



دانشگاه اصفهان

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



آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط

# مطالعه و جداسازی باسیلوس ها

1

➤ باسیلوس ها معمولاً در خاک وجود دارند. البته جزو فلور اصلی خاک نیستند ولی چون تشکیل اسپور می دهند در شرایط مختلف می توانند در خاک وجود داشته باشند .

➤ باسیلوس ها اکثراً کاتالاز مثبت ، گرم مثبت ، اسپوردار و هوازی بوده و بعضی از آن ها در شرایط بی هوازی نیز رشد می کنند .

➤ باسیلوس ها چون تشکیل اسپور می دهند از نقطه نظر اکولوژیکی در محیط های مختلف در مواد غذایی یافت می شوند .

## جداسازی باسیلوس ها

برای جداسازی باسیلوس ها اگر هر نمونه ای را در درجه حرارت ۸۰ درجه به مدت ده دقیقه حرارت دهیم، باکتریهای رویشی از بین می روند و فقط فرم های اسپوردار باقی می مانند. بنابراین به راحتی می توان از هر محیطی باسیلوس ها را جدا کرد. منتهی برای جداسازی گونه های خاصی از باسیلوس ها باید محیط کشت اختصاصی به کار رود و یا نمونه برداری را از محیط مناسب انجام داد .

➤ به طور مثال :

4

➤ برای جداسازی باسیلوس سرئوس از محیط اختصاصی که حاوی کریستال ویوله و فوشین است می توان استفاده کرد . باسیلوس سرئوس شدیداً تجزیه کننده نشاسته است بنابراین در محیط هایی که خمیر ماکارونی و یا نان فاسد وجود دارد بیشتریافت می شود .

➤ برای جداسازی باسیلوس استئاروترموفیلوس می توان انکوباتور گذاری در ۴۰ درجه را استفاده کرد و با توجه به اینکه اسپور این باسیلوس درجه حرارت جوش را برای مدت یک ساعت می تواند تحمل کند از بعضی از مواد غذایی مانند شکر نیز این باکتری را می توان جدا کرد . زیرا در تولید شکر و قند در راکتورها درجه حرارت آنقدر بالاست که اکثر باکتری های رویشی و حتی اسپور باسیلوس های دیگر از بین رفته و فقط این باسیلوس باقی می ماند .

➤ باسیلوس استئاروترموفیلوس به عنوان اندیکاتور برای کارکرد اتوکلاو می باشد . چون اگر یک اتوکلاو با فشار بالا محیط کشت را استریل کند ، باید این باسیلوس را از بین ببرد .

- بعضی از باسیلوس ها مانند باسیلوس تورنجنسیس و باسیلوس پاپیلی و باسیلوس لاروا از حشرات جداسازی شده و به عنوان کنترل کننده ی حشرات نیز کاربرد دارند .
- باسیلوس تورنجنسیس : کریستالی که تولید می کند بر ضد پشه مالاریا کاربرد دارد .
- باسیلوس پاپیلی پروتئازی دارد بر ضد سوسک و همچنین در بدن سوسک تولید اسپور می کند .
- باسیلوس لاروا : در زنبور عسل بیماری زا است و اسپور آن روی لارو زنبور عسل تولید می شود .

➤ **باسیلوس پلی میکسا** با ریزوبیوم و آزوسپریلیوم همیار است به این صورت که پلی میکسا سلولاز ترشح کرده و باعث می شود آزوسپریلیوم به ریشه گندم بچسبد. چون تثبیت کننده ی ازت است در مزارع برنج و گندم وجود دارد و بعد از شوک حرارتی می توان در محیط هایی که فاقد ازت است آن را جداسازی کرد.

➤ برای جداسازی **باسیلوس آنتراسیس** مدفوع نشخوارکنندگان مناسب تر است. چون **باسیلوس آنتراسیس** ایجاد بیماری در نشخوارکنندگان می کند بنابراین در محیط هایی که گاو و گوسفند وجود دارد بیشتر یافت می شود.

➤ **باسیلوس سابتیلیس** : موادی مانند سابتیلین ترشح کرده که بر ضد میکروکوکوس بوده به همین جهت با دستگاه گوارش طیور به صورت فلور همیار زندگی می کند.

