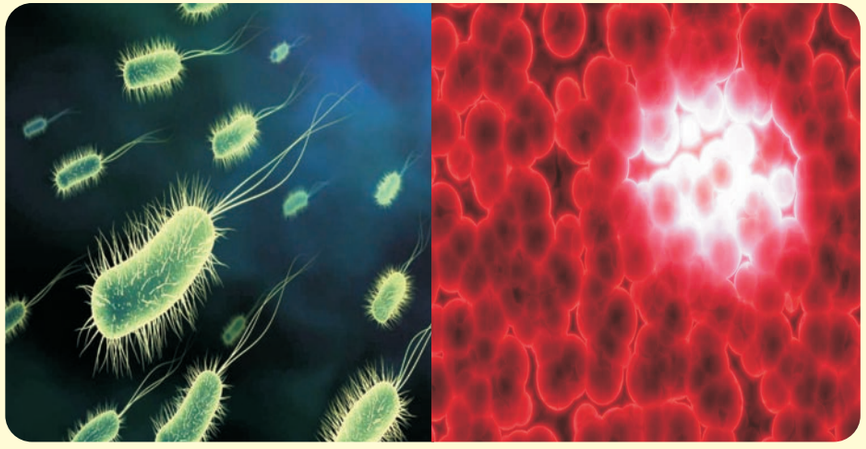
پوهنځی طب هرات

مایکروبیولوژی عمومی



دوکتور شعیب احمد شاخص

همرای سی دی

۱۳۹۱

مایکروبیولوژی عمومی

General Microbiology

دوکتور شعیب احمد شاخص

Herat Medical Faculty

AFGHANIC

Dr. Shoaib Ahmad Shakhes

General Microbiology

Funded by:
DAAD Deutscher Akademischer Austausch Dienst
German Academic Exchange Service

ISBN 978-9936-200-94-4

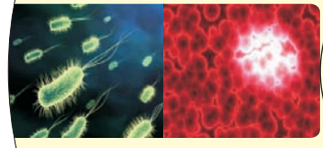
With CD

2012

مایکروبیولوژی عمومی

دوکتور شعیب احمد شاخص

AFGHANIC



In Dari PDF
2012

Herat Medical Faculty
پوهنځی طب هرات

Funded by:
DAAD Deutscher Akademischer Austausch Dienst
German Academic Exchange Service

General Microbiology

Dr. Shoaib Ahmad Shakhes

Download: www.ecampus-afghanistan.org

پوهنځی طب هرات

مایکروبیولوژی عمومی

دوکتور شعیب احمد شاخص

۱۳۹۱

نام کتاب	مایکروبیولوژی عمومی
مؤلف	دوکتور شعیب احمد شاخص
ناشر	پوهنځی طب هرات
ویب سایت	www.hu.edu.af
چاپ	مطبعه سهر، کابل، افغانستان
تیراژ	۱۰۰۰
سال	۱۳۹۱
داونلود	www.ecampus-afghanistan.org

کتاب هذا توسط انجمن همکاریهای اکادمیک آلمان (DAAD) از بودیجه وزارت خارجه فدرالی آلمان تمویل شده است.
امور اداری و تخنیکی کتاب توسط موسسه افغانیک انجام یافته است.
مسؤلیت محتوا و نوشتن کتاب مربوط نویسنده و پوهنځی مربوطه می باشد. ارگان های کمک کننـــده و تطبیق کننده مسؤل نمی باشند.

اگر میخواهید که کتابهای تدریسی طبی شما چاپ گردد، با ما به تماس شوید:
داکتر یـــحـیـی وردک ، وزارت تحصیلات عالی، کابل
دفتر: ۰۷۵۶۰۱۴۶۴۰
ایمیل: wardak@afghanic.org

تمام حقوق نشر و چاپ همرای نویسنده محفوظ است.

ای اس بي ان: 9789936200944

پیام وزارت تحصیلات عالی

در جریان تاریخ بشریت کتاب برای کسب علم و دانش نقش عمده را بازی کرده و جز اساسی پروسه درسی بوده که در ارتقای کیفیت تحصیلات دارای ارزش خاص میباشد. از اینرو باید با در نظر داشت ستندردها و معیارهای شناخته شده جهانی و ضروریات جوامع کتب و مواد درسی جدید برای محصلین آماده و چاپ گردد.

از اساتید محترم موسسات تحصیلات عالی کشور قلبا اظهار سپاس و قدردانی مینمایم که با تقبل زحمات در جریان سالهای متمادی با تالیف و ترجمه کتب درسی دین ملی خود را ادا نموده اند. از سایر اساتید و دانشمندان گرانقدر نیز صمیمانه تقاضا مینمایم که دررشته های مربوطه خود کتب و سایر مواد درسی را تهیه نمایند، تا بعد از چاپ در دسترس محصلین گرامی قرار داده شوند.

وزارت تحصیلات عالی وظیفه خود میداند تا جهت ارتقای سطح دانش محصلین عزیز کتب و مواد درسی جدید و معیاری را آماده نماید.

در اخیر از وزارت خارجه کشور آلمان، موسسه DAAD، سایر ادارات و اشخاصی که زمینه چاپ کتب طبی اساتید محترم پوهنځی های طب کشور را مهیا ساخته اند صمیمانه تشکر مینمایم.

امیدوارم که این کار سودمند ادامه یافته و به سایر بخش ها نیز گسترش یابد.

با احترام

پوهاند دوکتور عبیدالله عبید

وزیر تحصیلات عالی

کابل، ۱۳۹۱

چاپ کتب درسی پوهنځی های طب

استادان گرامی و محصلین عزیز !

کمبود ونبود کتب درسی در پوهنتون های افغانستان از مشکلات عمده به شمار میرود. محصلین و استادان با مشکلات زیاد روبرو میباشند. آنها اکثرا به معلومات جدید دسترسی نداشته و از کتاب ها و چپتر های استفاده مینمایند که کهنه بوده و در بازار به کیفیت پایین فوتوکاپی میگردد.

برای رفع این مشکلات در دو سال گذشته ما چاپ کتب درسی پوهنځی های طب پوهنتون ها ی کشور را آغاز نمودیم وتا اکنون ۲۰ عنوان کتب درسی را چاپ نموده و به تمام پوهنځی های طب افغانستان ارسال نموده ایم.

این در حالی است که پلان ستراتیژیک وزارت تحصیلات عالی (۲۰۱۰ – ۲۰۱۴) کشور بیان می دارد:

« برای ارتقای سطح تدریس، آموزش و آماده سازی معلومات جدید ، دقیق وعلمی برای محصلان، باید برای نوشتن و نشر کتب علمی به زبان های دری و پشتو زمینه مساعد گردد. برای ریفورم در نصاب تعلیمی ترجمه از کتب و مجلات انگلیسی به دری و پشتو حتمی و لازمی میباشد. بدون امکانات فوق ناممکن است تا محصلان و استادان در تمامی بخش ها به پیشرفت های مدرن و معلومات جدید زود تر دسترسی بیابند.»

استادان و محصلین پوهنځی های طب با مشکلات زیاد مواجه اند. تدریس به میتود کهنه ،عدم دسترسی به معلومات و مواد جدید درسی و استفاده از کتب و چپتر های که به کیفیت بسیار پایین در بازار دریافت میگردد از جمله مشکلات عمده در این راستا میباشد. باید آن عده از کتاب هاییکه توسط استادان تحریر گردیده اند جمع آوری و چاپ گردند. با درنظرداشت حالت بحرانی کشور جنگ زده، ما به دوکتوران ماهر و ورزیده نیاز داریم تا بتوانند در بهبود و ارتقای تحصیلات طبی و صحت عامه در کشور سهم فعال بگیرند. از اینرو باید توجه زیادتر برای پوهنځی های طب جلب گردد.

تا به حال ما به تعداد ۲۰ عنوان کتب مختلف طبی برای پوهنځی های طب ننگرهار، خوست، هرات، کندهار، بلخ هرات و کابل را چاپ نموده ایم و پروسه چاپ ۵۰ عنوان دیگر جریان دارد که یک نمونه آن همین کتابی است که فعلا در دسترس شما قرار دارد. قابل یاد آوری است که تمام کتب چاپ شده مذکور بصورت مجانی برای پوهنځی های طب کشور توزیع گردیده اند.

به اثر درخواست وزارت محترم تحصیلات عالی، پوهنتون ها، استادن محترم ومحصلین عزیز در آینده می خواهیم این پروگرام را به بخش های غیر طبی (ساینس، انجنیری، زراعت و سایر بخش ها) و پوهنځی های دیگر هم توسعه دهیم و کتب مورد نیاز پوهنتون ها و پوهنځی های مختلف را چاپ نماییم.

از آنجاییکه چاپ نمودن کتب درسی یک پروژه پروگرام ما بوده، بخش های کاری دیگر ما بطور خلاصه قرار ذیل اند:

۱ چاپ کتب درسی طبی

کتابی که در اختیار شما است، نمونه از فعالیت های ما میباشد. ما میخواهیم که این روند را ادامه دهیم تا بتوانیم در زمینه تهیه کتب درسی با پوهنتون های کشور همکاری نماییم و دوران چپتر و لکچرنوت را خاتمه دهیم و نیاز است تا برای موسسات تحصیلات عالی کشور سالانه به تعداد ۱۰۰ عنوان کتاب درسی چاپ گردد.

۲. تدریس با میتود جدید و وسایل پیشرفته

در جریان سال ۲۰۱۰ توانستیم در تمام صنوف درسی پوهنځی های طب بلخ، هرات، ننگرهار، خوست و کندهار پروجیکتورها را نصب نماییم. برای ایجاد محیط مناسب درسی باید تلاش گردد که تمام اطاق های درسی و کنفرانس و لابراتوارها مجهز به مولتی میدیا، پروجکتور و سایر وسایل سمعی و بصری گردند.

۳. ارزیابی ضروریات

وضعیت فعلی (مشکلات موجوده و چلنج های آینده) پوهنځی های طب باید بررسی گردد و به اساس آن به شکل منظم پروژه های اداری، اکادمیک و انکشافی به راه انداخته شوند.

۴. کتابخانه های مسلکی

باید در تمام مضامین مهم و مسلکی کتب به معیارهای بین المللی به زبان انگلیسی خریداری و به دسترس کتابخانه های پوهنځی های طب قرار داده شود.

۵. لابراتوارها

در پوهنځی های طب کشور باید در بخش های مختلف لابراتوارهای فعال وجود داشته باشد.

۶. شفاخانه های کدری

هر پوهنځی طب کشور باید دارای شفاخانه کدری باشد و یا در یک شفاخانه شرایط برای ترینینگ عملی محصلین طب آماده گردد.

۷. پلان ستراتیژیک

بسیار مفید خواهد بود که هر پوهنځی طب در چوکات پلان ستراتیژیک پوهنتون مربوطه خود دارای یک پلان ستراتیژیک پوهنځی باشد.

از تمام استادان محترم خواهشمندیم که در بخش های مسلکی خویش کتب جدید تحریر، ترجمه و یا هم لکچرنوت ها و چپتر های خود را ایدیت و آماده چاپ نمایند. بعدا در اختیار ما قرار دهند، تا به کیفیت عالی چاپ و به شکل مجانی به دسترس پوهنځی های مربوطه، استادان و محصلین قرار داده شود.

همچنان در مورد نکات ذکر شده پیشنهادات و نظریات خود را به آدرس ما شریک ساخته تا بتوانیم مشترکاً در این راستا قدم های مؤثرتر را برداریم.

ازمحصلین عزیز نیز خواهشمندیم که در امور ذکر شده با ما و استادان محترم همکاری نمایند.

از وزارت محترم خارجه آلمان و مؤسسه DAAD (همکاری های اکادمیک آلمان) اظهار سپاس و امتنان مینماییم که تااکنون چاپ ۹۰ عنوان کتب طبی درسی را به عهده گرفته که از آن جمله پروسه چاپ ۵۰ عنوان آن جریان دارد. از پوهنځی طب پوهنتون ماینز آلمان (Mainz/Germany) و استاد پوهنځی مذکور دوکتور زلمی توریال ، Dieter Hampel و موسسه افغانیک نیز تشکر میکنیم که در امور اداری و تخنیکی چاپ کتب با ما همکاری نمودند.

بطور خاص از دفاتر جی آی زیت (GIZ) و CIM (Center for International Migration and Development) یا مرکز برای پناهنده گی بین المللی و انکشاف که برای من امکانات کاری را طی دو سال گذشته در افغانستان مهیا ساخته، است اظهار سپاس و امتنان مینمایم.

از دانشمند محترم پوهاند دوکتور عبیدالله عبید وزیر تحصیلات عالی، محترم پوهنوال محمد عثمان بابری معین علمی وزارت، محترم پوهندوی دوکتور گل حسن ولیزی معین اداری و مالی، روسای محترم پوهنتون ها، پوهنځی های طب و استادان گرامی تشکر مینماییم که پروسه چاپ کتب درسی را تشویق و حمایت نمودند.

همچنان از همکاران محترم دفتر هرکدام دوکتور محمد یوسف مبارک، عبدالمنیر رحمانزی، احمد فهیم حبیبی، سبحان الله و همت الله نیز تشکر مینمایم که در قسمت چاپ نمودن کتب همکاری نمودند.

داکتر یحیی وردک، وزارت تحصیلات عالی
کابل، نومبر سال ۲۰۱۲ م
نمبر تیلیفون دفتر: ۰۷۵۲۰۱۴۲۴۰
ایمیل آدرس: wardak@afghanic.org
textbooks@afghanic.org

مجموعه بسیار ناچیزی است

تقدیم به

همسر گرامی ام که در تهیه و ترتیب این کتاب یاری ام نمودند

پیشگفتار:

از آنجایی که پوهنځی علوم وترنری از جملهٔ پوهنځی های نو بنیاد پوهنتون هرات می باشد و کمبود و حتی نبود کتب درسی مشکلی در سر راه استادان و محصلین این رشته علمی است کوشش بعمل آمد تا کتاب حاضر را تحت عنوان مایکروبیولوژی عمومی تألیف نمایم.

اگر مایکروبیولوژی امروزی را با ۱۳۰ سال قبل یعنی اولین تحقیقات انجام شده توسط پاستور و کوچ که ماهیت امراض ساری را روشن ساخت مقایسه کنیم، متوجه خواهیم شد که این علم انکشاف عظیمی نموده است.

انکشاف سریع مایکروبیولوژی در سال های اخیر و به کار بردن تکنیک های جدید علمی در این عرصه نه تنها شناسایی علل و جلوگیری امراض ساری را در جمعیت های انسانی، حیوانی و نباتی میسر ساخته است، بلکه قسمت های عمده یی از بیولوژی حجره خصوصاً مسائل جنیتیک را روشن نموده است به طوری که این مضمون حالا موقعیت مرکزی را در کریکولم طب انسانی و حیوانی تصرف نموده است.

کتاب حاضر شامل مطالبی در مورد اهمیت، ساختمان، میتابولیزم، فیزیولوژی، جنیتیک، طبقه بندی مایکروارگانیزم ها و همچنان رهنمای کار عملی در لابراتوار مایکروبیولوژی می باشد. موضوعات مندرج در این کتاب به روز بوده و کوشش بعمل آمده تا هر چه ساده تر بیان گردد تا برای محصلین عزیز قابل فهم باشد.

بدیهی است با همه سعی و کوششی که در تدوین این کتاب به کار رفته است، نمی تواند خالی از نقایص باشد که امید است با رهنمایی شما خواننده عزیز در چاپ های بعدی بر طرف گردد. لازم به یادآوری است که مطالب این کتاب به یک رشته تحصیلی خاص تعلق ندارد و به نحو قابل استفاده یی برای رشته های تحصیلی مختلف مانند طب انسانی، طب حیوانی (وترنری) ، بیوتکنالوژی، زراعت، و بیولوژی تدوین گردیده است.

امید می رود که محتوی این کتاب محصلین را در آموختن بیولوژی در این سطح کمک نماید.

داکتر شعیب احمد شاخص

حوت ۱۳۹۰

فهرست مطالب

عنوان.....صفحه

فصل اول: علم مایکروبیولوژی..... ٤
تاریخچه مختصر مایکروبیولوژی..... ٤
هدف و ارتباط مایکروبیولوژی ١٤
ارگانیزم های یک حجروی و جایگاه شان در طبقه بندی موجودات حیه..... ١٧
حجره (Cell)..... ١٧
تئوری حجره (Cell theory) ١٧
Protozoa ٢١
Algae..... ٢١
Fungi..... ٢٢
Bacteria..... ٢٢
باکتریاهای بدون دیوارحجروی (Mycoplasma) ٢٢
باکتریاهای که زندگی داخل حجروی اجباری د ارند ٢٢
Rikettsiae ٢٢
Chlamydia..... ٢٣
وایروس ها (Viruses) ٢٣
Viroids ٢٤
Prions..... ٢٥
تقسیمات مایکروبیولوژی..... ٢٧
منابع..... ٣١
فصل دوم: ساختمان باکتریاها ٣٣
اندازه، شکل و ترتیب باکتریاها ٣٣
دیوار حجروی (Cell wall)..... ٣٧
غشای سایتوپلازمی (Cytoplasmic membrane) ٤٠
سایتوپلازم (Cytoplasm) ٤٠
محتویات داخل سایتوپلازم..... ٤٠
Ribosome ٤٠
Mesosome..... ٤١
Inclusion bodies..... ٤١
مواد هستوی (Nuclear material or Nucleoid)..... ٤١
ضمایم ساختمانی حجره باکتریاها..... ٤٣
(Slime Layer) Bacterial Slime ٤٣
کپسول (Capsule) ٤٣
Flagellum..... ٤٤
Fimbriae..... ٤٦
اسپور(Endospore) ٤٦

منابع ٤٨
فصل سوم: میتابولیزم باکتریاها ٥٠
انرژی(Energy) ٥١
رول انزایم ها در تولید انرژی ٥١
Exoenzymes ٥٢
Endoenzymes ٥٣
دسته بندی انزایم ها ٥٣
ساختمان انزایم ٥٤
میکانیزم عمل انزایم ٥٥
Bacterial photosynthesis ٥٧
Chemosynthesis ٥٨
شیمو اورگانوتروف ها (Heterotrophs) ٥٩
واکنشهای میتابولیکی (Metabolic reactions) ٥٩
تولید انرژی توسط پروسه های غیر هوازی ٦٢
Glycolysis ٦٢
تخمیر (Fermentation) ٦٥
تولید انرژی توسط پروسه های هوازی ٦٧
تنفس (Respiration) ٦٧
سایکل کربس (Tricarboxylic acid cycle) ٦٧
سیستم انتقال الکترون (Electron transport system) ٦٩
Chemiosmosis ٦٩
تنفس بی هوازی (Respiration without oxygen) ٧٠
منابع ٧١
فصل چهارم: فیزیولوژی باکتریاها ٧٣
نیازهای تغذیه یی مایکروارگانیزم ها ٧٤
تکثر در باکتریاها ٧٧
معیاد تکثر مایکروارگانیزم ها(Generation time) ٧٨
محاسبه تکثر مایکروارگا نیزم ها ٧٨
رشد باکتریاها در کشت بسته(Bacterial Growth in Batch Culture) ٧٩
کشت پیوسته یا باز(Continuous culture) ٨١
شرایط فزیکی مناسب برای تکثر مایکروارگانیزم ها ٨١
محیط های کشت جهت رشد باکتریاها ٨٥
تعین مقدار و شمارش باکتریاها(Viable Count) ٨٨
حرکت باکتریاها ٩١
معاینه حرکت باکتریاها ٩١
منابع ٩٤
فصل پنجم: جنیتیک باکتریاها ٩٦
همانند سازی DNA باکتریاها ٩٧
Plasmids ٩٩
Bacteriophages ١٠٠
میکانیزم هایی که در تغییرات جنتیکی اشتراک دارند ١٠٠
Mutation ١٠١

Genetic Recombination..... ۱۰۱
Conjugation..... ۱۰۱
Transduction ۱۰۴
Transformation (دگرگونی) ۱۰۴
Transposons ۱۰۵
منابع ۱۰۶
فصل ششم: رهنمای عمومی کار در لابراتوار مایکروبیولوژی..... ۱۰۷
روش های مورد استفاده جهت مشاهده باکتریاها..... ۱۰۹
استفاده از مایکروسکوپ و کار روزمره با آن..... ۱۰۹
مایکروسکوپ زمینه روشن (Bright- filed microscope)..... ۱۱۷
مایکروسکوپ زمینه تاریک (Dark- field microscope) ۱۱۷
Fluorescence microscope..... ۱۱۸
Phase-contrast microscope..... ۱۱۸
Electron microscope ۱۱۸
مواظبت از مایکروسکوپ ۱۱۹
روش های رنگ آمیزی یا تلوین مایکروارگانیزم ها..... ۱۲۰
تلوین ساده(Simple staining)..... ۱۲۰
طریقه تهیه اسمیر(Smear) ۱۲۲
رنگ آمیزی گرام ۱۲۳
رنگ آمیزی اسید فاست..... ۱۲۵
رنگ آمیزی زیل نیلسن (Zeihl Neelsen)..... ۱۲۶
منابع ۱۲۹
فصل هفتم: طبقه بندی باکتریاها..... ۱۳۰
طبقه بندی بر اساس خواص جنتیکی ۱۳۱
DNA base compositions ۱۳۱
DNA Hybridization..... ۱۳۲
سیستم نامگذاری باکتریاها (Bacterial Nomenclature) ۱۳۲
منابع ۱۳۸
فصل هشتم: فنجی ها..... ۱۳۹
ساختمان فنجی ها ۱۴۰
تکثر فنجی ها (Reproduction of Fungi) ۱۴۱
طبقه بندی فنجی ها ۱۴۲
Division Zygomycota ۱۴۲
Division Ascomycota..... ۱۴۳
Division Basidiomycota..... ۱۴۵
Division Deuteromycota (Fungi Imperfecti) ۱۴۵
منابع ۱۴۶

فصل اول

علم مایکروبیولوژی (MICROBIOLOGY)

اصطلاح مایکروبیولوژی از سه جزء Micros به معنی کوچک، Bios به معنی زندگی و Logy علم یا مطالعه تشکیل یافته است. کلمه Microbe یا Germ که امروزه به جای آن بیشتر Microorganism بکار برده می شود. اصطلاح جرم یا مایکروب اولین بار توسط عالمی به نام Sedillot در سال ۱۸۷۸ مورد استفاده قرار گرفته و شامل گروهی از موجودات زنده بسیار کوچک هستند که با چشم غیر مسلح قابل دید نیستند و برای دیـدن آنها باید از مایکروسکوپ استفاده کرد و به همین دلیل به آنها موجودات ذره بینی هم می گویند.

مایکروبیولوژی علمی است که از شکل، ساختمان، فزیولوژی، میتابولیزم و کلیه خواص موجودات زنده ذره بینی بحث می کند و رابطه این موجودات را در مورد برخی از امراض انسان، حیوانات و نباتات و همچنین تخمر و تجزیه مواد آلی مورد برسی قرار می دهد. در این علم از کاربرد وسیع مایکروارگانیزم ها در زمینه های صنایع مختلف و زراعت نیز صحبت به میان می آید.

تاریخچه مختصر مایکروبیولوژی:

مایکروبیولوژی نه تنها یک شعبه مهم بیولوژی را تشکیل می دهد بلکه به همان اندازه یک شعبه جوان و مهم علوم طبیعی نیز می باشد. در گذشته چنین فکر می شد که مایکروبیولوژی از بیولوژی و مارفولوژی یک تعداد جانداران کوچک که با چشم غیر مسلح دیده نمی شوند و نزد انسان ها، حیوانات و نباتات امراض مدحش را تولید می دارند، بحث می کند. ولی باید دانست که همه این جانداران کوچک مضر نیستند و اکثر آنها برای خدمت و منفعت انسان ها خلق شده اند. تاریخ باکتریولوژی بر می گردد به اوایل هستی و پیدایش انسان ها در روی کرهٔ زمین زیرا همیشه کوشش های انسان بر این بوده تا خود را از

امراض ساری حفاظت نماید. با این که مایکروب ها همیشه با انسان ها به طریقه ها و اشکال متفاوت به شمول غذا اشتراک داشته اند ولی باز هم انسان ها تا مدت زمان زیادی هیچ نوع شناختی در مورد این موجودات ذره بینی نداشتند و معتقد بر این بودند که شیوع امراض از جانب خداوند است و امراض را بلای آسمانی خطاب می نمودند. به طور مثال مرض اپیدمیک وبا (cholera) باعث شکست امپراطور روم (۵۰۰ سال قبل از میلاد) گردید که روزانه باعث تلفات ۱۵۰۰۰ نفر در استانبول می گردید و همچنین مرض وبا در قرن وسطی از جهیل بیکال نشأت نمود و به نام مرگ مفاجات یا black dead به اروپا سرایت نمود و باعث تلفات ۲۵ ملیون انسان شد. در قدیم جزام (leprosy) خطرناک ترین مرض ساری مطرح بود و انتشار آن از اثر تماس مستقیم با افراد مصاب صورت می گرفت ازینرو بعضی روش ها برای جدا سازی افراد مصاب به مرض بوجود آمد. در آن زمان تئوری های مختلفی در قسمت پیدایش و یا طرز بوجود آمدن امراض گفته شده بود که برخی از این تئوری ها قرار ذیل است:

۱- Theurgical theory:

پیروان این تئوری معتقد براین بودند که شیوع امراض منشأ خدایی دارد و بلای آسمانی می باشد که ارتباط می گیرد به انسان هایی که آلوده به معاصی می باشند.

۲- Miastamic theory:

این تئوری توسط Hippocrates پیشنهاد شد و بعداً توسط شاگرد وی یعنی Galen انکشاف داده شد. او اظهار داشت که امراض از زمین و قوت های طبیعی گوناگون دیگری چون آفتاب، آب، آتش و غیره منشأ می گیرند.

۳- Pore theory: (این تئوری زیاد مهم نمی باشد)

ابن سینا از برجسته ترین محققین افغان که طبیب و فیلسوف بود، شمرده می شود که به نام Avicenna در کتب لاتین معرفی شده است. وی به سال ۹۸۰ میلادی در ولایت بلخ چشم به جهان گشود. او اظهار داشت که تمام امراض توسط جانداران کوچک حاصل می شوند که متأسفانه به چشم دیده نمی شوند. مفکوره انکشاف مایکروبیولوژی وقتی صورت گرفت که Antony

Van Leeuwenhoek (۱۶۳۲-۱۷۲۳) مشاهدات و مطالعات خود را در ساحه مایکروبیولوژی شروع کرد. او در شهر Delft هالند به دنیا آمد که فرزند یک سبدساز بود. بعداً شاگرد یک تاجر کتان شد و در زیر دست وی چگونگی تولید و فروش پارچه را آموخت و به حرفه پارچه فروشی مشغول و در عین حال به کار تحقیق پرداخت. او با مایکروسکوپ های ابتدایی و دست ساز خود کار می کرد و هر چند وی احتمالاً نخستین کسی نبود که موفق به دیدن مایکروب ها شد، ولی به یقین نخستین شخصی بود که مشاهدات خود را بصورت درست و مصور ارائه داد. او در طی زندگی خود مایکروسکوپ های زیادی ساخت. وی عدسیه ها را روی پایه های مسی، نقره ای و یا طلایی قرار می داد که با این مایکروسکوپ های دستی خود عالم مخلوقات غیرمرئی را مشاهده نمود و نام آنها را حیوانات بسیار کوچک (very little animalcules) گذاشت. در سال ۱۶۷۴ تصاویری را در مورد کشفیات خود به شکل یک نشریه تحت عنوان اسرار طبیعت به جمعیت شاهی لندن فرستاد. مایکروسکوپ وی یک جسم کوچک را ۲۷۰-۴۰ مرتبه بزرگتر نشان می داد. او به اشکال ترسیم شده اسامی Cocci ، Bacilli و Spirillum را داده بود.

رابرت هوک و نظریه حجروی:

رابرت هوک Robert Hooke که در تکامل مایکروسکوپ و فایده مندی آن دست داشت به نمایش و کاربردهای جدید و متنوع مایکروسکوپ پرداخت که باعث شد این وسیله به عنوان ابزار تحقیق مورد پذیرش همه بیالوژیست ها قرار گیرد. مهمترین اثر هوک بنام Micrographia (ذره نگاری) یاد می شود. در این اثر وی چهار مفهوم مهم بنیادی ارائه می شود که یکی از این مفاهیم مشاهده یک برش چوب پنبه یا کاغذ کارک در تحت مایکروسکوپ بود. او این تخلخل های قطعات چوب پنبه را حجره نامیده و این کشف بعدها باعث به میان آمدن نظریه حجروی توسط دو عالم جرمنی گردید که به اساس آن حجرات واحد اساسی ساختمانی و وظیفوی همه موجودات حیه دانسته شد.

نظریه خلق الساعه:

نظریه خلق الساعه از نخستین ایام تاریخ بیالوژی تا اواخر قرن نوزدهم، مقبولیت عام داشت. ارسطو مانند بسیاری از معاصران و پیروان خود معتقد بود که مگس و بسیاری از موجودات کوچک دیگر به طور خود بخود از گل و لای جویبارها ایجاد می شود و به عبارت دیگر، تصور آنها بر این بود که موجودات زنده از مواد بی جان نشأت می کنند. این نظریه یعنی منشأ گرفتن حیات از مواد بی جان به پیدایش خودبخود (abiogenesis) یا Spontaneous generation معروف است.

Francesco Redi که یک داکتر ایتالیایی بود در سال ۱۶۸۸ نظریه پیدایش خودبخودی یا خلق الساعه را رد نمود و نشان داد که اگر گوشت فاسد یا تخریب شده را از مگس دور نگاه کنیم، هیچگاه از آن به شکل خودبخودی کرم تولید نمی شود و انکشاف نمی نماید. دانشمند دیگری به نام John Needham در سال ۱۷۴۹ در آزمایشی که روی شوربا و بعدا گندم آلوده شده انجام می داد، متوجه شد که گوشت از آغاز آزمایش آلوده به مایکروارگانیزم ها است و گفت که این موجودات مایکروسکوپی از گوشت ناشی می شوند. ولی امروزه ما می دانیم که تجربه وی نادرست بوده زیرا مدت زمانی که آبگوشت را جوش داده بود بسیار کوتاه و نا کافی بوده و از طرفی در هنگام سرد کردن مخلوط از ظرف سر باز در حرارت اتاق استفاده کرده بود و امر عادی بود که بعد از مدتی در آن مخلوط میکروب ها رشد نمود. در همان زمان Lazzaro Spallanzani که از مخالفان نظریه پیدایش خودبخودی بود کارهایی را در این رابطه انجام داد. تجربیات او هم مشابه تست های نیدهام بود ولی با دقت بیشتر و زمان سترونی طولانی تری انجام می یافت. وی علاوه بر محیط های نباتی از محیط های متعدد دیگر منجمله ادرار و شوربا استفاده کرد. محیط های نباتی و شوربا را به مدت یک ساعت در فلاسکی جوشانید و سپس سر فلاسک را محکم بست و با گذشت زمان، هیچ گونه مایکروبی در فلاسک ظاهر نشد. نیدهام به دستاویز حرارت زیاد و طولانی مدتی که اسپلانزانی به محیط داده بود، نتایج قطعی حاصل یعنی غیبت کامل مایکروارگانیزم ها در مایع جوشیده و در بسته را مورد حمله قرار داد. به اعتقاد نیدهام حرارت زیاد و طولانی مدت، نیروی

نباتی ضروری برای پیدایش حیات را از میان می برد و اسپلانزانی را متهم ساخت که عوامل نمو دهنده نباتی را تا سرحد تضعیف یا تضییع مواد حیاتی شکنجه داده است و به علاوه، هوای باقیمانده در فضای خالی ظرف به وسیله حرارت از میان رفته است. حدود ۸۰ یا ۹۰ سال بعد دو عالم به نام های Franz Schulze و Theodor Schwann نیز بعد از انجام دادن تحقیقات مدارکی در رد نظریه پیدایش خودبخودی ارائه دادند.

پاستور(Louis Pasture ۱۸۲۲-۱۸۹۵) کیمیادان معروف فرانسوی بود که تحقیقاتی در بخش تخمیر و فساد مواد انجام داد. پاستور از مخالفان سرسخت نظریه پیدایش خودبخودی بود و معتقد بر این بود که تا زمانی که این نظریه رد نشود انکشاف علمی به کندی پیش خواهد رفت. پاستور از فیلترها باید استفاده می نمود که هوا را اجازه عبور داده اما مایکروب ها را اجازه عبور ندهد تا تئوری مبنی بر لزومیت هوا برای پیدایش خودبخودی را فیصله نماید، موصوف در معروف ترین تجربه خود broth را در فلاکس جوش داد. و بعداً عنق فلاکس را تحت شعله آتش طویل و منحنی ساخت و بدین ترتیب محتوی فلاکس به هوا ارتباط داشت. زمانی که وی تجربه خود را انجام داد، میکروب ها رشد ننمودند، اما وقتی که موصوف فلاکس را طوری تغییر موقعیت داد که یک اندازه از محتوی آن با قسمت عنق در تماس گردید، بعد از اینکه فلاسک را به حالت اصلی اش گذاشت، broth دوباره به قسمت قاعده فلاسک برگشت نمود و به زودی (بعد از یک یا دو روز) دیده شد که محتوی فلاسک ابر آلود و مملو از مایکروب ها گردید. با انجام این تجربه پاستور توانست نظریه پیدایش خودبخودی را رد نماید.

همچنان پاستور مایکروب های تجزیه کننده بیر و شراب (wine) یعنی مایکروبیولوژی صنعتی را پایه گذاری کرد. او گفت مایکروارگانیزم ها در همه جا موجود می باشند به شمول هوا، گرد و خاک و رشد میکروب ها سبب تجزیه نباتات و حیوانات مرده و تخریب مواد غذایی می گردد. او نیز درباره عامل مرض کرم ابریشم و عوامل و وقایع امراض کورزی مرغ، انترکس و مرض سگ دیوانه نظریات علمی ارائه کرد.

Robert Koch (۱۸۴۲ - ۱۹۱۰):

در انکشاف مایکروبیولوژی و طب عصری خدمات فراموش ناشدنی نمود. او طبیب، معلم و باکتری شناس معروف از کشور جرمنی بود. موصوف در سال ۱۸۷۶عامل مرض انترکس، در سال ۱۸۸۲عامل توبرکلوز، در سال ۱۸۸۳عامل کولرا و توبرکولین تست را از باسیل توبرکلوز بدست آورد. او تکنیکهای باکتری شناسی را ارتقاء بخشید و یکی از کارهای مهم او انتخاب محیط های جامد برای کشت باکتری بود و همچنین شیوه های رنگ کردن نمونه ها را تکامل بخشید بطوری که وی متیلین بلو را به عنوان نخستین رنگ های باکتری شناسی بکار برد و تشخیص و مطالعه مایکروارگانیزم ها را کاملاً آسان ساخت.

او در سال ۱۸۷۶ مرض انترکس را مطالعه می نمود. این مرض حیوانات و نیز انسان ها را مصاب می سازد. وی دریافت که عامل سببی مرض از خون همه حیوانات مصاب به مرض قابل دریافت است. او عامل سببی را کشت نمود که به صورت خالص از عضویت منتن به دست آمد. کوچ با استفاده از این کشت به مشاهده تکثیر ارگانیزم پرداخت و راههای انتقال بیماری از حیوانی به حیوان دیگر را کشف کرد. وی بعداً حیوانات سالم را به همان کلچر مرضی مواجه نموده که آن حیوانات نیز مانند حیوانات قبلی مصاب به مرض گردیده و از خون آنها نیز قابل دریافت بود. طبق اظهارات رابرت کوچ برای اینکه مایکروب عامل مرض شده بتواند باید دارای شرایط زیر باشد:

تئوری رابرت کوچ : قابل ذکر است که امروزه هفت مورد شده، در گذشته فقط چهار مورد بوده است.

۱- در هر مورد از مریضی، مایکروارگانیزم ها باید وجود داشته باشند.
۲- مایکروارگانیزم ها از حیوان، انسان مریض به شکل کلچر باید بدست آیند.
۳- هر گاه عامل به حیوان تجربوی مساعد زرق شود مریضی مشابه تولید کند.
۴- از حیوان تجربوی مریض عامل مرض بشکل کلچر خالص تجرید شود.
۵-عامل مرض نزد انسان یا حیوان، آفات مخصوص تولید بدارد.
۶- انتی بادی های مربوط به عامل بیماری زا باید در سرم خون مریض وجود داشته باشند.

۷- مریض باید پس از شفایابی نسبت به همان مایکروب معافیت داشته باشد.

Hess در سال ۱۸۸۲:

رابرت کوچ اهمیت اجرای کلچر را درک نمود اما تطبیق آن برایش مشکل بود. وی در تیوری میدانست که اگر حجره واحد باکتری تجرید و در سطح جامد کشت گردد سبب تولید مجتمع متشکل از همان مایکروب خواهد شد(کالونی ها). این کشت، خالص خواهد بود زیرا از نوع واحد حجره منشأ گرفته اند. همچنان وی می دانست که برای رشد مایکروب ها مواد مغذی نیاز است. بدین منظور وی ابتدا از جلاتین استفاده کرد. جلاتین خوب نتیجه داد زیرا با کمی گرما به صورت مذاب درمی آید و در همان حال میتوان آنرا روی صفحات صاف ریخت تا پس از سرد شدن به صورت جامد درآید و در عین حال رطوبت کافی برای رشد باکتری را در خود حفظ کند. اما جلاتین در هنگام گرم شدن به راه می افتاد و لابراتوار را آلوده می ساخت. برای پرهیز از این مشکل Richard J. Petri که دستیار کوچ بود صفحه یی اختراع کرد که حاشیه های آن رو به بالا خم شد و دارای سرپوش آزادی بود که هوا از آن عبور می کرد. ولی باز هم جلاتین بدون نقص نبود و در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد ذوب می گردید و نمی توانست در این درجه حرارت که برای کشت اکثریت باکتریاهای پاتوجن مساعد است، جامد بماند. همسایه کوچ، خانم فرایسی Agar agar را که محصول الجی های آبی می باشد، برای وی فراهم نمود. زمانی که این ماده با مواد مغذی مانند آبگوشت ترکیب شود، بسیار برای کشت مناسب است زیرا در درجات حرارت پایین تر از ۱۰۰ درجه سانتی گراد جامد می ماند. بدین وسیله کوچ توانست که کشت های خالص را بدست آورد و تحول عمده در مایکروبیولوژی به وقوع پیوندد.

ایمینولوژی:

ادوارد جنر (E. Jenner) که طبیب انگلیسی بود را بنیانگذار علم معافیت نسبت می دهند. او در سال ۱۷۹۸ برای اولین بار نشان داد که می توان با قرار دادن افراد حساس در معرض مواد حاصله از آبله گاوی و معاف سازی آنها از ابتلاء این افراد به آبله انسانی جلوگیری بعمل آورد و دریافت که شیر

دوشانی که به صورت طبیعی شکل نسبتاً خفیف به نام cowpox را کسب نموده بودند، در مقابل مرض مهلک small pox معافیت دارند. کلمه واکسیناسیون نیز مشتقی از کلمه واکا (لاتین) یا گاو می باشد. بدین ترتیب مرض چیچک تحت کنترول در آمد و این مطالعات باعث شد تا واکسین های مختلفی برای معاف سازی فعال انکشاف نماید.

