

**6B05107 «Биология» білім беру бағдарламасы
MB3219 - «Микроорганизмдер экологиясы»**

**Күзгі семестр 2021-2022 оқу жылы
Зертханалық жұмыстар әдістемесі**

1-ші апта.

ЗС 1 Микробиологиялық зертханада жұмыс істеу ережелері. Микроскоптау техникасы.
Микробиологиялық препараттар дайындау.

Жұмыстың мақсаты – Микробиология зертханасында жұмыс істеу ережелерін, микроскоптаудың және микробиологиялық препараттар негізгі тәсілдерін зерттеу.

Міндеттері: - Микробиология зертханасында жұмыс істеу ережелерімен, микробиологиялық зертханадағы қауіпсіздік ережелерімен танысу. Микроскоптау тәсілдерімен танысу. Микроскоптың құрылысын, микроскоптаудың негізгі тәсілдерін игеру.

Қажетті құралдар мен заттар: микроскоп, заттық және жабын шынылар, микроорганизмдер

1. Микробиологиялық практикум кезінде жұмыс істеу ережелері.

Микробиологиялық зертханадағы қауіпсіздік ережелері.

1. Микробиологиялық зертханада жұмыс істеу кезінде белгілі бір ережелер сақталуы қажет. Сабақ техникалық қауіпсіздік ережелерімен таныстырудан басталады. Зертханаға сыртқы киіммен, бас киіммен кіруге болмайды және бөгде заттарды кіргізуге тыйым салынады. Зертханалық сабаққа халат киіп қана кіру қажет. Бір орында жұмыс жасау қажет және бекінген құрал-жабдықтарды ғана қолдану керек.

Жұмыс істеу кезінде бактериологиялық ине және тұзақ от жалынында микроорганизмдермен жұмыс істеудің алдында және соңында қыздырылады.

Зертханада тамақ жеуге мүлдем болмайды. Сабақ аяқталған соң жұмыс орны дезинфекцияланады, қолданылған материалдар және басқа заттар лаборантқа тапсырылады, қолды сабынмен жуады, бөлмені желдетеді (30 мин), УК-шамдармен сәулелендіреді. Зерттеу қорытындылары жазба түрінде жазылынып алынады.

**2. Микроскоп. Микроскоптаудың негізгі ережелері.
Микроорганизмдерді микроскоптаудың негізі әдістері.**

Микроорганизм клеткаларының морфологиясы және құрылысын зерттеу кезінде клеткаларының мөлшері микрометр (1 мкм = 0,001 мм), нанометр (1 нм = 0,001 мкм), ангстреммен (1 А° = 0,1 нм) өлшенетін клеткаларды өлшеу тек микроскоптың көмегімен ғана жүзеге асады. Микроскоп зерттелетін нысандарды жүздеген (жарық микроскопы) және ондаған мың (электронды микроскоп) есе үлкейтуді қамтамасыз етеді. Жарық микроскопында кескін нысан мен оның құрылым элементтерінің әр түрлі толқын

ұзындықты жарықты таңдамалы жұтуының немесе нысан арқылы жарықтың өтуі кезінде жарық толқынының фазаларының өзгеруі нәтижелерінде айқындалады.

Микроскоп механикалық және оптикалық бөлімнен тұрады. Механикалық бөлім заттық стөлі бар штативтен, тубустан, макро- және микрометриялық бұрандалардан тұрады.

Оптикалық бөлім жарықтандырғыш аппараттан, объективтен және окулярдан құралады. Объектив микроскоптың маңызды бөлімі болып табылады. Ол зерттелетін нысанның нақты үлкейтілген және қайтымды кескінін береді. Объектив бірнеше линзалардан тұрады. Ең маңыздысы - сыртқы (фронталды) линза, оның фокусты

арақашықтығына объективтің үлкейту күші тәуелді болып келеді. Фронталды линзаның қисықтығы жоғары болған сайын, фокусты арақашықтық қысқа болады да, ал объективтің үлкейтілуі жоғары болады. Объективтің үлкейту күші оның оправасында көрсетіледі.

3. Микробиологиялық препараттар дайындау.

Препараттарды заттық шыныларда дайындайды. Ең алдымен заттық шынының бетін дайындап алу керек. Шынының беті тазаланған немесе майсызданған болуы керек. Майсыздандырудың ең тиімді жолы - шыныларды хром қоспасымен өңдеп, су және спиртпен шаю. Ал күнделікті жұмыста құрғақ шыныны сабынмен жуып, таза сүрткішпен сүрту жеткілікті.

Тірі клеткалардың препараттары. *«Жаншылған тамшы» препараты.* «Жаншылған тамшы» препараты микроорганизм клеткаларының пішінін, олардың мөлшерін және орналасуын, спора түзулерін, қозғалғыштықтарын зерттеу үшін қолданылады.

Препаратты дайындау үшін заттық шыныға бір тамшы су тамызып, оған тұзақпен зерттеу материалын енгізіп, араластырады да, жабынды шынымен жауып, микроскоп арқылы зерттейді.

«Ілінген тамшы» препараты. Бұл препарат микроорганизмдердің көбеюін бақылауда, споралардың түзілуін және дамуын зерттеуде, сонымен қатар қозғалғыштықты бақылауда қолданылады. Бұл препаратты дайындау үшін арнайы ойығы бар шыны қолданылады. Жабынды шынының бетіне вазелин жағады, ал ортасына бактериалды дақылдың тамшысын енгізеді. Одан кейін тамшы ойықтың ортасында тұратындай етіп заттық шыны үстіне жабынды шыныны жабады. Тамшы ойықтың үстінде, ойықтың түбіне де, шетіне де тимей ілініп тұруы қажет.

«Таңбалы» препарат. Препарат микроорганизмдердің колонияларында клеткалардың табиғи орналасуын зерттеуде, ал кейде спора формаларын бақылауға қолданылады.

Микроорганизмдер бөлек колониялар немесе газон түрінде өскен агарланған ортадан скальпель арқылы бөлшек кесіп алып, заттық шыныға көшіреді. Бұнда бөлшектегі микроорганизмдер жоғары қарап тұруы қажет. Одан соң газон немесе колонияға таза жабынды шыныны жауып, үстінен тұзақ не қысқышпен аздап басады. Алынған препаратты заттық шыныдағы су немесе метилен көктің тамшысына таңбамен қаратып енгізеді. Таңбаны колония немесе газон бетіне заттық шыныны тигізу арқылы да алуға болады.

Бекітілген боялған клеткалардың препараттары. Бекітілген немесе фиксирленген препараттар микроорганизмдердің бірқатар морфологиялық ерекшеліктерін зерттеуде, клеткаларды санауда және дақыл тазалығын тексеруде қолданылады.

Майсызданған заттық шыныға тамшы су тамызып, тұзақпен зерттеу материалын енгізеді. Алынған суспензияны біркелкі, жұқа жұғынды алу үшін тұзақ арқылы жаяды. Жұғындыны бөлме температурасында ауада кептіреді. Егер жұғындының кебуі жай болса, онда жұғындыны от жалынының үстінде жылы ауада ұстайды.

Препараттарды бірнеше мақсатпен бекітеді: микроорганизмдердің тіршілігін тоқтату; клеткалардың шыныға жабысуын қамтамасыз ету; жұғындыны бояуға сезімтал ету, себебі тіршілігін жойған клеткалар тірі клеткаға қарағанда жақсы боялады. Бекітудің кең тараған әдісі жылумен өңдеу болып табылады. Ол үшін препаратты жұғындыны жоғары қаратып, оттың жалынының ең ыстық бөлігінен бірнеше рет өткізеді.

