

اکولوژی میکروبی دستگاه گوارش نسخوار کنندگان

(روش‌های آزمایشگاهی)

مؤلف:

هارنند کار

کریستوفر مک سونی

ترجمه:

محمد ابراهیم نوریان سرور^۱

محمد امیر کریمی ثرشیزی^۲

علی اکبر مسعودی^۲

^۱ عضو هیأت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه رازی - کرمانشاه

^۲ عضو هیأت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه تربیت مدرس - تهران

عنوان و نام پدیدآور	: اکولوژی میکروبی-دستگاه گوارش نشخوارکنندگان: روش‌های آزمایشی / مولف: [صحیح: ویراستار] هاریندر مککار، کریستوفر مک‌سوینی؛ ترجمه محمدابراهیم نوریان سرور، محمدامیر کریمی ترشیزی، علی اکبر مسعودی
مشخصات نشر	: تهران: آوای فهم، ۱۳۹۴
مشخصات ظاهری	: ج، ۳۹۸، جدول
شابک	: ۹۷۸-۶۰۰-۶۸۱۰-۵۹-۱
وضعیت فهرست‌نویسی	: فیبا
یادداشت	: عنوان اصلی: Methods in gut microbial ecology for ruminants, c2005
موضوع	: شکمبه -- میکروب شناسی
موضوع ۶	: نشخوارکنندگان -- اندام‌های گوارش
شناخت افزوده	: ماکار، هاریندر پ. اس، ویراستار
شناسه افزوده	: Makkar, Christopher S
شناخت افزوده	: مک‌سوینی، کریستوفر اس، ویراستار
شناسه افزوده	: McSweeney, Christopher S
شناسه افزوده	: نوریان سرور، ابراهیم، مترجم
شناسه افزوده	: کریمی ترشیزی، محمدامیر، ۱۳۵۳، مترجم
شناسه افزوده	: مسعودی، علی‌اکبر، ۱۳۵۱، مترجم
رده‌بندی کنگره	: ۶۲۰.۸۹۱۳۹۴ ق ۱۷ الف ۸
رده‌بندی دیوید	: ۶۲۰.۸۹۱۳۹۴
شماره کتابشناسی ملی	: ۱۷۷۱۱۰۰۴



شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۶۸۱۰-۵۹-۱

تهران: خ توحید، خیابان فرصت شیرازی، بعد از تقاطع - تر آریب پلاک ۸۳ واحد A10
تلفن: ۰۹۱۲۳۱۸۱۰۰۴ - ۶۶۵۹۴۸۸۴

اکولوژی میکروبی دستگاه گوارش نشخوارکنندگان: روش‌های آزمایشی

مؤلفین: هاریندر مککار، کریستوفر مک‌سوینی

مترجمان: محمدابراهیم نوریان سرور، محمدامیر کریمی ترشیزی، علی‌اکبر مسعودی

ویراستار: دکتر صاحب فروتنی‌فر

© حق چاپ: ۱۳۹۵، انتشارات آوای فهم

نوبت چاپ: اول

مدیر تولید: محمد برخورداری

چاپ و صحافی: سفیراردهال

شمارگان: ۱۱۰۰

بها: ۲۰۰۰۰۰ ریال

همه حقوق محفوظ است. هرگونه نسخه‌برداری، اعم از زیراکس و بازنویسی، ذخیره کامپیوتری، اقتباس کلی و جزئی (به جز اقتباس جزئی در نقد و بررسی، و اقتباس در گیومه در مستندنویسی، و مانند آنها) بدون مجوز کتبی از ناشر ممنوع و از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری است.

