



# میکروب‌ها و نقش آن‌ها در زیست فناوری

کتایون صداقتی زاده

نرگس ابدالی

دکتر محسن آسوری

کارشناس انجام آزمایشات و تهیه عکس: نسرين حسن زاده



نشر راشدين

مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی  
دانشگاه علوم پزشکی لرستان

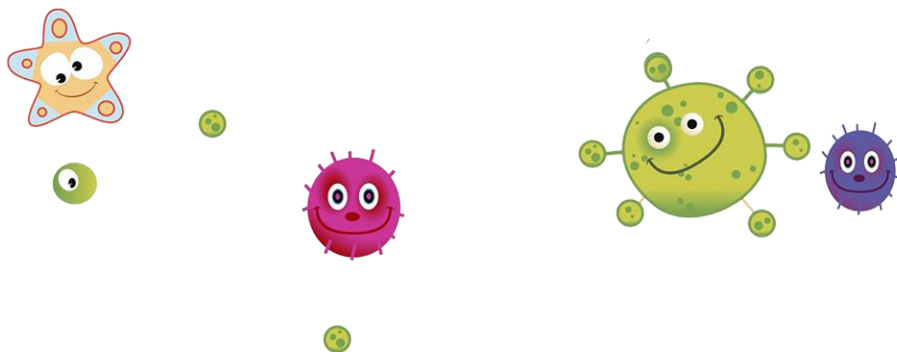
شاپک	۹۷۸-۶۰۰-۳۶۱-۶۵۲-۳ :
شماره کتابشناسی ملی	۵۶۱۹۲۷۱ :
عنوان و نام پدیدآور	میکروبها و نقش آن‌ها در زیست فناوری/مولفان کتابیون صداقتی‌زاده، نرگس ابدالی، محسن آسوری؛ کارشناس انجام آزمایشات و تهیه عکس نسرين حسن‌زاده.
مشخصات نشر	تهران: راشدين، ۱۳۹۸.
مشخصات ظاهري	۸۶ص: مصور، جدول.
یادداشت	
موضوع	میکروب‌شناسی :
موضوع	Microbiology :
موضوع	ازمایشگاه‌های میکروب‌شناسی-- وسایل و تجهیزات
موضوع	Microbiological laboratories-- Equipment and supplies :
موضوع	ازمایشگاه‌های میکروب‌شناسی -- پیش‌بینی‌های ایمنی
موضوع	Microbiological laboratories -- Safety measures :
موضوع	میکروب‌شناسی -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	Microbiology -- Laboratory manual :
موضوع	تکنولوژی زیستی
موضوع	Biotechnology :
رده بندی دیویی	۵۷۹ :
رده بندی کنگره	۱۳۹۸ QR۴۱/ص۲/م۴ ۹ :
سز شناسه	صداقتی‌زاده، کتابیون، ۱۳۵۷ -
شناسه افزوده	ابدالی، نرگس، ۱۳۶۰ -
شناسه افزوده	آسوری، محسن، ۱۳۵۱ -
شناسه افزوده	حسن‌زاده، نسرين، ۱۳۶۶ -
وضعیت فهرست نویسی	فیبا :
انتشارات راشدين	
عنوان کتاب:	میکروبها و نقش آن‌ها در زیست فناوری
مؤلف:	کتابیون صداقتی‌زاده، نرگس ابدالی، دکتر محسن آسوری
طراح و صفحه‌آرا:	محبوبه پوردستان
نوبت چاپ:	اول- ۱۳۹۸
شمارگان:	۱۰۰۰
شاپک:	۹۷۸-۶۰۰-۳۶۱-۶۵۲-۳
قیمت:	۱۴۰۰۰ ریال
نشانی:	میدان انقلاب - کارگر جنوبی- بن‌بست گشتاسب - پلاک ۴ واحد ۶
تلفن/ نمابر:	۶۶۴۰۸۲۲۴ - ۶۶۱۲۳۴۴۹
پایگاه اینترنتی:	پست الکترونیک: www. siteketab.com
	rashed۱۸۲۹@yahoo. Com

بسم الله الرحمن الرحيم



## میکروب ها

و نقش آنها در زیست فناوری





- ۱۱..... میکروب چیست؟
- ۱۴..... میکروارگانیسم‌ها چگونه انرژی مورد نیاز خود را تامین می‌کنند؟
- ۱۷..... الف) نقش میکروبها در تولید موادغذایی .....
- ۱۹..... ب) نقش میکروب‌ها در تولید دارو.....
- ۲۱..... ج) نقش میکروب‌ها در استخراج فلزات از معادن.....
- ۲۲..... د) نقش میکروب‌ها در پاکسازی محیط زیست.....
- ۲۳..... و) نقش میکروب‌ها در کشاورزی .....
- ۳۱..... معرفی مواد و ابزارهای مورد نیاز در آزمایشگاه میکروب شناسی .....
- ۳۲..... (۱) مواد شیمیایی .....
- ۳۳..... (۲) محیط‌های کشت .....
- ۳۴..... (۳) شیشه آلات .....
- ۳۵..... (۴) ابزارهای انتقال کشت .....
- ۳۵..... - لوپ سیمی .....
- ۳۶..... سوآب .....
- ۳۷..... (۵) وسایل متفرقه.....
- ۳۷..... (۶) وسایل و تجهیزات تخصصی میکروبیولوژی .....
- ۳۸..... شرح لوازم تخصصی مورد استفاده در طول آزمایش‌ها.....
- ۳۸..... انکوباتور .....
- ۳۹..... نحوه استفاده از انکوباتور.....
- ۴۰..... هود لامینار(میکروبی) .....
- ۴۱..... نحوه استفاده از هود: .....
- ۴۱..... (۳) میکروسکوپ .....
- ۴۳..... اجزای میکروسکوپ نوری: .....
- ۴۳..... عدسی چشمی (اکولر).....
- ۴۳..... عدسی شیئی .....
- ۴۵..... طرز کار میکروسکوپ .....
- ۴۷..... ایمنی در حین انجام آزمایش‌های میکروب شناسی (میکروبیولوژی) .....
- ۵۱..... طبقه بندی باکتری ها.....

۵۱	۱-انواع باکتری‌ها از نظر شکل .....
۵۲	الف) باکتری اسپریل .....
۵۲	ب) باکتری کوکسی .....
۵۳	باکتری باسیل .....
۵۴	۲-انواع باکتری‌ها بر اساس روش تامین انرژی: .....
۵۴	تکنیک‌های مورد نیاز جهت مطالعه باکتری‌ها .....
۵۵	الف) کشت باکتری بر روی محیط نوترینت آگار .....
۵۸	ب) تهیه یک گسترش میکروسکوپی .....
۵۸	ب-۱) تهیه گسترش برای مشاهده میکروب زنده .....
۵۹	ب-۲) تهیه گسترش برای مطالعه نمونه غیرزنده .....
۶۰	مرحله دوم) خشک کردن .....
۶۰	مرحله سوم) ثابت کردن .....
۶۱	ج) رنگ آمیزی در مشاهدات میکروسکوپی .....
۶۱	ج-۱) رنگ آمیزی ساده .....
۶۳	ج-۲) رنگ آمیزی گرم .....
۸۴	حرف پایانی .....
۸۵	منابع .....



## پیشگفتار مولفان:

کتاب حاضر چهارمین جلد از مجموعه کتاب‌های زیست فناوری در مدرسه است که با هدف آشنایی دانش آموزان با نقش میکروب‌ها در زندگی بشر نگارش شده است. اگر زیست فناوری را این گونه تعریف کنیم که هرگونه استفاده از موجودات زنده در تولید محصول جدید در حوزه زیست فناوری قرار دارد بنابراین می‌توان گفت میکروب‌ها به دلیل نقش موثر خود در تولید دارو و موادغذایی مهمترین موجودات زنده در حوزه زیست فناوری محسوب می‌شوند.

در طول نگارش کتاب سعی شده است از دانش پایه دانش آموزان کمک گرفته شود و مطالب به صورتی کنار هم قرار گیرند تا ضمن ارائه مباحث زیست فناوری، از خستگی و "افزایش صرف داده‌ها" جلوگیری گردد. کمیته تالیف و تدوین زیست فناوری دانش آموزی به دنبال انتقال اطلاعات صرفاً تئوری و حجیم به ذهن مخاطب دانش آموز نیست. بلکه درصدد است به داده‌های دریافت شده قبلی او در حوزه زیست شناسی جهت گیری کاربردی و عملیاتی دهد. قطعاً دانش آموزان در کتب مدرسه با میکروب و نقش آن در طبیعت آشنا شده‌اند به همین دلیل در این کتاب تاکید کمتری بر آن شده است. در عوض تلاش شده است تا دانش آموزان مثل یک میکروب شناس پژوهنده، وارد آزمایشگاه شوند و به صورت عملی با میکروب‌ها و نقش آنها در زندگی بشر آشنا گردند. به طور خلاصه هدف از نگارش این کتاب به شرح ذیل است:



## الف) آشنایی با میکروب‌ها و نقش آن در زیست فناوری

آشنایی با میکروب‌ها شرایط ایمنی و ابزار مطالعه خاص خود را خواهد داشت.

بنابراین هدف دوم از نگارش این کتاب به شرح ذیل است:

## ب) آشنایی با ابزار و ایمنی کاربرد آزمایشگاه‌های تخصصی میکروب شناسی

انتظار می‌رود دانش آموزان در مسیر مطالعه این کتاب و انجام آزمایش‌های ذکر شده

اصول اولیه کار در آزمایشگاه‌های میکروب شناسی را به خوبی درک کنند و بتوانند

متناسب با آموخته‌های خود در حوزه زیست فناوری میکروبی ایده‌های زیست

فناورانه ارائه نمایند.

امید است این مجموعه بتواند به رشد علمی دانش آموزان پژوهشگر کمک نماید.

کمیته تالیف زیست فناوری در مدرسه

فصل اول

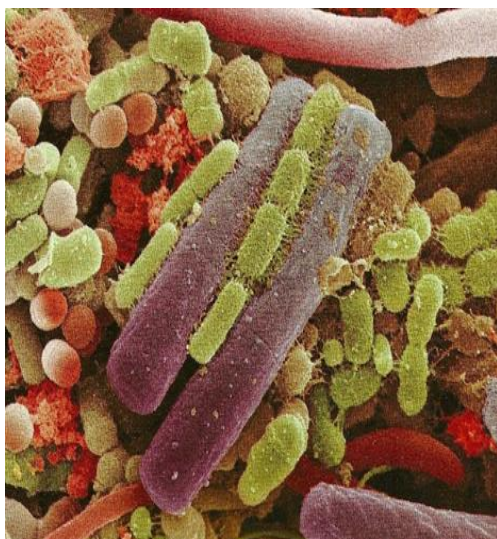
آشنایی با

میکروارگانیزم‌ها

همانگونه که در کتاب مبانی ورود به دنیای زیست فناوری خواندید، میکروب‌ها نقش موثری در زیست فناوری بر عهده دارند. به همین دلیل لازم است با این موجودات شگفت‌انگیز و نقش آنها در نظام خلقت و زندگی انسانها بیشتر آشنا شوید.

## میکروب چیست؟

میکروب‌ها انواع مختلفی دارند و به شکل‌های متفاوتی دیده می‌شوند. در اطراف ما



موجودات زنده فراوانی زندگی می‌کنند که به راحتی دیده نمی‌شوند و برای دیدن آنها باید از میکروسکوپ کمک گرفت. به این موجودات ریز که با چشم نمی‌توان آنها را دید میکروب می‌گویند. میکروب از دو کلمه "میکرو" به معنی ریز و "بیوس" به معنی زیستن به وجود آمده است.

میکروب‌ها انواع مختلفی دارند و به شکل‌های متفاوتی دیده می‌شوند.

در واقع می‌توان گفت میکروب به معنی "موجود زنده ریز" است. میکروبها تقریباً در همه جا، از آب و هوا گرفته تا خاک، روی پوست بدن، داخل بدن انسان، جانوران و گیاهان به میزان فراوان وجود دارند. به گونه‌ای که زندگی برای جانوران و گیاهان، بدون وجود میکروب امکان‌پذیر نیست.

با آنکه در کتابهای پزشکان قدیم، مثل ابوعلی سینا و حتی پیش از آن، به وجود موجودات ریزی که باعث بیماریهای خاص می‌شوند اشاره شده بود، اما سالها طول کشید تا دانشمندان بتوانند وجود آنها را اثبات کنند. لیون هوک و لویی پاستور در این مسیر نقش بسیار موثری داشتند. لیون هوک با اختراع میکروسکوپ و لویی پاستور با توضیح فرایند فساد مواد غذایی توسط میکروب‌ها، توانستند موجوداتی را به جامعه علمی معرفی کنند که معماهای زیادی را تا به آن روز باعث شده بودند. تا قبل از کشف این موجودات، چگونگی تبدیل انگور به سرکه یا شیر به ماست و یا چگونگی فساد مواد غذایی و بروز علایم مسمومیت برای همه معماهایی حل نشدنی بودند. اما مجموعه تلاش‌های دانشمندان فوق باعث شد میکروب‌ها به عنوان پاسخ بسیاری از این معماها به دنیای زیست‌شناسی و پزشکی معرفی شوند.



