

ЭКОЛОГИЯЛЫҚ БИОТЕХНОЛОГИЯ ПӘНІНЕН ЗЕРТХАНАЛЫҚ САБАҚТАРҒА АРНАЛҒАН ӘДІСТЕМЕЛІК НҰСҚАУЛЫҚ

Зертханалық сабақ 1. Көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерінің жинақы дақылдарын алу.

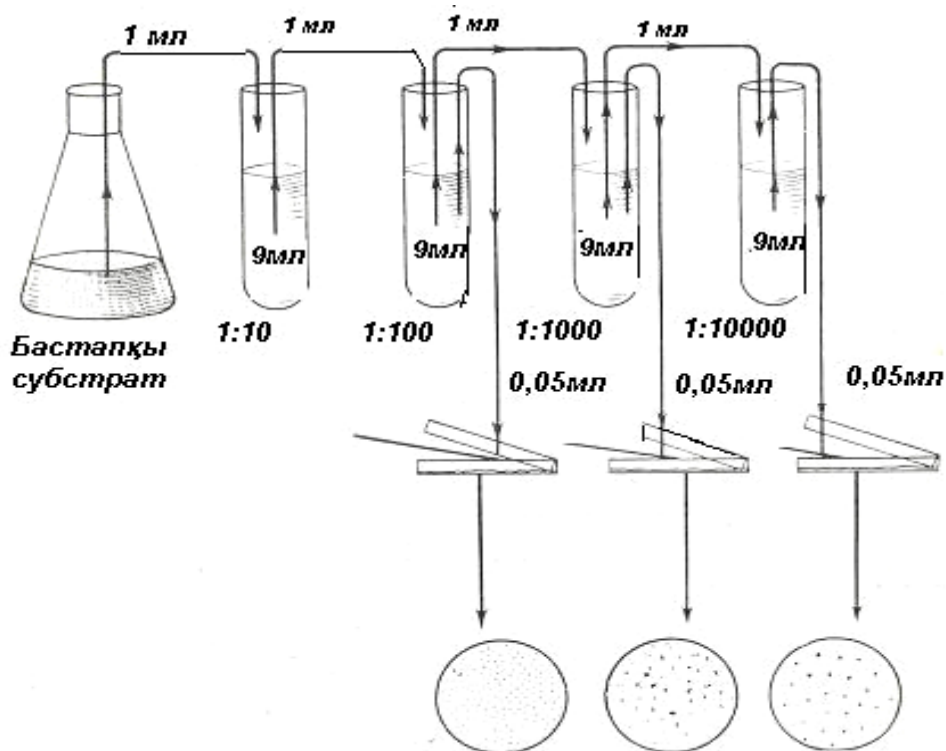
Жұмыс мақсаты: Топырақтан көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерінің жинақы дақылдарын бөліп алу

Мұнаймен ластанған топырақтан көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерінің жинақы дақылдарын бөліп алу үшін құрамында көміртегі көзі ретінде мұнай бар минеральды ортаны пайдаландық. Құрамында мұнай бар минеральды ортаны 250 мл-лік колбаларға 100 мл ден құйып 10 г. Мұнаймен ластанған топыраққа 10 пайыз шикі ұнай салып шайқағышқа 7-10 тәулікке қалдырдық.

Зертханалық сабақ 2-4. Көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерінің жинақы дақылдарын қоректік орталарға дақылдау.

Мұнаймен ластанған топырақта көмірсутегін тотықтырушы микроорганизмдердің (КТМ) әртүрлі өкілдері тіршілік етеді. Топырақтағы КТМ микрофлорасын зерттеу үшін Кох әдісі бойынша сұйылту жүргізіледі. Ол үшін әртүрлі қоректік орталар (ЕПА, Сабуро, крахмал аммиакты агар (КАА) орталары) пайдаланыды

Зерттелетін суспензияның белгілі көлемін қатты қоректік ортаға егу арқылы өсіп шыққан колониялардың саны негізінде бастапқы құрамында қанша микроорганизм клеткалары болғандығын айтуға мүмкіншілік береді. 100 мл стерилді құбыр суына 10 гр топырақ нұсқасын салып, төмендегідей сызба-нұсқа бойынша сұйылту жүргізеді:



Микроорганизмдердің суспензиясынан сұйылту дайындаудың және егудің сызба-нұсқасы

Егу 3 кезеңнен тұрады: сұйылту дайындау, Петри табақшасына тығыз қоректік орталарға отырғызу, өскен колонияларды санау.