پاستور بر اساس کارهای انجام یافته توسط کوچ و جنر، اصول عمومی را ترتیب نمود که چگونه واکسین ها ساخته شده می تواند. واکسین ها محتوی انتی جن یا انتی جن هایی می باشد که چند روز پس از تزریق به افراد سالم سبب تحریک تولید انتی بادی اختصاصی مربوطه در ارگانیزم آنها شده و یک حالت مصونیت اکتسابی و فعال بوجود می آورند که این مصونیت معمولاً ماهها، سالها و گاهی نیز مادام العمر پایدار می ماند. پاستور که بالای کولرای پرنده گان تجاربی را اجرا می نمود، دریافت که تزریق مایکروب ضعیف شده کولرا در مرغ های سالم سبب مصونیت آنها در مقابل کولرای پرنده گان می شود. او بعد از این مطالعات واکسین انترکس و نیز در سال ۱۸۸۵ واکسین مرض سگ دیوانه را انکشاف داد.

حفظ الصحه عمومی:

قبل از نظریه مایکروبی امراض، آبهای کثیف معمولاً با آب های آشامیدنی مخلوط می گردید که با بهبود شیوه ها و میتود های دفع کثافات و تأمین آب آشامیدنی از اپیدیمی های خطرناک کولرا و تب محرقه جلوگیری به عمل آمد. همچنان در عرصه تهیه و نگهداری مواد غذایی پیشرفت هایی به میان آمد که عملیه Pasteurization مثال خوب آن است که نوعی حرارت دادن به شیر، محصولات لبنی و بعضی غذاهای دیگر (مایع) تا حدی است که تمام مایکروارگانیزم های بیماریزا برای انسان از بین بروند. ابتدا پاستور این عملیه را جهت محافظت شراب از خراب شدن اساس گذاشت و سایر اقدامات محافظتی مانند شستن دست ها را توصیه نمود.

مایکروبیولوژی امروزی:

انکشافات زیاد در عرصه مایکروبیولوژی در اواخر قرن نوزدهم و در قرن بیستم بوقوع پیوست که از آن عرصه ها به کیموتراپی، وایرولوژی و جنیتیک اینجنیرنگ اشاره می شود:

کیموتراپی:

عمده ترین پیشرفت قرن بیستم کیموتراپی یا تداوی عفونت ها با مواد کیمیاوی بود. طبیب آلمانی Paul Ehrlich که به نام پدر کیموتراپی معروف است برای اولین بار نظریه سمیت انتخابی یا selective toxicity را به میان آورد. یعنی ادویه باید به مقابل انتانات توکسیک ولی در مقابل عضویت انسان نسبتاً غیر مضر باشد. موصوف در سال ۱۹۰۸ میلادی اولین ادویه ضد مایکروبی را بر علیه عامل سببی سفلیس به میان آورد و نام آنرا salvarsan یا نجات دهنده گذاشت. الی بیست سال دیگر این یگانه دوای ضد مایکروبی بود که کشف شده بود. بعد از این اولین فامیل عمده ادویه جات به نام sulfas کشف گردید که ابتدا صرف به منظور رنگ آمیزی استعمال می شد و بعداً بر اثر تحقیقات به حیث مواد کیموتراپی نیز استفاده گردید. انتی بیوتیک ها عبارت از میتابولیت های میکروبی با وزن مالیکولی کم بوده که برای کشتن یا جلوگیری از رشد باکتریا های حساس استفاده میشوند. نخستین انتی بیوتیک به نام پنی سیلین در سال ۱۹۲۹ توسط عالم سکاتلندی به نام الکساندر فلیمینگ کشف گردید و آن زمانی بود که او تاثیرات تحلیل کنندگی کالونی یک نوع mold به نام *Penicillium notatum* را بالای کالونی های استافیلوکوک درعین پلیت کشت مشاهده کرد (Quinn *et al.*, 2002).

وایرولوژی:

این علم در سال ۱۸۹۲ با کشف وایروس tobacco mosaic توسط عالم روسی به نام دیمیتری ایوانوسکی آغاز گردید. وی این عامل مرضی را با مطالعه مرض موزاییک تنباکو دریافت نمود. او جهت تشخیص خود، جوس حاصله از نباتات مبتلا به مرض را از فلتری عبور داد که حتی کوچکترین باکتری را اجازه دخول نمی داد. محصول فلتر شده باز هم سبب تولید مرض

گردید. که وی عامل آن را به نام وایروس های قابل فیلتر نامید. این عوامل در سال های ۱۹۳۰ با کشف الکترون مایکروسکوپ، قابل رویت گردید.

انجنیری جنتیک:

حقیقت دیگری که در نیمه دوم قرن بیستم در عرصه مایکروبیولوژی کشف گردید عبارت از مساعد بودن مایکروارگانیزم ها برای تحقیقات تجربوی می باشد. مساعد بودن باکتریاها برای تحقیقات در سهولت کشت و سرعت انقسام آن نهفته است.

Genetic engineering یا Recombinant DNA technology عبارت از تکنیکی است که طی آن مواد جنیتیکی یا DNA از یک موجود بیرون کشیده شده و در آن تغییراتی وارد گردیده و دوباره به ارگانیزم دیگری داخل می گردد تا اثرات خویش را وارد کند. امروزه مواد بیالوژیکی مختلفی چون واکسین ها به کمک همین تکنیک تولید می شود.

امروزه مایکروبیولوژی به یک علم کاملاً تجربوی مبدل گشته است و در عرصه های باکتریولوژی، وایرولوژی و ایمینولوژی انکشافات زیادی صورت گرفته است. مقاومت باکتریایی در مقابل انتی بیوتیک ها و ظهور انواع جدید وایروس ها در اثر تغییرات تدریجی، حالاتی اند که امروز مورد توجه خاص مایکروبیولوژیست ها می باشد. طب معالجوی زیادتر به طب وقایوی مبدل گشته که اینها همه کوشش هایی برای رفع مشکلاتی چون مقاومت باکتریایی در مقابل انتی بیوتیک ها می باشد. کنترول امراض انتانی بخصوص Emerging infectious diseases مشکلی است که هنوز در راستای این علم قرار دارد.

مایکروبیولوژی محیطی یکی دیگر از مباحث مهمی است که امروزه مورد مطالعه قرار می گیرد و عمدتاً به Bioremediation یا تصفیه مواد کیمیاوی توکسیک توسط مایکروارگانیزم ها تاکید می شود. Bioremediation عبارت از تکنیکی است که در آن با استفاده از باکتریاها و دیگر ارگانیزم ها، آلوده گی ها تصفیه می گردد. باکتریاها عموماً آلوده گی ها را می شکنند و به

اجزاء بی ضرر چون کاربن دای اکساید و آب تبدیل می کنند. این تکنیک برای تصفیه آب، خاک و بعضی مواد کیمیاوی قابل استفاده می باشد.

هدف و ارتباط مایکروبیولوژی

(Scope and Relevance of Microbiology)

مایکروبیولوژی به دو لحاظ مطالعه می شود:

۱. مایکروبیولوژی منحیث یک علم بیالوژیکی پایه بعضی از ابزارهای تحقیقی مهم و قابل دسترس را برای جستجوی طبیعت فرآیندهای زندگی تهیه می نماید.

۲. مایکروبیولوژی منحیث یک علم بیالوژیکی تطبیقی با امراض مهم و گوناگونی چون امراض انسان ها، حیوانات، و نباتات که توسط مایکروارگانیزم ها تولید می شوند، سروکار دارد.

احتمالاً باکتریاها اولین موجودات زنده در روی زمین بودند. آنها بسیار متعدد می باشند و تعداد شان از هر نوع دیگر موجودات زنده زیادتر می باشد و احتمالاً بزرگترین جزء توده زنده در روی زمین را تشکیل می دهند. تمام ایکوسیستم وابسته به فعالیت های این موجودات زنده ذره بینی می باشد که آنها بالای جامعه انسانی به شیوه های متفاوت و راه های بیشماری تأثیر گذارمی باشند. امروزه مایکروبیولوژی یک رشته علمی بزرگ و تخصصی به شمار می رود که بخش های متفاوت تخصصی آن دارای اثرات مهمی در ساحات مختلفه حیات بوده که از این بخش های تخصصی می توان بطور نمونه از طبابت، زراعت وعلوم صنایع غذایی، ایکالوژی، جنیتیک، Biochemistry وMolecular biology یادآور شد.

مایکروبیولوژی از هر دو جنبهٔ پایه و عملی برخوردار می باشد. زیادتر مایکروبیولوژیست ها علاقه دارند تا بیالوژی مایکروارگانیزم ها را مورد مطالعه قرار دهند و این مطالعات می تواند بالای گروپ خاصی از مایکروارگانیزم ها باشد.

Virologists – Viruses
Bacterilogists – Bacteria
Phycologists /Algologists – Algae

Mycologists – Fungi
Protozoalogists – Protozoa

بعضاً از مایکروبیولوژیست ها علاقه مند اند تا مورفولوژی مایکروب ها و یا پروسه های وظیفوی خاصی از مایکروارگانیزم ها را مورد مطالعه قرار دهند و آنها در ساحات مختلفه زیر تحقیقات خود را انجام می دهند.

Microbial cytology
Microbial physiology
Microbial ecology
Microbial genetics
Molecular biology
Microbial taxonomy

مایکروبیالوژیست ها همچنین مایکروبیولوژی را در جهات کاربردی و عملی آن که به نام Applied microbiology یاد می شود، بکار می گیرند و مشکلات عملی را در ساحات ذیل مورد مطالعه قرارمی دهند:

Medical microbiology
Food and dairy microbiology
Agricultural microbiology
Industrial microbiology
Public health microbiology

از آنجاییکه مایکروارگانیزم ها از کوچکترین اشکال موجودات زنده بشمار می روند مدل هایی را چون Molecular biology در زمینه تحقیق فراهم نموده که در تحت آن جنیتیک، میتابولیزم، اشکال حجره و وظایف آنها و دیگر رموز بیالوژی را در سطح مالیکولی مورد مطالعه قرار می دهند. زمان مثل سازی که بنام Generation time یاد می شود در این موجودات بسیار کوتاه است آنها بسرعت تولید مثل می کنند و قادر می باشند تا به راحتی و بسرعت در کمیت های کوچک و یا بزرگ رشد کنند. همچنین نموی نورمال شان می تواند بسیار به سادگی تحت تاثیر عوامل فزیکی و یا عوامل کیمیاوی قرار گیرد. مایکرواورگانیزم ها همچنین منحیث مدل و یا سیستم برای مطالعه ارتباطات بین انواع (species) در جمعیت های مختلط استفاده می شوند.

مایکروارگانیزم ها بشکل بسیار نزدیک با صحت و آسایش انسان ها و حیوانات اشتراک دارند که بعضی از آنها مفید و بعضی از آنها مضر می باشند.

۱- آنها درساختن ماست، پنیر، شراب، پنی سیلین و دیگر انتی بیوتیک ها و الکل مفید و استفاده می شوند.

۲- آنها به حیث مکمل های غذا که به نام Food supplements هم یاد می شود، استفاده می شوند.

۳- آنها درتجزیه بیهوده های اهلی و صنعتی کمک می کنند.

۴- آنها می توانند آلوده کننده ها و بیهوده های سمی را کم بسازند.

۵- در تولید مواد جدید جهت تداوی مثل انتی بیوتیک ها و ویتامین ها و غیره کمک می کنند.

۶- مایکرواورگانیزم هایی چون باکتریاهای تثبیت کنندۀ نایتروجن در حاصیلخیزی خاک مفید می باشند.

۷- همچنین آنها درGeochemical transformation رول مهمی بازی می کنند. به طور مثال در تولید انرژی مانند گاز میتان که برای مصرف سوخت دهات استفاده می شود و تولید پطرول.

میتود جدید چشمگیر و نمایشی که امروزه در مایکروبیولوژی عملی انکشاف نموده عبارت از Recombinant DNA technology می باشد که بنام Genetic engineering نیز مطرح می شود. در اینجا مایکروارگانیزم ها بشکل جنیتیکی دستکاری می شوند و از آنها جهت تولید تجاری محصولات جدید و پر ارزشی چون دواها، غذاها، Fuels و غیره و همچنین مایکروارگانیزم های دیزاین شده بعد از جنیتیک اینجنرینگ جهت ساختن هورمون ها، انتی بیوتیک ها، واکسین ها و دیگر محصولات نیز استفاده می شوند.

زیادتر مایکروارگانیزم ها برای انسان مفید می باشند و تنها یک مقدارشان در حدود ۵ تا ۱۰ فیصد برای انسان، حیوانات و نباتات مضر می باشند و امراض عفونی را در آنها تولید می کنند.

ارگانیزم های یک حجروی و جایگاه شان در طبقه بندی موجودات حیه:

زیادتر مایکروارگانیزم ها یک حجروی بوده و تمام پروسه های حیاتی در این موجودات حیه ذره بینی توسط همین یک حجره انجام داده می شود. در اشکال عالی حیات ارگانیزم ها از چندین حجرات تشکیل شده اند و به شکل انساج و اعضا ترتیب شده تا وضایف مخصوص را انجام دهند. حجره عبارت از واحد ساختمانی ابتدایی حیات بوده و تمام حجرات زنده اساساً مشابه می باشند.

حجره (Cell):

این اصطلاح برای اولین بار توسط Robert Hooke در سال (1635-1703) زمانی که وی ساختمان هایی مانند خانه زنبور را در یک برش چوب پنبه یا کاغذ کارک مشاهده می کرد، گفته شده بود.

تئوری حجره (Cell theory):

تئوری حجره چنین افاده می کند که حجره عبارت از واحد ساختمانی و وظیفوی حیات می باشد که توسط دو عالم جرمنی ارائه شد. بعد از قبول این تئوری طبیعت ماده اصلی در داخل حجره مانند پروتوپلازم شناسایی و تعریف شد. پروتوپلازم (Protoplasm) عبارت از یک مرکب عضوی کلوییدی بوده که زیادتر از پروتین، شحم و اسید های هستوی تشکیل شده است. این مواد اصلی توسط غشایی احاطه شده و همیشه دارای ماده هستوی یا nuclei/nuclear substance می باشد. فلهذا تمام سیستم های زنده به شکل عمومی از مشخصات زیر برخوردار می باشند:

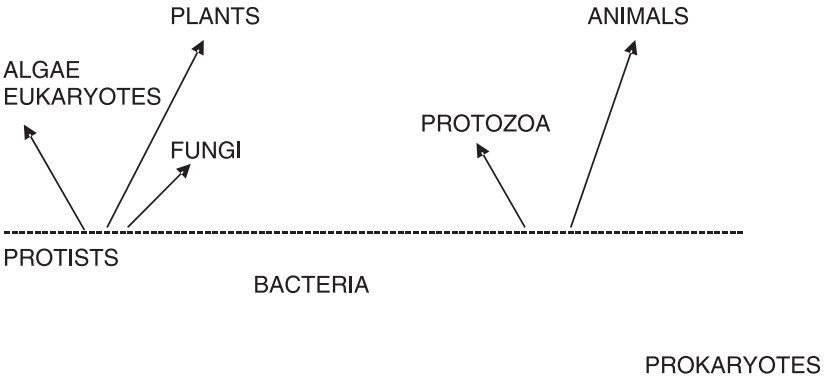
۱- توانایی تولید مثل (Reproduce)
۲- توانایی بلع و جذب مواد غذایی جهت تولید انرژی و نمو
۳- توانایی دفع تولیدات زائد
۴- توانایی نشان دادن عکس العمل در مقابل عوامل محیطی و تغییر پذیری آنها در محیط که بعضی اوقات زود رنجی (irritability) نامیده می شود.
۵- حساس بودن به mutation

مایکروارگانیزم ها شامل اقسام مختلف اشکال حیات می باشند که تنها

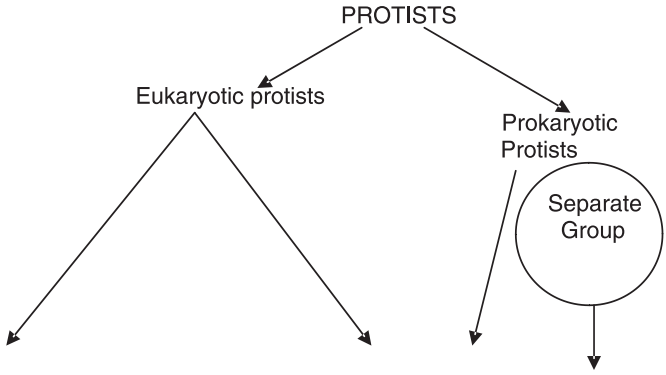
مشخصه عمومی شان این است که ذره بینی اند. قبل از کشف مایکروارگانیزم ها نبـــات شـــناس سوئدی به نام Carolus Linnaeus (1707-1778) تمام موجودات زنده را به دو عالم نباتات و حیوانات تقسیم نمود و پس از پی بردن به وجود مایکروارگانیزم ها، بیالوژیست ها نمی توانستند از نظر طبقه بندی در طبیعت جایگاه مشخصی برای مایکروب ها منظور نمایند. روی این اصل پروتوزواها را به علت اینکه متحرک بودند و خاصیت فوتوسنتزی را نداشتند جزء حیوانات قرار دادند. الجی ها و فنجی ها را که به نظر می رسید بی حرکت باشند جزء نباتات قرار دادند. اما نمی دانستند باکتریاها جزء کدام دسته می باشد تا اینکه Ernest H-Haeckel زولوژیست جرمنی در سال ۱۸۶۶ یک راه حل منطقی برای این مشکل ارائه داد و آن پیشنهاد سلسله سومی به نام Protista یا موجودات ابتدایی بود که پروتوزواها، الجی ها، فنجی ها و باکتریاها را در بر می گرفت.

در مورد سلسله سوم (Protista kingdom) دانشمندان در سال های اخیر با روش های جدید بوسیله میکروسکوپ الکترونی دریافتند که باکتریاها از نظر ساختمان حجروی بطور اساسی با سه گروپ دیگر اختلاف دارند. از این جهت پروتوزواها، الجی ها و ، فنجی ها را به علت داشتن هسته مشخص و کامل تر در یک گروپ قرار دادند که Eucaryotes نامیده می شوند و مجموع آنها را تحت عنوان Protista مورد مطالعه قرار می دهند و از طرف دیگر باکتریاها را به خاطر ساختمان ابتدایی تر و نداشتن هسته مشخص Procaryotes نامیده و آنها را تحت عنوان سلسله مستقل Procaryotes kingdom بررسی می کنند. اکثر بیالوژیست ها و مایکروبیولوژیست ها وایروس ها را جزء مایکروارگانیزم ها می دانند ولی این گروپ به علت دارا بودن خصوصیات ویژه از سایر موجودات مایکروسکوپی متمایزاند و ساده ترین و کوچکترین موجود زنده بشمار می آیند.

How microbes are grouped?



What are the differences among microbes?



Sl.No	Characters	Protozoa	Algae	Fungi	Bacteria	Virus
1.	Chlorophyll	-	+	-	+ or -	-
2.	Cell wall	-	+	+	+	NA

در سال ۱۹۶۹ عالمی به نام R.H.Whittaker سیستم طبقه بندی جدیدی را پیشنهاد کرد و تمام موجودات حیه را به پنج عالم یا Kingdom جدا نمود. اساس طبقه بندی وی عبارت از نوع تغذیه، تهیه غذا و همچنین نوع ساختمان حجروی و هسته می باشد.

اساس طبقه بندی ویتاکر عبارت از آرایش و تشکیلات حجروی در سه سطح زیر می باشد:

1- Cell type - Procaryotic and Eucaryotic
2- Level of organization

سطح تشکیلات در حجرات مانند حجرات تنها یا منفرد و ارگانیزم های یک حجروی که به شکل کالونی حیات بسر می برند و یا چندین حجروی می باشند.

3- Nutritional type

سه اصل یا شیوه تغذیه عبارت اند از:

a) Photosynthesis
b) Absorption
c) Ingestion

پنج عالم یا Kingdom پیشنهاد شده توسط ویتاکر قرار ذیل اند:

۱- Kingdom Animalia :

دارای ساختمان چندین حجروی با هسته حقیقی بوده که از نظر نوع تغذیه بلع کننده هستند.

۲- Kingdom Plantae :

دارای ساختمان چندین حجروی با هسته حقیقی بوده که از نظر نوع تغذیه فوتوسنتز کننده هستند.

۳- Kingdom Fungi :

دارای ساختمان چندین حجروی با هسته حقیقی بوده که از نظر نوع تغذیه جذب کننده می باشند.

۴- Kingdom Protista :

دارای ساختمان یک حجروی با هسته حقیقی بوده، برخی الجی ها، فنجی های پست و پروتوزواها را شامل می گردند.

۵- Kingdom Monera or Procaryotae :

فاقد هسته حقیقی اند و تمام باکتریاها و سیانوباکتریاها شامل این دسته می باشند.

با گذشت زمان عالم دیگری به نام Woese و همکارانش در سال ۱۹۹۰ طبقه بندی جدیدی را به اساس Phylogeny یا ارتباط تکاملی موجودات حیه پیشنهاد کرد و تمام موجودات حیه را در روی زمین به سه گروپ جدید که Domains نامیده می شود، تقسیم کرد. این سه domains قرار ذیل اند:

1- Archaea
2- Bacteria
3- Eucarya

۱- Eucaryotic :

ساختمان آنها کم و بیش شبیه به حجرات حیوانی و نباتی بوده و مانند آنها دارای هسته مشخص بوده و به همین جهت بنام ایوکاریوتیک نامیده شده و به سه شاخه زیر تقسیم میشوند:

الف – Protozoa :

موجودات یک حجروی عاری از کلوروفیل می باشند که به اشکال و اندازه های متفاوت دیده می شوند اکثر آنها متحرک و دارای فلاجیل هستند. تشکیلات ساختمانی بعضی از آنها پیچیده و برخی نسبتاً ساده است پای کاذب ایجاد می نمایند و اشکال کوچکتر ازخود را می بلعند. بیشتر آنها Saprophytic بوده و برخی از آنها نیز برای انسان و حیوانات بیماری زا می باشند.

ب- Algae :

موجودات یک یا چند حجروی هستند که دارای کلوروفیل بوده و قادر به

عمل فوتوسنتیز می باشند. اغلب بصورت سپروفایتیک زندگی می کنند و معمولاً در آبها و خاکهای مرطوب دیده می شوند.

ج- Fungi :

دارای مشخصات حجرات نباتی بوده ولی فاقد کلوروفیل می باشند و روی همین اصل قادر به تهیه غذای خود جهت تولید انرژی نمی باشند. معمولاً چند حجروی بوده و بر خلاف نباتات دارای ریشه، ساقه، برگ و میوه نمی باشند. فنجی ها از باکتریاها به علت بزرگی اندازه و پیچیدگی شکل و ساختمان متمایزاند و گروپی ازفنجی ها یک حجروی هستند که کروی و بیضوی شکل بوده و برخی از فنجی ها جهت تولید اسیدها، الکل ها و انتی بیوتیک مصرف می شوند وعده ای مؤلد برخی امراض در نباتات و حیوانات می باشند. اصطلاح کلی فنجی (Fungus) شامل اشکال متفاوتی Molds (کپک ها) Yeast (مخمرها) و Mushroom (قارچهای گوشتی) می گردد.

۲- Prokaryotic :

پروکاریوت ها ساختمان ساده تری دارند و دارای هسته مشخص نمی باشند و به این جهت به آنها پروکاریوتیک می گویند.

الف – Bacteria :

گروپی از موجودات ذره بینی هستند که اندازه آنها کوچک بوده و ساختمان نسبتاً ساده دارند هسته آنها دارای غشاء نبوده و اطراف باکتریاها را پرده ضخیمی بنام دیوار حجروی پوشانیده است و بیشتر آنها میتابولیزم خود را از راه کیموسنتز اداره می کنند. کم و بیش در تمام محیط های طبیعی یافت می شوند. تا کنون انواع متفاوت باکتریاها شناخته شده که اکثراً مفید می باشند.

ب- باکتریاهای بدون دیوارحجروی (Mycoplasma):

مایکوپلازماها جزء باکتریاها بوده ولی بر خلاف آنها فاقد دیوار حجروی می باشند. مایکوپلازماها کوچکترین مایکروارگانیزم هایی می باشد که بصورت آ زاد زندگی می کنند و از صافی های باکتریولوژیک قابل عبوراند.

ج – باکتریاهای که زندگی داخل حجروی اجباری د ارند:

۱- Rikettsiae :

در گذشته آنها را حد فاصل بین وایروس ها و باکتریاها می دانستند ولی اکنون آنها را جزء باکتریاها می دانند ولی اندازه آنها کوچکتر و ساختمان آنها

ساده تر است و فقط در داخل حجرات زنده قادر به حیات هستند. برخی از آنها برای حیوانات و انسان ها مریضی زا می باشند.

۲- Chlamydia :

اندازه آنها کوچکتر از باکتریاها بوده و ازصافی های باکتریولوژیک قابل عبوراند و پرازیتهای داخل حجروی اجباری هستند و فقط در داخل حجرات زنده قدرت ادامه حیات را دارند. قبلاً آنها را جزء وایروس ها می دانستند ولی چون به انتی بیوتیک ها حساس بوده و دیوارحجروی و طرز تکثیر و رایبوزوم آنها شبیه باکتریاها است و دارای DNA و RNA یعنی هر دو اسید هستوی می باشند. امروزه آنها را جزء باکتریاها محسوب می کنند.

وایروس ها (Viruses):

وایروس ها از صفاتی برخوردار اند که آنها را از سایر مایکروارگانیزم ها متمایز می سازند. وایروس ها ساده ترین و کوچکترین موجود ات زنده بشمار می آیند. ا ندازه آنها در حدود ۱۰ تا ۳۰۰ ننومتر بوده و از باکتریاها بسیار کوچکتراند. در خارج حجرات زنده قادر به حیات نیستند و از صافی هایکه مانع گذشتن باکتریاها می شوند، عبور می کنند. وایروس ها فاقد رایبوزوم اند و قسمت مرکزی و اصلی آنها از DNA یا RNA تشکیل شده که در پوششی به نام Capsid احاطه شده است. تکثر وایروس ها در داخل حجرات میزبان طی چرخه خاصی صورت می گیرد که یکی از صفات متمایز کننده و اختصاصی آنها است.

جدول: بعضی از وایروس ها که امراض نباتی را سبب می شوند

Virus	Shape	Genetic material	Vector
tobacco mosaic, tomato mosaic, cucumber green-mottle	elongated	RNA	mechanical contact, grafts, fungus
cauliflower mosaic	spherical	DNA	aphids
tobacco ringspot, tomato ringspot	spherical	RNA	seedborne, nematodes
barley yellows dwarf, soybean dwarf	spherical	RNA	aphids
tomato spotted wilt	spherical enveloped	RNA	thrips
turnip yellow mosaic	spherical	RNA	beetle
potato virus, narcissus mosaic	elongated	RNA	mechanical contact or damage
tobacco rattel	elongated	RNA	nematodes
beet yellows, wheat yellow leaf, beet yellow stunt	elongated	RNA	aphids

:Viroids

ویرویید‌ها عوامل عفونی هستند که دارای اسید هستوی تک رشته ای RNA می باشند. آنها از وایرسها به مراتب کوچکتر بوده و ساختمان ساده تری نیز دارند و بر خلاف وایروسها فاقد پوش پروتینی یا Capsid می باشند. ویروییدها از نباتات آلی مانند کچالو و بادنجان رومی برای تکثر استفاده می نمایند که داخل هسته حجرات این نباتات شده و تولید مثل می نمایند.

ویروییدها معمولا توسط تخم و گرده از یک نبات به نبات دیگر انتقال می نمایند و اختلالات رشد و نمو در نباتات مصاب به مشاهده میرسد. اولین ویروید شناخته شده عبارت از Potato spindle tuber viroid می باشد و تا به حال فقط ۳۳ نوع آنها شناخته شده است.

:Prions

پریـون هـا عبـارت از ذرات عفـونی کوچـک پـروتین دار(small proteinaceous infectious particles) و فاقد نوکلئیک اسید می باشند زیرا این ذرات در مقابل روندی که باعث تغییر دادن نوکلئیک اسید مـی شود، مقاوم بوده و غیر فعال نمی شوند. پریون عبارت از پروتینی بوده کـه بـه شـکل نورمـال بـی ضـرر مـی باشد ولـی در بعضـی حـالات بـه شـکل منحـرف تبـدیل مـی شـوند، پریون نورمال به یک عامل منحرف (پروتین غیر معمولی) تبدیل شده کـه بعداً این پریـون منحـرف باعث تغییر شـکل دادن دیگر پریـون هـای نورمـال نیز مـی شود.

پریـون هـا امـراض دسـتروفی مغز را سـبب مـی شـوند کـه نسـج مغز را تخریـب نمـوده و بـه آن منظـره اسـفنجی (spongy) مـی دهنـد. از همـین سـبب امـراض پریـونی بـه نـام Spongiform encephalopathies یـاد مـی شـوند. زیادتر این امراض در پستانداران بملاحظه می رسد.

Scrapie- sheep

TME (Transmissible mink encephalopathy) – Mink

BSE (Bovine spongiform encephalopathy) – Cows

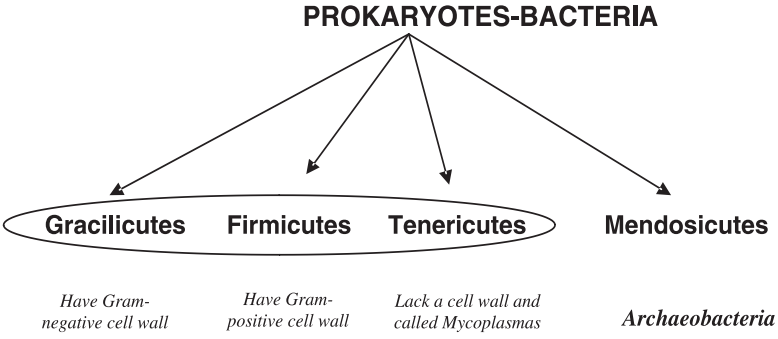
CWD (Chronic wasting disease) – Mule deer

انسانها نیز در مقابل امراض پریونی حساس اند و امراضی که پریون ها در انسان ها تولید می نمایند در جدول پایین ذکر می شود:

Prion Diseases	
Disease	**Symptoms**
Creutzfeldt-Jakob syndrome	Memory loss, nervousness, unsteady gait, jerky motions, loss of facial expression; death within 2 years
Fatal familial insomnia	Onest in middle age of inability to sleep tremors, a dreamlike state, coma, and death within 10 months
Gerstmann-stranssler scheinker syndrome	Onest in 50s; loss of coordination, dementia, lack of leg reflexes, deposits throughout central nervous system; death in 2 to 10 years
Kuru	Loss of ability to walk, stand, sit, talk; death within months

How prokaryotes and eukaryotes are differentiated?

Sl. No	Characters	Prokaryotic Cells	Eukaryotic Cells
1.	Nucleus surrounded by a membrane	Absent	Present
2.	Nucleolus	Absent	Present
3.	Chromosome number	1	>1
4.	Reproduction	Asexual	Sexual
5.	Mitotic nuclear divisions	Absent	Present
6.	Cytoplasmic ribosomes	70S	80S
7.	Endoplasmic reticulum	Absent	Present
8.	Mitochondria	Absent	Present
9.	Chloroplast	Absent	Present
10.	Golgi apparatus	Absent	Present
11.	Cytoplasmic membrane – presence of sterols	Absent	Present



Gracilicutes, Firmicutes, Tenericutes
are collectively reffered **Eubacteria**

Eubacteria are also grouped into **Cyanobacteria** and **Other bacteria.** The bacteria that cause disease in animals belong to Eubacteria.

تقسیمات مایکروبیولوژی

مایکروبیولوژی پایه:

مایکروبیولوژی پایه یا مقدماتی از شکل، ساختمان، فیزیولوژی، میتابولیزم، تغییر کشت، و خواص مایکروبها بحث می کند.

مایکروبیولوژی طبی:

ساحه مایکروبیولوژی متعلق به صحت انسانها خیلی وسیع می باشد و یک قسمت محدود آنرا مایکروبیولوژی طبی که از تداوی و تشخیص امراض مایکروبی انسانها و حیوانات بحث می کند تشکیل می دهد. مایکروبیولوژی انتی بیوتیکها و صنایع آن نیز در این قسمت شامل اند.

مایکروبیولوژی طبی که از تشخیص و تداوی امراض حیوانی بحث می کند بنام مایکروبیولوژی وترنری یاد می گردد. چون یک عده زیاد امراض مایکروبی بین انسانها و حیوانات به شکل مشترک بروز می کند و بنام امراض (Zoonosis) یاد می شوند. مایکروبیولوژی حیوانی (وترنری) با مایکروبیولوژی انسانی مناسبت خیلی نزدیک دارند. در قسمت امراض به خصوص امراض زونوتیک مانند توبرکلوز، بروسلوز، انترکس، مرض سگ دیوانه، تب کیو (Q-fever) و غیره هر دو شعبه مجبوراند که به شکل مشترک بذل مساعی نمایند.

مایکروبیولوژی طبی بدو قسمت تقسیم شده است:

الف: مایکروبیولوژی که از تشخیص، تداوی و وقایه بحث می کند.

ب: مایکروبیولوژی حفظ الصحوی

مایکروبیولوژی حفظ الصحوی خود بدو شعبه تقسیم می گردد که عبارت از مایکروبیولوژی مواد غذایی و مایکروبیولوژی حفظ الصحه محیطی می باشد.

مایکروبیولوژی مواد غذا یی(Food Microbiology):

از طریقه های کنترول مواد عذایی که آیا در اثنای تهیه مواد غذایی مانند آب، شیر، گوشت، مرچ و مساله، سبزیجات، میوجات و غیره مایکروبها مضر را احتوا می کند. در اثنای بسته بندی، توزیع یا فروش ملوث می شوند یا خیر، بحث می نماید.

مایکروبیولوژی حفظ الصحه محیطی:

از وضع توالت ها، تصفیه خانه، کثافات هوا کثافات زمین و کثافات آب بحث می کند.

مایکروبیولوژی صنعتی (Industrial Microbiology):

از رابطه مایکروبها با صنایع از قبیل کانسرو سازی، الکل سازی، انتی بیوتیک سازی، و تجزیه برخی از مواد کیمیاوی بمنظور بدست آوردن مواد دیگر بحث می کند و با سه شعبه صنعتی سروکار دارد:

- صنعت تخمر (Fermentation)
- صنعت کیمیا
- صنعت نساجی

مهمترین این شعبات صنعت تخمری است . تخمر از تکنالوژی و مایکروبیولوژی، استحصال انتی بیوتیک و الکل ها بحث میکند. انتی بیوتیکها، بعضی از ویتامین ها، هورمونها، اسیدهای عضوی، گلیسرین، استون، الکل ها و غیره را توسط تخمر در صنایع فارمـــــا کولوژی و کیمیا بدست می آورند. بیر، شراب، ماست، دوغ، نان، پنیر،ترشی و غیره توسط مایکروبیولوژی صنعتی استحصال می گردد.

در صنایع نساجی نیز از باکتریاها کمک خواسته می شود. بوی گرفتن مواد غذایی (Putrification) و جلوگیری آن از مایکروبیولوژی صنعتی استفاده می شود. چای توسط تخمر به اکمال رسیده، بوی خوش، طراوات و نرمی لازمه را کسب می دارد.

مایکروبیولوژی زراعتی (Agricultural Microbiology):

نیز به سه گروپ تقسیم می گردد.

- ✓ مایکروبیولوژی نباتی
- ✓ مایکروبیولوژی خاک
- ✓ مایکروبیولوژی صنایع غذایی

مایکروبیولوژی نباتی (Phyto Microbiology):

یک تعداد امراض نباتی توسط باکتریاها، وایروسها و فنجی ها تولید می گردند، مرض خاکسترک گل گلاب توسط فنگس تولید می شود، مرض Mosaic تنباکو توسط وایروس به میان می آید که توسط Ivanowsky عالمی از شوروی

کشف و اساس به میان آمدن وایرولوژی شد. در پوسیده شدن برگ ها ی نباتی باکتریاها رول مهم دارند. باکتریولوژی نباتی بنام (Phytobacteriology) یاد می شود. امراض نباتی از نقطه نظر اقتصاد مهم است. مثلا مرض خاکسترک گل گلاب، سرخی گندم و غیره باعث خسارات محصولات نباتی می شود.

مایکروبیولوژی خاک (Soil Microbiology)

تولید و حاصل خیزی خاک با فلورای مایکروبی آن مناسبت خیلی نزدیک دارد. در طبقات عمیق زمین مایکروارگانیزم ها خیلی کم یا هیچ نیست از این جهت خاکی که از طبقات عمیق زمین کشیده می شود به زراعت مساعد نیست. خاکهاییکه از لحاظ باکتریاهای ثبیت کننده نایتروجن(Azotobacter)غنی اند جهت زراعت زیاد مساعد می باشد. زیرا باکتریاهای مذکور نایتروجن هوا را به خاک تثبیت نموده در نتیجه خاک از لحاظ نایتروجن غنی شده و قابلیت حاصلخیزی زمین را زیاد می سازد. امروز عقیده بر این است که قبل از غنی ساختن خاک توسط کود کیمیاوی، خاک باید از لحاظ مایکروفلورا غنی ساخته شود و همین روش در کشورهای پیشرفته عملی می گردد. غنی ساختن خاک توسط باکتریاها نظر به کود خیلی ارزان تمام می شود بخصوص با کشت نباتات دو مشیمه یی.

اکثر باکتریاها، فنگس ها و پوپنک هاییکه از آنها انتی بیوتیک استحصال می گردد، در خاک زندگی می کنند. صنایع انتی بیوتیک سازی با مایکروبیولوژی خاک مناسبت خیلی نزدیک دارد. یک گرام خاک هزارها حتی ملیون ها باکتری، فنجی و پروتوزوا را احتوا می کند. مواد فاضله حیوانی، انسانی یا نباتی در خاک مبدل به مواد مفیده عضوی دیگر می شوند. لذا فعالیت Antagonisms مایکرواورگانیزم ها در خاک خیلی است. مایکروارگانیزم های مضره در خاک به سرعت به حالت مفیده مبدل می شوند. مثلا اگر یک دستمال با ادرار ملوث به محرقه تر شود برای مدت طولانی قابلیت بیماریزایی و انفکشنی خود را حفظ می کند ولی اگر عین ماده ملوث به ادرار در خاک گور شود بعد از یک مدت کوتاه تعقیم شده و قابلیت تولید مرض خود را از دست می دهد. اعراب زخمی های حرب را زیر خاک می نمودند و معتقد بودند که زخم ایشان التیام خواهد یافت. امروز در اکثر نقاط مملکت ما بالای زخم ها خاک مالیده می شود و دلیل آنهم همین انتاگونیسم خاک خواهد بود که امید التیام زخم

از آن برده می شود.

مایکروبیولوژی صنایع غذایی (Food Microbiology):

در صنایع مواد غذایی اهمیت مایکروبیولوژی خیلی زیاد است. مطالعه مایکروفلورای قطی کانسرو، گوشت، طرز نگهداری و حفاظت آنها، کنترول خوبتر شیر، مسکه و دیگر لبنیات در اثر مایکروبیولوژی صنایع غذایی میسر می گیرد.