لویی پاستور دانشمند  
فرانسوی (۱۸۲۲-۱۸۹۵)



آنتونی فان لیون هوک،  
دانشمند هلندی (۱۶۳۲-۱۷۲۳)

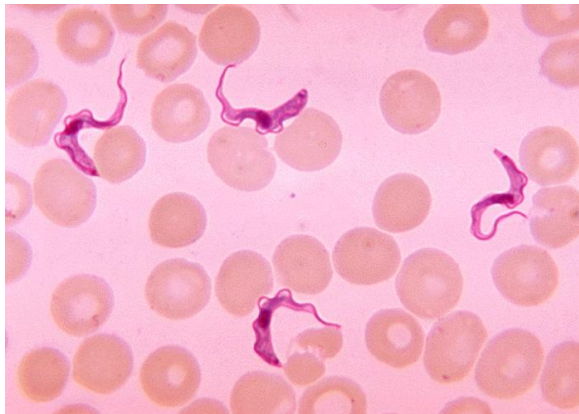


لیون هوک در طول مطالعات خود میکروسکوپ‌های زیادی ساخت که ۹ نوع آن در حال حاضر موجود است. بعضی از این میکروسکوپ‌ها دستی بوده و تنها یک لنز داشته اند و اندازه آنها حدود ۵ سانتی متر بوده است. بزرگنمایی بعضی از میکروسکوپ‌های لیون هوک تا ۲۷۵ برابر بوده است. با آنکه لیون هوک تحصیلات دانشگاهی نداشت و هیچ وقت مقالات علمی نوشت اما به دلیل اکتشافات خود در این حوزه او را به عنوان پدر علم میکروبیولوژی می‌شناسند. او در یادداشت‌های خود میکروب‌های موجود در لثه و دندان، اسپرم، بافت ماهیچه‌ای و خون درون مویرگ‌ها را توصیف کرده بود.

به مجموع موجودات زنده‌ای که فقط با میکروسکوپ دیده می‌شوند میکروارگانیسم نیز می‌گویند. میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها، قارچ‌های میکروسکوپی، ریزجلبک‌ها و آغازیان می‌باشند. بعضی از میکروارگانیسم‌ها بیماری‌زا و بعضی غیر بیماری‌زا هستند.

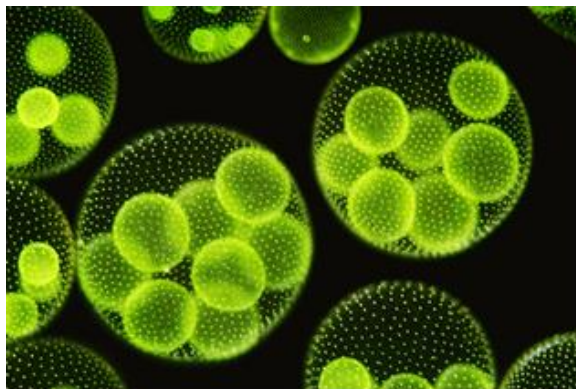
### **میکروارگانیسم‌ها چگونه انرژی مورد نیاز خود را تامین می‌کنند؟**

این موجودات کوچک برای رشد و تولید مثل به شیوه‌های مختلفی عمل می‌کنند. بعضی از آنها وارد بدن موجودات زنده می‌شوند. در این حالت به موجود زنده‌ای که این میکروب‌ها را پذیرفته اند میزبان می‌گویند. میکروب از بدن میزبان استفاده کرده و تکثیر می‌شود و به این ترتیب بیماری در میزبان بروز می‌کند. به این گروه از میکروارگانیسم‌ها، انگل می‌گویند.



نوعی انگل در خون

گاهی میکروارگانیسم‌ها خودشان توانایی غذاسازی دارند. مثلا به کمک کلروفیل فتوسنتز می‌کنند و برای ادامه زندگی به موجودات زنده دیگر وابسته نیستند. این گروه از میکروارگانیسم‌ها با دریافت مواد معدنی و به کمک نور خورشید برای خود ماده آلی می‌سازند. شما در کتاب‌های درسی خود با مواد آلی آشنا شده اید. مواد آلی موادی هستند که عنصر اصلی در ساختار آنها کربن است. اتمهای کربن می‌توانند با یکدیگر ترکیب شوند و زنجیرهای طولی تشکیل دهند. هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن، گوگرد و فسفر فراوانترین عناصر سازنده مواد آلی به حساب می‌آیند. گروهی از آغازیان و جلبک‌ها به دلیل وجود کلروفیل (سبزینه) نقش مهمی در تولید مواد غذایی دارند و به همین دلیل به آنها تولیدکننده می‌گویند.



ولوکس نوعی جلبک سبز است که به کمک کلروفیل فتوسنتز کرده و غذای خود را می‌سازد.

روش دیگر برای دریافت غذا در میکروارگانیسم‌ها تجزیه کردن اجساد گیاهان و جانوران است. بسیاری از باکتری‌ها و قارچ‌های تک سلولی از اجساد گیاهان و جانوران استفاده کرده و ضمن تجزیه اجساد و کمک به پاکسازی محیط زیست، انرژی مورد نیاز خود را تامین می‌کنند. به این گروه از میکروارگانیسم‌ها که کمک می‌کنند مواد آلی موجود در بقایای گیاهان و جانوران به مواد معدنی تبدیل شده و دوبار به طبیعت وارد گردد "سپروفیت" (گندروی) می‌گویند.



نمونه‌هایی از زندگی سپروفیتی

اگر شما زیست فناور بودید با توجه به نحوه زندگی میکروارگانیسم‌ها چه استفاده‌هایی از آنها می‌کردید؟





میکروارگانیسیم‌ها فعالیت‌های مفید زیادی را به نفع انسانها انجام می‌دهند. در گذشته میکروارگانیسیم‌ها هم به دلیل آنکه با چشم دیده نمی‌شدند و هم به دلیل وجود انواع گونه‌های بیماری‌زا در میان آنها، کمتر مورد توجه قرار می‌گرفتند. ولی امروزه جایگاه آنها در زنجیره‌های غذایی و حفظ اکوسیستم‌ها بسیار مورد توجه است. آنها حتی پس از مرگ نیز به طبیعت خدمت می‌کنند. پوسته و اجساد پراکنده آنها در محیط‌های آبی و خشکی منبع با ارزشی محسوب می‌شوند. امروزه بسیاری از تک سلولی‌ها و جلبک‌های میکروسکوپی در تهیه مواد دارویی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

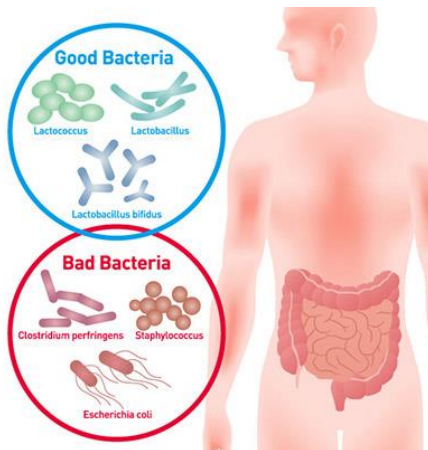
## الف) نقش میکروبها در تولید مواد غذایی

بسیاری از مواد غذایی که روزانه مصرف می‌کنیم با فعالیت میکروب‌ها تولید شده‌اند. مثلا ماست و سرکه و نان همگی محصولاتی هستند که برای تولید آنها میکروب‌ها به خدمت گرفته شده‌اند. برای تولید همه این محصولات فرایند تخمیر توسط میکروب‌ها انجام شده و محصول مورد نظر تولید شده است. مثلا سالانه صدها هزار تن مخمر پرورش داده می‌شود. مخمرها گروهی از قارچ‌های تک سلولی هستند که در صنایع غذایی خصوصا در صنعت نان و شیرینی پزی به عنوان منبع آنزیم مورد استفاده قرار می‌گیرند. مخمر نان می‌تواند هیدروکربن‌های موجود در خمیر را تخمیر کند و با ایجاد گاز دی اکسید کربن در بافت خمیر، باعث ور آمدن خمیر و تردی نان می‌شود. بعضی از انواع مخمرها به عنوان غذای دام و طیور مصرف می‌شوند.

امروزه استفاده از میکروب‌ها برای تولید مواد غذایی یا افزایش کیفیت مواد غذایی بسیار رایج است و زیست‌فناوران به کمک میکروب‌ها سعی در تولید محصولات غذایی خاص دارند.

حتما با اصطلاح "پروبیوتیک" برخورد کرده‌اید. مثلا برای خرید به سوپرمارکت رفته‌اید و متوجه شدید روی بسته بندی ماست نوشته شده "پروبیوتیک".

واژه پروبیوتیک از دو کلمه یونانی "پرو" و "بیوتیک" به معنی "برای حیات" منشا گرفته است. داخل روده انسان باکتری‌های زیادی زندگی می‌کنند که در گوارش غذا نقش موثری دارند. گروهی از این باکتری‌ها علاوه بر نقش در گوارش، موادی نظیر ویتامین‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها را تولید می‌کنند که برای بدن بسیار مفید هستند. امروزه با شناسایی این باکتری‌ها و اضافه کردن آنها به لبنیات و یا سایر محصولات غذایی موجب افزایش میزان باکتری‌های مفید روده را فراهم می‌کنند. در واقع پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی هستند که به طور موثر و سودمندی روی میزبان تاثیر گذاشته و تعادل میکروب‌های روده را بهبود می‌بخشند. امروزه حتی تاثیر مصرف محصولات پروبیوتیک در جلوگیری از آلرژی و حتی فساد دندان‌ها ثابت شده است.



باکتری‌های مفید: لاکتوکوکوس<sup>۱</sup>، لاکتوباسیلوس<sup>۲</sup>، لاکتوباسیلوس بیفیدوس<sup>۳</sup>.  
باکتری‌های مضر: اشرشیا کلی<sup>۴</sup>، استافیلوکوکوس<sup>۵</sup>، کلاستریدیوم پرفرنژنس<sup>۶</sup>

## ب) نقش میکروب‌ها در تولید دارو

پنی سیلین یکی از معروف‌ترین و کاربردی‌ترین داروهاست که به کمک میکروب‌ها تولید شده است. کپکی به نام پنی‌سیلیوم نوتاتوم<sup>۷</sup> از خود ماده‌ای ترشح می‌کند که خاصیت ضد میکروبی دارد.

<sup>۱</sup> - Lactococcus

<sup>۲</sup> - Lactobacillus

<sup>۳</sup> - Lactobacillus bifidus

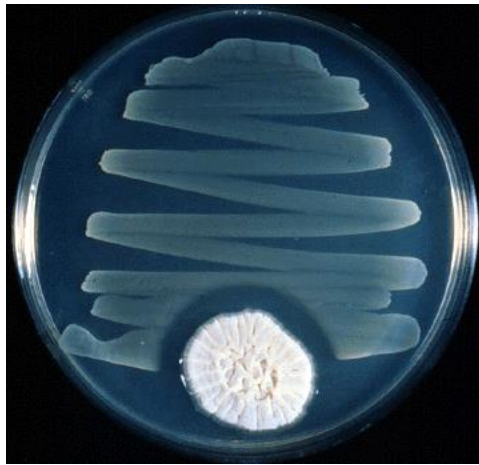
<sup>۴</sup> - Escherichia coli

<sup>۵</sup> - Staphylococcus

<sup>۶</sup> - Clostridium perfringens

<sup>۷</sup> - penicillium notatum

این ماده اولین بار توسط الکساندر فلمینگ در سال ۱۹۲۸ کشف گردید. پس از کشف پنی سیلین محققان به جستجوی سایر منابع دارویی از میکروب‌ها پرداختند و توانستند داروهای زیادی را به این ترتیب به وجود بیاورند.



پنی سیلین و نقش ضد میکروبی آن؛ در این تصویر هاله‌ای که به دور کپک ایجاد شده است نشان دهنده خاصیت آنتی بیوتیکی پنی سیلین است.

مخمرها نیز در داروسازی جایگاه ویژه‌ای دارند. مثلاً واکسن هپاتیت B می‌تواند به کمک این قارچ‌های میکروبی ساخته شود.

امروزه بسیاری از اسیدهای آمینه نظیر لیزین، اسید گلوتامیک، اسید اسپارتیک، تریپتوفان و ترئونین و ویتامین‌هایی نظیر ویتامین B<sub>۱۲</sub> توسط میکروب‌ها تولید می‌شوند.

همچنین از میکروب‌ها داروهای ضد تومور، داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی، داروهای ضد میگرن، مهارکننده‌های آنزیم و غیره تولید می‌شوند. واکسن‌ها و بعضی از

هورمون‌ها نظیر انسولین، پلاکت‌های انسانی و فاکتورهای رشد موارد دیگری هستند که به کمک میکروب‌ها ساخته شده‌اند.

### ج) نقش میکروب‌ها در استخراج فلزات از معادن

فلزات در زندگی بشر نقش موثر و پررنگی دارند. مثلاً استفاده از مس نزدیک به ۶۰۰۰ سال است که در ایران رایج است.<sup>۱</sup> با افزایش جمعیت و همچنین رشد صنعت نیاز به افزایش فلزات از یک سو و کاهش ذخایر معدنی از سوی دیگر باعث شد تا تکنولوژی‌های سنتی رایج در استخراج فلزات کارایی خود را از دست بدهند. خصوصاً اینکه استخراج فلزات از معادن به شیوه‌های رایج بسیار پرهزینه است و آسیب‌های زیست محیطی زیادی ایجاد می‌نماید. مثلاً هم‌اکنون بیش از ۱۵ میلیون تن مس در جهان تولید می‌شود. در مسیر استخراج این حجم از مس، سالانه ۴۰۰ هزار تن گاز SO<sub>2</sub> آزاد شده که پس از ورود به هوا باعث آلودگی‌های زیست محیطی می‌گردد.