Микроорганизм клеткаларын бояу үшін, көбінесе фуксин, геницианды көгілдір, метиленді көк бояулары пайдаланылады. Жұғындыға бояуды тамызып, 1-3 минут ұстайды. Бояу аяқталғаннан кейін препараттарды ағып жатқан су түссізденгенше шаяды. Одан кейін препаратты кептіріп, микроскоп арқылы бақылайды.

2 апта.

ЗС 2 Микроорганизмдердің алуантүрлілігі. Бактериялар мен ашытқылырдың морфологиясы.

Зертханалық сабақтың мақсаты – микроорганизмдердің морфологиялық ерекшеліктерін зерттеу.

Зертханалық сабақтың міндеті – микроорганизмдердің клетка морфологиясы зерттеу, бөліп алған микроорганизмдердің культуралар мен коллекциядағы штамдардың клетка морфологиясын салыстыру (әртүрлі туысқа стрептомицеттер мен микроскопиялық саңырауқұлақтар).

Микроорганизмдердің морфологиясын зерттеу. Колониялардың морфологиясы (макроморфология) – петри табақшасындағы қоректік орталарға өсірген кезде зерттейді. 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 бөледі:

Колония пішіні – дөңгелек, амеба тәрізді, дұрыс емес пішінді, тармақталған (ризоидты) және т.б., үшін өсіп шыққан колонияларын 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 – жалпак, дөңес, кратер тәрізді, конус тәрізді 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)

Микроорганизмдердің клетка морфологиясы. Бактериялар - бір клеткалы организмдер, пішіндері бойынша 3 негізгі топқа бөлінеді: дөңгелек, таяқша тәрізді және иілген таяқшалар. Дөңгелек бактериялар немесе коктар орналасуына байланысты микрококстар, диплококстар, стрептококстар, тетракокстар, сарциналар және стафилококстар болып бөлінеді. Таяқша тәрізді микроорганизмдер клеткалар мөлшері, олардың орналасуы және спора түзу қабілеттіліктері бойынша ажыратылады. Олар бөлек клеткалар немесе тізбек түрінде орналасуы мүмкін. Спора түзетін таяқшалар бациллалар деп аталады. Иректелген бір клеткалы бактериялар клетканың формасы және ирек санына байланысты 3 топқа бөлінеді: вибриондар, спириллалар, спирохеталар. Негізгі пішіндерімен қатар табиғатта микроорганизмдердің басқа

да формалары кездеседі. Клеткалардың пішінін «жаншылған тамшы» препаратымен, ал майда бактерия клеткаларының пішіндерін бекітілген боялған препараттарымен анықтайды.

Қажетті материалдар мен құралдар: Ет-пептонды агар және Сабуро ортасы құйылған Петри табақшалары, залалсыздандырылған тұзақтар, заттық шыны, жабынды шыны, микробиологиялық тұзақ, қажетті бояулар, спирттік шам, микроскоптар.

Тапсырмалар: 1. Ауа микрофлорасымен танысу. 2. Оқу ғимаратының әр түрлі бөлмелеріне қойылған Петри табақшаларындағы өскен микроорганизмдердің колонияларды сипаттау. 3. Микроорганизмдердің таза культураларын бөліп алу. 4. Бөліп алған культуралар мен коллекциядағы штамдардың клетка морфологиясын салыстыру (әртүрлі туысқа жататын бактериялар). 5. Бөліп алған микроорганизмдердің клетка морфологиясын бекітілген препараттар дайындап зерттеу, суреттерді салып, түсініктеме беру.

Бақылау сұрақтары

1. Ауадан микроорганизмдерді бөліп алу қалай жүзеге асады?
2. Микроорганизмдердің макроморфологиясын сипаттау әдістері қандай?
3. Клетка морфологиясы зерттеу қалай жүзеге асады?
4. Бөліп алған микроорганизмдердің культуралар мен коллекциядағы штамдардың клетка морфологиясын салыстыру, ұқсастықтары мен айырмашылықтары.

3 апта.

ЗС 3. Микроорганизмдердің алуантүрлілігі. Зең саңырауқұлақтары, көк-жасыл балдырлардың және актиномицеттердің морфологиясы.

Бөліп алған микроорганизмдердің культураларының морфологиясын зерттеу.

Зертханалық сабақтың мақсаты – микроорганизмдердің морфологиялық ерекшеліктерін зерттеу.

Зертханалық сабақтың міндеті – микроорганизмдердің клетка морфологиясы зерттеу, бөліп алған микроорганизмдердің культуралар мен коллекциядағы штамдардың клетка морфологиясын салыстыру (әртүрлі туысқа стрептомицеттер мен микроскопиялық саңырауқұлақтар).

Актиномицеттер – грамаң микроорганизмдердің үлкен тобы, олардың клеткалары тармақталуға қабілетті. Көптеген актиномицеттер қоректік ортаға еніп өсетін субстратты мицелий түзеді. Ауалы мицелийдің гифтерінің ұшында споралар немесе споралар бар спорангийлер қалыптасады. Актиномицеттер спора арқылы, клеткалардың бөлінуі немесе тармақталуы арқылы көбейеді. Спора түрін, спора формасын зерттеу үшін актиномицеттердің колониясынан таңбалы препарат дайындайды. Таңбаны ауада кептіріп, жалында бекітеді де, фуксинмен бояп, сумен жуады. Микроскоп арқылы препаратта мицелийдің бөліктері, спора түзу түрі, споралардың формалары көрінеді. Саңырауқұлақтар эукариотты организмдерге жатады, мицелиалды құрылымға ие. Олар жынысты және жыныссыз жолмен көбейеді.

Саңырауқұлақтарды зерттеу кезінде «жаншылған тамшы» препараты қолданылады. Заттық шыныдағы су тамшысына сірке қышқылын тамызып, оны араластырады. Сірке қышқылын саңырауқұлақтардың конидийлері сумен нашар суланатындықтан қосады. Бактериологиялық иненің көмегімен колониялардың агарсыз аймағын алады да, тамшыға салып, мицелийлерін ақырын жаяды, жабынды шынымен жауып, 8х, 40х объективтерімен,

микроскоппен қарайды. Колонияларды микроскоптау кезінде мицелийдің бөлінуіне, спорангийлердің құрылысына, спора пішініне назар аударады және мицелий диаметрін анықтайды.

Қажетті материалдар мен құралдар: Ет-пептонды агар және Сабууро ортасы құйылған Петри табақшалары, залалсыздандырылған тұзақтар, 3 аттық шыны, жабынды шыны, микробиологиялық тұзақ, қажетті бояулар, микроскоптар

Тапсырмалар: 1. Микроорганизмдердің клетка морфологиясы зерттеу. 2. Бөліп алған микроорганизмдердің культуралар мен коллекциядағы штамдардың клетка морфологиясын салыстыру (әртүрлі туысқа стрептомицеттер мен микроскопиялық саңырауқұлақтар).

Бақылау сұрақтары

1. Жетілмеген саңырауқұлақтар, олардың конидиносецтері мен конидийлерінің ерекшеліктері
2. Ашытқы саңырауқұлақтары және олардың морфологиялық ерекшеліктері қандай?
3. Актиномицеттер, олардың ерекшеліктері?
4. Бөліп алған микроорганизмдердің (әртүрлі туысқа стрептомицеттер мен микроскопиялық саңырауқұлақтар) культуралар мен коллекциядағы штамдардың клетка морфологиясын салыстыру, ұқсастықтары мен айырмашылықтары.