## روش کار

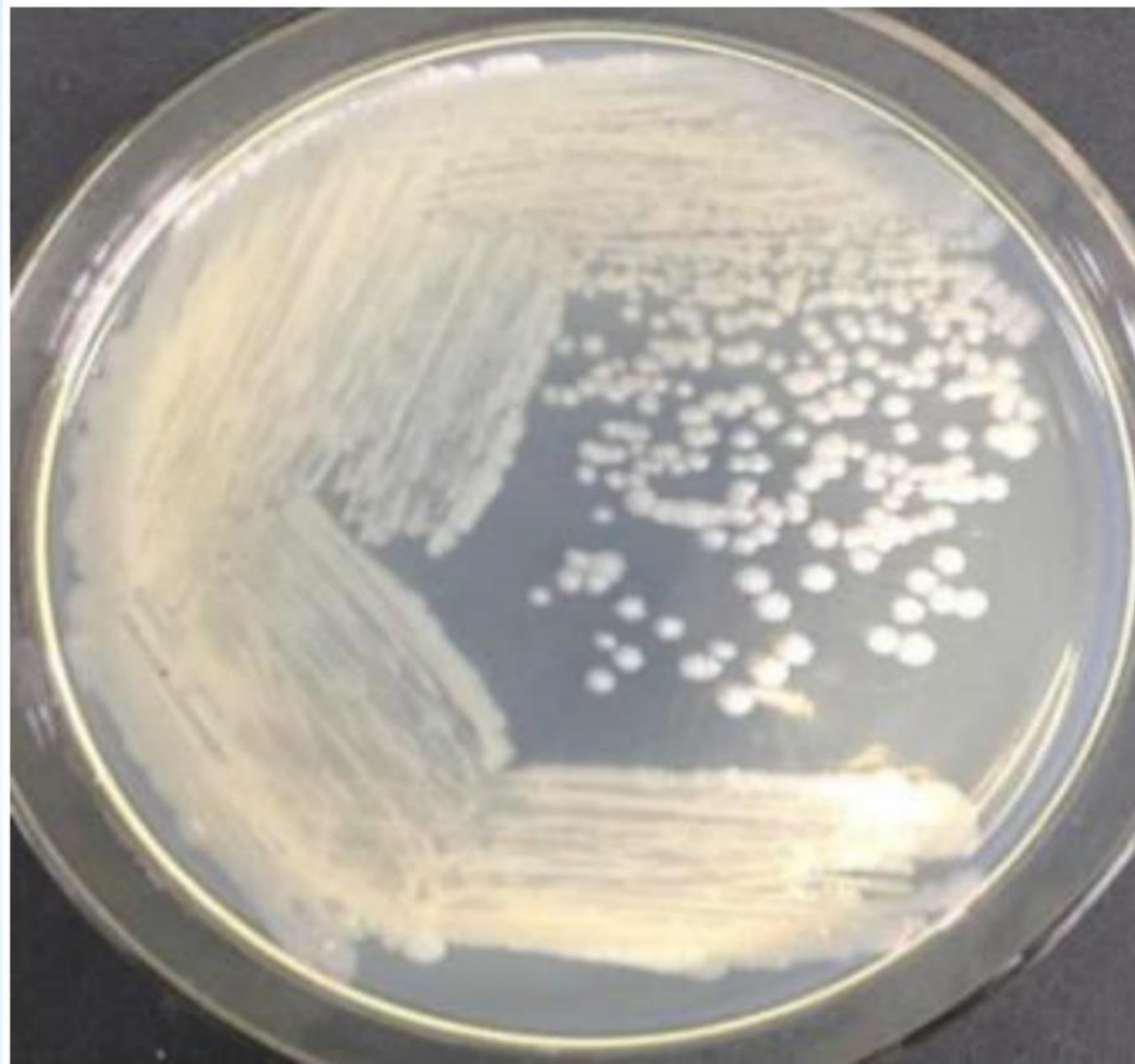
1. از نمونه های مختلف خاک که ساییده و الک شده است استفاده می کنیم.
2. ده گرم خاک را به ۹۰ سی سی آب مقطر اضافه کرده و تکان می دهیم بعد به مدت ۲۰ دقیقه روی شیکر قرار می دهیم سوسپانسیون خاک آماده است.
3. سوسپانسیون را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه شوک حرارتی می دهیم. نباید زمان بیشتر شود چون ممکن است اسپورها از بین بروند.

