

# **ЭКОЛОГИЯЛЫҚ БИОТЕХНОЛОГИЯ ПӘНІНЕН ЗЕРТХАНАЛЫҚ САБАҚТАРҒА АРНАЛҒАН ӘДІСТЕМЕЛІК НҰСҚАУЛЫҚ**

## **Зертханалық сабақ № 1. Көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерінің жинақы дақылдарын алу.**

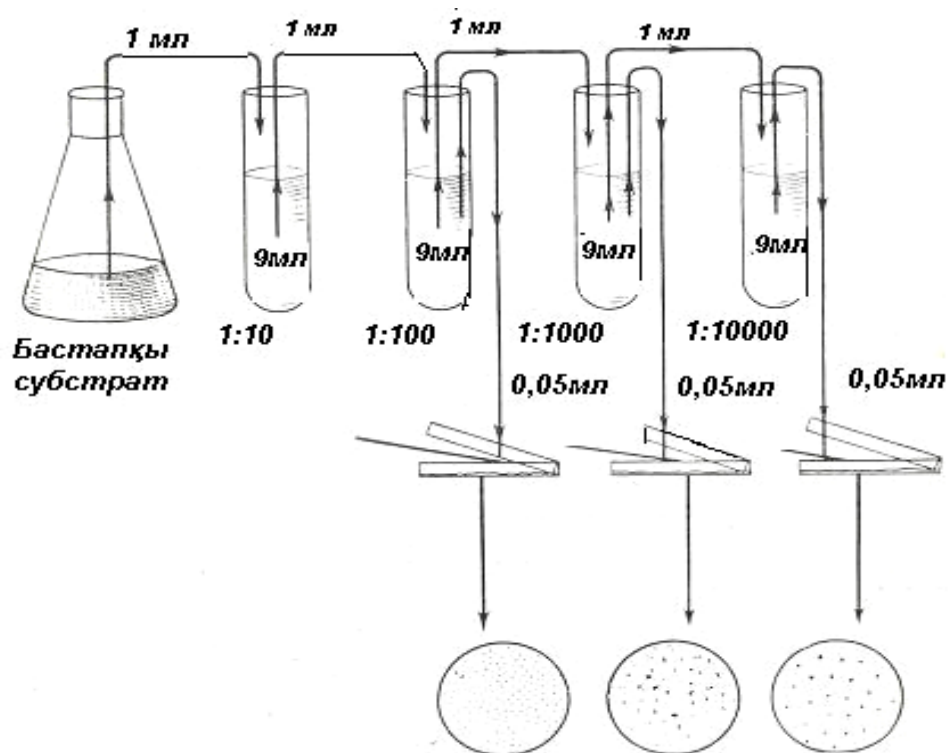
*Жұмыс мақсаты:* Топырақтан көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерінің жинақы дақылдарын бөліп алу

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.

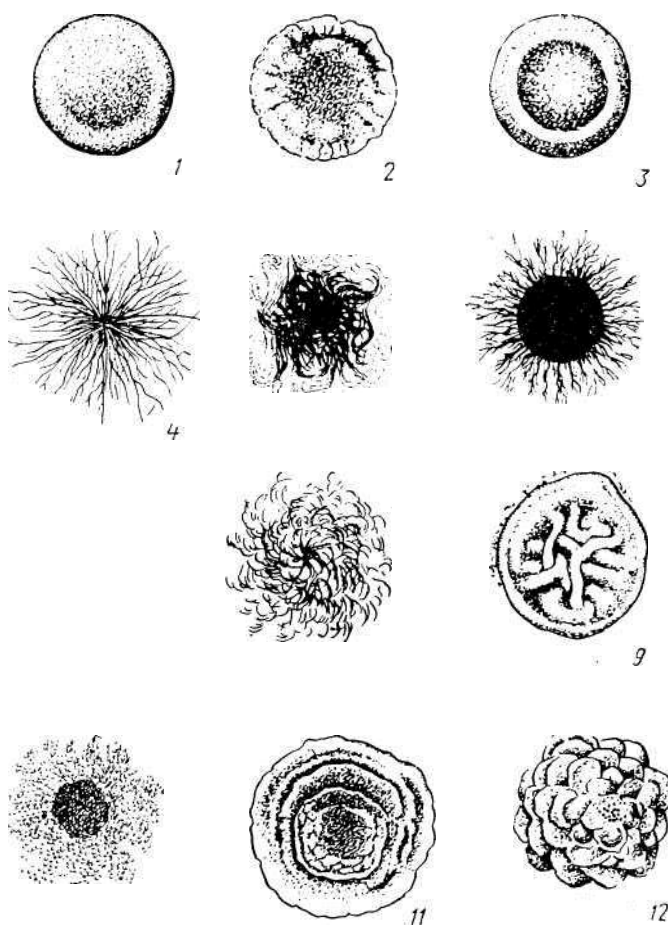
**Петри табақшасына егу.** Суспензияны беттік және тереңдік әдістермен егуге болады. Беттік әдіспен егу алдында стерилді Петри табақшаларға ерітілген қоректік ортаны 20-30 мл-ден құяды. Егуді белгілі сұйылтудан жүргізеді. Стерилді пипеткамен сәйкес сұйылтудың белгілі көлемін 0,1 мл енгізеді. Суспензияны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