4 апта.

ЗС 4. Бактерияларға сыртқы орта факторларының әсері. Микроорганизмдерге жоғарғы температураның және ортаның рН әсерін анықтау. Бактериялардың УК-сәулелерінің әсерін анықтау. Микроорганизмдерге антибиотиктер мен химиялық заттардың әсерін анықтау.

Зертханалық жұмыстың мақсаты: - бактерияларға сыртқы ортаның әсерін зерттеу.

Зертханалық жұмыстың міндеті: - бөліп алған бактерия культураларына жоғарғы температура әсерін зерттеу.

Спорасыз бактерияларға жоғары температураның әсері.

Су моншасын 80 °С-ға дейін қыздырады. Қатырылған ет-пептонды агары бар Петри табақшасын түбі жағынан үш секторға сызады, олар дақылдың қызуы уақыты бойынша (0-10-30) белгіленеді. Физиологиялық ерітіндіде (NaCl 0,85% ерітіндісі) 0 секторға бактериологиялық тұзақпен алдын ала дайындалған спорасыз бактерияларды (*Escherichia coli*) егеді, яғни қыздырусыз. Егу агардың бетінде штрих әдісімен жүргізіледі. Дақылы бар пробирканы су моншасына салып, 10 мин жылытады, одан кейін 10 секторға дақыл себеді. Шыны түтікті су моншасына қайта орналастырады, қосымша 20 мин жылытады және дақылдарды 30 секторына (жалпы дақылды жылыту уақыты) себеді. Петри табақшаларын 37°С температурада термостатқа салады.

Споралық бактерияларға жоғары температуралардың әсері.

Бұл бактериялардың ыстыққа төзімділігі (*Bacillus subtilis*) спорасыз бактериялардың термиялық төзімділігін анықтауға ұқсас анықталады.

Зең саңырауқұлақтарының өсуіне жоғары температуралардың әсері.

Бұрын дайындалған сусло-агары қатып қалған Петри табақшаларының түбінің жағынан – 5, 25, 40 (белгілер саңырауқұлақ өсіру температурасына сәйкес келеді) жазады және табақшаларды жоғары қаратып орайды. Алдын ала дайындалған пробирканы сулы суспензиясы бар зең саңырауқұлақтарының спорасын алады және табақшаның ортасында сусло-агардың бетіне суспензия тамшысын бактериологиялық тұзақтармен егеді. Егілген Петри табақшаларын тиісті температураларда (5, 25 және 40оС) дақылдарды өсіру үшін түбін жоғары қаратып қояды.

Нәтижелерді талдау. Термотұрақты-спорасыз және споралы бактерияларды анықтау үшін табақшалардың секторларын қарайды, өсудің болмауын немесе болуын анықтайды; өсу қарқындылығын тығыздығы бойынша және қабат ауданы бойынша көзбен шолу әдісімен анықтайды, бұл ретте мынадай белгілерді пайдаланады: "-" өсудің болмауы, "+" әлсіз өсу, "++" қалыпты өсу, "+++" жақсы өсу. Дақылдардың біртектілігін бақылау үшін барлық секторлардың дақылдарынан (бір табақшада бірнеше жағынды) фуксинмен боялған препараттарды дайындайды, микроскопиялайды және бояйды. Тәжірибе нәтижелерін 1-кестеге енгізеді.

1-ші кесте.

Жоғары температураның микроорганизмдерге әсері

Культураның аты	80 °С–тан кейінгі өсу деңгейі , мин			Қорытынды
	0	10	30	
<i>Escherichia coli</i>				
<i>Bacillus subtilis</i>				
Ескерту: "-" өсудің болмауы, "+" әлсіз өсу, "++" қалыпты өсу, "+++" жақсы өсу.				

Зең саңырауқұлағының дамуына температураның әсері мынадай көрсеткіштер бойынша зерттеледі: колониялар диаметрінің шамасы (табақшаның түбі жағынан миллиметрлік қағаз сызығымен өлшенеді) және споралардың болуы (колонияның боялған аймағының шамасы). Нәтижелер 2-кестеде сипатталады.

2-ші кесте.

Зең саңырауқұлағының дамуына температураның әсері

Дақылдарды температурасы, °С	өсіру	Саңырауқұлақтың қарқынды даму көрсеткіштері,	
		мм	Спора
	Колонияның диаметрі		
40			
55			

Материалдар мен жабдықтар: МПА, Сабуро бар Петри табақшалары; МПБ пробиркалары; стерильді құбыр суы бар пробиркалар; бактерия және ашытқылар суспензиясы, лайлану стандарттары; антибиотикты дисктар; бактериялық тұзақ; 1 мл пипеткалар; Дригальский шпателі, спирт шам.

5 апта.

ЗС 5. Бактерияларға сыртқы орта факторларының әсері. Микроорганизмдерге

жоғарғы температураның және ортаның рН әсерін анықтау. Бактериялардың УК-сәулелерінің әсерін анықтау. Микроорганизмдерге антибиотиктер мен химиялық заттардың әсерін анықтау.

Ет-пептон сорпасында бактериялардың өсуіне рН ортасының әр түрлі мәндерінің әсері (МПБ)

Зертханалық жұмыстың мақсаты: - бактерияларға сыртқы ортаның әсерін зерттеу.

Зертханалық жұмыстың міндеті: - бөліп алған бактериялардың өсуіне рН ортасының әр түрлі мәндерінің және УК сәулелерінің әсерін зерттеу.

Құрамында рН 3, 5, 7, 9 мәні бар стерильді ет-пептонды сорпа бар шыны пробиркаларды дайындайды. Әрбір пробиркаға стерильділік ережелерін қатаң сақтай отырып, бактериялық тұзақпен бактериялық дақылдарды (*Bacillus subtilis* немесе *Escherichia coli*) егеді. Пробиркаларды 37 °С температурада термостатқа салады.

Нәтижелерді талдау. Пробиркаларда өсудің болмауын немесе болуын анықтайды. Өсу қарқындылығы жасушалардың тығыздығы бойынша көзбен шолып бағалайды, бұл ретте келесі белгілерді пайдаланады: "- "өсудің болмауы,"

+ "әлсіз өсу," ++ "қалыпты өсу," +++ "жақсы өсу. Тәжірибе нәтижелерін кестеге енгізеді.

Дақыл біртектілігін бақылау үшін фуксинмен боялған, барлық пробиркалардан (бір заттық шыныда бірнеше жағынды) препараттар дайындайды, микроскопиялайды және суретін салып алады.

3-ші кесте.

Бактериялардың өсуіне ортаның әртүрлі рН мәндерінің әсері

Культураның атауы	рН орталар				Қорытынды
	3	5	7	9	
<i>Escherichia coli</i>					
<i>Bacillus subtilis</i>					

Ескерту: "- " өсудің болмауы, "+" әлсіз өсу, "++" қалыпты өсу, "+++" жақсы өсу.

Ультракүлгін сәулелердің (УФЛ) микроорганизмдерге әсерін зерттеу

МПА қоректік ортасы бар Петри табақшаларына 1 тамшы бактерия культураны тамызып, Дригаль шпательінің көмегімен жаймалайды. Содан кейін микроорганизмдердің тұтас газонының орталық бөлігіне стерильді трафарет салынады және ашық табақшаны сәулелендіру көзінен 10-20 см қашықтықта 20- 30 мин кварц шаманың сәулелендіру құралына қояды. Содан кейін трафаретті алып тастайды, табақшаларды жабады және 28 °С температурада инкубациялайды. Тәжірибе нәтижелері 5-7 тәуліктен кейін бақыланады. Микроағзалардың өсуі ультракүлгін сәулелердің әсерінен трафаретпен жабылған агар учаскесінде ғана көрінеді. Ортаның қалған бөлігі стерильді болады. Сәулелердің әсері сәулеленуге ұшыраған микроағзаның қашықтығына, уақытына және түріне байланысты болып келеді.

