

### قارچ‌ها (کیک‌ها – مخمرها)

هدف‌های رفتاری: در پایان این فصل، فراگیر باید بتواند:

- ۱- کیک‌ها را با توجه به وضعیت ظاهری رشد آن‌ها، مورد شناسایی قرار دهد.
- ۲- مخمرها را با توجه به خصوصیات ظاهری آن‌ها شناسایی کند.

### ۸- قارچ‌ها (کیک‌ها – مخمرها)

#### ۸-۱- مقدمه

همه، رشد قارچ‌هایی را که شبیه پنبه و نمد بوده، در روی مواد غذایی و سایر مواد تولید می‌شوند و معمولاً کیک نام دارند مشاهده کرده‌اند. اگر کیک‌ها با یک ذره بین ساده مورد بررسی قرار گیرند، توده‌ای رشته شاخه شاخه و درهم مشاهده می‌شود که میسلیم<sup>۱</sup> کیک نامیده می‌شوند. اگر یک رشته تنهای میسلیم را که هیف<sup>۲</sup> خوانده می‌شود مورد دقت قرار دهیم، خواهیم دید که دارای ابعادی از حدود ۵ تا ۱۰ بار بزرگ‌تر از سلول باکتری‌های حقیقی<sup>۳</sup> که قبلاً دیدیم، می‌باشد. بیشتر میسلیم‌های یک کیک در داخل و یا در سطح محیط کشت رشد کرده، مواد غذایی لازم را جذب می‌کنند. مخمرها قارچ‌های تک‌سلولی هستند و با کیک‌ها ارتباط نزدیکی دارند. سلول مخمرها، شبیه گوی، تخم مرغی و یا استوانه‌ای بوده، از نظر اندازه چندین بار بزرگتر از سلول باکتری‌های متوسط و تقریباً به اندازه‌ی هیف کیک‌ها می‌باشند. به دلیل بزرگی در داخل سلول مخمرها، تعدادی ساختمان و ضمائم سلولی<sup>۴</sup> وجود دارد که با میکروسکوپ نوری قابل رؤیت‌اند. هسته مخمرها را هم می‌توان با رنگ آمیزی‌های مخصوص

۱- Mycelium

۲- Hypha

۳- Eubacterial

۴- Inclusion

مثل رنگ آمیزی فولکن مشاهده کرد.

## ۸-۲- شناسایی وضعیت ظاهری کپک‌ها

کپک‌ها را از روی اختلاف شکل و نحوه‌ی تولید مثل آن‌ها بررسی و طبقه‌بندی می‌کنند. برای مطالعه کپک‌ها از تفاوت‌های ۱- کلنی کپک‌ها، ۲- میسلیم روینده و جوان، ۳- ساختمان‌های مخصوص تولید مثل چه جنسی و چه غیرجنسی، استفاده می‌کنیم. کلنی‌ها از نظر اندازه، شکل ظاهری و رنگ متفاوت‌اند. برای مثال، قارچ‌های رده اسکومیست یک کلنی مشخص و محدود را تشکیل می‌دهند. در حالی که قارچ‌های رده فیکومیست بعد از رشد در تمام سطح پلیت گسترده شده، در نتیجه شباهتی به کلنی ندارند بلکه بیشتر شبیه یک توده‌ی رشته‌ای نازک هستند که فقط دیواره‌ی پلیت پتری است که گسترش آن‌ها را محدود می‌کند. قارچ پنی سیلیوم<sup>۱</sup> پس از رشد در روی شیر یا پنیر به رنگ آبی متمایل به سبز خودنمایی می‌کند.

### شناسایی شکل ظاهری کپک‌ها

کشت چندگونه از کپک‌ها که در روی پلیت و لام شیشه‌ای (محفظه مرطوب) انجام شده است، در اختیاران قرار می‌گیرد.

۱- کشت‌های روی پلیت را از نظر خصوصیات رشد کلنی‌ها، اندازه، رنگ و ظاهر هرگونه، مورد مطالعه قرار دهید.

