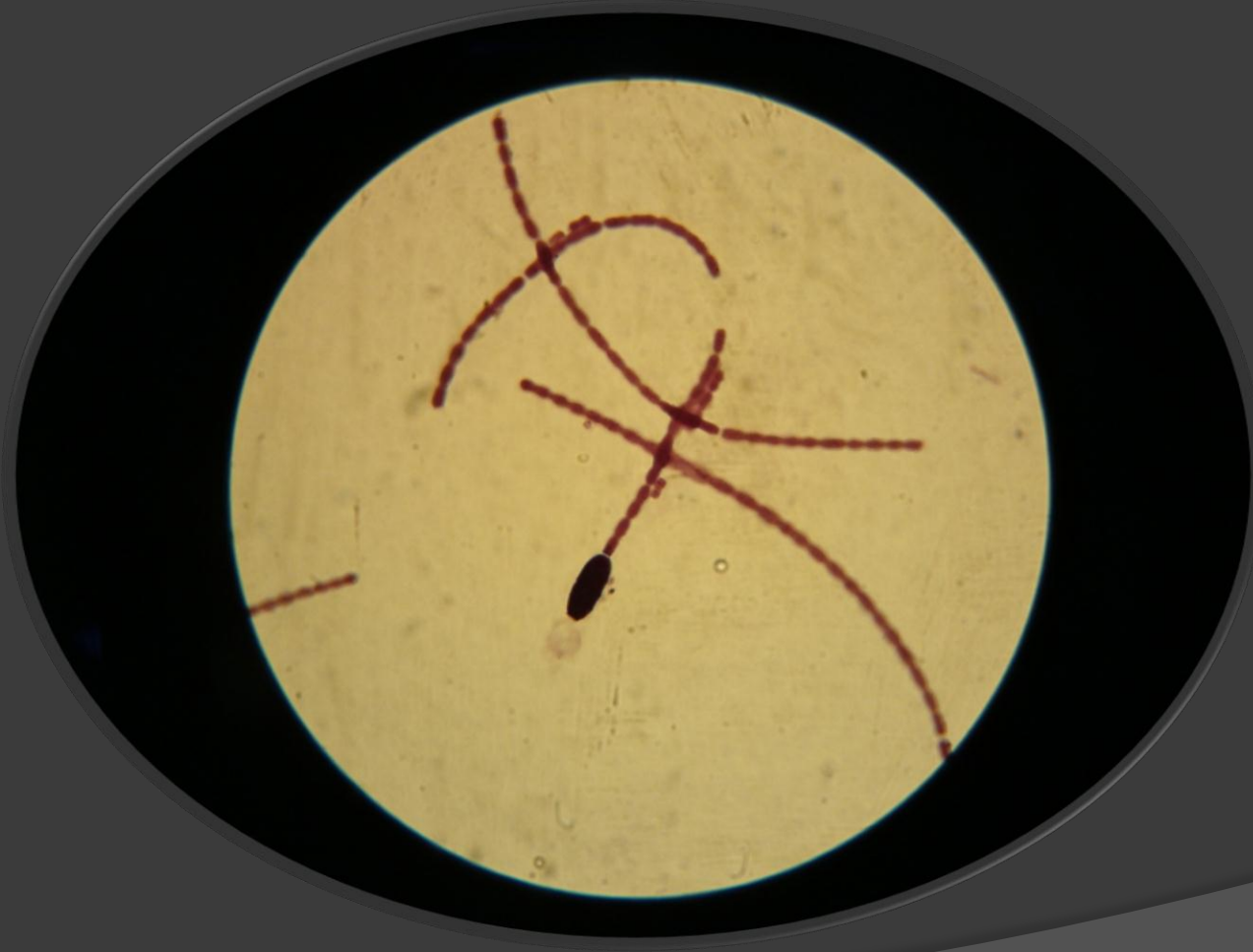
MERISMOPEDIA