Нәтижелерді талдау. Микроағзалардың әртүрлі культураларына УК- сәуленің әсерін салыстыру. Бақылау нәтижелерін кестеге енгізу және сурет салу.

3-ші кесте.

Бактериялардың өсуіне УК-сәулелерінің әсері

Дақылдың атауы	УК- сәулемен сәулелену уақыты, мин		Қорытынды
	0	20	
<i>Escherichia coli</i>			
<i>Bacillus subtilis</i>			
Ескерту : «-» өсу байқалмайды, «+» өсу бар.			

Материалдар мен жабдықтар: МПА, Сабуро бар Петри табақшалары; МПБ пробиркалары; стерильді құбыр суы бар пробиркалар; бактерия және ашытқылар суспензиясы, лайлану стандарттары; антибиотикты дисктар; бактериялық тұзак; 1 мл пипеткалар; Дригальский шпателі, спирт шам.

6 апта.

ЗС 6. Микроорганизмдердің қоршаған ортада таралуы. Ауа микрофлорасы. Оқу ғимаратындағы ауаның микрофлорасын зерттеу. Кох әдісі бойынша ауа микрофлорасын есептеу. Ауаның санитарлы-микробиологиялық зерттеу әдістері

Зертханалық жұмыстың мақсаты: - ауадан микроорганизмдердің таза культураларды бөліп алу, Оқу ғимаратындағы ауаның микрофлорасын зерттеу, Кох әдісі бойынша ауа микрофлорасын есептеу, ауаның санитарлы-микробиологиялық зерттеу әдістері игеру

Зертханалық жұмыстың міндеті: - Оқу ғимаратындағы ауаның микрофлорасын зерттеу, Кох әдісі бойынша ауа микрофлорасын есептеу, ауаның санитарлы-микробиологиялық зерттеу әдістері игеру

Қоректік орта және материал дайындау. Стерилизацияға дайындау (1 студентке есептегенде): Петри табақшаларын — 10 дана.; пробиркалар — 10; пипеткалар 1 — 2 мл-ге - 10; 5 — 10 мл-ге — 3; бөтелке немесе флакон (мөлшері 500 мл) — 1 — 2 дана.

Дайындау керек: 0,85%-ті NaCl ерітіндісін стерильді (құбыр суын немесе стерильді) — 150 — 200 мл; ЕПА стерильді 150 мл; жартылай сұйық глюкозамен орта 30 мл (3 пробиркаға құю 7—10 мл-ден); Эндо орта— 50 мл (дайын болған соң 2 — 3

стерильді Петри табақшасына құйып, қатқан соң табақшаларды қағазға орап, мұздатқышқа салу керек);

Су және топырақ сияқты ауа микроорганизмдер тіршілік ететін орта болып саналады. Бактериялар көп мөлшерде ауаға шаң-тозаңмен түседі, олардың сандық және сапалық құрамы топырақ микрофлорасымен тығыз байланысты болып келеді. Микроорганизмдер ауада тіршілік еткенімен, ауа олардың көбею ортасы бола алмайды, яғни олар күн сәулесінің әсерінен тіршілігін жояды. Ауа микрофлорасы негізінен климаттық жағдайларға, жыл және тәулік мезгіліне, тұрғылықты жерлерге байланысты өзгеріп отырады. Жаңбырлы күнде микробтар шаңмен қоса топырақтың бетіне шөгіп, ауа тазарады. Ауаның жоғары қабаты микробтардан едеуір таза болып келеді. Адамдар көп жерлерде, ластанған аймақтардың ауасында микроорганизмдер көп мөлшерде кездеседі. Зерттеу міндеттеріне байланысты ауа микрофлорасын зерттеу кезінде түрлі тәсілдер қолданылады. Бөлмелердегі ауа ластануына баға беру үшін Кох тәсілі кең қолданылады. Ол үшін зерттелетін бөлмеге қатты қоректік орта құйылған Петри табақшаларын 5 минутқа ашық қалдырып, уақыт аяқталған соң табақшаның бетін жауып, термостатқа 28°C орналастырады. 2-3 тәуліктік инкубациядан соң ауа микрофлорасына сандық есептеу жүргізеді. Бөлме ауаларында көбінесе бактериялардың кок тәрізді формалары, оның ішінде *Sarcina flava*, споралы таяқшалар, зең саңырауқұлақтары кездеседі. Ауа микрофлорасының 1 м^3 ауадағы ЖМС және СКМ санын Омелянский формуласы бойынша анықтайды.

7 апта.

ЗС 7. Микроорганизмдердің қоршаған ортада таралуы. Топырақ микрофлорасын зерттеу. Әртүрлі экологиялық топтарға жататын микроорганизмдердің жалпы санын анықтау. Қорытынды жасап есеп өткізу.

Зерттеу мақсаты: Микроорганизмдердің қоршаған ортада таралуын зерттеу.

Зертханалық жұмыстың міндеті: - топырақ микрофлорасын зерттеу, әртүрлі экологиялық топтарға жататын микроорганизмдердің жалпы санын анықтау.

Қажетті ыдыстар мен құрал-жабдықтарды дайындау: Петри табақшаларының диаметріне сәйкес сүзгілер - 2, 50 мл су құйылған колбалар, 10 мл су құйылған 5 пробиркалар, 15 - Петри табақшасы, келі мен келсап – 1, мл 1-2 мл пипеткалар, Дриагальский шпательдері – 1,

Қажетті материалдар: Петри табақшасы, пипеткалар, Дриагальский шпательдері, пробиркалар, 0,1 л колбалар, өлшегіш таразылар, фарфор шпательдер, электр плиталары, су моншасы, пробиркаларға арналған штативтер, бромтимол көгі және эмбебап индикаторлар, 30% сілті ерітіндісі, ыдыс-аяқты орауға арналған қағаз.

Топырақтағы микрофлораны зерттеу үшін ережелерге сәйкес алынатын топырақ үлгілерін стерильді ыдыстарға салып, талдау жүргізгенге дейін тоназытқышта сақтау қажет. Топырақ үлгілерімен жұмыс жасауда да бөгде микрофлора еніп кетпес үшін стерильділік ережелерін қатаң сақтау керек. Микробиологиялық зерттеуге алынатын топырақ келесі өңдеулерден өтуі керек: құрғақ топырақты стерильді келіге салады да келсаппен мұқият майдалайды.

