

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ
ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті,
Ш.Ш.Уәлиханов атындағы Көкшетау мемлекеттік
университеті

Заядан Болатхан Қазыханұлы
Өнерхан Гүлжайна

**МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫҢ ТАЗА ДАҚЫЛДАРЫН
БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ БЕЛСЕНДІ
ӨСІРУ ТӘСІЛДЕРІ**

Оқу құралы

Көкшетау 2008

Пікір жазғандар:

А.Б. Әбжалелов - биология ғылымдарының докторы., профессор.

Ә.Т. Қанаев - биология ғылымдарының докторы., профессор.

С.К. Мұхамбетжанов - биология ғылымдарының кандидаты, доцент

3-32 Заядан Б.К., Өнерхан Г.

Микробалдырлардың таза дақылдарын бөліп алу және оларды белсенді өсіру тәсілдері. Оқу-әдістемелік құрал. – Көкшетау: Келешек-2030, 2008. – 95 б.

ISBN 9965-446-95-4

Баспаға әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биология факультетінің Ғылыми кеңесі және Ш.Ш.Уәлиханов атындағы Көкшетау мемлекеттік университетінің оқу әдістемелік кеңесі ұсынған.

Оқу құралы әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биология факультетінің студенттеріне оқылатын арнайы курс материалдарына негізделген. Оқу құралында фототрофты микроорганизмдер, негізінен микробалдырлар мен цианобактериялардың таза дақылдарын бөліп алу, оларды белсенді өсіру тәсілдері баяндалады. Микробалдырларды зерттеуге арналған материалдарды жинау, таза дақылдарды әртүрлі экожүйелерден бөліп алу, микробалдырлардың таза дақылдарын экология және биотехнология саласында пайдаланудың әдіс-тәсілдері мен технологиясы қарастырылады.

Бұл оқу әдістемелік құралы биология, экология, биотехнология мамандықтары бойынша оқитын студенттерге, магистранттар мен аспиранттарға және ғылым қызметкерлеріне арналады.

ББК 28.4

ISBN 9965-446-95-4

© Заядан Б.К., Өнерхан Г., 2008

КІРІСПЕ

Планетамыздың басты тіршілік және энергия көзі күн сәулесін пайдаланып, фотосинтез процесі нәтижесінде бейорганикалық қарапайым заттардан органикалық заттар түзетін организмдердің үлкен бір тобы фототрофтар болып табылады.

Фототрофтардың жалпы басым бөлігін жасыл өсімдіктер мен балдырлар құрайды. Алайда қарапайым прокариотты микроорганизмдерге жататын фототрофты прокариоттардың немесе фототрофты бактериялардың да фотосинтез процесіндегі үлесі зор. Фототрофты микроорганизмдер жер шарының әртүрлі экожүйелерінде кеңінен таралғандығына байланысты, биосфераның эволюциялық даму құбылысын зерттеуде және қазіргі биотехнологияда олар маңызды зерттеу объектісі болып саналады. Олардың маңыздылық сипаттары төмендегідей:

1. Зертхана жағдайында бақылауға ыңғайлы, жыныстық циклі күрделі емес бір жасушалы организм.

2. Қарапайым жасанды орталарда жақсы өседі.

3. Олармен жұмыс жүргізуде стандарттық микробиологиялық әдістерді кеңінен пайдалануға болады.

4. Ядро және хлоропласттық генетикасы жақсы зерттелген, генетикалық талдау жасауға да өте қолайлы.

5. Олар өте тез көбейе алатындықтан, ғылыми сараптамалық деректердің нәтиже-қорытындысын тез арада алуға және зертхана жағдайында бір жасушалы популяцияға көп жылдар бойы бақылауға мүмкіндік туғызады.

6. Микробалдырлардың ядролық және хлоропласттық мутанттар санының көптігі, сол штамдарды пайдаланып салыстырмалы зерттеу жүргізу арқылы көптеген ғылыми деректерді алуға ыңғайлы.

Қазіргі кезеңде әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің микробиология кафедрасының фототрофты

микроорганизмдер ғылыми зертханасында Санкт-Петербург университетінің Петергоф микробалдыр коллекциясынан және Дюкс университетінің Хламидомонас Генетика Орталығынан (АҚШ), ҚХР, Моңғолиядан алынған 40-тан астам фототрофты микроорганизмдер штамдарына ғылыми зерттеулер жүргізілуде. Аталған кафедрада фототрофты микроорганизмдерді бөліп алу және сұрыптау нәтижесінде фототрофты микроорганизмдердің 60-тай штамдарынан тұратын коллекция құрылды. Альгологиялық таза дақылдардан протококты балдырлар *Chlorella*, *Scenedesmus Chlamydomonas* туыстарының өкілдерін және көкжасыл фототрофты микроорганизмдер коллекциясын ластанған суларды биологиялық тазалауда, су сапасын биоиндикациялауды тестілеуде, объектілерді жеке дара сұрыптап алуда, мал шаруашылығы азық қорын молайтуда кеңінен пайдаланумен қатар, олар жоғарғы оқу орындарында практикалық және зертханалық сабақтар өткізуде фундаментальдық және базалық негізді құрайды.

Су экожүйелерінің ластану деңгейлеріне тест жүргізуде микробалдырлар (*Microcystis*, *phanizomenon*, *Anabaena*) эвгленалы балдырлар (*Euglena gracilis*) диатомды балдырлар (*Stephanodiscus Hantzshii* және т.б. балдыр түрлері перспективті түрде қолданылады. Теңіз балдырлары теңіздің мұнаймен және түрлі радиациялық заттармен ластануын зерттеуде өте қолайлы объект болып табылады. Балдырларды сондай-ақ топырақтың пестицидтермен және басқа да улы заттармен ластану дәрежесін, антропогендік факторлардың әсерінен өзгеру сипаттарын және эрозияға ұшыраған өңірлердің ахуалын анықтауға қолданылады.

Әлемнің дамыған елдерінде бір жасушалы жасыл балдырлардың (*Chlorella* және *Chlamydomonas reinhardtii*) табиғи түрлері мен әр түрлі генотипті мутант штамдарын

жасанды экожүйеде экологиялық факторларды зерттеуде маркер ретінде және тірі организмдерде жүргізілетін биохимиялық процестерді зерттеуде модельді объекті ретінде пайдаланылғандығы туралы деректер өте көп. Оның дәлелі ретінде, АҚШ-тың Дюкс университетіндегі Хламидомонос коллекциясы, Ресейдің Тимирязев атындағы өсімдіктер физиологиясы институтындағы микробалдырлар коллекциясы, Жапонияның Токио университетіндегі балдырлар коллекциясында әлемдік балдырлар генофондының бірнеше мыңдаған түрлері сақтауға алынып, әр түрлі бағытта зерттеу жұмыстарының жүргізіліп жатқанын айтамыз.

Бізбен бұл бағытта «Микробалдырлардың негізінде әртүрлі ластаушылардан су экожүйелерін индикациялау үшін жаңа тәсіл, жолдарын құрастыру» атты ғылыми жоба іске асырылуда.

Фототрофты микроорганизмдерді зертханалық және жартылай өндірістік жағдайда дақылдау әдісі өңделді. Ластанған суларға сезімтал *Chlamydomonas reinhardtii* 16416 штамы бөлініп алынып, бұл штамның көмегімен ластанған су экожүйелерін биотестілеу нәтижесінде Үлкен Алматы өзені мен Алматы қаласының ластанған қалдық суларын тазалау жүйесі суларының ластану деңгейінің орташа, ал Алматы қаласының автокөлік жуу орталықтары ағынды суларының ластану деңгейі жоғары болатыны анықталды.

Микробалдырлардың ластанған экожүйелерді биоремедиациялауға да үлесі зор екенін атап өткен жөн. әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің микробиология кафедрасы мен Қ.И.Сәтбаев атындағы Политехникалық ұлттық университетінің Экономика және экологиялық мәселелерді зерттеу ғылыми институтымен бірлесіп, ластанған қалдық су тоғандарына жүргізілген өндірістік зерттеу нәтижесі бойынша *Chlorella vulgaris* Z-1

және *Scenedesmus obliquus var. obliquus* микробалдырлары мен *Spirulina platensis CALU-532m* цианобактериясынан тұратын консорциумы көмегімен альголизациялаудың биологиялық тазалаудағы тиімділігі анықталды.

Кадмийге төзімді *Chlamydomonas reinhardtii CC-124 RES-1* мутанты штаммы алынып, оның басқадай сұрыпталып алынған микробалдырлардың штамдарымен құрылған консорциумын ауыр металдармен ластанған қалдық суларды тазалауға пайдаланудың маңыздылығы анықталды.

Бізбен өңделген, ластанған суларды биологиялық тазалау әдісі судың гидрохимиялық, биохимиялық және санитарлық жағдайы тұрасында жоғары тиімділігін көрсетеді және оны іс жүзінде қолдануға ұсыныс жасауға болады.

Қазіргі кезде фотобиотехнологияда ең көп қолданылатын организмдер – микробалдырлар мен цианобактериялар. Соңғы жылдары биологиялық белсенді коспалар (ББК) алуға көптеген микробалдырлар мен цианобактерия таза дақылдар пайдаланылуда. Атап айтқанда, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus*, *Dunalella salina*, цианобактерия-*Spirulina platensis*.

Спирулина – АҚШ, Жапония және Қытай ғалымдарының зерттеулері бойынша, ол тек корек көзі ғана болып табылмайды, яғни оның фармацевтік қасиеті де аса зор екені дәлелденді. Спирулина иммундық жүйені активтендіреді, сондай-ақ вирусты жою қабілеттілігі де зор. Әлемдегі медицинасы дамыған АҚШ, Жапония, Қытай, Ресей және т.б. көптеген елдерде жалпылай өсіріліп, тәулігіне мыңдаған тонна биомасса өндіріп, алынған биомассаларды әртүрлі шаруашылық салаларында кеңінен тиімді пайдалануда. Цианобактерияның (*Spirulina platensis*) ауыл шаруашылығында, тамақ өнеркәсібінде және медицинада қолданудың маңызы зор. Көптеген

зерттеулерден кейін, Ресейде және Дүниежүзілік денсаулық сақтау орталығы спирулинаның адам организмсына қажетті көптеген қасиеттерін дәлелдеді.

Ал әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің микробиология кафедрасында УК-мутагенез және сатылай сұрыптау нәтижесінде жоғары өнімді *Chlorella sp-1m* және жарыққа төзімді *Spirulina platensis CALU-532m* штамдары алынып, олардың биомассасын ластанған сутоғандарын альголизациялау және мал шаруашылығында және құс шаруашылығында азыққа пайдаланудың маңыздылығы анықталды.

Жоғарыда айтылған деректерге байланысты микробалдырлардың таза дақылдарын бөліп алу, оларды биотехнология және экология салаларында пайдаланудың маңызы зор екені айқындалып отыр.

Бұл оқу құралының негізгі мақсаты – микробиология, биотехнология, экология т.б. салалар бойынша ғылыми іс-тәжірибелік зерттеулер жүргізушілердің назарына микробалдырлардың таза дақылдарын бөліп алу, оларды белсенді өсіру нәтижесінде биотехнология және экология салаларында тиімді пайдаланудың тәсілдері мен технологиясы жолдарын қысқаша таныстырып көрсету, оларды қолданудың әдістемелік нұсқауын әзірлеп ұсыну болып табылады.

1. ТАБИҒАТТАҒЫ МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫ ЖИНАУ ЖӘНЕ ОЛАРДАН АЛҒОЛОГИЯЛЫҚ ТАЗА ДАҚЫЛДАРДЫ БӨЛІП АЛУ

1.1. Микробалдырлар сынамаларын жинау

Табиғатта микробалдырлар топырақ, кіші су тоғандары немесе үлкен су қоймаларының жағалауларында көптеп кездеседі. Балдырлардың гүлденуі кезінде олар жағалаудағы құмдар мен топырақтарда көп жағдайда жасыл дақтар түзеді және шалшық сулардың бетінде де жасыл түспен түзіледі. Табиғаттағы балдырлар, соның ішінде топырақта тіршілік ететін балдырлар органикалық заттардан құралатын ортада тіршілік етеді. Бұл ретте балдырлардың автотрофтылығын, жоғары тұздық концентрациялы ортада жақсы өсетіндігін, жарық сүйгіштігін, термофилділігін т.б. қасиеттерін жоғары активті формалы балдырларды іздегенде ескеру қажет.

Балдырлардың басым көпшілігі сулы ортада тіршілік ететін автотрофты организмдер болғандықтан, олардың таралуына әсер ететін басты жағдайлар-жарық, температура, су, көміртегі, минералдық тұздар мен органикалық заттар болып табылады. Жарық – фотосинтез процесіне аса қажетті құбылыс. Фотосинтез процесінің өзі күн сәулесінің энергиясын пайдалану арқылы жүреді. Тірі табиғаттың өмір сүруі осы энергияны дұрыс тұтынуымен байланысты екендігі белгілі. Тұтыну энергиясының артық, немесе кем болуы балдырлардың даму заңдылығы ырғағын бұзады.

Балдырлардың судың әр түрлі қабаттарында таралуы фотосинтезге қажетті жарықтың түсуіне байланысты. Балдырлар негізінен жарық мол түсетін таза сулардың терең бөлігінде, ал жарық аз түсетін лас сулардың беткі қабатында көптеп таралған.

Егер балдырларды экологиялық жағынан зерттеуде әр форма үшін оның өсуіне және табиғатта дамуына жағдай жасауға талпынса, табиғаттан балдырлар дақылдарын бөліп алу кезіндегі жинақталған жұмыста, оларға қойылатын талаптарына байланысты жинақы және альгологиялық таза дақылдарды алу жағдайына көңіл бөлумен қатар, сынама алатын орын мен құрал-жабдықтар, алу процесіне де да аса көңіл бөлген жөн.