شیر و لبنیات، گوشت ومحصولات آن و تخم مرغ سالم که امروز در کشورهای پیشرفته دیگر تولید می شود؛ یگانه دلیل آن اینست که ایشان توانستند از علم بهره مند شوند و مایکروبیولوژی صنایع غذایی، تکنالوژی صنایع غذایی، و کنترل مواد غذایی را در ممالک خود بیشتر توسعه دهند. در کشور ما به اثر کمبود افراد مسلکی و متخصص در این علم و تکنالوژی و کنترول مواد غذایی مواد خوراکه شکل موسومی دارد یعنی بعضی غذاها را از یک موسوم به موسوم دیگر نگهداری کرده نمی توانیم و این خود باعث می شود که خسارات اقتصادی زیادی متقبل شویم.

شعبات جدید مایکروبیولوژی :

فعلاً در ساحه مایکروبیولوژی دو شعبه دیگر به نام مایکروبیولوژی فضایی (Space microbiology) و مایکروبیولوژی طبقات عرض (Geo microbiology) افزوده شده که از تشریحات فوق معلوم می شود که مایکروبیولوژی چقدر یک ساحه وسیع دارد و بدین اساس بعضی از مؤلفین مایکروبیولوژی را به دو شعبه تقسیم نموده اند:

۱- مایکروبیولوژی نظری (Theorical Microbiology)

۲- مایکروبیولوژی تطبیقی (Applied Microbiology)

منابع

BROOKS, G.F., KARROLL, K.C., BUTEL, J.S. and MORS, S.A., 2007. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. *Edn*. 24th., US: McGraw-Hill, Inc., *pp* 5-20

EFE, S., DENGIZ, Z. and KENCI, B., 2008. Microbiology. Zambak Yayinlari., *pp* 6-22

KEETON, W. T., 1980. Biological science. *Edn*. 3rd., W.W. Norton & company.

KENCI, B., *et al*., 2010. Cytology. Zambak Yayinlari., *pp* 49-86

LAX, J., 2000. Cellular micrabiology, John wiley & sons.

LEDERBERG, J., 1992. *Encyclopedia of Microbiology,* 4 vols. Academic Press

LEVINSON, W., 2008. Review of medical microbiology & immunology. *Edn*. 10th., McGraw-Hill, INC., *pp* 1-5

LONSING, M., PRESCOTT, J.P.H. and DONALD, A.K., 1999. Microbiology. McGraw-Hail

McKANE, L. and KANDEL, J., 1996. Microbiology essentials and applications, *Edn*. 2nd., McGraw-Hill, INC., *pp* 2-22

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1986. Microbiology. *Edn*. 5th., Tata McGraw-Hill., *pp* 3-34

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1993. Microbiology: Concepts and Applications., McGraw-Hill., *pp* 21-30

QUINN, P.J., MARKEY, B.K., CARTER, M.E., DONNELLY, W.J. and LEONARD, F.C., 2002. Veterinary microbiology and microbial disease., *pp* 3-7

REISSER, W., 1992. Algae and symbiosis: plants, animals, fungi, viruses, interactions explored. Biopress.

SLEIGH, M.A., 1990. Protozoa and other protists. Chapman & Hall.

SONGER, J.G. and POST, K.W., 2000. Veterinary microbiology. The University of Arizona Tucson, Arizona., *pp* 1-9

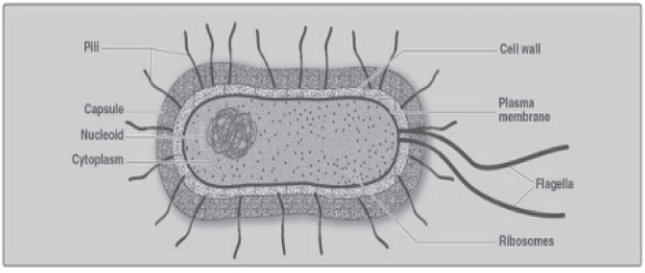
عبید، عبیدالله. ۱۳۸۹. مایکروبیولوژی طبی. جلد اول. انتشارات عازم. صص ۹.

فصل دوم

ساختمان باکتریاها(Bacterial Structure)

اندازه، شکل و ترتیب باکتریاها:

تا قبل از پیدایش میکروسکوپ الکترونی، ساختمان باکتریاها بدرستی شناخته نشده بود و آنها را موجودات حیه بسیار ساده ای می پنداشتند. میکروسکوپ الکترونی اطلاعات خوبی در مورد ساختمان باکتریاها به دست داد و پرده از روی بسیاری نکات تاریک و مبهم این موجودات مایکروسکوپی برداشت.



شناختن اشکال باکتریاها مانند کروی (Coccus)، باسیل (میله یی،چوبک مانند یا Bacillus) و فنری (خمیده، مارپیچ یا Spirillum) کفایت نمی کند باید جسامت و بزرگی آنها هم شناخته شود. باکتریاها تقریبا ۰.۵μm تا ۱.۵μm ضخامت دارند و باکتریاهای متفاوت از نگاه ضخامت متفاوت می باشند. بطور مثال مایکوپلازماها فقط ۰.۳μm ضخامت دارند که مشابه بزرگترین وایروس یعنی pox virus از نگاه ضخامت می باشند. برای اندازه گیری ضخامت باکتریاها از معیارهای ذیل استفاده می شود:

1meter (m) = 1000mm = 100cm

1 cm = 10mm

1 mm = 1000 μm = 10^{-3}m

1 μm = 1000mμm or nanometer (nm) = 10^{-6}m

$1\ nm = 10\ A^{\circ} = 10^{-9}m$

$1\ A^{\circ} = 10^{-10}m$

- ملی متر(mm)۱/۱۰سانتی متر- در اندازه نمودن کالونی باکتریاها
- مایکرون(μ)۱/۱۰۰۰ملی متر- در اندازه کردن طول وعرض باکتریاها
- ملی مایکرون(mμ)۱/۱۰۰۰مایکرون ۱/۱۰۰۰۰۰۰ملی متر برای اندازه کردن وایروس ها

شکل باکتریاها توسط دیوار حجروی مستحکم شان تعین می شود و دارای اشکال مختلف می باشند.

1- Spherical – cocci – coccus
2- Straight rods – Bacilli – Bacillus
3- Coccobacilli – Oval shaped
4- Fusiform – Spindle shaped
5- Comma shaped rods – vibrio
6- Helically curved rods
   - Spirilla – Spirillum
   - Spirochetes
7- Filamentous bacteria

باکتریاها به طور عموم دارای اشکال و مشخصات ثابتی می باشند ولی بعضاً قادر اند تا به اشکال متفاوت رشد کنند و در تحت این مشخصه به دو اصطلاح یا اشکال باکتریایی آشنا می شویم.

Dimorphic- باکتریاهایی که قادر به دو شکل رشد متفاوت اند.
Pleomorphic- منظره یا نمایش در یک باکتری، بیشتر از یک فورم مارفولوژیکی.

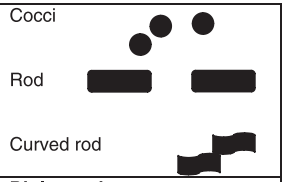
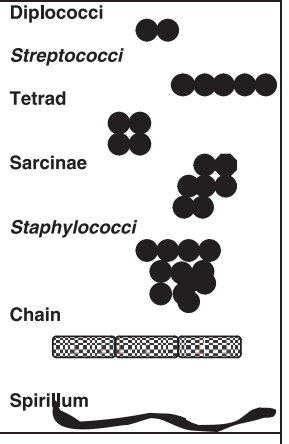
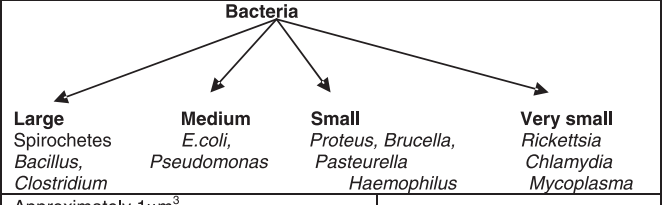
باکتریاها از نگاه ترتیب حجرات نیز متفاوت و قابل تصنیف اند. باکتریاهای کروی از نظر ترتیب حجرات به اساس plane و تقسیم حجراتشان یعنی وقتی که حجرات دختری به پهلوی هم قرار می گیرند، نیز تصنیف می شوند.

1. Diplococci
2. Cocci arranged in chains
3. Cocci arranged in groups or bunches
4. Tetrads/Tetracocci
5. Cuboidal arrangement

در باکتریاهای چوبک مانند نیز ترتیب حجرات متفاوت است که به شکل تنهایی، جوره ای، زنجیره ای و غیره به مشاهده می رسند.

1. Bacilli arranged in pairs = Diplobacilli
2. Bacilli in chains = Bacillus subtilis
3. Trichomes
4. Palisade arrangement = Corynebacterium spp
5. In Streptomyces = Long branching multinucleate filaments which collectively form a mycelium. These have coiled chains of spores (*viz* conidia) which developes at the ends of the vegetative filaments (*viz* hyphae).

STRUCTURE AND ULTRA STRUCTURE

Shape:	Bacteria exist in three common morphologic forms; they are bacillus (short rod), cocci (spherical) and spirochete or spirillum (curved rods). Some of the variations in bacterial shape are coccobacillary, ovoid and filamentous forms.	
Arrangement	The arrangement of bacteria is based upon their dividing planes. **Cocci** *Staphylococci* appear as bunches of clusters *Streptococci* appear in chains *Pneumococci* appear as paired *Micrococci* appear as tetrads (fours) *Sarcina* appear as packets of eight **Bacilli** Regular rods, coccobacillary, chains (short and long). Corynebacteria appear as club shaped *Actinomyces* and *Nocardia* appear as ilamentous branches *Fusobacterium* appear as spindle form *Vibryo and Campylobacter* appear as comma or S shaped *Leptospira and Trepanoma* appear as loosely coiled	
Size:	Varies considerably. Most rods measure between 2 to 5 μm in length by 0.5 to 1 μm in width. Spirochetes are longer – up to 20 μm and narrower 0.1 to 0.2 μm. Cocci approximately have 1μm diameter. Based on size bacteria are grouped into	
		
Volume:	Approximately $1\mu m^3$	
Weight:	Approximately 10^{-12}g	

حجره باکتریاها هم مانند سایر حجرات زنده، از سه بخش اصلی یعنی دیوار حجروی، سایتوپلازم و هسته تشکیل شده اند. در برخی از باکتریاها علاوه بر بخش های اصلی ذکر شده ممکن است ضمایم دیگری از قبیل Capsule, Flagella, Fimbriae, Spore و غیره نیز وجود داشته باشند.

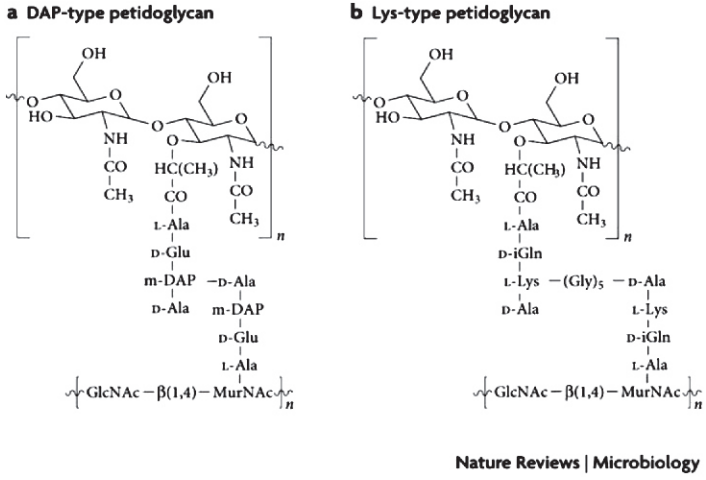
A: دیوار حجروی (Cell wall):

ساختمان دیوار حجروی بکتریاها یکی از بارز ترین اختصاصات حجرات دارای هسته غیر حقیقی (Prokaryotic) است زیرا از نظر کیمیاوی با ساختمان دیواره حجرات دارای هسته مشخص و حقیقی (Eukaryotic) کاملاً تفاوت دارد و یکی از مهمترین صفات تفریق کننده این دو گروپ است. دیوار حجروی ساختمانی است که قسمت خارجی حجره را احاطه نموده که از (polysaccharide) ساخته شده، حیثیت اسکلیت را دارد که برای بکتریاها شکل داده و آنها را از صدمات خارجی محافظت می کند و خاصیت نیمه قابل نفوذ (semi-permeable) را دارد. دیوار حجروی در نشو و نما و انقسام حجره نیز رول مهم دارد. غشای سخت است که شکل حجره را در شرایط ناگوار و سخت مانند فشار (Osmotic) و یخبندی ثابت نگهمیدارد.

ضخامت جدار حجره در باکتریاها بین ۱۰-۲۵ میلی مایکرون می باشد. بعضی اوقات جدار حجروی توسط کلورمفنیکول از بین می رود و آب می شود لیکن حجره حساسیت خود را حفظ می نمایند. این نوع حجـــــــرات به نام Protoplast یا L- FORM نامیده می شود که شکل کروی دارد، تکثر می کند،bacteriophage بالای پروتوپلاست موثر نیست و از فلترها می گذرند ولی کالونی تشکیل داده نمی توانند.

باکتریاها از نقطه نظر رنگ آمیزی گرام (gram-staining) که مربوط به دیوار حجروی آنها است بدو گروپ بزرگ تقسیم می شوند. بعضی باکتریاها گرام مثبت اند و (بنفش) رنگ می گیرند در حالیکه بعضی دیگر بصورت گرام منفی (سرخ) رنگ می شوند. جدار حجروی باکتریا های گرام مثبت نسبتاً ضخیم و ساده است قسمت اعظم آن از Mucopeptide (Peptidoglycan) تشکیل شده که ساختمانی چند لایه دارد. این لایه پپتیدوگلایکن استحکامیت زیادی به دیوار حجروی باکتریاها می دهد. این لایه از

پولیمرهای دای سکراید متشکل از N-acetylglucosamine و N-acetylmuramic acid و پپتایدهای متشکل از چهار یا پنج امینواسید بنام های L-alanine، D-glutamic acid، L-lysine یا Meso-Diaminopimelic acid (منحصر به باکتریاها می باشد) و D-alanine تشکیل شده است. ضخامت این دیواره ۱۵ تا ۸۰ نانومتر است. دیواره باکتریاهای گرام مثبت دارای مقادیر زیادی Teichoic acid است. تیکوئیک اسید پولیمرهای Glycerol phosphate یا Ribitol هستند و در بیشتر باکتریاها به پپتیدوگلایکن متصل می شوند. تیکوئیک اسید مخصوص دیوار و غشاء حجرات باکتریاهای گرام مثبت است که در تعین موادی که وارد حجره می شوند، نقش دارد.



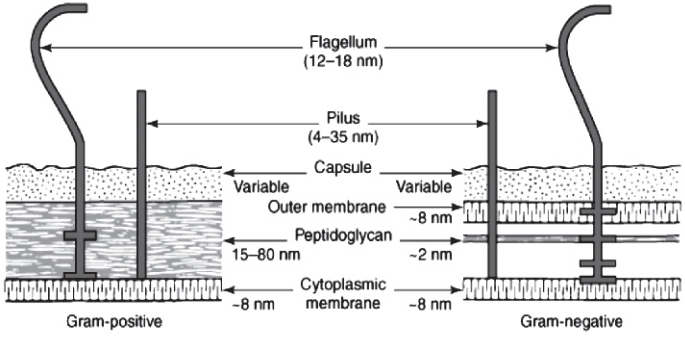
علاوه بر موکوپپتاید و تیکوئیک اسید مواد دیگری نیز در دیوار باکتریاهای گرام مثبت دیده میشوند که از لحاظ بیماری زایی حایز اهمیت اند به طور مثال وجود M Protein که بر توانایی باکتریا در ایجاد مرض می افزاید.

در باکتریاهای گرام منفی ضخامت لایه موکوپپتاید دیوار حجروی کمتر از باکتریاهای گرام مثبت است و حدود ۱ تا ۲ فیصد از وزن خشک حجره را

تشکیل می دهد. باکتریاهای گرام منفی فاقد تکوئیک اسید هستند و سطح خارجی موکوپپتاید را یک غشاء خارجی اضافی نیز می پوشاند. قسمتی از این غشاء خارجی اضافی را Lipopolysaccharide تشکیل میدهد که اثر زهری شدید بر حیوانات دارد و به Endotoxin باکتریاهای گرام منفی موسوم است. خاصیت سمی بودن مربوط به بخش لیپید A است که پس از پارچه شدن باکتری در بدن از دیوار حجروی جدا شده و باعث بروز عکس العمل هایی مانند تب، اسهال و شوک های کشنده در میزبان می شود.

مایکوپلازماها دیوار حجروی هیچ وقت ندارند. دیوار حجروی در تقسیم باکتریاها رول مهم دارد پس از اینکه مواد هستوی تکثیر و از هم جدا شدند در دیوار حجروی (Cell septum) فرو رفتگی در سطح حجره ایجاد می شود این فرورفتگی بسوی درون رشد کرده یک دیوار عرضی تشکیل می دهد که سرانجام منجر به جدا شدن حجره های دختری می گردد. در بسیاری از حجرات میتوانند با هم چسپیده باقی مانده و یک گروپ تشکیل دهند مانند Staphylococci که حالت خوشه ای شکل دارد و Streptococci که زنجیرهای طویل تشکیل می دهند.

شکل: فرق بین دیوار حجروی باکتریاهای گرام مثبت و گرام منفی



B- غشای سایتوپلازمی (Cytoplasmic membrane):

غشای سایتوپلازمی مستقیماً سطح داخلی دیوار حجروی را پوشانیده و از ۰.۵ تا ۰.۷ میلی مایکرون ضخامت دارد. طبقه خارجی آن از Lipid ، وسطی آن از پروتین و طبقه د اخلی آن از Polysaccharide ساخته شده و خاصیت جذب انتخابی دارد. یعنی مواد مفیده را بداخل حجره جذب و مواد میتابولیک شده را به خارج حجره میاندازد. با تخریب این غشاء حجره زندگی خود را از دست می دهد.

در سطح این غشاء سیستم های انزایمی وجود دارد که در ساختن پروتین ها، توکسین ها، نوکلئیک اسید ، انزایم ها و مواد دیگرسهم مهم دارد. در انقسام حجروی کروموزوم ها به یک نقطه ازغشاء خود را محکم نموده و انقسام دوگانه کروموزوم ها صورت می گیرد. این نقطه را بنام Original point یاد می کنند. بطور عموم در ساختن و بیرون انداختن اجزای حجره، تنفس، ترشح انزایم ها و جذب مواد غذایی رول مهم دارد.

C- سایتوپلازم (Cytoplasm):

پروتوپلازم باکتریاها که توسط غشای سایتوپلازمی احاطه می شود مشابه به پروتوپلازم تمام حجرات زنده است و شامل سایتوپلازم می باشد که مواد هستوی و سایر محتویات در آنجا قرار دارند.

سایتوپلازم باکتریاها دارای پروتین، لیپوپید، مرکبات فاسفور، کروماتین، گرانیول ها، مواد کلوئیدی و غیره می باشد. این محیط مرکز فعل و انفعالات حیاتی باکتریاها است و دایم در حالت تغییر می باشد. ترکیب سایتوپلازم باکتریاها تقریباً مشابه با حجرات زنده دیگر می باشد وغنی از RNA می باشد. pH آن که اغلب ۷ تا ۷.۲ است و غنی بودن سایتوپلازم از نوکلئوپروتین ها حالت Basophil شدید به سایتوپلازم می دهد.

محتویات داخل سایتوپلازم:

۱- Ribosome :

به کمک مایکروسکوپ الکترونی رایبوزوم ها را بصورت دانه های خورد و گرد با قطر ۱۰ تا ۳۰ ملی مایکرون می بینیم که ظاهراً تمامی سایتوپلازم را به استثنای مناطق هسته یی فرا گرفته اند . رایبوزوم ها از ۴۰

فیصد پروتین و ۶۰ فیصد RNA تشکیل شده اند و در ساختن پروتین سهم دارند. رایبوزوم ها دارای دو جزء اند. این جزءها در باکتریاها عبارت اند از 30s و 50s در جریان سنتز پروتین این دو جزء به هم ملحق شده و رایبوزوم 70s را تشکیل می دهند. رایبوزوم های باکتریاها از رایبوزوم های یوکاریوت ها (80s) کوچکتراند. با وجود تشابه زیادی که بین رایبوزوم باکتریاها و حجرات انسانی وجود دارد، تفاوت های فاحشی نیز به چشم می خورد.

2- Mesosome:

غشای سایتوپلازمی در بعضی از باکتریاها بخصوص باکتریاهای گرام مثبت در چند نقطه فرورفتگی حاصل کرده و بدل به میزوزوم می شود. میزوزوم ممکن است ساده یا دارای پیچ و خم باشد و سطح وسیع ازغشای حجره را احتوا نماید. در نتیجه بوجود آمدن میزوزوم تغیر درحجم حجره داده نمی شود اما سطح غشای آن وسیعتر می گردد. در نتیجه عمل جذب و دفع مواد بهتر انجام می گیرد و از دیگر اعمالیکه به میزوزوم ها نسبت می دهند شرکت در تشکیل دیوار حجروی باکتریاها و کمک در جدا شدن ماده هستوی به هنگام تقسیم حجروی می باشد.

۳ – Inclusion bodies :

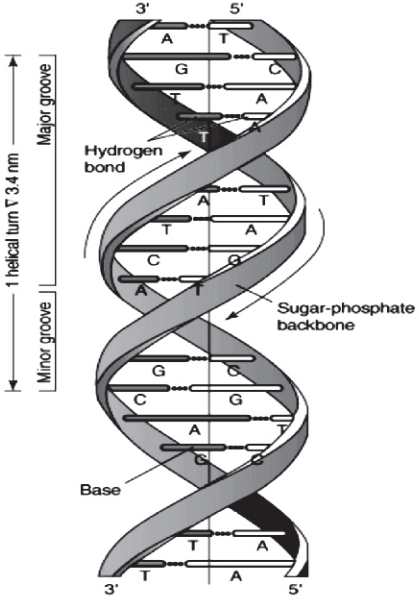
در سایتوپلازم باکتریاها گرانیول های مختلف که انرژی و مواد غذایی را ذخیره می کنند، موجود می باشد. جسامت و تعداد آنها در محیط مساعد زیادتر و در شرایط نا مساعد کاهش می یابد. مواد ذخیره ای گرانیول ها شامل دانه های Volutin، Lipid، Glycogen، Starch، Sulfar و غیره است. به طور مثال *Corynebacterium diphtheriae* دارای گرانیول های مملو از فاسفیت پر انرژی می باشد که به نام گرانیول های Volutin یاد می شود.

۴- مواد هستوی (Nuclear material or Nucleoid):

ماده هستوی باکتریاها شامل یک مالیکول حلقوی DNA می باشد که بطور متراکم بداخل باکتریاها ومتصل به میزوزوم قرار دارد. اما مثل حجرات Eukaryotic (موجودات اند که هسته و غشاء هستوی دارند) توسط غشای هستوی احاطه نشده و ماده هستوی در قسمت مرکزی سایتوپلازم موقعیت دارد و در مراحل مختلف نشو و نما و تکامل حجره بشکل رشته ها، خوشه های درشت و فیته ها بملاحظه می رسد. باکتریاها در حالت استراحت خود عموماً

دارای یک نوکلئید بوده اما در زمان نموی حجره باکتری، نوکلئید حجره به شکل یک مالیکول بزرگ تجمع نموده و ساختمان حلقوی را اختیارمی کند. قبل از انقسام حجروی درحجره باکتریاها دو نوکلئید موجود است اما در دوره Logarethmic phase نموی خود حجره باکتری ۴ یا بیشتر نوکلئید احتوا می کند.

می دانیم که قسمت اعظم هسته باکتریاها مانند سایرحجرات موجودات زنده دیگر از DNA تشکیل شده است که عمل مهم هسته شرکت در تقسیم حجروی و به راه انداختن این پدیده است. انتقال خصوصیات باکتری به نسل بعد توسط هسته انجام می شود. همچنین تغییراتیکه در باکتری انجام می شود مثل Mutation و انتقال این تغیرات به نسل بعد توسط هسته انجام می گیرد.



ضمایم ساختمانی حجره باکتریاها :

Bacterial Slime (Slime Layer):

برخی از باکتریاها ماده جلاتینی (ژله مانند) در قسمت خارجی حجره خود تولید می کنند که بنام slime layer یاد می شود به سطح حجره چسپیده و در آب منحل می باشد ساختمان آن پولی سکراید و یک عامل Virulance محسوب می شود که چسپیدن باکتریاها را به سطح اجسام خارجی کمک می نماید.

کپسول (Capsule):

بعضی باکتریاها در خارج جدار حجروی خود کپسول دارند که محکم به حجره باکتریاها چسپیده و ساختمان متراکم با یک مرز کاملاً مشخص دارد. از پولی سکراید ها با وزن مالیکولی زیاد تشکیل شده است. در کپسول بعضی باکتریاها مواد پروتینی نیز وجود دارد مانند *Bacillus anthracis*.

کپسول در ویرولانس باکتریاها ی گرام مثبت و گرام منفی نقش مهم دارد و انتی جن ها کپسول مشخص دارند مانند *Streptococcus pneumonia* و *Klebsiella pneumonia* . اکثر باکتریاهای کپسول دار در بدن حیوان و انسان کپسول تولید می دارند. کپسول عموماً به عنوان لایه محافظ عمل می کند. همچنین ممکن است منبع ذخیره مواد غذایی یا مواد بیکاره باشد. از سوی دیگر وجود کپسول در باکتریاهای بیماری زا قدرت بیماری زایی آنها را افزایش می دهد و گاهی باکتریاها با از دست دادن کپسول به انواع بی آزار تبدیل می شوند. تفاوت بین سویه های بیماریزای *Streptococcus pneumonia* با انواع غیر بیماری زای آن فقط در داشتن یا نداشتن کپسول است. بنابراین می توان نتیجه گرفت که وجود کپسول، عمل Phagocytosis قوه دفاعی میزبان را دشوار می سازد و باعث رشد باکتریاها در بدن میزبان و ایجاد مرض می شود.

اکثرمیکروبها زمانیکه در وسط های غنی کاربوهایدریت قرار دارند قابلیت تولید کپسول را پیدا می کنند. وظایف کپسول بطورعموم عبارتند از:

۱ـ محافظه باکتریاها از قوه دفاعی بدن یا کرویات سفید خون یعنی عملیه Phagocytosis.

۲- محافظت باکتریاها از تأثیرات و حمله Antibodies.
۳- محافظت باکتریاها از تأثیرات Bacteriophages .
۴- حفاظت باکتریاها ازخشک شدن.
۵- موجودیت کپسول در تعین تیپ، تیپ های سیرولوژیکی و تشخیص باکتریاها کمک می کند.

:Flagellum

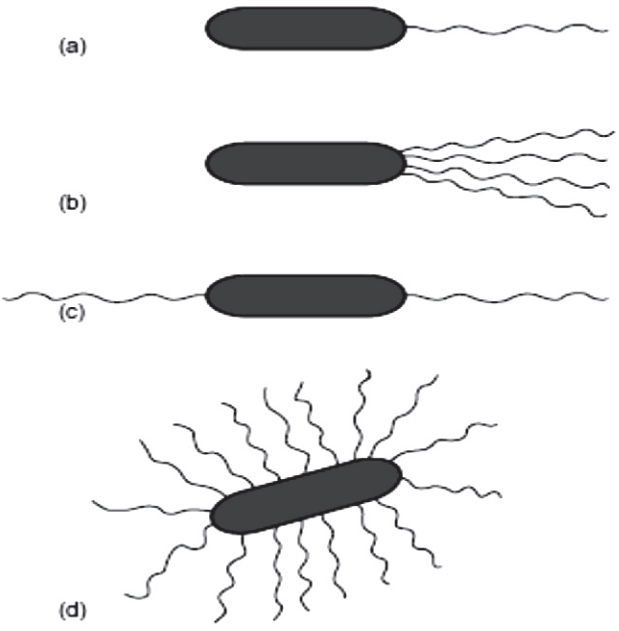
فلاجیل باکتریاها ۱۳ الی ۱۴ مایکرون طول دارند. بشکل رشته های مارپیچی و قمچینی می باشند. بصورت عموم از پروتین Flagelline ساخته شده که حاوی چندین نوع امینواسید می باشد مانند:

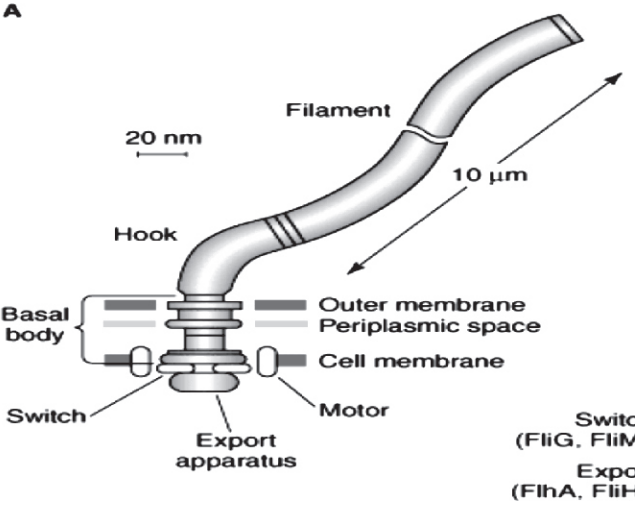
Lysine, Alanine, Aspartic acid, Glutamic acid و غیره.

فلاجیل که عامل حرکت باکتریاها می باشد از رشته های باریک و الاستیکی ساخته شده منشأ خود را از گرانیول های اساسی که در قسمت خارجی سایتوپلازم (تحت غشاء سایتوپلازم) قراردارند می گیرند.

باکتریاها از نقطه نظر فلاجیل به ۵ گروپ تقسیم می شوند که در تشخیص و تفریق باکتریاها رول مهم دارند.

۱- هرگاه هیچ فلاجیل در باکتریاها موجود نباشد به نام Atrichia یاد می شود.
۲- هرگاه در یک نوک باکتریاها یک عدد فلاجیل موجود باشد به نام Monotrichia یاد می شود. مانند باکتریاهای *Vibrio cholera*
۳- هرگاه فلاجیلا در دو نوک باکتریاها موقعیت داشته باشد به نام Amphitrichia یاد می گردد. مانند *Spirillum volutans*
۴- هرگاه در یک یا دو نوک باکتریاها مانند گیسوی موی چندین عدد فلاجیلا موقعیت داشته باشد به نام Lophotrichia یاد می شود مانند: *Alcaligenes faecalis*
۵- هرگاه فلاجیلا در تمام سطح باکتریاها موقعیت داشته باشد به نام Peritrichia یاد می شود. مانند: *Salmonella typhe* , Proteus که در اثنای حرکت تمام فلاجیلا به سمت مخالف باکتریاها فعالیت دارند و باکتری را به پیش می رانند.


(a)
(b)
(c)
(d)


A
Filament
20 nm
10 µm
Hook
Basal body
Outer membrane
Periplasmic space
Cell membrane
Switch
Motor
Export apparatus
Switc
(FliG, FliM
Expo
(FlhA, FliH

:Fimbriae

فیمبریا بشکل مویک ها روی سطح بعضی از باکتریاهای گرام مثبت و گرام منفی موجود می باشد و از پروتینی به نام Pilin ساخته شده یکی ازعوامل ویرولانسی محسوب می شود که اتصال یا چسپیدن باکتریاها را به سطح حجرات پستانداران مساعد می سازد. بخصوص *Neisseria gonorrhoeae* از این جمله باکتریاها است که باعث سوزاک می شود. فیمبریای جنسی یا pili در وقت Conjugation در انتقال ماده جنیتیکی بین باکتریاها نقش دارند.

اسپور(Endospore):

اسپور عبارت از اجسام مدور یا بیضوی اند که بداخل پروتوپلازم یا حجره باکتریایی تشکیل می شود و در مقابل شرایط ناگوار محیطی خیلی مقاوم می باشد. اسپور توسط باکتریاهای Aerobic , Anaerobic , Pathogen و Nonpathogen خارج از عضویت انسان، حیوان و وسط های زرعی یعنی در محیط خارجی نا مساعد تولید می گردد. پروتوپلازم حجره آب خود را ضایع نموده و به یک کنار باسیل جمع شده شکل کروی یا بیضوی و مقاوم را به خود می گیرد که از نظر میتابولیکی غیر فعال، دارای جدار ضخیم و معمولاً توسط جنس های باسیلوس و کلستردیوم ساخته می شود. تولید اسپور را توسط باکتریاها Sporulation می گویند.

اسپورها در محیط خشک ، حرارت بلند و پایین، در مواد ضد عفونی pH، و حرارت آب جوش به مدت چندین ساعت زنده می مانند. در اثنای جوش دادن باکتریاهای vegetative کشته می شوند ولی اسپورها مقاومت دارند. اسپورهای تیتانوس و انترکس در خاک به مدت طولانی حتی بیش از ۳۵ سال زنده می مانند. اسپورهای انترکس در گوشت به مدت ۱۵۰ سال حیاتیت خود را حفظ نموده و درصورت مساعد شدن شرایط محیطی مناسب اسپورها سریعاً فعال می شوند و نقش مهم را در اپیدیمیولوژی امراضی مانند انترکس، تیتانوس وغیره دارند.

اسپورها به حرارت اتوکلاو یعنی ۱۲۱ درجه سانتی گراد تحت فشار ۱۵ پوند درظرف ۱۵ دقیقه و در oven یعنی حرارت خشک در ۱۵۰ تا ۱۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ الی ۶۰ دقیقه کشته می شوند. در وقت جوانه زدن اسپور می پندد، جسامت آن بزرگ می شود، مقدار آب در سایتوپلازم زیاد شده و

عملیه میتابولیزم آن بلند می رود.

اشکال اسپور:

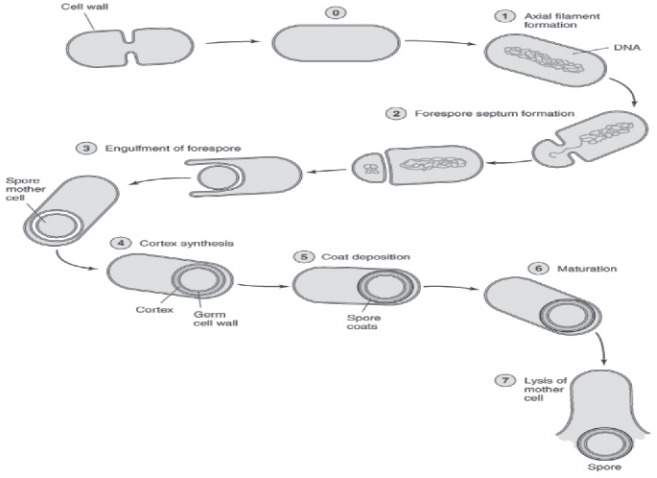
بزرگی اسپور نظر به جسامت باسیل متفاوت می باشد در بعضی باسیل ها مانند Bacillus subtilis بزرگی اسپور از باسیل تجاوز نکرده و باسیل را نمی پنداند.

در بعضی باسیل های دیگر مانند Clostridium perfringenes اسپور باسیل را می پنداند از همین لحاظ نام کلستردیوم به آن داده شده است.

هرگاه اسپور در وسط باسیل موقعیت داشته باشد به نام اسپور مرکزی یا Central spore و اگر اسپور در یک نوک حجره باکتریاها موقعیت داشته باشد به نام Terminal spore و در صورتیکه اسپور نزدیک به انجام یا نهایت باسیل واقع باشد به نام Subterminal spore یاد می گردد.

هرگاه germination اسپور از وسط صورت گیرد به نام Equatorial germination و اگر از یک قطب صورت گیرد به نام Pollar germination یاد می شود.

The stages of spore formation



منابع

BARON, E.J. and FINEGLD, S.M., 1990. Bailey & Scoth, s Dignostic microliology., C.V. Moshy Company.

BROOKS, G.F., KARROLL, K.C., BUTEL, J.S. and MORS, S.A., 2007. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, *Edn*. 24th., US: McGraw-Hill, Inc., *pp* ۱۰-۳۲

EFE, S., DENGIZ, Z. and KENCI, B., 2008. Microbiology. Zambak Yayinlari., *pp* 6-22

HENDERSON, B., M. WILSON, R.M. and Lax, A.S.,1999. Cellular microliology., John wiley& Sons.

KENCI, B., *et al*., 2010. Cytology. Zambak Yayinlari., *pp* ۲۰-86

LEDERBERG, J., 1992. Encyclopedia of microbiology, 4 vols. Academic Press

Levinson, W., 2008. Review of medical microbiology & immunology. Edn. 10th., McGraw-Hill, INC., *pp* ۱۰-۲۶

LONSING, M., PRESCOTT, J.P.H. and DONALD, A.K., 1999. Microbiology., McGraw-Hail.

MADIGAN, M.T., MARTINK, J.M. and PARKER, J., 1997. Brock biology of microorganisms. Prentice Hall International, Inc.

McKANE, L. and KANDEL, J., 1996. Microbiology essentials and applications, *Edn*. 2nd., McGraw-Hill, INC., *pp* ۶۵-۸۲

MOAT, A.G. and FOSTER, J.W., 1995. Microbial physiology, *Edn*. 3rd., Wiley-Liss.

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1986. Microbiology. *Edn*. 5th., Tata McGraw-Hill Edition 1993., *pp* ۷۳-۹۹

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1993. Microbiology: Concepts and Applications. McGraw-Hill., *pp* ٦٥-٨٠

QUINN, P.J., MARKEY, B.K., CARTER, M.E., DONNELLY, W.J. and LEONARD, F.C., 2002. Veterinary microbiology and microbial disease., *pp* 3-7

SCHAECHTER, M., INGRAHAM, J.L. and NEIDHARDT, F.C., 2006. Microbe. American Society for Microbiology.

SLEIGH, M.A., 1990. Protozoa and other protists. Chapman & Hall.

SONENSHEIN, A.L., HOCH, J.A. and LOSICK, R., 2002. Bacillus subtilis and its closest relatives. American Society for Microbiology.

SONGER, J.G. and POST, K.W., 2000. Veterinary microbiology. The University of Arizona Tucson, Arizona., *pp* 1-9

فصل سوم

میتابولیزم باکتریاها

(Bacterial Metabolism)

اصطلاح میتابولیزم عبارت از تمام فعالیت های کیمیاوی سازمان داده شده یی است که توسط یک حجره انجام می یابند و یا به عبارت دیگر تمام تعاملات بیوشیمیکی که در داخل یک حجره زنده رخ می دهد را میتابولیزم می نامند. این زمانی آغاز می شود که غذا از اطراف به داخل حجره آورده شده است. میتابولیزم حجروی در باکتریاها عبارت از تعاملات کیمیاوی است که توسط حجره باکتریا برای تولید انرژی و سنتز مالیکول های عضوی انجام می پذیرد.

میتابولیزم دو نوع تعاملات را شامل می شود که عبارت اند از anabolism (تعمیری) و catabolism (تخریبی).