Сұйылту дайындау. Жекеленген колониялар алу үшін микроорганизмдер бар дақылды немесе материалды сұйылтады. Сұйылтуды стерилді құбыр суында, сұйылтудың тұрақты коэффициентін пайдалана отырып дайындайды, әдетте бұл коэффициент 10 санына тең. Сұйылту дайындау үшін стерилді құбыр суын стерилді құрғақ пробиркаларға 9 мл-ден құяды. Одан кейін стерилді пипетканың көмегімен алынған бастапқы суспензияның 1 мл-ін 9 мл стерилді суы бар пробиркаға құяды, бұл

бірінші сұйылту, 1:10. Бірінші сұйылтудан алынған суспензияны жаңа стерилді пипеткамен араластырады. Осы пипеткамен алынған суспензияның 1 мл алып, екінші пробиркаға көшіреді, бұл екінші сұйылту, 1:100. Осылайша қалған сұйылтуларды дайындайды.

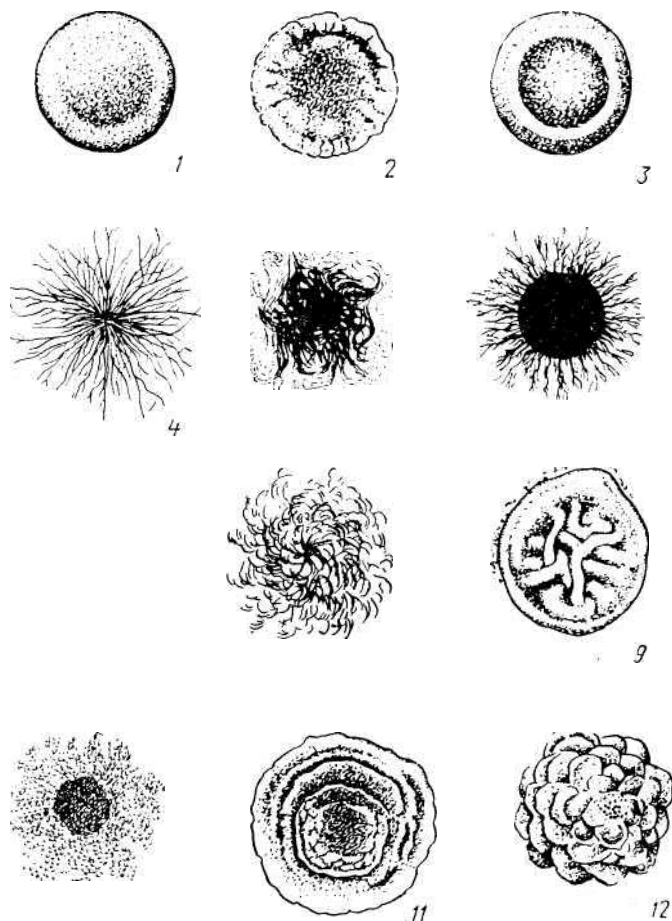
Петри табақшасына егу. Суспензияны беттік және тереңдік әдістермен егуге болады. Беттік әдіспен егу алдында стерилді Петри табақшаларға ерітілген қоректік ортаны 20-30 мл-ден құяды. Егуді белгілі сұйылтудан жүргізеді. Стерилді пипеткамен сәйкес сұйылтудың белгілі көлемін 0,1 мл енгізеді. Суспензияны қоректік орта бетіне *Дригальский шпательінің* көмегімен жаяды. Табақшаларды термостатқа 28-30⁰ С температурасында бірнеше күнге қалдырады.

Өскен колонияларды санау. Өсу жылдамдығына байланысты Петри табақшасында өскен колониялардың санын дақылдаудың 1-15 тәулігінен кейін санайды. Табақшадағы колониялардың орташа санын анықтайды да формула бойынша 1 мл-дегі клеткалар санын есептейді:

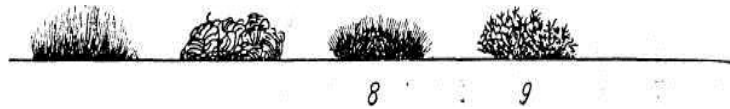
$$M = \frac{a \cdot 10^n}{v}$$

мұндағы, M - 1 мл-дегі микроорганизм клеткаларының саны; a - Петри табақшасындағы микроорганизмдер колониясының орташа саны; 10 - сұйылту коэффициенті; n - егу жүргізілген сұйылтудың реттік саны; v - егуге алынған суспензияның көлемі.