Су сынамаларын алуға қолайлы жерлер

Су сынамасын жоғары инсоляциялы аудандардың жылы су тоғандарынан жылдың жылы мезгілдерінде алған жөн. Су тоғандарының автотрофтық қасиеті бар және гетеротрофтық алмасудың өте төменгі дәрежесіне ие жағдайды тандап қарастырады. Бірақ жақсы жарық түсетін ұсақ тоғандар мен шалшық сулар айтарлықтай қызығушылық туғызуы мүмкін. Термофильдік түрлерді бөліп алуда электростанциялардың суыту қоймалары, оңтүстік өлкелердің су тоғандары және ыстық бастауларға жақын өлкелер өте ыңғайлы болып табылады. Көптеген зерттеушілер эфемерлік түр деп аталатын белсенді түрлерді бөліп алуға көп көңіл аударады. Дегенмен, қысқа мерзімнің ішінде белсенді өмір сүретін солтүстік өңірлерге тән даму мерзімінде орасан өсім беретін түрлерді зерттеуді қарастыру керек. Бірақ та мұндай түрлерді бөліп алуда әрі қарай олардың дамуындағы маусымдық мөлшерін тексеріп анықтауға да көңіл бөлген дұрыс.

1.2. Жинақы дақылдарды алу

Жинақы дақылдарды алудың ең қарапайым жолы – жинақталған материалдарды (бірнеше см³ су, жасыл қақ, сілемей және т.б.) сұйық коректік ортасы бар колба немесе пробиркаға отырғызу болып табылады. Алғашқы

отырғызуды залалсыздандырылған ортада жүргізу ұсынылады, мұнда сұйықтықты колбаның 1/3-1/4 бөлігі мөлшерінен аспайтындай етіп колбаға құю керек. Материалдар отырғызылған ыдыстар люминесцентті лампалы жақтаулы әйнекке немесе табиғи жарығы бар әйнекке (бірақ тікелей күн сәулесінсіз), яғни колбаның жарықтандырылуы шамамен 6-10 мың люкс болатындай түрде орналастырылады (1, 2-сурет).



1-сурет. Микробалдырлардың коллекциялық және жинақы дақылдарын өсіруге арналған беті әйнектелген шкаф

Сынаманың термофильдік түрін тандап алу үшін алынған сынаманы 30°C немесе одан да жоғары (40°C дейін) температурада люминостатқа орналастырады. Бір клеткалы протококты балдырлардың жинақы дақылын алуда Прата және Чо-10 коректік орталарын пайдалану жақсы нәтиже береді.



2-сурет. Люминесцентті лампамен жарық түсіріліп, айнек тақтаның үстіне өсірілген микробалдыр дақылдары

Соңғысы тіпті көкжасыл диатомды балдырларды өсіруге де қолайлы. Алайда бұл орталарда қоректік тұздардың мөлшері өте аз болғандықтан бұлармен қатар іріктеуді неғұрлым концентрациясы жоғары Майерс немесе Тамия қоректік орталарында жүргізу қажет.

1.3. Альгологиялық таза дақылдарды алу

Жинақы дақылдардан альгологиялық таза дақылдар алынады. Бір жасушадан алынған дақыл ең бағалы, таза дақыл болып саналады. Бұл – таза дақыл алудың ең күрделі жолы. Таза дақылдар көбінесе колониядан немесе жасушалар тобынан алынады. Мұндай жағдайда таза дақыл ұзақ мерзімдік өңделгенде әртүрлі жасушалары бар, аталған балдырдың дақылдық құрамы өзгерген сипатындағы популяция түрінде көрініс табады. Осыған байланысты бір жасушадан бөлініп алынған балдыр штамына және колониясына баса назар аударған жөн.

Жинақтаудан альгологиялық таза дақылды бөліп алу үшін қарапайым микробиологиялық әдістер сұйылту, қайта отырғызу, микроманипулятордың көмегімен жасушаларды бөліп алу әдістері қолданылады. Ең соңғысы бәрінен де сенімді және күрделі.

Көбінесе агарлы ортада қайта отырғызу әдісі қолданылады. Осы максатта жинақы дақылдардың (тазалық деңгейіне қарай 1 м³ немесе одан көп) азғантай мөлшері агарлы қоректік ортасы бар Петри табақшасына ілмекпен жаймаланып, мұқият отырғызылады. Табақша микробалдырлардың өсуі үшін жарыққа қойылады. Трихомалары жинақталып өскен колониялардан дақылдың бір бөлігін ілмекпен іліп алып, қайтадан сұйық ортаға көшіріп отырғызады. Көп реттік (10-20 ретке дейін) қайта отырғызу кезінде және отырғызу барысында табақшаға барынша сұйылтылған сұйықтықтарды пайдаланған кезде әр колония жеке жасушадан өсіп шығатындығын ескерген жөн.

Агарлы ортада нашар дамитын балдырлардың таза дақылын алу үшін екі қабатты ортаны пайдаланады: агарлы ортаға сұйық қоректік ортаны жұқа қабат етіп (2-5 мм) құяды. Мұндай ортада балдырлар екі орта қабатында бірдей қолайлы жағдай туындағандықтан жылдам дамып жетіледі.

Альгологиялық таза дақылдар мұқият микроскопиялық бақылау арқылы бөлініп алынады. 10-20 есе ұлғайта алатын лупа арқылы қажетті организмдерді капиллярлар мен пипетканың көмегімен ұстауға болады. Егер бастапқы материал аз мөлшерде болса, оны алдын ала сүзгі арқылы концентрациялау қажет. Жеке организмдерді бөліп алуда МБС-1 микроскобын пайдалану қолайлы.

Микробалдырлардың таза дақылын бөліп алуда олардың қозғалғыштығын және жарыққа реакциясын пайдалануға болады. Әдетте барлық қозғалмалы түрлер ыдыстың жарық түсетін бөлігіне жиналады, яғни осы кезде оларды оңай бөліп алуға болады. Осы тәсілмен аралас дақылдардан салыстырмалы түрдегі ірі организмдерді, мысалы, жай көзге де көрінетін *Volvox*, *Pandorina*, *Eudorina* сияқтыларды бөліп алуға болады,

және де егер көп мөлшерде болған жағдайда *Chlamydomonas* сияқты кішкентай түрлер де бөлініп алынады.

Микробалдырларға жарықтың әсер ету ерекшелігін пайдаланып қыртыстар мен қабыршықтардан осциллятория туысының көк жасыл балдырларын бөліп алуға болады. Осцилляторияның жекелей жіптерін оларға зақым келтірмей-ақ қарапайым жолмен бөліп алу өте қиын, өйткені олар өзара аса шырмалып байланысқан және бұдан өзге дақылдардан бөліп ажыратуға қиындық тудыратын өзге де түрлер кездеседі. Дақылдарды бөліп алу кезінде осцилляторияның аздаған қабыршықтарын Петр табакшасына немесе дистилденген сулы кристаллизаторға, кейде қоректік ортаға орналастырады. Ыдыстың бір жағын кара қағазбен көлеңкелеген соң, оны жарыққа қояды. Фототаксистің түзілуі нәтижесінде осцилляторияның тірі жіпшелері кристаллизатордың жарық бөлігіне қарай жылжиды.

Балдырлардың кейбір түрлерінен (*Stigeoclonium*, *Draparnaldia*, *Oedogonium*, *Ulothrix*) таза дақыл алуда олардың атмосферада 5 пайыздық CO_2 құрамды (вакуум-эксикаторда) жағдайда зооспоралар құрау қасиетін пайдалану тиімді.

1.4. Микробалдырлардың таза дақылдарын өсіруге арналған қоректік орталар және оларды дайындау

Балдырлардан бөліп алынған альгологиялық таза дақылды арнайы қоректік ортада өсіреді. Қоректік орталар микробалдырларды түрлі субстраттан бөлу, көбейтіп алу және оларды жоғалтып алмай сақтап қалу, сонымен бірге олардың биологиясын зерттеп білу үшін керек. Ол орталар тек қажетті элементтер қоры ғана емес, сонымен бірге

микроорганизмдердің тіршілік ететін мекені де болып саналады. Сондықтан микробалдырларға арнап қоректік орталар дайындағанда олардың тіршілігіне қажетті заттардың болуын ғана емес, жасушамен сол орталар арасында зат алмасу процесінің мейлінше жақсы жүруін қамтамасыз етілуін де ескеру керек. Қоректік орта дайындаудың көптеген әдіс-тәсілдері бар.

Балдырлардың өсуі мен дамуы алдымен олардың қоректік ортасының құрамы мен концентрациясына байланысты. Микробалдырлардың биологиялық негізгі қасиеті-олардың қоректік ерітіндісінің әртүрлі концентрациясындағы тұздарға тез бейімделгіштігінде.

Балдырларды өңдеуге пайдаланылатын қоректік орталарды олардың консистенциясына қарай екі категорияға – сұйық және қатты түрге бөледі.

Сұйық ортаны құбыр суында немесе дистилденген суда дайындайды. Ортаны әзірлеу үшін құбыр суын тұндырады, қайнатады, арнайы сүзгі немесе мақта арқылы өткізіп сүзеді. Құбыр суына әдетте микроэлементтер ерітіндісі қосылмайды. Құбыр суын қоректік орта дайындау үшін залалсыздайды. Құбыр суында балдыр дақылдары дистилденген суға қарағанда жақсы дамып өседі.

Белгілі жағдайларға бейімделген балдыр дақылдарын дистилденген суда дайындалған қоректік ортада өсіреді. Қоректік орта үшін дистилденген суды негізінен шыны ыдыста дайындап әзірлеген дұрыс, өйткені металл дистилдегіштер оны ауыр металдардың (мырыштың, мыстың) тұзымен ластауы мүмкін. Бұл жағдай балдырдың өсуіне кері әсерін тигізеді.

Қоректік ортаға арналған ыдыстарды тазалап жуады, кептіреді және автоклавта немесе құрғатқыш шкафта 160-170⁰С температурада залалсыздандырады. Ыдыс тығынын мақтадан қабаттап әзірлейді. Ол ыдысқа тығыз

кіріп тұруы шарт. Бұрын қолданылған тығындарды алдымен құрғатып, залалсыздандырып алады. Содан соң ғана оларды қайтадан қолдануға болады. Тығынды ұзақ уақыт қолданғанда шеттері сетінеп, бұдырланып кетеді. Сондықтан оларды дәкеге орап, жоғарғы ұшын жіппен байлап қолдануға болады. Тығынның құрғақ болғанына баса назар аударған жөн. Өйткені, ылғал тығынмен ыдысты тығындағанда әртүрлі зең саңырауқұлақтары өсіп кетуі ықтимал. Олар тығын ішіндегі қоректік ортаға енсе оны бүлдіретіні белгілі.

Қоректік орталарды дайындау балдырлар дақылдарын алу техникасындағы ең маңызды кезең. Балдырдың өсу қарқыны мен сипаттары ортаның сапасына белгілі дәрежеде тәуелді болады.

Қоректік орталарды дайындаған кезде мынадай ережелерді есте сақтаған дұрыс:

1. Қоректік орталарды дайындағанда мұқият тазаланған реактивтерді пайдалану керек. Егер ондай реактивтер болмаса, оны қайта кристалдау қажет.

2. Реактивтерді қоректік орталарға рецептіде көрсетілген мөлшерде ғана қосу керек.

3. Әрбір келесі тұзды қоректік ортаға алдыңғысы толық еріп біткеннен кейін қосу керек.

4. Темір тұздарын (лимон қышқылды темір) судың азғантай көлемінде қайната отырып бөлек ерітеді, содан кейін суытылған, залалсызданған қоректік ортаға құяды.

5. Суытылып, залалсызданған ортаға және де микроэлементтердің тазартылған ертіндісін қосады.

6. Залалсыздандырғаннан кейін қоректік ортада тұнба түзілуден сақтану үшін, орта компоненттерін судың азғана көлемінде бөлек еріткен жөн. Тұз ерітінділерін суытылған түрінде судың қажет мөлшерінде араластырып тазартудан өткізген жөн.

7. Ортада тұнба көбінесе дистилденген суға қарағанда, су құбыры суын пайдаланғанда пайда болады.

8. Балдырлардың өсіп-дамуында ортаның рН-ы маңызды рөл атқарады. Балдырларды өсіруде үлкен нәтижеге қол жеткізу үшін орта рН-ы қолайлы және тұрақты болу керек. Көптеген балдыр түрлері үшін 7,0-7,6-ға тең бейтарап немесе аз сілтілік реакция қолайлы. Қоректік орталарды (тазартудан соң) әзірлегенде рН-ты қадағалау қажет. Егер орта қышқыл болса, онда ерітіндіге сілті (сода Na_2CO_3 немесе 25%-тік КОН ерітіндісі) тамшыларын құяды. Ал ерітіндіні қышқылдандыру үшін сұйылтылған күкірт қышқылын қолданады.

Ортаның рН-ы қоректік ортаның компоненттерінің тұрақтылығымен оларды жасушалардың қабылдап алуына, әсіресе өсуді реттегіштер мен витаминдердің сіңуіне әсер етеді.

9. Қоректік орталар үшін оның буферлігі үлкен рөлге ие. Оны алу үшін ортаға KH_2PO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaO , K_2CO_3 құяды. Аталған тұздар затты карбонаттық тепе-теңдік арқылы ортаны буферлеуге қатысады. Өсіп ұзару барысында балдырлар нитраттарды сіңіреді және ортаны буферлеуге қатыса отырып кальций босап шығады.

10. Қоректік ортаның сапалы, әрі пайдалы болуына зарарсыздандыру өте үлкен әсерін тигізеді. Әдетте ортаны залалсыздандыруды автоклавта құрғақ бумен 45-60 минут 1 атм. қысымда жүргізеді. Залалсыздандырудың уақытын ұзартуға немесе қысымның деңгейін көтеруге болмайды, осының салдарынан тұздардың жинақталуы әсерінен тұнба пайда болуына әкеліп соғуы мүмкін.

Дайындалған қоректік ортаны залалсыздандырғаннан кейін суытады және осы күйде бокста колбаларға құяды. Балдырларды өсіретін қоректік ортаның мөлшері әр түрлі, яғни 50 мл-ден 5 литрге дейін және одан да жоғары мөлшерде болады. Мұның өзі пайдаланатын дақылдық

ыдыс пен жасалатын тәжірибенің мақсатына байланысты. Көбінесе белсенді түрде емес жағдайда балдырларды өсіруде 250-500 мл орта пайдаланылады.

Осы және басқа организмдерді өсіруде қолайлы ортаны таңдау үшін эксперименттік математикалық жоспарлау әдісін қолданған дұрыс. Бұл әдіс осы және басқа да балдыр түрлерін дақылдауда қолайлы жағдайды анықтау үшін тиімді.

