



دانشگاه اصفهان

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



آزمایشگاه زیست سلولی باکتریها

رنگ آمیزی دانه های چربی

1

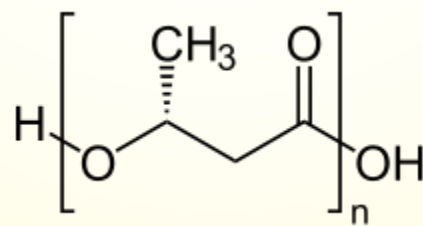
گرانول‌ها یا دیگر اندوخته‌ها اغلب در سلول‌های پروکاریوتی وجود دارند. توده‌های اندوخته‌ای به عنوان ذخایر انرژی و مخازن واحدهای ساختاری عمل می‌کنند.

توده‌های اندوخته‌ای اغلب به طور مستقیم با میکروسکوپ نوری دیده می‌شوند. و معمولاً توسط غشاهای تک لایه (غیر واحد) که آن‌ها را در سلول مجزا می‌کند احاطه شده‌اند.

ذخیره کربن یا دیگر مواد در اندوخته‌ای نامحلول برای سلول مزیت دارد، چرا که استرس اسمزی که در صورت محلول بودن همان مقدار ماده در سیتوپلاسم، می‌توانست حاصل شود را کاهش می‌دهد.

یکی از شایعترین توده‌های اندوخته‌ای در ارگانیزم‌های پروکاریوتی پلی بتا هیدروکسی بوتیریک اسید (PHB) است، لیپیدی که از واحدهای بتا هیدروکسی بوتیریک اسید ساخته شده است.

مونومرهای PHB برای ایجاد پلیمر با پیوند استری به یکدیگر متصل شده، و سپس پلیمر در گرانول‌هایی تجمع می‌یابد، این گرانول‌ها هم با میکروسکوپ نوری و هم با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده هستند.

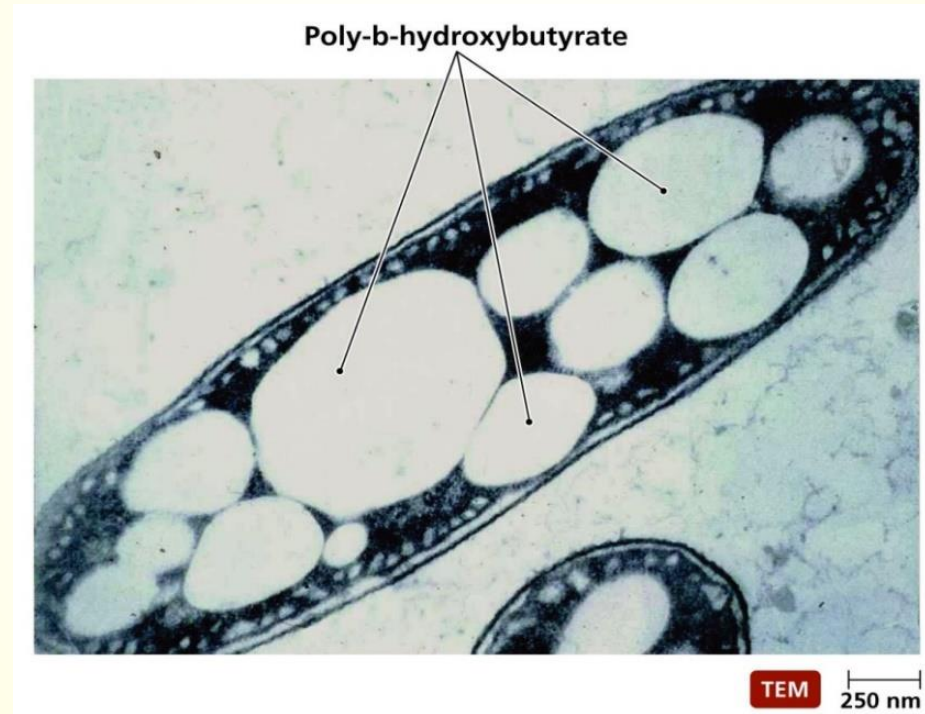


از تجمع دانه های چربی در برخی از باکتری ها دانه های شفاف و قابل مشاهده ی چربی ایجاد می گردد.