انابولیزم عبارت از آن دسته از تعاملات میتابولیکی است که طی آن مالیکول های پیچیده از مالیکول های ساده سنتز می شود. در مسیر انابولیزم انرژی به مصرف می رسد. تمام تعاملات سنتز کننده در تمام انواع حجرات از نوع تعاملات انابولیکی می باشد و یک مثال خوب آن فتوسنتز می باشد که طی این عملیه از مالیکول های کاربن دای اکساید و آب برای ساختن مالیکول های عضوی چون گلوگوز در حضور نور آفتاب بهره گرفته می شود.

کتابولیزم عبارت از آن دسته تعاملات میتابولیکی است که مالیکول های بزرگ و پیچیده به مالیکول های ساده شکسته می شوند و در این مسیر با شکستن پیوند های کیمیاوی و تخریب مالیکول های بزرگ به مالیکول های ساده، انرژی آزاد می شود که انرژی آزاد شده در حجره ذخیره می گردد.

در هر دو نوع تنفس هوازی و بی هوازی مالیکول های عضوی چون کاربوهایدریت، شحم ، پروتین طی تعاملات کتابولیکی شکسته شده و در نتیجه انرژی تولید می شود. انرژی تولید شده از اثر این تعاملات در بین باندهای این

مالیکول ها ذخیره می شود و نهایتاً انرژی حاصله از مسیرهای کتابولیکی در جهت براه اندازی مسیرهای انابولیکی استفاده می شود.

بطور خلاصه نتایج نهایی تمام فعالیت های میتابولیکی در یک ارگانیزم عبارت است از:

۱. بایوسنتز مالیکول های عضوی
۲. تخریب یا شکسته شدن مواد بلع شده
۳. تشکیل مالیکول های ذخیره شده
۴. Detoxification یا دفع مالیکول های توکسیکی
۵. بیرون راندن یا حذف مالیکول های بیهوده و اضافی از بدن

انرژی(Energy)

انرژی عبارت از توان کار است. تمام حجرات انرژی را استفاده می نمایند که باکتریاها هم از این مشخصه مستثناء نیستند. به طور مثال در یک نبات برای رشد برگ ها و در یک انسان برای دویدن انرژی به مصرف می رسد، قابل ذکر است که انرژی می تواند به اشکال مختلف چون انرژی کیمیاوی، انرژی نوری، انرژی الکتریکی، انرژی حرارتی، انرژی هستوی، و انرژی میکانیکی (انرژی پوتنشیل و حرکی) وجود داشته باشد.

روش های زیادی برای اندازه گیری انرژی وجود دارد ولی معمول ترین روش انرژی حرارت می باشد؛ بخاطری که تمام اشکال دیگر انرژی می تواند بر انرژی حرارتی تبدیل شود. علمی که حرارت را مورد مطالعه قرار می دهد به نام Thermodynamic یاد می شود که معنی تغیرات حرارت را افاده می کند و واحد حرارت عبارت از کالوری calorie می باشد.

یک کالوری عبارت از مقدار حرارتی است که برای بلند بردن درجه حرارت یک گرام آب از $14.5C^{o}$ به $15.5C^{o}$ نیاز می باشد. واحد حرارت در بیولوژی عبارت از کیلو کالوری می باشد (Kcal) که یک کیلوکالوری مساوی به ۱۰۰۰ کالوری می باشد.

رول انزایم ها در تولید انرژی:

انزایم ها عبارت از کتالایزرهای بیولوژیکی یا پروتین های پیچیده ای هستند که توسط حجرات جانداران تولید شده و تعاملات شیمیایی مخصوص را

به صفت کتالایزر سرعت می بخشند و نقش مهمی را در حیات حجروی ایفا می نمایند. انزایم ها تقریباً تمام انفعالات مورد نیاز میتابولیزم حجره را کتالایز می کنند و در تمام مراحل مصرف میتابولیت ها از داخل شدن تا مستقر شدن در حجره مادری و دختری دخالت می نمایند. کتالایز (Catalysis) چنین مفهومی را می رساند که انزایم مواد را به هم نزدیک می نمایند و واکنش شیمیایی را به شدت بین آنها پخش می کند و سرعت تعاملات را افزایش داده بدون آنکه خود به مصرف برسد. انزایم به روند تعاملی که از نظر ترمودینامیک امکان پذیر است سرعت می بخشد بدون آنکه فریب تعادل (Equilibrium constant) آن تعامل را مختل سازد. واکنش های انزایمی بدون حضور انزایم نیز انجام پذیر هستند ولی با سرعتی کند که مستلزم برقراری شرایط بسیار دقیق حرارت، pH ، و غیره است.

معمولاً انزایم ها در جریان فعالیت های کاتالایتیک، تخریب نمی شوند و مقدار بسیار جزئی از آنها ممکن است سبب انجام و مداومت واکنش های گسترده یی شود.

برای نمونه انزایم Catalase تبدیل یا تغییر هایدروجن پراوکساید را به آب و اکسیجن کتالایر می نمایند. یک مالیکول Catalase می تواند چهل ملیون مالیکول های هایدروجن پراوکساید را در یک ثانیه تجزیه نماید ولی برای کتالایز عین مقدار مالیکول های هایدروجن پراوکساید توسط اتم های آهن به ۳۰۰ سال زمان ضرورت است. اگر مقدار ماده اولیه یی که انزایم باید برآن اثر کند زیادتر از حد معمول باشد، انزایم به حد اشباع می رسد یعنی دیگر نمی تواند همه آن را تجزیه نماید و افزودن ماده اولیه سبب افزایش محصول نمی شود.

Exoenzymes

انزایم های خارجی عبارت از انزایم هایی هستند که در سطح خارجی غشای سایتوپلازم حجره متصل اند یا در فضای پری پلازمیک قرار دارند و معمولاً این انزایم ها می توانند به محیط خارج از حجره هم ترشح شوند. این انزایم ها قادر اند تا برخی از ترکیبات سخت و مغلق محیط را به مواد ساده و محلول قابل عبور از غشای سایتوپلازمی حجره تبدیل کنند و متعاقب آن این

مواد ساده می تواند به مصرف انرژی و دیگر مواد مورد نیاز پروتوپلازم برنسد.

انزایم هایکه به پولیمرها حمله ور شده و تعدادی از واحدها را از یک انتهای زنجیر پلیمر برمی دارند نیز جزء انزایم های خارجی می باشند، بطور مثال انزایم های Exonucleases.

Endoenzymes

انزایم های داخلی معمولاً در محیط اطراف حجره پراکنده نمی شوند و بسیار وابسته به حجره می باشند. این انزایم ها در محیط داخل حجره فعالیت می کنند و در سنتز حجروی، آزاد کردن انرژی از مواد غذایی و دیگر فعالیت های حجروی دخیل می باشند.

انزایم های که اتصال های داخلی یک زنجیر پولیمری را می شگافند را نیز Endoemzyme می نامند مانند انزایم های Endonucleases .

دسته بندی انزایم ها

کلیهٔ انزایم ها بنابر نظر کمیسیون بین المللی بیوشیمی انزایم ها در شش دسته تقسیم بندی شده اند که ذیلاً شرح داده می شوند:

۱- Oxidoreductase: این نوع انزایم در واکنش های اکسیدشین (Oxidation reduction) و احیاء شرکت میکنند و انتقال الکترون را در میتابولیزم انرژی زا کتالایز می نماید مانند انزایم Cytochrome oxidase.

۲- Transferase: این انزایم ها در انتقال گروپ های وظیفوی مانند گروپ اماین (amino group) کمک می کنند مانند انزایم Alanine deaminase.

۳- Hydrolase: این طبقه از انزایم ها در نصب آب (Hydrolysis) رول دارند که ترکیبات ایستری، پپتیدی و گلایکوزیدی را هایدرولایز می کنند، مانند انزایم های Lipase و Sucrase.

۴- Lyase: این نوع انزایم ها اتم ها را بدون هایدرولایز کردن از ماده اولیه بر می دارند یا خارج می سازند، مانند انزایم Oxalate decarboxylase.

۵- Isomerase: این نوع انزایم ها آرایش اتم ها را در داخل یک مالیکول کمک می کنند یا به عبارت دیگر باعث Isomerization داخل مالیکول می گردند. مثال خوب این انزایم ها Glucose phosphate isomerase می باشند.

۶- Ligase: این انزایم ها اتصال دو مالیکول را مساعدت می کنند که پل اتصالی بین دو مالیکول ماده اولیه بر قرار می شود مانند DNA Ligase.

ساختمان انزایم

انزایم ها عموماً از لحاظ ترکیبات کیمیاوی شان به دو دسته تقسیم می شوند.

- انزایم های ساده Simple enzymes
- انزایم های مرکب Complex enzymes

انزایم های ساده فقط از امینو اسید ساخته شده اند مانند Pepsin ولی انزایم های مرکب حاوی امینواسید و مرکبات دیگر غیر پروتینی نیز میباشند مانند Catalase. انزایم های مرکب از دو قسمت ترکیب شده اند. که یکی apoenzyme نامیده می شود که معمولاً پروتین است و قسمت دیگری Prosthetic نامیده می شود که در انزایم Catalase این قسمت را آهن تشکیل می دهد.

Apoenzyme and Prosthetic group

قسمت پروتین یک انزایم مرکب را Apoenzyme می نامند. عمل اختصاصی یک انزایم بستگی به نوع اپوانزایم آن دارد و به همین منظور هر انزایم منحصر به ماده اولیه مخصوص خود بوده و قادر به شناسایی آن می باشد. ناگفته نباید گذاشت که قسمت اپوانزایم وقتی فعال می شود که به گروپ prosthetic وصل شود که این گروپ پروستتیک می تواند عضوی و یا غیر عضوی باشد.

Cofactors

انزایم های مرکبی که گروپ Prosthetic آنها از مالیکول های غیر عضوی ساخته شده باشد را Cofactors می نامند. بطور مثال منرال های چون Ca^{++} ، Mg^{++}، و یون K^{+} در ساختمان این نوع انزایم ها اشتراک دارند.

Coenzymes

انزایم های مرکبی که گروپ Prosthetic آنها از مالیکول های عضوی ساخته شده را Coenzyme می نامند. به طور مثال ویتامین ها در ساختمان کوانزایم ها اشتراک دارند. قسمت Prosthetic گروپ وظیفوی کو انزایم ها و کوفاکتورها محسوب می شود و پیوندهای مواد اولیه ای که انزایم به او می چسپد را هدف قرار می دهد بطوری که قسمت Apoenzyme ماده اولیه یا Substrate را شناسایی و بعداً قسمت Prosthetic انزایم ساختمان آن را تغیر می دهد.

میکانیزم عمل انزایم:

انزایم معمولاً نسبت به ماهیت واکنشی که انجام می دهد و ماده یا مواد اولیه ای که بر آن اثر می گذارد فوق العاده اختصاصی است. هر نوع انزایم واکنش شیمیایی ویژه ای را بر ماده ی بخصوصی (substrate) انجام می دهند. بنابر این هر انزایم در واکنش مربوط به خود یعنی تخصصی عمل می نماید. ویژه گی انزایم را می توان مانند ویژه گی قفل و کلید دانست، کلید، قفل مخصوص بخود را باز می کند و قفلی دیگر ولو به ظاهر مشابه را نمی گشاید. ناحیه مخصوصی که انزایم با آن به ماده اولیه اتصال پیدا می کند را محل فعال (active site) می نامند. اتصال انزایم در این محل فعال بالای ماده اولیه به تشکیل Enzyme – substrate complex می انجامد که متعاقب آن سبب آرایش دوباره اتم ها در مالیکول ماده اولیه می شود و شکستن یا تبدیل آن را به مالکیول دیگر میسر می سازد که نهایتاً با تغییر یا دگرگونی محل فعال در ماده اولیه، انزایم آزاد می گردد. انزایم مذکور بدون هیچگونه تغییر با ماده اولیه دیگری ترکیب می شود.

انواع مختلف باکتریاها فعالیت های انزایمی متفاوت و مشخص دارند که از جنبه تشخیص لابراتواری واجد اهمیت است و این امر باکتریولوژیست ها را قادر می سازد تا با کمک انزایم ها که ما حصل آنها مصرف مواد مختلف از جمله قندهاست، باکتریاهای متفاوت را متمایز نمایند. بطور مثال باکتری E.coli که معمولاً در روده وجود دارد قند لکتوز را به واسطه داشتن انزایم β-D-galactosidase تجزیه کرده و لاکتیک اسید و مواد دیگری از قبیل هایدروجن

و انیدرید کربنیک ایجاد می کند، در صورتی که باکتری *Salmonella typhi* کاملاً بر لاکتوز بی تاثیر می باشد.

بطور کل خواص انزایم ها قرار ذیل است:

۱- انزایم ها تعاملات یا واکنش ها را به تنهایی خود آغاز نموده نمی توانند بلکه رول آنها در سرعت بخشیدن به واکنش هایی است که قبلاً آغاز شده باشد. همچنین آنها فعال سازی انرژی که برای تعاملات مخصوصی نیاز است را کم می سازند.

۲- انزایم ها معمولاً با اضافه نمودن پسوند ase در اخیر نام ماده اولیه یا نوع واکنش که توسط آنها کتالیز می شود نامگذاری می شوند بعنوان مثال Chitin توسط انزایم به نام Chitinase کتالایز می شود.

۳- انزایم ها در تحت کنترول DNA در حجره سنتز می شوند اما آنها در هر دو شرایط یعنی به شکل Intracelluler و extracellular فعال بوده و وظیفه خود را انجام داده می توانند.

۴- هر انزایم در pH معین فعالیت خوب دارند که با کم یا زیاد شدن pH ، فعالیت انزایم نیز کم می شود.

۵- انزایم ها ساختمان پروتینی دارند و آنها در درجه حرارت Optimal فعالیت نموده می توانند. زیاد یا کم شدن درجه حرارت بالای فعالت انزایم ها تاثیر ناگوار دارد.

۶- انزایم ها به شکل تیم کار می کنند بطوری که آنها واکنش های مسلسلی را کتالایز می کنند و محصول یا فرآورده یک واکنش می تواند ماده اولیه واکنش بعدی باشد. بطور مثال انزایم امایلز نشایسته را منحیث ماده اولیه خود به مالتوز تجزیه می کند که بعداً انزایم Maltase قند مالتوز را به واحد های گلوکوز پارچه می کند و متعاقب آن سلسله یازده انزایم دیگر اشتراک دارند تا گلوکوز به لکتیک اسید کتابولایز می شود.

۷- مساحت ناحیه ای که برای عمل انزایم در بالای Substrate موجود است نیز روی سرعت واکنش تأثیر دارد فلهذا درجه واکنش انزایم مستقیماً متناسب به کل مساحت سطح ماده اولیه می باشد. بعنوان مثال انزایم پیسین بطور قابل توجهی بالای گوشت قیمه موثر تر است تا بالای یک تکه گوشت بزرگ.

۸- انزایم ها می توانند به شکل آزاد در سایتوپلازم رها باشند و یا به اجزاء حجروی متصل باشند.
۹- واکنش های انزایمی قابل برگشت هستند.
۱۰- انزایم ها بسیار اختصاصی عمل می کنند و آنها تنها بالای ماده اولیه مخصوص خود عمل می کنند.
۱۱- واکنش های انزایمی بسیار سریع انجام می پزیرد و آنها به شدت موثر هستند بطوری که چندین مالیکول را در یک ثانیه کتلایز می نمایند.

: Bacterial photosynthesis

شما می دانید که حجرات باکتریاها از نوع پروکاریوت بوده ولی بعضی از آنها مانند نباتات Photoautotrophs هستند و عملیه فوتوسنتز را انجام می دهند. فوتوسنتز باکتریاها از بعضی لحاظ ها از فوتوسنتز نباتات متفاوت است زیرا بعضی از باکتریاها مالیکول های کلوروفیل را برای گرفتن انرژی نور آفتاب استفاده نمی کنند و در عوض دیگر رنگدانه ها را استفاده می نمایند. بطور عموم سه گروپ بزرگ باکتریاهای فوتوسنتز کننده وجود دارد که عبارتند از سیانوباکتریاها، باکتریاهای بنفش و باکتریاهای سبز:

۱- سیانوباکتریاها (Cyanobacteria) فوتوسنتز هوازی را انجام می دهند و آنها آب را منحیث دهنده الکترون استفاده می کنند که در جریان فوتوسنتز اکسیجن تولید می شود. این سیستم فوتوسنتز در یک سیستم غشاء تایلاکوییید وسیع که توسط ذرات Phycobilisomes سطر شده، وجود دارد.

۲- باکتریاهای سبز(Green bacteria) فوتوسنتز غیر هوازی را انجام می دهند و آنها مالیکول های تقلیل داده شده نظیر H_2,H_2S, S و مالیکول های عضوی را منحیث منابع الکترون برای تولید NADH و NADPH استفاده می نمایند. این سیستم فوتوسنتز در حجرات این نوع باکتریاها در وزیکل های ellipsoidal که مجموعا به نام chlorosomes یاد می شود و بشکل غیر وابسته از غشاء سایتوپلازمی وجود دارند، موقعیت دارد.

۳- باکتریاها بنفش (Purple bacteria) نیز همانند باکتریاهای سبز فوتوسنتز غیر هوازی را انجام داده و مالیکول های تقلیل داده شده نظیر H_2, H_2S, S و مالیکول های عضوی را منحیث منابع الکترون برای تولید NADH و NADPH استفاده می کنند با این تفاوت که این سیستم فوتوسنتزی در سیستم های غشاء لایه لایه به نام Lamellar membrane systems موقعیت دارد.

:Chemosynthesis

بعضی از باکتریاها عملیه کیموسنتز را برای تولید غذا استفاده می کنند که انرژی خود را از مواد شیمیایی محیط بدست میاورند بطوری که کاربوهایدریت ها از آب و کاربن دای اکساید تولید میشود و مواد شیمیایی به حیث منبع انرژی در آنها استفاده می شود. و این نوع باکتریاها بدو دسته تقسیم می شوند.

شیمولیتوتروف ها: باکتریاهایی اند که انرژی را از تحمض ترکیبات غیرعضوی (معدنی) بدست می آورند و لیتوتروف هم نامیده می شوند. اکثر باکتریاهای لیتوتروف هم چنان قادر اند تمام کاربن خود را از Co_2 بدست آورند و بنابر این autotroph می باشند. لیتوتروف هایی که کاربن خود را از مواد عضوی بدست می آورند یعنی منبع انرژی شان مواد غیر عضوی ولی منبع کاربن شان مواد عضوی می باشد به عنوان Mixotroph شناخته می شوند. در لیتوتروف ها تولید ATP شبیه ارگانوتروفها می باشد با این تفاوت که دهنده الکترون ترجیحاً مواد معدنی می باشد و سنتز ATP با اکسیدیشن دهنده الکترونی همراه است. باکتریاهای هایدروجنی، باکتریاهای گوگردی، باکتریاهای اکساید کننده آهن و باکتریاهای اکساید کننده امونیم و نایتریت از جمله این نوع باکتریاها می باشند. اکثر این باکتریاها در خاک وجود دارند و در حاصلخیزی خاک و چرخه نایتروجن اهمیت بسزایی دارند. بطور مثال یک واکنش شیموسنتز را در پایین مشاهده می نمایید.

$$2S + 3O_2 + 2H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4 + \text{energy}$$

شیمو اورگانوتروف ها (Heterotrophs)

ارگانیزم هایی هستند که با استفاده از مواد کیمیاوی عضوی انرژی مورد نیاز خود را تأمین می کنند. در بین مرکبات عضوی، کاربوهایدریت ها معمول ترین منابع انرژی محسوب می شوند. این نوع باکتریاها با ترشح اگزوانزایم های هایدرولایز مالیکول های بزرگ عضوی را در محیط خارج حجروی تجزیه کرده و مونومرهای تولید شده را وارد حجره می کنند که بعداً به عملیه کتابولیزم مواجه می شوند.

باکتریاها برای تولید ATP از واکنش های متفاوتی استفاده می نمایند که در بخش بعدی یعنی واکنش های میتابولیکی شرح داده خواهد شد.

واکنشهای میتابولیکی (Metabolic reactions)

واکنش های زیادی درعملیات میتابولیزم یک ارگانیزم اشتراک دارند که فعلا چهار گروپ عمده این واکنش ها را مطالعه می کنیم:

- Hydrolysis
- Condensation (dehydration)
- Oxidation-Reduction
- Transphosphorylation

Hydrolysis

هایدرولایز عبارت از یک پروسه کیمیاوی است که طی آن مالیکول ها با اضافه نمودن آب تجزیه می شوند و این یک پروسه ضروری در هضم بشمار می رود.

(Dehydration) Condensation

دراین نوع واکنش کیمیاوی در نتیجه کشیدن یک مالیکول آب از تعامل دو مالیکول بشکل کوولانسی به هم متصل می شود.

Oxidation- reduction

در تعاملاتی که یک یا چنین الکترون از یک واکنش دهنده به دیگری انتقال یابد را واکنش های redox reactions می نامند.

Transphosphorylation

انتقال گروپ فاسفیت انتهایی از مالیکول ATP به دیگر مالیکول را Phosphorylation می نامند.

تمام فعالیت های میتابولیکی که در حجرات انجام می پذیرد به انرژی نیاز دارد و انرژی از تخریب مالیکول های ATP به ADP+Pi حاصل می شود. این زمانی میسر می شود که باندهای فاسفیت پر انرژی مالیکول ATP شکسته می شود و در نتیجه انرژی آزاد می شود.

انواع واکنش Transphosphorylation

تبدیل انرژی و سنتز ATP با چهار نوع واکنش فاسفوریلیشن امکان پذیر است که در پایین ذکر می شود ولی قابل ذکر است که باکتریاها برای تولید ATP تنها از سه نوع این واکنش ها استفاده می کنند:

:(SLP) Substrate level phosphorylation

در این نوع واکنش با انتقال مستقیم یک گروپ فاسفیت به ADP توسط میانجی ATP تشکیل میشود. در این مسیر کتابولیزمی یا تخریبی ماده اولیه یی که باید از آن انرژی آزاد شود توسط انزایم های منحل تحت عملیه فاسفوریلیشن

قرار می گیرد. این نوع فاسفوریلیشن در عملیه glycolysis و krebs cycle دیده می شود و در مایکروارگانیزم های تخمیری کاربرد دارد.

:Oxidative phosphorylation

در این واکنش با استفاده از انرژی استخراج شده و از واکنش های اکسیدیشن – ریدیکشن یک زنجیر انتقالی الکترون ATP تولید می شود و این نوع فاسفوریلیشن در هر دو یعنی کلوروپلاست و مایتوکاندریا انجام می پذیرد.

:Photophosphorylation

واکنش های نوری فوتوسنتز توسط غشاء تایلاکویید کلوروپلاست و نیروی تولید شده proton motive از ADP و فاسفیت ATP تشکیل می شود که در بعضی باکتریاها کاربرد دارد.

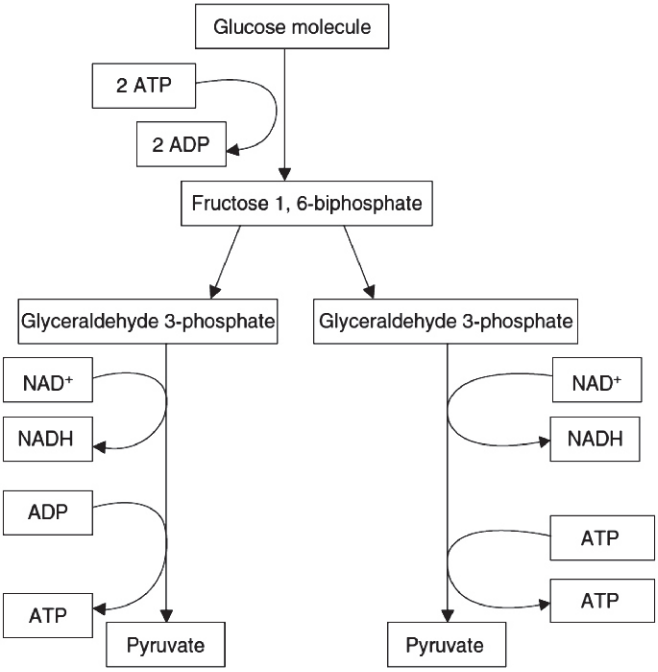
:Chemosynthetic phosphorylation

در این مسیر در زمان اکسیدیشن کیمیاوی انرژی آزاد می شود که از این انرژی می تواند برای سنتز ATP استفاده شود.

تولید انرژی توسط پروسه های غیر هوازی

Glycolysis

گلایکولایز یا کتابولیزم گلوکوز مسیر متابولیک مشترک در بیشتر حجرات زنده می باشد. این مونوسکراید توسط سیستم های انتقال غشایی خاص وارد حجره باکتری شده و در سایتوپلازم باکتری استقلاب می شود. گلایکولایز نیازی به حضور اکسیجن ندارد ازینرو می تواند در هر دو نوع حجرات یعنی هوازی و غیر هوازی رخ دهد. چندین راه متابولیزمی برای شکستن گلوکوز به مالیکول های کوچکتر وجود دارد.



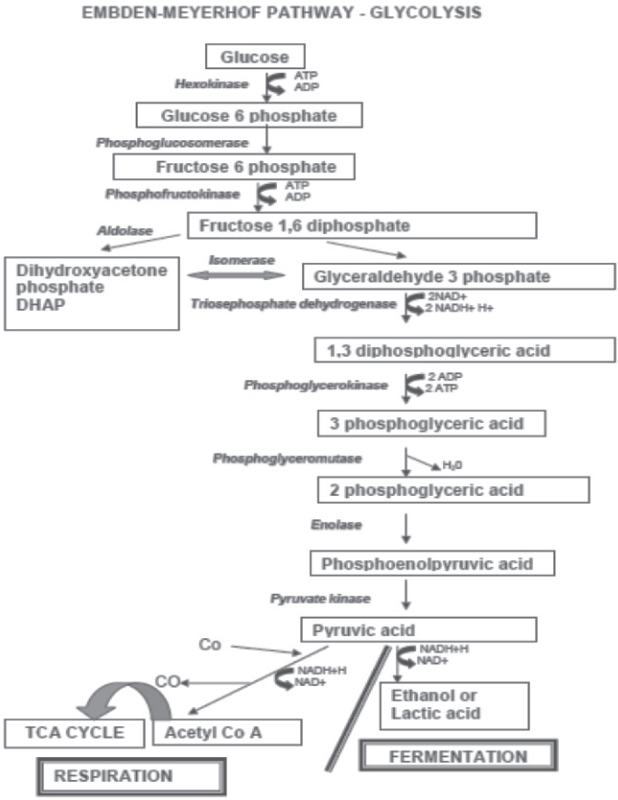
:Embden-Meyerhof pathway of Glycolysis (EMP)

EMP اصلی ترین راه کاتابولیزم گلوکوز می باشد. این پروسه استقلابی به شکل بسیار وسیع اتفاق می افتد. EMP در اغلب حجرات یعنی مایکروارگانیزم ها، حیوانات و نباتات مشاهده می شود. در این مسیر مالیکول گلوکوز بدون دخالت اکسیجن به دو مالیکول پایروات (pyruvate) می شکند. گلایکولایز از دو مرحله اصلی تشکیل یافته است و در شرایط هوازی و بی هوازی رخ می دهد. در مرحله اول که فاز آماده سازی گفته می شود،Fructose- 1,6-diphosphate تشکیل شده از گلوکوز به دو واحدهای سه کاربنه یعنی dihydroxyacetone phosphate و glyceraldehyde-3-phosphate می شکند و در مرحله دوم که فاز بهره وری گفته می شود این ترکیبات oxidized شده و به دو ترکیب سه کاربنه پایروات تبدیل شده و به ازای هر مالیکول گلوکوز ۴ مالیکول ATP تولید می شود. در مرحله یی که glyceraldehyde-3-phosphate اکسیده می شود یک جوره الکترون (دو اتم هایدروجن) آزاد ساخته می شود. در غیاب اکسیجن این جوره الکترون ها تبدیل یا ساده کردن پایروات را به لکتیک اسید یا ایتانول میسر می سازد. در حضور اکسیجن این جوره الکترون ها به زنجیر تنفسی داخل می شود. از آنجایی که در مرحلهٔ آماده سازی ۲ مالیکول گلوکوز مصرف می شود، لذا فرآیند خالص گلایکولایز در شرایط بی هوازی و تخمیری ۲ مالیکول ATP می باشد. مالیکول های ATP تولیدی در گلایکولایز طی دو مرحله و توسط فرآیند substrate-level phosphorylation تولید می شوند. انزایم کلیدی در مسیر گلایکولایز phosphofructokinase می باشد که یک نقطه تنظیمی محسوب می شود. پایرواتی که در مسیر گلایکولایز در تحت شرایط بی هوازی تولید شده و یا در شرایط هوازی به دست آمده دارای سرنوشت متفاوتی می باشد که در بخش های بعدی شرح داده خواهد شد.

:Pentose Phosphate Pathway

مسیر پنتوزفسفات که به عنوان مسیر فسفوگلوکونات یا شنت هگزوزمنوفسفات نیز شناخته می شود، مسیر کتابولیزمی بوده که در هر دو نوع حجرات پروکاریوتیک و یوکاریوتیک موجود می باشد و در تخمیر هگزوزها،

پنتوزها و کربوهایدریت های دیگر شرکت دارد. این مسیر در برخی از مایکروارگانیزم ها (مثل تخمیر کننده های هتروالکتیک) مسیر اصلی تولید انرژی است. این مسیر موجب تولید NADPH و پنتوزها می شود که در بیوسنتز نقش دارند و همچنین مکانیزمی را برای اکسیدیشن پنتوزها فراهم می کند. اکسیدیشن glucose-6-phosphate به 6-phosphogluconic acid که توسط انزایم گلوکز ۶- فسفات دهایدروجیناز کاتالایز می شود، نقطهٔ جدا شدن این مسیر از مسیر EMP می باشد. مایکروارگانیزم های تخمیر کنندهٔ هتروالکتیک مثل برخی لکتوباسیل ها به جای استفاده از گلایکولایز (EMP)، از مسیر پنتوزفسفات برای تخمیر گلوکوز استفاده می کنند. این ارگانیزم ها فاقد انزایم آلدولاز بوده اما دارای انزایم transketolase می باشند.



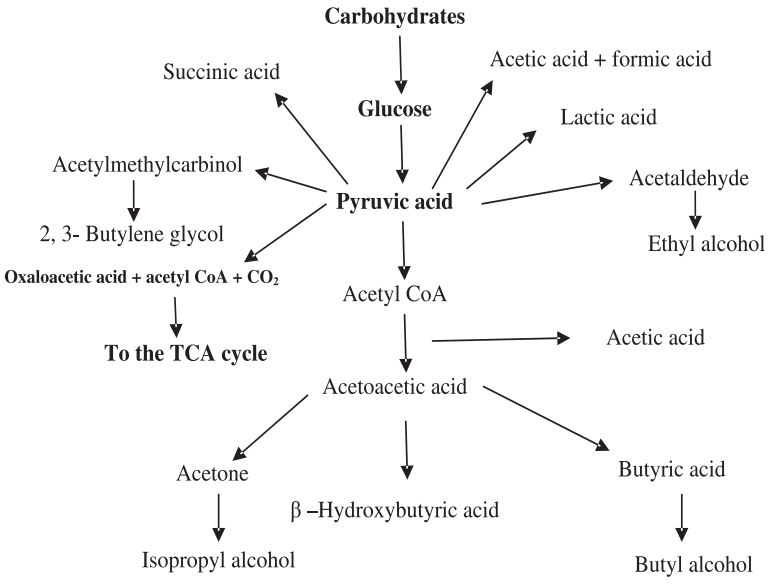
:Entner-Doudoroff Pathway

مسیر Entner-Doudoroff (ED) مسیر دیگری برای کتابولیزم گلوکوز می باشد که تنها در پروکاریوت های هوازی و بی هوازی دیده می شود اما نه در یوکاریوت ها. ED مسیر عمده ای برای شکستن گلوکوز به وسیلهٔ هوازی های اجباری (پروکاریوت ها) است که فاقد انزایم phosphofructokinase هستند. باکتریاهای جنس های سودوموناس، *Agrobacter*، *Rhizobium* جهت اکسیدیشن گلوکوز به پایروات، به جای استفاده از مسیر گلایکولایز از این مسیر استفاده می کنند. در این مسیر از هر مالیکول گلوکوز دو مالیکول NADPH و یک مالیکول ATP حاصل می شود.

اثر پاستور: در ارگانیزم های بی هوازی اختیاری، در حضور اکسیجن فعالیت تخمیری متوقف شده و انرژی تقریباً به طور کامل از طریق تنفس تأمین می شود و چون تنفس، انرژی بیشتری نسبت به تخمیر تولید می کند، در نتیجه گلوکوز کمتری مصرف شده و تجمع اسید کاهش می یابد. این پدیده برای اولین بار به وسیلهٔ پاستور در مخمر شناسایی شد، لذا تحت عنوان اثر پاستور نامگذاری گردید. فاکتورهای متعددی ممکن است مسئول اثر پاستور باشند اما انزایم فسفوفروکتوکاینز (که نقش مرکزی در تنظیم گلایکولایز دارد) تعیین کنندهٔ اصلی می باشد.

تخمیر (Fermentation)

پایروات حاصل از گلایکولایز در شرایط بی هوازی وارد مسیر تخمیر می شود. در شرایط بی هوازی NADH حاصل از گلایکولایز نمی تواند توسط O_2 مجدداً اکسیده شود. بنابراین لازم است NAD^+ مجدداً به طریقی تولید شود؛ لذا با انتقال الکترون ها از NADH به پایروات محصولاتی مثل لکتیک اسید و ایتانول تولید می گردد و بدین طریق به طور مداوم NAD^+ در شرایط بی هوازی تولید می شود. در تخمیر باکتری ها محصولات ارزشمند صنعتی تولید شده و همچنین محصولات تخمیری برای شناسایی باکتریاها مفید هستند و اهمیت تطبیقی زیادی دارند. انواع مختلفی از تخمیرها به وسیله باکتریاها انجام می شوند:



تخمیر مقادیر نسبتاً کمی ATP تولید می کند. از هر مالیکول ماده آغازگر بسته به مسیر تخمیری مورد استفاده تنها یک یا دو مالیکول ATP تولید می شود.

تخمیر الکلی و تخمیر اسید لاکتیک، دو نمونه از مهمترین انواع تخمیر می باشند.

- **تخمیر الکلی:** این نوع تخمیر توسط مخمرها و باکتریاهای خاصی انجام می گیرد. پایروات به ایتانول و CO_2 تبدیل می شود. در این پروسه ابتدا پایروات به وسیلهٔ انزایم دکاربوکسیلاز(انزایم کلیدی در تخمیر الکلی) به اسیت الدیهاید تبدیل شده و سپس انزایم الکل دهیدروجیناز با مصرف NADH، اسیت الدیهاید را به ایتانول تبدیل می کند و موجب تولید مجدد NAD^+ برای ادامه واکنش های گلایکولایزی می شود.

- **تخمیر لاکتیک اسید:** بعضی باکتریاهای جنس های *Lactobacillus* ، *Staphylococcus* ، *Streptococcus* از این نوع تخمیر استفاده می کنند، که در آن پایروات به Lactic acid تبدیل می شود.

در مقایسه با ۳۸ مالیکول ATP تولید شده در تنفس که شامل سیستم انتقال الکترون و chemiosmosis می باشد، ۲ تا ۳ مالیکول ATP در تخمیر تولید می شود.

تولید انرژی توسط پروسه های هوازی

تنفس (Respiration)

پایروات حاصل از شکسته شدن گلوکوز از طریق گلایکولایز، همچنین در تنفس به کار گرفته می شود. تنفس به عنوان اکسیدیشن مرحله به مرحله مالیکول ها از طریق واکنش های کتابولیک تعریف می شود که به تولید ATP منجر شده و گیرنده ی نهایی الکترون در این پروسه معمولاً یک مالیکول غیرآلی است. گیرنده ی نهایی الکترون در تنفس هوازی O_2 و در تنفس بی هوازی معمولاً یک مالیکول غیرآلی و ندرتاً یک مالیکول آلی می باشد.

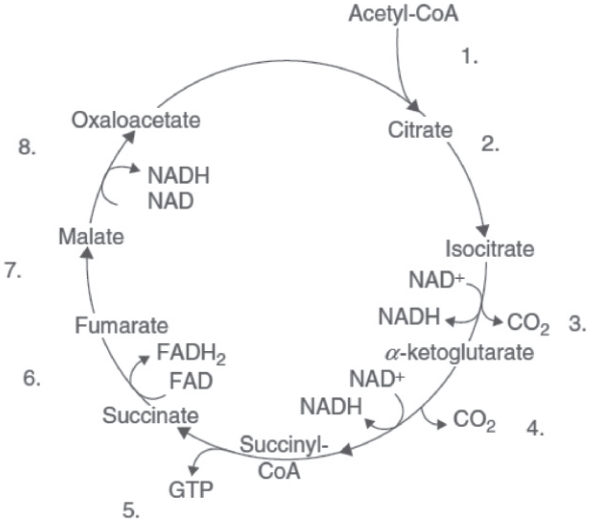
سایکل کربس (Tricarboxylic acid cycle)

پایروات توسط یکی از مسیرهایی که قبلاً در بخش گلایکولایز بحث شد شکسته شده و انرژی حاصل می شود، اما اکسیدیشن پایروات در حضور اکسیجن از طریق سایکل کربس در مقایسه با مسیرهای دیگر انرژی بیشتری تولید می نماید.

پایروات قبل از ورود به سایکل کربس باید به Acetyl CoA تبدیل شود. در این فرایند، پایروات به روش انزایمی شکسته شده و یک کاربن بصورت CO_2 آزاد می گردد. دو اتم کاربن باقیمانده با کوانزایم A ترکیب شده و باعث تولید Acetyl CoA می شوند. در جریان این پروسه، انتقال یک آیون هایدروجن و الکترون ها به NAD^+ موجب تولید NADH پر انرژی می گردد. این واکنش تحت عنوان واکنش انتقالی یا Transition reaction خوانده می شود.

اسیتایل کوانزایم A از طریق ترکیب با Oxaloacetic acid و تولید سیتریک اسید وارد سایکل کربس می گردد. سیتریک اسید بعداً تغییراتی می یابد

که این تغییرات توسط ۱۰ انزایم کتالایز می شوند. در مراحل مختلف، الکترون های پر انرژی به NAD که با کسب یک آیون هایدروجن به NADH تبدیل شده است، منتقل می شوند. در یک واکنش FAD (Flavine adenine dinucleotide) به عنوان گیرنده ی الکترون عمل نموده و با کسب دو آیون هایدروجن به FADH2 تبدیل می شود. انرژی کافی جهت تولید دو مالیکول ATP از دو مالیکول پایرواتی که وارد سیستم می شوند، آزاد می گردد. به ازای هر مالیکول اسیتایل کوانزایم A که وارد سایکل کربس می شود دو مالیکول CO_2 ایجاد می گردد لذا، در مجموع چهار مالیکول CO_2 از اشتراک دو مالیکول اسیتایل کوانزایم A در سایکل کربس تشکیل می شود. به طور مجموع شش مالیکول CO_2 از اتم های کاربن موجود در مالیکول اصلی گلوکوز تولید می شود و CO_2 به صورت گاز زاید خارج می شود. محصول نهایی سایکل کربس Oxaloacetic acid است که به هنگام ترکیب شدن با یک مالیکول جدید اسیتایل کوانزایم A دور دیگری از سایکل آغاز می گردد.