Қазіргі кезде тәжірибеде қолданылатын бірнеше стандартты қоректік орталары белгілі. Әсіресе, Тамия мен Майерс орталары жоғары концентрацияланған, оларды жабық лабораториялық реакторларда қарқынды өсіруге көбірек пайдаланады.

Балдырларды дақылдауда микроэлементтердің құрамы мен мөлшері үлкен маңызға ие. В.П.Костиной хлорелланы Zn пен W-ді жібермей өсіргенде, өсу жасушалары бірден төмендеп, ал бұл элементтерді қосқанда тез өсіп, биохимиялық қасиеті жақсарғандығын байқаған.

Микробалдырларға азотты келесідей етіп пайдаланған жөн: алдымен аммиак ретінде, кейін мочевина, одан соң нитрат түрінде.

Қоректік ортаның азотты жоғары концентрациялық қондырғысында сұйықтықты жақсы араластыру арқылы хлорелланың өнімділігін (86-108 мг/л-ден) 2-2,5 г/л-ге дейін жеткізген.

Табиғатта балдырлар тек қана минералды емес, тіпті органикалық заттардың әртүрлі концентрациясында да өсе береді. Осыған қарап балдырлардың қоректік ортасының қолайлы жағдайының болуы, ортадағы органикалық және минералдық заттардың белгілі бір үйлесулеріне байланысты екендігін байқауға болады.

Минералды ортаға бөлек органикалық заттарды-мочевина, глюкоза, витаминдерді, амин қышқылдарын

және т.б. қосқанда көптеген балдырлардың жақсы өсіп, өнімділігінің артқаны байқалады.

Микроорганизмдердің өсуі біріншіден, судың құрамына байланысты болады. Жасуша құрамын синтездеу үшін, микроорганизмдер оңай сіңіре алатын қоректік орталарда әртүрлі элементтер болуы қажет. Мысалы: макроэлементтер (С, О, Н, S, К, Р, Са, Mg, Fe) мен көптеген тірі организмдер үшін қажетті микроэлементтер (Mn, Mo, Zn, Cu, Co, V, B, Cl, Na, Si) болуы шарт. Бұл микроэлементтердің көбі аздаған мөлшерде ғана қажет болады, олар макроэлементтердің тұз қоспасы түрінде кездеседі және де қоректік ортаға қосылады. Қажет болатын микроэлементтердің болуы үшін арнайы ыдыс керек.

Көптеген организмдер бір ғана қосылысты қажет етуі мүмкін. Мутант микроорганизмдер өздері синтездей алмайтын компоненттердің басқа қосылыстарын қажет етеді. Мұндағы қажетті қосымша заттарды өсу факторы деп атайды. Оларды амин қышқылдары, витаминдер, пуриндер мен т.б. қосылыстар атқарады. Өсу факторы қажет ететін организмдерді ауксотрофты организмдер деп атайды. Егер ауксотроф мутацияның нәтижесінде пайда болса, онда мұндай түр өсу факторын қажет етпейтін прототрофты деп аталады. Сондай-ақ көптеген организмдер CO_2 -ні өзінің қажеттілігінен көбірек қолданады. Егер қоректік ортаға тек химиялық қосылыстар керек болса, онда синтетикалық орта деп атайды. Қоректік ортаның (мысалы, ашытқы экстракты, ашытқы автолизаты, пептон немесе ет экстракты) әліде толық дәлелденбеген түрін күрделі орта дейді.

Балдырларды өсіруде арнайы қоректік орталар пайдаланылды. Протококты балдырларды өсіруде 04, Тамия, Пратта қоректік орталары қолданылады. Көкжасыл балдырларды өсіруде негізінен Заррука қоректік ортасы,

эвгленалы балдырларды өсіруде *Euglena* қоректік ортасы пайдаланылады.

Балдырлардың барлығы минералды қоректік орталарда өсе бермейді, кейбір балдырлар өсу барысында белгілі бір органикалық заттарды қажет етуі де мүмкін. Бұл жағдайда балдырларды өсіру кезінде арнайы қоректік орталарға органикалық қосылыстар мысалы, топырақ, құс саңғырығының қайнатылған сулары қосылады. Оларды дайындау үшін 1кг топырақ 1 сағат мөлшерінде 1 литр құбыр суында қайнатылады және екі тәулік тұндырылады. Алынған топырақ экстрактісін қолданар алдында 1атм. қысымда 40 минут залалсыздандыру қажет.

Қоректік орталардың құрамы

0,4 қоректік ортасы: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -0.2 г/л, K_2HPO_4 -0.03 г/л, $\text{CaSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ -0.03 г/л, NaHCO_3 -0.1 г/л, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -0.08 г/л, KCl -0.0025 г/л, FeCl_3 (1% ерітіндісі)-0,15 мл, топырақ экстрактісі-0,5 мл, микроэлементтер ерітіндісі 1мл, тауық саңғырығының экстрактісі 10 мл, агар-агар 20 г/л.

Тамия қоректік ортасы: KNO_3 -5,0 г/л, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -2.5 г/л, KH_2PO_4 -1.25 г/л, $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -0.009 г/л, ЭДТА – 0,037 г/л, микроэлементтер ерітіндісі 1,0 мл, агар-агар-20 г/л.

Заррука қоректік ортасы: NaHCO_3 – 16.8 г/л, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 1.0 г/л, NaNO_3 – 2.5 г/л, K_2SO_4 – 1.0 г/л, NaCl – 1.0 г/л, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.2 г/л, $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0.04 г/л, ЭДТА+Fe ерітіндісі – 1мл, агар-агар – 20 г/л.

Euglena қоректік ортасы: NaCl – 0.1 г/л, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1.0 г/л, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.4 г/л, KH_2PO_4 – 0.4 г/л, $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (1%) – 0.5 мл, FeCl_3 (1% ертіндісі) – 1,0 мл, микроэлементтер ерітіндісі – 1,0 мл, агар-агар – 18 г/л.

«М» қоректік ортасының құрамы: $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,25 г/л, $\text{K}_2 \text{HPO}_4$ – 0,04 г, $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2 \text{O}$ – 0,0238 г, Na лимонқышқылы – 0,165 г/л, NaNO_3 – 2,5 г/л, $\text{Fe}_2 (\text{SO}_4)_3$ –

0,02 г/л, NaHSO_4 – 0,2 г/л, Микроэлементтер – 1мл. рН – 7,75, Агар-агар – 20г/л.

Цианобактерия штамдарын агарлы және сұйық коректік орталарда 2000 люкс жарықта, 26-30⁰С температурада өсіреді.

Жасанды коректік орталарды автоклавта біркелкі атмосфералық қысымда 45, 60 минут залалсыздандырады. Балдырларды егу жұмыстары арнайы залалсыздандырылған бокста жүргізіледі. Бокстың ішін залалсыздандыру үшін бактерицидтік лампаларды 40-45 минут жағу керек.

1.5. Микробалдырлардың бактериологиялық таза дақылын бөліп алу

Микробалдырлардың бактериологиялық таза дақылын бөліп алу - жұмыстың ең бір қиындыққа толы кезеңі болып табылады. Балдырларды бактериялардан тазарту – күрделі және көп кезеңді үрдіс. Оны жүзеге асырғанда зерттеліп отырған организмнің ерекшелігі айқындалады.

Жасыл балдыр дақылдарын тазалау көкжасыл балдырлар дақылдарын тазалауға қарағанда жеңілірек келеді. Бактериясыз (гнотобиологиялық) жағдайда балдырлар альгологиялық таза дақылдармен салыстырғанда анағұрлым баяу өседі және морфологиялық, физиологиялық, биохимиялық көрсеткіштері бойынша үлкен түрлік өзгерістерге ұшырайды. Мұндай жағдайда олардың жүйелік қатыстылығын анықтауды қиындата түседі. Осыған байланысты дақылдарды бактериологиялық тазартудың алдында организмнің жүйелік қатынасын нақты айқындап алу қажет және бактериясыз дақыл алудың барлық кезеңдерінде оның дамуын мұқият бақылаған дұрыс. Бұл әдіс зерттеушінің көптеген қиындықтарға ұшырауынан

сақтайды, әрі бактериологиялық тазартуда зерттелетін организм өліп, оның орнына бұрын байқалмаған оның серіктесі немесе байқаусызда түскен басқа организм өсіп кетуі мүмкін. Соңғысын мұқият микроскопиялық бақылаудың көмегінсіз анықтай алмаймыз.

Балдырлардың бактериологиялық таза дақылдарын бөліп алудың қиындығын, ерекшелігін ескере отырып, оларға көптеген сипаттама береміз. Әдісті таңдау тәжірибе-сынақтың мақсаттары мен міндеттеріне және аталған организмді тазартудың күрделілігіне байланысты.

Осы және басқа да жолмен алынған микробалдырлардың бактериологиялық таза дақылымен жұмыс барысында оның бактериологиялық тазалығын үнемі тексеріп тұру қажет, өйткені оның ластану мүмкіндігі өте жоғары. Дақылдарды отырғызу кезіндегі залалсыздандырудың бұзылуынан немесе залалсыздандыру кезеңінде бактерия спораларының тірілуінен бактериялармен ластануы мүмкін.

1.5.1. Больд әдісі бойынша микробалдырларды бактериялардан тазарту

Залалсыздандырылған пробиркаларға 5 мл мөлшерінде дистилденген су немесе қоректік ортасын құяды. Пробиркалар тығынмен жабылады және автоклавта залалсыздандырылады. Осымен бір мезетте ағары бар пробиркаларды (пробирка саны алдыңғымен бірдей болу керек) да әзірлейді. Дайындалған қоректік ортаға 0,5-1% глюкоза қосылады.

Дақылданатын балдырдың сұйықтығын залалсыздандырылған пипеткамен немесе ілмекпен залалсыздандырылған суы бар пробиркаға салады. Пробирканы тығынмен жауып, оның ішіндегілерді балдырдың жақсы, ойдағыдай жасушаларын алу үшін

әбден шайқайды. Бұл пробиркадағы заттар тұнып қалмай тұрып, одан 1 мл алып оны залалсыздандырған күйде келесі ретте залалсыздандырған су немесе қоректік ортасы бар пробиркаға құяды. Алынған затты жақсылап араластырып, оның 1 мл-ін келесі үшінші пробиркаға құяды.

Бір жасушалы дақылды шынайы техникалық тұрғыда айқындап бөліп алу үшін сұйылтуды бірнеше рет жүргізу қажет және бұл негізінде алғашқы материалдағы балдыр жасушаларының концентрациясына да байланысты болады.

Х. Больдтің ойы бойынша, егер хлорелла сұйықтығының аз мөлшердегі ашық жасыл тамшысын алатын болсақ, оны төрт рет сұйылту қажет. Отырғызу үшін тек үшінші немесе төртінші сұйылтылғанын ғана алу дұрыс, өйткені алғашқы екі реткі сұйылтуды қатты ортаға отырғызған кезде саңырауқұлақтар мен бактериялар өсіп кетуі мүмкін.

Залалсыздандырған қоректік ортаны (отырғызусыз) пробиркадан Петр табақшасына (осының алдында агарлы ортаны 40-50⁰С температурада су моншасында балқытып алады) залалсыздандырған күйде көшіріп отырғызады. Соңғы рет сұйылтылған микробалдыр дақылдарын пробиркадан 0,5-1% глюкозасы бар қоректік агарға отырғызады. Отырғызғаннан кейін Петр табақшасын түбін жоғары қаратып төңкеріп, жарыққа қояды. Глюкозалы қоректік агар ортасында балдырларды отырғызғаннан бес күннен соң табуға болады. Осылайша агарға глюкоза қосу балдырдың өсуін анағұрлым тездетеді. Басқа ортада балдырлар екі-үш аптадан кейін ғана өсе бастайды (байқарлықтай өсім береді).

Бактериялар көп мөлшерде шырышта болатындықтан, оларды жою үшін балдырларды отырғызуды қарапайым

агарлы ортадан гөрі (1,5-2,0%) тығыз агарда (4,5-6,0%) жүргізеді.

Агарда өскен колонияларды микроскоп астында қарайды. Өскен колонияларды немесе балдыр жасушаларын залалсыздандырған ілмекпен, басқа Петри табақшасындағы залалсызданған агарлы ортаға ауыстырып көшіреді. Осы мақсатпен агарлы минералды орта және глюкозасы бар агарлы орта деген екі түрлі орталары бар бірнеше Петри табақшаларын дайындайды. Бұл Петри табақшаларының төменгі бетіне әйнекке тушыпен жеті-сегіз шеңбер салады. Таңдап алынған таза балдыр колониясын ілмекпен залалсызданған агардың белгіленген бір шеңберіне апарып салады. Отырғызуды екі ортаға да қатар жүргізеді. Бұны глюкозада бактериялар дамып өспейтін болғанға дейін жалғастырады. Бактериялардан тазартылған балдыр дақылдарын залалсыздандырған күйде ұзақ уақыт сақтайды.

Дақылдың тазалығын тексеру үшін оны залалсызданған 0,25%-тік ет-сорпасына отырғызады, егер бактерия болса онда олардың өсіп-дамуынан сорпа тез лайланып, күңгірттенеді. Бұнымен бірге дақылды микроорганизм-серіктестерін тауып алу үшін микроскоппен қарап тексеру керек. Аталған әдіс жақсы нәтиже береді, бірақ көп уақытты қажет етеді және агарлы қабықшада бентостық түрлер және басымдық көрсететін организмдер өсіп кетеді. Планктондық балдырлар көп жағдайда нашар өседі.

1.5.2. Микробалдыр дақылдарын химиялық залалсыздандыру

Микробалдыр дақылдарын бактериялардан тазарту үшін химиялық залалсыздандыру әдісі (1-кесте) жиі қолданылады.

1-кесте. Микробалдыр дақылдарын залалсыздандыру үшін көбірек қолданылатын антисептиктердің тізімі

Антисептик	Концентрация %					
	0,01	0,05	0,07	0,09	0,1	1,0
Фенол (карбол кышқылы)	0,01	0,05	0,07	0,09	0,1	1,0
Риванол	0,01	0,05	0,07	0,09	0,1	-
Этил спирті					1,0	10,0
Детергент-тер («Деро», «Новость», «Снежинка»)					1,0	

Н.С.Гаевская балдырларды риванол және бромды пайдалана отырып залалсыздандыру тәсілін ұсынды. Ол үшін дистилденген суға 0,1%-тік риванол ерітіндісін жаңадан дайындайды. Ерітіндіні залалсыздандырылған қоректік ортамен 0,5-20 мг/л концентрацияға дейін сұйылтады. Риванолды ортаға балдырды отырғызады. Риванолдың жоғары концентрациясы кезінде балдырды 4-5 сағат, аз концентрациясы кезінде үш тәулікке дейін ұстайды. Соңғы жағдайда риванолды бірнеше рет ауыстырады. Әсіресе оған төзімді болып протококты балдырлар есептелінеді. Көкжасыл балдырлардың шырышты қабықты түрінен басқаларын ол құртып жібереді. Риванолды қолданғаннан кейін балдырларды жақсылап жуу керек.