۲- کشت هر یک از کپک‌ها را که در روی محیط کشت جامد به عمل آمده است به کمک میکروسکوپ و استفاده از عدسی شیئی بررسی کنید. میکروسکوپ را روی لبه کلنی‌ها میزان کرده، ساختمان آن را مطالعه کنید. یک لامل در روی کلنی قرار داده، به کمک عدسی شیئی آن را بررسی کنید. مشخصات هیف‌ها، سلول‌های مخصوص تولید مثل و اسپورها را مورد دقت قرار دهید. به دلیل بزرگی نسبی اندازه‌ی کپک‌ها، در هر میدان میکروسکوپی، فقط یک ساختمان و یا یک قسمت از یک ساختمان آن را مشاهده خواهید کرد. بنابراین برای بررسی میکروسکوپی به وسیله عدسی شیئی خشک باید سعی کنید طوری میکروسکوپ را میزان کرده، میدان دید را انتخاب کنید که بتوانید یک ساختمان کامل را مشاهده کنید.

۳- از ترکیب مشاهدات خود در پلیت و در لام تصویر کلنی‌ها، میسلیم‌های روینده و ساختمان‌های مخصوص تولید مثل را رسم کنید.

### ۳-۸- کشت کپک‌ها برای شناسایی گونه‌های مربوطه

شناسایی کپک‌ها بیشتر بر اساس شکل، ساختمان و نحوه اسپر سازی آن‌ها صورت می‌گیرد که در فصل نهم کتاب میکروبیولوژی درباره آن‌ها بحث شده است.

برای مشاهده شکل ساختمانی و نحوه اسپر سازی کپک‌ها روش‌های معمولی رنگ‌آمیزی باکتری‌ها مناسب نیست زیرا در این حالت هنگام انجام ثابت کردن و رنگ‌آمیزی تغییراتی در نحوه آرایش کپک و اسپرهای آن ایجاد می‌شود که کار شناسایی را مشکل می‌کند.

روش مناسب و کاربردی برای این کار اسلاید کالچر<sup>۱</sup> نامیده می‌شود. این کار با روش‌های مختلفی انجام می‌گیرد که ساده‌ترین آن‌ها روش بلوک یا قطعه آگار<sup>۲</sup> است مراحل انجام این آزمایش به شرح زیر است:

– ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مناسب کپک را در یک پلیت ریخته و به حال خود می‌گذاریم تا سفت شود، بدیهی است محیط کشت و پلیت هر دو باید سترون شده باشند.

– یک پلیت سترون برداشته، کف آن یک کاغذ فیلتر سترون قرار داده و روی کاغذ فیلتر یک میله شیشه‌ای U شکل سترون قرار می‌دهیم و روی این میله شیشه‌ای یک لام سترون می‌گذاریم.

– یک قسمت مربع شکل به ابعاد یک سانتی‌متر یا کمی بیشتر به اندازه لامل‌های در دسترس را از محیط کشت آماده شده بریده (در شرایط بودن امکان آلودگی دوباره) روی لام قرار می‌دهیم.

– به وسیله نوک آنس پلاتین، گوشه‌ای از یک کلنی مجزای کپک مشکوک را برداشته و به‌وسیله قطعه آگار روی اسلاید منتقل می‌کنیم و یک لامل سترون روی آن می‌گذاریم.

– کاغذ فیلتر را با محلول گلیسرول ۲۰٪ سترون خیس می‌کنیم تا از خشک شدن قطعه آگار در زمان گرمخانه‌گذاری جلوگیری شود.

– مجموعه را در گرمخانه  $25^{\circ}\text{C}$  قرار داده و پس از حدود ۲۴ ساعت با عدسی خشک و با درشت‌نمایی بالا آن را مشاهده می‌کنیم و چنانچه لازم باشد زمان گرمخانه‌گذاری را زیاد می‌کنیم تا شکل کپک به‌طور کامل مشخص شود.

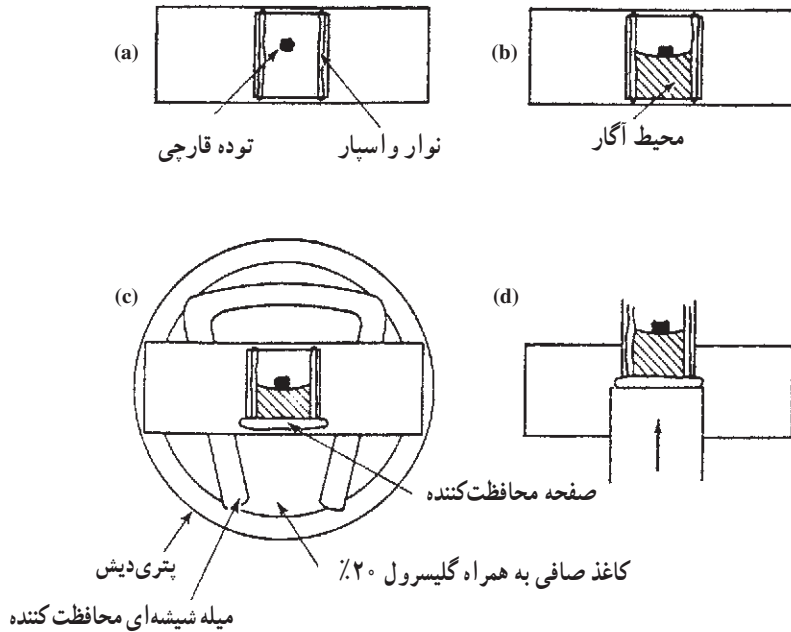
– در مرحله آخر به آرامی لامل را از روی قطعه آگار برداشته وارد محلول لاکتوفنل<sup>۳</sup> یا لاکتوفنل کتون بلو<sup>۴</sup> یا لاکتوفنل پیکریک اسید کرده و زیر میکروسکوپ شکل کپک را مشاهده می‌نماییم و آن را رسم می‌کنیم و از آن برای شناسایی کپک استفاده می‌کنیم.