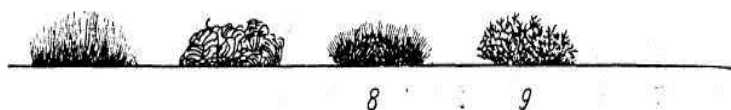
$$M = \frac{a \cdot 10^n}{v}$$

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.

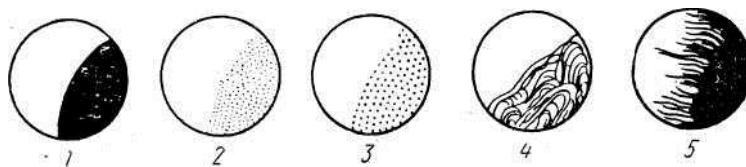
Өсіп шыққан колонияларды тәртіпке сәйкес сипаттама жасайды.



Колония пішіні: 1— дөңгелек; 2 — дөңгелек, шеті қатпарлы; 3— дөңгелек, шеті қатпарлы; 4, 5 — ризоидты; 6 — ризоидты шеттерімен; 7—амеба тәрізді; 8 — жіпшелі; 9 - қатпарлы; 10 —дұрыс емес пішінді; 11 — ортаға жинақталған; 12— күрделі.



Колония беті: 1 — иілген; 2 — кратер тәрізді; 3 - төмпешікті; 4 — субстратқа өскен; 5 — тегіс; 6 — томпақ; 7 – тамшы тәрізді; 8 — конусты



Колония шеттері: 1 — тегіс; 2 — толқынды; 3 — тісті; 4 — күректі; 5 — дұрыс емес; 6 — кірпікшелі; 7 — жіпшелі; 8 — түкті; 9 — тармақты.

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 ортаға қалай 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 к 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)

### **Зертханалық сабақ № 5-6. Көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерінің таза дақылдарын алу және тазалығын тексеру.**

Көмірсутегін тотықтырушы микрооргнаизмдердің 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 № 7. Алынған дақылдардың деструктивті қасиетін зерттеу.**

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; NaNO<sub>3</sub>-2,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-1,0; MgSO<sub>4</sub>- 0,5; KCl- 0,5; FeSO<sub>4</sub>-0,1; CaCO<sub>3</sub>-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 залалсызданған 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 залалсызданған суы бар пробиркалар -5; қоректік орталар үшін қажетті реактивтер.

### **Зертханалық сабақ № 8. Су биомониторингін жүргізудегі қолданылатын микроорганизмдермен танысу**

Зерттеу объектілері ретінде әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-дың (ССМКазНУ) микробалдырлар коллекциясынан алынған жасыл микробалдыр *Chlamydomonas reinhardtii*-дің *СС-124* штамы қолданылды.

*Chlamydomonas reinhardtii* *СС-124* микробалдырының коллекциялық штамының төлқұжаты:

*Түрдің ғылыми атауы:* *Chlamydomonas reinhardtii* *СС-124*.