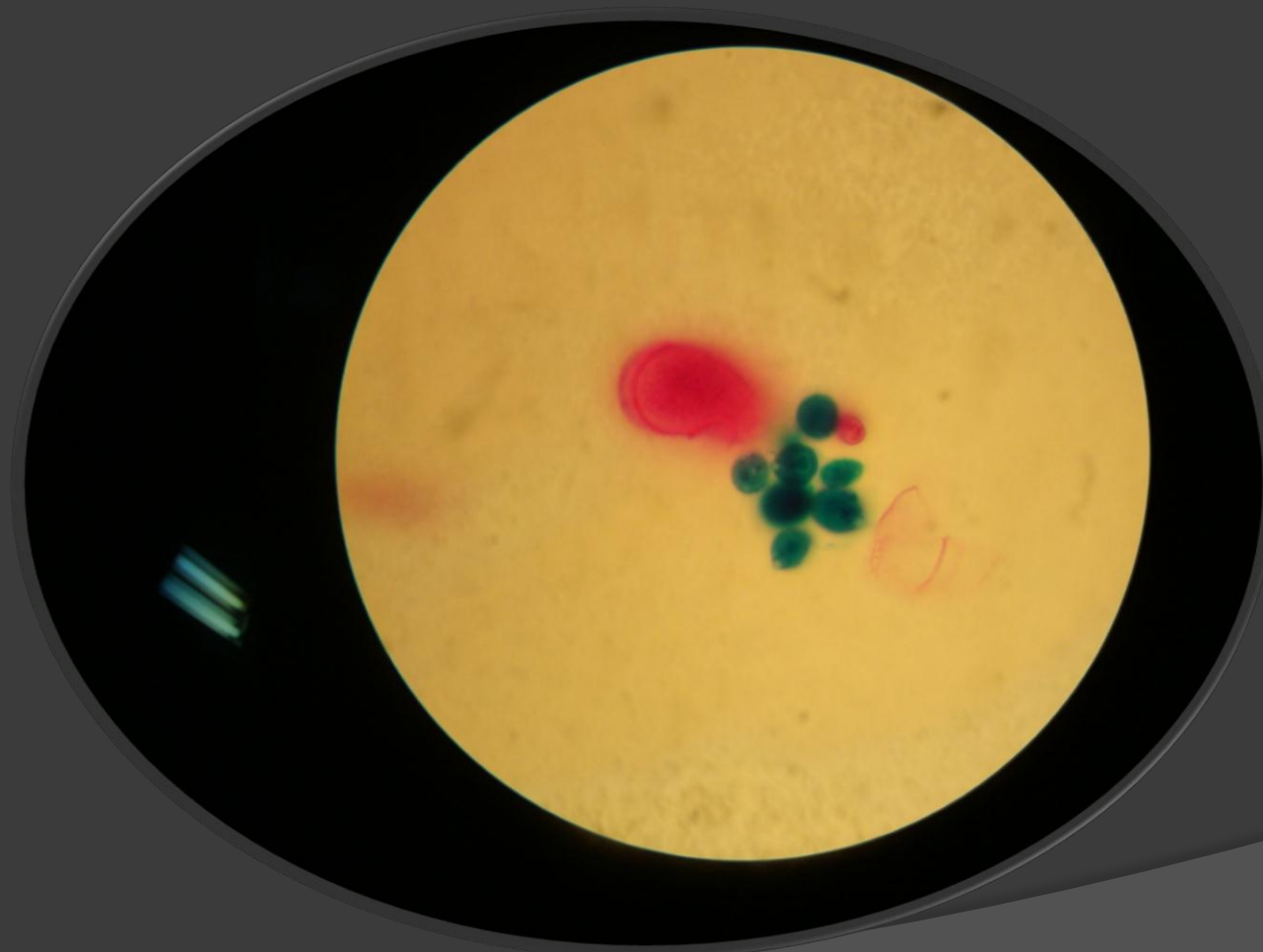
NOSTOC



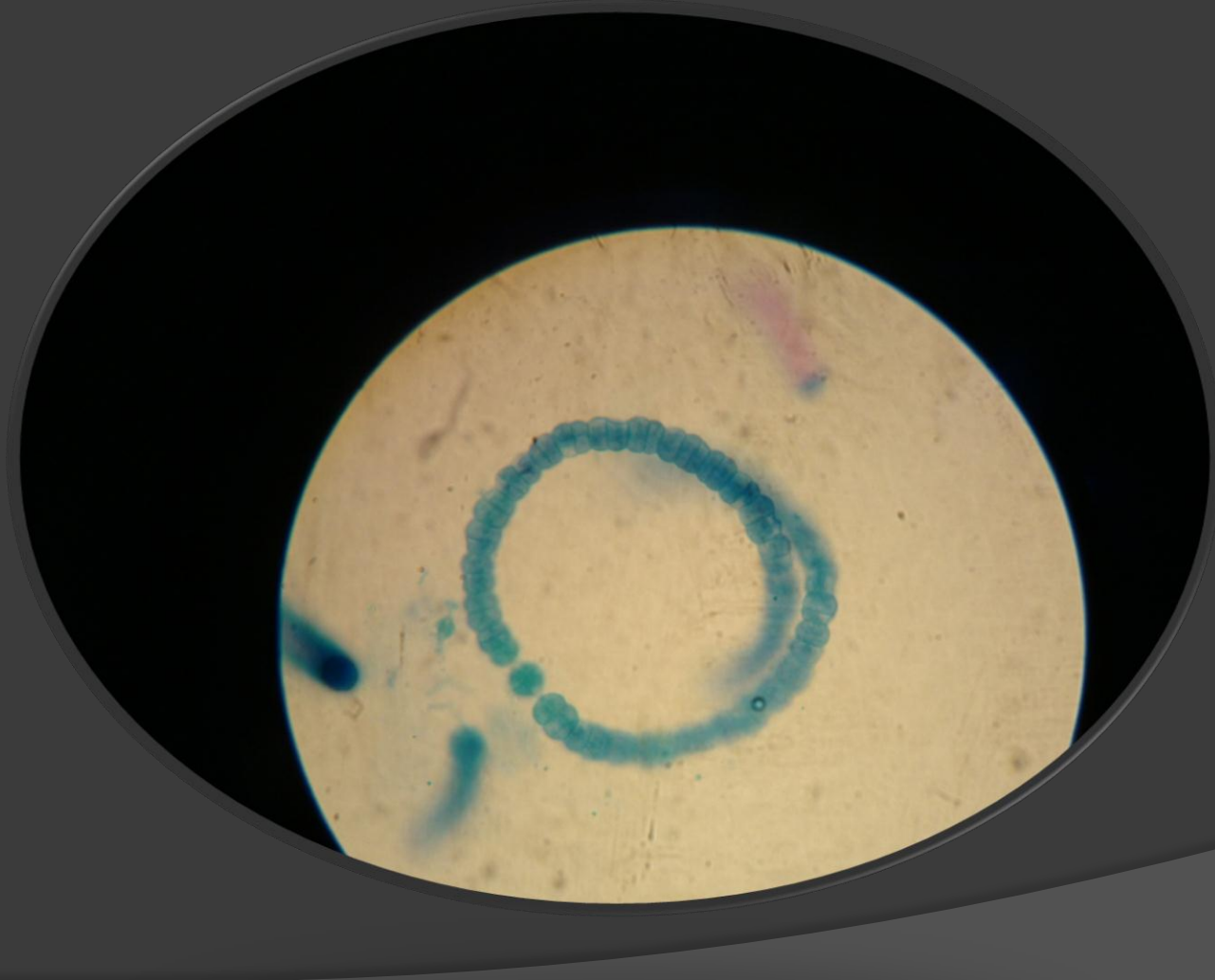