سیستم انتقال الکترون (Electron transport system)

در حجرات پروکاریوتیک مثل باکتریاها ETS در غشای پلازمایی حجره انجام می گیرد. در حجرات یوکاریوتیک ETS در غشای داخلی مایتوکاندریا انجام می گیرد.

زنجیره های همه سیستم های انتقال الکترون عملکرد مشابهی دارند. زنجیره یی از مالیکول های حامل وجود دارند که یک سلسله از تعاملات اکسیدیشن- احیاء را انجام می دهند. الکترون ها مرحله به مرحله از این زنجیر عبور می نمایند و انرژی آزاد شده به منظور تولید کیمیواسموتیک (chemiosmotic) ATP به کار گرفته می شود.

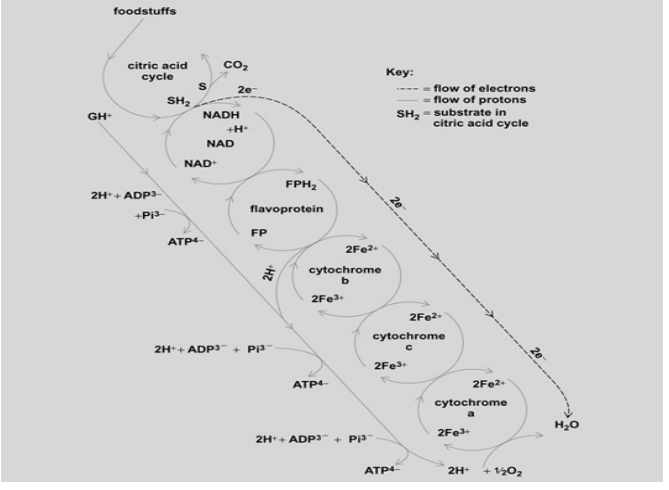
در سیستم انتقال الکترون سه گروپ از مالیکول های حامل و انتقال دهنده وجود دارد:

- Flavoproteins: کوانزایم های فلاوین مسئولیت انجام تعاملات اکسیدیشن- احیاء می باشند.
- Cytochromes: این پروتین ها دارای گروپ آهن بوده و به طور متناوب به اشکال اکسیده و احیا وجود دارند. سایتوکروم ها شامل cytochrome b ، cytochrome C_1 ، cytochrome C ، cytochrome a و cytochrome a_3 می باشند.
- Ubiquinones: که کوانزایم Q هم نامیده می شوند حاملین کوچک پروتینی هستند.

NADH و FADH2 از طریق عملکرد زنجیره ی انتقال الکترون به منظور تولید ATP به کار گرفته می شوند. گیرنده ی نهایی الکترون در تنفس هوازی اکسیجن می باشد که الکترون ها را از سیستم کسب می دارد.

Chemiosmosis

در این پروسه که در حجرات پروکاریوتیک اتفاق می افتد از Ion gradients یا شیب های آیونی خصوصاً شیب های پروتون به منظور تولید ATP استفاده می شود. در کیمیواسموزیس به هنگام حرکت یک ماده (پروتون) در جهت شیب، انرژی آزاد می شود که جهت سنتز ATP مورد استفاده قرار می گیرد. در تنفس روش کیمیواسموزیس موجب تولید انرژی بیشتری می گردد.



تنفس بی هوازی (Respiration without oxygen)

بعضی باکتریاها از تنفس بی هوازی استفاده می نمایند که در آنها پذیرنده ی نهایی الکترون یک ماده غیرآلی به جز اکسیجن می باشد. جنس های باسیلوس و سودوموناس و بعضی دیگر از باکتریاها به عنوان گیرنده های نهایی الکترون از nitrate gas ، nitrous oxide و آیون های نایتریت استفاده می کنند. چرخه های نایتروجن و گوگرد در طبیعت به مایکروارگانیزم هایی بستگی دارد که در تنفس بی هوازی از نایتریت ها و سولفات ها به عنوان گیرنده های نهایی الکترون استفاده می نمایند.

منابع

ATLAS, R.M. and BARTHA, R., 1998. Microbial ecology: Fundamentals and Applications. *Edn*. 4th., Benjamin Cummings.

BROOKS, G.F., KARROLL, K.C., BUTEL, J.S. and MORS, S.A., 2007. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. *Edn*. 24th., US: McGraw-Hill, Inc., *pp* 50-85

HURST, C.J., *et al.,* 2002. (editors): Manual of environmental microbiology. *Edn*. 2nd., ASM Press.

KENCI, B., *et al*., 2010. Cytology. Zambak Yayinlari., *pp* ۴۰-۱۰۰

LEITNER, G., YADLIN, B., GLICKMAN, A., CHAFFER, M. and SARAN, A., 2000. Systemic and local immune response of cows to intramammary infection with *Staphylococcus aureus*. *Res. Vet. Sci.,* **69**(2): 181-184

LEVINSON, W., 2008. Review of medical microbiology & immunology. *Edn*. 10th., McGraw-Hill, INC., *pp* ۱۰-۲۶

LONSING, M., PRESCOTT, J.P.H. and DONALD, A.K., 1999. Microbiology. McGraw-Hail.

MADIGAN, M.T., MARTINK, J.M. and PARKER, J., 1997. Brock biology of microorganisms. Prentice Hall International, Inc.

MAIER, R.M., PEPPER, I.L. and GERBA, C.P., 2000. Environmental microbiology. Academic Press.

McKANE, L. and KANDEL, J., 1996. Microbiology essentials and applications, *Edn*. 2nd., McGraw-Hill, INC., *pp* 150-178

MOAT, A.G. and FOSTER, J.W., 1995. Microbial physiology. *Edn*. 3rd.,Wiley-Liss.

NEIDHARDT, F.C., *et al*., 1996. (editors): *Escherichia coli* and *Salmonella.* Cellular and molecular biology. *Edn*. 2nd., Vols 1 and 2. ASM Press.

NELSON, D.L. and COX, M.M., 2008. Lehninger principles of biochemistry. *Edn*. 4th., University of Wisconsin–Madison., *pp* 523-560

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1993. Microbiology: Concepts and Applications. McGraw-Hill., *pp* 171-227

QUINN, P.J., MARKEY, B.K., CARTER, M.E., DONNELLY, W.J. and LEONARD, F.C., 2002. Veterinary Microbiology and Microbial Disease., *pp* 20-24

فصل چهارم

فیزیولوژی باکتریاها
(Physiology of Bateria)

اغلب باکتریاها در محیط کشت (وسط زرعیه) مصنوعی رشد می نمایند. در عین حال هنوز هم نتوانسته اند که بعضی باکتریاها را مانند عامل جزام یا *Mycobacterium lepra* و عامل سفلیس یعنی *Treponema palidum* را در محیط مصنوعی خارج از بدن (*in vitro*) رشد دهند. برخی از باکتریاهای دیگر مثل Rickettsiae و Chlamydia فقط بداخل حجرات میزبان تکثر می کنند و پرازیت های اجباری داخل حجروی یاد می شوند یعنی در محیط یا وسط زرعیه حاوی حجرات زنده رشد می نمایند.

در شرایط مساعد از نقطه نظر مواد غذایی، رطوبت، حرارت و گازات جسامت باکتریا بزرگ شده، بعداً به دو حجره مشابه تقسیم می گردند. تا وقتیکه شرایط مساعد باشد، این دو حجره مانند حجره والد رشد نموده و به همان سرعت تقسیم می شوند. این رشد با سرعت لوگارتیمی صورت می پذیرد. زمان لازم برای دو برابر شدن تعداد مشخص بکتریاها، زمان تقسیم (Generation time) نامیده می شود. مثلاً زمان تقسیم برای باکتریاهای E.coli در شرایط مساعد حدود ۲۰ دقیقه می باشد.

مایکروارگانیزم ها مانند دیگر جانداران غذا می گیرند، انکشاف می نمایند، تکثر می کنند و در نهایت می میرند. مایکروب ها مقابل تاثیرات خارجی حساس اند و در اطراف و محیط ماحول خویش یک سلسله تغیرات فزیکی و کیمیاوی زیاد را تولید می دارند. مایکروارگانیزم هایکه کلوروفیل دارند (الجی ها) انرژی لازمه را از شعاع آفتاب می گیرند. غذائیکه بصورت فوتوسنتز گرفته می شود به مقصد انکشاف به مصرف می رسد. آنهاییکه مانند حیوانات فاقد کلوروفیل اند و انرژی لازمه خود را از شعاع آفتاب گرفته نمی توانند، انرژی لازمه و مواد اساسی دیگر را از قبیل ویتامین و غیره را از غذای خود می گیرند. طوریکه دانسته شده انرژی به مقاصد ذیل استفاده می شود:

۱. تمام حجرات که فعالیت سنتز را دارند به انرژی محتاج اند.
۲. تمام حادثات Reduction حجره محتاج انرژی اند.
۳. فعالیتهای میخانیکی مصرف انرژی را ایجاب می کند.
۴. یک مقدار انرژی برای ادامه حیات لازم است.
۵. یک مقدار انرژی در نتیجه فعالیت Respiration آزاد شده و ضایع می شود.

نیازهای تغذیه یی مایکروارگانیزم ها

به عنوان یک قانون کلی شاید بتوان گفت که همه موجودات حیه از انسان گرفته تا مایکرواورگانیزم ها احتیاجات تغذیه ای مشترکی دارند. از آنجا که حجره زیر بنای ساختمانی همه موجودات حیه را تشکیل می دهد بنابر این احتیاجات حجره در حقیقت منعکس کننده احتیاجات موجود زنده نیز می باشد. هر حجره برای بقای خود به رطوبت، منبع انرژی و مرکبات کیمیاوی به عنوان مصالح ساختمانی نیاز دارد.

زیادتر مایکرواورگانیزم ها احتیاجات تغذیه ای ساده یی دارند و کشت آنها روی محیط های دارای قند، آب و نمک های تأمین کننده عناصر اساسی به آسانی صورت می گیرد و عدهٔ دیگری از مایکروارگانیزم ها نیز یافت می شوند که برای رشد به مواد غذایی مخصوصی نیاز دارند. احتیاجات مخصوص این گروپ از میکروب ها رشد آنها را در لابراتوار دشوار و یا غیر ممکن می سازد.

الف - رطوبت(Water) :

رشد وحتی زنده ماندن موجودات زنده در محیط های کم آب به سختی صورت می گیرد مواديکه از خارج به د اخل حجره حمل می شوند باید بصورت منحل در آب باشند. بر علاوه آب نقش Solvent را درعملیات های بیوشیمی درون حجروی ایفا می کند و محیطی است برای دفع مواد بیهوده که در آب منحل اند.

ب - انرژی و منابع کاربن(Energy and Carbon Sources) :

رشد و نمو، حرکت، میتابولیزم، سنتز پروتین و بسیاری دیگر از

عملیات های اساسی حجره به انرژی نیاز دارند. موجودات زنده را بر حسب استفاده از منبع انرژی می توان بدو گروپ تقسیم کرد:

۱- Phototrophs : این دسته از موجودات زنده انرژی مورد نیاز خود را از خورشید، به روش Photosynthesis کسب می کنند.

۲- Chemotrophos : این دسته از موجودات زنده انرژی مورد نیاز خود را از شکسته شدن پیوند های مالیکولی بدست می آورند. منابع انرژی کیمیاوی معمولاً از نوع مواد عضوی(Organic compounds) مثل قندها و امینواسیدها و برخی باکتریاها انرژی خود را از مرکبات غیر عضوی Inorganic (compounds) و بخصوص مواديکه حاوی نایتروجن، آهن و گوگرد هستند، تأمین می کنند.

حال اگر تقسیم بندی موجودات حیه بر حسب نوع منبع کاربن باشد با دو گروپ جدید برمی خوریم که عبارتند از:

A- Autotrophs: که تنها منبع کاربن آنها از نوع کاربن غیرعضوی بصورت کاربن دای اکساید است که در حجره طی مراحل مغلق به مرکبات عضوی تبدیل می شود.

B- Heterotrophs: که از مالیکول های عضوی به عنوان منبع کاربن استفاده می کنند. باکتریولوژیست ها با یکجا کردن این اصطلاحات نیازهای تغذیه یی موجودات حیه را بر حسب احتیاجات آنها به کاربن و انرژی بصورت گوناگون بیان می کنند. (جدول)

احتیاجات تغذیه یی مایکروارگانیزم ها بر حسب منابع کاربن و انرژی

Category	Energy source	Carbon source	Representative Microbes
Photoautotrophs	Light	CO2	Cyanobacteria, . photosynthetic bacteria , algae
Photoheterotrophs	Light	Organic compounds	Photosynthetic bacteria
Chemoautotrophs (Lithoautotrophs)	Inorganic compounds	CO2	Sulfar-,iron-,and ammonia-oxidizing bacteria, several types of methane-producing bacteria
Chemoheterotrophs	Organic compounds	Organic compounds	Protozoa, fungi, most bacteria

شیموهتروتروف ها معمولاً از ترکیبات یکسانی به عنوان منبع کاربن و انرژی استفاده می کنند. اکثر باکتریاها از جمله انواع Pathogen آنها از نوع شیموهتروتروف هستند و منابع کاربن و انرژی خود را از مرکبات عضوی بدست می آورند.

ج – عناصراساسی(Essential Elements) :

تمامی حجرات علاوه بر کاربن به هایدروجن، اکسیجن، نایتروجن، فاسفورس، و گوگرد نیز احتیاج دارند. هایدروجن، اکسیجن و کاربن عناصر اساسی برای سنتیز بیشتر مرکبات عضوی بشمار میایند. مثلا فاسفورس در مرکبات نوکلئیک اسیدها، گوگرد در پروتین ها و نایتروجن در هر دو گروپ نامبرده بکار می رود. برخی از شیموتروف ها از مرکبات یکسانی بعنوان منابع انرژی وعناصر اساسی استفاده می کنند.

فلزات نیز در اندازه های بسیار کم برای حجره لازم و ضروری اند. بطور مثال ساختمانهای بسیار مهم حجره حاوی اجزایی هستند که در آنها پتاسیم، مینیزیم، کلسیم و آهن بکار رفته است .علاوه بر این فلزات درعملیات انزایمی نیز نقش دارند. نیاز حجره به برخی از فلزات به اندازه یی است که حتی آبی که برای آماده کردن محیط های زرع در لابراتوار بکار می رود حداقل

تراکم فلز مورد نیاز را تعین می کند. این گروپ شامل فلزاتی است مانند Zinc , Molybdenum, Copper, Cobalt وغیره.

د- فکتورهای عضوی رشد (Organic Growth Factors):

حجرات برای ساختن مواد کیمیاوی حیاتی خود به امینواسیدهای گوناگون، قلوی های پیورین و پایریمیدین و ویتامین ها نیاز دارند. نقش ویتامین ها شرکت در بسیاری از عملیات انزایمی می باشد. انزایم ها و Co-Enzyme ها در Catalization مواد کیمیاوی رول دارند. بعضی باکتریاها که قادر به ساختن این مواد در حجره اند به منابع خارجی نیاز ندارند این موجودات احتیاجات تغذیه یی ساده یی دارند و روی محیط های ساده به آسانی رشد می کنند و برعکس موجوداتیکه قادر به سنتیز این مواد نباشند برای تأمین آنها باید از منابع خارجی استفاده کنند.

تکثر در باکتریاها

باکتریاها در محیط مناسب، مواد مورد نیاز را جذب و قسمتی از آنرا به پروتوپلازم تبدیل می کنند و در نتیجه بر حجم باکتریاها افزوده می شود. وقتی رشد باکتریاها به حد معینی رسید پروتوپلازم آن به اثر پیدایش دیواره یی عرضی بدو قسمت تقسیم می شود و یک باکتری به دو باکتری تبدیل می گردد. تولید مثل غیرجنسی (Asexual) به روش انشقاق دوگانه (Binary fission) که یکی از مشخصات بارز باکتریاها است، انجام می پذیرد.

تقسیم حجروی (Binary Fission) یا انقسام بدو حصه:

۱- در این نوع تکثر بکتریاها اولاً عرضا و طولا بزرگ می شوند.
۲- در پروتوپلازم آهسته آهسته فرورفتگی به میان می آید و پروتوپلازم در اطراف فرورفتگی تکاثف می نمایند.
۳- در وسط حجره یک دیوار عرضی تشکیل شده حجره باکتری به دو حصه جدا می شود.
۴- در نهایت دو حجره دختری حاصل می شود.
۵- بعضاً حجرات از همدیگر جدا نشده و شکل یک زنجیر را به خود می گیرند.

معیاد تکثر مایکروارگانیزم ها(Generation time)

در اثنای تکثر، مایکروارگانیزم ها بعد از یک مدت کوتاه یا طویل یک حجره به دو حجره تقسیم می شود. با وجودیکه شرایط محیطی، مساعد و درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد برایشان مهیا باشد باز هم موعد تکثر مایکروب ها از همدیگر فرق می نماید مثلاً E.coli به مدت ۱۷-۳۰دقیقه، *Lactobacillus acidophilus* به مدت ۶۶ الی ۸۷ دقیقه، عامل مرض توبرکلوز به مدت ۷۹۲ تا ۹۳۸ دقیقه *Treponema pollidum* در Rabbit testis بمدت ۱۹۸۰ دقیقه تکثر می نمایند.

محاسبه تکثر مایکروارگا نیزم ها:

چنانچه قبلاً گفته شد تکثر اکثر باکتریاها به طریقه Binary fission یا انقسام به دو حصه صورت می گیرد. هرگاه باکتریاها در یک وسط مناسب که دارای تمام فاکتورهای تکثر باشد، کشت شوند بصورت لایتناهی تکثر می نمایند یعنی یک حجره باکتری دو حجره می شود و دو حجره چهار حجره، چهار حجره باکتری هشت حجره می شود و الی نهایت دوام پیدا می کند. و به این صورت تعداد حجرات باکتریاها با سرعت شگفت آوری افزایش میابد. در اینجا چون هر نسل دو برابر تعداد حجرات نسل پیشین را دارا است حساب به صورت Logarithmic افاده شده و فاکتور ۲ است.

شماره باکتریاها در هر مقطعی از زمان بستگی به تعداد اولیه جمعیت و شماره نسل های بوجود آمده دارد این را بطه را از طریق ریاضی با فارمول زیر نمایش می دهیم:

$$Bf = Bi \times 2^2$$

در این فارمول Bf تعداد نهایی باکتریاها، Bi تعداد اولیه جمعیت باکتریاها و n شماره تعداد نسل ها است. به عنوان مثال اگر با یک حجره باکتریا آغاز کنیم طی پنج نسل اول تعداد باکتریاها به 2^5 یعنی ۳۲ عدد می رسد این رقم به دلیل طبیعت لوگاریتمی رشد مایکروبی طی هر نسلی سریعاً افزایش میابد به گونه ای که پس از پنج نسل دیگر تعداد باکتریاها به 2^{10} یا بیش از ۱۰۰۰ می رسد و بعد از ۲۰ نسل تعداد باکتریاها بیش از ۱۰۰۰۰۰۰ خواهد بود. طول زمانی را که تعداد جمعیت دو برابر می شود زمان مضاعف شدن (Generation time) گویند.

این چنین محاسبه نظری است. زیرا همه باکتریاها به عین سویه چانس تکثر را ندارند و یک تعداد آنها می میرند. از این جهت فکتور بین 1.2 تا1.6 تغییر پذیر است، هیچ وقت به ۲ بالغ شده نمی تواند و تکثر با حسابات نظری توافق ندارند زیرا:

۱- مواد غذایی در وسط کم می شود و باکتریاها زیاد می گردد.
۲- مواد میتابولیک و مواد زهری و کشنده خود مایکروب ها زیاد می گردد.
۳- تعداد باکتریاها زیاد شده، گنجایش ندارد.
۴- رطوبت کم شده می رود.

رشد باکتریاها در کشت بسته(Bacterial Growth in Batch Culture)

Batch Culture به ظرفی سر بسته یا سیستمی حاوی محیط غذایی گفته می شود که نه چیزی به آن افزوده شود و نه چیزی از آن خارج گردد. وقتی باکتریاها به چنین وسط مناسب کشت شود بعد از مدتی به تکثر شروع می نمایند. .نظر به گذشت زمان منحنی رشد مایکروب ها معولاً ۴ مرحله را به شرح زیر سپری می نمایند .

A: مرحله Lag phase :

هنگامی که میکروب ها وارد محیط تازه یی می شوند بلا فاصله تقسیم شدن را آغاز نمی کنند بلکه طی مرحله ای که به نام Lag موسوم است ابتدا خود را با محیط و شرایط جدید توافق می دهند و در حقیقت این مرحله زمانی است بین کشت نمودن باکتریاها به وسط (Media) تازه و شروع تکثر باکتریاها، که در این مرحله تکثری اعمال زیر انجام می پذیرد:

۱- برای تکثر مقدار CO_2 لازم است بعد از حصول کاربن دای اکساید تکثر شروع می گردد (عقیده بعضی).
۲- باکتریاها برای میتابولیزم خود احضارات و آماده گی می گیرند.
۳- در اثر Diffusion ضایعات پروتین صورت می گیرد و برای جبران، آن پروتین باید ساخته شود. در این مرحله جسامت باکتریاها زیاد می شود، به محیط جدید توافق حاصل می شود، انزایم ها افراز می گردد و انقسام شروع می گردد. گراف آن دیده شود.

B- مرحله لوگاریتمی (Logarethmic phase) :

در این مرحله باکتریاها به سرعت اعظمی تکثر می نمایند و $B_i \times 2^n$

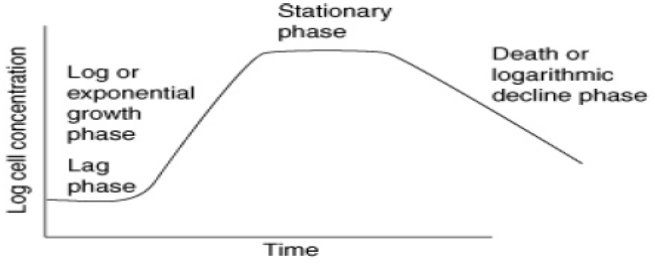
تطبیق می گردد. این مرحله تا زمانی دوام می کند که میتابولیت ها در وسط زیاد گردد به هر اندازه که وسط از لحاظ مواد غذایی، حرارت، رطوبت، pH و هوا بهتر باشد زمان و مرحله Logarethmic کوتاه تر می گردد و اگر در وسط مواد غذایی جدید علاوه شود تکثر باکتریاها نیز ادامه می یابد.

C: مرحله ثابت (Stationary phase) :

زمانی که مواد غذایی در وسط مصرف شده و کم گردد و مواد میتابولیکی و زهری زیاد شود، سرعت تکثر و رشد باکتریاها با سرعت مرگ آنها برابر می گردد. در این مرحله مقدار کل باکتریا های زنده نسبتاً ثابت می ماند. تعداد باکتریاهای زنده و مرده تقریباً معادل همدیگر است و موازنه باکتریا های زنده بر هم می خورد و فارمول تکثری تطبیق شده نمی تواند.

D: مرحله نزولی و مرگ(Decline phase or Death phase):

سرعت تقسیم حجرات وتکثر باکتریا ها کمتر از سرعت مرگ آنها است که باعث کاهش باکتریاها و مرگ و میر مقدار کل باکتریاهای زند ه می گردد. هر قدریکه مواد غذایی از وسط ها به سرعت کم شود و مواد میتابولیکی بیشتری تولید شود به همان اندازه باکتریاها به سرعت زیادتری می میرند. به هر اندازه که حجرا ت باکتریایی پیر شوند انزایم های توافقی (adaptive) خود را به سرعت و به خوبی افراز کرده نمی توانند و میتابولیزم شان به آهستگی جریان می کند.



کشت پیوسته یا باز(Continuous culture)

یک محیط کشت پیوسته سیستم سیالی است که حجم ثابتی از محیط کشت تازه به آن اضافه شده و هم زمان به طور پیوسته همان میزان از محیط کشت کهنه حذف می شود، بدین ترتیب باکتریاها در حالت رشد لوگاریتمی باقی مانده و تعداد حجرات زنده ثابت می ماند.

کیموستات (chemostat) معمول ترین نوع از محیط کشت های مداوم می باشد. در این سیستم محیط کشت تازه به یک میزان مشخص و ثابت، از طریق لوله ای وارد شده و به طور هم زمان حجم برابری از وسط کهنه باکتری از طرف دیگر خارج می شود.

سیستم دیگری که برای کشت پیوسته یا کشت باز به کار می رود، Turbidostate است که ساده ترین کشت مداوم می شود. این سیستم به باکتریاها اجازه می دهد که بر خلاف کیموستات با سرعت حداکثر، رشد کنند.

شرایط فزیکی مناسب برای تکثر مایکروارگانیزم ها

مایکرواورگانیزم ها برای رشد و تکثر علاوه بر مواد غذایی به شرایط مناسب محیطی نیز احتیاج دارند. عوامل محیطی که در بقا و رشد آنها تاثیر می گذارند عبارتند از: حرارت ، pH ، اکسیجن، فشار آسموسیز، قوه جاذبه، فشار هایدروستاتیک و غیره. در مورد فتوتروف ها عامل نور نیز باید به موارد فوق افزوده شود.

حرارت(Temperature):

تکثر مایکرواورگانیزم ها با درجه حرارت مناسب خیلی رابطه نزدیک دارد. اکثر مایکروب ها در تحت حرارت صفر درجه سانتی گراد تکثر نمی کنند ولی بعضی در حرارت ۱۰ درجه سانتی گراد تکثر می کنند.

یک تعداد باکتریاها در 40 درجه سانتی گراد تکثرکرده نمی توانند ولی زندگی خود را به مدت طولانی حفظ می دارند. بعضی از باکتریاها به درجات حرارت متذکره تکثر نکرده بلکه در عیان زمان می میرند. باکتریاها را می توان بر حسب حرارت مناسب برای رشد آنها ذیلاً تقسیم نمود:

۱- باکتریاهای سرما دوست (Psychrophilic)

۲- باکتریاهای متوسط الحال(Mesophilic)

۳- باکتریاهای گرما دوست(Thermophilic)

۱- باکتریاهای Psychrophilic :

این باکتریاها قادر اند تا در حرارت صفر درجه سانتی گراد و حتی پایین تر از آن هم رشد نمایند. آنها در حرارت بین صفر تا ۲۰ درجه سانتی گراد قادر به زندگی هستند ولی بهترین رشد آنها در درجات پایین تر از ۱۰ درجه سانتی گراد صورت می گیرد. مثال: *Bacillus psychrophilus*

۲- باکتریاهای Mesophilic:

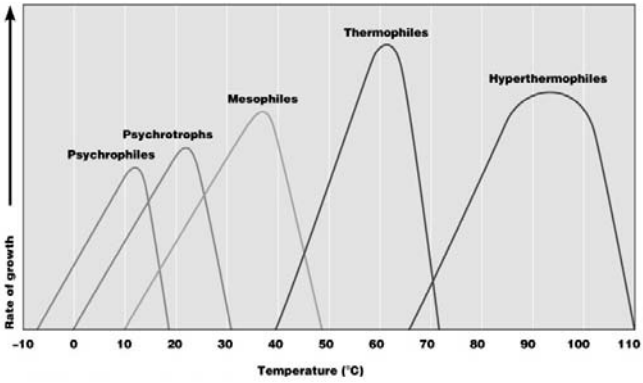
حرارت بین ۲۵ تا ۴۰ درجه سانتی گراد را برای رشد ترجیح می دهند. مایکروارگانیزم های بیماریزای انسانی و حیوانی در این گروپ قرار دارند و به حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد بدن کاملاً سازش یافته اند، جایی که حتی در صورت بروز تب حرارت آن ندرتاً از ۴۰ درجه سانتی گراد تجاوز می کند. بهترین درجه تکثری این گروپ ۳۷ درجه سانتی گراد می باشد. مثال:

- Diphtheria
- Anthrax
- *E.coli*
- *Clostridium tetani*

۳- باکتریاهای Thermophilic :

این باکتریاها بین ۴۵ تا ۷۰ درجه سانتی گراد تکثر می نمایند و شامل باکتریاهایی است که در منابع آب گرم، چشمه های آب گرم، در تولید کود و غیره تکثر می دارند و پرابلم های را در مواد خوراکه که به حرارت بلند تولید می شوند بار می آورند. مثال: *Streptococcus thermophilus*

Thermoduric باکتریاهایی اند که در حرارت بلند مقاومت دارند اما به حرارت بلند تکثر کرده نمی توانند.



pH (ACIDITY/ALKALINITY):

چنانکه می دانید pH ضریبی است که درجه تیزابی و قلوی بودن محیط های کیمیاوی را نشان می دهد. pH بین صفر و ۱۴ متغیر است. pH=7 خنثی، pH=0 حداکثر حالت تیزابی و pH=14 حداکثر حالت قلوی است. هر موجودی در محدوده یی معین از pH قادر به رشد است. باکتریاها محیط هایی را که کمی قلوی باشند ترجیح می دهند. مثلاً pH مناسب برای رشد E.coli ۴.۵ تا ۸ است. اما بعضی از باکتریاها pH های کاملاً قلوی یا کاملاً اسیدی را به خوبی تحمل می کنند. مثلا انواع Thiobacillus در pH حدود صفر می توانند زندگی کنند یعنی Acidophiles می باشند در حالی که انواع Alcaligenes در pH حدود ۸.۵ می توانند زندگی کنند یعنی Alkalophiles می باشند.

از آنجا که تولیدات و مواد ضایع ناشی از میتابولیزم میکروب ها مرکباتی قلوی یا اسیدی هستند که pH محیط را بسرعت تغییر داده و به سطح غیر قابل تحمل می رسانند، پس باید به محیط های زرع باکتریاها برای محدود کردن تغییرات pH مواد لازم افزوده شود. باکتریاهای Pathogen اکثراً در pH ۷/۲ تا ۷/۶ خوب تکثر می کنند، باکتریاهای *Lactobacillus acidophilus* در محیط اسیدی یعنی pH ۴ و باکتریاهای*Vibrio cholera* یا عامل مرض وبا pH ۸.۵ را ترجیح می دهند. باکتریاهای تخمری در محیط اسیدی بهتر فعالیت می نمایند و محیط را طوری اسیدی می سازند که باعث کشتن اکثر باکتریاهای

بیماریزا می گردند.

اکسیجن مالیکولی (Molecular Oxygen):

عکس العمل مایکروارگانیزم ها به اکسیجن متفاوت است و به این اساس آنها را به چهار گروپ مختلف تقسیم می کنند.

۱- مایکروارگانیزم های هوازی (Aerobic) : این مایکروارگانیزم ها فقط در موجودیت اکسیجن رشد می کنند مانند *Mycobacterium tuberculosis*

۲- مایکروارگانیزم های Microaerophilic : این مایکروارگانیزم ها به مقدار کمی اکسیجن نیاز دارند و افزایش یا کاهش اکسیجن بیش از حد معینی به آنها تاثیرات نا مطلوب دارد مانند:

Campylobacter jejunum

۳- مایکروارگانیزم های Facultative anaerobic :

این مایکروارگانیزم ها در بودن و یا نبودن اکسیجن می توانند زندگی کنند. یعنی در حضور و یا درغیاب اکسیجن آزاد قادر به رشد می باشند مانند E.coli وغیره.

۴- مایکروارگانیزم های غیر هوازی (Anaerobic):

این مایکروارگانیزم ها نه تنها در حضور اکسیجن قادر به رشد و نمو نیستند، بلکه وجود آن ممکن است باعث مرگ آنها شود. محل زندگی باکتریاهای بی هوازی جاهایی مثل انساج مرده و زخم های عمیق است مانند: *Clostridium tetani*

:Carbon Dioxide

مایکروارگانیزم ها برای رشد خودCO_2 ضرورت دارند. مقدار مناسب CO_2 در هوا وجود دارد یا خود مایکروب ها CO_2 مورد ضرورت خود را در خلال میتابولیزم شان تولید می کنند. تعداد محدود از باکتریاها مانند *Brucella abortus* و *Neisseria meningitides* به CO_2 اضافی ضرورت دارند به خصوص در وسط های زرع لابراتواری که این گونه موجودات، که به میزان بالایی از CO_2 ضرورت دارند، Capneic اطلاق می گردد. بعضی از باکتریاها مانند Haemophilus علاوه براینکه در وسط های زرعی به خون ضرورت دارند به فکتورهای دیگری نیز ضرورت می داشته باشند.

:Osmotic Pressure

محیط داخلی حجرات باکتریایی بوسیله غشای سایتوپلازمی و دیوار حجروی از محیط خارج مجزا می شود. مالیکول های آب بر حسب تراکم مواد در دو طرف غشاء و طبق عملیه Osmosis به داخل یا بیرون حجره حرکت می کند. اگر محیط اطراف رقیق تر از سایتوپلازم حجره باشد، جهت حرکت مالیکول های آب به سمت حجره و نفوذ به داخل آن خواهد بود که با ورود مالیکول های آب فشار داخلی بالا رفته و نتیجتاً حجره حجم آن زیاد می شود. و چنانچه فشار آزموسیز کنترول نشود حجره در اثر افزایش حجم بیش از حد منهدم خواهد شد.

وجود لایه Mucopeptide در دیوارحجروی باکتریاها مانع از افزایش بی رویهٔ غشاء سایتوپلازمی می شود و از اینرو حجره را در برابر تغییرات فشار آزموسیز محافظت می کند. محیط هایی که برای رشد مایکوپلازماها، پروتوپلاست ها و پروکاریوت های فاقد دیوار حجروی در نظر گرفته می شوند باید حاوی شکر یا نمک باشند تا از جریان مالیکول های آب به داخل حجره و انهدام اینگونه حجرات شکننده جلوگیری کنند. موجوداتیکه برای رشد و نمو به غلظت بالایی از نمک احتیاج دارند Halophiles نامیده می شوند و قابل یادآوری است که اسپور باکتریاها بر خلاف حجرات Vegetative می توانند در محیط هایی چون عسل زنده باقی بمانند.

قوه جاذبه:

تاثیرات قوه جاذبه یا کشش سطحی هنوز در باکتریاها بصورت درست فهمیده نشده ولی روشن است که در قوه جاذبه پایین مواد سایتوپلازم از حجره فرار می کنند و غشای سایتوپلازم متضرر می شود. قوه جاذبه پایین همچنین مانع اتصال باکتریاها به سطح جامدات می گردد و بنابر این رشد باکتریاها را مختل می کند.

محیط های کشت جهت رشد باکتریاها

کشت خالص، کشتی است که فقط حاوی یک نوع میکروارگانیزم خاص باشد. اصطلاح clone در مایکروبیولوژی به عنوان مترادف برای کشت خالص به کار می رود. یک کلون مجموعه یی از حجرات است که تمام آنها از یک

حجرهٔ منفرد ایجاد شده باشند. برای به دست آوردن کشت خالص همچنین باید از ورود مایکروارگانیزم های آلوده کننده جلوگیری کرد. روش هایی که برای جلوگیری از آلودگی محیط کشت مایکروبی به کار می رود را تکنیک های اسپتیک می گویند. به طور کلی مواد غذایی مورد نیاز همه ارگانیزم ها یکسان هستند ولی برخی از ارگانیزم ها نیازمند مواد غذایی خاص می باشند. محیط های کشت (Culture media) در مایکروبیولوژی دو نوع می باشد؛ محیط های کشت ساختگی که ترکیب کیمیاوی آن معین می باشد و محیط های کشت پیچیده که ترکیب اجزای تشکیل دهنده آن دقیقاً معلوم نمی باشد. محیط های کشت مایع را می توان به وسیله افزودن Agar agar به حالت نیمه جامد تبدیل کرد. شکل کالونی که در این وسط های نیمه جامد و یا جامد تشکیل می شود ما را در تشخیص باکتری قدری کمک می کند یعنی از نقطه نظر لشمی و درشتی، رنگ، درخشندگی، خوردی و کلانی، مدور، پاشیده از همدیگر فرق می نمایند. انواع مختلف وسط های مایع و جامد جهت کشت نمودن باکتریاها به منظور تشکیل کالونی و تشخیص باکتریاها و مطالعه حساسیت باکتریاها در مقابل انتی بیوتیک ها کمک می کند.

Simple Medium

بسیاری از باکتریاها در محیط های کشت ساده مثل nutrient broth یا nutrient agar که حاوی Peptone (Poly ppeptides وAmino acides که از هضم انزایمی گوشت بد ست می آید) و عصاره گوشت که شامل نمکهای معدنی و ویتامین ها است، رشد می کنند.

Minimum medium

عبارت از محیط های کشت ساختگی که دارای حداقل ترکیبات مورد نیاز برای رشد باکتری می باشد. محیط های انتقال (Transport medium) که برای انتقال مایکروارگانیزم ها به لابراتوار استفاده می شود مثالی از این نوع محیط های کشت می باشد.

Differential medium

این نوع محیط کشت باکتری دارای معرف هایی می باشد که سبب تمایز یک باکتری یا دسته های از باکتریاها از سایر باکتریاها می شود مثلا محیط کشت EMB نوعی محیط افتراقی و انتخابی می باشد. این نوع محیط کشت که برای جداسازی باکتریاهای گرام منفی روده ای استفاده می شود، حاوی متیلین بلو بوده که رشد باکتریاهای گرام مثبت را مانع می شود، همچنین این محیط حاوی قندهای لکتوز بوده که کالونی های باکتریاهای تخمیر کننده مثل E.coli و انتروباکتریا در اثر تولید اسید، تغییر رنگ داده و از کالونی باکتریاهای غیر تخمیری قند لکتوز مثل سالمونلا و شیگلا فرق می گردند.

Selective medium

در این نوع محیط کشت، ترکیباتی وجود دارد که بطور انتخابی رشد مایکروارگانیزم های خاص را مساعد می کند ولی مانع رشد سایر مایکروارگانیزم ها می شود. عامل انتخابی می تواند pH ، رنگ های خاص، نمک و یا انتی بیوتیک های خاص باشد.

Enrichment medium

بعضی از باکتریاها به تعداد خیلی کمی در برخی محیط های طبیعی وجود دارند به طوری که در اغلب موارد، جداسازی آنها از جمعیت مایکروارگانیزم ها مشکل می باشد و یا به عبارت دیگر آنها مشکل پسند می باشند. این محیط های کشت دارای ترکیباتی است که اجازه رشد به نوع خاص یا انواع باکتریاهایی را می دهد، محیط کشت Selenit - F که برای تقویت و غنی سازی سالمونلا در نمونه مدفوع اسهالی استفاده می شود مثالی از این نوع محیط های کشت می باشد.

تعین مقدار و شمارش باکتریاها(Viable Count)

شمارش باکتریاها به طریقه های مختلف اجرا می گردد که در بین این میتودها کم و بیش فرق موجود می باشد .طریقه های مروج تعین وشمارش باکتریاهاعبارت اند از :

۱ـ طریقه شمارش کالونی ها:

suspension یا کلچر و یا نمونه (sample) اولی تهیه گردیده و تا حد ممکن آنرا رقیق ساخته و بعداً مقدار یک یک ملی لیتر در Petri dish ها انداخته با وسط خوب مخلوط می گردد بعد از Incubation به حرارت مناسب و وقت لازم تعداد کالونی های تشکیل شده به داخل Petri dish شماره می شود و تعداد باکتریاهای زنده در سمپل اولی تعین می گردد. بطور مثال سمپل یا کلچر اولی در وسط مایع بداخل تیوب (Test tube) تهیه می گردد.