*Штамм атауы:* *СС-124*

*Таксономиясы:* *Chlorophyta, Chlorophyceae, Volvocales, Chlamydomonaceae.*

*Орналасу аймағы:* ҚР, Алматы қаласы.

*Сақталу орталығы:* Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Биология және биотехнология факультеті, биотехнология кафедрасы.

*Бөлініп алынды:* АҚШ, Дюкс Университетінің, Хломидомонас орталығының коллекциясынан алынды;

*Соңғы тексеруші:* Заядан Б.К.

*Әкелінді:* Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Биология және биотехнология факультеті, биотехнология кафедрасы.

*Мінездеме:* Нейтрофилді, мезофилді, автотрофты, жарықсүйгіш.

*Штамм морфологиясы:* Диаметрі 14-22 мкм болатын дөңгеленген шар немесе эллипс тәрізді клеткалар. Қабығы өте жұқа, протопластпен тығыз байланысқан. Талшықтарының ұзындығы клетка диаметрінен ұзын. Гаметаларының диморфизмі әр түрлі дәрежелі - изогамды және гетерогамды. Көзшесі жарты шар тәрізді. Екі вакуольі бар, ядросы клетка ортасында орналасқан. Гаметалары эллипс пішінді, 4-8 клеткада пайда болады, диаметрі 8-12 мкм. Зиготалары шар тәрізді, қабығы өте жұқа, диаметрі 16-18 мкм.

*Өсетін қоректік ортасы:* *L-2 min*

*Артықшылығы:* Табиғи штамм. Қалыпты жағдайда дақылдап, (*L-2 min* коректік ортасында, t 26-28 °С, рН 6,5-7,0) 7-8 тәулік өскеннен кейін кейін, 1,0-2,0 г/л құрғақ биомассасының 38-45 %-ын белоктар, 40-45 %-ын көмірсулар құрайды; онымен жұмыс жасау үшін стандартты микробиологиялық әдістерді пайдалануға болады; оның физиология-биохимиялық және генетикалық ерекшеліктері жақсы зерттелген. Патогенді емес. Факультативті фототроф ретінде, оны фотосинтез де, гетеротрофты коректендіру жағдайларында да (ең жақсысы көміртегі көзі ретінде ацетатты пайдаланып) өсіруге болады. Қарапайым синтетикалық ортада жақсы өседі; оны массалық дақылда өсіруге болады, сақтау кезінде жоғары тіршілікке қабілеттілігін сақтайды, бұл зертханалық жағдайларда оңай бақыланатын жыныстық циклге ие, нағыз ядросы бар, ең қарапайым бір жасушалы ағза. Бұл изогамды (гаметаларының мөлшері бірдей), гетероталломды (будандасудың екі генетикалық детерминациялаушы типіне бөліну) түр. Будандасу типі бір ядролық генмен анықталады, жасушалары екі типті –  $mt^+$  или  $mt^-$  – болаалады және екі гамета зигота түзілген кезде клеткалық құрамның тең мөлшерін енгізеді.

*Chlamydomonas reinhardtii*, ластанған сулар мен топырақтардың (шалшықтар, тоғандар, арықтар, батпақтардың) мекен етушілері болып табылады. *Chlamydomonas* туысына гаметалардың диморфизмі әр түрлі дәрежелі - изогамды және гетерогамды - түрлер кіреді

### **Зертханалық сабақ № 9. Фототрофты микроорганизмдерді дақылдау әдістері**

#### **Микробалдырларды әртүрлі жарықтандыру және коректену жағдайларында дақылдау**

*Chlamydomonas reinhardtii* түрі – факультативті фототроф. Оны фотосинтез жағдайында, сондай-ақ гетеротрофты коректену жағдайларында дайын органикалық қосылыстарды қолдану арқылы қараңғыда өсіруге болады.

Жалпы, *Chlamydomonas reinhardtii* микробалдырын сұйық орталарда, агарлы орталарда өсіреді.