دانه های چربی در رنگ آمیزی گرم معمولاً بی رنگ باقی می مانند و ممکن است با اسپور اشتباه گرفته شوند. ولی کوچک تر از اسپورهستند و بیش از یک عدد وجود دارد و البته روش اختصاصی نیز برای رنگ آمیزی آن ها وجود دارد.

معمولاً به شکل کروی و در اندازه های مختلف وجود دارند. میل ترکیبی به رنگ های محلول در چربی دارند، ولی نسبت به رنگ های قلیایی مقاومند و رنگ نمی شوند. نسبت به رنگبری با اسید و الکل تا حدودی مقاوم می باشند.

چربی‌ها از توده‌های اندوخته‌ای هستند که در لایه‌ای از پروتئین و فسفولیپید بسته بندی می‌شوند و به صورت آزاد در سیتوپلاسم نیستند.



برخی از ارگانیس‌هایی که با استفاده از رنگ‌آمیزی سودان سیاه B قابل شناسایی هستند، عبارتند از:

- باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*)
- باسیلوس مایکوئیدس (*Bacillus mycoides*)
- ازتوباکتر بیجراینکی (*Azotobacter beijerinckii*)
- ریزوبیوم *leguminosarum*
- مایکوباکتریوم آویوم (*Mycobacterium avium*)
- مایکوباکتریوم لپرا (*Mycobacterium leprae*)
- قارچ (*fungi*)

مواد و وسایل مورد نیاز:

- ۱- کشت باکتری باسیلوس سرئوس
- ۲- کشت مخمر ساکارومايسس سرويزيه
- ۳- محلول سودان سیاه
- ۴- گزیل
- ۵- محلول سافرانین

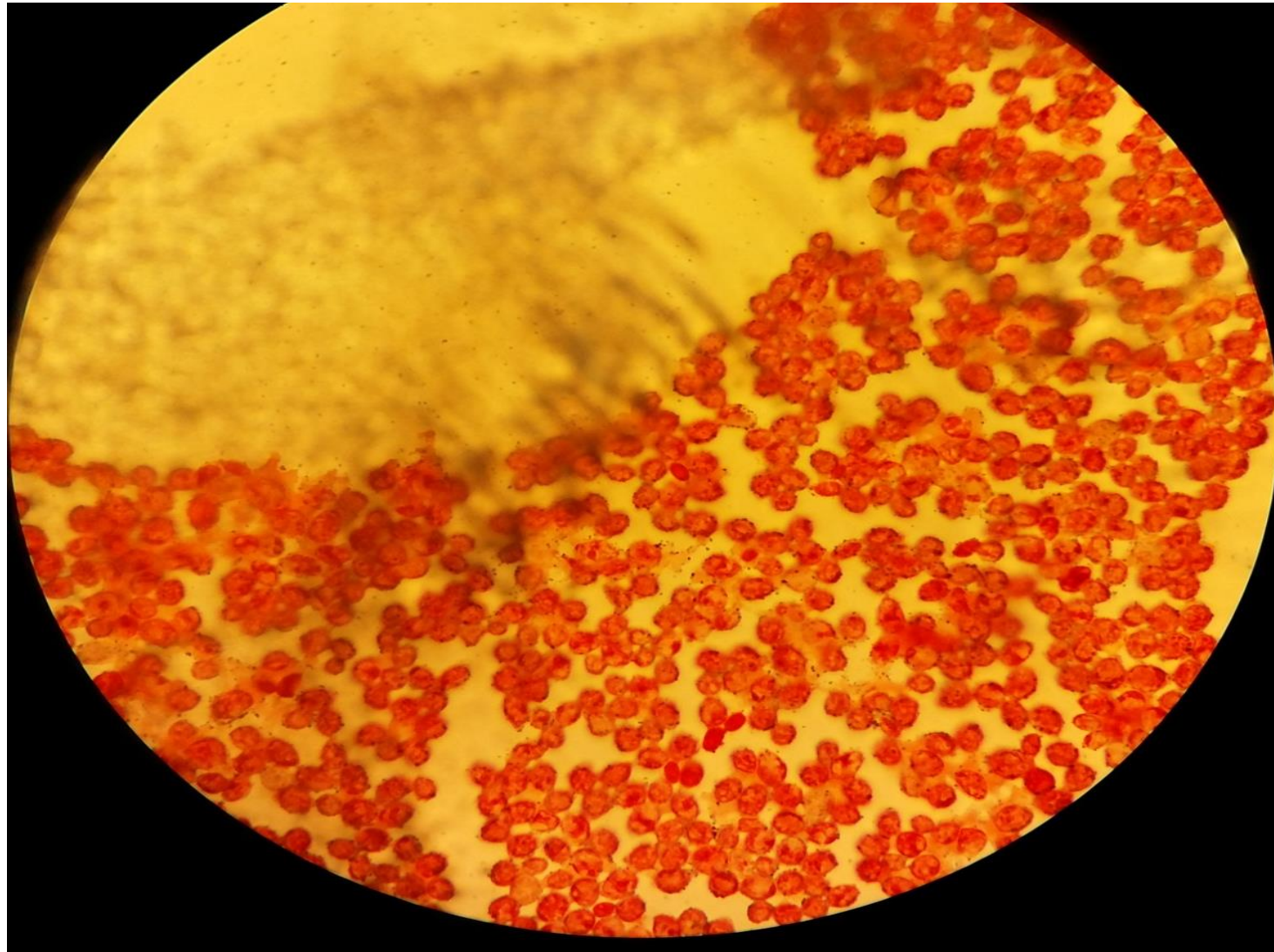
به طور معمول از باکتری باسیلوس سرئوس و ساکارومایسس و ازتوباکتر جهت رنگ آمیزی دانه‌های چربی استفاده می‌شود.

