

روش های کشت :

از آنجا که گروه های مختلف باکتری ها نیازهای غذایی متفاوتی دارند محیط های کشت متفاوتی طراحی شده اند همه موجودات زنده به یک منبع انرژی یک منبع کربن، نیتروژن، گوگرد، فسفات، چندین یون متابولیکی و آب احتیاج دارند. آنهایی که منبع کربنشان از مواد آلی است در گروه هتروتروف قرار می گیرند و آنهایی که می توانند مستقیماً از دی اکسید کربن موجود در هوای استفاده کنند اتوتروف نامیده می شوند همه باکتریها انرژی خود را از طریق فتوسنتر و یا اکسید اسیون شیمیایی به دست می آورند.

باکتریها معمولاً در محیط کشت تعریف شده شیمیایی و در درون لوله آزمایش و یا پتري کشت داده می شوند برای استحکام بخشیدن به محیط کشت از آگار استفاده می شود. وقتی یک سلول درون محیط کشت درون یک پلیت قرار داده شود شروع به تقسیم می کند پس از آنکه باسیون یک کلونی خواهیم داشت در حالی که قبل از قرار داده شود وجود داشته است.

همپوشانی کلونی ها ناشی از رشد متقاطع کلونی ها در شکل زیر نمایش داده شده است

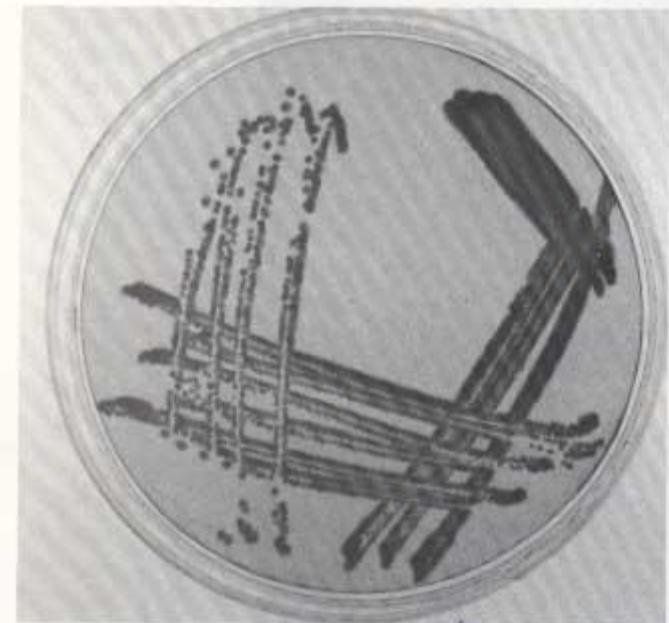
شکل زیر



شکله رشد - شکله میکروب ایران

Bacterial colonies on a petri plate. Bacteria were streaked on the petri plate with an inoculation loop, a metal wire with a looped end, covered with bacteria. Streaks were begun at the upper right and continued around clockwise. With a heavy inoculation on the needle, bacterial growth is confluent. Eventually, only a few bacteria are left that form single colonies at the upper left.

Photo by Robert Tamarin



محیط کشتی که حاوی مینیمم احتیاجات غذای لازم برای رشد باکتری باشد محیط کشت کمینه خوانده می شود (minimal medium)

جدول زیر

Minimal Synthetic Medium for Growing *E. coli*, a Heterotroph

Component	Quantity
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	1 g
Glucose	5 g
NaCl	5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2 g
K_2HPO_4	1 g
H_2O	1,000 ml

باکتریها می توانند در محیطی علاوه بر کمینه نیازها حاوی مواد پیچیده تر که باکتری به طور عادی سنتز می کند رشد کنند این مواد شامل اسیدهای آمینه، ویتامین و ... غیره می باشد یک محیط کشت از این نوع به گونه هایی از باکتری اجازه رشد می دهد که به آن ها *auxotrophs* گویند که نیازهای غذایی پیچیده تری دارند. به گونه وحشی پروتوتروف گفته می شود. برای مثال گونه ای که دارای نقص آنزیمی در مسیر تولید آمینو اسید هیستیدین می باشد در محیط کشت کمینه رشد نخواهد کرد زیرا راهی برای بدست آوردن هیستیدین ندارد هر چند اگر هیستیدین به محیط افزوده شود باکتری می تواند رشد کند به این نوع جهش گفته می شود. باکتری در شرایط معمول می میرد ولی تحت شرایط مناسب *Conditional - lethal mutant* مثلاً حضور هیستیدین می تواند زنده بماند.