*Сұйық орталарда өсіру.* Микробалдырларды отырғызу арнайы стерильді бокстарда жүргізіледі. Егер микробалдыр дақылдасуспензия түзсе, онда отырғызу стерильді колбаға коректік ортамен бірге жүргізіледі. Егу аяқталғаннан кейін колбаны мақта-марлы қақпақпен жауып сыртынан стерильді пергаментті қағазбен жабады.

*Агарлы орталарда өсіру.* Қатты коректік орталарды көбінесе 1,5-2% агар қолдану арқылы жасайды. Агарлы орта жасау үшін 1 л дистильденген суға 15-20г агар алады. Ерітіндіні жасау барысында міндетті түрде араластырып отыру керек. Агар толықтай еріп болған соң оған керекті тұздарды рецепт бойынша қосады. Ерітіндінің рН-ын 7-7,3-ке теңестіреді. Содан соң дайын коректік ортаны пробиркаларға немесе Петри табақшаларына құяды. Агарлы ортаны , әдетте, лабораторияларда таза дақыл бөліп алу үшін,

микробалдырлардың мұражайлық коллекцияларын сақтау үшін қолданады. Агарлы ортадасұйық орталарға қарағанда микробалдырлар баяу өседі.

*Chlamydomonas reinhardtii* табиғи және мутантты штамдары клеткаларының ауыр металдар иондарына тұрақтылығынасырт орта факторларының әсерін зерттеу үшін біз дақылдау жағдайларының екі вариантын қарастырдық: гетеротрофты және фототрофты.

Фотосинтез процесі есебінен автотрофты қоректену тәсілін қамтамасыз ететін фототрофты жағдайларда микробалдырлар клеткаларын *L<sub>2</sub> min* қоректік ортасында өсірдік, жарықтандыру 4000 люкс.

*Chlamydomonas reinhardtii* жасыл микробалдыры өсірілген *L<sub>2</sub> min* қоректік ортасының құрамы:

1) *L<sub>2</sub> min* қоректік ортасы (г/л):

NH<sub>4</sub>Cl – 0,40;

MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,10;

CaCl<sub>2</sub> – 0,05;

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,72;

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,36;

Fe+ЭДТА – 1 мл;

Микроэлементтер ерітіндісі – 1 мл;

Дистилденген су – 1000 мл;

Орта pH=6,8-7.

Микроэлементтер ерітіндісінің құрамы (г/л):

ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 22,0;

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 11,4;

MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O – 5,1;

FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 5,0;

CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 1,6;

CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O – 1,6;

(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub> Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·9H<sub>2</sub>O – 1,1;

Дистилденген су – 1000 мл.

Гетеротрофты жағдайларды жасау үшін микробалдыр клеткаларын қоректік ортаға натрий ацетатын көміртегі көзі ретінде 2 г/л есебінен қоса отырып термостатта өсірдік.

Жасыл микробалдырларды сақтау мақсатында жеке колонияларды алып, кейін стерильді тұзақпен (кәдімгі микробиологиялық отырғызуғасай) табақшалардан сұйық қоректік ортасы бар стерильді колбаға, немесе қиғаш агары бар пробиркаға көшірдік.

Отырғызғаннан кейін колбалар мен пробиркаларды клеткасын өсіру үшін 1-1,5 аптаға жарыққа қойылды. Ол үшін біз әр әйнек сөренің астында лампалар орналастырылған кәдімгі медициналық хирургиялық шкаф қолданылды (Сурет 1).



Сурет 1- Микробалдырларды дақылдау бөлмесі.

Колбада өсіріліп жатқан дақылды оқтын-оқтын сілкіп, араластырып отырдық. Микробалдырлардың жақсы өсуінен кейін, бұл сұйықтықтың жасылдауынан немесе агардағы анық жасыл штрихтан көрінеді, колбалар мен пробиркалар тоңазытқышқа көшіріледі, оның температурасы  $6-10^{\circ}\text{C}$ ,  $300-500$  люкс әлсіз жарықтандыру  $15 \text{ вт}$  лампадан немесе люминесцентті лампадан үнемі беріліп отырады. Мұндай жағдайларда дақыл ұзақ уақыт сақталады және агар-агар кебе бастаған жағдайдасирек (1,5-2 айдан кейін) қайта отырғызуды талап етеді.