- ۱- فروتی را تهیه کرده و فیکس می‌کنیم.
- ۲- لام را به مدت ۲۰ دقیقه در رنگ سودان سیاه فرو می‌بریم.
- ۳- بدون شستشو لام را در گزلیل به مدت ۳ تا ۴ ثانیه فرو برده و بیرون می‌آوریم.
- ۴- بدون شستشو لام را به مدت ۱ دقیقه در محلول سافرانین فرو می‌بریم.
- ۵- لام را شستشو داده و خشک می‌کنیم.

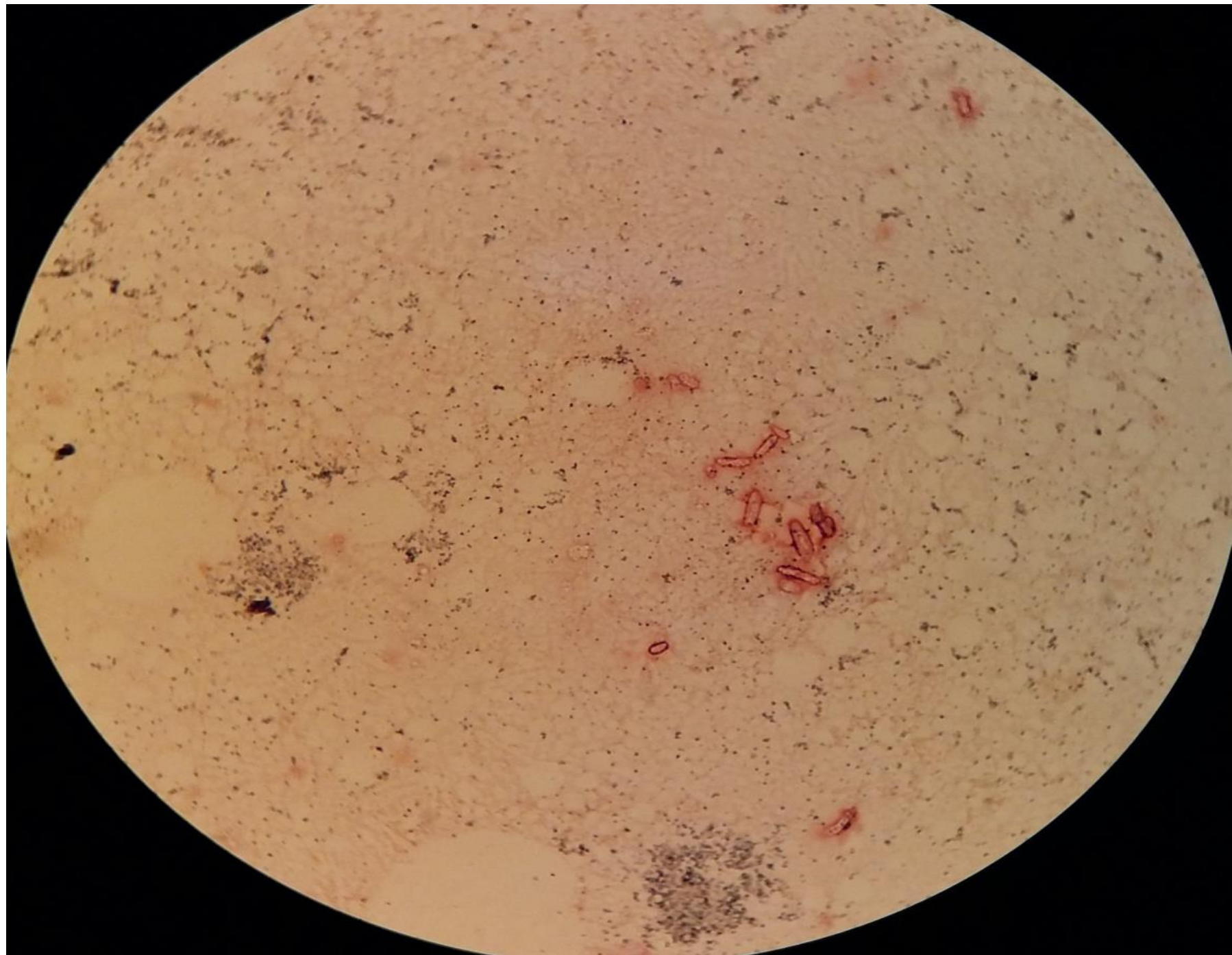
نتیجه:

دانه‌های چربی را به رنگ سیاه در داخل
باکتری‌های با رنگ قرمز مشاهده می‌کنیم.

دانه های چربی در مخمر

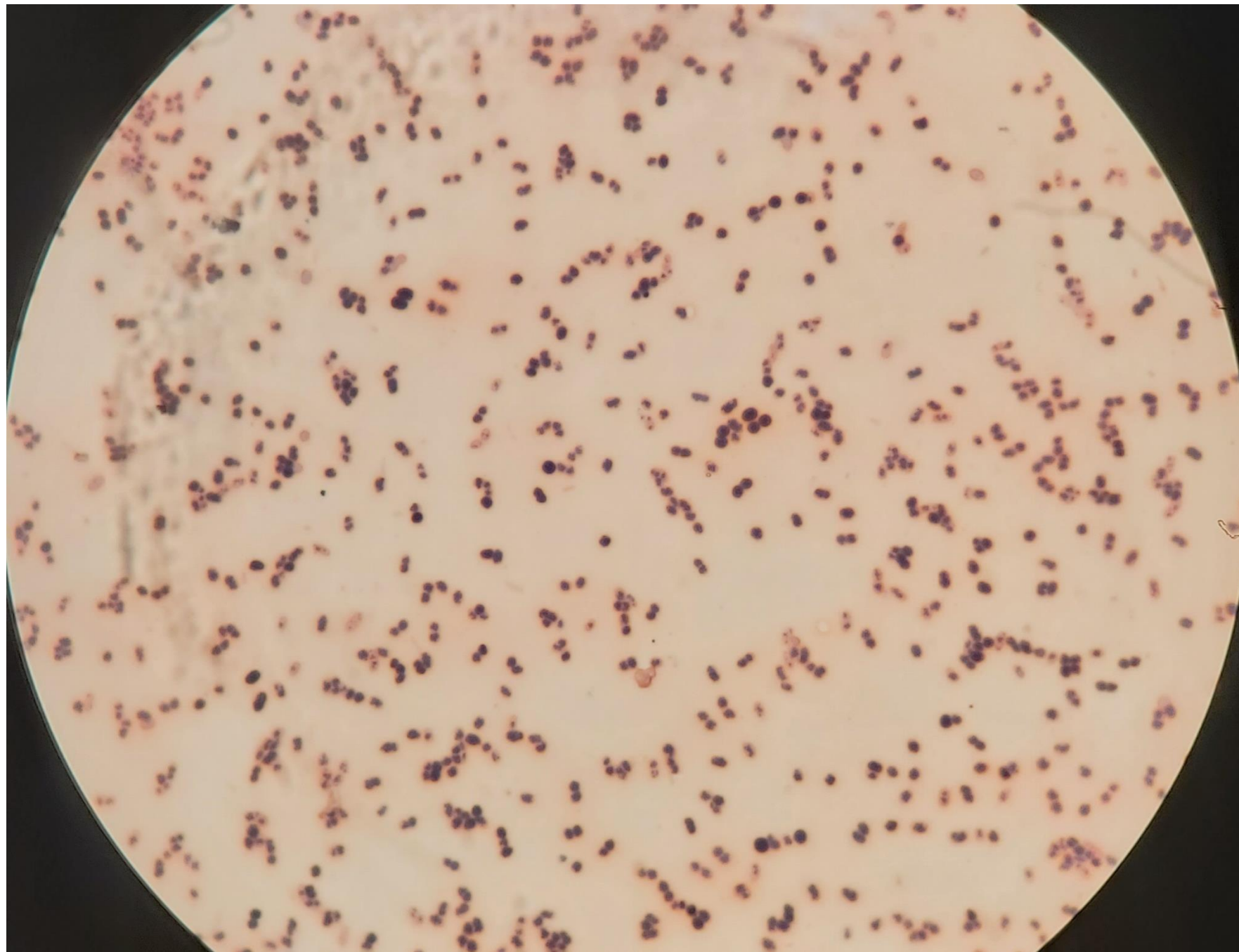


دانه های چربی
در ازتوباکتر

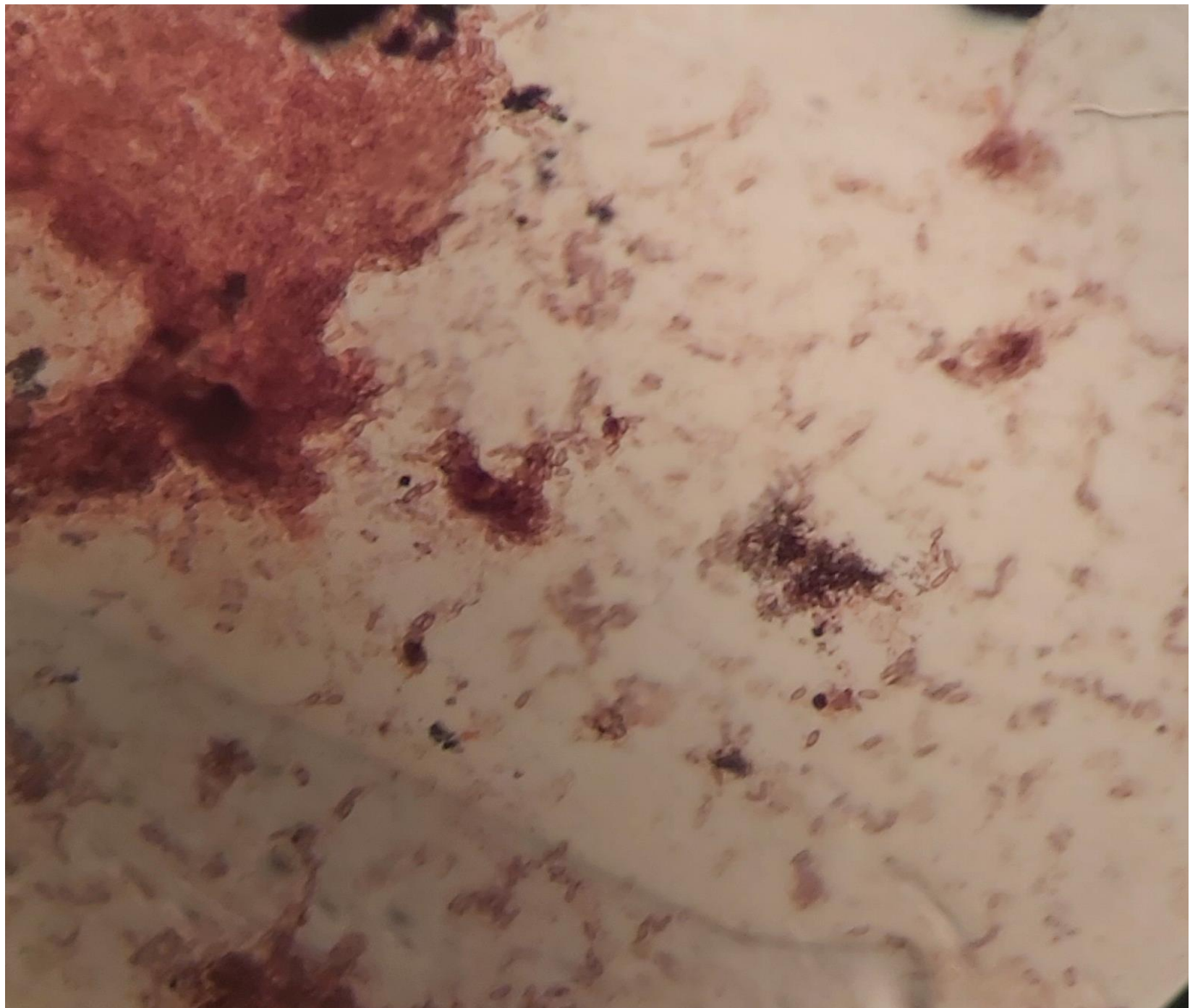