Майдаланған топырақтан 5 г алып, оны спирт шамының жалынында 50 мл стерильді су құйылған колбаға салады да топырақ бөліктерінде жабысып тұрған микроб клеткаларының десорбциялануы үшін 5 минут шайқағышта немесе ақырын колбаны қолмен шайқап араластырады. Содан кейін топырақ суспензиясын 30 минуттай топырақтың ірі бөліктері төменге түсу үшін тыныштық жағдайға қояды да он еселік сұйылту жасайды. Бұнда зерттелетін материалдың бастапқы суспензиясында 10 есе сұйытылғаны 5 г топырақты 50 мл суға сұйылтылғаны да есепке алынады. Микроорганизмдердің санына қарай егу үшін

сұйылтулардың сериясын пайдаланыды. Бір тәжірибені жүргізу барысында қате жіберу мүмкіндігін азайту үшін тұрақты коэффициенті сұйылтуды қолданады. Ол үшін бастапқы топырақ суспензиясынан 9 мл ден стерильді құйылған суы бар пробиркаларға стерильді пипеткамен 1 мл құяды. Егер зерттелетін материал бұның алдында 10 есе сұйылтылса онда $1/10^2$ сұйылту алынады. Бұл сұйылтудың суспензиясын мұқият пипеткамен араластырып алып, қайтадан құю арқылы әбден араластырады, осы процедураны 3-5 рет қайталайды. Содан соң осы пипеткамен 1 мл алып келесі 9 мл суы бар пробиркаға құяды. Бұл $1/10^3$ сұйылту болады. Осыған ұқсас келесі $1/10^4$, $1/10^5$ және $1/10^6$ сұйылтуларын дайындайды. Сұйылту деңгейі топырақ үлгілерінде мүмкіндігінше болатын микроорганизмдердің болатын санына байланысты алынады. Сұйылту саны көп болған сайын бастапқы субстраттағы микроорганизмдердің мөлшері көп болады.

Топырақтағы саңырауқұлақтардың санын Сабуро немесе сусло-агарлы ортасына егу арқылы анықтау.

Топырақта саңырауқұлақтардың әртүрлі түрлері спора түрінде де, физиологиялық белсенді мицелий түрінде де өте көп мөлшерде болады. Олардың көбісі топырақтың қалыптасу мен органикалық заттардың минералдану процестерінде маңызды рөл атқаратын сапрофиттер болып табылады. Топырақта саңырауқұлақтардың таралуы және олардың жоғары белсенділігі басқа микроорганизмдермен салыстырғанда қоршаған орта факторларына өте төзімділігіне байланысты болады. Олар кез-келген қышқылдық жағдайға жақсы төзімділік көрсетеді, көпшілігі көптеген бактериялар мен актиномицеттер тіршілік ете алмайтын топырақтағы рН мәні 4-тен төмен болғанда да өсуге қабілетті.

Топырақтағы саңырауқұлақтардың санын анықтау ортаның рН мәні 4,0-4,5 дейін сүт қышқылымен қышқылдандырылған сусло агарлы немесе сабуро ортасында егу арқылы жүзеге асырылады. осындай қышқылдықтағы ортада көптеген бактериялар мен актиномицеттер өспейтіндіктен, мицелиалды саңырауқұлақтар мен ашытқыларды өсіп-дамуына мүмкіндік береді. Егу жүргізу алдында қоректік орталарды ерітіп алып, концентрлі сүт қышқылымен 0,4 % көлемде стерильді пипеткамен алып қосады. Ортаны мұқият араластырады. Егуді үш рет сұйытылғаннан кейін $1/10^3$ пробиркасынан 1 мл ден екі стерильді Петри табақшасына құяды, оның үстінен стерильді пипеткамен 40 мл-ге дейін салқындатылған СА ортасын құяды, араластырады да табақшаларды 30 ° С температурада термостатта 3 - 4 күнге қалдырады

8 апта.

ЗС 8. Адам организмінің микрофлорасы Ауыз қуысының микрофлорасы. Грам тәсілі бойынша бояу

Зертханалық сабақтың мақсаты: Адам организмінің микрофлорасын зерттеу

Зертханалық сабақтың міндеті - адамның ауыз қуысының микрофлорасымен танысу, адамның микрофлорасын зерттеу әдістерімен танысу және микроорганизмдерді Грамм әдісімен бояуды меңгеру

Адам микрофлорасын зерттеу (ауыз қуысының микрофлорасы). Әр студент өзінің тіс жиегінен жұғынды дайындап, фиксациялайды да, бекітілген препарат жасап қарайды. Ауыз қуысында көбінесе коктар, таяқшалар, актиномицеттердің кейбір түрлері кездеседі. Тіс жиегінен жұғынды дайындап, бекітілген препарат жасап, бактериялардың морфологиясын сипаттау, суреттерін салу.

Қажетті материалдар мен құралдар: Ет-пептонды агар және Сабууро ортасы құйылған Петри табақшалары , залалсыздандырылған тұзақтар, заттық шыны, жабынды шыны, микробиологиялық тұзақ, қажетті бояулар, микроскоптар.

Дақылдардың боялуға қатынасын Грам бойынша анықтау.

Зерттелетін дақылдардың Грам бойынша боялуға қатынасын анықтау үшін бір майсыздандырылған заттық шыныда әр түрлі микроорганизмдердің жұғындысын жасайды: ортасында – зерттелетін дақылдың жұғындысын, сол және оң жағында – бақылау микроорганизмдері (Грам + және Грам -). Жұғындылар жұқа болуы керек, өйткені бояу нәтижелері жұғындының қалыңдығына байланысты. Жұғындыларды ауада кептіреді, фламбирлеумен бекітеді, 1-2 минут карболды-венцианвиолетпен бояйды, бояғышты жуады және препаратты жумай, оны Люголь ерітіндісімен қарайғанға дейін 1-2 минут өңдейді. Люголь ерітіндісін төгеді және 96° этанолмен 0,5-1 минут түссіздендіреді. Спиртті жұғындыға құйып, шыныны сәл шайқап, оны бірнеше рет өзгертеді. Препаратты сумен шаяды және қосымша 1-2 мин сулы фуксинмен бояу қажет. Бояғышты төгіп, препаратты сумен шаяды, кептіреді және иммерсиямен микроскоптайды. Дұрыс бояу кезінде Грамоң бактериялар көк- күлгін, Грамтеріс-фуксиннің қызыл түсіне боялады. Бақылау жұғындысын зерттелетін дақылмен салыстырады және оның Грам бойынша боялуға қатынасын анықтайды.

9 апта.

ЗС 9. Қоректік орталар. Залалсыздандыру әдістері. Қоректік орталарды дайындау. Микроорганизмдердің таза дақылдарын бөліп алу және өсіру.

Зертханалық сабақтың мақсаты: Микроорганизмдерді дақылдауға арналған қоректік орталарды жасау әдістерімен танысу

Зертханалық сабақтың міндеті - Залалсыздандыру әдістерін және микрооргнаизмдерді дақылдауға арналған қоректік орталар дайындау

Ет-пептонды сорпа (ЕПС) қоректік ортасы. Ет суына 1% пептон мен 0,5% натрий хлоридын қосады. Ет суын пептонның толық ерігеніне дейін араластыра отыра қайнатып, оның рН мөлшерін потенциометрдің көмегімен анықтайды. Қоректікортаның рН-ын 10% натрий сілтісінің ерітіндісі немесе натрий гидрокарбонатының (ас содасының) қаныққан ерітіндісімен 7,4-7,6-ға жеткізеді. Сілтіні сорпаға қосқаннан кейін, оны тағы да 5-10 минут қайнатады. Сонан соң сорпаны дистильденген сумен дымқылданған сүзгіш қағаздан өткізеді. Ет-пептонды сорпаны шыны түтіктерге құйып 120⁰С-та 20-30 минут стерильдейді.