Жоғарыдағы суреттен көріп отырғандарыңыз, микробалдыр дақылдарын өсіріп, сақтауға арналған бөлме. Бөлме температурасы, берілетін жарық микробалдырлардың өсуіне қолайлы болуы қажет.

### **Зертханалық сабақ № 10. Микробалдырлар негізіндегі биоиндикация**

#### *Судың сапробтылық индексі анықтау әдісі*

Бірлестіктің түрлік құрамының формальдік сипаттамасы үшін түрлілік пен әртүрлілік байлық индексі қолданылады. Фитопланктон бойынша тұщы су экожүйесінің жағдайын бағалау үшін Сладечка модификациясындағы Пантле және Букка әдістері қолданылады. Осы әдісті қолдану нәтижесінде келесі формула (6) бойынша есептелінетін сапробтылық индексі алынды.



$$S = \sum (sh) / \sum h, (6)$$

Мұндағы  $s$  – әр түрдің индекаторлық тәуелділігі (сапробтылық организмнің шыңы бойыншаанықталады),  $h$  – түрдің саны немесе түрдің кездесулік салыстырмалы жиілігі, глазомерлік шкала бойыншаанықталатын.

Сапробтылық индексі 0,01 нақтылықпен есептелінеді. Ксеносапробтылық аймақ үшін 0-0,5; бетамезасапробтылық – 1,51 – 2,5; альфамезасапробтылық – 2,51-3,50; полисапробтылық – 3,51-4.

### **Зертханалық сабақ № 11-12. Биотестілеуде қолданылатын микробалдырларды дақылдау. Микробалдырлар көмегімен қалдық суларды биотестілеу**

Берілген жұмыста тестіленетін су құрамындағы токсикалық заттардың әсерінен микробалдырлардың көбею қарқындылығының бақылаумен салыстырғанда тіркеуге негізделген биотестілеу әдістемесі. Көбею қарқындылығының көрсеткіші – балдырлар клеткалары санының өсу коэффициенті.

Биотестілеу деп — өздігінен немесе басқалармен қосылып әрекет жасайтын орта және факторлардың сапасы туралы, оларғаарнайы енгізілген тест-нысандар, яғни организмдердің тірі қалуы, жағдайы және мінез-құлқын зерттеу арқылы анықтауды айтамыз. Гидробионттарды қолдана биотестілеу ластанып жатқан табиғи сулар токсикалығын бағалау, ағын сулар токсикалығын бақылау, экстракттар, жуындылар мен орталар токсикалығын санитарлы-гигиеналық мақсатта жылдамдатылған бағалау, лабораторлық мақсаттарда химиялық анализ жүргізу үшін қолдануға болады. Қойылған міндеттерге тәуелді бүтіндей биотестілеу жүйесіне және әдістерге талаптар әртүрлі болуы мүмкін.

Биотестілеу келесі операциялардан құралды: бақылау және тәжірибелік орталарды дайындау, оларға тест-ағзаның клеткаларын енгізу, клеткалардың өсу динамикасын 8 күн бойы зерттеу, алынған мәліметтердің салыстырмалы анализі.

Дақылдық ортаны дайындау үшін таза бақылау және өзен мен суқоймадан алынған ағынды суларға клеткалардың қоректенуіне қажетті  $L_2$  *min* стандартты ортасына сәйкес келетін мөлшерлерде минеральды тұздар қосылды. Өсу динамикасын зерттеу үшін микробалдырлар клеткалары осы орталарда 8 күн бойы дақылданды. Зерттеу жұмысы үшін ластанған судың 2 нұсқасы алынды. 1-ші нұсқадасу 1:2 сұйылтуында, ал 2-ші нұсқада бастапқы күйінде алынды. *Chlamydomonas reinhardtii* CC-124p-2 мутант штамы клеткаларының саны барлық нұсқаларда бірдей болды және 1 мл-де (5-7)  $\times 10^6$  құрады. Бақылау ретінде алынған үлгілердің суы қосылмаған стандартты қоректік орта қолданылды.