- ۴- از سوسپانسیون حرارت داده ۰/۱ سی سی روی محیط نوترینت آگار می بریم و با میله شیشه ای سر کج روی محیط بخش می کنیم.
- برای جداسازی باسیلوس پلی میکسا می توانیم ۰/۱ سی سی روی محیط ازتوباکتر (محیط فاقد ازت) بریم .
- ۵- پلیت ها را به مدت یک هفته در دمای محیط قرار می دهیم .
- برای جداسازی پلی میکسا پلیت ازتوباکتر را در جار بی هوازی قرار می دهیم . چون به صورت بی هوازی تثبیت ازت انجام می دهد .
- ۶- کلنی را بررسی می کنیم .
- کلنی باسیلوس ها معمولاً خشن ، خشک ، مضرس (بجز باسیلوس پلی میکسا) ، شیری است حتی اگر موکوئیدی هم باشد در کشت های کهنه به صورت مضرس می باشد .
- ۷- رنگ آمیزی گرم و اسپور انجام داده و مرفولوژی ، آرایش و شکل اسپور را بررسی می کنیم .

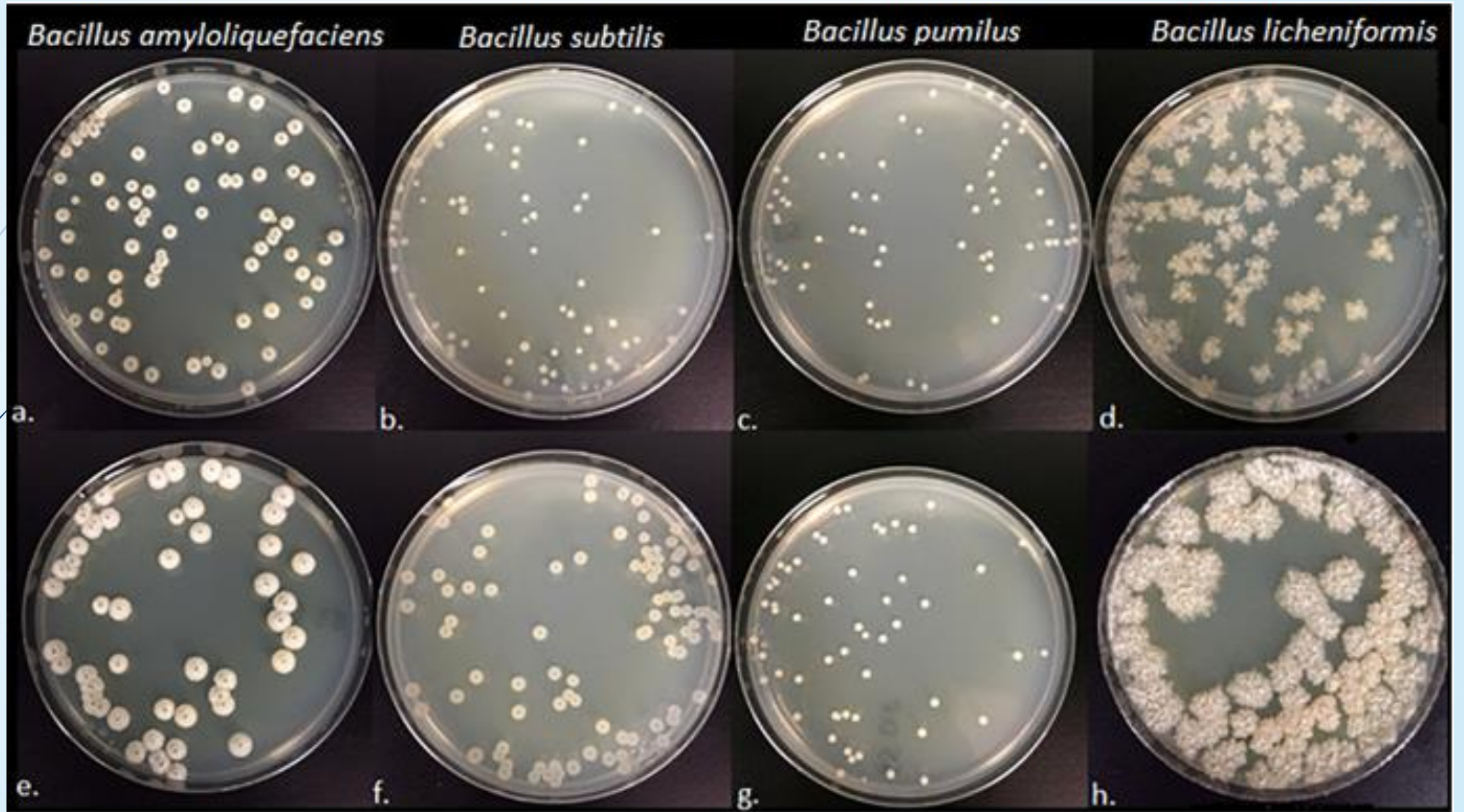




تهیه کننده : سهیلا عباسی

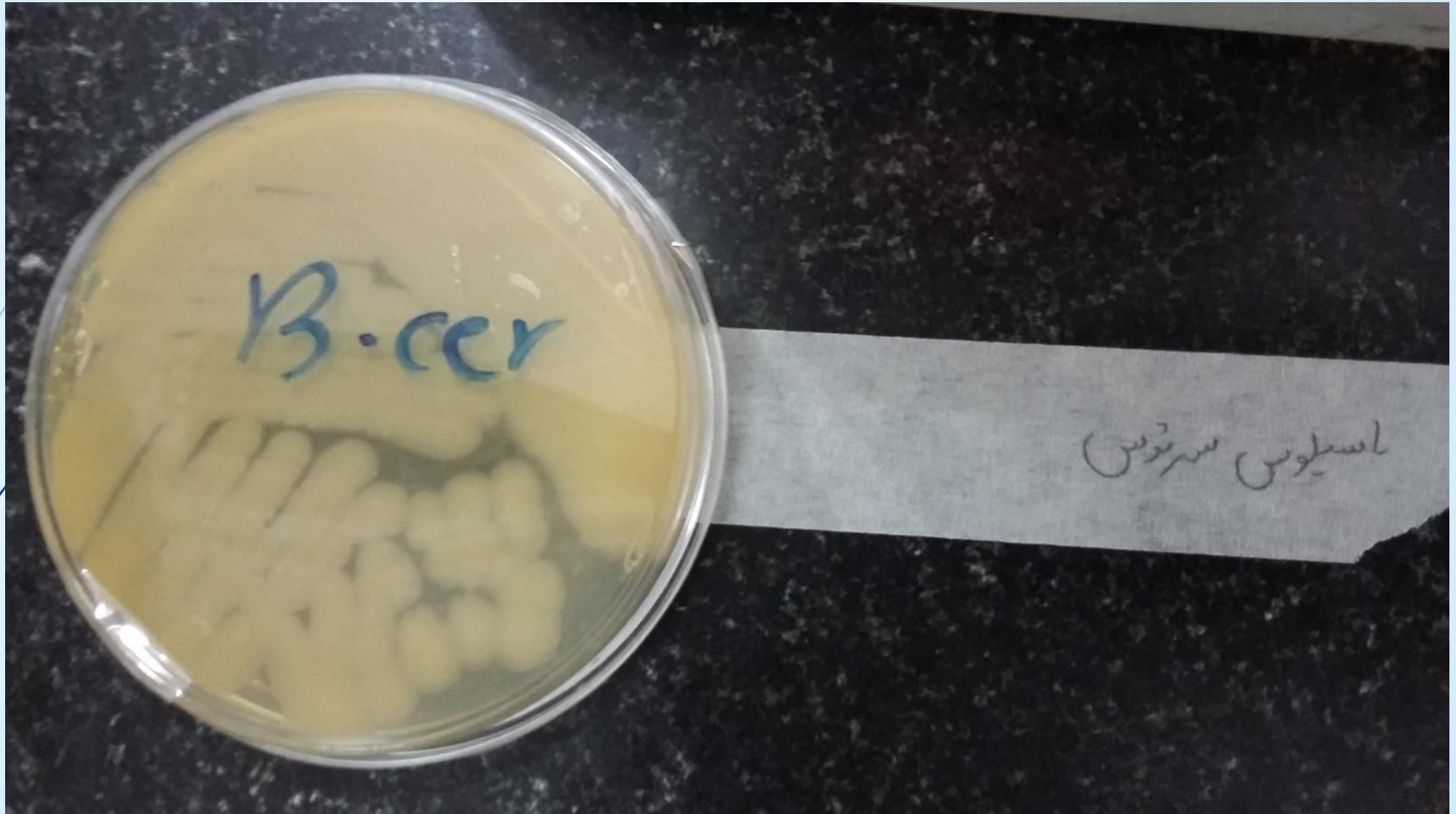


تهیه کننده : سهیلا عباسی





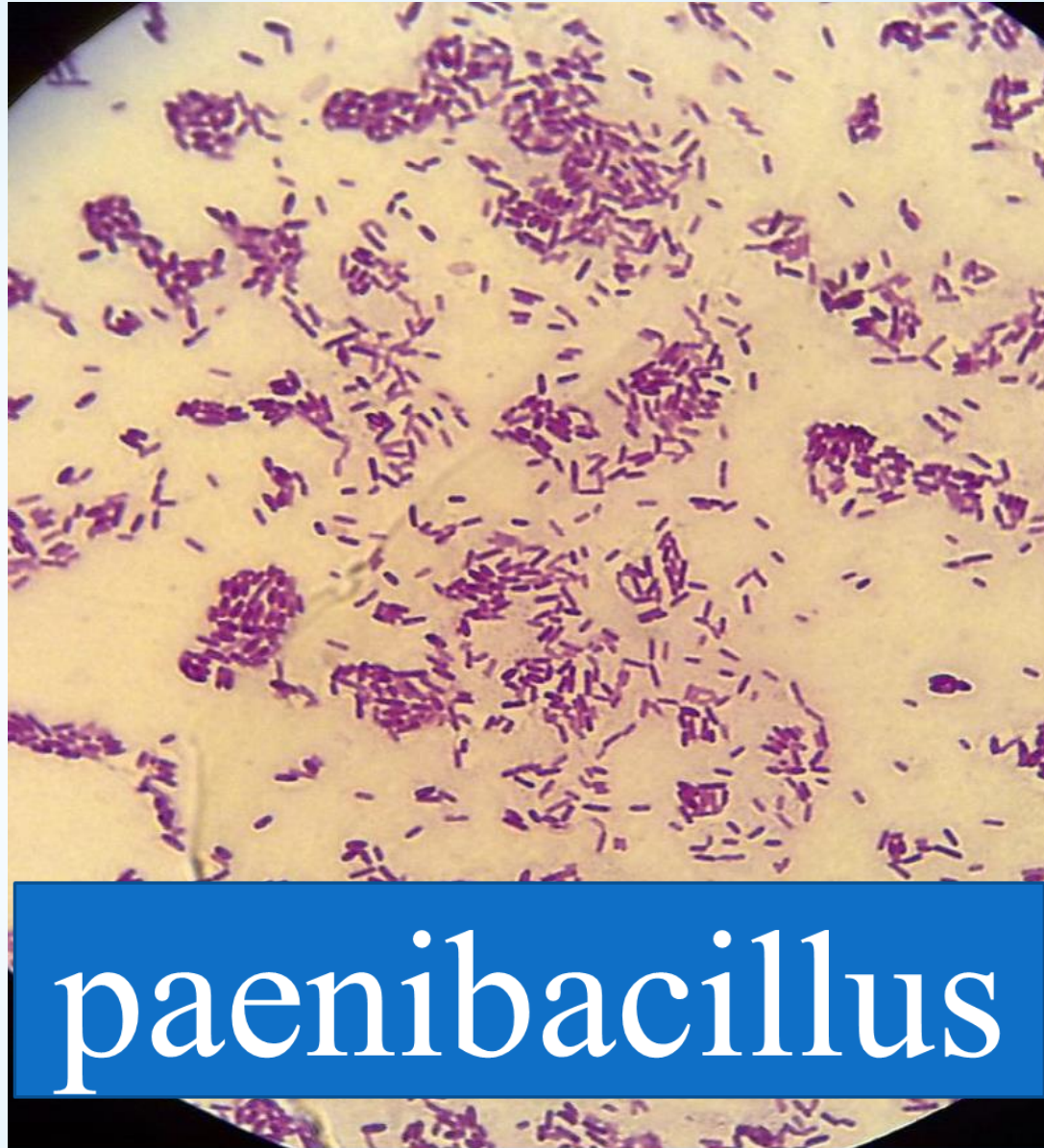
تهیه کننده : سهیلا عباسی



تهیه کننده : سهیلا عباسی