مقدمه الف

بخش ۱. طراحی مطالعات اکولوژی میکروبی به روش درون تنی

۱-۱. طرح‌های آزمایشی برای میکروبیولوژی شکمبه ۱

بخش ۲. روش‌های کلانیک جداسازی، شمارش، کشت و ارزیابی عملکردی

میکروب‌های شکمبه ۳۱

۲-۱ باکتری‌های شکمبه ۳۱

۲-۲ باکتریوفاژها ۵۹

۲-۳ آرکایای متان‌ساز (متانوزن) ۷۷

۲-۴ قارچ‌های بی‌هوازی ۹۵

۲-۵ پروتوزوآ مژکدار ۱۲۱

بخش ۳. روش‌های مبتنی بر PCR برای تجزیه و تحلیل جمعیت‌ها و بیان ژن

۳-۱ روش‌های استخراج اسیدنوکلئیک، کاوشگرهای اولیگونوکلئوتید (PCR) ۱۴۵

۳-۲ PCR کمی (PCR در زمان واقعی) (Real-time PCR) ۱۹۵

بخش ۴. تکنیک‌های انگشت نگاری مولکولی برای تجزیه و تحلیل ژنوتیپی کشت‌های خالص و

جمعیت‌های میکروبی

۴-۱ ژل الکتروفورز با شیب واسرشتی (DDGE) ۲۱۱

۴-۲ جمعیت باکتریوفاژها ۲۳۱

۳-۴ جمعیت قارچ‌های بی‌هوازی ۲۴۹

۴-۴ تکنیک‌های RISA, AFLP, T-RFLP, RFLP, RAPD ۲۷۱

بخش ۵. کتابخانه همسانه‌سازی DNA جمعیت‌های میکروبی

۵-۱ آنالیز کتابخانه همسانه‌های ۱۶S/۱۸S ریبوزومی ۲۸۷

بخش ۶. استفاده از شگرهای زیر واحد کوچک RNA ریبوزومی برای مطالعه جمعیت‌های

میکروبی

۶-۱ آنالیز لکه‌گذاری نور تون برای بررسی فراوانی ریز سازواره‌ها ۳۰۹

۶-۲ نشانه‌گذاری کل نهال با کارگرهای نشاندار شده فلورسنتی برای آنالیز جمعیت

میکروبی شکمبه در محل (in situ) ۳۳۵

۶-۳ تلفیق دوره‌سازی فلورسنت در محل ریز نور پرتونگاری (FISH-MAR) ۳۴۹

بخش ۷. آنالیز ژنومی اکوسیستم میکروبی

۷-۱ آنالیز متازنومی توده میکروبی حیوانات نشخوارکننده و دیگر گیاه خواران ۳۵۹

فهرست واژگان ۳۸۳

روش‌های رایج ارزیابی قابلیت هضم و ارزش غذایی خوراک دام از ارزیابی برون‌تنی (آزمایشگاهی) و مطالعات درون‌تنی (دام زنده) استفاده می‌کنند و سبب دستیابی به دامنه وسیعی از اطلاعات مربوط به ترکیبات مواد مغذی، کینتیک هضم و قابلیت هضم می‌گردد. اما؛ این تکنیک‌ها قادر به توضیح و شرح مکانیسم میکروبی درگیر در هضم نشخوارکنندگان و دیگر گیاه خواران نیستند و دستیابی به استراتژی جدید تغذیه تنها با تکیه بر آنها؛ بعید به نظر می‌رسد. توسعه سریع تکنیک‌های مبتنی بر اسیدهای نوکلئیک سبب شده که این روش‌ها جایگزین روش‌ها رایج مبتنی بر محیط کشت آزمایشگاهی برای شمارش و شناسایی باکتری شکمبه گردند، که این روش‌های سلولی و مولکولی را می‌توان برای شناسایی مجموعه میکروبی شکمبه دام به کار برد. کارشناسان تغذیه دام و میکروبیولوژیست‌ها اهمیت اکولوژی میکروبی مولکولی را شناخته‌اند، اما بسیاری نیز چون که آشنایی و مهارت استفاده از این روش‌ها را ندارند، اذعان می‌دارند که کاربرد این تکنیک‌های اختصاصی بسیار مشکل است. به علاوه؛ روش‌های سنتزی و بالینی خیلی سریع در حال پیشرفت هستند و حتی محققانی که دارای تجربیات زیادی در حوزه اکولوژی میکروبی مولکولی هستند با استناد به افزایش تعداد تکنیک‌ها و روش‌های جایگزین آنها معترفند که این روش‌ها مشکل می‌باشند.

این کتاب به عنوان راهنمایی عملی توسط گروهی از کارشناسان فعال و علاقمند به میکروبیولوژی هضم و دستگاه گوارش نشخوارکنندگان نوشته شده است. در این کتاب اکثر روش‌ها جدید و به روز اکولوژی میکروبی مولکولی با کاربرد اختصاصی مشخصکنندگان ارایه شده است. روش‌های بیان شده در این کتاب دارای قابلیت دسترسی آسان به تکنیک‌های مولکولی بوده که قابلیت استفاده در اکثر نقاط دنیا را دارند. نویسندگان این کتاب تلاش داشته‌اند که راهنمایی را تهیه کنند که هم قابلیت استفاده عملی در آزمایشگاه را داشته و همچنین دارای ارزش علمی برای اکثر تکنیک‌های اختصاصی مورد انتظار باشد. لذا به همین منظور از منابع علمی معتبر مرتبط استفاده شده است.