باید علاوه نمود که همه وسایل لابراتواری همیشه و همیشه پاک، معقم، و سر پوشیده باشد. پلیت های (plate) Petri dishes سه گانه از هر یک سه تیوپ اخیر تهیه گردد. درجه رقاقت در تیوپ نمبر یک 10^{-1}، در تیوپ دوم 10^{-2}، در تیوپ سوم 10^{-3}، در تیوپ چهارم 10^{-4}، و در تیوپ پنجم 10^{-5}، می باشد. از هر یک سه تیوپ اخیر به مقدار یک یک ملی لیتر در هر یک از پلیت های سه گانه انداخته بالای آنها مقدار ۱۵-۲۰ملی لیتر Agar ذوب شده که در حدود ۵۰ درجه سانتیگراد حرارات دارد انداخته و پلیت ها بالای میز چندین مرتبه چپ و راست حرکت دورانی داده می شود تا محتوی پلیت ها خوب مخلوط شود و باکتریاها به هر طرف داخل پلیت پراکنده گردند. پلیت ها برای چند دقیقه بحال خود گذاشته شود تا خوب منجمد شود. بعد از منجمد شدن پلیت ها در انکوبیتور به حرارت ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت سرچپه گذاشته شود. بعضاً نظر به جنس مایکروب ها به مدت طویل تری جهت تکثر گذاشته می شوند. بعداً کالونی های تکثری که از اثر تکثر یک عدد باکتری به میان آمده به کمک آله بزرگ کننده (Quebeck) یا به کمک یک عدسیه کلان کننده شمار می شوند. مقصد از استعمال آله بزرگ کننده این است که کالونی های کوچک از نظر دور انداخته نشود.

در صورتیکه تعداد کالونی ها زیاد باشد که همه آنها شمار شده نتواند به

کمک آله Quebeck یک چند سانتی متر مربع آن شمار شود. تعداد کالونی های شمار شده بالای تعداد سانتی مترمربع ها که کالونی های آنها حساب شده تقسیم می نمایم در اینصورت تعداد کالونی های هر سانتی متر مربع بدست می آید. بعد از آن تعداد کالونی های یک سانتی متر مربع با قطر پلیت یا Petri dish ضرب می شود تا تعداد کل کالونی ها در پلیت تثبیت شود.

اگر از هر تیوب رقیق شده یک یک ملی لیتر در سه پلیت کشت شده باشد تعداد کالونی ها را در هر سه پلیت شماره نموده تقسیم سه شود تا تعداد کالونی ها در هر پلیت تعین گردد یعنی اوسط کالونی در یک پلیت معلوم گردد. معمولاً پلیت هایی که ۳۰ تا۳۰۰ کالونی در هر پلیت دارد حساب می گردد.

وقتی که تعداد کالونی ها در هر پلیت تعین گردید تعداد کالونی ها ضرب درجه رقاقت می گردد. بدین صورت تعداد باکتریاهای زنده در یک ملی لیتر یا یک سانتی متر نمونه (Sample) یا کلچر اولی دریافت می شود یعنی تعداد کالونی در یک پلیت ضرب درجه رقاقت مساوی به تعداد باکتریاها در فی ملی لیتر نمونه اولی می شود.

No.of colonies X dilution factor = CFU/mL

300 X 10^5(100000) =3 X 10^7 CFU/mL

در این فارمول:

Dilution factor =10^5

CFU = Colony-Forming Unit

Dilution factor =1/dilution

پس تعداد باکتریای زنده در یک ملی لیتر نمونه اولی مساوی به$3x1o^7$ می باشد.

۲- شمار یا تعین مقدار مایکروب ها به طریقه وزن نمودن :

به یک تیوب Centrifuge که قبلاً وزن شده یک مقدار معین کلچر مایکرواورگانیزم ها در آن انداخته می شود و به یک سرعت معین و وقت معین سنترفیوژمی شود باکتریاها تحت تیوپ تهنشین می شود، مایع فوق را دور انداخته مواد جامد تیوپ را توسط کاغذ فلتر یا آب جذبان (absarbant) خشک

نموده و وزن گردد. بدین ترتیب وزن جامد مایکروب ها تعین می گردد. جنبه تطبیقی این طریقه عملی نیست.

۳- شمار باکتریاها با میتود Turbidimetric method:

کثافت باکتریاها توسط درجه مکدریت تعین میگردد به خصوص در واکسین سازی از آن استفاده می شود.

انکسار نور= photometric=colorimeter

۴- شمار باکتریاها توسط سلایدهای مخصوص:

جهت شمار باکتریاهای زنده و مرده بکار می رود. این سلاید به نام Petroff-Hausser counting chamber یاد می شود که عمق این چمبر ۲/۱۰۰ ملی متر می باشد. در این سلاید یک ساحه شمار شده ضرب ۵۰ ضرب درجه رقاقت مساوی تعداد باکتریا در فی ملی لیتر مکعب(mL^3) می باشد.

در این سیستم کلچر زیاد رقیق می گردد و نتیجه درست تری و به وقت کمتر کثافت باکتریاها معلوم می گردد. باکتریاها ی زنده و مرده تعین می گردد. از کلچر رقیق شده یک قطره روی سلاید هموار گردیده، و بعد از خشک نمودن و تثبیت توسط الکل ذریعه رنگ گمزا (Giemza) یا Methylen blue رنگ شود حد اقل ۵ ساحه مایکروسکوپ شمار گردد و طور آتی محاسبه شود:

تعداد باکتریا ها در یک ساحه × ۵۰ × درجه رقاقت = تعداد باکتریا ها درفی ملی لیترمکعب

۵- شمار باکتریاها با در نظر داشت فعالیت حجره:

در این حصول مقدار اسید و گازی که توسط کلچر باکتریاها تولید می شود به طریقه کمیاوی و فزیکی تعین می گردد. در یک وسط معین یک مقدار معین گلوکلوز علاوه می گردد و مقدار معین باکتریاها کشت می شود. بعدا مقدار گاز و اسیدی که تولید می گردد، تعین می شود. این طریقه زیادتر به مقصد علمی استفاده می گردد. به هر اندازه که تعداد باکتریاها بیشتر باشد به همان اندازه مقدار بیشتری گاز و اسید بمدت کوتاه تری تولید می شود.

حرکت باکتریاها

باکتریاها از نقطه نظر حرکت به دو گروپ تقسیم می شوند:

۱- باکتریاهای متحرک(Motile)

۲- باکتریاهای غیر متحرک (Non motile):

باکتریاهایی غیر متحرک فلاجیل ندارند و آزادانه حرکت کرده نمی توانند.

باکتریاهای متحرک :

باکتریاها بطریقه های مختلف حرکت می نمایند که در زیر توضیح داده می شود:

a- حرکت برون (Brown):

حرکت برون که توسط شخصی به نام برون نشان داده شده این باکتریاها بشمول باکتریاهای کروی (Cocci) جای بجای شور می خورند و جای تبدیل نمی کنند. حرکت برون حرکت اصلی و حقیقی نیست.

b- حرکت حقیقی:

هرگاه باکتریاها به شکل قطره معلق توسط مایکروسکوپ عادی (نوری) یا مایکروسکوپ الکترونی (مایکروسکوپ ساحه تاریک) مطالعه شوند معمولاً سه نوع حرکت در آنها دیده می شود:

۱- باکتریاها در ساحه مایکروسکوپ جای خود را تغییر می دهند و یا از ساحه مایکروسکوپ خارج می شوند و غیب می گردند که این حرکت توسط فلاجیلا اجرا می گردد.

۲- باکتریاها پیش روی و یا عقب می روند که عامل این نوع حرکت فلاجیلا می باشد.

۳- بعضی از باکتریاها مانند Spirochaeta به اطراف محور خود چرخ می خورند. این نوع حرکت بصورت واضح در تحت مایکروسکوپ ساحه تاریک مشاهده می شود که یک حرکت حقیقی محسوب می شود.

معاینه حرکت باکتریاها

حرکت باکتریاها توسط مایکروسکوپ و یا کشت نمودن در وسط های نیمه جامد معاینه می گردد و از طریقه های ذیل استفاده بعمل می آید:

۱- طریقه مستقیم:

یک قطره کلچر باکتریایی را از وسط مایع گرفته بالای سلاید (Slide) پاک گذاشته می شود. این یک قطره کلچر معمولاً توسط لوپ (Loop) یا پایپت (Pipet) معمولاً (Pasteur pipet یا Micro pipet) بالای سلاید پاک به خصوص که چرب نباشد، گذاشته می شود. بعداً قطره مذکور توسط Cover slide (شیشه های خیلی نازک مربع، مستطیل، یا دایروی شکل اند) پوشانیده شده و کاورسلاید فشار داده می شود تا حباب ها از زیر کاورسلاید بر طرف گردد اما کلچر از اطراف آن خارج نشود. سپس سلاید توسط مایکروسکوپ معاینه می گردد. حرکت یا عدم حرکت باکتریاها طبق معلوماتی که در قسمت مبحث حرکت باکتریاها گفته شده بود، ملاحظه می شود.

۲- تعین حرکت باکتریاها بطریقه قطره معلق (Hanging drop):

در مرکز کاورسلیپ پاک یک قطره کلچر از وسط مایع می اندازیم بعدا توسط سلاید مخصوص که مرکز آن فرورفتگی مقعری دارد طوری پوشانیده می شود که اطراف مقعر سلاید توسط وازلین خوب چرب گردیده باشد. سپس بالای سلاید کمی فشار داده می شود تا سلاید مذکور به کاورسلیپ خوب بچسپد بعد از آن سلاید را به بسیار احتیاط راست می نماییم. در اینصورت قطره مذکور در فرورفتگی سلاید به حالت تعلق یا آویزان قرار می گیرد. بعداً حرکت باکتریاها توسط مایکروسکوپ تحت آبجکتیف ۴۰ یا ۱۰۰معاینه می شود. حرکت یاعدم حرکت باکتریاها طبق معلوماتی که قبلاً برای شما داده شده مشخص می شود.

۳- تعین حرکت باکتریاها به طریقه کشت نمودن باکتریاها در وسط های نیمه جامد:

توسط یک لوپ یا سیم معقم یک مقدار کلچر را گرفته در وسط نیمه جامد (motility media) طوری کشت می کنیم که سیم در قسمت مرکز و مستقیماً بداخل تیوپ که وسط نیمه جامد در آن قرار دارد فرو برده و آهسته به عین میسر خارج ساخته می شود. بعد از ۲۴ ساعت تیوپ را از انکوبیتور گرفته

و معاینه شود. اگر باکتریاها متحرک باشند، علاوه بر مسیر لوپ در تمام وسط از اثر تکثر باکتریاها یک مکدریت تولید می شود و حتی مسیر لوپ دیده نمی شود. اگر باکتریاها غیر متحرک باشند تنها در مسیر لوپ یک مکدریت دیده می شود، که غیر متحرک بودن باکتریاها را نشان می دهد.

منابع

AHMAD, S., 2010. Evaluation of bovine mastitis causing *Staphylococcus aureus* biofilm vaccine in bovines. M.V.Sc., thesis, Karnataka Veterinary, Animal and Fisheries Sciences University, Bidar, India.

BARON, E.J. and FINEGLD, S.M., 1990. Bailey & Scoth, s Dignostic Microliology, the C.V. Moshy Company.

BROOKS, G.F., KARROLL, K.C., BUTEL, J.S. and MORS, S.A., 2007. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. *Edn*. 24th., US: McGraw-Hill, Inc., *pp* ۱۰-۳۲

EFE, S., DENGIZ, Z. and KENCI, B., 2008. Microbiology. Zambak Yayinlari., *pp* 6-22

HENDERSON, B., M. WILSON, R.M. and Lax, A.S., 1999. Cellular microliology, John wiley& Sons.

KENCI, B., *et al*., 2010. Cytology. Zambak Yayinlari., *pp* ۲۰-86

LEDERBERG, J., 1992. Encyclopedia of microbiology, 4 vols. Academic Press.

LEVINSON, W., 2008. Review of medical microbiology & immunology. *Edn*. 10th., McGraw-Hill, INC., *pp* ۱۰-۲۶

LONSING, M., PRESCOTT, J.P.H. and DONALD, A.K., 1999. Microbiology, McGraw-Hail.

MADIGAN, M.T., MARTINK, J.M. and PARKER, J., 1997. Brock biology of microorganisms. Prentice Hall International, Inc.

McKANE, L. and KANDEL, J., 1996. Microbiology essentials and applications. *Edn*. 2nd., McGraw-Hill, INC., *pp* ۶۵-۸۲

MOAT, A.G. and FOSTER, J.W., 1995. Microbial physiology. *Edn*. 3rd., Wiley-Liss.

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1986. Microbiology. *Edn*. 5th., Tata McGraw-Hill., *pp* ۷۳-۹۹

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1993. Microbiology: Concepts and Applications. McGraw-Hill., *pp* ٦٥-٨٠

QUINN, P.J., MARKEY, B.K., CARTER, M.E., DONNELLY, W.J. and LEONARD, F.C., 2002. Veterinary microbiology and microbial disease., *pp* 3-7

SCHAECHTER, M., INGRAHAM, J.L. and NEIDHARDT, F.C., 2006. Microbe. American Society for Microbiology.

SLEIGH, M.A., 1990. Protozoa and other protists. Chapman & Hall.

SONENSHEIN, A.L., HOCH, J.A. and LOSICK, R., 2002. Bacillus subtilis and its closest relatives. American Society for Microbiology.

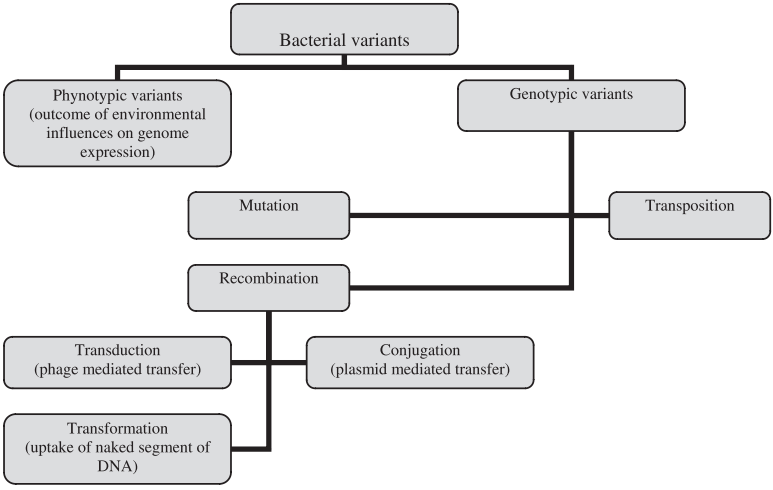
SONGER, J.G. and POST, K.W., 2000. Veterinary microbiology. The University of Arizona Tucson, Arizona., *pp* 1-9

فصل پنجم

جنیتیک باکتریاها
(Bacterial Genetics and Mechanisms of Genetic Variation)

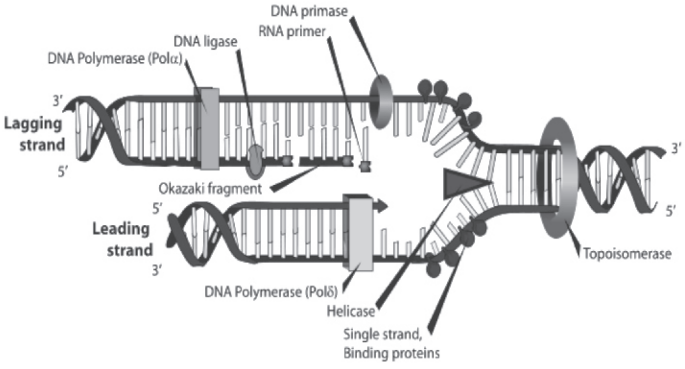
باکتریاها هاپلوئید (haploid) می باشند یعنی دارای یک کاپی کروموزوم حلقوی در سایتوپلازم خود هستند و این کروموزوم از مالیکول دو رشته ای DNA تشکلیل شده است، کروموزوم باکتریاها به شکل فنری مانند و آزاد در سایتوپلازم قرار دارند و تعداد زیاد جین ها را بر روی خود دارا می باشد. هر جین عبارت از یک قطعه DNA کروموزومی با ترتیب و توالی نوکلئوتایدی است که پروتین های مخصوص را رمز می نمایند. این پروتین های رمز شده برای ساختمان های حجروی ضروری و حیاتی و یا بطور مجموع در پروسه های متابولیکی نیاز می باشند.

علاوه بر DNA کروموزومی، باکتریاها دارای عناصر DNA خارج کروموزومی مثل Plasmids ، باکتریوفاژها و ترانسپوزون ها (transposons) نیز می باشند که اطلاعات جنیتیکی اضافی را حمل می نمایند و بعضی آنها می توانند بالای بیان فینوتایپیک تاثیر داشته باشند.



همانند سازی DNA باکتریاها

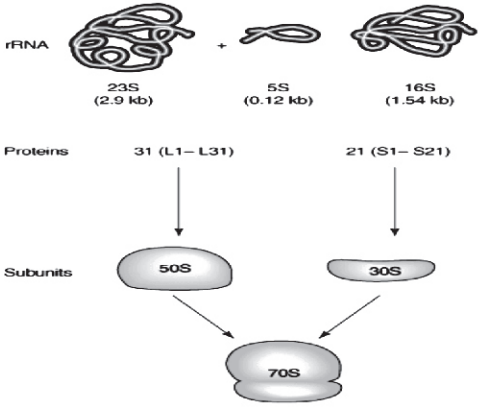
از آنجاییکه باکتریا توسط انشقاق دوگانه یا Binary fision همانند سازی می کنند. حجرات دختری معمولا از لحاظ جنیتیکی مشابه هستند در زمان همانند سازی زنجیر نکلئوتایدهای پیورین و پایرمیدین در DNA کاپی شده و دو DNA دختری دو رشته یی حاصل می شود. حالا هر کدام از این DNA دختری از یک رشته قدیمی و یک رشته تازه سنتز شده، ترکیب شده اند که این پروسه را همانند سازی نیمه حفاظتی یا Semiconservative replication می نامند. به تعقیب آن پس از بازشدن مارپیچ دو رشته یی مادری تحت تاثیر DNA gyrase ، هر رشته به عنوان الگو برای سنتز یک رشته مکمل (complementary) برای همانند سازی DNA عمل می کند. البته در این روش دو مالیکول مارپیچ DNA مشابه با عمل انزایم DNA Polymerase تشکیل می شود و بلاخره در پایان تمام رشته های تشکلیل شده توسط انزایم DNA ligase به هم متصل می شوند و کروموزوم های حلقوی شکل می گیرد.



شکل: طریقه همانند سازی DNA

Transcription and Translation:

در زمان رونویسی یک رشته DNA البته رشته مثبت تحت عملیه ترانسکرپشن قرار گرفته و mRNA ساخته می شود. این روش طوری است که انزایم (DdRp) یا RNApolymerase به قسمت پروموتور که توالی بخصوصی از نوکلئوتایدهای DNA می باشد، متصل شده و دو رشته DNA از هم جدا شده و mRNA سنتز می شود و زمانی که انزایم RNA polymerase به قسمت termination sequence جین می رسد، رونویسی توقف می نماید. بعداً اطلاعاتی که در این mRNA رمز می شود به پروتین ترجمه می شود. این عمل بالای رایبوزوم با مشارکت tRNA انجام می پذیرد. tRNA امینواسید های مخصوص را به mRNA منتقل نموده و به این طریق زنجیر پولی پیپتاید تشکیل شده و به تعقیب اتصال دو امینواسید به هم tRNA امینو اسید اولی از رایبوزوم آزاد می شود. زمانی سنتز زنجیر پروتین متوقف ساخته می شود که یک کودان مهمل (nonsense codon) توسط رایبوزوم بر بالای mRNA نصب گردد.



:Plasmids

تعداد زیادی از باکتریاها حاوی عناصر جنیتیکی کوچکی می باشند که پلاسمید نامیده می شوند. این عناصر جنیتیکی در سایتوپلازم باکتری موقعیت داشته و می توانند به شکل مستقل همانند سازی نمایند. جین های ضروری برای رشد باکتریاها بروی کروموزوم حمل می شوند و پلاسمید جین هایی را حمل می کند که در ارتباط با عملکرد های مخصوص می باشند. زیادتر پلاسمیدها حلقه یی بوده و از DNA دو رشته ای ترکیب شده اند. پلاسمیدها اندازه های متفاوت داشته و معمولاً یک بر دهم حصه جینوم باکتریایی بوده و آنها حاوی جین هایی هستند که می تواند توسط حجره استفاده شود. در بعضی از باکتریاهای پاتوجن پلاسمیدها فاکتورهای ویرولانسی و ویژه گی های مقاومت انتی بیوتیکی را رمز می نمایند.

پلاسمیدها از انزایم های حجره میزبان برای همانند سازی استفاده می کنند بعضی از پلاسمیدها مانند F plasmid توان نفوذ به داخل جینوم باکتری را داشته و در زمان همانند سازی می تواند به حجرات دختری منتقل شوند. از آنجاییکه همانند سازی زیادتر پلاسمیدها مستقیماً وابسته به همانند سازی باکتری میزبان نمی باشد، پخش پلاسمیدها در بین حجرات دختری تصادفی می باشد.

انتقال پلاسمیدها در سایتوپلازم باکتریاها توسط دو عملیه دیگر به نام conjugtive و transformation نیز امکان پذیر است.

:Bacteriophages

وایروس های آلوده کننده باکتریاها را باکتریوفاژ می نامند. از نگاه مورفولوژی دسته های متفاوت آنها وجود دارد. فاژها را می توان بر اساس نحوه تکثیر شان تقسیم نمود. فاژهای لایتیک یا virulent که نسخه های بسیاری از خود تولید می کنند و با کشتن و لایز حجره باکتری میزبان از آن خارج می شوند. فاژهای معتدل یا temperate قادراند وارد حالت پروفاژ غیر لایتیک شوند که در این حالت همانند سازی آنها همراه با همانند سازی باکتری میزبان می باشد و آنها می توانند به شکل DNA حلقوی مانند پلاسمیدها در سایتوپلازم حضور داشته باشند. پروفاژها ممکن است در اثر محرک هایی چون رویدادهای نادر طبیعی و یا مواجه شدن به پرتوهای UV در هنگام تجزیه به حالت های لایتیک تبدیل شوند، که به این حالت induction گفته می شود. پروفاژهایی که کاملاً در اثر میوتیشن ها غیر فعال شده و قادر به تولید ذرات فاژی آلوده کننده و ایجاد حالت لایتیک نمی باشد را criptic prophage می نامند.

میکانیزم هایی که در تغییرات جنتیکی اشتراک دارند

تغییرات جنتیکی می تواند در حادثاتی چون میوتشن و بازترکیب یا Recombination در باکتریاها اتفاق بیافتد. در میوتشن این تغییرات به اثر تغییر در توالی و تسلسل نکلئوتاید یک جین رخ می دهد و در بازترکیب گروپ های جدیدی از جین ها در جینوم یا داخل سایتوپلازم جابجا می شوند. جینوتایپ یک حجره پوتانشیل توارثی آن را تعیین می کند. هر چند فقط یک نسبت کوچک اطلاعات جنتیکی تحت شرایط محیطی معینی بیان می شود. فینوتایپ مشخصات شناخته شده یی که توسط نوکلئیک اسید حجره بیان می شود، را نمایش می دهد. به طور مثال باکتری *Bacillus anthracis* که عامل مرض انترکس می باشد دارای کپسولی است که این کپسول فقط در شرایط *in vivo* تولید می شود و هیچگاه در وقت رشد باکتری بالای محیط های کشت لابراتواری تولید نمی شود فلهذا هر دو یعنی جینوتایپ و محیط آن می تواند بالای حالت فینوتایپیک آن تأثیر داشته باشد.

: Mutation

میوتیشن عبارت از یک دگرگونی یا تغییر توارثی پایدار در یک جینوم باکتری می باشد. از آنجا که یک جین با نکلئوتایدهای تغییر یافته به شکل نادرست یک امینواسید را در یک پروتین رمز می نماید فلهذا میوتیشن می تواند باعث تغییر فینوتایپیک شود. تغییرات میوتشن می تواند برای ارگانیزم سودمند و یا تخریب کننده باشد و همچنین می تواند به صورت خودبخودی یا تجربی توسط عوامل فیزیکی، کیمیاوی و یا بیولوژیکی جهش زا حادث شود.

:Genetic Recombination

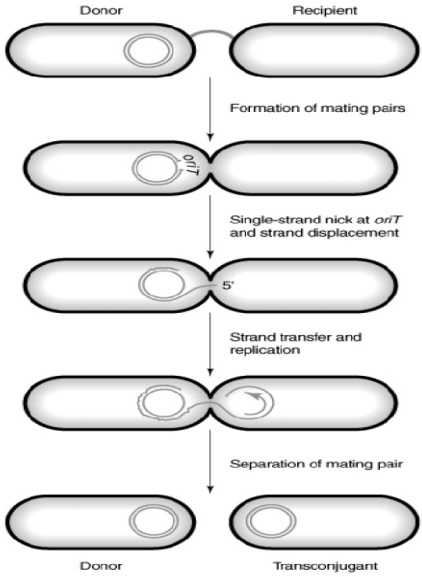
بازترکیب یا Recombination زمانی اتفاق می افتد که قسمتی از نکلئوتایدهای DNA از دو منابع مجزا با هم مدغم شوند. در باکتریاها عملیه بازترکیب به اثر وارد کردن مواد جنتیکی جدید از یک حجره مختلف بوجود می آید که یک تغییر توارثی غیر منظم را ایجاد می کند و با این مکانیزم انتقال اطلاعات جنتیکی از یک حجره به حجره دیگر صورت می پذیرد و این را تبادل عرضی اطلاعات جنتیکی بین باکتریاها می نامند که در سه روش یا مسیر زیر خلاصه می شود.

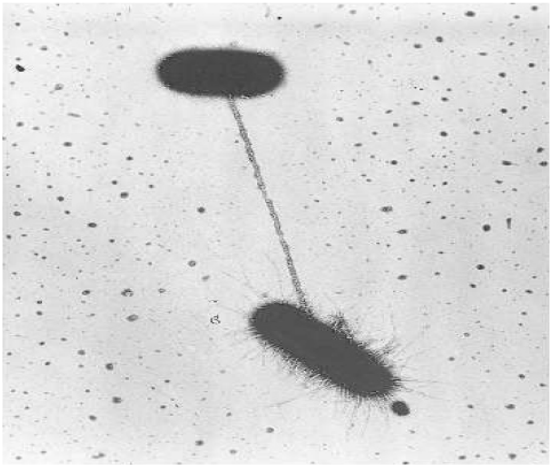
:Conjugation

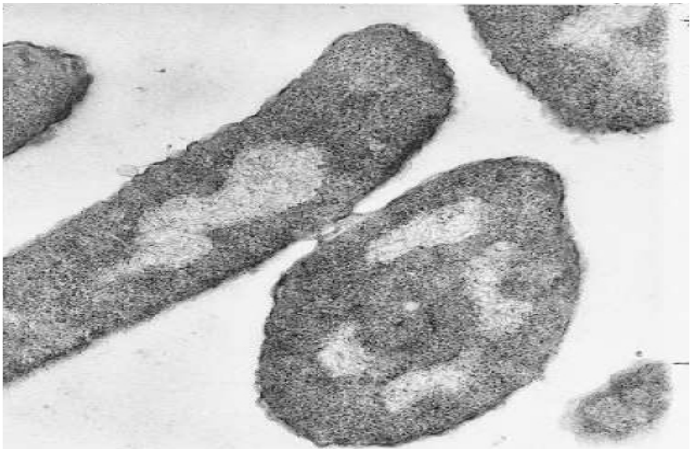
کانجوگیشن یا پیوستگی تخصصی ترین میکانیزم تبادل جین در باکتریاها می باشد که به وسیله تماس مستقیم بین حجرات دهنده و گیرنده صورت می گیرد. این عمل با وساطت پلاسمیدها انجام می گیرد. پلاسمیدهایی که قادر به انتقال خود طی کانجوگیشن می باشند را Conjugative plasmid می نامند. این پلاسمیدها قادراند علاوه بر انتقال خود، پلاسمیدهای غیر قابل انتقال را Non conjugation plasmid و یا بخش هایی از کروموزوم را برای انتقال به حرکت درآوردند.

مطالعه این پدیده عمدتاً با استفاده از باکتری E.coli صورت می گیرد. در این باکتری، عاملی موسوم به نام F نخستین پلاسمیدی است که در طی عمل کانجوگیشن از حجره یی به حجره دیگر انتقال می یابد. حجره دهنده دارای عامل F را حجره +F ، و حجره گیرنده فاقد آن را حجره -F می گویند. در برخی از حجرات +F عامل F شکسته شده و وارد کروموزوم حجروی می شود د را این

حالت حجره را Hfr گویند. در زمانی کانجوگیشن حجره Hfr به حجره F- ، کروموزوم Hfr حاوی عامل F شکسته شده، همانند سازی می کند و تکثیر می یابد و نسخه جدیدی از این کروموزوم یا بخشی از آن به حجره گیرنده منتقل می شود. در اثر این عمل، حجره گیرنده F- می تواند جین های جدیدی را داشته باشد. از آنجائی که فمبریای جنسی یا Sex pilus تنها در باکتریاهای گرام منفی دیده می شوند، عمل کانجوگیشن نیز زیادتر در این باکتریاها دیده می شود. در باکتریاهای گرام مثبت چون فمبریای جنسی وجود ندارد عمل کانجوگیشن زمانی رخ می دهد که با هم تماس نمایند.







Transduction:

ترانسدکشن به انتقال RNA از یک حجره به حجره گیرنده با واسطه باکتریوفاژ اطلاق می شود. دو مکانیزم مجزای ترانسدکشن وجود دارد که توسط آن یک باکتریوفاژ می تواند جین های باکتری را از یک حجره به حجره دیگر حمل کند. ترانسدکشنی که در زمان یک سایکل لیتیک اتفاق می افتد را Generalized transduction می نامند که طی آن انتقال هر کدام از جین های باکتری امکان پذیر می باشد. نوع دیگر ترانسدکشن عبارت از Special transduction می باشد. این نوع زمانی ایجاد می شود که یک پروفاز به اثر تحریکاتی چون متقابل شدن به عوامل جهش زا وارد یک سایکل لایتیک می شود و در نتیجه انتقال جین های باکتری به تعداد زیاد حجرات دیگر صورت می گیرد و این به خاطری است که جین های باکتری در تمام نتاج فاژ Phage progeny کاپی شده است. با این طریق بعضی جین های فاژ به کروموزوم باکتری داخل شده و در زمانی که لایز اتفاق می افتد، باقی می مانند.

Transformation: (دگرگونی)

جین ها به صورت DNA عریان انتقال پیدا می کنند و یا به عبارت دیگر این پروسه شامل انتقال جین ها در یک قطعه آزاد از DNA کروموزوم از یک باکتری دهنده لایز شده به باکتری دیگر می باشد. باکتری گیرنده را Competent recipient می نامند. ترانسفورمیشن طبیعی غیرمعمول بوده و فقط در اندک جین های باکتریایی اتفاق می افتد.

ترانسفورمیشن محدود به حجرات باکتریای به خصوص می باشد که به همچون حجرات Competent گفته می شود. این حجرات Competent توانایی اتصال به DNA بدهند منتقل شده در خود را دارند. البته یک پروتین مخصوص به DNA متصل شده و آن را در مقابل نوکلئازهای داخل حجره حفاظت می کند و بعدا این DNA با جینوم باکتری مدغم می گردد.

Transposons:

عبارت از عناصر جنتیکی متحرک هستند که بعضی اوقات به آنها Jumping genes هم اطلاق می شود و توانایی حرکت از یک موقعیت به دیگری را در جینوم دارند. همچنان آنها می توانند با DNA پلاسمید مدغم شوند. ترانسپوزون ها به صورت مستقل همانند سازی کرده نمی توانند و تنها در زمانی پروسه همانند سازی کروموزوم باکتریا یا پلاسمید حجره میزبان، همانند سازی می نمایند.

منابع

BROWN, T.A., 2005. Gene cloning and DNA analysis an introduction. *Edn*. 5th., UK: Blackwell., *pp* 3-130

CHARLEBOIS, R.L., 1999. Organization of the prokaryotic genome. American Society for Microbiology.

LENGLER, J.W., DREWS, G. and SCHLEGEL, H.G., 1999. Biology of the prokaryotes. Blackwell Science.

MÜLHARDT, C., 2007. Molecular biology and genomics. Academic Press., *pp* 26-149

REAM, W., GELLER, B., TREMPY, J. and Field, K., 2003. Molecular microbiology laboratory. Academic Press., *pp* 18-48

SAMBROOK, J. and RUSSELL, N.O., 2001. Molecular cloning: A Laboratory Manual. *Edn*. 3rd., Cold Spring Harbor Laboratory.

SNYDER, L. and CHAMPNESS, W., 1997. Molecular genetics of bacteria. ASM Press.

TRUN, N. and TREMPY, J., 2004. Fundamental bacterial genetics. Blackwell Science, Ltd.

فصل ششم

رهنمای عمومی کار در لابراتوار مایکروبیولوژی

لابراتوار مایکروبیولوژی مانند دیگر لابراتوارها بوده، با این تفاوت که در لابراتوار مایکروبیولوژی برای کار و جابجا کردن ارگانیزم های که با چشم غیر مسلح قابل دید نمی باشد، سهولت های اضافی فراهم شده است. در لابراتوار مایکروبیولوژی خصوصا هنگام کار با مایکروارگانیزم های بیماریزا (Pathogen) همیشه امکان منتن شدن و بیمار شدن موجود می باشد. ازینرو باید تمام اصول جهت استعمال و ترتیب کردن سامان، مواد و لوازم لابراتواری کاملاً رعایت گردد. از محصلان و کارمندان لابراتوار جداً تقاضا بعمل می آید تا در این زمینه توجه زیاد به خرج دهند و برای جلوگیری از منتن شدن خود، دوستان خود، محیط و حتی اعضای فامیل خود نکات ذیل را رعایت کنند:

۱- در لابراتوار مایکروبیولوژی پوشیدن چپن یا پیش بند در تمام وقت و هنگام کار با مایکروارگانیزم ها برای شخص ضروری می باشد.
۲- سطح میزهای کار باید قبل و بعد از هر جلسه یا نوبت کار لابراتواری تمیز گردد.
۳- شخصی که در لابراتوار مایکروبیولوژی کار می کند باید قبل از ترک لابراتوار دست های خود را همرای مایع Disinfectant بشوید.
٤- خوردن، آشامیدن و دود کردن در لابراتوار مایکروبیولوژی ممنوع می باشد.
٥- از تماس قلم، پخته و لباس به دهان خود داری شود.
٦- از تر کردن یا نمدار کردن لیبل های کاغذی با زبان خودداری شود.
۷- Inoculation loop باید قبل و بعد از استفاده تعقیم شود تا از آلوده شدن کلچر باکتریای جلوگیری به عمل آید.

۸- تست تیوپ های Broth و Agar باید همیشه در کانتینر مخصوص آن در سمت راست بالایی نگهداشته شود و از خوابانیدن آن به روی سطح میز کار جلوگیری به عمل آید.
۹- از چپه شدن کلچر باکتریایی در لابراتوار جلوگیری شود و اگر تصادفی این کار صورت گرفت ساحه آلوده شده را با لوشن انتی سپتیک شسته و حتی برای یک زمان قابل توجه و لازم کوشش شود که لوشن مذکور از ساحه دور نشود.
۱۰- تمام کابینت ها باید رنگ مخصوص و در صورت امکان برای وسایل مشخص و معرف های متفاوت لیبل های متفاوت نصب گردد.
۱۱- تمام وسایل و معرف ها باید بعد از ختم کار در جاهای اصلی آن گذاشته شود.
۱۲- در وقت تجربه و کار با کلچر زنده باید نهایت دقت شود و تمام لوازم چون شیشه های لابراتواری، سلاید و کلچرهای مورد استفاده یا استفاده شده باید به جای مخصوص آن که قبلاً در نظر گرفته شده ترک شود و وسایلی که دوباره قابل استفاده می باشد برای تعقیم نمودن آن اقدام شود.
۱۳- قبل از ترک لابراتوار باید از بسته بودن نل های آب و گاز اطمینان حاصل شود.
۱٤- آوردن اشیاء و مواد غیر ضروری از قبیل کلاه، بالاپوش و غیره به لابراتوار ممنوع است.
۱۵- در لابراتوار هر محصل باید جای دایمی و مایکروسکوپ جداگانه داشته باشد.
۱٦- در ختم کار عملی هر محصل کتابچه یاداشت درس عملی خویش را باید از ملاحظه شد استاد مربوطه خود بگذراند تا تصیح شود.
۱۷- میز کار خود را توسط ماده ضد عفونی پاک نموده و سامانیکه از تکنیشن جهت انجام کارهای عملی اخذ نموده اند، دوباره به شخص مذکور تسلیم نمایند.
۱۸- نظم و انضباط هنگام تشریح دروس عملی یا نظری جداً مراعات گردد.

روش های مورد استفاده جهت مشاهده باکتریاها

استفاده از مایکروسکوپ و کار روزمره با آن:

هدف از این لکچر درسی مطالعه قسمتهای مختلف یک مایکروسکوپ و وظایف آن است. چون علم مایکروبیولوژی با مایکروارگانیزم هایی سروکار دارد که با چشم غیر مسلح قابل دید نمی باشند. فلهذا انکشاف مایکروبیولوژی رابطه مستقیم با انکشاف مایکروسکوپ مدرن دارد.

مایکروسکوپ بزرگ نمایی یک جسم را مساعد ساخته و از این جهت در لابراتوار مایکروبیولوژی از آن برای بزرگ نمایی و قابل دید ساختن مایکروبهای مورد علاقه استفاده می شود که قدرت بزرگ نمایی ٤٠٠ تا ٤٠٠٠٠٠ مرتبه را داشته و ازینرو برای مطالعه مارفولوژی، ساختمان، نظم و آرایش حجرات مایکروارگانیزم ها از آن استفاده به عمل می آورند.

بطور کل مایکروسکوپ ها به دو کتگوری اصلی جدا شده اند:

١- مایکروسکوپ نوری (Light microscope)

٢- مایکروسکوپ الکترونی (Electron microscope)

:Light microscopes

در این نوع مایکروسکوپ ها برای بزرگ ساختن یک جسم از امواج نوریLight waves منحیث یک سیستم استفاده می شود و این زمانی میسر می شود که امواج نوری از بین سلسله لینزهای شیئی و چشمی می گذرند.

مایکروسکوپ نوری در دو نوع متفاوت طبقه بندی می شود:

1- Simple microscope
2- Compound microscope

:Electron microscope

در این نوع مایکروسکوپ از پروتو یا اشعه الکترون ها (Beam of electrons) استفاده می شود که بزرگ نمایی (Magnification) اشیاء را میسر می سازد.