استفاده از فناوری‌های زیستی در استخراج فلزات که به آن فروشویی میکروبی<sup>۲</sup> می‌گویند راهی است برای کاهش خطرات زیست محیطی در حوزه معادن. میکروارگانیسم‌ها برای سوخت و ساز و انجام فرایندهای حیاتی خود از منابع آلی و معدنی در محیط تغذیه کرده و به آزادسازی فلز مورد نظر کمک می‌کنند. فروشویی میکروبی دارای مزایای مهمی همچون کاهش اثرات منفی زیست محیطی بر منابع آب و هوا، نیاز به انرژی کمتر، عدم نیاز به تجهیزات پیچیده و در نتیجه سرمایه گذاری پایین تر است.

<sup>۱</sup> - قدیمی ترین کارخانه ذوب مس در جهان مربوط به منطقه تل ابلیس؛ کوه‌های اطراف کرمان می‌باشد.

<sup>۲</sup> - Bioleaching

## د) نقش میکروب‌ها در پاکسازی محیط زیست

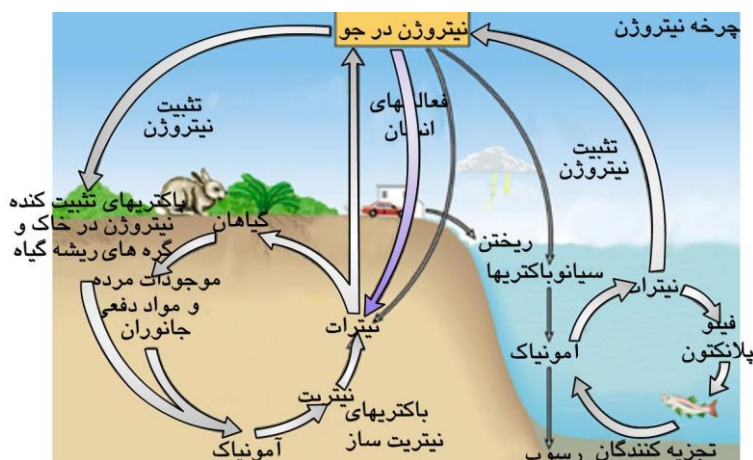
میکروارگانسیم‌ها در حفاظت از محیط زیست و پاکیزگی هوا نقش موثری دارند. بعنوان مثال سیانوباکتریها با فتوسنتز بخشی از اکسیژن موجود در جو زمین را می‌سازند. و یا اینکه گلسنگ‌ها با تثبیت نیتروژن نقشی کلیدی در ایجاد اکوسیستم‌ها داشته و دارند. بسیاری از میکروب‌ها برای به دست آوردن انرژی از بقایای موجودات زنده و فضلاب‌ها استفاده می‌نمایند و به این ترتیب نقش طبیعی خود را در پاکسازی محیط زیست اجرا می‌کنند.

زیست فناوری‌ها در تلاشند تا از ویژگی ذاتی میکروب‌ها جهت کاهش آلاینده‌ها استفاده نمایند. با توجه به انقلاب صنعتی و ظهور صنایع بزرگ، مصرف مواد اولیه باعث رهاسازی مقدار زیادی مواد شیمیایی و مواد زائد به محیط زیست شده است و آسیب‌های جبران ناپذیری به بیوسفر وارد کرده است. بنابراین کاهش این مواد و پیدا کردن راه حل‌های سازگار با محیط زیست برای حل مشکل موجود و بهبود شرایط زیست محیطی در سراسر جهان به کمک کاهش آلودگی‌های خطرناک و زباله‌های صنعتی اهمیت فراوانی دارد.

امروزه از میکروب‌ها جهت حذف مواد آلاینده خطرناکی مانند جیوه، لکه‌های نفتی، ضایعات مختلف استفاده می‌شود. در واقع میکروب‌ها می‌توانند به کمک آنزیم‌های خود مواد خطرناک را به ترکیبات بی‌خطر تبدیل نمایند.

## و) نقش میکروب‌ها در کشاورزی

مطالعات میکروبی ثابت کرده است که هر گرم از ریزوسفر خاک<sup>۱</sup> بیش از ۴۰۰۰ گونه میکروبی را در خود جای داده است. ریزوسفر ناحیه باریکی از خاک است که در مجاورت ریشه گیاهان قرار گرفته است و در آن تعداد و فعالیت میکروب‌ها بیش از سایر قسمت‌های خاک است.



چرخه نیتروژن در طبیعت

این میکروب‌ها یا به صورت آزاد و یا به صورت همزیست با گیاهان زندگی می‌کنند و در تامین مواد مورد نیاز به آنها کمک می‌نمایند. مثلاً در ریشه گیاهانی مانند عدس، یونجه و شبدر و... باکتری‌هایی زندگی می‌کنند که به آنها " تثبیت کننده نیتروژن " می‌گویند. اگر به ریشه این گیاهان نگاه کنید گره‌هایی را می‌بینید که از

<sup>۱</sup> - Rhizosphere

اجتماع این باکتری‌ها شکل گرفته اند. گیاهان برای پروتئین سازی به ترکیبات نیتروژن دار نیاز دارند. با آنکه حدود ۷۸٪ هوای اطراف ما را نیتروژن تشکیل داده است اما گیاهان نمی توانند از این نیتروژن استفاده کنند. باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن می‌توانند با جذب نیتروژن هوا، نیترات بسازند و آن را در اختیار گیاه قرار دهند. نیترات برای پروتئین سازی و رشد گیاه بسیار ضروری است. این موجودات کوچک همانند کارخانه‌های طبیعی کودسازی عمل می‌کنند و بدون صرف هزینه نیاز گیاهان را به نیتروژن تامین می‌کنند.



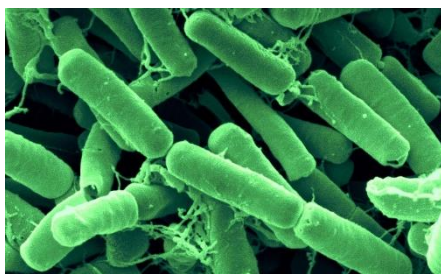
گره‌های ریشه عدس

امروزه زیست فناوری‌ها از باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن استفاده‌های زیادی می‌کنند. کودهای زیستی که نقش مهمی در کشاورزی "بدون سم و کود شیمیایی" ایفا می‌کنند ( کشاورزی ارگانیک) به کمک همین میکروارگانیسم‌ها به وجود می‌آیند. این کودها حاوی مقدار زیادی میکروارگانیسم هستند که قادرند عناصر غذایی خاک را به صورت در دسترس تبدیل کرده و به ریشه برسانند. استفاده از کودهای زیستی در



مزارع و زمین‌های کشاورزی باید با مطالعه زیاد انجام شود تا جمعیت طبیعی میکروبی منطقه به مخاطره نیفتد.

کاربرد دیگر میکروب‌ها در کشاورزی تولید آفت‌کش‌های میکروبی است. این مواد شامل عوامل زنده‌ای مانند ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و حتی تک سلولی‌ها هستند که در آفات تولید بیماری می‌کنند و به این ترتیب عامل بیماری را از بین می‌برند. برای ساخت برخی آفت‌کش‌های تجاری از باکتری‌ها استفاده می‌شود. یکی از این باکتری‌ها نوعی باسیلوس است که با ایجاد مشکلات گوارشی در عامل بیماری‌زا در نهایت باعث مرگ آن می‌شود.



تصویری از باسیلوسها، تولیدکننده سم برای حشرات



جالبه اسلحه بدانید:



فرمانتور دستگاهی برای تکثیر میکروبها در صنعت

**فرمانتور (تخمیر کننده صنعتی)؛ ابزاری برای تکثیر**

**میکروبها در صنعت**

برای اینکه میکروبها بتوانند مواد مفید نظیر پنی سیلین، انسولین و آفت کش و... را به وجود آورند باید آنها را به مقدار زیاد پرورش داد و سپس محصولات ذکر شده را به کمک آنها تولید کرد. فرمانتور نام دستگاهی است متشکل از تجهیزات و قطعات مختلف که شرایط محیطی کنترل شده را برای رشد میکروبها و یا تولید محصولات خاص در شرایط استریل فراهم می کند. بدنه‌ی این دستگاه معمولاً از فولاد ضد زنگ است و درون آن نیز از یک محیط کشت پایه‌ی مناسب پر می شود. محیط کشت ماده‌ای است که همه نیازهای غذایی مناسب برای رشد و تکثیر یک میکروب را فراهم می کند.

گفته می‌شود یک انسان ۱۰۰ تریلیون سلول دارد اما فقط یک دهم آن متعلق به بدن خود او است! این جمله در نگاه اول کمی غیر منطقی به نظر می‌رسد اما اگر میکروبهایی که در پوست، حفره دهان، حفره بینی، روده و .... زندگی می‌کنند را در نظر بگیرید متوجه خواهید شد این عدد اغراق آمیز نیست!

همان گونه که گفته شد بعضی از میکروارگانیسم‌ها به صورت همزیست در بدن گیاهان و جانوران زندگی می‌کنند و در تامین مواد مورد نیاز به آنها کمک می‌کنند. بر روی بدن و همین طور داخل بدن انسان نیز میکروارگانیسم‌هایی زندگی می‌کنند که وجودشان بخشی از سازوکار طبیعی و ضروری بدن گردیده است. میکروارگانیسم‌های همزیست انسان یا میکروبیوم انسان<sup>۱</sup> به همه میکروب‌ها و قارچ‌های بدن انسان گفته می‌شود که نوعی هم‌زیستی و هم‌سفرگی با بدن پیدا کرده‌اند. حتما اصطلاح «فلور نرمال» یا «فلور طبیعی» را شنیده‌اید. منظور از فلور نرمال یا طبیعی نیز همه باکتری‌ها، قارچ‌ها و دیگر انواع میکروب‌هایی است که انتظار داریم در قسمتی از بدن انسان ساکن باشند.

مثلا یکی از مهمترین اجزای بدن انسان که پذیرای هزاران میکروب است دستگاه گوارش و به‌طور خاص روده بزرگ است. در این قسمت میکروب‌هایی زندگی می‌کنند که در تولید ویتامین K و اسیدفولیک موثر هستند. همچنین حضور این میکروب‌ها مانع تکثیر میکروب‌های مضر شده و به سلامتی بدن کمک می‌کنند.

در پوست انسان بیش از ۱۰۰۰ نوع میکروب وجود دارد که معمولا بی‌خطر بوده و حتی حضورشان مانع فعالیت میکروب‌های بیماری‌زا می‌گردد. حفره دهانی شما

<sup>۱</sup> - Human microbiome

دندان‌ها، لثه، گونه و زبان هر کدام زیستگاه اختصاصی برای میکروب‌های خاص هستند و بیش از ۶۰۰ گونه میکروب را در خود پذیرفته اند.

جالب است بدانید تغییر سبک زندگی نظیر افراط در بهداشت فردی، افزایش مصرف آنتی بیوتیک‌ها، تغییر رژیم غذایی و... باعث تغییر در میکروبیوم بدن انسان‌ها شده است.

حتی ثابت شده تغذیه نوزاد با شیرمادر یا شیرخشک بر این تنوع میکروبی موثر است. تا پایان سال اول زندگی مشخصات میکروبی هر نوزاد کاملاً مشخص می‌شود و از دو سال و نیمی میکروبیوم بدن کودک دقیقاً شبیه دوران بلوغش خواهد بود.

برنامه مشارکتی میکروبیوم انسانی یک پروژه عظیم بین‌المللی است که با قصد توالی‌یابی ژنی همه همزیستان میکروبی ما به انجام رسید. این کار فهرست بلندبالایی را در بر دارد، زیرا مجموعه ژنی میکروب‌هایی که در بدن ما زندگی می‌کنند، صد برابر بیشتر از ژن‌های خود ماست و هم‌چنین نسبت به ژن‌های ما تنوع بیشتری دارد. بررسی این میکروب‌ها خصوصاً زمانی که بیماری‌ای حادث می‌شود بسیار مهم است. متخصصان بر این باورند که با تقویت میکروب‌های تجمع یافته در یک بخش از بدن می‌توان بعضی از بیماری‌ها و انواع عفونت‌های آن منطقه را کنترل کرد. توسط میکروب‌های همزیست، روزانه آنتی بیوتیک‌های فراوانی در بدن ما تولید و رها می‌شود که در سلامت نگاه داشتن ما بسیار موثرند. آنتی بیوتیک‌هایی که ما حتی آنها را نمی‌شناسیم و از زمان تولید و رهاسازی آنها در بدن خود بی‌خبریم!! محققان سعی دارند با شناخت میکروب‌هایی که در بدن انسان به صورت همزیست زندگی می‌کنند راه‌های موثرتری برای درمان بیماری‌ها و تولید دارو پیدا کنند. با این توصیف می‌توان

گفت چیزی که ما را به عنوان انسان شکل داده است مجموعه‌ای از میکروب‌ها و سلول‌های بدن ماست.



همسایگان میکروبی ما بسیار زیادتر از آن چیزی هستند که فکر می‌کنیم!