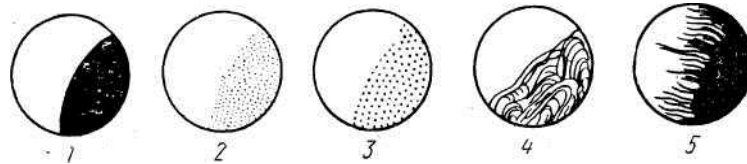
Өсіп шыққан колонияларды тәртіпке сәйкес сипаттама жасайды.



Форма колоний: 1—круглая; 2 — круглая с фестончатым краем; 3— круглая с валиком по краю; 4 и 5—ризоидные; 6 — с ризоидным краем; 7—амебовидная; 8 — нитевидная; 9 - складчатая; 10 —неправильная; 11 — концентрическая; 12— сложная



Профиль колоний: 1 — изогнутый; 2 — кратерообразный; 3-бугристый; 4 — врастающий в агар; 5 — плоский; 6 — выпуклый; 7 – каплевидный; 8 — конусовидный



Край колонии: 1 — гладкий; 2 — волнистый; 3 — зубчатый; 4 — лопастной; 5 — неправильный; 6 — реснитчатый; 7 — нитчатый; 8 — ворсинчатый; 9 — ветвистый

Микроорганизмдер тығыз қоректік ортаның бетіне өсіп шыққан кезде колония түзіп, штрих (ирек сызық) бойымен немесе тегіс газон болып өсуі мүмкін. Колония деп –микроорганизмнің бір түрінің клеткалар жиынтығын айтады. Ол клетканың қоректік ортағақалай өскеніне байланысты болады. Біреулері қоректік ортаның бетіне, келесілері ортаны бойлай өседі, ал кейбіреулері ортаның түбіне қарай өседі. Осыған байланысты колонияның беттік, тереңдік және түптік түрлері болады. Қоректі қ ортаның бетіне өскен колонияның бірнеше түрлі болып келеді Оларды сипаттаған кезде келесі белгілеріне көңіл бөлед:

Колония пішіні – дөңгелек, амеба тәрізді, дұрыс емес пішінді, тармақталған (ризоидты) және т.б., үшін өсіп шыққан колониялары н сипаттау.

Колония түсі – түссіз немесе пигменттелген (ақ, сары, қызыл т.б)

Колонияның беті - тегіс, кедір-бұдырлы, қатпарлы, қыртысталған, концентрлі шеңберлерлермен қоршалған, радиалды сызбалы.

Колония профилі – жалпақ, дөңес, кратер тәрізді, конус тә різді және т.б.

Колонияның жалтырауы мен мөлдірлігі – жылтыр колония, жылтыр емес (матовая), бұлыңғыр, ұнтақты, мөлдір.

Колония шеті – тегіс, иректелген, тістелген, шашақталған және т.б.

Колония құрылымы – біркелкі, майда немесе ірі, сорғалаған (струйчатая)

Көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерінің таза дақылдарын алу және тазалығын тексеру.

Көмірсутегін тотықтырушы микроорганизмдердің өсіп шаққан колонияларының тазалағын көзбен бақыладық және бекітілген препарат жасап микроскоптан қарау арқылы зерттедік. Содан кейін таза жеке колонияларды нөмірлеп, сәйкесінше пробиркалардағы әртүрлі қоректік орталарға штрих әдісі бойынша егу жүргізеді.

Зертханалық сабақ 5-6. Көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдердің дара көмірсулар қосылған орталарда өсуін бақылау.

Тапсырма. Көмірсутегін тотықтырушы микроорганизмдерді (бактериалар мен ашытқыларды) бөліп алу үшін құрамында 15%мұнай бар минеральды қоректік орта қоректік ортасын дайындау

Әдістемелік ұсыныстар

Қоректік орта құрамында 10% мұнай бар минеральды қоректік ортасын дайындайды. (г/л): глюкоза не сахароза -20,0; NaNO₃-2,0; K₂HPO₄-1,0; MgSO₄- 0,5; KCl- 0,5; FeSO₄-0,1; CaCO₃-3,0; агар-агар -20,0; құбыр суы.

Дайын ЕПА және Сабуро орталарын 500 мл колбаларға құйып 1 атм залалсыздандырады. Залалсызданған, ерітілген қоректік ортаны залалсызданған 9 Петри табақшаларына құйады.

Қажетті құрал жабдықтар. 8 Петри табақшаларын, пипетка, 9 мл заласызданған суы бар пробиркалар, 3 шпатель дайындау 750 мл колба- 1; 100 мл -1; Петри табақшалары -9; 500 мл цилиндр - 1; 10 мл пипетка – 1; 1-2 мл – 2; шыны шпатель -3; 9мл заласызданған суы бар пробиркалар -5; қоректік орталар үшін қажетті реактивтер.