Теңіздің диатомды балдырларын бактериялардан тазарту үшін йодты қолдану ұсынылады. Ол үшін балдырларды 50 мл залалсызданған ортаға 1-2 тамшы есебінде дайындалған йод ерітіндісінде 1-2 мин ұстайды.

Бактериологиялық таза дақылдар бөліп алуға антибиотиктерді пайдалану

Көп жағдайда балдырларды залалсыздандыру үшін көптеген антибиотиктер пайдаланылады. Мысалы, хлорелла дақылын тазартуда 1 мг/мл мөлшердегі левомицетин және балдыр дақылындағы 1000 бірл/мл мөлшеріндегі стрептомицин қолдану ұсынылады. Төрт сағаттан кейін дақылдар залалсызданады. Левомицетин және стрептомициннің әр түрлі мөлшерін қиюластыра пайдалану хлореллаға улы әсер етпей, тазарту уақытын 2 сағатқа кемітеді. *Asteromonas gracilis* және *Dunaliella salina*-ның бактериологиялық таза дақылдарын оларды бір тәулік бойы пенициллин 30 000+стрептомицин 25 000 бірл/мл қоспасын қоса отырып минералдық ортада ұстау арқылы бөліп алады. Егер пенициллин және стрептомициннің концентрациясын 10 есе азайтсақ, онда минералдық ортада ұстау уақыт мөлшері де 10 тәулікке артады.

Балдырлардың антибиотиктерге сезімталдығы организмнің биологиялық ерекшелігіне байланысты өзгеріп отырады. Тетрациклин, пенициллин, стрептомицин, эритромицин және нистатин сияқты антибиотиктер хлорелла, сценедесмус, анкistroдесмус дақылдарының өсуін бір-бірінен екі еседей өзгешеліктегі концентрация кезінде тежеп тастайды. Аурантин, колимицин, гриземин үшін бұл концентрациялар 3-5 есе ерекшелікте болады. Грамицидин С, левомицетин, полимиксин, канцицидин және трихотецин жағдайында

бір дақылдың өсуінің толық тежелуі 10-20-дан жоғары концентрация кезінде болады.

Балдырдың өсуіне әсер етпейтін антибиотиктер концентрациясы мен олардың дамуын толығымен тежеп тастайтын концентрация арасындағы айырмашылық балдырдың әр түрлі дақылдары үшін өте айнымалы болады. Мысалы: полимиксин 5 мкг/мл концентрацияда *Chlorella vulgaris*-тің өсуіне әсер етпейді. Ал хлорелла өсімінің толық тоқтауы 25 мкг/мл концентрация кезінде өтеді. *Ankistrodermus falcatus* полимиксинді 1 мкг/мл концентрацияға дейін қосқанда ешқандай әрекет көрсетпейді де, бірақ 50 мкг/мл дейінгі концентрацияда аздап өскені байқалады. *Scenedesmus obliquus* те 100 мкг/мл полимиксинде бақылаудағыдай жақсы өседі, бірақ ортадағы антибиотиктің құрамының небары 1,5 есеге артуы жасушаның өліміне душар етеді.

Антибиотиктің альгостатикалық және альгоцидтік концентрациясын оның бактериостатикалық және бактерицидтік концентрациясымен салыстырғанда, балдырлардың өсуіне әлі де улы әсерін көрсетпеген концентрациялар, микроорганизмдер қатары үшін көбінесе бактериостатикалық болып табылады. Көпшілік антибиотиктер үшін альгоцидтік концентрация әрдайым ережеге сай бактерицидтіктен жоғары тұрады.

Әр түрлі антибиотиктердің әсер ету сипатына қарай салыстырмалы түрде төмендегілерді айтуға болады.

Пенициллин өсуді *Chlorella vulgaris*-тың 1515 мкг/мл, ал *Ankistrodermus falcatus* және *Scenedesmus obliquus*-тың 3030 мкг/мл-ден жоғары концентрациясы кезінде тежейді. 910 мкг/мл кезінде хлорелла пенициллин болмаса да, сондай жылдамдықпен өсе береді. Сценедесмус және анкистродесмустың өсу жылдамдығына бұл антибиотик 3030 мкг/мл-ге дейін әсер етпейді. Ал осы концентрацияда

барлық бақыланған микроорганизмдердің өсуінің тежелгендігі байқалған.

Грамицидин С – жоғарыдағы балдырдың үш дақылы үшін де өте улы. Грамицидин С-ның альгостатикалық және альгицидтік концентрациясы ережеде көрсетілгендей бактериостатикалық және бактерицидтіктен төмен. Мысалы, грамицидин С 100 мкг/мл концентрацияда сценедесмустың өсуін толығымен тежей алмайды, ал осы жағдайда хлорелла және анкistroдесмус бірден жойылып кетеді.

Аурантин – 10 мкг/мл концентрацияда хлорелла және сценедесмустың өсуіне әсер етпейді. Анкistroдесмус 50 мкг/мл аурантин қосылса да ешқандай өзгеріс байқатпайды. Хлорелланың өсуінің толығымен тежеліп, басылып қалуы 30 мкг/мл-де, ал сценедесмус пен анкistroдесмустікі 100 мкг/мл кезінде орын алады. Бұл концентрациялар көпшілік грам оң бактериялар үшін бактерицидті болып табылады.

Стрептомицин – зерттелінген балдырлар үшін өте улы антибиотик. Оны көкжасыл балдырлардың, тіпті табиғи сукойма жағдайында да, өсуін тоқтату үшін альгицидтік препарат ретінде қолданады. Микроорганизмдер балдырларға қарағанда неғұрлым жоғары концентрацияда өледі. Сондықтан бұл осы антибиотикті қолдануды шектейді.

Левомецетин – 50 мкг/мл концентрацияда хлорелланың көбею жылдамдығына әсер етпейді, ал осы уақытта зерттелуші барлық грам оң бактериялар берілген концентрацияда толығымен қырылып қалады. 200 мкг/мл хлорелланың өсуін тежей отырып, барлық алынған бактериялар үшін бактерицидтік концентрация болып есептелінеді. Анкistroдесмус және сценедесмус үшін левомецетин өте улы. 25 мкг/мл кезінде ол анкistroдесмустың өнімділігін бақылаумен салыстырғанда

екі есеге төмендетеді және хлорозға ұшыратады. Бенеке ортасында сценедесмустың өсуі 0,5 мкг/мл кезінде толығымен тоқтайды.

Колимицин – хлорелла жасушасының толығымен қырылуы 200 мкг/мл, сценедесмус – 100, анкистродесмус – 50 мкг/мл кезінде жүріледі. Грам оң бактериялардың жойылуы біршама төмен концентрацияда белгіленген.

Хлортетрациклин – улылығы аз антибиотик. Барлық үш балдыр дақылының өсуі 50 мкг/мл-де тоқтап қалады және осы концентрацияда *Vac. mucoides*-тен басқа сынаудан өткен бактериялардың барлығының өсуі тежеледі. Бірақ ортаға хлортетрациклинді енгізгенде тез бөлініп, нәтижесінде орта қара-күңгірт түске енеді.

Окситетрациклин – балдырлармен қатынасы тұрғысында улылығы аз антибиотик. Неғұрлым төмен концентрацияда балдырлардың өсімімен салыстырғанда, бактериялардың өсуін тоқтатады, бірақ та сілтілік рН ортада жылдам ыдырайды. Ортаның күреңденуі жоғарғы концентрацияда жұмыс істеуді қиындатады.

Тетрациклин хлоротетрациклинге және окситетрациклинге ұқсас, балдырларға қатысы тұрғысынан қарағанда улылығы аз. Біршама төмен концентрациясында балдырдың өсіміне қарағанда, бактериялардың өсімін кемітеді. Бірақ та сілтілік ортада жылдам ыдырайтындықтан және әрекет барысындағы бактериостатикалық әсері оның жұмысқа қолайлылығын біршама төмендетеді.

Полимиксин – хлорелланың өсімін тежеу 5 мкг/мл -ден жоғары концентрацияда байқалады; 25 мкг/мл-де толығымен өсімді тоқтату байқалады. Анкистодермустың жасушаларын өлтіру 50 мкг/мл-де, сценедермустікі – 150 мкг/мл-де жүзеге асады. 1 мкг/мл концентрацияның өзі анкистодермус үшін улы, бұл мөлшерде сценедермустың өсімі 100 мкг/мл-де осы бақылаудағыдай болады.

Бактерияларды тежеу полимиксиннің 5 мкг/мл концентрациясында байқалады.

Эритромицин өте жоғары концентрацияларда балдырларды өлтіреді: хлорелла және сцендермус үшін 100 мкг/мл, анкистодермус үшін 150 мкг/мл мөлшерінде жүзеге асады. Алайда 5 мкг/мл-де хлорелланың өсу қарқыны дереу төмендейді, сценедермус мен анкистодермустың өсімі 0,5 мкг/мл-дің өзінде тоқтайды. Бұл антибиотиктің альгостатикалық концентрациясы сынаудан өткен бактериялардың – эритромициннің концентрацияларына сәйкес келеді. Яғни бактерицидті болып табылмайтын балдырлардың толық өліміне әкеледі.

Гриземин – сыналған балдырларға қарағанда біршама улы болып есептеледі. Балдырлардың өсімін жою бактериялардың жойылуына қарағанда біршама төмен концентрацияда болады.

Нистатин – хлорелланың өсуін 30 мкг/мл мөлшерде, сценедесмус пен анкистродезмустың өсуін 25 мкг/мл мөлшерде толық тоқтатады. Ортаға осы антибиотиктің 8 мкг/мл концентрациясын қосу хлорелланың көбею қарқынына әсер етпейді. Сценедесмус пен анкистродезмустың өсімі 5 мкг/мл мөлшерде тоқтайды. *Penicillium* ның өсуі 8 мкг/мл-де тоқтайды, 15 мкг/мл-де өледі. Триходерманың дамуы 25 мкг/мл-де тоқтайды, 50 мкг/мл ол үшін фунгицидті концентрация болып табылады. Нистатиннің фунгистатикалық және фунгицидті концентрациясы *Aspergillus ochraceae* үшін 50 және 100 мкг/мл-ге сәйкес келеді.

Кандицидин – бұл антибиотиктің фунгицидтік концентрациясы төменгі концентрацияда хлорелла мен анкистродезмустың жасушаларын өлтіреді. Алайда кандициннің фунгистатикалық концентрациясы сыналған балдырлардың өсімін толықтай тоқтатады.

Трихотецин – хлорелланың жасушалары ортаға 100 мкг/мл, сценедесмустың жасушалары – 50, анкистродезмус – 5 мкг/мл тіршілігін жояды. Өсімді тоқтату хлорелла мен анкистродезмуста 10 мкг/мл-да, ал 5 мкг/мл-да сценедесмуста жүзеге асады. Сыналған саңырауқұлақтар үшін фунгицидтік концентрациялар, хлорелла мен сценедесмусты өлтіретін концентрацияға қарағанда аз болады.

Алынған сараптамада көрсетілгеніндей, антибиотиктердің альгостатикалық және бактерицидтік әрекеттері қоректік ортаның құрамынан біршама өзгереді. Бұның өзі ортаның құрамын таңдауда мүмкіндігінше жоғары концентрациялы антибиотиктерді пайдалану қажет дегенді білдіреді. Антибиотиктерді кешенді қолдана отырып, микроорганизмдердің концентрациядағы өсімін толығымен тоқтататын, әрі балдырларды жоймайтын бірге алынған бірнеше қосылыстарды таңдап алуға болады.

Мысалы, аурантин (0,5 мкг/мл) маңындағы микрофлораның толығымен өсімін тоқтатады, алайда хлорелланың өсіміне зиян келтірмейді. Сценедесмус үшін пенициллин, грамицидин С және трихотецин, аурантин мен колимицинді таңдауға болады олар да өз маңындағы микорфлораның өсуін тежейді. Анкистродезмусты тазалауда аурантин мен колимицинді пайдалануға болады. Хлорелланы өсіру барысында маңындағы микрофлораның өсімін тоқтату үшін левомецетин мен колимицин (балдырлармен бірге жүретін грам теріс бактерияларды тежеу үшін), аурантин (грам оң бактерияларды тежеу үшін) және нистатин (саңырауқұлақтарды тежеу үшін) пайдаланылады. Бұл антибиотиктер сыналған микроорганизмдердің өсімін толық тоқтатумен бірге хлорелланың өсуіне кедергі келтірмейді. Сценедесмустың дақылында өсіп тұрған микроорганизмдерге тежеу жасау үшін пенициллин, аурантин, стрептомицин, колимицин,

полимиксинді пайдалану қажет. Бұларды қосқанда балдырлардың өсу қарқыны бәсеңдеместен бактериялардың жойылуы жүріледі. Анкистродесмусті өсіру барысында пенициллин, аурантин, колимицинге баса назар аударған дұрыс.

Антибиотиктерді табиғи тіршілік ортадан балдырлардың альгологиялық таза дақылдарын бөліп алуда оларды сәтті қолдануға болады. Мысалы, сценедесмустің альгологиялық таза дақылын алу үшін полимиксин пайдаланылуы мүмкін. 50 мкг/мл концентрацияда ол хлорелла мен анкистродермус жасушаларының толық жойылуына әкеледі, ал сценедесмус 100 мкг/мл мөлшерде өсім қарқынын тоқтатпайды. Хлорелланы тазарту үшін стрептомицинді, левомицетинді, колимицинді, нистатинді, трихоцетинді пайдалану қолайлы. Бұл антибиотиктердің концентрациясы сценедесмус пен анкистродесмус үшін альгицидті, хлорелланың жасушаларын әлі өлтіре қоймайды. Анкистродесмустің таза альгологиялық дақылын алу үшін эритромицин қолайлы, яғни бұл балдыр хлорелла мен сценодермуске қарағанда 1,5 есе артық концентрацияға төтеп береді.