فصل دوم

مبانی ورود به آزمایشگاه

میکروپ شناسی

در فصل اول با مختصری از زندگی میکروب‌ها و خواص آنها آشنا شدید. میکروب‌ها به قدری در زندگی بشر موثر و اثرگذار هستند که شاخه‌ای از زیست‌شناسی به مطالعه این گروه از موجودات اختصاص یافته است. میکروبیولوژی یا میکروب‌شناسی که به آن ریززیست‌شناسی نیز می‌گویند دانشی است که درباره شکل، ترکیب، ویژگی‌ها و بیماری‌زایی میکروارگانیسم‌ها (ریزسازواره‌ها) بحث و گفتگو می‌کند. مطالعه انواع باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌های میکروسکوپی و تک سلولی‌ها در این حوزه قرار می‌گیرد. حال اگر مطالعه این میکروب‌ها منجر به تولید محصولات و خدمات جدید گردد با حوزه "زیست فناوری میکروبی (بیوتکنولوژی میکروبی)" سر و کار خواهیم داشت.

از آنجا که میکروب‌ها نقش مهمی در زیست فناوری به عهده دارند لذا تمرین‌های عملی و آزمایش‌های این کتاب با توجه به تشبیت جایگاه این موجودات با ارزش و نقش آن در زندگی بشر ارائه شده‌است. برای ورود به دنیای میکروارگانیسم‌ها باید لوازم و مواد مورد نیاز برای مطالعه آنها را بشناسید.

## **معرفی مواد و ابزارهای مورد نیاز در آزمایشگاه میکروب‌شناسی**

برای مطالعه میکروب‌ها در آزمایشگاه‌های تخصصی میکروب‌شناسی لوازم و مواد مخصوصی وجود دارد اما آشنایی با کلیه این لوازم و مواد برای پژوهشگران این کتاب که دانش آموز هستند مورد نیاز نیست. در این بخش ابزارها و موادی معرفی شده‌اند که در سطح دانش آموزی است و در آزمایشگاه مدارس یا پژوهشسراها وجود دارد.

## (۱) مواد شیمیایی

کلیه مواد شیمیایی به کار رفته در طول آزمایش‌های این کتاب مرتبط با مشاهده میکروارگانیسم‌ها می‌باشد ولی ممکن است این مواد در سایر آزمایشگاه‌های زیستی هم کاربرد داشته باشند. مثلاً رنگها، هم در آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی و هم گیاه‌شناسی و بافت‌شناسی کاربرد دارند. این رنگها به منظور مشاهده دقیق سلول‌ها، میکروب‌ها و همچنین ایجاد تمایز بین اجزای مختلف سلولی و بافتی به کار برده می‌شوند.

در این کتاب مواد شیمیایی که در طول مشاهدات میکروبی به آن نیاز دارید شامل کریستال یوله، فوشین، لوگول و موادی نظیر اتانول و هیپوکلریت سدیم است. فوشین و کریستال یوله ترکیبات شیمیایی هستند که جهت رنگ آمیزی سلول‌ها و میکروب‌ها به کار می‌روند.

لوگول، محلولی حاوی ید است که در آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی کاربردهای زیادی دارد. مثلاً برای تشخیص نشاسته به کار می‌رود یا هسته سلول‌ها را رنگ می‌کند.

اتانول یا الکل اتیلیک یا اتیل الکل با فرمول شیمیایی  $C_2H_5OH$  است که بوی خاصی دارد و در پزشکی و صنعت کاربردهای فراوانی دارد. مثلاً در ضدعفونی کردن زخم‌ها و یا ساخت عطرها و ادکلنها و همچنین گاه به عنوان سوخت به کار می‌رود.



سدیم هیپوکلریت<sup>۱</sup>: ماده‌ای شیمیایی با فرمول NaClO است. شکل محلول این ماده به عنوان سفید کننده و با نام تجاری آب ژاول یا همان وایتکس عرضه می‌شود.

## ۲) محیط‌های کشت

این محیط‌ها به صورت جامد یا مایع هستند و معمولاً توسط خود محقق ساخته می‌شوند. محیط‌های کشت مواد غذایی لازم برای رشد میکروب‌هایی که مدنظر محقق است فراهم می‌کنند. این محیط‌ها اسامی خاص و کاربردهای خاصی دارند. مانند نوترینت آگار، نوترینت براث، لاکتوز براث و غیره. در آزمایش‌های این کتاب نیازی نیست که شما خودتان محیط کشت بسازید. معلم شما محیط کشت را آماده کرده و در اختیار شما قرار می‌دهد.



انواع محیط‌های کشت

<sup>۱</sup> - Sodium hypochlorite

### ۳) شیشه آلات

برخی ابزارهای شیشه‌ای مخصوص استفاده در آزمایشگاه میکروبیولوژی هستند مثل ظروف پتری<sup>۱</sup> یا همان پلیت‌های شیشه‌ای. اما بعضی دیگر در سایر آزمایشگاه‌ها نیز استفاده می‌شوند از جمله انواع پیپت‌ها، ارلن مایر، بالن ژوژه، استوانه مدرج (مزور)، کیف شیشه‌ای، ظروف شیشه‌ای در پیچ دار، انواع لوله‌های آزمایش.



پتری دیش یا پلیت؛ نام این ظرف از روی نام مخترع آن یولیوس ریشارد پتری میکروب شناس آلمانی اقتباس شده است که آن را در زمانی که به عنوان دستیار رابرت کُخ کار می‌کرد اختراع کرد.

یکی از پرکاربردترین ابزارهای شیشه‌ای در آزمایشگاه‌های میکروب شناسی، پلیت یا پتری دیش است. پلیت ظرفی شبیه بشقاب است که از دو جنس شیشه یا پلاستیک با عمق کم ساخته می‌شود. زیست‌شناسان از پلیت برای کشت میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌کنند. پتری دیش‌های شیشه‌ای را می‌توان با استریل کردن دوباره مورد استفاده قرار داد.

<sup>۱</sup> - Petri dishes



وسایل شیشه‌ای که در آزمایشگاه میکروبیولوژی بیشتر استفاده می‌شود.

## ۴) ابزارهای انتقال کشت

وسایلی هستند که برای انتقال دادن کشت‌های میکروبی از محیط قدیمی به محیط جدید از آن‌ها استفاده می‌شود مانند پیپت مدرج، پیپت پاستور، سمپلر و سرسمپلر. اما شما در طول این کتاب با آنها سر و کار نخواهید داشت. تنها وسیله‌ای که شما برای کشت از آن استفاده می‌کنید سوآپ و لوپ سیمی است.

### – لوپ سیمی<sup>۱</sup>

لوپ همانگونه که از اسمش پیداست وسیله‌ای است که سرش به صورت حلقه در آمده است. لوپ یک میله فلزی با دسته‌ای عایق است که می‌توان به راحتی سر آن را در شعله ضدعفونی کرد. این وسیله برای کشت دادن باکتری‌ها در محیط‌های مختلف

---

<sup>۱</sup> - inoculation loop



لوپ سیمی (فیلدوپلاتین)

و یا برای انتقال مقداری از کلنی باکتری از یک محیط کشت به محیط کشت دیگر یا انتقال باکتری بر روی لام استفاده می شود.

## سوآب<sup>۱</sup>

سوآب چیزی شبیه گوش پاک کن است که برای پخش کردن نمونه باکتری روی محیط جامد و یا نمونه برداری از سطوح به کار می رود.



سوآب برای پخش کردن باکتری در پتری دیش



سوآب برای نمونه برداری از دست

<sup>۱</sup> - swab

## ۵) وسایل متفرقه

وسایلی مثل جالوله ای، پوآر (مکنده لاستیکی)، شعله و کپسول گاز (در صورت نیاز)

و غیره



جالوله ای، چراغ گازی، پوآر

## ۶) وسایل و تجهیزات تخصصی میکروبیولوژی

از ده‌ها وسیله تخصصی در حوزه مطالعات میکروبی پرکاربردترین لوازم، میکروسکوپ نوری، اتوکلاو، فور (آون)، هود لامینار و انکوباتور است. این وسایل در آزمایشگاهی که شما کار خواهید کرد موجود است اما به جز میکروسکوپ سایر تجهیزات ذکر شده فقط توسط متخصص آزمایشگاه و معلم شما به کار برده خواهند شد.



هود لامینار



فور (آون)



اتوکلاو

## شرح لوازم تخصصی مورد استفاده در طول آزمایش‌ها

### انکوباتور<sup>۱</sup>

زیست‌شناسان از این وسیله برای کشت و رشد دادن نمونه‌های زنده مانند سلول‌ها یا میکروب‌ها استفاده می‌کنند. این وسیله با کنترل رطوبت و دما، شرایطی مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کند.

---

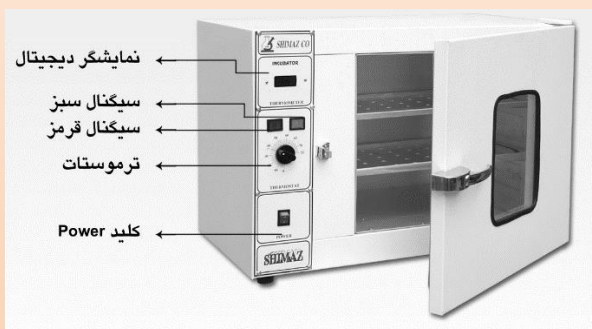
<sup>۱</sup> - Incubator

## نحوه استفاده از انکوباتور<sup>۱</sup>

دستگاه باید بر روی یک سطح صاف قرار بگیرد و از مجاورت هوا دور باشد. پس از وصل کردن دوشاخه به پریز، کلید پاور را فشار دهید تا چراغ آن روشن شود.

نمایشگر دیجیتال دمای داخل محفظه را به شما نشان می‌دهد. با کمک ترموستات دمای مورد نظر خود را تنظیم نمایید. پس از انجام تنظیمات چراغ‌های قرمز یا سبز روشن می‌شوند. اگر دمای تنظیمی شما از حد دمای محیط کمتر بود سیستم سردکننده دستگاه روشن شده و چراغ سبز روشن می‌شود. اما اگر دمایی که انتخاب کرده اید از دمای محیط بالاتر باشد چراغ قرمز روشن می‌شود و گرم‌کننده دستگاه شروع به کار خواهد کرد. سیگنال‌های قرمز و سبز چند بار روشن و خاموش می‌شوند تا تبدلات دمایی انجام شده و یک دمای پایدار ایجاد گردد.

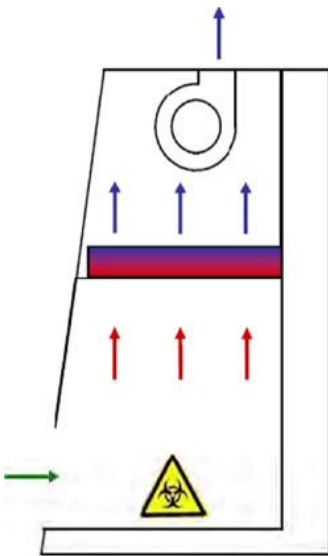
دمای داخل محفظه توسط نمایشگر دیجیتال قابل رویت است.



انکوباتور و اجزای آن

## هود لامینار (میکروبی)

همانگونه که در آشپزخانه شما هود، وظیفه خارج کردن هوای آلوده شده با پخت و پز را برعهده دارد، **هود لامینار** یا هودهای میکروبی نیز وظیفه دارند با دور کردن هوای آلوده از محیط‌های کشت از تداخل میکروب‌های ناخواسته با مطالعات پژوهشگران جلوگیری کنند و از طرفی با محصور کردن فضای میکروب‌ها، باعث ایمنی فرد پژوهشگر و عدم آلودگی محیط می‌شوند. هود شامل یک محفظه بسته با یک قسمت باز جهت دسترسی به محصولات است. در مسیر جریان هوا یک فیلتر وجود دارد که آلاینده‌ها را جذب می‌کند.



یک هود میکروبی که برای درک بهتر ساده شده؛ هود انواع مختلفی دارد. در این شکل پیکان‌ها جهت دائمی جریان هوا را به سمت فیلترها و حذف کردن آلودگی‌ها نشان می‌دهند.



## نحوه استفاده از هود

- ۱- دستگاه را روشن کنید.
  - ۲- کلید فن را روشن کنید تا کلیه ذرات موجود در داخل اتاقک جذب فیلتر تهویه دستگاه شوند.
  - ۳- جهت روشنایی داخل کابین لامپ فلورسنت را روشن کنید.
  - ۴- اگر هود آزمایشگاه شما لامپ UV دارد جهت استریل فضای اتاقک آن را روشن کنید. در صورت فعال کردن لامپ معمولا ۳۰ دقیقه طول می‌کشد تا فضا استریل گردد. بهتر است در این مدتی فردی داخل آزمایشگاه حاضر نباشد.
  - ۵- بهتر است درب اتاقک را تا جایی بازنگهدارید که فقط دستتان داخل شود. این کار احتمال آلوده شدن فضای اتاقک را کمتر می‌کند.
- \*حتما پس از اتمام کار میز و شیشه جلوی دستگاه را نظافت کنید و از خاموش بودن دستگاه اطمینان بیابید.