۱- Slide Culture Method

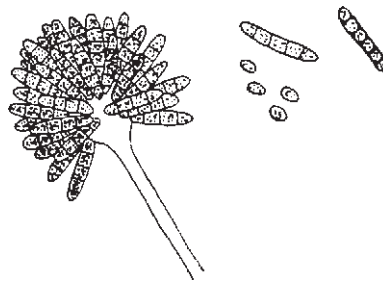
۲- Agar block

۳- Lactophenol

۴- Lactophenol Cottonblue



شکل ۸-۱



شکل ۸-۲

#### ۸-۴- شناسایی وضعیت ظاهری مخمرها

بیشتر مخمرها به وسیله‌ی عمل غیرجنسی جوانه‌زدن<sup>۱</sup> تولید مثل می‌کنند، بدین ترتیب که از سلول اصلی یک قسمت به صورت جوانه خارج شده، بعد از کامل شدن به صورت یک سلول دختر از آن جدا می‌شود. در بعضی از مخمرهای حقیقی (که با تولید اسپورهای جنسی مشخص می‌شوند) تولید مثل جنسی صورت می‌گیرد، بدین طریق که ابتدا دو اسکوسپور با یک دیگر ترکیب شده، یک سلول روینده دیپلوئید<sup>۲</sup> تولید می‌کنند. هسته‌های حاصل این سلول به چهار هسته یا بیش‌تر تقسیم

۱- Budding

۲- Diploid

شده، هریک از این هسته‌ها بعد از کامل شدن به یک اسکوسپور تبدیل می‌گردد و اطراف آن‌ها با مواد ذخیره‌ای و یک پوشش اسپوری احاطه می‌شود. اسکوسپورها در سلول اصلی یا آسکیوس<sup>۱</sup> باقیمانده و بالاخره پس از پاره شدن آزاد می‌شوند. اسکوسپورها در شرایط مناسب دوباره ترکیب شده، با جوانه‌زدن به سلول‌های روینده تبدیل می‌شوند و بدین طریق چرخه تولیدمثل آن‌ها تکرار می‌شود، در این آزمایش، شکل و نحوه‌ی تولیدمثل غیرجنسی مخمرها نشان داده می‌شود.

روش کار: (مرفولوژی سلول روینده)

- ۱- به کمک حلقه کشت از هریک از کشت‌های موجود یک حلقه برداشته، آن را با محلول آبی ید (۳ قطره آب + یک قطره ید گرم) مخلوط کرده، بعد آن‌ها را با یک لامل ببوشانید.
- ۲- هریک از نمونه‌ها را با عدسی شیئی قوی میکروسکوپ مورد مشاهده قرار داده، شامل مخمرها، همین‌طور ساختمان‌های داخلی قابل رؤیت آن را یادداشت کنید. چند میدان میکروسکوپی را مورد توجه قرار دهید تا بتوانید سلول‌های جوانه زده را بیابید.

## خودآزمایی

- ۱- تفاوت کپک‌ها و مخمرها در چیست؟
- ۲- میسلیم و هیف را تعریف کنید.
- ۳- برای طبقه‌بندی و شناسایی کپک‌ها از چه فاکتورهایی استفاده می‌شود؟
- ۴- خصوصیات ظاهری کپک پنی‌سیلیوم پس از رشد روی شیر و پنیر چیست؟
- ۵- تولیدمثل جنسی و غیرجنسی در مخمرها چگونه صورت می‌گیرد؟