دو نوع مایکروسکوپ الکترونی را می توان یافت :

1- Transmission electron microscope
2- Scanning electron microscope

:Simple microscope

مایکروسکوپ ساده از یک وسیله لینز مانند مفرد محدب الطرفین یا از دو سو به برآمده تشکیل شده است و مثال ساده آن ذره بین (Magnifying glass) می باشد. از این نوع مایکروسکوپ برای تشریح و معاینه بعضی واکنش ها چون Slide agglutination reaction استفاده به عمل می آید و قابل ذکر است که روزنه عددی (Numerical aperture) پایین بوده و قدرت تفکیک یا Resolution آن ۱۰ مایکرومتر می باشد.

:Compound microscope

مایکروسکوپ مرکب دارای سیستم لینز می باشد که قرار ذیل است:

۱- Objective Lens :
این نوع لینز نزدیک به شیء (Object) قرار دارد و در اینجا یک تصویر ابتدایی از اثر بزرگ ساختن جسم شکل می گیرد.

۲- Ocular lens or Eyepiece (لینز چشمی):
در بین این لینز تصویر نمودار می شود و تصویر ابتدای زیادتر توسط لینز چشمی بزرگ شده طوری که تصویر واقعی شکل گرفته و با چشم مشاهده می شود.

در مایکروسکوپی سه اصل یا Principle مهم قرار ذیل است :

1- Magnification
2- Resolving power
3- Illumination

۱- بزرگ نمایی یا Magnification:

بزرگ نمایی به بزرگ ساختن نمونه یا جسم اصلی توسط Objective lens و Ocular lens اطلاق می شود. ازدیاد در طول، عرض و ضخامت ارگانیزم بطور کل درجه بزرگ نمایی می باشد. قدرت بزرگ نمایی در یک مایکروسکوپ نتیجه یی از قدرت بزرگ نمایی لنز چشمی و قدرت بزرگ نمایی لنز شیئی یعنی Objective lens می باشد.

Total magnification = (magnification of ocular lens) x (magnification of objective lens)

در یک مایکروسکوپ مرکب معمولی سه نوع Objective lens می توان یافت :

نام لنز	بزرگ نمایی	لنز چشمی	مجموع بزرگ نمایی
Low power	10 X	10 X	100 X
High power	40-45 X	10 X	400-450 X
Oil immersion	100 X	10 X	1000 X

بناً مجموع بزرگ نمایی یا آخرین درجه بزرگ نمایی که از یک مایکروسکوپ مرکب معمولی با استفاده از روغن Oil immersion متصور است یک هزار مرتبه می باشد.

۲- قدرت تفکیک (Resolving power)

قدرت تفکیک یکی از مشخصات عمده مایکروسکوپ می باشد. این عبارت از توانایی مایکروسکوپ در قسمت تفریق دو نقطه مجاور و نزدیک همدیگر می باشد که با این قدرت مایکروسکوپ این دو نقطه مجاور و نزدیک

را متمایز می سازد. بلند بردن این قدرت در مایکروسکوپ برای شناسایی و قابل دید ساختن اشیاء و ساختمان های بسیار کوچک ضروری است.

تعین کننده های قدرت تفکیک (Resolving power) در مایکروسکوپ عبارت از اند:

طول موج نور که با علامه λ نشان داده می شود و روزنه عددی لنز شیئی یا Numerical aperture که با NA نمایش می دهند.

$$RP = \frac{\lambda}{2 \times NA}$$

تعریف روزنه عددی یا Numerical aperture :

عبارت از مشخصه نوری Objective lens بوده که بالای لنز کاپی یا پرینت می شود و این تولیدی است از ضریب شکست واسط (medium) در بین Objective lens و شیء معاینه شده.

وقتی که مشاهدات ما در قسمت Low power objective و High power objective باشد مسلم است که objective از نمونه توسط هوا جدا می شود و ضریب شکست نور در هوا کمتر از شیشه می باشد فلهذا پرتوهای نور شکسته یا منکسر می شود و از سلاید به هوا عبور می کند و با این صورت این پرتوها یا شعاع های نور بطور کل از objective خطا حاصل می نمایند و اینجاست که NA کمتر از عدد یک می باشد. برای اینکه NA قیمت یا ارزش بالاتر از عدد یک داشته باشد در واقع باید Objective در واسط یا medium دارای ضریب شکست (Refractive index) بالا باشد نسبت به هوا که با استفاده از oil immersion منحیث واسط می توانیم این ضریب شکست نور بالا را فراهم کنیم و در واقع ضریب شکست نور در oil immersion مساوی به ضریب شکست در شیشه بین سلاید وObjective می باشد در این صورت انکسار پایین آمده و پرتو یا شعاع نور زیادتری به objective داخل شده و قدرت تفکیک زیادتر شده و تصویر واضح تر و شفاف تر به ملاحظه می رسد.

قابل ذکر است که انواع مختلف روغنیات به این منظور استفاده می شوند و NA لنز شیئی Oil immersion کمی بالاتر از عدد یک می باشد

(۱.۲ تا ۱.٤) و از انواع مختلف روغنیاتی که به این منظور استفاده می شوند؛ روغن پارافین و Cedar wood oil را می تواند نام گرفت.

- طول موج نور قابل دید ٤۰۰ تا ۷۰۰ ننومتر می باشد. (Violet red)
- روزنه عددی یا NA در Oil immersion objective مساوی به 1.25 می باشد.
- روزنه عددی یا NA در Low power objective مساوی به 0.25 می باشد.
- روزنه عددی NA در High power objective مساوی به 0.65 می باشد.

پس بنابراین:

$$RP = \frac{500\,nm}{2 \times 1.25} = 0.2\mu = 200\,nm$$

فلهذا زیادترین تفکیک پذیری که از یک مایکروسکوپ مرکب متصور است در حدود 0.2 مایکرومتر می باشد.

3 - سیستم روشن سازی یا تنویری (Illumination System):

a. Light source

b. Mirror

c. Condensor

نور از منبع نور در سطح پایین کاندینسور پرتاب می شود و توسط mirror عبور داده می شود. میرور یا آینه در قسمت پایین کاندینسور موقعیت دارد.

:Light Source

دو نوع منبع نوری می تواند استفاده شود:

1- Natural Light
2- Artificial light Source

نکته قابل توجه این است که نور کافی برای مشاهده بهتر ضرورت است.

:Mirror

آینه یا میرور دارای دو سطح انعکاسی یا پرتابی می باشد.

۱. وقتی که از نور آفتاب یا منبع طبعی نور استفاده می شود. Plane surface

۲. وقتی که از نور مصنوعی استفاده می شود. Concave surface

:Condenser

برای تجمع و تشدید ساختن نور استفاده می شود و دارای یک پرده عنبیه یا Iris diaphragm بوده که شدت نور را تنظیم می نمایند و برای بدست آوردن حداکثر تصویر یا Illumination قابل تنظیم می باشد. همچنین در روی کاندینسر یک فلتر تدارک دیده شده که توانایی تبدیل نور مصنوعی را به طبیعی و حتی برای متمرکز ساختن نور در یک نقطه جسم ما را کمک می کند و زیادتر از فلتر آبی استفاده به عمل می آید.

:(WD) Working Distance

عبارت از فاصله بین objective lens و جسم تحت مشاهده می باشد. وقتی که بزرگ نمایی objective lens بالا برود فاصله کاری یا working distance کم شده می رود و این سبب می شود تا شعاع بزرگی از نور داخل objective شده و قدرت تفکیک یا Resolution زیاد شود.

Objective	Focal length (F)	WD
Low power	16	500 mm
High power	4	0/46mm
Oil immersion	1/8	0/13mm

مایکروسکوپ بطور عموم به چهار قسمت بزرگ قابل تقسیم است :

۱- **Optical system:** شامل لنز های چشمی و شیئی می باشد.

۲- **Illumination system:** شامل منبع نور که جهت روشن ساختن جسم به کار می رود، Mirror و Condensor می باشد.

۳- **Adjustment system:** شامل coarse adjustment، Fine adjustment و Stage adjustment می باشد.

٤- **Supporting system:**

شامل سه قسمت می باشد که عبارت اند از Base یا پایه ، Arm یا بازو و Stage.

قسمت های مختلف یک مایکروسکوپ نوری :

۱- **Eyepiece / Ocular lens:**

لنز چشمی از دو لنز ساده از یک سو پهن و از طرف دیگر محدب (Plano convex) تششکیل شده که بزرگ نمایی آن همیشه 10x می باشد.

۲- **Nosepiece :**

از سه لنز objective تشکیل شده که قرار ذیل اند:

a. Low power objective
b. High power objective
c. Oil immersion objective

۳- **Body tube:**

نور را از objective به لنز چشمی عبور می دهد.

٤- Stage:

جهت نگهداشتن سلاید استفاده می شود و دارای دکمه تنظیم کننده بوده که سلاید را می توانیم به طرف بالا، پایین و در مجاورت آن تنظیم کنیم.

٥- Condenser:

جهت متراکم ساختن یا وظیفه متراکم ساختن نور را بالای جسم تحت مشاهده به دوش دارد.

٦- Iris diaphragm:

شدت نور را تنظیم می کند.

٧- Mirror :

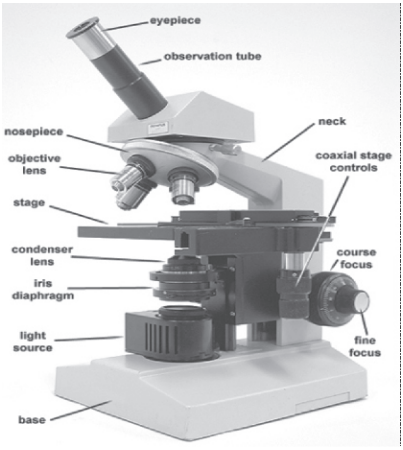
در تحت کاندینسور واقع شده و دارای دو سطح پرتابی یا انعکاسی مسطح (plane) و مقعر (concave) می باشد.

٨- Coarse adjustment screw :

در فوکس نمونه ما را کمک می کند.

٩- Fine adjustment screw:

برای شفاف ساختن تصویر ما را کمک می کند طوری که با چرخ دادن آن بعد از فیکس شدن یک تصویر توسط coarse adjustment knob ما را قادر به این می سازد تا دو جسم متفاوت را تفکیک کنیم.



مایکروسکوپ زمینه روشن (Bright- filed microscope)

مایکروسکوپ معمولی دارای سه عدسیه شیئی با درشت نمایی کم، درشت نمایی زیاد (خشک با درشت نمایی زیاد) و روغن صدر(Oil immersion) می باشد. با استفاده ازعدسیه های روغن صدر در مایکروسکوپ زمینه روشن معمولی، حداکثر میتوان به درشت نمایی 1000x دست یافت. این بزرگ نمایی برای بررسی معمول اسمیرهای (smear) باکتریایی رنگ آمیزی شده و اسمیرهای مرطوب (wet mounts) بکار می رود. دیگر مشخصات مایکروسکوپ نوری در مبحث گذشته به تفصیل بیان شد.

مایکروسکوپ زمینه تاریک (Dark- field microscope)

از روش نور دادن در زمینه ی تاریک می توان در مایکروسکوپ معمولی با جایگزینی یک کاندینسور زمینه تاریک (Dark –field condenser) بجای کاندینسور معمولی استفاده کرد. این کاندینسور مخصوص، منبع قوی نور را بطور مورب بر روی اسمیر مرطوب تهیه شده منعکس مینماید. اجسام خیلی کوچک مثل مایکروارگانیزم ها نور را پخش کرده، بصورت تصاویر روشن در زمینه تاریک دیده می شوند. با استفاده از این روش میتوان مایکروارگانیزم های باریک و بسیار کوچک مثل Spirochetes را که با مایکروسکوپ های معمولی قابل مشاهده نیستند، به آسانی رویت نمود.

همچنین مایکروارگانیزم های زنده و حرکت آنها را با این روش می توان مشاهده نمود.

Fluorescence microscope

رنگ های فلئورسنس متنوعی جهت رنگ آمیزی مایکروارگانیزم ها بکار می روند. روشی که به عنوان immunofluorescence (روش Fluorescence antibody یا FA) شناخته می شود بطور وسیع در مایکروبیولوژی کلینیکی بمنظور تشخیص مایکروارگانیزم ها مورد استفاده قرار می گیرد. معرف های انتی بادی درخشان از طریق اتصال یک رنگ فلئورسنس به یک انتی بادی اختصاصی (Specific antibody) ایجاد می شود. این ترکیب به انتی جن مربوط به خود متصل خواهد شد. متعاقب آن انتی جن متصل به انتی بادی بخاطر داشتن خاصیت فلئورسنس در مقابل نور ماورای بنفش مایکروسکوپ فلئورسنس مشخص می شود.

Phase-contrast microscope

زمانیکه امواج نور از بین اشیاء شفاف مثل حجرات عبور می کنند، بسته به خواص موادی که از بین آنها عبور می نمایند در فازهای مختلف بیرون می آیند. در این نوع مایکروسکوپ ها کاندینسور فازی وعدسیه شیئی فازی (Phase objective lens) اختلافات فازی را به اختلاف در شدت نور تبدیل می نمایند، لذا بعضی از ساختمان ها تیره تر به نظر می رسند. این روش زیادتر جهت مشاهده ساختمان های ظریف مایکروارگانیزم های زنده رنگ نشده کاربرد دارد.

Electron microscope

Transmission electron microscope: اصول این وسیله مشابه مایکروسکوپ نوری است. در این نوع مایکروسکوپ از پروتو یا اشعه الکترون ها (Beam of electrons) استفاده می شود که بزرگ نمایی (Magnification) اشیاء را میسر می سازد و بجای عدسیه های شیشه یی توسط یک میدان الکترومغناطیسی (Electromagnetic field) در یک نقطه متمرکز میشود. این نوع مایکروسکوپ بدلیل طول موج کوتاه می تواند اشیاء به کوچکی ۰.۰۰۰۴ مایکرومتر را نشان دهد. بدلیل اینکه مواد بیالوژیکی عمدتاً از عناصر کاربن، هایدروجن، نایتروجن و اکسیجن تشکیل می شوند و این

عناصر از قدرت کمی برای انحراف و پخش کردن الکترون برخوردارند، لذا استفاده از روش های خاصی بمنظور افزایش تقابل بین نمونه و زمینه ضروری است.

High-voltage electron microscope: این روش امکان بررسی نمونه های ضخیم تر را از طریق ایجاد تصویر سه بعدی فراهم می سازد. ولتاژ شتاب دهنده زیادتر که در حدود 1000 kV (1MV) یا بیشتر می باشد موجب بهبود وضوح تصویر و افزایش قدرت نفوذ الکترون ها می شود. مایکروسکوپ های الکترونی معمولی در مقایسه با این نوع مایکروسکوپ الکترونی در محدوده ولتاژ 60 -70 kV کار می کنند.

Scanning electron microscope: در این نوع مایکروسکوپ الکترونی جسم توسط یک نقطه متحرک از الکترون ها اسکن می شود و الکترون های ثانوی بیرون آمده، جمع آوری شده و بر روی صفحه یی از cathode-ray tube نشان داده می شود. تصاویر سه بعدی توسط SEM ایجاد شده اما جزئیات داخلی مشخص نمی شوند.

مواظبت از مایکروسکوپ:

۱- در وقت انتقال مایکروسکوپ از جای به جای دیگر باید از Arm یا بازو آن گرفته و با دست دیگر بدنه آن را محکم کنیم.

۲- از تماس دست های خود به لنز ها خود داری کنیم.

۳- لنزها باید به آهستگی توسط دستمال کاغذی نرم Lens paper پاک کرده شود.

٤- از قسمت های مختلف آن هیچ وقت نباید با زور کار بگیریم بلکه تمام تنظیم کننده های آن باید به آسانی و سریع کار کنند.

٥- هیچگاه نگذارید که لنز objective به تماس سلاید و یا cover slip آید.

٦- وقتی که در مایکروسکوپ یک چشمی چیزی را مشاهده می کنید حتماً باید هر دو چشم خود را باز نگه دارید.

۷- در وقت استفاده از oil immersion objective که از روغن در روی سلاید یا کاور سلیپ، قطره ای علاوه می شود باید از کج کردن

مایکروسکوپ خود داری گردد زیرا ممکن است قطره روغن علاوه شده بالای کاندینسور پرتاب شود.

۸- همیشه بلافاصله بعد از استفاده روغن و استفاده از لنز oil immersion باید این لنز توسط دستمال کاغذی نرم پاک شود تا از جذب گرد و خاک جلوگیری بعمل آید.

روش های رنگ آمیزی یا تلوین مایکروارگانیزم ها

چون جدار حجروی مایکروارگانیزم ها در حالت طبیعی بی رنگ است و بصورت واضح قابل مشاهده نیست از این جهت برای مشاهده بهتر جدار حجروی مایکروارگانیزم ها، محقیقین طریقه های مختلف تلوین یا رنگ آمیزی را بکار برده اند.

تعریف تلوین :

تلوین یا رنگ آمیزی عبارت از ترکیب کمیاوی کیتون رنگ های قلوی با پروتوپلازم باکتریاها است و در رنگ آمیزی عموماً از دو نوع رنگ استفاده میشود. رنگهای قلوی و رنگهای اسیدی.

عموماً دو نوع تلوین وجود دارد:

A- تلوین ساده (Simple staining)

B- تلوین مغلق (Complex staining)

تلوین ساده(Simple staining):

هرگاه در عملیه تلوین از یک رنگ واحد قلوی استفاده شود به نام تلوین ساده یاد می شود. مثلاً از رنگ Fuchsin ،Gentian violet ،Methylene blue وغیره. این نوع تلوین صرف جسامت و مارفولوژی عمومی مایگروارگانیزم ها را مشخص می سازد مانند: اشکال چوبک مانند ،اشکال مدور یا کروی و اشکال فنری یا مارپیچی.

تخنیک تلوین ساده:

۱- تهیه Smear ازمواد مرضی یا کلچر بکتریایی (از وسط مایع و یا جامد).

۲- روی سلاید تثبیت شده فوکسین یا جنشن ویولیت برای مدت ۱-۲ دقیقه انداخته شود و یا Methylene blue و یا Crystal violet بمدت ۳-۵ دقیقه بالای سلاید انداخته و انتظار کشیده شود.
۳- سلاید را ذریعه آب شسته و توسط کاغذ جاذب خشک گردد. سپس یک قطره روغن نشتر(Cedar) روی سلاید انداخته تحت Objective100 معاینه گردد.

روغن Cedar از انکسار شعاع یا روشنی به هر طرف جلوگیری می کند و شعاع به Objective تمرکز می یابد.

روش های رنگ آمیزی برای مشخص کردن شکل ظاهری باکتریاها و تمایل آنها به رنگهای خاص به کار می روند. باکتریاها از نقطه نظر رنگ آمیزی گرام یا gram-staining (یک نوع رنگ آمیزی مغلق) که مربوط به دیوار حجروی آنها است بدو گروپ بزرگ تقسیم می شوند. بعضی باکتریاها گرام مثبت اند و (بنفش) رنگ می گیرند در حالیکه بعضی دیگر بصورت گرام منفی (سرخ) رنگ می شوند.

همه باکتریاها بخوبی با میتود گرام رنگ نمی گیرند. مایکوباکتریوم ها بدلیل داشتن چربی ها و مواد مومی mycolic acid زیاد در دیوار حجروی به سختی رنگ می گیرند. با این حال زمانیکه مایکروباکتریوم ها با روش اختصاصی اسید فاست رنگ آمیزی میشوند رنگ کاربول فوشین (Carbol fuchsin) را حتی بعد از قرار گرفتن در معرض محلول اسید - الکل قوی چون هایدرولیک اسید و ایتانول حفظ می نمایند.

Leptospira و Treponemes بسیار باریک بوده و با رنگ آمیزی گرام بخوبی قابل رویت نیستند، اما با silver staining قابل تشخیص می باشند. رنگ آمیزی منفی یا negative staining با به کار گیری Nigrosin یا جوهر هندی India ink برای تشخیص کپسول بکار می رود. کپسول بصورت شفاف و رنگ نشده که توسط ذرات بی حرکت تیره احاطه شده است، مشخص می شود. به منظور مشاهده Flagella در باکتریاها قبل از رنگ آمیزی از یک تثبیت کننده استفاده می شود، که بر روی فلاجیلا رسوب کرده و موجب افزایش ضخامت آن می گردد. از آنجایی که اسپور تولید شده توسط باکتریاهایی مثل

Bcillus anthracis با رنگ آمیزی گرام بخوبی مشخص نمی شوند بدین سبب، رنگ آمیزی های اختصاصی اسپور مورد نیاز می باشد.

طریقه تهیه اسمیر(Smear):

اولا سلاید را توسط الکل یا گاز ململ و یا کاغذ فلتر خوب پاک نموده زیرا سلاید باید کاملاً پاک و عاری از مواد چربی و سایر مواد خارجی باشد. بعد از آن یک قطره سیرم فیزیولوژیک (0.85%) آب نمکی را توسط لوپ معقم یا قطره چکان(Pipetes) معقم بالای سلاید انداخته و آنرا در مجاورت شعله آتش(Burner) بگزارید (به آتش در تماس نباشد)، بعداً لوپ را مانند قلم به دست راست گرفته، عموداً بالای چراغ الکلی یا شعله گازی برنر حرارت بدهیم تا برنگ سرخ در آید. سپس قسمتی از کالونی موجود در سطح محیط کشت برداشته و در آب مقطر موجود روی سلاید خوب مخلوط نمایید و بهتر است باکتری به صورت ورقه نازک و یکنواختی روی سلاید پخش شود. اگر منظور تهیه اسمیر از محیط کشت مایع باشد کافی است که از این محیط توسط لوپ تعقیم شده یک قطره در مرکز سلاید قرار داده و آن را در سطح مورد نظر پخش نمایید.

سلاید را در هوای آزاد اتاق گذاشته تا خشک شود یا به کمک شعله چراغ الکلی خشک گردد. بعد از خشک نمودن، سلاید تثبیت شود یعنی سلاید سه مرتبه از بالای شعله چراغ الکلی طوری عبور داده می شود که گرم آید اما نسوزد در این حالت گفته می شود سلاید تثبیت یا Fixed شده (کلچر به سطح سلاید چسپیده است) بعد از آن که سلاید سرد شود آماده تلوین یا رنگ آمیزی می باشد.

تثبیت سلاید دو هدف دارد:

۱- در اثر عملیه تثبیت مایکروارگانیزم ها ی زنده می میرند و خطر آن کم می شود.
۲- مایکروارگانیزم های متذکره بالای سلاید خوب محکم چسپیده و در اثنای رنگ آمیزی مایکروب ها از روی سلاید جدا نمی شود.

در صورتیکه مقدار باکتریاها در وسط های مایع کم باشد آنرا سنترفیوژ

نموده بعد از قسمت رسوب آن توسط لوپ معقم قدری گرفته و متباقی مراحل به عین شکل انجام شود.

رنگ آمیزی گرام

رنگ آمیزی گرام یکی از مهمترین و متداولترین روش های رنگ آمیزی (رنگ آمیزی مغلق) در باکتریولوژی است که اولین بار توسط Hans Christian Gram (Danmark1884) ابداع شد. این روش تفاوت بین دو گروپ از ارگانیزم ها را مشخص می کند.

۱- گروپی که گرام مثبت نامیده می شوند.

۲- گروپی که گرام منفی نامیده می شوند.

بطور خلاصه روش مورد استفاده جهت رنگ آمیزی گرام به شرح ذیل است. حجرات در ابتدا توسط حرارت بر روی سلاید شیشه ای ثابت می شوند، سپس با یک رنگ قلوی (Crystal or methyl violet) رنگ آمیزی می شوند بعد این رنگ با محلول لوگول (Gram's iodine mordant) (تثبیت کننده) شسته شده و پس از شستن با آب عمل دور کردن رنگ با استون و یا الکل اتیلیک انجام می گیرد. در مرحله اخیر اسمیر با Safranin رنگ آمیزی می شود.

اختلاف بین باکتریاهای گرام مثبت و گرام منفی به دلیل تفاوت در ساختار دیوار حجروی آنها است. باکتریاهای گرام منفی چربی بیشتری در دیوار حجروی خود دارند. باکتریاهای گرام مثبت لایه پپتایدوگلایکن ضخیم تری دارند که باعث مقاومت بیشتر آنها در برابر آسیب های میکانیکی می شود.

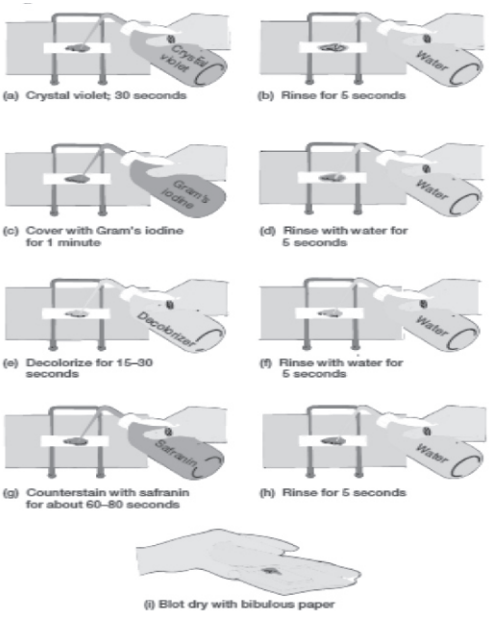
روشهای زیادی برای تکنیک رنگ آمیزی گرام مورد استفاده قرار میگیرند مانند روش Hucker، رنگ آمیزی اصلی گرام (Original gram staining)، روش Kopeloff، و روش Kopeloff-Bermann که بعضی روش های متداول در زیر شرح داده خواهد شد.

رنگ آمیزی گرام به روشHucker

۱- اسمیر را روی شعله آتش تثبیت نموده و صبر کنید تا سرد شود.

۲- از رنگ crystal violet به مدت ۶۰ ثانیه روی سلاید را بپوشانید.

۳- سلاید را با آب جاری بشوئید.
۴- سلاید را با Gram's iodine mordant به مدت یک دقیقه رنگ کنید.
۵- سلاید را با آب جاری بشوئید.
۶- عمل دور نمودن رنگ را با الکل ۹۵ فیصد تا زمانی انجام دهید که قطرات خارج شده، رنگ crystal violet را نداشته باشد. (به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه)
۷- سلاید را با آب بشوئید.
۸- با رنگ ثانویه یعنی سفرانین ۲۵ فیصد سلاید را رنگ کنید. (به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه)
۹- سلاید را با آب بشوئید.
۱۰- سلاید را در هوا خشک نموده و آنرا با عدسیه روغنی مایکروسکوپ مشاهده کنید.



شکل: طریقه روش رنگ آمیزی گرام

رنگ آمیزی اسید فاست

در سال ۱۸۸۲ شخصی به نام Paul-Ehrlich این رنگ آمیزی را جهت تلوین باسیل سل بکار برد.

امروزه از رنگ آمیزی زیل نیلسن (که تفاوت کمی با روش ارلیچ دارد) استفاده می کنند. در رنگ آمیزی زیل نیلسن (Zeihl Neelsen) رنگ اولیه کاربول فوشین و رنگ ثانویه متیلین بلو لفلر است که این رنگها ثبوت بیشتری از رنگ های بکار برده شده توسط ارلیچ در باکتری دارد.

این روش رنگ آمیزی برای تشخیص باکتریاهای جنس مایکوباکتریوم مورد استفاده قرار می گیرد. این جنس شامل چند باکتری پاتوجن است که باعث مریضی های سل و جذام می گردند. در میان باکتریاها علاوه بر مایکوباکتریوم ها تعدادی از باکتریاهای جنس نوکاردیا نیز اسید فاست هستند. باکتریاهای اسید فاست به سختی رنگ گرفته اما در مقابل عمل رنگ زدایی یا (decolorize) با اسیدهای معدنی یا اسید الکل مقاوم اند و رنگ جذب شده را از دست نمی دهند به همین جهت اصطلاح اسید فاست (مقاوم در برابر اسید) به آنها اطلاق می شود. این خاصیت اجازه می دهد که این باکتریاها را حتی به تعداد کم در اسمیر رنگ شده تشخیص داد.

برای سهولت در رنگ آمیزی رعایت نکات زیر لازم است:

۱- استفاده ازحرارت
۲- افزایش غلظت فینول و رنگ درمحلول رنگ
۳- زمان تماس رنگ و اسمیر
۴- افزودن مواد مرطوب کننده به رنگ مانند Tergitol (Union Carbide)

رنگ ثانویه در رنگ آمیزی زیل نیلسن می تواند متیلین بلو، سبز درخشان و یا پیکریک اسید باشد.

جهت جلوگیری از آلودگی سلایدها یا رنگ ها با عوامل خارجی یا باسیلهای اسید فاست محیط باید نکات زیر را رعایت نمود:

۱- همه مواد را با آب مقطر تازه تهیه نمود.

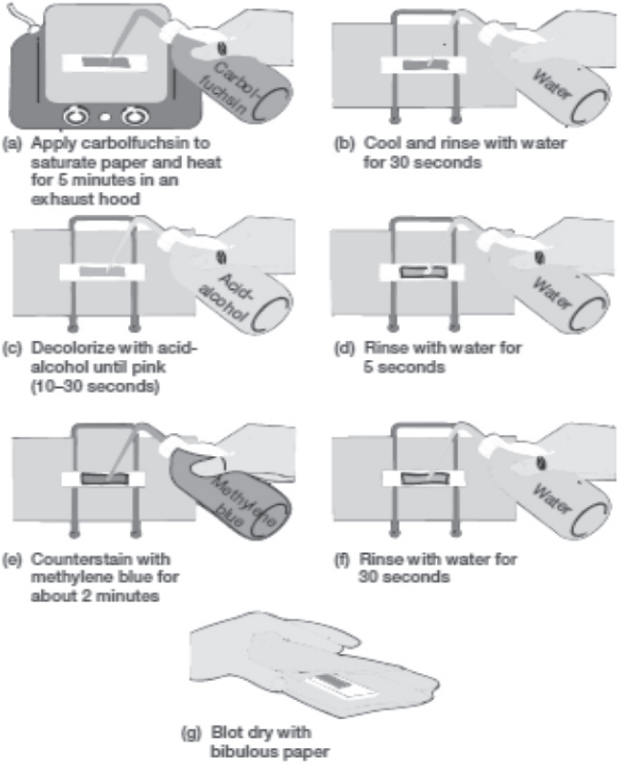
۲- باید آب مقطر و آب روان و آبهای جمع آوری شده در داخل ظروف مورد استفاده را از نظر وجود این مایکروارگانیزم ها مورد آزمایش قرارداد.
۳- ازموادی که تاریخ تهیه آنها مدتها قبل بوده و کهنه شده است استفاده نشود.
۴- درهر بار تلوین از کنترول مثبت و منفی جهت کنترول مواد و روش رنگ آمیزی خود استفاده نمائید.

رنگ آمیزی زیل نیلسن (Zeihl Neelsen)

روش رنگ آمیزی زیل نیلسن که یک روش توصیه شده جهت تلوین باسیلهای اسید فاست است شرح داده می شود:

۱- یک اسمیر ضخیم و یکنواخت تهیه کرده و آن را در هوا خشک کرده و سپس توسط شعله تثبیت نمائید.
۲- یک کاغذ صافی به ابعاد 2×4 سانتی متر یا کمی خورد تر از سلاید مایکروسکوپی تهیه کنید. این کاغذ باید اسمیر را بپوشاند. کاغذ را روی سلاید می گذارید تا از رسوب رنگ روی اسمیر جلوگیری کند.
۳- تمام سطح اسمیر را با کاربول فوشین زیل نیلسن می پوشانید و به آرامی از سطح زیرین سلاید با پنبه الکلی شعله ور حرارت می دهید. در زمان حرارت دادن سلاید باید میزان حرارت آنقدر باشد که از سطح سلاید فقط بخار بلند شود و نباید رنگ روی سلاید بجوشد و بعلاوه نباید رنگ روی سلاید خشک شود. در صورتیکه به علت حرارت و بخار شدن رنگ، میزان رنگ گاهش یابد می توان مجدداً روی سلاید رنگ اضافه کرد.
۴- زمان تاثیر رنگ روی اسمیر پنج دقیقه است بعد از آن کاغذ را برداشته و سلاید را با آب جاری می شویید.
۵- توسط اسید الکل عمل دور نمودن رنگ را انجام دهید یا از محلول مزبور آنقدر روی سلاید قطره قطره میریزید تا آخرین قطره خارج شده از روی سلاید شفاف باشد. عمل decolorization باید بطور صحیح انجام شود تا از بروز احتمال جواب مثبت کاذب جلوگیری شود.
۶- از رنگ آبی میتلین به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه روی اسمیر می ریزید.
۷- سلاید را با آب شسته و در هوا خشک کرده و با عدسیه روغنی مایکروسکوپ مشاهده کنید.

نتیجه طوری است که باکتریاهای مقاوم در برابر اسید و الکل در زیر مایکروسکوپ به رنگ سرخ دیده می شوند و باکتریاهای دیگر به رنگ آبی به ملاحظه می رسند.



شکل: طریقه روش رنگ آمیزی اسید فاست

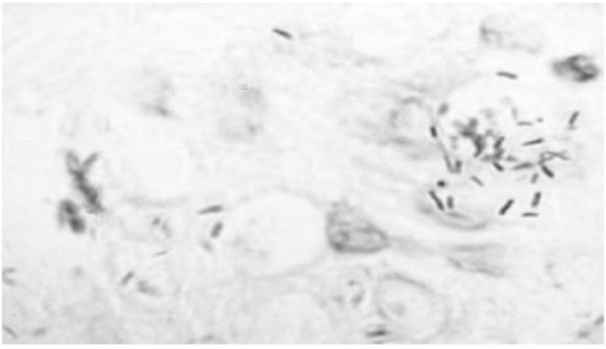


Figure: Ziehl-Neelsen Stain of *Mycobacterium* Acid-fast Rods

منابع

AHMAD, S., 2010. Evaluation of bovine mastitis causing *Staphylococcus aureus* biofilm vaccine in bovines. M.V.Sc., thesis, Karnataka Veterinary, Animal and Fisheries Sciences University, Bidar, India.

CAPPUCCINO, J.G. and SHERMAN, N., 2002. Microbiology a laboratory manual. *Edn*. 6th., US: Pearson Education, Inc., *pp* 17-92

COLLEE, J.G., *et al*., 1999. Mackie & McCartney practical medical microbiology. *Edn*. 14th., Churchill Livingstone., *pp* 3-151

PRESCOT, H., 2002. Laboratory exercises in microbiology, *Edn*. 5th., McGraw-Hill, INC., *pp* 1-69

REAM, W., GELLER, B., TREMPY, J. and Field, K., 2003. Molecular microbiology laboratory. Academic Press., *pp* 7-18

VANDEPITTE, J., *et al*., 2003. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. *Edn*. 2nd., WHO Library Cataloguing-in-Publication Data., *pp* 1-95

فصل هفتم

طبقه بندی باکتریاها
(Bacterial Taxonomy)

هدف از طبقه بندی باکتریاها آسان کردن شناسایی و شناساندن آنها است. هر سیستم نامگذاری و سیستماتیک مایکروارگانیزم ها جهت تسمیه و صنف بندی آنها ایجاب معلومات کامل و جامع را درباره اجسام مورد مطالعه می نماید. برای معلومات لازمه جهت نامگذاری و صنف بندی مایکروارگانیزم ها تمام خصوصیات ساختمان خارجی وداخلی مایکروب ها، خواص فزیولوژیکی و بیوشیمیکی آنها و همچنان پروسه هایی را که مایکروارگانیزم ها در محیط طبیعی زندگی خویش به بار می آورند، مطالعه و بررسی می شود. لذا به منظور نسبت دادن مایکروارگانیزم ها به یک گروپ سیستماتیک لازم است تا خصوصیات آنها مانند تعین کردن شیمای خارجی مایکروارگانیزم ها (اشکال آنها)، قابلیت حرکت (موجودیت فلاجیل ها وچگونگی آنها)، موجودیت کپسول و قابلیت تشکیل اندواسپور، قدرت رنگ آمیزی آنها به طریقه گرام، ویژه گی های استقلابی، شیوه های تأمین انرژی و بالاخره روش های تغیردادن محیط خارجی که در آن مایکروارگانیزم رشد می نماید و چگونه محیط ماحول در بالای حیات آن تاثیر می نماید، معین گردد. کسب چنین معلومات درباره مایکروارگانیزم ها نه تنها برای نامگذاری و تکسانومی حایز اهمیت است بلکه جهت ارزیابی نقش آن در طبیعت و اهمیت آن در ساحه عمل بکلی ضروری می باشد. موجودات حیه را اصولاً به دو صورت طبقه بندی می کنند یکی طبقه بندی طبیعی (Natural) یا Phylogeny و دیگری طبقه بندی مصنوعی یا سیستماتیک (Systematic) در طبقه بندی طبیعی باکتریاهای که دارای وجوه مشترک هستند و از نظر اجدادی با هم نسبت دارند در یک طبقه قرار می دهند این طبقه بندی بر اساس اختصاصات کیمیاوی و طرز قرار گرفتن و ترتیب امینواسید ها در زنجیره پروتینی است. مبنای طبقه بندی سیستماتیک شباهت و خواص ظاهری (Morphology) باکتریاها می باشد. در نباتات عالی و حیوانات با توجه به اطلاعات بسیار وسیعی که درباره شکل ظاهری، خواص فزیولوژی و

تکامل جنینی که اغلب منعکس کننده رابطه تکاملی آنها است و فسیل های بدست آمده از آنها در اختیار است، طبقه بندی بصورت طبیعی امکان پذیر می باشد در این نوع طبقه بندی نوع (Species) عبارت از گروپ یا افرادی که قادر به توالد و تناسل(تکثر) بین یکدیگر می باشند. بدیهی است که موجودات زنده زمانی می توانند با یکدیگر چنین رابطه ای داشته باشند که دارای شباهت جنتیکی باشند در غیر اینصورت تشکیل Zygote از گامیت های (Gametes) نر و ماده امکان پذیر نیست. ولی چون ساختمان باکتریاها ساده بوده و تکثر آنها معمولا غیر جنسی(asexual) است و برعلاوه، اطلاعاتی که راجع به تکامل جنینی و رابطه تکاملی آنها وجود دارد اندک است، بنابر این امروزه معیارهای مالیکولی اساس طبقه بندی جدید فایلوجنتیکی مایکروارگانیزم ها می باشند.

طبقه بندی بر اساس خواص جنتیکی

اطلاعات جنتیکی باکتریاها، توسط توالی یا تسلسل قلوی های (پیورین و پایرمدین) DNA کد می شوند. ماهیت جنتیکی باکتریاها در اثر Mutation، Conjugation و Transduction دچار تغییرات مکرر شده و انتخاب در محیط های مختلف اغلب به تکامل نسبتاً سریع منجر می شود.