Ет-пептонды агарды (ЕПА) дайындау үшін ЕПС-ға 2-3% агар-агарды қоса отыра балқытады. Балқыту кезінде қоректік ортаны агар-агардың күйіп кетпеуі үшін әлсін-әлсін араластырып отырады. Балқытылған ЕПА-ын ыстық күйінде тез сүзіп (мақталы-дәке арқылы) шыны түтіктерге құяды. «Қиғаш» қатырылған ЕПА-ды 3-4 мл-ден, ал «тік» қатырылған ЕПА-ды шыны түтіктерге 10 мл-ден құяды. Шыны түтіктер тығындармен жабылып 120⁰С-та 20-30минут стерильденеді.

Қоректік орта және материал дайындау. Стерилизацияға дайындау (1 студентке есептегенде): Петри табақшаларын — 10 дана.; пробиркалар — 10; пипеткалар 1 — 2 мл-ге - 10; 5— 10 мл-ге — 3; бөтелке немесе флакон (мөлшері 500 мл) — 1 — 2 дана.

Дайындау керек: 0,85%-ті NaCl ерітіндісін стерильді (кұбыр суын немесе стерильді) — 150 — 200 мл; ЕПА стерильді 150 мл; жартылай сұйық глюкозамен орта 30 мл (3 пробиркаға құю 7—10 мл-ден); Эндо орта— 50 мл (дайын болған соң 2 — 3

стерильді Петри табақшасына құйып, қатқан соң табақшаларды қағазға орап, мұздатқышқа салу керек);

10 апта.

ЗС 10. Қоректік орталар. Залалсыздандыру әдістері. Қоректік орталарды дайындау. Микроорганизмдердің таза дақылдарын бөліп алу және өсіру

Зертханалық сабақтың мақсаты: Микроорганизмдердің таза дақылдарын бөліп алу және өсіру әдістерімен танысу

Зертханалық сабақтың міндеті - Микроорганизмдердің таза дақылдарын бөліп алу және өсіру әдістерін меңгеру

Микроорганизмдердің тазалығы мұқият тексерілуі керек. Ол әдетте бірнеше әдістерді қолдану арқылы жүзеге асады: көзбен көру, микроскоптан бақылау және тығыз қоректік орталарға егу. Микроорганизмдердің тазалығын міндетті түрде микроскоптан бақылау керек. Ол үшін клеткалардан бекітіліп боялған препарат дайындап, иммерсиялық жүйеде қарау керек немесе тірі клеткадан жаншылған тамшы препаратын жасап, фазалы-контрастылы құралды пайдаланып қарау керек. Көпшілік микроорганизмдердің таза культуралары морфологиялық тұрғыда біркелкі болу керек. Бірақ кейбір бактериялардың, мысалы, микобактериялардың, нокардия және т.б. клеткалары өзгермелі болып келеді. Осыған байланысты бұндай культураларды микроскоптан қарағанда біраз қиындықтар туғызады. Сондықтанда ең алдымен бөліп алған культураға қолайлы ортаға егеді. Өсіп шыққан колониялардың біркелкілігі зерттеліп отырған культураның тазалығын көрсетеді. Ол екі жолмен жүзеге асады.

Шпательмен жаймалап егу. Зерттеліп отырған бактерия культурасының клетка үлгісін микробиологиялық тұзақ арқылы алып тиісті орта құйылған Петри табақшаларының біреуіне салады. Содан кейін оны шпательмен жаймалайды, сосын сол шпательді бірден екінші табақшаға екінші, үшінші табақшаларға жайып егеді. Бұл әдістің негізінде клеткаларды сирету жатыр. Себебі микроорганизмді бір табақшадан екінші және үшінші табақшаға шпательмен бірінен кейін біріне екенде клетка сирейді. Өсіп шыққан колониялардың біркелкілігі клеткалардың тазалығын, көрсетеді.

Тұзақпен сиретіп егу. Бактерия клеткасын тұзақпен алып сызық бойымен сирете егу жүргізеді. Әрбір жаңа сызықты жүргізгенде, тұзақты оттың жалынында залалсыздандырады. Егу жүргізіп болған соң барлық Петри табақшаларын микроорганизмдердің өсу жылдамдығына сәйкес термостатқа 1-7 тәулік мерзімге қояды. Жеке колониялар өсіп шығуына кедергі келтіретін с удың конденсаты пайда болмау үшін табақшаның қақпағын төмен қаратып қояды. Микроорганизмдердің тазалығын сызық бойы немесе өсіп шыққан жеке колониялардың біркелкілігінен анықтауға болады.

Қажетті құралдар мен материалдар: ЕПА ортасы құйылған табақшалар, Дригальский шпательі, залалсыздандырылған тұзақтар, заттық шыны, жабынды шыны, микробиологиялық тұзақ, қажетті бояулар.

Тапсырмалар: 1. Бөліп алған бактерия культураларының шпательмен жаймалап егу арқылы тазалығын анықтау. 2. Бөліп алған бактерия культураларының шпательмен тұзақпен сиретіп егу арқылы тазалығын анықтау.

Бақылау сұрақтары: 1. Таза культураларды бөліп алу әдістері 2. Жеке колониялардан таза культуралардан бөліп алу. Тереңдік егу, он еселік сұйылту ідісін қалай жүзеге асырады? 3. Микроорганизмдердің культураларын бір клеткадан бөліп алу. 4. Бөліп алған культуралардың тазалығын тексеру

11 апта.

ЗС 11. Азот, күкірт және көміртегі айналымына қатысатын микроорганизмдерді бөліп алу және зерттеу.

Зертханалық сабақтың мақсаты: Азот, күкірт және көміртегі айналымына қатысатын микроорганизмдерді бөліп алу және зерттеу әдістерімен танысу

Зертханалық сабақтың міндеті - Азот, күкірт және көміртегі айналымына қатысатын микроорганизмдерді бөліп алу және зерттеу әдістерін меңгеру

Органикалық азот қосылыстарын минерализациялауда үлкен рөл атқаратын спорт түрлерінің, әсіресе аэробты спора түзетін бактериялардың (*Bacillus* туысы) қарқынды дамуы топырақта микробиологиялық процестердің қарқындылығын көрсетеді.

Бактериялардың эндоспоралары – вегетативті клеткалардың өсуін тежелуін, қолайсыз әсерлерге төзімді, тыныштықтық күйдегі клеткалардың түрі. Барлық гетеротрофтылардың споралы және спора түзбейтін болып жіктелінуіне негіз болып табылады.

Материалды қоректік орталарға егу алдында бір реттік қыздыру (пастеризация) барлық вегетативті клеткаларды өлтіреді, ал споралар тіршілікке қабілетті күйінде қалады және спора түзуші бактериялардың саны ары қарай қоректік орталарға егу жүргізілгенде анықталады. Пастеризацияның ұзақтығы мен температура деңгейі материалдың термиялық өңдеуге төзімділігін, оның микроорганизмдермен ластануының болжамды деңгейін және зерттеу мақсатын анықтайды

Аэробты спора түзуші бактерияларды санын анықтау үшін ЕПА және СА (1: 1) қоспасында (ЕПА+СА) суспензияның $1/10^3$ сұйылтуынан алып алдын ала 80°C 10 минут ішінде пастеризациялайды, яғни қыздырып алып, 0,05 мл ден пипеткамен алып 2 Петри табақшасының бетіне егу жүргізеді. Содан кейін 30°C температурада 3-4 күн аралығында өсіреді.

Жұмыс барысы: ЕПА+СА, КАА, Эшби, Виноградский ортасына топырақтағы микроорганизмдерді өсіру әдісін жазу. Топырақ суспензиясынан сұйылту дайындап $1/10^3$ МПА+СА қоспасына, $1/10^3$ КАА, $1/10^1$ және $1/10^2$ сұйылтуларынан Виноградский ортасына егу; топырақ түйіршіктерін Эшби ортасына трафаретпен орналасатыру.