مطالب علمی این کتاب به ترتیبی ارایه شده‌اند که به توان عناصر کلیدی مطالعه اکولوژی میکروبی گوارش دام را تشخیص داد. فصل اول این کتاب در خصوص ارایه طرح آزمایشات دامی برای مطالعات اکولوژی میکروبی است. در صورتی که از طرح آزمایشی با تعداد دام، فراوانی نمونه

گیری، موقعیت انجام طرح و تکرار نامناسب استفاده گردد، بهترین و جدیدترین روش‌های مولکولی نیز چندان ارزشی نخواهند داشت. فصل دوم کتاب روش‌های کلاسیک آزمایشگاهی مبتنی بر کشت برای مطالعه میکروب‌های شکمبه را شرح می‌دهد، چون که این روش‌ها اغلب پیش‌نیازی برای کاربرد تکنیک‌های مولکولی هستند. فصل‌های ۳ تا ۶ این کتاب نیز اطلاعاتی را در خصوص شالوده و اساس تکنیک‌ها و دستورالعمل‌های آزمایشگاهی اکولوژی میکروبی را بیان می‌کنند، مانند، استخراج DNA از نمونه‌های محیطی، واکنش زنجیره پلیمرز (PCR)، کاوشگر الیگونوکلوئید و طرح پرایمر و اثر انگشت DNA. کاربرد این تکنیک‌ها برای تعیین و شناسایی میکروارگانیسم‌ها همچنان جای بحث و بررسی دارد. همچنین، تکنیک‌های منحصر به فردی مانند الکتروفورز با ژل دارای دامنه متفاوت واسرشته‌کنندگی (DGGE) و کتابخانه‌های DNA ریبوزومی 16S/18S برای مطالعه‌ی مجموعه میکروارگانیسمی که حاوی ارگانیسم‌ها غیر قابل کشت می‌باشد نیز در این کتاب شرح داده شده‌اند. بسیاری از این تکنیک‌ها برای شناسایی و شمارش جمعیت‌های ارگانیسمی که در یک نمونه مایع شکمبه قرار دارند مورد استفاده قرار می‌گیرند. با موضوع و بحث آنالیز عملی میکروب‌ها در یک اکوسیستم و برخی از روش‌های به کار برده شده برای اندازه‌گیری بیان ژن در فصل ۳ آورده شده است. در فصل ۶، اطلاعات علمی در خصوص موقعیت و ارتباط میکروارگانیسم‌ها در محیط طبیعی خود که اغلب برای فهم نقش عملی آن‌ها ضروری است، شرح داده شده است. فصل پایانی این کتاب (فصل ۷) مربوط به تکنولوژی‌های متانومیک بوده که این تکنیک‌ها توانایی مطالعه میکروبیوم کامل (ژنوم غالب) حاصل از مجموعه میکروبی پیچیده مانند شکمبه را فراهم می‌کنند. تکنولوژی‌های ظرفیت پذیرش بالا و سریع کامپیوتری یک نقشه ژنوم انسانی را ترسیم داده اند که در حال حاضر از آنها برای مطالعه اکوسیستم‌های میکروبی استفاده می‌گردد. یک رشد سریع دانش در حوزه اکولوژی میکروبی مورد انتظار است.

به این وسیله نویسندگان این کتاب از همه‌ی سایر نویسندگانی که در انتشار این اثر علمی همکاری داشته‌اند تشکر می‌کنند. همه این نویسندگان زمان‌های ارزشمند و قابل قبولی را برای گردآوری اطلاعات از منابع علمی مرتبط صرف نموده‌اند. اطلاعات گردآوری شده، خوانندگان این کتاب را قادر می‌سازد تا از نحوه شکل‌گیری تکنیک‌ها مطلع شده و این روش‌ها برای بیان جنبه‌های

ویژه مرتبط با اکولوژی میکروبی شکمبه کاربرد دارند. ما بر این باوریم که این کتاب از روش‌های کاربردی در اکولوژی میکروبی مولکولی شکمبه؛ برای خوانندگان رمزگشایی خواهد کرد. خصوصاً خوانندگان نوآموز و تازه کار این حوزه که دارای انگیزه فراوان برای یادگیری این نوع تکنولوژی می‌باشند. همچنین این کتاب برای کارکنان با تجربه‌ای که در تلاش برای دستیابی به ابعاد جدید این نوع تحقیقات هستند و نیز به دنبال گسترش کار در سایر حوزه‌های مرتبط می‌باشند، قابل استفاده است. به نظر می‌رسد این کتاب اولین قدم برای فهم و دستکاری میکروارگانیسم شکمبه و گوارش دام بوده گرچه همچنان که مورد انتظار است، تکنیک‌ها و روش‌های کاربردی مرتبط با مطالعه‌ی اکولوژی میکروبی پیوسته در حال پیشرفت و توسعه می‌باشد. ساده‌سازی این تکنیک‌ها می‌تواند یک بحث و موضوع کلیدی که برای آیدم‌یاد، به نحوی که این تکنیک‌ها ابزاری روزمره و رایج برای استفاده در آزمایشگاه‌های تغذیه‌ای، مساعی و تکنولوژیکی باشند.

کریستوفر اس. مک‌سوینی

هاریندر پی. اس. مکار