Жоғарыда айтылғандарға қарағанда, микробалдырларды альгологиялық және бактериологиялық тазартуды бір жолда жүргізуге болатындығын көруге болады.

Балдырларды бактериялардан химиялық жолмен тазарту үшін басқа да реагенттер қолданылады.

Мысалы, И.В. Боуман эвгена және хламидомонода дақылдарын бактериялар мен саңырауқұлақтардан тазарту үшін тұзды ортадағы 0,01-0,03М кофеин концентрациясын пайдаланған.

Шетелдерде балдырларды бірге кездесетін бактериялардан тазарту үшін актидионды ($C_{15}H_{23}O_5N$) пайдаланады. Бұл антибиотиктің молекулалық салмағы-

297,39 г/моль және оны жасыл, көкжасыл, диатомдық балдырларды бактериялардан тазартуда сәтті қолдануда.

Түрлі антибиотиктерді балдырларды химиялық залалсыздандырудан өткізу үшін пайдаланғанда барынша тиімді және назар аударуға тұрарлық түрін алған дұрыс. Алайда, балдырлардың антибиотиктерге деген сезімталдығы таңдалған дақылдың көлеміне қарай өзгертіндігін, ал антибиотиктердің әсер ету деңгейі олардың ортасы мен өсіру жағдайына байланысты екендігін ескерген дұрыс. Осыған байланысты антибиотиктерді таңдау мен олардың концентрациясы әр түрлі балдырлар үшін жеке дара.

Жоғарыдағы кестеде көрсетілгеніндей, балдырларды альгологиялық және бактериологиялық тазартуды бір мезетте жүргізуге болады.

1.5.3. Гусев, Телитченко және Федоров тәсілдері бойынша микробалдырлардың бактериологиялық таза дақылдарын алу

Көкжасыл балдырлардың дақылдарын бактериялардан тазарту біршама қиын жұмыс. Көкжасыл және диатомды, әсіресе көкжасыл балдырларды бактериялардан тазартудың қиын болу себебі: сыртын кілегейлі қабат қаптаған бактериялар өз қабықшасымен балдыр қабықшасына тығыз жанасып, бекініп алады. Мұндай қабат бактерияны сыртқы ортаның қолайсыз әсерінен, кеуіп қалудан сақтап, әрі бактерияның фагоцитозға берілмеуін қамтамасыз етеді. Көкжасыл балдырлар дақылдарын тазалау үшін алдымен шырыштан бос тұрған жіпшелерін бөліп алып, содан кейін оларды антибактериалдық заттармен өңдеу керек.

Бұл мақсатта сұйық ортадағы балдыр дақылдарын вакуум астында N1 және N2 әйнек сүзгі арқылы сүзеді.

Осы кезде сүзгінің тесіктері арқылы тек ғана шырыштан босаған гормогониялар, споралар және қысқа жіп үзінділері өтеді. Осылай қысқа жіпше мен гормогониялардың шырышсыз сұйықтығын алуға болады және келесі залалсыздандыруды бізге белгілі химиялық тәсілмен жүргізеді.

Барынша тиімді залалсыздандыру дақылды 5-7 минут қайнаған суда қыздырғанда, балдыр сұйықтығын стрептомицин және пенициллиннің (50 000 бірл/мл-ден) қоспасымен өндегенде және шырышсыз дақылды сынап-кварц шамының ультракүлгін жарығында 10 минут сәулелендіргенде жақсы нәтижелі болады (сәулелендіру көзінен арақашықтық 30 см болуы тиіс).

Алынған дақылдың тазалығын тексеру үшін балдырдың сұйық дақылынан төмендегідей бақылау орталарына: көкжасыл балдырларды дақылдау үшінгі минералдық орта + 0,5% глюкоза; бастапқы орта+1% сыра ашытқысы; ЕПА; ЕПС; азотты бактерияға арналған Эшби ортасы; нитрификациялаушы бактериялар үшінгі Виноградский ортасы; целлюлоза бактерияларына арналған Хатчинсон ортасы; фотосинтездеуші бактерияларға арналған Ларсен ортасына дақылды егу ұсынылады.

Аталған орталарда бактериялар өспесе және микроскопиялық бақылау балдыр дақылының бір тектілігін көрсетсе, онда бактериологиялық таза дақылды бақылауға алуға және онымен салыстырмалы-физиологиялық, биохимиялық жұмыстар жүргізе беруге болады.

1.5.4. Михайлов тәсілі бойынша көкжасыл балдырлардың бактериологиялық таза дақылдарын алу

Осциллятория (*Oscillatoria*) және формидиум (*Phormidium*)-ның таза дақылдарын алу үшін оларды термостатқа орналастырған уақыттан бастап 6-12-24 сағаттан кейін егіп алады. Жұмыстың соңғы кезеңінде егуді 1-2 сағат сайын жүргізеді. Егу үшін неғұрлым егудің ортасынан бөлініп алынған жіпшенің бөліктері алынады. 2 пайыздық агарлы пептонды ортаны пайдалану минералдық ортада өсіруден жасушаның көп пайыздық залалсызданған пайызын алуға мүмкіндік береді.

1.5.5. Микробалдырларды бактериялардан ультракүлгін (УК) сәулелендіру және ультра дыбыстың көмегімен тазарту

Бактерияларды жоюда ультракүлгін сәуленің залалсыздандырушы әсерін кеңінен пайдаланады. Кварц шынысындағы және Петри табақшасындағы балдыр дақылдарын 10-20 минут ультракүлгін сәуледе сәулелендіреді. Ол үшін БУВ-20, БУВ-40, ПРК-10 бактерицидтік шамдары қолданылып, сәулелену көзінен балдырлардың ара қашықтығы 20-30 см болуы қадағаланады. Сәулелендіруден кейін балдырларды агарлы ортаға отырғызып, алдындағы айтылған тәсілдер арқылы олардың бактериалдық тазалығы бақыланады.

Сынап-кварц шамдарымен жұмыс істегенде аса сақ болған жөн: күңгірт көзілдірік киіп, терінің ашық бөлігін тікелей сәуле әсерінен қорғау керек және сәулелендіру кезінде боксқа кірмеу керек.

Ультракүлгін сәуленің әсерінен мутанттар түзілуі мүмкін.

Залалсыздандырудың физикалық тәсілдерінен 5 ватт кернеуде 5-30 минут ультрадыбыспен өңдеу де қолданылады.

1.5.6. Көкжасыл балдырларды ілеспелі бактериялардан табиғи антисептиктер көмегімен тазарту (Горюнов, Одоевский, Герасименко бойынша)

Көкжасыл балдырларды ілеспелі бактериялардан тазартуда мүкжидек пен ит бүлдірген жидегінің сіріндісінің сулы ерітіндісі қолданылады. Бұл жидектердің микроорганизмдерге қарсы тұра алатын тамаша қасиеті барлығы бұрыннан белгілі.

Мүкжидек пен ит бүлдірген жидегінің сіріндісін дайындау техникасы: жидекті (ылғалдылығы 86-89%) үккіште езіп, алынған ботқаға дистилденген су құяды. Дистилденген су 5%-дық ерітінді алу үшін Гуча воронкасында қағаз сүзгі арқылы сүзілгеннен кейінгі құрғақ зат есебінде қосылады.

Аналық ерітіндіден көкжасыл балдырларды өсіруге пайдаланатын қоректік ортаның мөлшеріне сәйкес келетіндерді қоса отырып әр түрлі отырғызуларды дайындайды. Ортадағы сірінді құрамы 0,5; 0,1; 0,05 және 0,01%-ды құрайды. Сіріндіні алдын-ала залалсыздандырған ортаға қосады. Инокуляциядан кейін жидек сіріндісі бар қоректік ортадағы балдырдың бактериямен зақымданбауын ката-қайта ЕПА, сыра ашытқысы, Эшби ортасы және глюкозалы ортаға егу арқылы тексеріп отырған дұрыс. Кәдімгі сұйық минералдық орта мен жидек сіріндісі бар ортаға балдырларды отырғызуды кезектесе жүргізу қажет. Жаңадан дайындалған ортаға қайта отырғызу 10-15 тәулік өткеннен кейін жүргізеді. Үшінші рет отырғызудан кейін ғана бактериологиялық таза дақылды алуға болады.

Бұл тәсіл үнемі жана материалды қажет етіп, маусымдық шектеулі болғандықтан үнемі қолдануға тиімсіз.

2. МИКРОБАЛДЫРДЫҢ КОЛЛЕКЦИЯЛЫҚ ДАҚЫЛДАРЫН ӨСІРУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТҰРАҚТЫ ҰЗАҚ САҚТАУ ТӘСІЛДЕРІ

2.1. Сұйық орталарда микробалдырларды егу және өсіру

Микробалдырларды егу залалсыздандырған жағдайда арнайы бокста жүргізіледі. Егер дақыл балдыры сұйықтық (гомогендік өсу) түзсе, егуді қоректік ортасы бар залалсызданған колбаға егілетін дақылдың тығыздығына, егілетін ортаның көлеміне байланысты сұйықтықтың белгілі бір көлемін (1-50 мл) қоса отырып жүргізеді. Егер балдыр субстратқа немесе түйірге жабысып өссе (гетерогенді өсу), егуді залалсызданған микробиологиялық ілмекпен қыртысшалар немесе түйірдің азғана бөлігін бөлектей отырып, оларды жаңа қоректік субстратқа көшіре отырып жүргізеді. Егуді аяқтаған соң колбаны мақта-дәкелі тығынмен тығындап, үстін залалсызданған пергамент қағаз, полиэтилен жабын қақпақпен жабады. Колбаларды еккеннен соң сөрелерге орналастырады. Балдырларды өсіруде күн сәулесінің тура түсуінен сақтану керек. Себебі, ол қоректік ортаның қызып, пигменттің түссізденуіне әкеліп соғады.

Сұйық ортаға еккен балдыр дақылдарының өсу ұзақтығы балдырдың өсу қарқынына, ортадағы қоректік элементтің қорына, тәжірибенің мақсаты мен міндетіне т.б. әр түрлі факторларға байланысты.

Көкжасыл балдырларды қарқынды емес дақылдағанда ұзақ уақыт бойы 1-1,5 жыл, жасыл балдырларды 1-2 ай, диатомдыларды I айға дейін екпеуге болады. Бұл көрсетілген мерзімдер жоғарыда аталған факторларға байланысты. Көп жағдайда еккеннен кейінгі бірінші кезеңде балдырлар өте баяу дамиды, бірақ егусіз ұзақ

уақыт бойы сақталады. Қоректік ортада олар тез дами бастайды да, көп кешікпей ортаның құнарсыздануына байланысты өліп қалады.

Балдырларды ұзақ уақыт бойы екпей ұстау ұсынылмайды, себебі қандай қоректік ортасы бай болса да балдырлар өзінің тіршілік барысындағы өнімдері әсерінен өзін-өзі уландырып, өсуін тоқтатады. Бұған оларды жаңадан дайындалмаған, бірақ қоректік зат қоры ұқсас қоректік ортаға ауыстырып отырғызу арқылы да көз жеткізуге болады.

Балдырлардың өмір сүруін тоқтату және өсімін тоқтатудың соны олардың сарғаюына әкеліп соғады. Ақшыл дақтардың пайда болуы мен ортаның лайлануы өсімінің тоқтауы мен дақылдың өлуі кезінде де байқалады. Соңғысы температураның жылдам төмендеуінен, шамадан тыс жарықтандырудан, жұқпалы вирус әсерінен, нашар әзірленген қоректік ортадан болуы мүмкін.

2.2. Агар-агарлы қоректік орталарда микробалдырларды өсіру

Қатты қоректік ортаны көбінесе 1,5-2% агар-агарды қолдана отырып дайындайды. Мұндай ортада көптеген балдырлар жақсы өседі. Агарлы орта үшін 1 л дистилденген суға 15-20 г агар салады, жазда агарды көбірек, қыста азырақ салған жөн. Себебі, төмен температурада орта тез қатады. Агар-агарды қайшымен ұсақтап, құбыр суында 1-2 күн жібітеді. Мұны дәкеден істелген қапшықта істеген ыңғайлырақ болады. Ісінген агарды дистилденген сумен мұқият жуып, сығып, содан кейін ыстыққа төзімді ыдысқа салады да үстіне берілген мөлшердегі дистилденген суды құйып толығымен ерігенше қайнатады. Қайнату барысында ерітіндіні араластырып отыру қажет. Агар еріген соң үстіне орта

рецептісіне сәйкес қажет тұздарды салып, ортаның рН-ын тексереді. Қажет болған жағдайда рН-ты 7-7,3-ке теңестіреді. Дайын болған қоректік орталарды пробирка немесе Петри табақшасына салып, залалсыздандырады. Кей жағдайда барлық ортаны кәдімгі бөтелкеде залалсыздандырып, содан кейін залалсызданған күйде (жалынның үстінде) Петри табақшаларына құйған ынғайлы. Егер де ағарды киғаштап қатыру керек болса, ағары бар пробирканы көлбете орналастырса ол көлбеулене қатады. Лабораториялық жағдайда ағарлы ортада микр обалдырларды өсіру техникасын таза дақылдарды бөліп алуда, балдырлар дақылын және басқа да түрлерді мұражайда сақтауда қолданады.

Ағарлы ортада балдырлар сұйық ортаға қарағанда баяу өседі. Осыған байланысты ағарлы ортаны мұражайда балдырларды өсіру үшін пайдаланады. Осы мақсатта көкжасыл балдырлардың мұражайлық дақылдары үшін Громова ортасы, жасыл балдырлар үшін Майерс ағарлы ортасы пайдаланылады. Егілген ағарлы орта тез қатып қалмас үшін пробирка немесе колбаның аузын мақта-дәкелік тығынмен тығыз етіп тығындап, үстін полиэтилен орап жабады да дақылды біраз уақытқа (1-1,5 апта) жасушалары өсу үшін жарыққа қояды.

Мұндай өсіруге бүйірінде люминесценттік лампалары ілінген кәдімгі медициналық шкафтар қолайлы. Кейде бұл лампаларды ішкі жағына орнатып қояды, бірақ бұл дақылға жарықты жақсы түсіргенімен температураны жоғарылатып, пробирка немесе колбадағы балдыр дақылын қыздырып, не болмаса құрғатып жіберуі мүмкін.