این باکتری جهش یافته محتاج به هیستیدین فقط در محیط غنی شده می تواند رشد کند به این محیط *enriched medium* گویند. با وجود این گونه وحشی پروتوتروف می تواند در محیط کمینه رشد کند. محیط های کشت معمولاً بوسیله افزودن مخلوطی پیچیده از مواد آلی از قبیل خون، عصاره گوشت و عصاره مخمر غنی می شود. بسیاری از محیط های کشت با افزودن فقط یک ماده دیگر مانند اسید آمینه و یا ویتامین ساخته می شود. به این محیط کشت محیط کشت انتخابی گفته می شود که موارد استفاده آن بعداً در همین فصل توضیح داده خواهد شد. علاوه بر محیط های کمینه، غنی شده و انتخابی محیط کشت های دیگری برای مقاصد خاصی از قبیل شمارش کلونی ها، نگاه داشتن باکتری ها در فاز ثابت و غیره مورد استفاده قرار می گیرند.

کشت عملی ویروس ها متفاوت از باکتری ها است چون ویروس ها انگل اجباری هستند فقط می توانند

درون سلولهای زنده رشد کنند پس برای کشت باکتریوفاز پلیت های حاوی محیط کشت مناسب به همراه

مقدار کافی باکتری به کار برد می شود باکتری ها در این محیط تشکیل یک پوش پیوسته

را می دهند. این محیط باکتریایی به عنوان محیطی برای رشد ویروس های اضافه شده به *bacterial lawn*

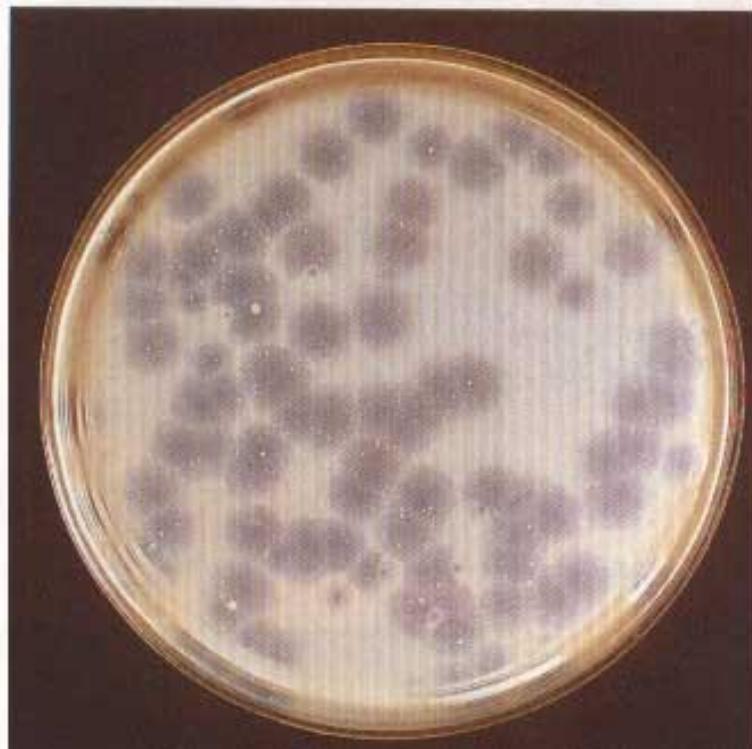
محیط استفاده می شود. چون حمله ویروس به باکتری نهایتاً منجر به پارگی و در نتیجه لیز سلول باکتری می

شود اضافه کردن ویروس منجر به ایجاد لک های واضح بر روی پلیت می شود که به آن *plaques* گویند.

برای تعیین مشخصات رشد گونه های ویروس مختلف مورد مطالعه می توان از گونه های مختلف باکتری در

محیط کشت استفاده نمودار شکل زیر

Small viral plaques (phage λ) on a bacterial lawn of *E. coli*
© Bruce Iverson, BSc



شیوه رشد - شیوه ملی مدارس ایران



Olympiad.roshd.ir