شكل ١. سودان بلك B- باسيلوس سرئوس



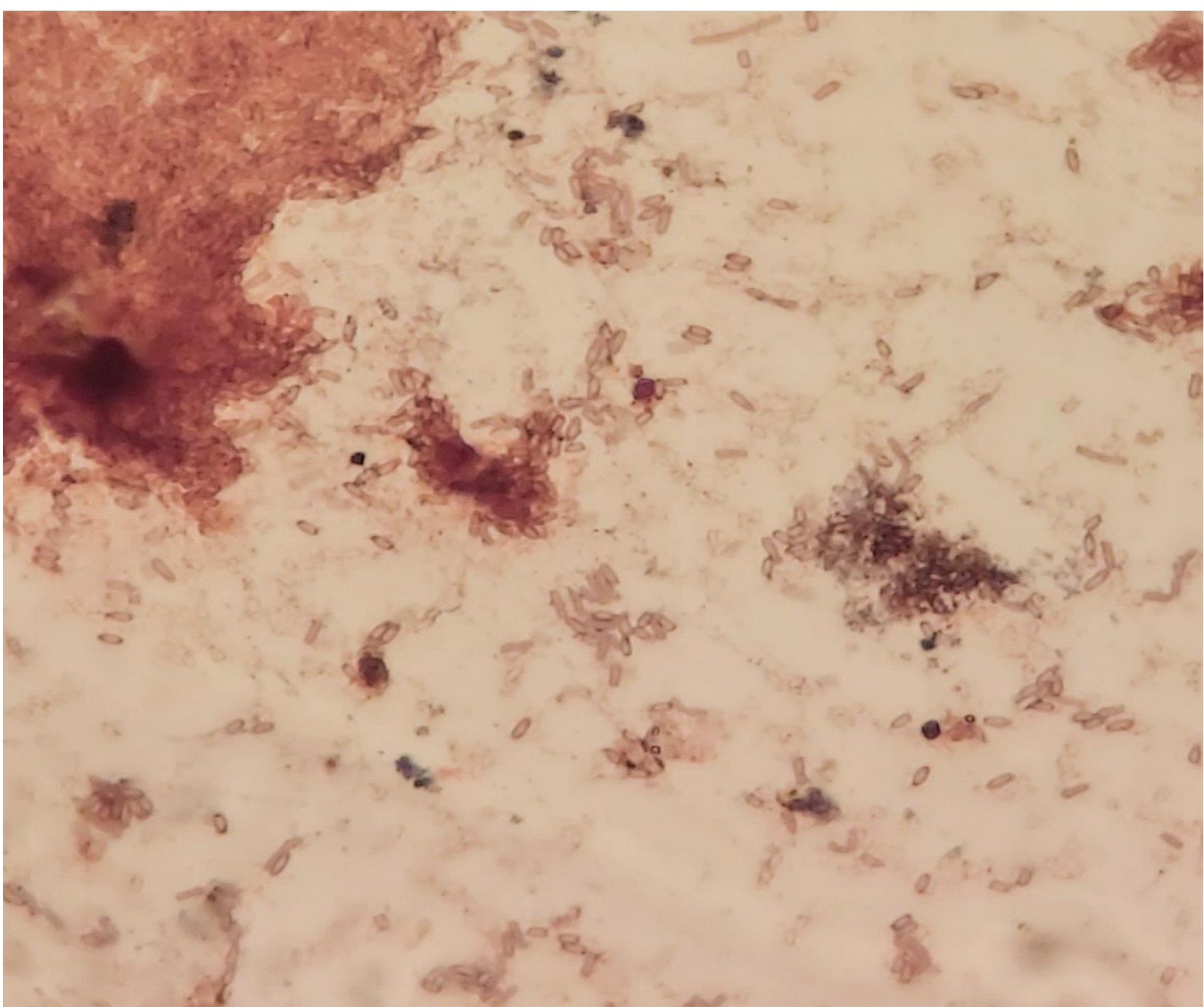