Мұражайлық дақылдарды ұзақ уақыт сақтау-температурасы $48-20^{\circ}\text{C}$ -ден аспайтын шкафтарда немесе температурасы $6-10^{\circ}\text{C}$ тоңазытқыштарда және тұрақты $15-25$ ваттық қуат лампаның $300-500$ люкстік әлсіз жарығында жүргізіледі (3-сурет). Мұндай жағдайда дақыл

ұзақ уақыт сақталады және 2-3 айда бір рет ғана ағар-ағар қата бастаған жағдайда қайта егіледі.



3-сурет. Микробалдыр коллекциясын сақтауға арналған тоңазытқыштар

Мұражайлық таза дақылдар аса сақтықпен, толық залалсызданған жағдайда, арнаулы бокс немесе жалын астында егіледі. Дақылдар егілген пробиркаларды шапшаң кимылмен тығын және полиэтилен қақпақпен жауып отырады. Олардың сыртына тушьпен дақылдың номері, егілген мерзімі және алдыңғы егілген дақыл саны жазылып қойылады.

Мұражай дақылдары арнайы дәптерге тіркеліп отырады. Төменде мұражай құжатының мысалы келтірілді. (2-кесте)

2-кесте. Микробалдырлардың мұражай дақылын тіркеп жазу үлгісі

Дақыл түрі, штамм N	Егу мерзімі	Орта	Алдыңғы егу мерзімі	Ескерту
Mycrocysts Pulverea(28) (Wood) Forti.emend. Elenk.	20.1.2003 3.03.2003	Громова	15.10.2002 20.01.2003	Дақыл Праттан 15.08.1999 алынды

Ағарлы ортада егілген микробалдыр таза дақылдарын басқа коллекцияға тапсыруға, тасымалдауға болады.

2.3. Микробалдырларды арнайы қоректік орталарда өсіру

Барлық микробалдырлар таза минералды ортада өсе бермейді. Олардың көпшілігі қалыпты өсу үшін органикалық заттарға мұқтаж келеді. Ондай жағдайда балдырларды топырақ, балшық, саз сияқты органикалық қосылыстар қосылған арнайы ортада өсіреді. Органикалық орталардан топырақ сығындысы көбірек қолданылады. Оны пайдаланып дайындалған ортаның буферлілігі жоғары, әрі микроэлементтері көп. Қоректік ортаға топырақ сығындысын қосу оны табиғи су құрамына жақындатады және балдырдың өсіп дамуына қолайлы болып келеді. Топырақ сығындысын даярлаудың бірнеше тәсілдері бар.

Прингсхейм тәсілдері:

1. 1 кг бақша топырағын (қарашірігі мол) 1 л құбыр суында 1 сағат қайнатады. Тұнбасын екі тәулік қойып қояды да, сосын төгіп тастайды. Тұнбаны пайдаланған жағдайда дистилденген судың алтыдан бір бөлігінде

сұйылтып, 1 л сұйықтыққа 1,5 кг KNO_3 енгізеді немесе 100 мл қоректік ортаға 5-10 мл топырақ сығындысын қосады. Органы қолданар алдында ерітіндіні залалсыздандырады.

2. Бакша топырағына екі есе көлемдегі суды құйып, бірнеше күнге қалдырып қояды. Пайдаланар алдында 1:10 немесе 1:50 қатынасында сұйылтады және автоклавта 5 мин қыздырады.

Данилов тәсілі:

Топырақты дистилденген суда 3 мин шайқап (топырақтың бір бөлігіне судың төрт бөлігі), сүзеді. Сүзіндінің 1 бөлігіне дистилденген судың 3 бөлігін алады да, 1 л көлем есебінде келесі тұздарды қосады: K_2PO_4 - 0,2 г және $Ca(NO_3)_2$ - 0,2 г.

Темірдің жоғары мөлшерін қажет ететін балдырлар үшін балшықты қосу жақсы нәтиже береді. Сукоймаларының түбінен алынған балшық, лайды судың аздаған мөлшерінде залалсыздандырады және 50 мл минералды ортаға 1-2 мл-ден қосады.

Шымтезекті батпақтардан жиналған балдыр дақылдары үшін және кальций тұзына кедей, реакция ортасы қышқыл ($pH < 7,0$) сукоймаларда тіршілік ететін балдырлар үшін Веттштейн ерітіндісін қолдану ұсынылады. Ол екі бөліктен тұрады.

А. Минеральдық бөлік

$(NH_4)PO_4$ -0,2 г

$MgSO_4$ -0,05 г

$CaCl_2$ -0,05 г

K_2HPO_4 -0,05 г

$FeCl_3$ 1 тамшы 1%-дық ерітіндіні 1 л дистилденген суға қосады.

Ә. Шымтезек сығындысы

250г шымтезек және 1 л дистилденген суды 3 сағат бойы қайнатады. Содан кейін суытылған ерітіндіні қою шайдың түсіне дейін сұйылтады.

Ерітіндіні даярлау үшін А және Ә бөліктерін тең мөлшерде араластырады.

Жоғарыда аталған сығындылардан басқа минералдық ортаға микробалдырларды өсіру үшін глюкоза, сахароза, аминқышқылдары және физиологиялық активті қосылыстар сияқты органикалық қосылыстарды қосады.

3. МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫҢ БЕЛСЕНДІ ТҮРЛЕРІН ӨСІРУ ЖӘНЕ АЛДЫН-АЛА ІРІКТЕУ

Алдын-ала салыстыру және дақылдарды іріктеу үшін микробалдырлардың белсенді түрлерін бөліп алудағы жаппай жұмыс кезінде неғұрлым қарапайым әдістер қолданылады.

Бірінші тәсілді К.В. Квитко ұсынған, бұл тәсіл бойыншы балдырлардың сұйық сұйықтығын стандартты агарлы ортаға егіп, өсіп шыққан колонияның диаметрін винттік окуляр-микрометрдің көмегімен өлшеу арқылы колониялардың өсуімен іріктеу жүргізіледі. Колония диаметрінің өсу жылдамдығы неғұрлым жоғары дақылдар, соғұрлым белсенді деп саналып, іріктелініп алынады.

Екінші тәсіл зерттелетін микробалдыр түрлерін зерттеуге арналған сұйық ортаға егілетін материалдың бірдей мөлшері жағдайында егу болып табылады. Бірдей жағдайдан кейін зерттелетін түрлердің өсу жылдамдығын, жасуша немесе биомасса санын, сұйықтықның жасылдану қарқындылығын тексереді.

Осы көрсетілген екі тәсілдің екеуінде де микробалдырдың белсенді өсуіне жағдай жасалмағанын алып қарасақ, оларды іріктеуде жоғары белсенділіктегі жарықсүйгіштер, жылусүйгіштер, фотоавтотрофтық

микробалдыр түрлеріне жасалатын барлық сынақты белсенді өсіру жағдайында жүргізген жөн.

3.1 Микробалдырлардың белсенді дақылдары, негізгі жабдықтар, тәжірибеге дайындық және тәжірибені қою

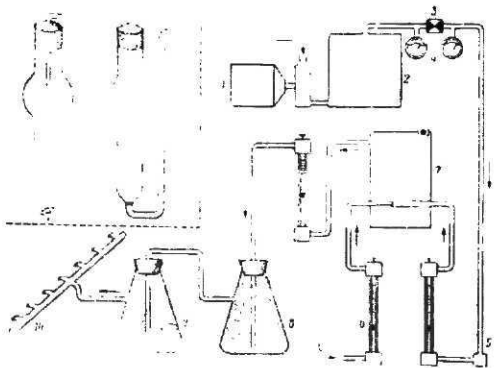
Микробалдырларды жалпылай өсіру тәсілі микроорганизмдерді өсірудегі ең қарапайымдарының бірі болып саналады. Мұнда тұрақты үрлемелі ауалы ыдыстарда өсіру, жоғары концентрациялы минералдық тыңайтқыш тұзды ортаны көмірқышқылмен байыту, дақылды тәулік бойғы белсенді жарық көздерімен жарықтандыру, сұйықтықтардың тұрақты орын ауыстыру жағдайы болып табылады.

Жоғарыда көрсетілген жағдайды жасау үшін микробалдырларды белсенді өсіруде нақты жобаға негізделген құрылғымен қамтамасыз ету қажет (4-сурет).

Тәжірибені дайындау және қою.

Ыдыстар мен орталарды әзірлеу. Алғашқы реткі сынамалардың барлығы да арнайы залалсыздандырылған ортада өтуі керек. Ол үшін ыдыстар, мақта сүзгішті және автоклавтағы дымқылдағышты 1 атмосферада залалсыздандырады. Шытынап кетуден сақтану үшін ыдыстарды залалсыздандыру ыстық автоклавқа салудан бас тартқан жөн.

Әрбір сынаманың өзінде үлкен ыдыстар болса (250 мл сыйымдылықтағы) кемінде екіден кем емес қайталаудан, ал кішкентай дақылдық ыдыстарды (30 мл сыйымдылықтағы) үш реттен кем емес, қойған дұрыс.



1-компрессор; 2-ресивер; 3-редуктор; 4-манометр; 5-араластырғышқа ауа беру жылдамдығын реттейтін кран; 6-ратометрлер; 7-ауаны көмірқышқыл газымен араластырғыш; 8-залалсыздандырылған мақталы сүзгі; 9-дымқылдағыш; 10-тармақталған түтіктер

4-сурет. Микробалдырларды белсенді өсіруге арналған құрылғының сызбасы

Қоректік орталарды ыдыстардан бөлек арнайы колбада залалсыздандырады. Әр колбаға сынамаға қанша дақыл қажет болса, соншама мөлшерде қоректік орта құйылады. Яғни, егер үш дақылдың өсімі салыстырылатын болса, онда екі қайталанатындай сынамаға үлкен ыдыс пайдаланылады, ол үшін әрбірінде 500 мл қоректік орта болатындай үш колбада дайындалады.

Микробалдыр дақылдарын өсіруге дайындау.

Микробалдыр дақылын сынамаға қоярдан бірнеше күн бұрын қиғаш агарда немесе сұйық ортада қайталап егеді. Бұл дақыл сақталуы үшін қажет. Осындай құрамдағы

жаңадан әзірленген қоректік ортасы бар колбаларды ары қарай сынамаға қолданыла береді.

Әртүрлі дақылдарды салыстырғандағы тәжірибеде дайындық егуі жасуша саны мен биомассасы бойынша бірдей барлық түрлер үшін бір күнде жүргізіледі. Колбаларды 4-6 күнге өсіру үшін жарыққа қояды.

Тәжірибені қою. Залалсыздандыру ережесін пайдалана отырып тәжірибе қойғанда қоректік ортасы бар колбаға жасуша саны және биомассасы бойынша бірдей микробалдырлар дақылдарын енгізеді. Сұйықтықты мұқият шайқайды және ыдыстарға құяды, бұл ретте сұйықтықты колбаларды қыздырған кезде оларға жарықшақ пайда болмауы үшін колбаның ауызы отқа тым жақындамауын ескерген жөн.

Сұйықтық ыдыстарға құйылғаннан кейін тармақталған түтіктерге біріктіріледі, ол үшін тармақталған түтіктердің әрбір резеңке түтігіне мақта тығылады, түтіктің аузын 90 градустық спиртпен немесе залалсыздандырылған сумен (немесе залалсыздандырылған глицеринмен) майлайды және түтікке сәйкес келетін барботерді тығындайды. Тармақталған түтікшенің ортақ аузы дымқылдағышпен қысқа түтікпен, ал соңғысы түбіне дейін жететін түтік тығылып, мақталы сүзгішпен қосылады. Бұл жалпы алғанда 4-суретте көрсетілгендегідей болады.

Тәжірибеге алынған ыдыстар жарық көзінің алдына орналастырылады. Мақта сүзгіштің бір ұшы ротаметрге қосылады. Ол арқылы тармақталған түтікшеге көмірқышқылымен байытылған ауа беріледі. Ауаны CO_2 -мен қосылысы әрбір үлкен ыдысқа (200 мл) сағатына 10-15 л ауа үрлегендей мөлшерде ыдысқа кіруге тиісті. Әрбір ыдысқа ауаны берудің нақты градуировкасы сынаманы қоюды қиындата түсетіндігіне байланысты тармақталған түтікшеге бір ротаметр қояды, ал әрбір ыдыс арқылы ауа

өтуінің тепе-теңдігін шлангіге кигізілген бұрамалы қысқышпен реттейді.

Сынама барысында тармақталған түтікшелерге артық ыял тамып кетпеуін қадағалаған жөн, мұндай жағдайда ыдыс пен тармақталған түтікшелердің қосылған жеріндегі мақтаның дымқылдануы салдарынан ыдыс арқылы ауаны үрлеуге кедергі туындайды.

Тәжірибе барысында сынама алғанда яғни, кішкентай ыдыстарда сынама жасағанда залалсыздандырылған пипетка арқылы ыдыстың аузынан мұқият сақтықпен алынады. Ыдыстың тармақталған түтікшелерге қосылатын аузындағы мақта ыдысты уақытша үзіп қоюға және толық залалсыздандырылған жағдайда сынама алуға мүмкіндік тудырады. Үлкен ыдыстардан сынама алу оның астындағы ағызу кранының көмегімен жүреді, бұл жағдайда алынған сұйықтықтың алғашқы порциясын төгіп тастап, сараптамаға үшін, екінші порциясын пайдаланған дұрыс болады. Кранның аузын сынама алынғаннан соң спиртпен дымқылдаған мақтамен тазарту керек.

3.2. Микробалдырлардың белсенді өндірістік дақылдарын лабораториялық жағдайларда өсіруге қойылатын талаптар

Микробалдырлардың өндірістік белсенді дақылдарының қатаң автотрофты жағдайда минералды ортада өсірілуі, фотосинтез процессіндегі жасыл өсімдіктердің құндылығын анықтайтын негізгі үрдістің қарқындылық нәтижесінде жүзеге асуы мүмкін.

Бұл жағдайда микробалдырлар штамдарының өсу және фотосинтез қарқындылығына байланысты өндірістік талаптар тізбегіне жауап берсе, олардың белсенді дақылдары тиімді болып табылады. Ал бұл тиімді шарттар төмендегідей:

1. Микробалдырлардың белсенді өсуіне қарамастан, оларды тұздар концентрациялары жоғары минералды орталарда өсіру кезінде де фотосинтез белсенділігі жоғары болуы. Бұл минералды қоректік ортаның элементтерін жиі қосып тұрмауға мүмкіндік береді.