## ۳) میکروسکوپ

میکروسکوپ ابزار مشاهده میکروب‌ها در سطوح مختلف است که نوع نوری آن در آزمایشگاه‌های مدارس موجود بوده و شما با طرز کار آن کم و بیش آشنا هستید. این میکروسکوپ‌ها که اتفاقا گستردگی زیادی در مطالعات زیست‌شناسی و پزشکی دارند برای نمایش نمونه مورد مطالعه از منبع نور استفاده می‌کنند. برای همین به آن میکروسکوپ نوری می‌گویند. مهمترین بخش‌های یک میکروسکوپ نوری را می‌توانید در تصویر زیر مشاهده کنید.

میکروسکوپ‌های الکترونی ابزار دقیق تری برای مطالعه سطح یا درون نمونه‌ها هستند که در مراکز تحقیقاتی وجود داشته و شما با آنها سروکار نخواهید داشت.



## اجزای میکروسکوپ نوری

### عدسی چشمی (اکولر)<sup>۱</sup>

عدسی ای که چشم را بر روی آن گذاشته و نمونه را مطالعه می کنند. این عدسی در بزرگ کردن تصویری که از عدسی شیئی به سوی چشم می آید نقش دارد.

### عدسی شیئی<sup>۲</sup>

عدسی هایی هستند که نمونه زیر آنها قرار می گیرد و در بزرگنمایی میکروسکوپی نقش دارند.

### بازو یا دسته میکروسکوپ<sup>۳</sup>

برای جا به جایی میکروسکوپ بکار می رود.

### صفحه پلاتین<sup>۴</sup>:

این صفحه محل قرار دادن جسم مورد مطالعه (نمونه) است. در وسط صفحه پلاتین سوراخی وجود دارد که نور از آن عبور کرده و به نمونه می رسد.

### گیره های لام گیر<sup>۵</sup>:

نمونه مورد مطالعه که بر روی لام قرار گرفته است توسط این گیره ها ثابت

می شوند.

---

<sup>۱</sup> - Ocular lens

<sup>۲</sup> - Objective lens

<sup>۳</sup> - Handle

<sup>۴</sup> - Platine plate

<sup>۵</sup> - clip

### پیچ تنظیم سریع<sup>۱</sup> :

به کمک این پیچ صفحه پلاتین بالا و پایین می‌رود . سرعت حرکت صفحه با این پیچ بیشتر از حرکت آن با پیچ تنظیم کننده کند است.

### پیچ تنظیم دقیق<sup>۲</sup> :

به کمک این پیچ صفحه پلاتین بالا و پایین می‌رود . سرعت حرکت صفحه با این پیچ کمتر از حرکت آن با پیچ تنظیم کننده سریع است. بنابراین با دقت بیشتری نمونه مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

### دیافراگم<sup>۳</sup> :

وسیله تنظیم شدت نور میکروسکوپ است و مقدار نوری را که از نمونه عبور می‌کند عبور می‌کند تنظیم می‌کند.

### منبع نور<sup>۴</sup> :

در زیر میکروسکوپ قرار دارد و پرتوهای نوری را به دیافراگم می‌تاباند.

### پایه<sup>۵</sup> :

تکیه گاه میکروسکوپ است و سنگینی آن را تحمل می‌کند.

---

<sup>۱</sup> - Macrometrique

<sup>۲</sup> - Micrometrique

<sup>۳</sup> - Diaphragme

<sup>۴</sup> - Illumination Source

<sup>۵</sup> - Base

## طرز کار میکروسکوپ

ابتدا میکروسکوپ را طوری روی میز قرار دهید که جای ثابتی داشته باشد و تکان نخورد. حالا باید نمونه را روی صفحه پلاتین قرار دهید. برای این کار صفحه پلاتین را در پایین‌ترین حالت قرار داده و ضعیف‌ترین عدسی شیئی را در امتداد لوله میکروسکوپ قرار دهید و نمونه را در جایگاه خود به کمک گیره‌ها ثابت کنید. حال از عدسی چشمی نگاه کنید و سپس توسط دیافراگم میزان نور را به نحوی تنظیم کنید که نور مناسب شود ولی زیاد و زنده نباشد. مراقب باشید که نور زیاد به چشمتان آسیب نرساند.

پیچ تنظیم را آنقدر بچرخانید تا نمونه را مشاهده کنید. به کمک پیچ‌های تنظیم تصویر را واضح کنید. در صورتی که بخواهید بزرگنمایی بیشتر شود عدسی شیئی را بچرخانید و عدسی قوی‌تر را در امتداد عدسی چشمی قرار دهید و مجدداً میکروسکوپ را تنظیم کنید.

توجه کنید که هیچ‌گاه نباید عدسی شیئی با نمونه میکروسکوپی تماس پیدا کند. برای مشاهده اجسام در زیر میکروسکوپ نیز همیشه از ضعیف‌ترین عدسی شروع نمایید و به سمت عدسی‌های قوی‌تر بروید.

فصل سوم

ایمونی در آزمایشگاه های

میکروپ شناسی

## ایمنی در حین انجام آزمایش‌های میکروب شناسی (میکروبیولوژی)

انجام هر آزمایشی تابع قوانین و شرایطی است که به ایمنی شما و حفظ محیط کمک می‌کند. آزمایش‌های این کتاب جز رایج‌ترین آزمایش‌هایی هستند که برای دانش آموز طراحی شده و اجرا می‌شوند. با آنکه در طول این کتاب تمامی موارد برای ایمنی دانش آموز و معلم اندیشیده شده است اما نیاز است به بهانه کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی پاره‌ای از قوانین و مقررات حضور در آزمایشگاه را تمرین کنید. این تجربه می‌تواند مقدمه‌ای برای حضور شما در آزمایشگاه‌های تخصصی و دانشگاهی باشد. بنابراین قوانین ذکر شده را جدی گرفته و به خوبی اجرا نمایید.

برای انجام آزمایش‌های زیستی باید به نکات ایمنی که معمولاً با عنوان "دستورالعمل ایمنی در آزمایشگاه" مشخص می‌شوند توجه نمایید. بخشی از این اصول و قواعد مربوط به ایمنی فرد آزمایش‌کننده بوده و برخی نیز به ایمنی محیط و ابزار آزمایشگاه مربوط است. قطعاً اصول کار در آزمایشگاه مدارس به صورت کتابچه‌های راهنما در آزمایشگاه مدرسه شما وجود دارد. علاوه بر این کتابچه‌ها، گاهی قوانین مهم‌تر که باید به آنها تأکید بیشتری شود به صورت پوستر یا تابلو به دیوار آزمایشگاه نصب می‌گردد. از آنجا که موضوع کتاب حاضر میکروب‌ها هستند لذا لازم است در ابتدا با نکات ایمنی کار با مواد و لوازم به کار رفته در آزمایش‌های این کتاب آشنا شوید.

به نکات زیر توجه کنید:

۱- هنگام ورود، کیف، کتاب و کلیه لوازم غیر ضروری خود را در محل تعیین شده

قرار دهید. توجه نمایید که نباید لوازم شخصی خود را روی میز آزمایشگاه بگذارید.

- ۲- هنگام ورود و قبل از خروج از آزمایشگاه، دست‌هایتان را با صابون شسته و با دستمال کاغذی خشک کنید.
- ۳- در هنگام کار در آزمایشگاه حتما از روپوش آزمایشگاه و دستکش استفاده کنید.
- ۴- قبل از خروج از آزمایشگاه روپوش را در آورید و هرگز با روپوش از محیط آزمایشگاه خارج نشوید.
- ۵- از خوردن و آشامیدن در محیط آزمایشگاه خود داری ننماید.
- ۶- پیش از آغاز و پس از پایان آزمایش سطح میز را با محلول ضدعفونی کننده مناسب ضدعفونی کنید.
- ۷- هرگز محیط‌های کشت، وسایل و به ویژه کشت‌های انجام شده را از محیط خارج نکنید.
- ۸- در طی انجام آزمایش درها و پنجره‌ها را بسته نگه دارید.
- ۹- اگر به هنگام انجام یک آزمایش بریدگی یا سوختگی اتفاق افتاد حتما به معلم خود اطلاع دهید.
- ۱۰- گاهی برای برداشتن مواد مایع لازم است از ابزاری استفاده کنید که مکنده هستند. برای بالا کشیدن مایع مورد نظر هرگز از دهان خود استفاده نکنید (محلول‌ها را با pipette و به کمک ابزارهای مخصوص بالا بکشید)
- ۱۱- ممکن است به هنگام کار با ابزار شیشه‌ای شکستگی و در نتیجه بیرون ریزی محلول‌ها اتفاق بیفتد. در این صورت به سرعت به معلم خود اطلاع دهید.
- ۱۲- برای نامگذاری کشت‌های میکروبی از برچسب استفاده کنید.



۱۳- در محیط آزمایشگاه آهسته صحبت کنید و از حرکت غیرضروری خودداری نمایید.

۱۴- پس از اتمام هر جلسه آزمایشگاه تمامی کشت‌ها و مواد را در محل یا ظرف مخصوص قرار دهید.

۱۵- وسایلی که در طول آزمایش از آنها استفاده کرده اید باید به دقت ضدعفونی شوند. بعضی از این وسایل با شعله یا حرارت و بعضی به کمک محلول‌های ضدعفونی کننده، ضدعفونی می‌شوند. انتخاب روش مناسب به عهده معلم شماست.

توجه: آزمایش‌های این کتاب ساده و بی‌خطر است. استفاده از هود لامینار ضروری نیست. اما برای اینکه نتیجه بهتری بگیرید بهتر است کلیه آزمایش‌ها را در کنار شعله انجام دهید. معلم شما آموزش‌های لازم را به شما ارائه خواهد نمود.

## فصل چهارم

### مطالعه میکروارگانیسم ها

همانگونه که ذکر شد میکروارگانیسم‌ها موجودات بسیار ریزی هستند که برای مطالعه آنها باید از میکروسکوپ استفاده کرد. این موجودات کوچک بسیار متنوع بوده و هر کدام نقشی در طبیعت به عهده دارند. از آنجا که باکتری‌ها و مخمرها از مهمترین جاندارانی هستند که در زیست فناوری به خدمت گرفته می‌شوند لذا در این فصل صرفاً به مطالعه این دو گروه می‌پردازیم.

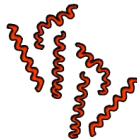
## طبقه بندی باکتری‌ها

برای طبقه بندی باکتری‌ها معمولاً دو معیار مد نظر قرار می‌گیرد.

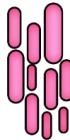
۱. شکل باکتری
۲. روش تامین انرژی باکتری

## ۱- انواع باکتری‌ها از نظر شکل

باکتری‌ها به علت داشتن دیواره سلولی شکل مشخصی دارند و از این نظر به سه دسته زیر تقسیم می‌شوند:



اسپریل

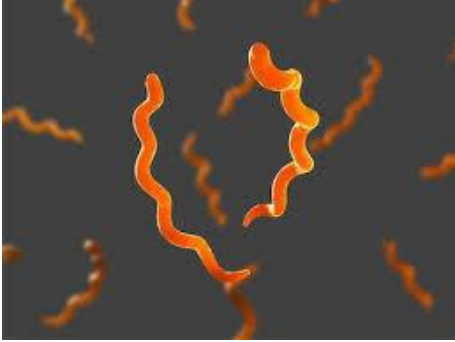


باسیل



کوکسی

## الف) باکتری اسپریل<sup>۱</sup>

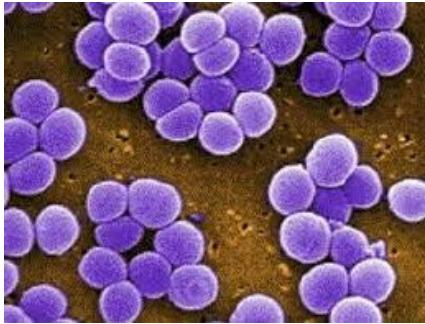


باکتری اسپریل

اسپریل ها زیر میکروسکوپ به شکل مارپیچی ، ویرگول، U شکل یا فنر مانند دیده می شوند.

## ب) باکتری کوکسی<sup>۲</sup>

کوکسی ها باکتری های کروی شکلی هستند که می توانند دوتا دوتا، خوشه ای ، زنجیره ای یا منفرد قرار بگیرند.



---

<sup>۱</sup> - Spirilla

<sup>۲</sup> - Cocci

## باکتری باسیل<sup>۱</sup>



باسیل ها به شکل میله ای هستند که اغلب به صورت منفرد وجود دارند اما گاهی به صورت زنجیره در می آیند.

### نمرین کنبدا



معلم شما سه اسلاید آماده از باکتری هایی که معرفی شدند را در اختیارتان قرار می دهد. آیا می توانید تشخیص دهید هر کدام به چه گروهی تعلق دارند؟

<sup>۱</sup> - Bacilli

## ۲- انواع باکتری‌ها بر اساس روش تامین انرژی:

باکتری‌ها بر اساس شیوه‌ای که انرژی مورد نیازشان را تامین می‌کنند به دو دسته زیر تقسیم می‌شوند:

الف) باکتری‌های اتوتروف

ب) باکتری‌های هتروتروف

در مورد نحوه به دست آوردن انرژی در میکروارگانیسم‌ها پیشتر توضیح داده شد. باکتری‌های اتوتروف باکتری‌هایی هستند که می‌توانند مواد آلی مورد نیازشان را از مواد معدنی ساده‌ای که در طبیعت وجود دارد، بسازند. مثلاً به کمک نور خورشید فتوسنتز می‌کنند. اما باکتری‌های هتروتروف برای تامین مواد آلی مورد نیازشان از غذایی که جانداران دیگر می‌سازند، استفاده می‌کنند. مثل باکتری‌های بیماری‌زا.