Бақылаумен салыстырғанда клеткаларының өсу коэффициентінің төмендеуі токсикалықтың критеріі болып табылады. Қысқа мерзімді биотестілеу – 96 сағат тестіленетін судың балдырларға өткір токсикалық

әсерін анықтауға мүмкіндік береді, ал ұзақ – 14 тәулік – созылмалы токсикалық әсер көрсеткіші.

### ***Микробалдыр клеткаларын сандық есептеу әдістері***

Клеткалардың санын балдыр сұйықтығында есептеу үшін Горяевтің камерасы қолданылады. Камера ортасын көлденең науа бөліп тұратын пластинкалық әйнек. Орталық бөлігінің биіктігі жалпы пластинканың биіктігінен 0,1 мм аласа, соның арқасында жабын әйнекпен жапқанда пластинканың ортасында камера пайда болады.

Пластинканың орта бөлігінің беткі жағында шаршылы тор көздері орналасқан. Сол тор көздерге дақыл тамшыларын тамызып, үстін жабын шынымен жабады. Жабын әйнегі мұқият спиртпен тазалап сүртіледі. Сүрткеннен кейін жабын шыны мен науадағы барлық артық сұйықтықтарды сүзгі қағаздың немесе дәкенің көмегімен жойылады. Микроскоппен белгіленген шаршыдағы балдыр клеткасының саны есептелінеді де, 1 мл сұйықтықтағы клеткалар санын есептейді. Сұйықтықтағы клеткалар санын Горяев камерасы көмегімен мына формулаарқылы (1) анықтаймыз:

$$X = m/20 \cdot 10^6 \quad (1)$$

мұндағы:  $X$  – 1 мл сұйықтықтағы клеткалардың саны,  $m$  - жалпы клетка саны.

### **Зертханалық сабақ № 13. Цианобактериялар көмегімен қалдық суларды биотестілеу**

Берілген жұмыста тестіленетін су құрамындағы токсикалық заттардың әсерінен цианобактериялардың көбею қарқындылығының бақылаумен салыстырғанда тіркеуге негізделген биотестілеу әдістемесі. Көбею қарқындылығының көрсеткіші – цианобактерия клеткалары тығыздығының өсу коэффициенті.

Биотестілеу келесі операциялардан құралды: бақылау және тәжірибелік орталарды дайындау, оларға тест-ағзаның клеткаларын енгізу, клеткалардың тығыздығын 8 күн бойы зерттеу, алынған мәліметтердің салыстырмалы анализі.

Дақылдық ортаны дайындау үшін таза бақылау және өзен мен суқоймадан алынған ағынды суларға клеткалардың қоректенуіне қажетті *BG-11* стандартты ортасына сәйкес келетін мөлшерлерде минеральды тұздар қосылды. Цианобактерия тығыздығын зерттеу үшін осы орталарда 8 күн бойы дақылданды. Зерттеу жұмысы үшін ластанған судың 2 нұсқасы алынды. 1-ші нұсқадасу 1:2 сұйылтуында, ал 2-ші нұсқада бастапқы күйінде алынды. *Anabeana* sp. мутант штамы клеткаларының тығыздығы барлық нұсқаларда бірдей болды және 1 мл-де  $(5-7) \times 10^6$  құрады. Бақылау ретінде алынған үлгілердің суы қосылмаған стандартты қоректік орта қолданылды.

Бақылаумен салыстырғанда клетка санының өсу коэффициентінің төмендеуі токсикалықтың критеріі болып табылады. Қысқа мерзімді

биотестілеу – 96 сағат тестіленетін судың балдырларға өткір токсикалық әсерін анықтауға мүмкіндік береді, ал ұзақ – 14 тәулік – созылмалы токсикалық әсер көрсеткіші.