CYLINDROSPERMUM



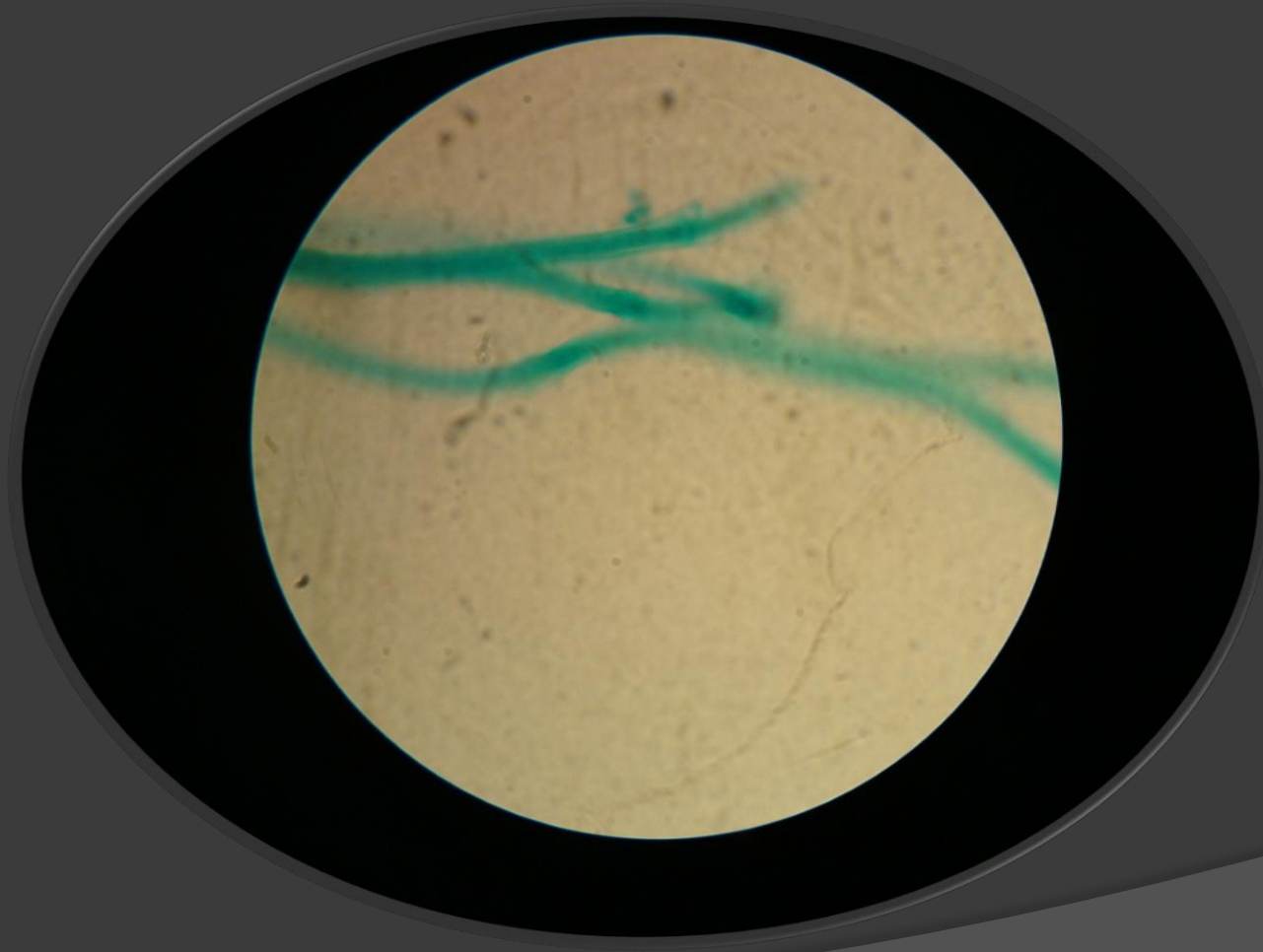
PHYTOPLANKTON



WASSERBLUTHE



TOLYPOTHRIX





با سیاس فراوان از توجه شما