:DNA base compositions

نسبت های چهار قلوی موجود در کل DNA یک مایکروب را می توان تعین نمود. به طور قراردادی، ترکیب قلوی یک DNA خالص به صورت نسبت فیصد گوانین- سایتوسین (GC) به مقدار کلی DNA بیان می شود. از آنجائیکه در مورد DNA میزان (ادنین- تایمین) GC+AT برابر ۱۰۰ فیصد است، لذا اگر میزان GC برابر ۴۰ فیصد باشد، میزان AT ۶۰ فیصد خواهد بود. تعین فیصدی GC نسبتاً ساده بوده و در طبقه بندی ارزشمند است. در تمام اعضای فامیلی Enterobacteriaceae مثل E.coli و Salmonella فیصد GC از ۵۰ تا ۵۴ فیصد متغیر است. با وجود این، مشابه بودن ترکیب قلوی حتماً یا الزاماً نشان دهنده یکسان بودن DNA نمی باشد. فیصد GC جین های همه فقاریه ها ۴۴ فیصد می باشد که با فیصد GC بعضی از مایکروارگانیزم ها یکسان است.

:DNA Hybridization

تشابه تسلسل DNA بین دو مایکروب را می توان با تعین میزان آمیختگی بین دو DNA با منشأهای مختلف مشخص نمود. این روش در تشخیص آردرهای نزدیک و درجه تشابه DNA مربوط به گروپ های باکتریاهایی که ارتباط بسیار نزدیکی با هم دارند، مورد استفاده قرار گرفته است. البته این طریقه بسیار اختصاصی تر از آن است که بتوان از آن برای تعین ارتباط بین گروپ های باکتریاهای غیر متشابه استفاده نمود. آمیختگی بین مالیکول های DNA مربوط به دو استرین E.coli (Strain) ممکن است نزدیک ۱۰۰ فیصد باشد اما آمیختگی E.coli با یک استرین Salmonella ممکن است در حدود ۴۵ فیصد باشد. تعریف فایلوجنتیکی یک نوع عمدتاً شامل استرین هایی است که ارتباط DNA-DNA آنها تقریباً ۷۰ فیصد یا بیشتر است.

سیستم نامگذاری باکتریاها (Bacterial Nomenclature):

در نامگذاری باکتریاها نیز مانند نامگذاری دیگر موجودات حیه از سیستم نامگذاری دوگانه (Binomial Nomenclature) که اولین بار درسال ۱۷۶۰توسط نبات شناس سوئیدنی به نام لینه (Linne) پیشنهاد شد، که هر موجود حیه باید بوسیله دو نام لاتین مشخص شود. نام اول که با حرف بزرگ شروع میشود مشخص کننده جنس (Genus) موجود حیه می باشد که به اساس یکی از علایم مورفولوژیکی و یا فیزیولوژیکی مایکروارگانیزم و یا اسم فامیلی کاشف آن و یا دیگر علایم فارغه مثلاً محیط زیست و غیره مشخص می شود. نام دوم که با حرف کوچک شروع می شود مربوط به نوع یا Speices آن می باشد و معمولاً مشتق از نامی است که رنگ کالونی، منشاء پیدایش مایکروارگانیزم، پروسه یا مرض مؤلده و دیگر علایم فارغه را افاده می نماید. به طور مثال *Staphylococcus aureus* را منحیث یک مایکروب مطالعه می کنیم که چه اساساتی در نامگذاری آن استفاده شده است. در نامگذاری این باکتریا Coccus = Seed,a spherical structure) Coccus که از شکل و ساختمان حجره آن نمایندگی می کند) و Staphylo = grapelike) Staphylo clusters که از طریق قرار گرفتن حجرات آن نمایندگی می کند) و در قسمت نام نوع آن یعنی aureus = gold) aureus که از رنگ کالونی آن نمایندگی

می نماید که رنگ طلائی دارد)، تعین شده است و مثال دیگری *Bacillus anthracis* مشخص کننده نوعی باکتریا است که جنس آن Bacillus (باکتریاهای این جنس گرام مثبت، میله یی شکل، اسپوردار و هوازی می باشند) و متعلق به نوع anthracis (مؤلد بیماری Anthrax یا سیاه زخم) است.

در بسیاری از موارد اسامی که برای جنس باکتریا تعین شده با نام کاشف آن ارتباط دارد. مثلا Shigella از نام دانشمند جاپانی به نام Shiga و Salmonella از نام مایکروبیولوژیست آمریکایی به نام Salmon و بالاخره Escherichia از نام دانشمند آلمانی به نام Escherich مشتق گردیده است.

نوع یا Species به گروپ باکتریاهایی اطلاق می گردد که از نظر ساختمان و خواص فیزیولوژیکی یکسان باشند. متأسفانه درعمل یا ساحه تطبیق باکتریاهایی که دارای خواص یکسان باشند بندرت یافت می شوند. حتی باکتریاهایی که از یک حجره اولیه منشاء گرفته اند، ممکن است از نظر یک یا چند صفت با یکدیگر تفاوت داشته باشند. این تفاوت نتیجه تغییراتی است که به علت Mutation در حجرات باکتریاها پدید می آید. باکتریاهای تغییر یافته که (Mutant) نامیده می شوند از نظر بعضی از خواص (ساختمان انتی جنی، حساسیت نسبت به انتی بیوتیک ها و غیره) با سایر باکتریاهای همان نوع اختلاف دارند.

سهولت تغییر پذیری باکتریاها مربوط به سرعت تقسیم آنها است. زمان تقسیم یا مدت زمانی که برای تولید شدن یک نسل جدید لازم است در مورد باکتریاها ۲۰ دقیقه و در مورد انسان حدود ۲۰ سال است. مثلاً از یک حجره باکتری درمدت ۱۸ ساعت ۵۴ نسل بوجود می آید. درحالیکه برای ایجاد شدن همین تعداد نسل در انسان به بیش از ۱۰۰۰ سال وقت لازم است. همانطوریکه قبلا شرح داده شد میوتیشن ضمن تقسیم حجروی و بندرت اتفاق می افتد با این حال چون حجره باکتری با سرعت زیاد تقسیم می شوند، بنابر این احتمال اتفاق میوتیشن در آنها خیلی بیشتر از موجودات حیه عالی است. بنابر این می توان نتیجه گرفت که اگرچه باکتریاهای متعلق به یک نوع از نظر Morphology و خواص اصلی نظیر یکدیگر اند اما بعضی از آنها (موتانتها) ممکن است در یک یا چند صفت با سایر حجرات اختلاف داشته باشند. هنگامیکه دو باکتریا از نظر

خواص مورفولوژیکی و میتابولیکی تفاوت های واضح و ثابت داشته باشند جزء دو نوع جداگانه محسوب می شوند. چند نوع که دارای صفات مشترکی باشند یک جنس (Genus) را تشکیل می دهند و از ترکیب چند جنس یک فامیل (Family) و بالاخره از ترکیب چند فامیل یک رده (Order) ایجاد می شود.

OUTLINE OF BACTERIA CLASSIFICATION ACCORDING TO BERGEY'S MANUAL

Group (دسته)	Distingushing Features (مشخصات)	Some important Genera (بعضی جنس های مهم)	Importance (اهمیت)
Gram-negative eubacteria that have cell walls			
1- Spirochetes	قابل انعطاف، شکل مارپیچ (فنری)،حرکت توسط رشته های محوری (Axial filament)	*Treponema* *Borrelia* *Leptospira*	Syphilis Lyme disease Leptospirosis
2- Aerobic/ microaerophilic, helical/ vibroid gram- negative bacteria	توانایی رشد فقط در موجودیت o_2، شکل خمیده ومارپیچ ،حرکت توسط فلاجیلا	*Azospirillum* *Bdellovibrio* *Helicobacter* *Campylobacter* *Spirillum*	نصب نایتروجن در خاک Parasite of Bacteria Stomach ulcers Gastroenteritis Rat bite Fever
3- Nonmotile (or rarely motile) gram-negative curved bacteria	توانایی رشد فقط در موجودیت o_2	*Spirosoma*	مایکروب خاک
4-Gram-negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	توانایی رشد فقط در موجودیت o_2، باسیل مستقیم(straight rods) یا cocci	*Acetobacter* *Agrobacterium* *Bordetella Logionella* *Methylomonas Neisseria* *Pseudomonas* *Rhizobium* *Thermus* *Xanthomonas*	تولید سرکه پتوجن نباتات ، استفاده درانجینری جنیتیک نباتات Pertussis Legionnaires' disease اکساید کننده میتان Gonorrhoea Pathogen of burns, septicemia میکروبهای خاک وآب همزیستی نصب نایتروجن منبع انزایم Polymerase برای تست PCR تولید Xanthan
5-Facultative anaerobic gram negative rods	توانایی رشد در موجودیت و عدم موجودیت o_2	*Escherichia* *Haemophilus* *Photobacterium* *Shigella* *Salmonella* *Vibrio* *Yersinia*	انجینری جنیتیک ، عفونتهای روده ای ومجرای ادرار Meningitis Luminescent symbiont Dysentery تسمم غذایی و تب تیفوییید Cholera Plague
6-Gram- negative, anaerobic, straight, curved and helical bacteria	توانایی رشد فقط در عدم موجودیت o_2	*Bacteroides* *Selenomonas* *Succinomonas* *Thermotoga*	مایکروفلورای روده ها، علت بعضی آبسه ها باکتریای رومن باکتریای رومن Geothermal Marine Sediments

			(رسوبات دریایی وابسته به حرارت مرکزی زمین)
7-Dissimilatory sulfur or sulfate-reducing bacteria	گرفتن انرژی از مرکبات سلفر دار غیر عضوی ، مطلق بی هوازی(strict anaerobic)	*Desulfovibrio*	سایکل سلفر
8-Anaerobic gram-negative cocci	توانایی رشد فقط در عدم موجودیت o_2	*Veillonella*	پوسیدگی یا کرم خوردگی دندان
9-Rickettsias and chlamydias	پرازیت اجباری داخل سلولی حجرات یوکاریوتیک	*Ricketsia* *Coxiella* *Chlamydia*	Spotted fever Q Fever عفونتهای بولی و تناسلی، Trachoma
10-Anoxygenic phototrophic bacteria	فوتوسینتیز بدون تولید کننده o_2 Photosynthesis without) (the production of oxygen	*Chlorobium* *Rhodospirillum*	تولید کننده اولی در زنجیرغذا های بی هوازی
11-Oxygenic phototrophic bacteria (Cyanobacteria)	فوتوسینتیز کننده که منجر به تولید o_2 میشود Photosynthesis with the) (production of oxygen	*Anabena* *Nostoc* *Spirulena*	تولید کننده اولی در زنجیره غذایی خاک واب منبع غذا
12-Aerobic chemolithotrophic bacteria and organisms	توانایی رشد فقط در موجودیت o_2، گرفتن انرژی از مرکبات غیر عضوی	*Thiobacillus* *Magnetotactic Bacteria* *Nitrobacter* *Nitrosomonas*	سایکل سلفر رسوب گیری یا نهشت آهن سایکل نایتروجن سایکل نایتروجن
13-Budding and/or appendages bacteria	تقسیم شدن بطریقه Budding و یا تولید ضمایم دیگر نسبت به فلاجیلا یا pili	*Caulobacter* *stella*	رشد کردن یا سبزشدن در محیط های آبی کم مغذی (Low-nutrient)
14- Sheathed bacteria	پوش شده به همرای یک غلاف(sheath)	*Sphaerotilus*	رشته های چسپناک در آبهای ملوث و Sewage Treatment Plants
15-Nonphotosynthetic, nonfruiting gliding bacteria	توانایی حرکت جنبندگی (Gliding) کند اما فاقد ارگانهای حرکی; Do not form complex multicellular aggregates	*Beggiatoa* *Cytophaga*	سایکل سلفر Sewage treatment plants تحلیل سلولوز
16-Fruiting, gliding bacteria Myxobacteria	توانایی حرکت جنبندگی (Gliding) کند اما فاقد ارگانهای حرکی; form complex multicellular aggregates	*Chondromyces*	Complex prokaryotic behavior
Gram-possitive eubacteria that have cell walls			

17-Gram-positives cocci	بدون اشکال اندواسپور	*Staphylococcus* *Streptococcus* *Ruminococcus*	تسمم غذایی، سینه بغل، Toxic shock Scarlet fever, Impetigo, pneumonia Rumen bacteria
18-Endospore-forming gram-positive rods and cocci	Aerobes Anaerobes	*Bacillus* *Clostridium*	Anthrax, Antibiotic producers ، پتوجن حشرات، پتوجن نباتات Botolism,Tetanus ، فلورای نورمال خاک و روده ها، پتوجن نباتات
19-Regular,nonsporing gram-positive rods	میله ای شکل مستقیم (straight (rods	*Lactobacillus* *Listeria*	فرمنتیشن غذاها فلورای نورمال روده ها و مجاری تناسلی خانمها Listeriosis
20-Irregular, nonsporing gram-positive rods	Pleomorphic	*Cellumonas* *Carynebacterium* *Propionibacterium*	تحلیل سلولوز Diphtheria تهیه غذا
21-Mycobacteria	Aerobic, nonsporing, nonmotile, mostly acid-fast rods	*Mycobacterium*	Tuberculosis, Leprosy, Pneumonia
22-29-Actinomycetes	رشته ای (Filamentous)	*Nocardia* *Frankia* *Micromonospora* *Streptomyces*	عفونتهای شش Mycetoma ، آبسه های جلدی نصب نایتروجن Gentamicin production Antibiotic production
The cell wall- less eubacteria: The mycoplasmas or mollicutes			
30- Mycoplasmas	دیوار حجروی ندارند (Have (no cell wall	*Mycoplasma* *Ureaplasma*	Pneumonia Urethritis

منابع

BOONE, D.R. and CASTENHOLZ, R.W., 2001. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 1. The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria. *Edn*. 2nd., Springer.

BRENNER, D.J., KRIEG, N.R. and STALEY, J.T., 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 2. The Proteobacteria. Part A. Introductory Essays. Springer.

BRENNER, D.J., KRIEG, N.R. and STALEY, J.T., 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 2. The Proteobacteria. Part B. The Gammaproteobacteria. Springer.

BRENNER, D.J., KRIEG, N.R. and STALEY, J.T., 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 2. The Proteobacteria. Part C. The Alpha-, Beta-, Delta-, and Episilonproteobacteria. Springer.

MÜLHARDT, C., 2007. Molecular biology and genomics. Academic Press., *pp* 26-149

PERSING, D.H., *et al.,* 2004. Molecular microbiology. diagnostic principles and practice. ASM Press.

RILEY, L.W., 2004. Molecular epidemiology of infectious diseases. Principles and Practices. ASM Press.

فصل هشتم

فنجی ها (Fungi)

Mycology علمی است که فنجی ها را مورد مطالعه قرار می دهد. تا به حال تقریبا ۸۰۰۰۰ انواع فنجی ها شناخته شده ولی کم تر از ۴۰۰ نوع آنها از نظر طبی قابل اهمیت اند. زیادتر از 90% عفونت های فنگسی در حیوانات و انسان ها تنها توسط کمتر از ۵۰ نوع این فنجی ها حاصل می شود. ترجیحاً، زیادتر انواع فنجی ها برای انسان ها، حیوانات و نباتات مفید می باشند. آنها در طبیعت ساکن بوده و در تجزیه نمودن و بازیاب مواد عضوی ضرور می باشند. فنجی ها و باکتریاها مهمترین تجزیه کنندگان در بایوسفیر می باشند که رول بس مهمی در بازیابی کاربن، نایتروجن و دیگر منرال های غذایی دارند. بعضی از فنجی ها پرازیت نباتات و حیوانات بوده که بالای انساج زنده آنها تغذیه می نمایند. بعضی از فنجی ها با اشتراک شان در تولید غذاها و مشروبات مانند پنیر، نان و بیر رول مهمی در کیفیت زندگی مان دارند. دیگر فنجی ها با تهیه میتابولیت های ثانوی بایواکتیو مانند انتی بیوتیک ها (مانند پنی سیلین) و دواهای immunosuppressive (مانند cyclosporine) خدمات بزرگی در عرصه طب حیوانی و انسانی انجام می دهند. فنجی ها نیز منحیث سیستم های نمونه توسط متخصصین علم جنیتیک و مالیکولار بیالوژی جهت تحقیقات مختلف پروسه های یوکاریوتیک بکار می روند. آنها منحیث پاتوجن های نباتی (phytopathogens) اضرار مهم اقتصادی را در عرصه زراعت اعمال می کنند طوری که مقدار زیادی محصولات زراعتی همه ساله به اثر امراض فنگسی از بین می رود. برنج، جواری، جو و بعضی دیگر نباتات در مقابل امراض فنگسی حساس می باشند.

زمانی که یک فرد برای بار اول در مورد فنجی فکر می کند معمولاً چیزی که به خاطر او می آید قارچ است. مانند morels , puffballs, truffels

mildew. در واقع قارچ ها فقط ساختمان های تکثری موقتی هستند که از انواع مختلف فنجی ها انکشاف می نمایند.

فنجی ها موجودات بی حرکت و هتروتروف هستند که حجرات شان از نوع Eukaryoutes یعنی دارای هسته مشخص می باشد. فنجی ها مشابه نباتات می باشند اما در حقیقت آنها نبات نیستند زیرا بر خلاف نباتات حجرات فنجی فاقد کلروپلاست بوده و قدرت فوتوسنتز را ندارند. به اساس ساختمان چندین حجروی و طرز تغذیه در این موجودات ویتاکر Whittaker آنها را در یک عالم جداگانه یعنی عالم فنجی ها قرار داده است.

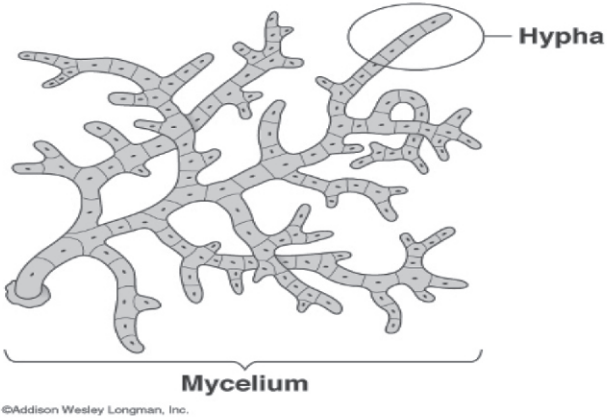
فنجی ها از بازمانده های عضوی نباتات و حیوانات تغذیه می نمایند. برگ های مرده، تنه های درخت و لاشه های حیوانات از جمله خوراک روزانه شان می باشد. طرز تغذیه در این موجودات از نوع جذب می باشد که مالیکول های کوچک عضوی را به داخل حجرات شان جذب می نمایند که البته آنها انزایم های هضمی را برای شکستاندن و تبدیل غذا به مالیکول های کوچک عضوی به بیرون از حجرات خود ترشح می کنند.

فنجی ها اشکال خود وابسته و مقاوم را با الجی های سبز و سیانوباکتریاها تشکلیل می دهند که این اشکال حیات به نام Lichens یاد می شوند و بعضی اشکال فنجی ها ارتباط دوجانبه یا متقابل با رشته های نباتات تخم دار می داشته باشند.

ساختمان فنجی ها:

فنجی ها موجودات بی حرکت بوده یعنی آنها در هیچ مرحله از حیات خود فلاجیل و یا مویک که اعضای حرکی هستند، ندارند. آنها یک حجروی یا رشته ای می باشند. از جمله فنجی های یک حجروی می توان به yeast اشاره کرد. اما زیادتر فنجی ها چندین حجروی بوده که این جسم چندین حجروی شان mycelium نامیده می شود. مایسیلیم از رشته های شبکه ای تشکیل شده که این رشته ها hyphae نامیده می شوند. هایفا عبارت از رشته های تار مانند استوانه یی هستند، این ساختمان ها جذب غذاها را به داخل جسم فنجی کمک می کنند. حجرات فنجی ها حاوی دیوار حجروی بوده که از chitin ساخته شده و فاقد

سلولوز می باشد. انرژی که در حجره فنجی ذخیره می شود از نوع گلایکوجن است.



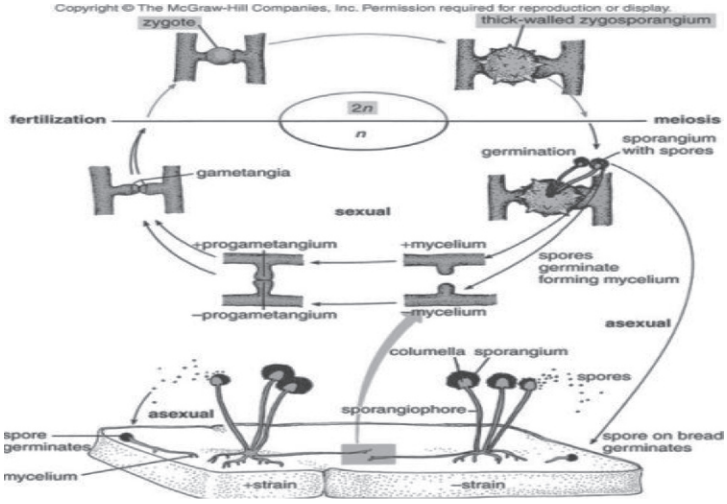
تکثر فنجی ها (Reproduction of Fungi)

فنجی ها به اشکال گوناگون تکثر می کنند ولی بطور عموم مراحلی که در تکثر جنسی آنها مشاهده می شود قرار ذیل است:

در تکثر جنسی (sexual reproduction) ساختمان های هایفا دو استرین فنجی که آماده آمیزیش هستد و به شکل + و یا - نشان داده می شوند پهلو به پهلو قرار می گیرند و هر کدام به طرف دیگری برآمدگی حاصل می کنند که این برآمدگی ها gametangia نامیده می شوند. بعداً به اثر برخورد و آمیختگی این برآمدگی ها دیوارهای حجروی در میان آمده شکسته می شود از اینرو هسته ی رشته ها با هم آمیخته شده و مستقیماً یک diploid zygote تشکیل می شود. این زایگوت که تنها مرحله دیپلوییدی در دوران حیات فنجی ها بوده به عملیه meiosis مواجه می شود و در نتیجه چهار ااسپور haploid تولید می شود که در ساختمان کوچکی به نام sporangia قرار دارند. یک اسپورعبارت از یک حجره می باشد که مستقیماً می تواند به یک ارگانیزم هاپلوییید بالغ و کامل انکشاف نماید. اسپورهای فنجی عبارت از لفاف یا پوشش

محافظوی مخصوصی بوده که آنها را در مقابل تخریبات کیمیاوی و میکانیکی محافظت می کنند.

در تکثر غیر جنسی فنجی ها تنها فرقی که وجود دارد این است که معمولاً اسپورها از مایسیلیم های منفرد تولید می شوند.



طبقه بندی فنجی ها:

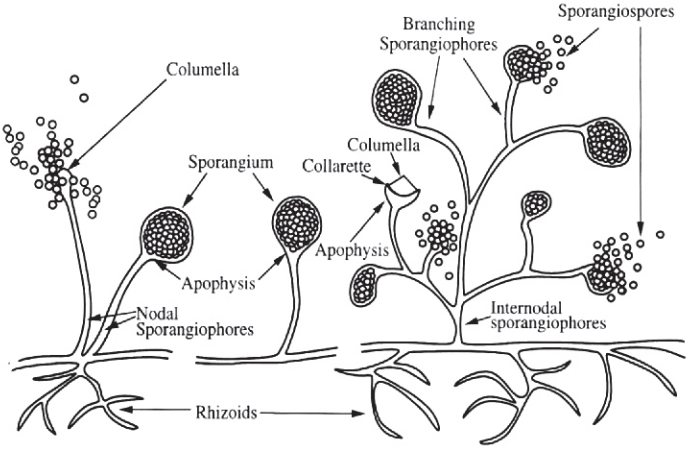
بطور عموم تمام فنجی ها به چهار division طبقه بندی می شوند و هر یک از این طبقات بوسیله ساختان های جنسی مخصوص که منحصر به همان division است، مشخص می شوند.

:Division Zygomycota

این طبقه فنجی های زمینی را شامل می شود که همگی شان اجسام مرده را تجزیه نموده و در خاک ساکن می باشند، این فنجی ها همچنین mycorrhizal fungi ، black bread mold ، و بعضی فنجی هایی که پرازیت حیوانات هستند را شامل می شود.

تکثر جنسی در این طبقه از فنجی ها توسط zygospores صورت می گیرد که در واقع آنها را تعریف نموده و از دیگر فنجی ها تفریق می نماید. مرحله gametangial در آنها مشاهده می شود. تکثر غیر جنسی در آنها با تشکلیل ساختمان های sporangia صورت گرفته و فاقد حرکت بوده. Sporangium عبارت از ساختمان های کپسول مانند بوده که اسپورها را تولید می نماید. این اسپورها sporangiospores نامیده می شوند.

یکی از اعضای مهم این کلاس rhizopus stolonifer یا black bread mold می باشد، عفونت زمانی شروع می شود که اسپور بالای سطح نان، میوه و یا اجسام عضوی دیگر جوانه زده و هایفا انکشاف می نماید. بعضی از هایفا ساختمان های محکم ریشه مانند را توسعه داده که rhizoids نامیده می شوند.



عبارت از عفونتی است که توسط *Candida albicans* تولید می شود. این عفونت معمولاً جلد و غشای مخاطی را متأثر می سازد.

:Division Ascomycota

Ascomycetes بزرگترین کلاس فنجی ها بوده که شامل:

- مخمرها یا Yeasts
- Powdery mildews
- پوپنک های سیاه و سبز آبی
- Morels
- Truffles

بعضی از فنجی های این فایلم امراض را در نباتات بوجود می آورند مانند مرض Dutchn elm disease و بعضی از آنها منبع بسیاری از انتی بیوتیک ها می باشند. در فنجی های کلاس اسکومایسیت ساختمان های هایفا توسط دیوارهای عرضی یا septa تقسیم می شوند که این حالت در بیشتر فنجی های کلاس زایگومایسیت دیده نمی شود.

در این فنجی ها اسپورها به شکل جنسی و غیر جنسی تولید می شوند و اسپورهای غیر جنسی عموماً در نوک هایفا مخصوص تشکیل شده که conidia نامیده می شوند. تکثر جنسی در این نوع فنجی ها همیشه تشکیل کیسه های کوچک به نام ascus را شامل می شود و در این کیسه ها امتزاج هستوی و میوسیز انجام می پذیرد. معمولاً یک حجره بعد از اینکه تحت عملیه مایتوز و میوسیز قرار می گیرد در نتیجه هشت حجرات haploid ایجاد می شود و سرانجام به ascospores تبدیل می شوند. این اسپورها که در مقابل شرایط سخت محیطی بسیار مقاوم اند بلاخره به haploid fungus انکشاف می نمایند. نا گفته نباید گذاشت که انواع جوان و انواعی که دارای هایفا می باشند کیسه های کوچک حاوی هشت اسپور تولید می کنند اما مخمرها که اورگانیزم های بسیار ساده ای در این فایلم هستند تنها چهار اسپور انکشاف می دهند.

اسکومایسیت های یک حجروی عبارت از همان مخمرها (Yeasts) می باشند. آنها از جمله فنجی ها بوده که به شکل یک حجروی رشد می کنند. تکثر در آنها توسط جوانه زدن یا Budding صورت گرفته که در نتیجه حجرات دختری تولید می شوند.

Saccharomyces cerevisiae مخمری است که عموماً در خبازی بکار می رود که در پختن و صنایع نوشیدنی های الکولی از آن استفاده می شود. زمانی که yeast تخمر می نماید ایتانول و کاربن دای اکساید را تولید می نماید.

:Division Basidiomycota

مشهورترین اعضای کلاس Basidiomycetes عبارت از قارچها یا mushrooms ، puffballs و brackets می باشند.

قارچ عبارت از بدنه فنجی بوده که اسپور تولید می نماید و از هایفا به هم فشرده تشکیل شده است. همچنان این گروپ شامل بعضی فنجی های مایکروسکوپیک و مخمرها می باشد. یکی از آن مخمرها عبارت از *Sporobolomyces roseus* است که عموماً در سطح رو به مرگ برگ بعضی درختان به شکل پرازیت بسر می برد و یک عامل الرجی تنفسی محسوب می شود.

جسم بزرگ فنجی های این کلاس Basidiocarps نامیده می شود که جسم تکثری بوده و شامل ساختمان های گرزی شکل به نام Basidia می باشد که از آنها Basidiospores انکشاف می نماید. این فنجی ها بعضی اوقات به شکل غیر جنسی کونیدیواسپور نیز تولید می کنند.

:Division Deuteromycota (Fungi Imperfecti)

در این فایلم فنجی هایی شامل می باشد که تکثر جنسی در آنها ناشناخته است و این بخاطری است که تکثر جنسی در آنها تا به حال دیده نشده و یا غایب می باشد. به همین ملحوظ به آنها فنجی های ناقص اطلاق می شود. هرگاه مرحله تولید مثل جنسی یک فنجی ناقص کشف شود آن را در طبقه بندی سیستماتیکی خود یعنی در رده اسکومایسیت یا باسیدیومایسیت انتقال می دهند که با گذشت زمان از تعداد فنجی های ناقص کاسته خواهد شد.

فنجی های این فایلم با تشکیل conidiospores به شکل غیر جنسی تکثر می نمایند. برخی از این فنجی ها برای انسان ها سودمند هستند مانند پوپنک Penicillium منبع انتی بیوتیک پنی سیلین می باشند و انواع دیگر طعم و بوی خوش و گوارا را به پنیر می دهند مانند Roquefort و Camembert . بعضی از فنجی های ناقص پرازیت های نباتات و حیوانات می باشند. عفونت مهمی که در حیوانات و انسان ها ببار می آورند عبارت از عفونت جلد و غشاء مخاطی ringworm می باشد.

منابع

BROOKS, G.F., KARROLL, K.C., BUTEL, J.S. and MORS, S.A., 2007. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. *Edn*. 24th., US: McGraw-Hill, Inc., *pp* 255-270

EFE, S., DENGIZ, Z. and KENCI, B., 2008. Microbiology. Zambak Yayinlari., *pp* 6-22

KAVANAGH, K., 2007. Medical mycology: Cellular and molecular techniques. John Wiley & Sons Ltd, England., *pp* 2-56

KEETON, W. T., 1980. Biological science. *Edn*. 3rd., W.W. Norton & company.

KENCI, B., *et al*., 2010. Cytology. Zambak Yayinlari., *pp* 49-86

McKANE, L. and KANDEL, J., 1996. Microbiology essentials and applications, *Edn*. 2nd., McGraw-Hill, INC., *pp* 255-280

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1986. Microbiology. *Edn*. 5th., Tata McGraw-Hill., *pp* 333-365

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R., 1993. Microbiology: Concepts and Applications., McGraw-Hill., *pp* 21-30

QUINN, P.J., MARKEY, B.K., CARTER, M.E., DONNELLY, W.J. and LEONARD, F.C., 2002. Veterinary microbiology and microbial disease., *pp* 219-270

SONGER, J.G. and POST, K.W., 2000. Veterinary microbiology. The University of Arizona Tucson, Arizona., *pp* 349-405

Book Name	General Microbiology
Author	Dr. Shoaib Ahmad Shakhes
Publisher	Herat Medical Faculty
Website	www.hu.edu.af
Number	1000
Published	2012
Download	www.ecampus-afghanistan.org

This Publication was financed by the German Academic Exchange Service **(DAAD)** with funds from the German Federal Foreign Office.

Administrative and Technical support by **Afghanic** organization.
The contents and textual structure of this book have been developed by concerning author and relevant faculty and being responsible for it.
Funding and supporting agencies are not holding any responsibilities.

If you want to publish your text books please contact us:
Dr. Yahya Wardak, Ministry of Higher Education, Kabul
Office: 0756014640
Email: wardak@afghanic.org

All rights are reserved with the author.

ISBN: 9789936200944

Message from the Ministry of Higher Education

In the history, book has played a very important role in gaining knowledge and science and it is the fundamental unit of educational curriculum which can also play an effective role in improving the quality of Higher Education. Therefore, keeping in mind the needs of the society and based on educational standards,new learning materials and textbooks should be published for the students.

I appreciate the efforts of the lecturers of Higher Education Institutions and I am very thankful to them who have worked for many years and have written or translated textbooks.

I also warmly welcome more lecturers to prepare textbooks in their respective fields. So, that they should be published and distributed among the students to take full advantage of them.

The Ministry of Higher Education has the responsibility to make available new and updated learning materials in order to better educate our students.

At the end, I am very grateful to the German Federal Foreign Office, the German Academic Exchange Service (DAAD) and all those institutions and people who have provided opportunities for publishing medical textbooks.

I am hopeful that this project should be continued and publish textbooks in other subjects too.

Sincerely,

Prof. Dr. Obaidullah Obaid

Minister of Higher Education

Kabul, 2012

Publishing of textbooks & support of medical colleges in Afghanistan

Honorable lecturers and dear students,

The lack of quality text books in the universities of Afghanistan is a serious issue, which is repeatedly challenging the students and teachers alike. To tackle this issue we have initiated the process of providing textbooks to the students of medicine. In the past two years we have successfully published and delivered copies of 60 different books to the medical colleges across the country.

The Afghan National Higher Education Strategy (2010-1014) states:

"Funds will be made ensured to encourage the writing and publication of text books in Dari and Pashto, especially in priority areas, to improve the quality of teaching and learning and give students access to state-of- the-art information. In the meantime, translation of English language textbooks and journals into Dari and Pashto is a major challenge for curriculum reform. Without this, it would not be possible for university students and faculty to acquire updated and accurate knowledge"

The medical colleges' students and lecturers in Afghanistan are facing multiple challenges. The out-dated method of lecture and no accessibility to update and new teaching materials are main problems. The students use low quality and cheap study materials (copied notes & papers), hence the Afghan students are deprived of modern knowledge and developments in their respective subjects. It is vital to compose and print the books that have been written by lecturers. Taking the critical situation of this war torn country into consideration, we need desperately capable and professional medical experts. Those, who can contribute in improving standard of medical education and public health throughout Afghanistan, thus enough attention, should be given to the medical colleges.

For this reason, we have published 60 different medical textbooks from Nangarhar, Khost, Kandahar, Herat, Balkh & Kabul medical colleges. Currently we are working on to publish 60 more different medical textbooks, a sample of which is in your hand. It is to mention that all these books have been distributed among the medical colleges of the country free of cost.

As requested by the Ministry of Higher Education, the Afghan universities, lecturers & students they want to extend this project to non-medical subjects like (Science, Engineering, Agriculture, Economics & Literature) and it is reminded that we publish textbooks for different colleges of the country who are in need.

As stated that publishing medical textbooks is part of our program, we would like to focus on some other activities as following:

1.Publishing Medical Textbooks
This book in your hand is a sample of printed textbook. We would like to continue this project and to end the method of manual notes and papers. Based on the request of Higher Education Institutions, there is need to publish about 100 different textbooks each year.

2.Interactive and Multimedia Teaching
In the beginning of 2010, we were able to allocate multimedia projectors in the medical colleges of Balkh, Herat, Nangarhar, Khost & Kandahar. To improve learning environment the classrooms, conference rooms & laboratories should also be equipped with multimedia projectors.

3.Situational Analysis and Needs Assessment
A comprehensive need assessment and situation analysis is needed of the colleges to find out and evaluate the problems and future challenges. This would facilitate making a better academic environment and it would be a useful guide for administration and other developing projects.

4.College Libraries
New updated and standard textbooks in English language, journals and related materials for all important subjects based on international standards should be made available in the libraries of the colleges.

5.Laboratories
Each medical college should have well-equipped, well managed and fully functional laboratories for different fields.

6.Teaching Hospitals (University Hospitals)
Each medical college should have its own teaching hospital (University Hospital) or opportunities should be provided for medical students in other hospitals for practical sessions.

7.Strategic Plan
It would be very nice if each medical college has its own strategic plan according to the strategic plan of their related universities.

I would like to ask all the lecturers to write new textbooks, translate or revise their lecture notes or written books and share them with us to be published. We assure them quality composition, printing and free of cost distribution to the medical colleges.

I would like the students to encourage and assist their lecturers in this regard. We welcome any recommendations and suggestions for improvement.

We are very thankful to the German Federal Foreign Office & German Academic Exchange Service (DAAD) for providing funds for 90 different medical textbooks and the printing process for 50 of them are ongoing. I am also thankful to Dr. Salmaj Turial from J. Gutenberg University Mainz/Germany, Dieter Hampel member of Afghanic/Germany and Afghanic organization for their support in administrative & technical affairs.

I am especially grateful to GIZ (German Society for International Cooperation) and CIM (Centre for International Migration & Development) for providing working opportunities for me during the past two years in Afghanistan.

In Afghanistan, I would like cordially to thank His Excellency the Minister of Higher Education, Prof. Dr. Obaidullah Obaid, Academic Deputy Minister Prof. Mohammad Osman Babury and Deputy Minister for Administrative & Financial Affairs Associate Prof. Dr. Gul Hassan Walizai, the universities' chancellors and deans of the medical colleges for their cooperation and support for this project. I am also thankful to all those lecturers that encouraged us and gave all these books to be published.

At the end I appreciate the efforts of my colleagues Dr. M. Yousuf Mubarak, Abdul Munir Rahmanzai, Ahmad Fahim Habibi, Subhanullah and Hematullah in publishing books.

Dr Yahya Wardak
CIM-Expert at the Ministry of Higher Education, November, 2012
Karte 4, Kabul, Afghanistan
Office: 0756014640
Email: textbooks@afghanic.org
wardak@afghanic.org

Abstract

Microbiology is the study of microorganisms, those organisms which exist in nature as single cells or cell clusters. Microbiology is an exceptionally broad biological discipline encompassing specialties as diverse as biochemistry, cell biology, genetics, taxonomy, pathogenic bacteriology, food and industrial microbiology, and ecology. A microbiologist must be acquainted with many biological disciplines and with all major groups of microorganisms: bacteria, viruses, fungi, algae, and protozoa.

In this book, some basic and applied aspects of microbiology are covered and it is suitable for courses with orientations to general microbiology. Students preparing for careers in medicine (human and veterinary medicine), dentistry, nursing, and allied health professions will find the text just as useful as those aiming for careers in research, teaching, and industry.

خلص بیوگرافی شعیب احمد شاخص

اینجانب شعیب احمد شاخص فرزند عبدالحمید حمیدی در سال ۱۳۶۰ در یک فامیل علم دوست و متدین متولد شدم که دوره ابتدایی را در مکتب شهید کامیاب در جمهوری اسلامی ایران بدرجه اعلی اکمال نموده و در سال ۱۳۷۹ از صنف دوازدهم لیسه انقلاب اسلامی بدرجه متوسط فارغ شدم.

بنده در سال ۱۳۸۱ بعد از سپری نمودن دوره معاون فارمسی در انستیتوت متوسط طبی هرات از طریق امتحان کانکور سراسری وارد تحصیلات عالی یعنی پوهنتون هرات شدم و به سال ۱۳۸۵ از رشته وترنری پوهنځی زراعت آن پوهنتون به سویه لسانس فارغ و در همان پوهنځی به صفت استاد مقرر شدم که بعداً در سال ۱۳۸۷ چانس تحصیل در کشور هندوستان در مقطع ماستری را در رشته مایکروبیولوژی حاصل نمودم و در سال ۱۳۸۹ از پوهنتون KVAFSU ایالت کارناتاکا آن کشور به درجه ماستر از رشته مایکروبیولوژی فارغ شدم. بعد از ختم دوره ماستری و بازگشت به وطن در پوهنځی علوم وترنری پوهنتون هرات به حیث استاد تا کنون ایفای وظیفه می نمایم.

با عرض حرمت

داکتر شعیب احمد شاخص