از توباکتر

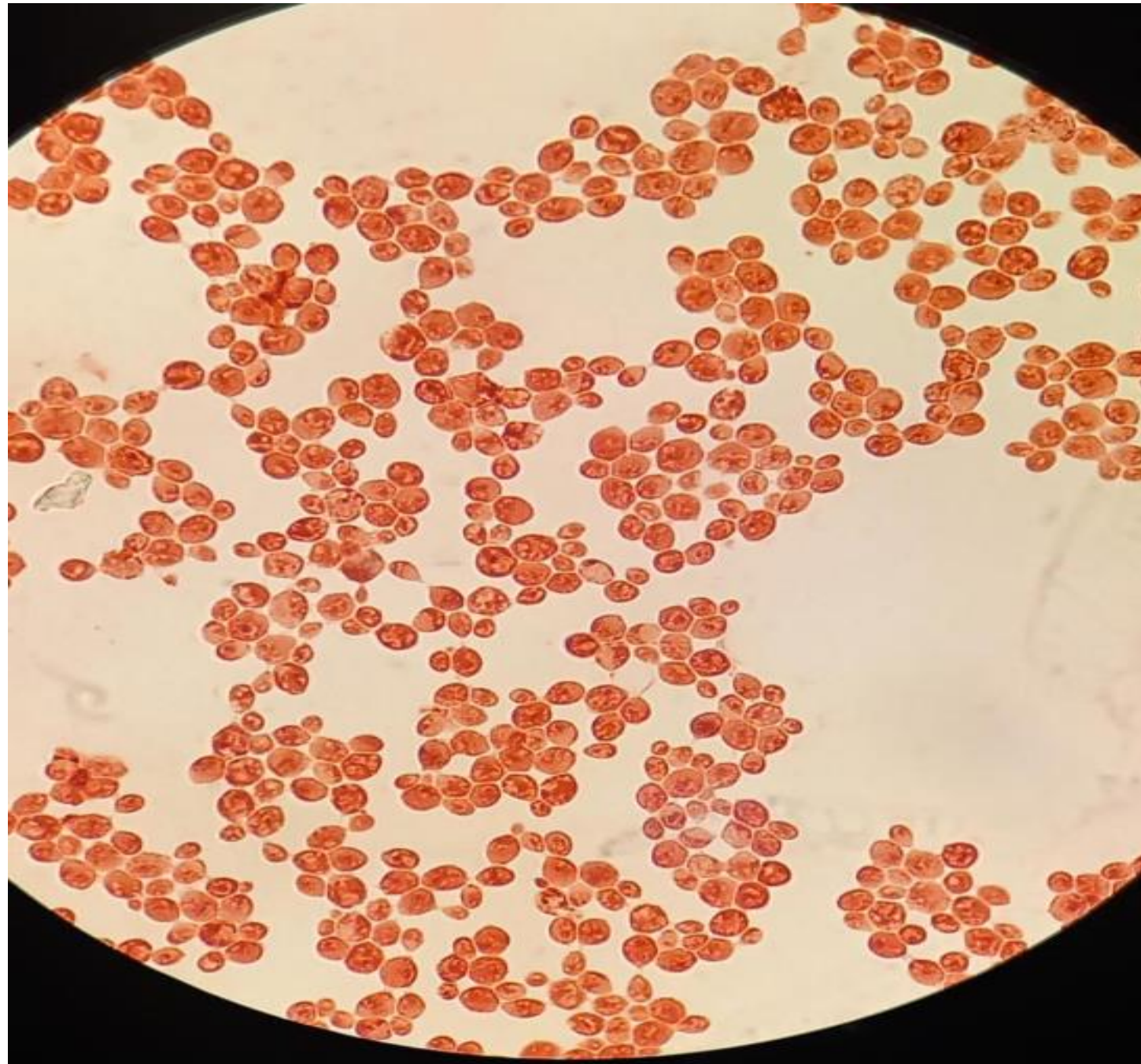


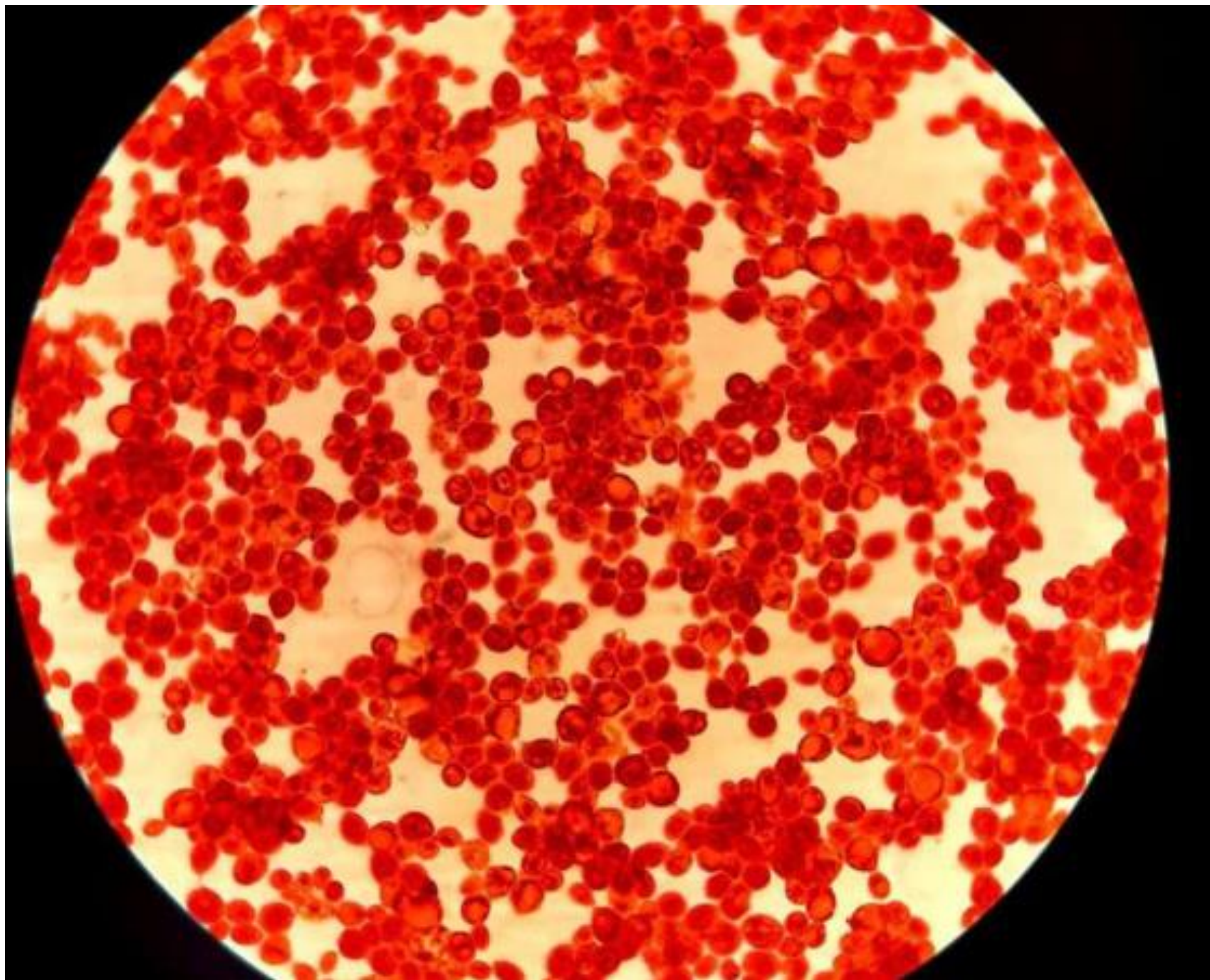
ساکاروما یسسس
سرویزیه



باسیلوس
سرئوس







از حسن توجه شما سپاسگزارم

تهیه کننده : سهیلا عباسی