### **Зертханалық сабақ №14-15. Азотфиксациялаушы микробалдырларды дақылдау. Азотфиксациялаушы микроорганизм дақылдарының қасиеттерін сипаттау.**

*Nostoc* – жіпшелері қара көк жасыл түсті. Трихомаларының шеттері тарылған, қалқа орындарында айқын тартылулар байқалады. Трихомалары жалғыз, тік, шар тәрізді жасушалардан тұрады. Жасушалар арасында гетероцисталар мен акинеттер кездеседі. Көп жағдайда гетероцисталары интеркалярлы. Трихома диаметрі шамамен 2-8 мкм. Көбею бір жазықтықта жүреді. Сұйық қоректік ортада шыныға бекініп өседі. Автотрофты штамм. Сұйық және қатты BG-11 қоректік ортасында 22-30°C температурада жақсы өседі (сурет 15). Морфологиялық сипаттамасы бойынша - класс: [Nostocophycideae](#), Қатар: [Nostocales](#), Тұқымдас: [Nostocaceae](#), туыс *Nostoc*.

*Anabaena* - Громов қоректік ортасында жақсы өседі. Жасушалары қатты иірілген жіпшелер түзеді. Трихомалары бір қатарлы, бұтақталмайды. Басым жасуша формалары – эллипс тәрізді. Көбеюі вегетативті, гормогониялармен жүреді. Спорогенді дақыл. Жас споралары вегетативті жасушалардан үлкен, әлсіз эллипс тәрізді, өлшемі 5,0 x 7,0 мкм. Спора қабығы тегіс. Штамм гетероцисталы формаға жатады. Гетероцисталар шар тәрізді, диаметрі 5,0 мкм, жіпше бойында интеркалярлы споралармен белгілі бір заңдылықсыз орналасады. Колониялар қоректік орта бетіне жайылып өседі. Сұйық қоректік ортада 15-20 тәулікте колба бетіне бекініп өседі (сурет 18). Морфологиялық белгілері бойынша - класс: [Nostocophycideae](#), Қатар: [Nostocales](#), Тұқымдас: [Nostocaceae](#), туыс *Anabaena*.

Дақылдарды өсіру Заррука, BG-11 және Громова №6 сұйық қоректік орталарында жүргізілді. Заррука қоректік ортасының құрамы (г/л): NaHCO<sub>3</sub> - 16,8, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> -1,0, NaNO<sub>3</sub>- 2,5, MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O- 0,2, NaCl - 1,0, CaCl<sub>2</sub> -0,04, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 1,0, р-р ЭДТА+Fe – 1 мл). BG-11 қоректік ортасының құрамы (г/л): NaNO<sub>3</sub> - 0,3 г/л; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 3H<sub>2</sub>O - 0,04 г/л; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O - 0,075 г/л; CaCl<sub>2</sub> x 4H<sub>2</sub>O – 0,036 г/л; лимон қышқылы– 0,006 г/л; Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> – 0,006 г/л; NH<sub>4</sub>Cl – 0,3 г/л; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – 0,02 г/л; Na<sub>2</sub>ЭДТА (Трилон Б) – 0,001 г/л; микроэлемент ерітіндісі–1 мл/л. BG-11 ортасына арналған микроэлемент ерітінділері: Na<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 2,86 г/л; MnCl<sub>2</sub> x 4H<sub>2</sub>O – 1,81 г/л; ZnSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O – 0,022 г/л; CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O – 0,079 г/л; Na<sub>2</sub>Mo<sub>4</sub>x 2H<sub>2</sub>O – 0,39 г/л; Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> x 6H<sub>2</sub>O – 0,05 г/л.). Және Громова № 6 ортасының құрамы (г/л): KNO<sub>3</sub> – 1,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,2; MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O – 0,2; CaCl<sub>2</sub> – 0,15; NaHCO<sub>3</sub> – 0,2; микроэлемент ерітіндісі (г/л): CaCl<sub>2</sub> – 1,2; ZnSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O – 0,22; MnSO<sub>4</sub> – 1,81; CuSO<sub>4</sub>×5H<sub>2</sub>O – 0,079; NaBO<sub>3</sub>×4H<sub>2</sub>O – 2,63; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub> Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>×4H<sub>2</sub>O – 1,0; FeSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O – 9,3; Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>×H<sub>2</sub>O – 0,02; ЭДТА (трилон В) – 10,0).

Дақылдау зертханалық люминоустат жағдайында үздіксіз режимде 25-40°С температурасында, жасанды жарықтандыру барысында жүргізілді.