2. Жоғары интенсивті жарықпен жарықтандыруға жағдай жасау жоғары энергиялы өсуді қамтамасыз етуі тиіс. Мұндай талап сұйықтыққа оптималды жарық таратылуының оңай жүзеге аспауымен байланысты, сондықтан сұйықтықтағы барлық жасушаларды жарықпен қамтамасыз ету жоғары белсенді сәулелендіру арқылы жүзеге асады, бірақ бұл әсіресе сұйылтылған сұйықтықта жасушалардың жартысының қатты сәулеленуіне әкеледі. Өндіріс үшін ең тиімдісі фотосинтездің жоғары жарық түсу кезіндегі жарықтың энергия сіндіруінің көбірек коэффициентіне ие болатын дақылдар болып табылады.

3. Жарықтың жоғары белсенділігін беретін көздерді пайдалану микробалдырлар штамдарына қосымша талап қояды, ол термофилділік. Яғни, жоғары температура жағдайында активті өсу байқалады. Бұл талаптың артықшылығы, термофилді организмдер дамудың жоғары энергиясымен ерекшеленеді, бұл ерекшелік термофилді микробалдырлар дақылдарына да тән. Сондықтан термофилді микробалдырлар өндірістік белсенді өсіру үшін өте перспективті болып табылады.

4. Төлығымен залалсызданбаған жағдайда дақылдармен жұмыс жасау мүмкіндігі өндірістік жұмысты жеңілдетеді. Осыған байланысты басқа организмдерге төзімді және басқа микрофлоралардың өсуін тежей алатын микробалдырлар штамдары болу қажет.

5. Өндірістік дақылдар үшін бір жасушалы микроскопиялық немесе ұсақ колониалды формалы микробалдырлар, колониалды, жіпшелі балдырлар мен макрофиттермен салыстырғанда тиімді. Себебі олардың

жасушалары CO_2 -мен жақсы байланысуы сұйықтықты интенсивті араластыру арқылы тереңде өсіруге және де барлық сұйықтықты жарықтандыруға жеңіл болады.

Белсенді өндірістік дақылдар үшін форма, берілетін шырыш, комкалар және тағы басқалардың қажеттілігі шамалы.

Сол сияқты өндіріс үшін қиын және лабораториялық дақылдардың белсенді өсу жағдайындағы жыныстық қатынастар, қозғалу стадиясы сияқты күрделі өмірлік циклді формалар аз зерттелген.

Қазіргі кезде жинақталған дақылдар және лабораториялық жағдайда жақсы зерттелген микробалдырлар қатарына жасыл, бір жасушалы протококты балдырлар кіреді, соның ішінде *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus* және т.б. Бұл балдырларға анықтамалар тізімінде толығымен сипаттама берілген. Жасыл балдырлармен қатар, атмосфералық азотты фиксациялау қабілетіне байланысты көкжасыл балдырлар және май жинау ерекшелігі бар диатомды балдырлар да үлкен қызығушылық тудыруы мүмкін.

6. Барлық талаптармен қатар өндірістік дақылдарға байланысты әр өндірістің (мысалы, амин қышқылын немесе витаминдер алу, белоктық немесе майлық жем т.б.) микробалдырларға өз талаптары болуы мүмкін.

Өндірістік дақылдардың талаптарына сай келетін штаммдарды таңдау, олардың толығымен лабораториялық жағдайдағы зерттелуіне және өндірісте өсіруге сәйкес келуі тиіс. Қазіргі кезде қарапайым әдіс ретінде балдырларды табиғи жарықтандыру арқылы колбаларда өсіру кең таралған.

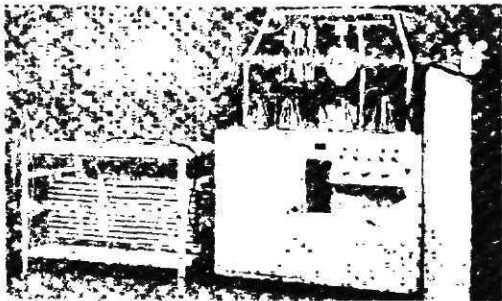
Бұл әдістің жақсартылған модификациясы микробалдырларды колбаларда өсіру, люминесцентті шамдар үстінде орналасқан шыныда немесе

люминесцентті шамдары үстінде немесе астында бекітілген эткеншектерде өсіреді.

Бұл өте көне әдіс болғанымен, олардың қарапайымдылығы үшін жаңа лабораторияларда да кеңінен қолданылады.

Микробалдырларды осы әдіс арқылы өсіру барысында алынған физиологиялық сипаттамасы және осы жағдайға таңдалып алынған өсірудің оптималды режимі балдырлардың жағдайына белгілі бір көлемге сәйкес келеді, және олардың өнімділігіне потенциалды әсері болмайды. Осындай жағдайларда алынған нәтижелерді өндіріске жіберу мүмкін емес, себебі микробалдырларды өсірудің бұл әдісі белсенді өндірістік дақылдар жағдайынан көп мөлшерде ерекшеленеді.

Сондықтан біріншілік сынауларды және микробалдырлардың жоғары өнімді формаларын іріктеп алуды, олардың активті өсуін қамтамасыз ететін жағдайларда жүргізу қажет. Ол үшін микробалдырларды белсенді өсіруге арналған лабораториялық қондырғылар пайдаланылады. Оның бірі микробалдырлар лабораториялық зерттеулер жүргізуге арналған дақылдар жасушаларын CO_2 - мен байытылған ауамен автоматты түрде қамтамасыз ете алатын қондырғыны айтуға болады (5-сурет).



5-сурет. Микробалдырларды лабораториялық жағдайда зерттеуге арналған қондырғы

Бұл кезеңде селекция жұмыстары және өндіріс үшін табиғаттан микробалдырлар штамдарын бөліп алу эффективті жүргізілуі мүмкін, лабораториялық сынау әдісі бойынша өнімділіктің стандартизациялық шарттары болғанда ғана кең көлемде де қолайлы жүргізіледі. Ең алдымен белсенділік және сапалы жарықтандыру, үрленген ауадағы CO_2 -н концентрациясы, сұйықтықты араластыру белсенділігі, өсіру температурасы сияқты стандарттау шарттары орындалуы қажет.

Белсенді формаларын таңдап алу үшін микробалдырларды өсіруде мұндай стандартты шарттар ретінде төмендегідей жағдайлар орындалуы тиіс:

1. БС немесе ТБС шамдарымен жұмыс жасау барысында белсенді 8-10 мың люкс, ал ДРЛ шамдарымен жұмыс жасағанда 15-20 мың люкс жарықпен тәулік бойы жарықтандыру.

2. 1 литр сұйықтыққа сағатына 50-75 л ауа беру кезіндегі сұйықтықтың белсенді барботажы.

3. Микробалдырлар дақылын үрленген ауамен байыту арқылы CO_2 -мен үздіксіз камтамасыз ету.

4. Микробалдырларды минералды орталарда өсіру.

5. Микробалдырлардың өсу температурасы мезофилді формалар үшін $25-27^{\circ}\text{C}$, ал термофилді формалар үшін $35-39^{\circ}\text{C}$. Оларды өте төмен және өте жоғары температурада өсуін тексеру берілген стандартка қосымша жүргізіледі.

6. Эксперименттерді залалсызданған орта жағдайларда жүргізу.

4. МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫҢ БИОМАССАСЫ ЖӘНЕ КЕЙБІР БИОХИМИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН АНЫҚТАУ

4.1. Микробалдырлардың жасушалар санын есептеу

Клеткалардың саны есептеу камералары арқылы анықталады. Клеткалардың санын балдыр сұйықтығында есептеу үшін канның (Томның, Горяевтің, Бюкердің және т.б.) немесе планктонның (Нажотт камерасы) түрлік элементтерін анықтайтын кез-келген камералар қолданылады.

Жасушалар саны Горяев камерасының көмегімен анықталады (6-сурет). Камера-ортасын кәлденең науа бөліні тұратын пластинкалық әйнек (6а- сурет). Орталық бөлігінің биіктігі жалпы пластинканың биіктігінен 0.1 мм аласа, соның арқасында жабын әйнекпен жапқанда пластинканың ортасында камера пайда болады (6б- сурет).



а-жалпы түрі, б-жанынан карағандағы түрі, в-жасушаларды санауға арналған торшалар

6-сурет. Жасушалар санын есептейтін Горяев камерасы

Пластинканың орта бөлігінің беткі жағында шаршылы тор көздер орналасқан (6в- сурет). Сол тор көздерге дақыл тамшыларын тамызып, үстін жабын шынымен жабады. Жабын әйнегі мұқият сүртіледі (жақсы сүртілуі үшін қырларына аздаған сұйықтық тамшысын жағады). Сүрткеннен кейін жабын шыны мен науадағы барлық артық сұйықтықтарды мұқият сақтықпен сүзгі қағаздың немесе дәкенің көмегімен жою керек, яғни жабын шыны айналасында артық сұйық зат болмауы шарт. Микроскоппен белгіленген шаршыдағы балдыр клеткасының саны есептеледі де, содан кейін камераның биіктігі мен беттік ауданын біле отырып, 1 мл сұйықтықтағы клеткалар санын есептейді (төмендегі есептеуді қараңыз).

Клеткалардың санына есеп жүргізгенде көп жағдайларда сұйықтықты 50, 100, 250 және т.б. есе сұйылту қажет болады, өйткені камерала есептеу клетканың $1,0-2,0 \cdot 10^6/\text{см}^3$ тығыздығы кейінде жүргізіледі. Тығыз сұйықтықта клетка санын есептеу жұмыс көлемін молайтады.

Камерада есептеу жүргізгенде мынадай қателерді жіберіп алмаған жөн.

1. Пипеткамен сұйықтықты алған кезде клетка пипетканың төмен бөлігіне тұнып қалмас үшін, тамшыны тор көздердің бетіне өте тез тамызу керек.
2. Тор көздердің бетіне тамшыны тамызғаннан кейін тездетіп жабын шынымен жабады да, тамшыдан клетканың тұнып қалуын болдырмас үшін сүртеді.
3. Жабын шыныны сүрткеннен кейін және микроскоппен санаған кезде жабын шынының астындағы сұйық біркелкі таралып тұруын қадағалаған жөн.
4. Есептеу жүргізгеннен соң камераны тез жуып, жұмсақ фланельмен (түкті жұмсақ маға) сүрту қажет.
5. Есептеу дәл нақты болуы үшін шаршының көп санын есепке алып (негізінде барлық тор көздерді), және есептеуді сол сұйықтықтың бірнеше тамшысымен қайталап жүргізген дұрыс. Көптеген камералар науамен бөлінген екі әйнектен жасалған. Сондай камераларда екі тамшыны қатар құйып есептеуге болады. Бұл кезде тамшының пипеткадағы бірдей үлгіден қатар тамызбай, сұйықтықтан пипеткаға екі рет алынған болуын қадағалау керек.

Есептеу. В суретте штрихтап тастаған ең кішкене

шаршының ауданы $\frac{1}{400} \text{ мм}^2$

Камераның биіктігі $\frac{1}{10} \text{ мм}$, кішкене шаршысы бар

камераның көлемі $\frac{1}{4000} \text{ мм}^3$

Есептеу 1 см^3 сұйықтықтағы клетка санына жүргізілетіндіктен, табылған көлемді см^3 -пен өрнектейміз.

$$\frac{1}{4000} \text{ мм}^3 = \frac{1}{4000000} \text{ см}^3 = \frac{1}{4 \cdot 10^6} \text{ см}^3$$

Камерада клетка санын есептеу кезінде, кішкене шаршыға сай келетін көлемде орташа n клетка бар екені табылды. Енді пропорция құрып, 1 см^3 сұйықтықта қанша клетка x бар екенін табамыз.

$$\begin{array}{l} \frac{1}{4 \cdot 10^6} \text{ см} \dots\dots\dots n \text{ клетка} \\ 1 \text{ см}^3 \dots\dots\dots x \text{ клетка} \end{array}$$

$$x = \frac{1 \cdot n \cdot 4 \cdot 10^6}{1} = n \cdot 4 \cdot 10^6 \text{ клетка/см}^3.$$

Камерамен жұмыс істегенде, практика жүзінде ең қолайлысы 25 үлкен шаршыда балдырлар клеткасын санау болып есептеледі. Сондай үлкен шаршының әрқайсысы 16 кіші шаршыдан тұрады. Егер 25 үлкен шаршыдағы клетканың жалпы саны m болса, онда бір кіші шаршыдағы клетка саны тең болады $n = \frac{m}{16 \cdot 25}$, ал 1 см^3 сұйықтықтағы

клетка саны: $x = n \cdot 4 \cdot 10^6 = \frac{4 \cdot m}{16 \cdot 25} \cdot 10^6 = \frac{m}{100} \cdot 10^6$

$$x = \frac{m(5кв)}{20} \cdot 10^6$$

Осылай 25 шаршыны есептегенде 1 см^3 сұйықтықтағы клетка санын тура табу үшін жалпы клетка санын (m) 100-ге бөліп және 10^6 -не көбейткен жеткілікті.

4.2. Балдырлардың құрғақ биомассасын анықтау

Балдырлардың құрғақ биомассасын анықтау үшін 20-40 мл балдыр сұйықтығын 10 мин уақыт аралығында 3000-4000 айн/мин центрифугалаймыз, беткі сұйықтықты

абайлап құйып алып, қалған тұнбаға 20-40 мл дистилденген су қосып жақсылап араластырып тағы да центрифугалаймыз. Кейіннен беткі сұйықтықты абайлап құйып алып, тұнбаны дистилденген су көмегімен тұрақты өлшемге келтірілген бюкстерге құйып, 80 нен 105⁰С аралығында кептіргіш шкафта тұрақты өлшемге дейін кептіреміз. Құрғақ биомасса 1мл сұйықтыққа мг есебінде есептелінеді.

$$M=m_1-m_2$$

Мұндағы: m_1 -бос бюкстің массасы;

m_2 -жасуша сұйықтығы кептірілген бюкс массасы;

4.3 Микробалдырлардың құрамындағы ақуызды анықтау әдісі

Микробалдырлардың ақуызын Фолин реактиві арқылы Лоури әдісі бойынша анықтайды. Ол үшін 0,5-1г балдырлардың құрғақ биомассасының ұнтағын 0-4⁰С суықтықта 10 мл ацетон қосып, 5-10 мин 8000g айналымда центрифугада пигменттерден ажыратамыз. Бұл әдісті екі-үш рет қайталаймыз. Пигменттерден ажыраған тұнбаға 10 мл 5% үш хлор сірке қышқылын қосып 30 мин ұстаймыз. Кейінен центрифугалау арқылы ақуызды тұнбаға түсіреміз де, 2% үш хлор сірке қышқылымен жуамыз. Алынған тұнбаға 10 мл NaOH қосып 5 мин қайнаған су моншасында ерітеміз.