## تکنیک‌های مورد نیاز جهت مطالعه باکتری‌ها

برای مطالعه باکتری‌ها ضمن آنکه باید شرایط ایمنی را به خوبی رعایت کنید و ابزار مطالعه آنها را بشناسید لازم است با تکنیک‌های مطالعه آنها نیز آشنا شوید. در خصوص ایمنی در آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی و همین‌طور در خصوص لوازمی که در این حوزه بیشتر کاربرد دارد پیشتر صحبت شد. در ادامه با بعضی از تکنیک‌های مورد نیاز جهت مطالعه باکتری‌ها آشنایی پیدا خواهید کرد.

همان‌گونه که می‌دانید باکتری‌ها در اکثر مکان‌ها حضور دارند. در هوا، آب، خاک و حتی داخل و روی بدن شما. اما برای مطالعه و بررسی آنها لازم است آنها را تکثیر

کرد. کشت باکتری‌ها بر روی محیط‌های کشت یک راه برای تکثیر و سپس شناسایی و تمایز باکتری هاست.

## الف) کشت باکتری بر روی محیط نوترینت آگار<sup>۱</sup>

به منظور جداسازی انواع میکروارگانیسم‌ها از یکدیگر و یا افزایش تعداد یک نوع میکروارگانیسم از کشت میکروب استفاده می‌شود. همانگونه که قبلاً ذکر شد محیط کشت ماده‌ای است که غذا و شرایط مناسب رشد را برای باکتری‌ها مهیا می‌کند. یکی از محیط‌های کشتی که به فراوانی در آزمایشگاه‌های میکروب شناسی به کار می‌رود محیط کشت نوترینت آگار است. برای ساخت این محیط کشت از مقداری نمک، آب گوشت و آگار استفاده می‌شود. آگار چیزی شبیه ژلاتین است که پس از حل شدن منعقد شده و سفت می‌شود. بنابراین محیط کشت نوترینت آگار محیط کشتی جامد است.

---

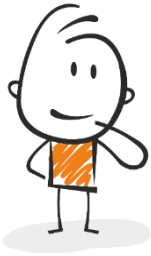
<sup>۱</sup> - Nutrient agar

فرض کنید می‌خواهید بدانید روی سطح میز آزمایشگاه شما چه میکروب‌هایی وجود دارند. برای این کار باید از سطح میز نمونه برداری کنید. ابتدا یک سوآپ را به سطح میز بکشید. سپس یک پلیت حاوی محیط کشت نوترین آگار بردارید و سوآب را به صورت زیگزاگ بر روی آن بکشید. با این کار شما باکتری‌ها و قارچ‌هایی که روی میز وجود داشته‌اند به محیط کشت انتقال داده‌اید. محیط کشت غذا و مواد لازم را در اختیار این میکروارگانیسم‌ها قرار داده و شرایط برای رشد و تکثیر آنها فراهم می‌شود.

این میکروارگانیسم‌ها برای رشد علاوه بر مواد غذایی که در محیط کشت وجود دارد به گرمای کافی نیز نیازمندند. بهتر است پلیت را در جای گرم قرار دهید یا از انکوباتور استفاده نمایید. (به فصل دوم مراجعه کنید)

در آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی روش کشت میکروب متنوع است و هر محقق متناسب با نوع تحقیق خود یکی را انتخاب می‌کند. تصویر زیر را مشاهده کنید. یکی از روشهای کشت میکروب در آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی ترسیم شده است. آن را تفسیر کنید.

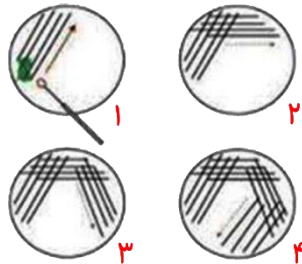
**نمرین کنیدا**







انتقال میکروب‌های سطح میز به محیط کشت



روش کشت باکتری به شیوه خطی؛ در این روش پس از استریل کردن لوپ روی شعله، سر لوپ را به محلول محتوی باکتری وارد کرده و به صورتی که در شکل مشاهده می‌کنید روی محیط کشت می‌کشند.

## ب) تهیه یک گسترش میکروسکوپی

در مطالعاتی زیستی مشاهده باکتری‌ها بسیار باارزش است. در بسیاری از مواقع اندازه و شکل باکتری مشخص کننده نوع آن است. بعضی از باکتری‌ها به دور خود پوششی دارند به اسم کپسول که می‌تواند در بیماری‌زایی آنها موثر باشد. بنابراین لازم است به کمک تکنیک‌هایی آنها را مشاهده کرد. تهیه "گسترش میکروبی" یعنی ثابت کردن باکتری‌ها بر روی لام و آماده سازی آنها جهت مشاهده.

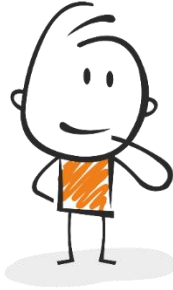
### ب-۱) تهیه گسترش برای مشاهده میکروب زنده

به کمک یک قطره چکان از داخل محیط کشت مایع یا هر مایعی که احتمال وجود میکروب‌ها در آن است (مثلا آب زیر گلدان) یک قطره خارج و بر روی لام قرار دهید. لامل را روی این قطره قرار داده و زیر میکروسکوپ مطالعه کنید.



ب-۱) تهیه گسترش برای مشاهده میکروب زنده

### نمرین گنبد



طبق شکل، از آب زیر گلدان یک قطره بردارید و در زیر میکروسکوپ مطالعه کنید. آنچه را می‌بینید رسم کنید.

## ب-۲) تهیه گسترش برای مطالعه نمونه غیرزنده

مرحله اول) انتقال باکتری بر روی لام

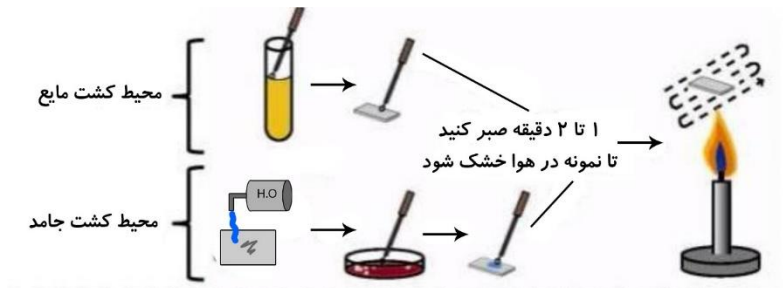
ابتدا لام را با الکل و دستمال تمیز کنید و به کمک لوپ یک قطره از محیط کشت مایع یا جامد که باکتری در آن رشد کرده را بر روی لام قرار داده و به صورت لایه‌ای نازک پخش نمایید. این لایه باید نازک باشد تا نور به خوبی از آن عبور کند. اگر محیط کشت شما مایع بوده باشد به راحتی می‌توانید آن را پخش نمایید. اما اگر از محیط کشت جامد استفاده کرده اید ابتدا یک قطره آب روی لام قرار دهید تا بتوانید این محیط کشت را که حاوی میکروب‌های مورد نظر است به راحتی پخش نمایید. بهتر است هم قبل و هم بعد از انتقال محیط کشت لوپ را در شعله قرار دهید تا ضدعفونی شود.

## مرحله دوم) خشک کردن

۱ تا ۲ دقیقه فرصت دهید تا نمونه خشک شود.

## مرحله سوم) ثابت کردن

فیکس کردن یا ثابت کردن یعنی انجام اموری که کمک می‌کنند باکتری‌ها به سطح لام بچسبند و موقع رنگ آمیزی از سطح شسته نشوند. ساده‌ترین راه برای ثابت کردن این است که پشت لام سه مرتبه از روی شعله عبور داده شود. این حرارت نباید خیلی کم و یا سوزاننده باشد زیرا در صورت کم بودن حرارت نمونه ثابت نمی‌شود و در صورت زیاد بودن حرارت شکل باکتری تغییر می‌کند.



تهیه گسترش برای مطالعه نمونه غیرزنده

مرحله چهارم) رنگ آمیزی: در این مرحله به شیوه‌ای که در ادامه توضیح داده می‌شود شرایط مناسب تری برای مشاهده و مطالعه میکروسکوپی ایجاد می‌شود. به کمک رنگ آمیزی اجزای سلولی یا میکروب‌ها بر اساس ویژگی‌های خود رنگ می‌گیرند و به راحتی در زیر میکروسکوپ قابل مشاهده خواهند بود.

## ج) رنگ آمیزی در مشاهدات میکروسکوپی

میکروب‌های زنده را می‌توان بدون رنگ آمیزی در زیر میکروسکوپ مشاهده کرد. اما به دلیل عدم تضاد کافی با محیط بخوبی دیده نمی‌شوند. در اثر رنگ آمیزی بین میکروب‌ها و محیط اطراف آنها تضاد رنگی حاصل می‌شود و میکروب‌ها به راحتی مشاهده می‌شوند. اجزای تشکیل دهنده رنگها دارای بارهای مثبت و منفی هستند که بر اساس این بارها به بخش‌های مختلف سلول یا میکروب می‌چسبند.

خلاصه آنکه رنگ آمیزی تکنیکی است که کمک می‌کند اجزای سلول، میکروب، بافت و... به کمک رنگ‌های مختلف از هم تفکیک شوند. شیوه‌های مختلفی برای رنگ آمیزی وجود دارد که در این بخش دو روش از رنگ آمیزی توضیح داده می‌شود.

### ج-۱) رنگ آمیزی ساده

در این نوع رنگ آمیزی از یک نوع رنگ استفاده می‌شود. مثلاً متیلن بلو غالباً برای رنگ آمیزی ساده باکتری‌های فیکس شده به کار می‌رود و آنها را به رنگ آبی در می‌آورد.

با توجه به تصاویر زیر مراحل ذکر شده جهت رنگ آمیزی را انجام دهید.

۱- ابتدا به کمک یک لوپ از کلنی باکتری های موجود یک گسترش تهیه نمایید. منظور از "کلنی باکتری های موجود"، باکتری های تجاری است که محققین برای آزمایش های خود خریداری می کنند و معمولاً بعضی از انواع آنها در آزمایشگاه های میکروب شناسی وجود دارند. اجازه دهید تا گسترش مذکور در مجاورت هوا خشک شود. گسترش خشک شده را با عبور دادن لام طی ۲ تا ۳ بار از میان شعله، فیکس نمایید. با این کار باکتری ها محکم به سطح لام می چسبند. چسبیدن باکتری به لام به دلیل انعقاد قسمتی از پروتئین های باکتریایی است که از شسته شدن گسترش در حین رنگ آمیزی جلوگیری می کند.

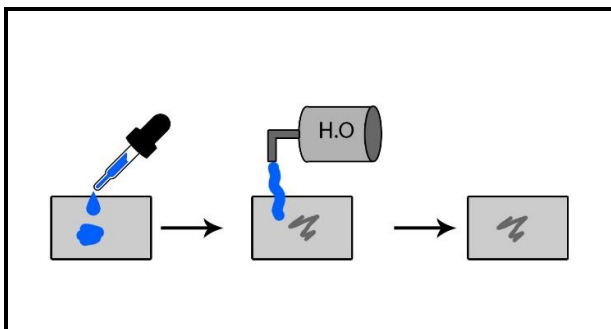
۲- چند قطره از محلول رنگی آبی متیلن را روی گسترش میکروبی ریخته و پس از دو دقیقه آن را با آب مقطر بشوید.

۳- اجازه دهید تا لام در مجاورت هوا خشک شود.

۴- حالا آن را در زیر میکروسکوپ مشاهده کنید.

## نمبر بن کنیدا





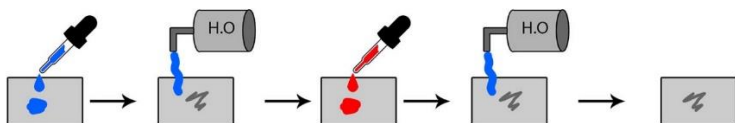
رنگ آمیزی ساده

## ج-۲) رنگ آمیزی گرم

در این روش ، میکروارگانیسم‌ها بر اساس تفاوت در دیواره سلولی خود به دو گروه گرم مثبت و گرم منفی ، تقسیم می‌شوند. در این روش ، رنگ اصلی یعنی رنگ پایه کریستال ویوله است که با اجزایی از دیواره سلولی که بار منفی دارند واکنش می‌کند. بعد از آن که ، رنگ اضافی آن با آب شسته می‌شود، سلول‌ها در معرض محلول پتاسیم ید (لوگول) قرار می‌گیرند. ید با کریستال ویوله تشکیل کمپلکس غیرمحلول ویوله-ید را می‌دهد و به شدت به دیواره سلولی باکتری‌ها اتصال می‌یابد. سپس ، سلول‌ها را با الکل شسته تا کمپلکس ویوله-ید از سلول خارج گردد . در این مرحله سلول‌های گرم منفی با افزودن الکل ، رنگ خود را از دست می‌دهند ، در صورتی که ، سلول‌های گرم مثبت بی‌رنگ نمی‌شوند. در اینجا پس از اینکه اضافه رنگ با آب شسته شد سلول‌ها را با رنگ دیگری به نام سافرانین(فوشین) رنگ آمیزی می‌کنند. در این روش رنگ آمیزی، سلول‌های گرم مثبت به رنگ آبی - بنفش و سلول‌های گرم منفی به رنگ صورتی - قرمز مشاهده می‌شوند.