КАА және ЕПА+СА-ға егілген табақшаларды 30°C термостатқа, Эшби және Виноградский ортасы бар табақшаларды 28°C температурада ылғалды камераға қою
Пробиркаларда ЕПА ерітіп құйып қиғаш агар дайындау.

Топырақтағы гетеротрофты бактерияларды, саңырауқұлақтарды және денитрификаторларды санын анықтау әдісін жазу.

ЕПА-ға өскен гетеротрофты бактериялардың санын анықтау. Схема бойынша топырақтың осы үлгісінде басым бір колонияны сипаттау.

Қышқылданған СА ортасында мицелиалды саңырауқұлақтардың санын анықтау, 2 басым өсіп шыққан колонияны сипаттау. 1 кестені толтыру.

12 апта.

ЗС 12. Нитрифицирлеуші және денитрифицирлеуші микроорганизмдердің жинақтаушы культураларын алу және азоттұтқыш микроорганизмдерді топырақтың түйіршікті әдісі арқылы бөліп алу.

Зертханалық сабақтың мақсаты: Нитрифицирлеуші және денитрифицирлеуші микроорганизмдердің жинақтаушы культураларын алу және азоттұтқыш микроорганизмдерді топырақтың түйіршікті әдісі арқылы бөліп алу әдістерімен танысу

Зертханалық сабақтың міндеті - Нитрифицирлеуші және денитрифицирлеуші микроорганизмдердің жинақтаушы культураларын алу және азоттұтқыш микроорганизмдерді топырақтың түйіршікті әдісі арқылы бөліп алу әдістерін меңгеру

Денитрифицирлеуші микроорганизмдерді он еселік сұйылту әдісі арқылы анықтау.

Денитрификация – нитраттардың молекулалық азотқа дейін тотықсыздандыратын микробиологиялық процесс. Денитрификаторлардың физиологиялық топтары табиғатта кең таралған, оған әртүрлі туыстардың өкілдері кіреді. Олар хемоорганотрофтар, факультативті анаэробтар.

Денитрификаторлардың санын он еселік сұйылту әдісі арқылы анықтайды. Әдістің мәні мынада. Сұйық қоректік орталар құйылған пробиркаларға әртүрлі сұйылтулардан көлемі қатаң өлшенген зерттелетін суспензиялардан құяды. Инкубациялағаннан кейін өсудің бар немесе жоқ екендігін қарайды, нәтижелерді арнайы кестемен өңдейді және денитрификаторлардың санын 1 г бастапқы топыраққа есептейді.

Гильтай қоректік ортасына егу тәжірибеге өсуі барлық параллельді пробиркаларда болатындай, сондай-ақ параллельді пробиркалардың барлығында өсетін, сонымен қоса кейінгі сұйылтуларда параллельді пробиркалардың бірде бірінде өспейтіндей етіп өсіру есебінде бірнеше сұйылтудан жүргізеді. Бұны көздеу мүмкін болмаған кезде, өсіруді бірнеше сұйылтудан егу арқылы жасалады. Егер бірінші тәжірибеде даму шекарасын анықтау мүмкін болмаса, онда қайтадан жаңа сұйылту жасайды да қайталап егу жүргізеді. Егуді мына сұйылтулардан - $1/10^4$, $1/10^5$, $1/10^6$ үш қайталаудан (әр сұйылтудан 3 пробирка) жасайды. Суспензияны пробирканың түбіне құяды. Денитрификаторлардың өсуін бағалау үшін бір пробиркадағы ортаны стерильді бақылау үлгісі ретінде қалдырады. Пробиркаларға егу материалын салған соң стерильді ортаны пробирканың аузына 4-5 см жетпейтіндей етіп құяды. Өсіруді 30 °C температурада 3-4 тәулік жүргізеді.

Қажетті материалдар: стерильді қоректік орталар, ыдыстар, топырақ үлгілері, спирт, мақта, скальпель, спирт шамдары, пробиркаларға арналған штативтер, су моншасы, салмағы бар таразылар, электр плиталары

13 апта.

ЗС 13. Приманка әдісі арқылы және сұйық орталарда целлюлоза ыдыратушы микроорганизмдерді бөліп алу және көмірсутегін тотықтырушы микроорганизмдерді (бактериялар және ашытқылар) бөліп алу.

Зертханалық сабақтың мақсаты: Приманка әдісі арқылы және сұйық орталарда целлюлоза ыдыратушы микроорганизмдерді бөліп алу әдістерімен танысу

Зертханалық сабақтың міндеті - Приманка әдісі арқылы және сұйық орталарда целлюлоза ыдыратушы микроорганизмдерді бөліп алу әдістерін меңгеру

Анаэроб целлюлоза ыдыратушы микроорганизмдер табиғатта кең тараған. Олар топырақта, суда, тоғандар асты балшығында, бөгендерде, күйіс қайыратын малдардың қарнында кездеседі. Үлкен қарында үнемі тем-пература мен рН көрсеткіші бірқалыпты болып, кеп ауытқымайды. Сондықтан да ол қарындағы клетчатканы біршама жақсы ыдыратады. Осы процесте олар мал организмiне аса қажеттi қосымша қоректiк қасиетi бар белок және түрлi витаминдердi түзедi.

Топырақтағы анаэроб клетчатка ыдыратушы микроорганизмдердi тексеру мақсатында В. Л. Омелянский қоректiк ортасын даярлайды.

Оның құрамы:

ет-пептонды сорпа 300 мл,

кұбыр суы 700 мл,

(NH₄)₃PO₄0 г,

K₂HPO₄ 1.0 г.

Na₂SO₄ 0,1 г,

бор 2,0,

FeSO₄ 2тамшы (1%-тi ерiтiндi).

Қоректiк ортаны автоклавта 1 атм. 30 минут бойына зарарсыздандырады. Пробиркалар мен колбалар иiктiгiнiң ²/3 көлемiне жеткiзе қоректiк орта құйылады. Оған 0,5—1 т тексерiлетiн топырақ салып, барлығын мин қайнатады. Сонда спора түзбейтiн микробтар қырылып қалады. Бұдан соң бiрнеше тiлкем қағазды сүзгiш) пробиркаға салады да үстiне қосымша қорек- тiк орта құйып, газ шығатын түтiгi бар тығынмен тығындайды. Түтiктiң екiншi ұшы суы бар стақанға малынады. Аспапты температурасы 30—35° С термостатқа салып қояды. Микробтар өскен сайын қағаз сарғаяды да бетi шырыштанады, ал 1,5—2 аптадан соң сүзгiш сағаздың тiлкемi мүлде ыдырап, жеке тiндерге айналып кетедi. Бұдан соң ортаны микроскоп арқылы қарау үшiн жұғын даярлап, жұғындағы клетчатканы анаэробты жағдайда ыдыратқыштардың шетiне iрi споралары бар аздап иiлген таяқша тәрiздi бактериялар жиналады.

Қоректiк орта және материал дайындау. Стерилизацияға дайындау (1 студентке есептегенде): Петри табақшаларын — 10 дана.; пробиркалар — 10; пипеткалар 1 — 2 мл-ге - 10; 5— 10 мл-ге — 3; бөтелке немесе флакон (мөлшерi 500 мл) — 1 — 2 дана.