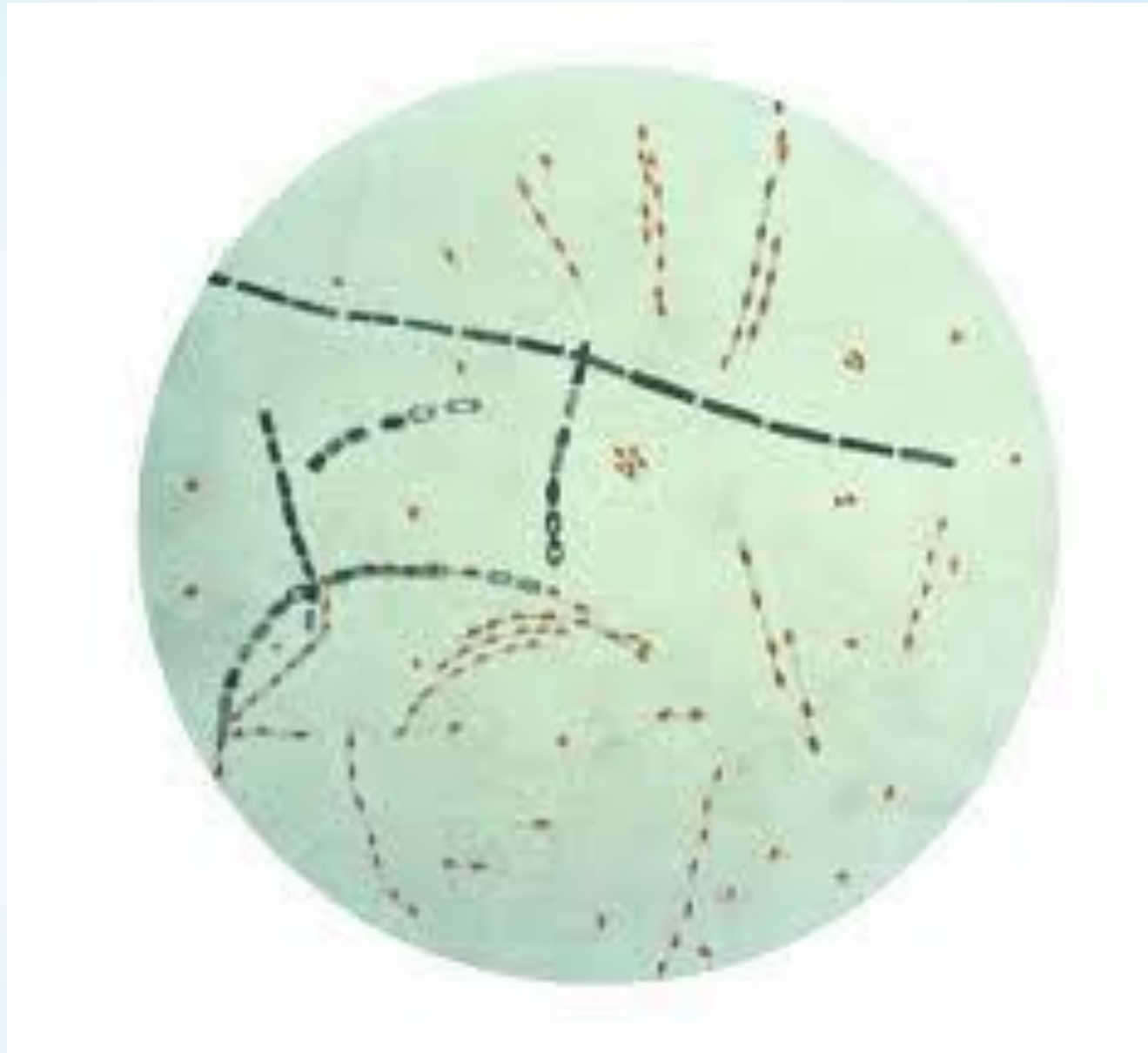
paenibacillus



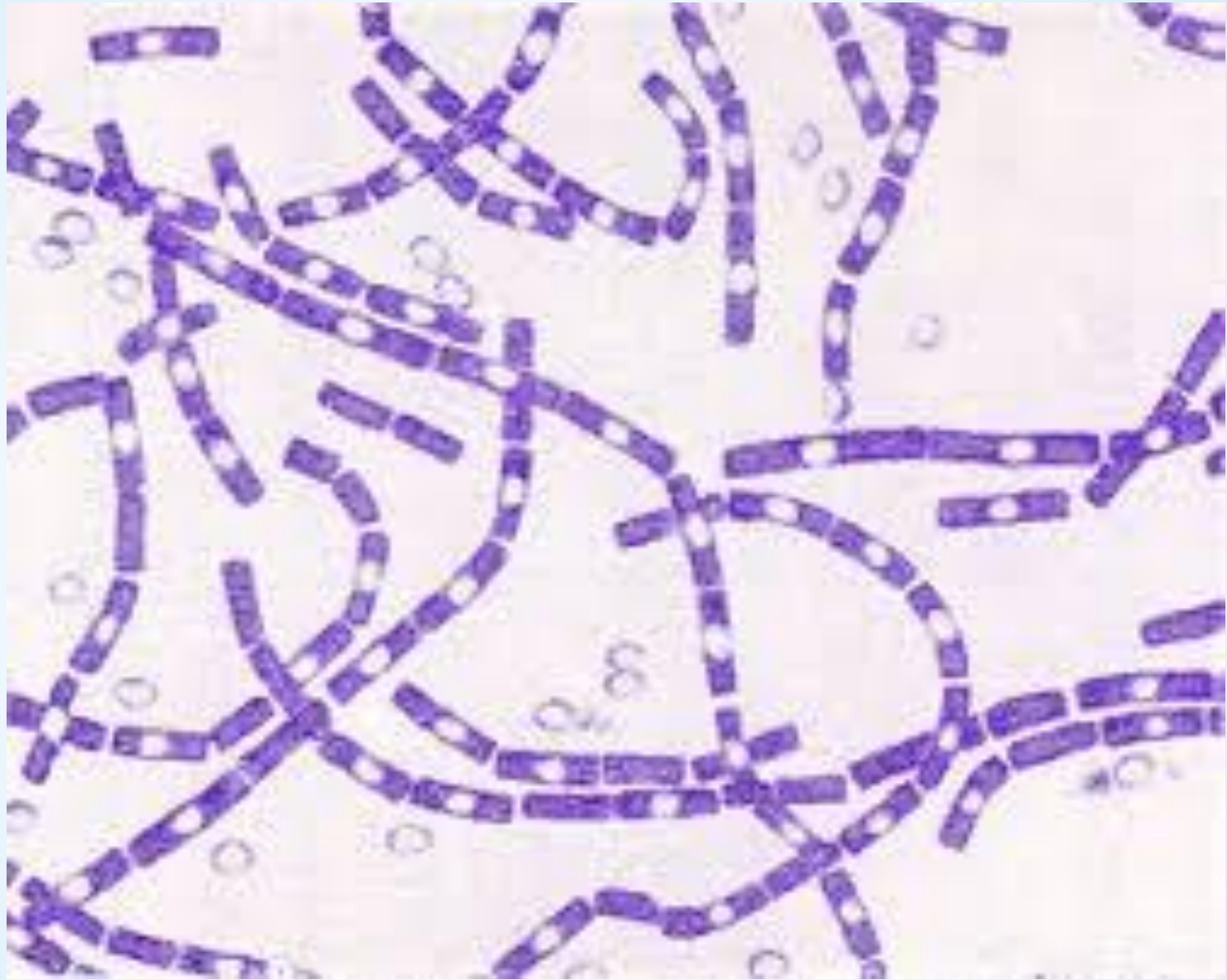


تهیه کننده : سهیلا عباسی





تهیه کننده : سهیلا عباسی



تهیه کننده : سهیلا عباسی



با سیاسی فراوان از توجه شما