با توجه به تصویر زیر مراحل ذکر شده جهت رنگ آمیزی را انجام دهید.

نمونه کنید



پس از خشک شدن نمونه را فیکس کرده و زیر میکروسکوپ مطالعه کنید

### رنگ آمیزی گرم

۱- رنگ کریستال ویوله را به مدت ۳۰ تا ۴۵ ثانیه بر روی گسترشی از باکتری مورد نظر بریزید. در نتیجه همه باکتری‌ها به رنگ بنفش در خواهند آمد.

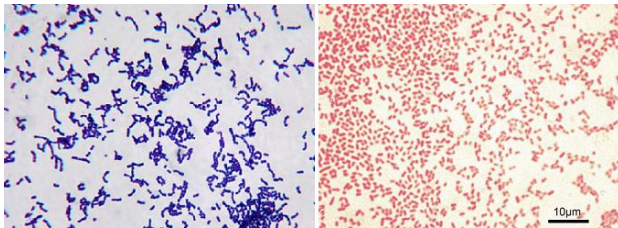
۲- حالا با آب رنگ اضافه را بشوید سپس بر روی نمونه ۳۰ تا ۴۵ ثانیه لوگل بریزید.

۳- در این مرحله پس از شستشوی لام با آب به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه، بر روی نمونه الکل بریزید و سپس با آب شستشو دهید. در نتیجه پس از این مرحله باکتریهای گرم منفی بی‌رنگ ولی باکتریهای گرم مثبت بنفش باقی خواهند ماند.

۴- در انتها سطح گسترش را با سافرانین یا فوشین (قرمز رنگ) به مدت ۳۰ تا ۴۵ ثانیه پیوشانید. سپس نمونه را با آب شستشو داده و پس از خشک شدن با



میکروسکوپ مطالعه نمایید. در این مرحله باکتری‌های بی‌رنگ به رنگ قرمز درمی‌آیند و باکتری‌های بنفش بدون تغییر رنگ باقی می‌مانند.



رنگ آمیزی گرم؛ باکتری‌های گرم منفی به رنگ قرمز و باکتری‌های گرم مثبت به رنگ بنفش دیده می‌شوند.

فصل پنجم

آزمایش ها

## آزمایش ۱

### مشاهده مخمر زیر میکروسکوپ

مُخَمَّرها دسته‌ای از تک سلولی‌ها هستند که در فرمانرو قارچ‌ها قرار گرفته اند. بعضی از انواع مخمرها بیماری‌زا و بعضی مفید هستند. مثلاً کاندیدا آلبیکانس<sup>۱</sup> مخمری بیماری‌زا است که می‌تواند بیماری‌هایی را در دهان، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی ایجاد نماید. ساکارومایسس سرویزیه<sup>۲</sup> مخمر دیگری است که در صنعت بسیار کاربرد داشته و در زندگی روزمره ما نیز جایگاه ویژه‌ای دارد. شما با این قارچ، تحت عنوان "مخمر نان" در کتاب‌های علوم آشنا شده اید.

#### هدف از انجام آزمایش:

- آشنایی دانش آموزان با مخمر به عنوان میکروبی ساده و مفید در صنعت و زندگی انسان‌ها

- تمرین کار با میکروسکوپ به عنوان مهمترین ابزار در مطالعات میکروبی

وسایل مورد نیاز:

۱- یک قاشق مخمر

۲- قطره چکان

۳- لام و لامل

---

<sup>۱</sup> - *Candida albicans*

<sup>۲</sup> - *Saccharomyces cerevisiae*

۴- بشر یا ارلن

۵- آب ولرم (حدود ۳۵ درجه)

۶- شکر

۷- متیلن بلو

۸- میکروسکوپ

شرح آزمایش:

یک قاشق غذاخوری پودر مخمر را داخل یک شیشه درب دار ریخته و مقداری شکر و آب ولرم به آن اضافه کنید و هم بزنید. سپس در آن را بسته و در دمای اتاق (حدود ۱۷ تا ۲۵ درجه سانتیگراد) قرار دهید. پس از مدتی تعدادی حباب روی سطح شیشه ایجاد می‌شود. این حباب‌ها دی اکسید کربن هستند که در اثر تخمیر ایجاد شده اند. با یک قطره چکان یک قطره از این سوسپانسیون<sup>۱</sup> را بردارید و روی لام بگذارید. سپس یک قطره آبی متیلن روی آن بریزید. چند دقیقه صبر کنید. حالا لام را زیر میکروسکوپ بگذارید و مخمرها را که در حال جوانه زدن و تکثیر هستند مشاهده کنید.

شکلی از چیزی که مشاهده می‌کنید رسم کنید. آیا می‌توانید روش تکثیر مخمرها را با توجه به مشاهدات خود توضیح دهید؟



۱ - سوسپانسیون مخلوط غیرهمگنی است که از پخش شدن ذرات جامد در مایع ایجاد می‌شود.

## آزمایش ۲

### مشاهده میکروب‌های موجود در ماست

میکروب‌های زنده‌ای که در ماست یافت می‌شوند، برای بدن انسان بسیار مفید هستند. مثلاً این میکروب‌ها به هضم غذا کمک کرده و ترکیبات مفیدی نظیر ویتامین‌های گروه B را در بدن آزاد می‌کنند. به علت تاثیر آنزیم باکتری‌های ماست بر روی پروتئین‌های شیر، قابلیت هضم پروتئین‌های ماست بیشتر و آسان‌تر از شیر است. همچنین این میکروب‌ها می‌توانند بخشی از ترکیبات مضر را که به وسیله‌ی دیگر باکتری‌های دستگاه گوارش تولید می‌شوند، خنثی کنند.

هدف از انجام این آزمایش:

دانش آموز با دیدن میکروب‌های ماست، ماست را به عنوان محصولی تخمیری از

فعالیت میکروب‌ها بشناسد.

وسایل مورد نیاز:

یک قاشق ماست معمولی

آب

متیلن بلو

لام و لامل

میکروسکوپ

## شرح آزمایش:

ابتدا یک قاشق از ماست را داخل یک بشر بریزید و به آن کمی آب اضافه کنید تا رقیق شود. سپس یک قطره متیلن بلو به آن اضافه کرده و خوب هم بزنید. حالا یک قطره از این مایع را روی لام قرارداده و لامل را روی آن بگذارید. به کمک یک کاغذ خشک کن یا دستمال کاغذی، اطراف لام را تمیز کرده و مایع اضافه را پاک نمایید. حالا نمونه را زیر میکروسکوپ گذاشته و باکتری‌ها را مشاهده کنید.



باکتری‌های موجود در ماست چه شکلی هستند؟  
آیا می‌توانید آزمایشی طراحی کنید که بتوان به کمک آن  
ماست پروبیوتیک را از ماست معمولی تشخیص داد؟

## آزمایش ۳

### بررسی فلور میکروبی بدن

همان گونه که گفته شد داخل و روی بدن ما میکروب‌های زیادی به صورت همزیست وجود دارد. شما می‌توانید این میکروب‌ها را رشد دهید و بررسی نمایید.

#### وسایل مورد نیاز:

سواب استریل

آب مقطر

محیط کشت نوترینت آگار

سواب را به داخل گونه خود بکشید. سپس آن را به شیوه‌ای که قبلاً توضیح داده شده روی محیط کشت بکشید.

یک پلیت دیگر بردارید. انگشت خود را بر روی محیط کشت بکشید.

سواب دیگری را به آرامی وارد گوش کرده و سپس روی یک محیط کشت به صورت زیگزاگی بکشید.

یک سواب را به سطح پوست دست خود بکشید و سپس آن را بر روی محیط کشت بکشید.

در تمام مراحل سواب باید استریل باشد تا فقط میکروب‌های بدن شما انتقال داده شوند نه میکروب‌های محیط.

پلیت‌ها را به خوبی ببندید و دور آن را پارافیلیم بکشید. بهتر است نمونه‌ها را در جای گرم قرار دهید. بعد از ۳ روز آنها را بررسی کنید.

کمی فکر کنید!



اگر در محیط کار خود انکوباتور دارید می‌توانید پلیت‌ها را داخل انکوباتور قرار دهید. به نظر شما دمای انکوباتور باید روی چه عددی تنظیم گردد؟



## آزمایش ۴

### مشاهده باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن

قبلا با نقش باکتری‌های تثبیت کننده در طبیعت و همین طور اهمیت آن در زیست فناوری آشنا شدید. بنابراین شاید برایتان جالب باشد تا این باکتری‌ها را مشاهده کنید. برای اینکه این باکتری‌ها را ببینید باید آنها را رنگ آمیزی کنید. برای رنگ آمیزی سلول‌ها و میکروارگانیسم‌ها و مشاهده آنها به کمک میکروسکوپ از رنگ‌های مخصوصی استفاده می‌شود. هر یک از این رنگ‌ها یک قسمت از سلول را رنگ آمیزی می‌کنند. تنوع رنگ‌ها باعث می‌شود اجزای مختلف با رنگ‌های متفاوتی در زیر میکروسکوپ دیده شوند بنابراین مطالعه آنها راحت‌تر خواهد بود. مثلا "کریستال ویوله" دیواره سلول‌ها را به رنگ بنفش در می‌آورد.

#### مواد و وسایل مورد نیاز:

- |                   |                       |
|-------------------|-----------------------|
| ۱- ریشه دارای گره | ۲- کریستال ویوله      |
| ۳- فوشین          | ۴- چراغ گاز           |
| ۵- آبفشان         | ۶- هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ |
| ۷- لام و لامل     | ۸- کاغذ خشک کن        |
| ۹- لوگول          | ۱۰- میکروسکوپ         |

## روش کار:

۱. ابتدا گیاهانی از خانواده یونجه و عدس و ماش و... تهیه کنید و ریشه آنها را جدا نمایید.
۲. ریشه‌ها را چند بار با آب مقطر بشویید. سپس با کمک یک پنس و قیچی گره‌های صورتی رنگ و سالم را جدا کنید. گره‌ها را به مدت ۳۰ ثانیه در وایتکس ۱۰٪ قرار دهید. معمولاً در چنین آزمایش‌هایی از کلرید جیوه استفاده می‌شود، اما این ماده برای آزمایش‌های دانش آموزی خطرناک است. بنابراین بهتر است از هیپوکلریت سدیم (آب ژاول یا وایتکس) استفاده نمایید که نوعی ضدعفونی کننده در حد متوسط است.
۳. محل گره‌ها را فشار دهید. عصاره‌ای که از گره‌ها خارج می‌شود حاوی سلول‌های له شده گیاهی و همین‌طور باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن است.
۴. این شیر را روی لام پخش کنید. کمی صبر کنید تا لام‌ها خشک شوند. سپس سه بار لام را از روی شعله چراغ الکلی یا بونزن رد کنید. به این ترتیب باکتری‌ها در اثر حرارت می‌میرند و به سطح لام می‌چسبند.

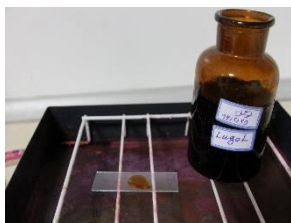


شکل ۱-۲- گره‌های ریشه گیاه باقلا



شکل ۱-۱- ریشه گیاه باقلا

۱. روی لام محلول کریستال ویوله بریزید. این محلول باید تمام سطح نمونه را بپوشاند. سپس یک دقیقه صبر کنید.
۲. با آبفشان روی نمونه آب بریزید تا رنگ‌های اضافه شسته شوند.
۳. حالا محلول لوگول را روی آن بریزید. یک دقیقه صبر کنید.
۴. اضافه رنگ را به کمک آبفشان بشویید.
۵. لام را کج کنید و روی آن اتانول ۹۵٪ بریزید. حدود ۲۰ ثانیه طول می‌کشد تا رنگ‌های اضافه شسته شوند. این مرحله بسیار حساس است. اگر مدت بیشتری الکل روی نمونه بماند رنگ آمیزی در مراحل بعد با اشکال مواجه می‌شود.
۶. چند قطره فوشین روی نمونه بریزید و یک دقیقه صبر کنید.
۷. با آبفشان رنگ اضافه را بشویید.
۸. کمی صبر کنید تا لام خشک شود. می‌توانید از دستمال کاغذی هم استفاده کنید. حالا نمونه را زیر میکروسکوپ قرار دهید و مشاهده کنید.



شکل ۱-۴- افزودن  
محلول لوگول به نمونه



شکل ۱-۳- افزودن  
کریستال ویوله به



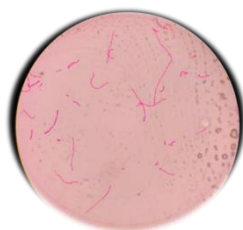
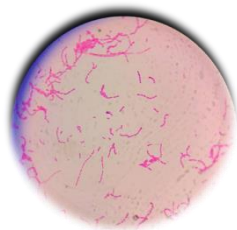
شکل ۱-۶- افزودن  
محلول فوشین به نمونه



شکل ۱-۵- افزودن الکل  
به نمونه

همان طور که قبلا گفته شد از نظر ظاهری باکتری‌ها شکل‌های مختلفی دارند.

بعضی زیر میکروسکوپ ماریپیچی، بعضی کروی و بعضی میله‌ای به نظر می‌رسند.