Дайындау керек: 0,85%-тi NaCl ерiтiндiсiн стерильдi (кұбыр суын немесе стерильдi) — 150 — 200 мл; ЕПА стерильдi 150 мл; жартылай сұйық глюкозамен орта 30 мл (3 пробиркаға құю 7—10 мл-ден); Эндо орта— 50 мл (дайын болған соң 2 — 3 стерильдi Петри табақшасына құйып,қатқан соң табақшаларды қағазға орап, мұздатқышқа салу керек);

14 апта.

ЗС 14. Приманка әдісі арқылы және сұйық орталарда целлюлоза ыдыратушы микроорганизмдерді бөліп алу және көмірсутегін тотықтырушы микроорганизмдерді (бактериялар және ашытқылар) бөліп алу.

Зертханалық сабақтың мақсаты: Приманка әдісі арқылы және сұйық орталарда көмірсутегін тотықтырушы микроорганизмдерді (бактериялар және ашытқылар) бөліп алу әдістерімен танысу

Зертханалық сабақтың міндеті - Приманка әдісі арқылы және сұйық орталарда көмірсутегін тотықтырушы микроорганизмдерді (бактериялар және ашытқылар) бөліп алу әдістерін меңгеру

Материалдар мен жабдықтар: МПА, Сабуро бар Петри табақшалары; МПБ пробиркалары; стерильді құбыр суы бар пробиркалар; бактерия және ашытқылар суспензиясы, лайлану стандарттары; бактериялық тұзақ; 1 мл пипеткалар; Дригальский шпателі; стерильді мақта тампондары; пинцеттер; спирт шам.

Микроорганизмдердің көмірсулы қосылыстарды пайдалануы. Микроорганизмдердің барлығы бірдей қабілеттілікпен зат алмасуға қажетті көмірсулы қосылыстарды пайдалана алмайды. Әдетте олардың керекті көмірсулы қосылыстарда өсу мүмкіншіліктерін құрамында көміртегінің жалғыз көзі ретінде түрлі моно-, ди-, және полисахаридтерді, көп атомды спирттерді, органикалық қышқылдарды, көмірсутектерді қоректік ортаға қосу арқылы анықтайды. Көмірсулар мен көп атомды спирттер ретінде арабиноза, ксилоза, рамноза, глюкоза, фруктоза, манноза, галактоза, сорбоза, сахароза, лактоза, мальтоза, целлюбиоза, рафиноза, декстрин, крахмал, целлюлоза, глицерол, маннитол, дульцитол, сорбитол, инозитол және т.б. пайдаланады.

Қоректік ортаның негізгі фоны келесі құрамнан тұрады (г/л): пептон – 5,0; K_2HPO_4 - 1,0; дистилденген су – 1 литр. Микроэлементтер ерітіндісі – 0,1 мл. 0,5 атмосферада 30 минут залалсыздандырады. Микроэлементтер ерітіндісі г/100 мл: $CuSO_4 \times 5H_2O$; - 0,64; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,11; $MnCl_2 \times 4H_2O$ – 0,79; $ZnSO_4 \times 7H_2O$ – 0,15; дистилденген су – 100 мл; ерітіндіні жеке дайындап, 3-5 оС сақтайды. Микроорганизмдер көмірсулар немесе көп атомды спирттерде өскен кезде органикалық қышқылдарды, бейтарап өнімдер және газдар түзуі мүмкін. Қышқылдардың түзілгендігін ортаның рН өзгеруінен байқауға болады. Ол үшін 1 литр негізгі фонды ортаға 1,6 % индикатордың спиртті ерітіндісінен 2 мл құяды. Индикатор ретінде қоректік ортаның түсін сары түстен көк түске дейін өзгертетін рН 6,0 -7,6 болатын бромтимолблау немесе қошқыл түстен сарыға өзгертетін рН 6,8 -5,2 бромкреозолпурпурды қосады. Содан кейін «негізгі фонды» 8-10 мл құяды, содан кейін алдын-ала қалтқы (поплавки) салады да 1,0 залалсыздандырылғандырады. Көмірсулар мен көп атомды спирттерді 10-40 % сулы ерітінді түрінде жеке дайындап, негізгі фоннан бөлек 0,5 атм-да залалсыздандырады. Залалсыздандырылған ерітінділерді 1мл қосады. Дайын болған ортаға микроорганизмдердің клетка сұйықтығын 0,1 мл алып егеді де 1-5 тәулікке өсіреді. Баяу өсетін микроорганизмдерді 7 -10 тәулік өсіреді. Бақылау ретінде клетка сұйықтығы қосылмаған, зерттелетін көмірсу бар негізгі фонды орта аламыз. Сонымен қатар микроорганизмдердің көмірсулар мен көп атомды спирттерді пайдалану қабілетін тығыз қоректік ортада

анықтауға болады. Бұл жағдайда залалсыздандырылған негізгі фонды тығыз қоректік ортаға а залалсыздандырылған көмірсулар мен спирттердің ерітіндісін қосады да Петри табақша ларына құяды. Содан кейін Петри табақшасының астына маркер немесе карандашпен бөліктерге бөледі. Сосын зерттелетін әрбір микроорганизмді тұзақпен әр бөлікке егеді. Өсіру уақыты 2-10 тәулік. Нәтижелерді өсу қарқындылығымен сипатталады және бақылау ортасымен салыстыра талдау жасайды

15 апта.

ЗС 15. Модуль бойынша өткізілген практикалық сабақтар бойынша тапсырмаларды орындау және бақылау сұрақтарын талдау

Бақылау сұрақтары:

1. Таза культураларды бөліп алу және олардың колонияларын сипаттау әдістері
2. Бактериялардың систематикасы.
3. Бактерияларды практикалық классификациясы мен идентификациясы.
4. Колония дегеніміз не?
5. Микроорганизмдердің колонияларын сипаттау барысында қандай белгілеріне көңіл бөлінеді?
6. Таза культураларды бөліп алу әдістері
7. Жеке колониялардан таза культуралардан бөліп алу. Тереңдік егу, он еселік сұйылту ідісін қалай жүзеге асырады?
8. Микроорганизмдердің культураларын бір клеткадан бөліп алу.
9. Бөліп алған культуралардың тазалығын тексеру
10. Бактерияларға сыртқы ортаның факторларының әсері.
11. Биотикалық және абиотикалық факторлар.
12. Зерттелетін культураларға физикалық факторлардың әсерін бақылау

Ұсынылатын әдебиеттер тізімі:

1. Шигаева М.Х., Цзю В.Л. Микробиология. Қазақ Университеті, 2009 ж.
2. Шигаева М.Х. Экология микроорганизмов. Алматы. Каз. университет. 2002. 171с.
3. Шигаева М.Х. Цзю В.Л. Систематика бактерий . Алматы. «Казак университет», 2008 ,124с.
4. Сыдықбекова Р.К және т.б. Микроорганизмдерді бөліп алу және өсіру. Оқу әдістемелік құрал. Қазақ Универ-ті, 2019 ж.
5. Сыдықбекова Р.К., Мукашева Т.Д.. Микробиология және вирусологияданн Оқу Оқу-әдістемелік нұсқаулық. Қазақ Универ-ті, 2020 ж.
6. Сыдықбекова Р.К. және т.б. Микроорганизмдер экологисы пәнінен Оқу -әдістемелік нұсқаулық. Қазақ Универ-ті, 2020 ж.
7. Практикум по микробиологии / Под ред. А.Н.Петрусова. - М.: Academia . 2005. 597 с

Интернет-ресурстар:

<http://www.gmo.ru/> -
<http://cbio.ru/>-

<http://www.ns-mbz.ru/>-

<http://www.nkj.ru/>- Наука и жизнь