شکل ۱-۷- باکتری‌های میله‌ای گره‌های ریشه باقلا زیر میکروسکوپ

کشاورزان در فواصل کشت های مزرعه خود ترجیح می‌دهند گیاهان خانواده حبوبات مانند نخود و لوبیا و..... را در زمین کشاورزی خود بکارند. فکر می‌کنید علت آن چیست؟

الف: باکتری های تثبیت کننده زیر میکروسکوپ به چه شکلی دیده می‌شوند؟  
ب: آنها را به چه رنگی مشاهده می‌کنید؟

در فصل اول با کودهای زیستی آشنا شدید. از نظر شما کودهای زیستی چه مزایایی دارند؟ این کودها را با کودهای شیمیایی مقایسه کنید.



کود شیمیایی	کود زیستی

## آزمایش ۵

### عصاره‌های ضد میکروب

آنتی بیوتیک ماده‌ای است که توسط یک موجود زنده مثل قارچ، باکتری، جلبک و حتی گیاهان عالی تولید می‌شود. این ماده می‌تواند از رشد بعضی از میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کند یا باعث مرگ آنها شود. به همین دلیل به آن آنتی بیوتیک (antibiotic) یعنی "ضدحیات" می‌گویند.

عصاره بسیاری از گیاهان خاصیت ضد میکروبی دارد. حتما شما هم بعضی از آنها را می‌شناسید. عصاره‌های گیاهی در طب سنتی ایران جایگاه خاصی دارند. کمی فکر کنید. فکر می‌کنید چرا در اماکن شلوغ اسپند دود می‌کنند؟

آزمایش زیر را انجام دهید تا با خواص ضد میکروبی بعضی از گیاهان بیشتر آشنا شوید.

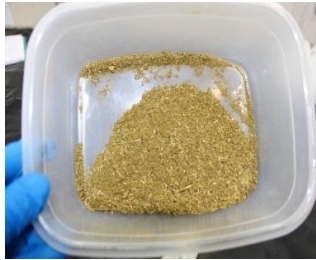
#### مواد و وسایل مورد نیاز:

۱- ترازو      ۲- دانه اسپند      ۳- سیر      ۴- محیط کشت آلوده به باکتری

۵- آب مقطر استریل      ۶- صفحات کاغذ صافی

#### روش کار:

۱. اسپند را بکوبید و پودر کنید.



شکل ۱-۱۳- پودر کردن نمونه گیاهی

۲. یک قاشق اسپند پودر شده را داخل یک استکان آب جوش بریزید.
۳. نیم ساعت این مخلوط را روی حرارت بخار آب نگاه دارید. این مخلوط باید مثل چایی دم بکشد.



شکل ۱-۱۴- حرارت دادن پودر گیاهی

۴. سپس مخلوط را از کاغذ صافی عبور دهید.



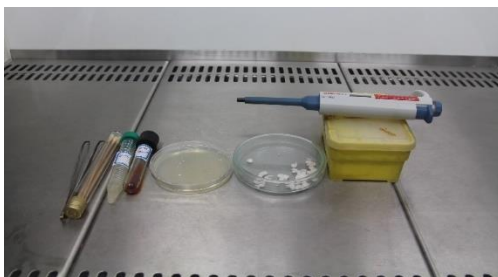
شکل ۱-۱۵- صاف کردن محلول

۵. یک بوته سیر را پوست بکنید و رنده کنید. تفاله سیر را به کمک صافی جدا کنید.
۶. تکه‌ای از کاغذ صافی را به شکل دایره‌هایی به قطر ۷ تا ۱۳ میلی متر ببرید.
۷. حالا تعدادی از این کاغذ صافی‌های گرد را به محلول اسپند و تعداد دیگری را به عصاره سیر آغشته کنید. تعدادی را هم با آب مقطر آغشته کنید. درواقع شما سه گروه کاغذ صافی خواهید داشت. گروه اول آغشته به عصاره سیر، گروه دوم آغشته به عصاره اسپند و گروه سوم آغشته به آب مقطر.
۸. این صافی‌های دایره شکل که به عصاره‌ها آغشته شده اند را روی محیط کشت آلوده به میکروب قرار دهید. برای تهیه محیط‌های کشت آلوده به میکروب به این ترتیب عمل کنید:

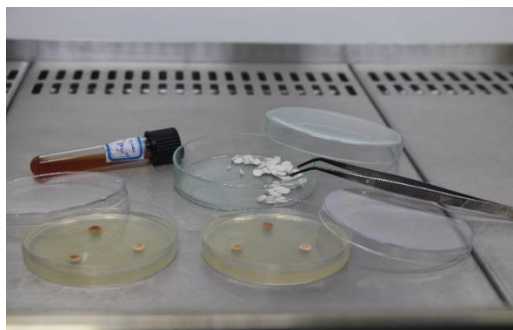
-الف: یک سواب را به سطح میز آزمایشگاه بکشید. سواب وسیله‌ای شبیه گوش پاک کن است که محققان از آن برای انتقال میکروب‌ها استفاده می‌کنند. مطمئناً سطح میز پر از میکروب است و وقتی شما سواب را روی آن می‌کشید میکروب‌ها به سواب می‌چسبند.

-ب: در مرحله بعد سواب را به روی محیط کشت بکشید. به این ترتیب شما به میکروب‌ها فرصت می‌دهید تا بر روی محیط کشت که شرایط مساعدی برای رشد و تکثیر آنها فراهم می‌کند رشد کنند. به شکل زیر توجه کنید. سعی کنید سواب را به تمام جهات بکشید.





شکل ۱-۱۶-۱- ابزار مورد نیاز جهت کشت میکروب بر روی محیط کشت  
ج: حالا صافی‌های دایره‌ای شکل که در مرحله ۸ به آن اشاره شد روی این محیط  
قرار دهید.

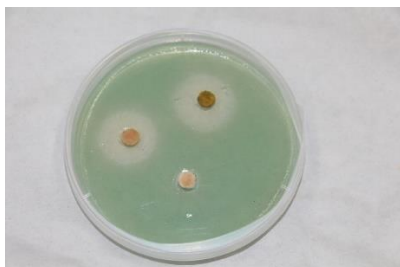


شکل ۱-۱۷-۱- قرار دادن دیسک‌های حاوی عصاره گیاهی بر روی محیط کشت

۹. در ظرف محیط کشت را بسته و آن را در دمای معمولی اتاق قرار دهید.

۱۰. پس از ۲۴ ساعت آن را بررسی کنید. چه می‌بینید؟

می‌توانید به جای اسپند و سیر از نعنای و پیاز و یا عصاره‌های هر گیاهی که در منزل دارید استفاده کنید و اثر ضد میکروبی آنها را با هم مقایسه کنید. ممکن است این عصاره‌ها بعضی از میکروب‌ها را بکشند ولی روی بعضی دیگر موثر نباشند.



شکل ۱-۱۸- ایجاد هاله عدم رشد بر روی محیط کشت در اثر عصاره گیاهی

توجه: برای انجام تست‌های میکروبی، به نکات ایمنی توجه کنید. بهتر است کلیه مراحل فوق را زیر هود میکروبی انجام دهید. بعد از پایان آزمایش روی محیط‌های



کشت آب ژاول ۱۰ درصد بریزید و بگذارید چند ساعتی باقی بماند. سپس پلیت‌ها را داخل نایلون گذاشته و به نزدیکترین مرکز دانشگاهی منطقه خود تحویل دهید. همه این کارها به این دلیل است که اگر میکروبها کاملا از بین نرفته اند موارد کنترلی اعمال شود.

همانطور که در شکل بالا می‌بینید ۳ عدد کاغذ دایره‌ای حاوی عصاره‌های مختلف بر روی یک محیط کشت قرار داده شده است. در اطراف کاغذی که حدود ساعت ۹ قرار دارد یک دایره بزرگ تشکیل شده که اصطلاحاً "هاله عدم رشد" نامیده می‌شود. محققین در حین آزمایشات برای نشان دادن نقاطی بر روی نمونه (بخصوص در محیط کشت و زیر میکروسکوپ) از آدرس دهی به سبک ساعت استفاده می‌کنند. به عبارتی

صفحه محیط کشت یا لام زیر میکروسکوپ را بصورت فرضی در ذهن خود مثل ساعت تقسیم بندی می‌کنند. بنابراین وقتی گفته می‌شود ساعت ۹ منظور همان هاله‌ای است که در موقعیت عدد ۹ قرار گرفته است و در تصویر بالا بزرگترین هاله است. در اطراف کاغذی که در ساعت ۱ قرار دارد نیز هاله عدم رشد مشاهده می‌گردد، البته این هاله کمی از هاله قبلی کوچکتر است. اما اطراف کاغذی که در ساعت ۵ قرار دارد هیچ هاله‌ای مشاهده نمی‌شود یعنی عصاره موجود بر روی این کاغذ اثر ضد باکتریایی نداشته است. بر اساس اندازه هاله‌ی عدم رشدی که اطراف کاغذ حاوی عصاره تشکیل گردیده است، می‌توان میزان اثر ضد باکتریایی عصاره‌ها را با هم مقایسه کرد.

### کمی فکر کنید!



فعالیت: آیا می‌توانید به غیر از شیوه ذکر شده، راه‌های دیگری برای بررسی خواص ضد میکروبی بخش‌های مختلف گیاهان پیشنهاد کنید؟

## حرف پایانی

به کمک آزمایش‌های ساده این کتاب می‌توانید پروژه‌های زیادی انجام دهید. مثلاً در این کتاب شما آموختید که می‌توان میکروب‌ها را از سطوح مختلف جمع‌آوری کرد و آنها را رشد داد. آیا میکروب‌هایی که در خاک‌های آلوده به روغن رشد می‌کنند (مثل خاک کنار تعویض روغنی‌ها و یا پالایشگاه‌ها....) با میکروب‌هایی که در خاک باغچه شما زندگی می‌کنند تفاوت دارند؟ شاید اصلاً هیچ باکتری‌ای نتواند در خاک آلوده به نفت یا روغن رشد کند! چگونه این مسئله را آزمایش می‌کنید؟ آیا اگر در این خاک آلوده میکروبی یافت شد، می‌توان از این میکروب استفاده زیست‌فناورانه نمود؟ آیا می‌توانید خواص ضد میکروبی چای، پیاز و ... را بر روی میکروب‌های موجود در دهان بررسی کنید؟ چگونه؟ آیا این خاصیت می‌تواند ایده‌ای زیست‌فناورانه برای ساخت دهان شویه‌ای گیاهی باشد؟

پیشنهاد می‌کنیم از ایده‌های خود لیستی تهیه نمایید و از معلم خود برای پیشبرد اهدافتان کمک بگیرید. مهم نیست سطح دانش شما برای اجرای ایده تان چقدر است. فراموش نکنید که "ذهن درگیر" همیشه خلاق‌تر از "ذهن خالی" عمل می‌کند! زندگی پر از چیزهایی است که توسط افرادی ساخته یا ابداع شده‌اند که لزوماً باهوشتر از شما نبوده‌اند! شما می‌توانید هر آنچه تا کنون ابداع شده تغییر دهید! شما می‌توانید خودتان فکری نو دراندازید و به "جهان" خدمت کنید.

در این مسیر موفق و پیروز باشید!

کمیته تألیف زیست‌فناوری در مدرسه

## منابع

۱. اعتمادی فرن، دبیریان س، شینی دشتگل پ. (۱۳۸۹). بررسی و مقایسه روشهای نوین و سازگار با محیط زیست استخراج مس از کانسنگ. انسان و محیط زیست، جلد ۸، شماره ۲
۲. بشارتی ح. (۱۳۹۳). پالایش میکروبی خاک‌های آلوده به مواد نفتی. پژوهش‌های خاک، جلد ۲۸، شماره ۳
۳. برومند و همکاران (۱۳۹۳) روشویی میکروبی کانسنگ معدن سرب و روی انگوران به وسیله باکتری‌های مزوفیل. علوم زمین، شماره ۹۷
۴. حق نیا غ. (۱۳۷۶). زیست پالایی شیوه‌ای برای پاکسازی محیط خاک و آب. محیط شناسی، شماره ۲۰
۵. جمشیدی آ. (۱۳۸۰). پروژه‌های زیست شناسی. انتشارات مدرسه، چاپ دوم
۶. جعفری م، غفوری ش. (۱۳۸۷). آزمایش‌های زیست شناسی. انتشارات عصر ماندگار
۷. زابلی ف، ایزدی ر. (۱۳۸۸). آزمایش‌های میکروبی عمومی و مواد غذایی. انتشارات علم کشاورزی ایران، چاپ اول.
۸. کرام الدینی م، شاهسون بهبودی ب، نیکنام و، علوی ا، آل محمد س ع. (۱۳۹۰). زیست شناسی. دفتر برنامه ریزی و تالیف کتاب‌های درسی. چاپ دهم

۹. ملک زاده و همکاران. (۱۳۷۹). بیوتکنولوژی میکروبی. انتشارات دانشگاه تهران،

چاپ اول.

۱۰. Dhir, B. (۲۰۱۳). Phytoremediation: Role of Aquatic Plants in Environmental Clean-Up, Springer India.
۱۱. Kumar A,& hordia N, (۲۰۱۷). Role of Microbes in Human Health Appli Microbiol Open Access , ۳:۲
۱۲. Mader,SS.(۲۰۰۱). Biology:McGraw.Hill Companies.
۱۳. <https://physicsmuseum.uq.edu.au/van-leeuwenhoek-microscope-replica> ۱۳-