Анализ жолы: 2,5 мл зерттелетін ақуыз ерітіндісіне 5 мл реактив С қосамыз, қоспаны араластырып, 10 мин кейін 0,5 мл Фолин реактивін қосамыз. Тығыздық көрсеткішін 30 минуттан кейін 750 нм толқын ұзындығында спектрометрде өлшейді. Алынған ақуыз ерітіндісінің көрсеткіштері арқылы калибрлік қисық сызық саламыз.

4.4. Балдырлардың пигменттік құрамын анықтау

Балдырлардың пигменттік құрамын анықтау үшін 100-200 мг балдырлардың құрғақ биомассасын кішкентай келіге салып скальпель ұшымен $MgCO_3$ және 4-5 мл ацетон қосып жақсылап араластырып, еземіз. Алынған езіндіні Бунзен колбасына қойылған шыны фильтрге құйып, сұйықтықты насос көмегімен сорып аламыз. Кейінен келіге тағы да аз мөлшерде ацетон құйып тағы еземіз, фильтрге тағы құйып сорғызып аламыз. Бұл әдісті бірнеше рет толық түссізденгенге дейін қайталаймыз. Алынған езіндіні оптикалық тығыздығы хлорофилл «а» және «в» максимум сіңіру толқын ұзындығына сәйкес 663 және 646 нм спектрофотометрде өлшейміз. Езіндідегі каротиноидты 470 нм толқын ұзындығында өлшейміз. Хлорофилл «а» мен «в» және каротиноидтың концентрациясын мына формула бойынша есептейміз:

$$C_a = 12,21D_{663} - 2,81D_{646};$$

$$C_b = 20,13D_{646} - 5,03D_{663};$$

$$C_{кар} = \frac{1000 D_{470} - 3,27 C_a - 100 C_b}{229}$$

мұндағы: C_a , C_b және $C_{кар}$ хлорофилл «а», «в» және каротиноид концентрациясы, мг/л .

Микробалдырлардың фотосинтез қарқындылығын Винклер әдісімен анықтау

Бұл әдіс микробалдырлардың фотосинтез процесі кезінде бөлініп шығып суда еріген оттегінің сілтілік ортамен байланысып, ары қарай қышқыл ортада оттегінің йодты калий санымен эквивалентті байланыспен тотығуына негізделген және де бос йодты гипосульфитпен титрлеп алады.

Винклер бойынша оттегін анықтаудың жұмыс реті

Қажетті реактивтер: 0.02N гипосульфит; 0,5%-тік крахмал ерітіндісі; хлорлы марганец ерітіндісі (50г $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ -ны 100 мл суда ерітеді, мұнда $MnCl_2$ құрамында темір болмауы керек); $NaOH+KI$ ерітіндісі (33 г $NaOH$ -ты 100 мл суда ерітеді, егер ерітінді күнгірт болса, онда оны сүзіп, 20 г KI -ін қосады да, қараңғы жерде сақтайды); таза концентрленген H_2SO_4 .

Ортаны даярлау. Оттегін анықтау үшін дақылды өсіруге арналғандағыдай құрамда жаңадан дайындалған ортаны алады. Орта жарық экспозициясы кезіндегі температурада, жаңадан қайнатылған суда дайындалады.

Сұйықтықты даярлау. Дайындалған ортаға экспозицияға арналған клетка тығыздығы 0,5-1 млн/мл –ге тең болу үшін сондай мөлшерде балдыр сұйықтығын қосады. Салыстырмалы тәжірибелерде жасуша мөлшері ұқсас түрлер үшін дақыл сұйықтығын бір-бірінен көп айырмасы жоқ тығыздықта дайындау маңызды. Мөлшерлерінің айырмасы көп болған жағдайда (*Scenedesmus* және *Chlorella*) есептеуді органикалық заттың бірдей мөлшерінде жүргізген ыңғайлы.

Экспозицияға сұйықтықты дайындау. Пробиркаларды сүрткен кезде қабырғаларында ауа көпіршіктері қалып қалмауын қадағалаған жөн. Тәжірибенің әрбір варианты үш рет қайталанып қойылады. Бұнымен қатар осы жағдайла бақылау ыдыстары (таза коректік орта) төрт рет қайталанып қойылады.

Экспозиция. Барлық ыдыстар 2 сағатқа 500 вт қыздыру лампасы орнатылған термостатқа суытылып қойылады. Ыдыстар жарық 8-10 мың люкс. шамасында біркелкі түсу үшін лампаны айнала шеңбер түзе орналастырылады. Ыдыстардың беткі температурасы барлығында бірдей болуы керек (26-28⁰).

Экспозициядан кейін әрбір ыдысқа 1 мл $NaOH+KI$ және 1 мл $MnCl_2$ қосылады. Ерітіндіні құйған кезде пипетканы

ыдыстың түбіне дейін түсіріп, өте шапшаңдықпен Імл ерітіндіні ыдысқа енгізу керек. Ыдыстарды қайталан тығынмен жауып, жақсылап араластырады. Осыдан кейін ыдыстарды тұнба қанығып жетілуі үшін қараңғы жерге қояды.

Салыстырмалы анықтау кезінде ыдыстарды сол күйінде бір түнге қалдырып, титрлеуді ертеңінде жүргізуге болады.

Титрлеу. Титрлеудің алдында әрбір ыдысқа 3 мл концентрлі H_2SO_4 қосады да, тұнба толық ерігенше жақсылап араластырады. Содан кейін сұйықтықтан 50 cm^3 алады және 0,02N гипосульфитпен әлсіз сары түс пайда болғанша титрлейді. Осыдан кейін оған 1 cm^3 крахмал қосады да, сұйықтың көк түсі толығымен жоғалғанға дейін титрлейді.

Есептеу төмендегі формуламен жүргізіледі:

$$a = \frac{(x - x_1) \cdot k \cdot 0.16}{50} \text{ мг}$$

Мұндағы: x - тәжірибелік сынаманы титрлеуге кеткен 0,02N гипосульфит мөлшері, мл;

x_1 - бакылауды титрлеуге кеткен 0,02N гипосульфит мөлшері, мл;

k - гипосульфиттің түзетпесі;

0,16 - 1 мл 0,02N гипосульфитке эквивалент оттегі мөлшері;

50 - 1 cm^3 сұйықтықты экспозициялау кезінде бөлінген оттегі мөлшері, мл

4.5. Микробалдыр биомассасындағы органикалық заттарды бихромат әдісімен анықтау

Органикалық затты анықтау үшін балдыр сұйықтығын 1-2 cm^3 мөлшерде, 1 cm^3 -та 5-тен 25 млн. хлорелла

клеткасы болатындай есеппен алады да, 5 см³ хром қоспасын қосады.

Бақылау ретінде 1-2 см³ ортаны алып, оған да 5 см³ K₂Cr₂O₇ қосады. Барлық пробаларды қайнап тұрған су моншасына орналастырады. Алынған пробиркалар мен колбадағыларды суыған соң 250 мл конус тәрізді колбаға ауыстырып құяды. Сұйықтыққа 0,5 г KI. 50-70см³ дистилденген су және бірнеше тамшы крахмал қосады.

0,02N гипосульфитпен титрлейді.

Бос және тәжірибелік титрлеудің айырмасы бойынша органикалық заттың тотығуы үшін қажет оттегінің мөлшерін анықтайды.

Есептеу келесі формула бойынша жүргізіледі:

$$\frac{(x - x_1) \cdot k \cdot 0.16 \cdot 0.8}{2} \text{ мг} - 1 \text{ см}^3 \text{ сұйықтықтағы}$$

органикалық зат.

Мұндағы, x – бакылауды титрлеуге кеткен гипосульфит мөлшері, мл:

x_1 органикалық затты жаққаннан кейін пробадағы хром қоспасын титрлеуге кеткен гипосульфит мөлшері, мл;

k - гипосульфиттің түзетпесі;

0,16 - 1 мл 0,02N гипосульфит ерітіндісіне сай келетін оттегі мөлшері;

0,8 2 см³ сұйықтықтағы органикалық затты қайта есептеу коэффициенті.

Қажетті реактивтер: хром қоспасы (концентрленген H₂SO₄-дағы 0,1N K₂Cr₂O₇ ерітіндісі), гипосульфит ерітіндісі (0,02N), крахмал (индикатор).

5. МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫ БИОИНДИКАЦИЯ ЖӘНЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ БАҚЫЛАУҒА (БИО-ТЕСТ) ҚОЛДАНУ

Қоршаған ортаның ластану мәселелерін шешуде биологиялық әдістер индикация және оның жағдайын бақылау маңызды орынды алады. “Биоиндикация”, “биомониторинг” -ғылыми әдебиеттердегі түсініктер ғана емес, сонымен бірге қазіргі кезде ортаның сапасын бағалау қызметінде жиі қолданылатын әдіс. Жануарлар мен өсімдіктер организмдерін ластанудың биоиндикаторы ретінде екі жағдайда қолдануға болады. Егер олар өз ұлпаларында ластаушы заттарды қоршаған ортаның құрамынан біршама жоғары жинаса немесе олар басқа организмдермен салыстырғанда белгілі поллютанттардың әсеріне төзімділігі жоғары болса қолдануға болады.

Соңғы жылдары әр түрлі ортаның ластануында организмдерді индикация және мониторингте пайдалану тәжірбиелердің қорытынды шолулары аз емес. Биология ғылымдары қоршаған ортаның жағдайының мониторингі жайлы түсінікте маңызды орынды алады. Биологияның көптеген салалары, бірінші кезеңде экология, физиология және генетика, қоршаған ортаның биологиялық компоненттерінің жағдайын теориялық және практикалық бақылау негізінде жете зерттеулерді пайдаланады.

Жалпы мониторингтің бастапқы кезеңі “биоэкологиялық” және “санитарлы-гигиеналық” мониторинг болып саналады, олардың негізгі мақсаты қоршаған ортаның жағдайларын адам және елді мекен денсаулығына әсері тұрғысынан бағалау болып саналады, өйткені дәл осы көрсеткіштер қоршаған ортаның сапасын анықтайды. Қазіргі кезде теңіз ортасының экологиялық мониторинг жағдайын өткізу үшін организмдік және популяциялық деңгейге сәйкес және де биотестілеу және

генетикалық бақылау мәліметтерінен тұратын биологиялық көрсеткіштер жүйесі өңделген.

Шетел зерттеушілерінің жұмыстарында биологиялық мониторингтің басты мақсаты мен міндеті әртүрлі биологиялық әдістермен қоршаған ортаның сапасын организмдер көмегімен бақылауды жете зерттеу және қолдануды енгізу болып табылатын көз қарастар басым.

Гидробионттардың көмегімен био-тест жүргізуді ластанған табиғи сулардың улылығын бағалау, қалдық сулардың улылығын бақылау, экстракттар мен шайындылардың улылығын тез бағалау, лабораториялық жағдайда санитарлы-гигиеналық негіздегі орталарға химиялық анализ жасау үшін қолдануға болады.

Қоршаған ортадағы олардың құрамына химиялық әдістермен бақылау орнату практикалық мүмкін емес. Бұдан басқа, қоршаған ортаның жағдайын физика-химиялық әдістермен индикация жүргізу ластануға экожүйенің «үн кату» сұрағына тікелей жауап бермейді. Сондықтан бұл жүйеде қоршаған орта жағдайларына жоғары сезімталдығымен ерекшеленетін балдырлардың көптеген түрлері сулардың, топырақтың, ауаның биологиялық анализінің әдістері маңызды орынды алады.

Теңіз балдырлары – теңіздің ластануларын, оның ішінде мұнай және радиоактивті ластануларды зерттеуде қолайлы тест объектісі. Сонымен бірге балдырларды топырақтық пестицидтермен және басқа улы заттармен ластану деңгейін анықтауда, топырақтың антропогенді өзгерістерінің бағыттарын, бұзылған жерлердің жағдайын анықтауда қолданылады. Соған байланысты, көптеген балдырлардың индикаторлық мағынасы олардың өсу жағдайына да тәуелді, сондықтан судың сапробтылығының нақты индикаторлық түрлерін ғана емес және олардың санын және экожүйедегі басқа организмдермен қатынасында есепке алу керек. Индикатор ретінде нақты

балдырлардың түрлерін қолдануда дифференциальды шешуге мүмкіндік беретін басқа да қосымша көрсеткіштер қажет. Соның ішінде, индикаторлық түрлерінің популяциялық жағдайының мәліметтерін ескеру орынды (олардың жастық және морфологиялық ерекшеліктері, зиянды құрылымдарының кездесу жиілігі).

Көкжасыл балдырлардың лабораториялық дақылдарын терең сәулелендіруден кейін, олардан кейбір аномальды құрылымдар табылған, оларды радиациялық ауру симптомы ретінде қарастыруға болады.

Қоршаған ортаның ластануының көрсеткіші – сапробты организмдердің атласына қосымша, зиянды әсерлердің негізінде пайда болған қосымша морфологиялық кем-тарлық атласын құру қажет. Балдырлардың популяциясының жағдайын морфологиялық бақылау тестілерін жете зерттеу – экологиялық мониторинг әдістерін әбден жетілдіру жолдарының бірі.

Қазіргі уақытта токсикологиялық биобақылау тәсілдеріне көңіл бөлінуде, себебі биологиялық зерттеу заттардың бақыланған жағдайында сулы ортаның теңділік улылығын анықтау заты ретінде қолданылады. Биобақылау гидробионттың қолданылуымен табиғи сулардың ластану, улануына баға беруге улы ағынды суларды бақылауда, экстракттардың улылығына жылдам баға беруде және санитарлық-гигиеналық мақсаттағы ортада пайдалануы мүмкін лабораториялық мақсатта химиялық анализдерді жүргізуде қолданылады. Кейбір әдістер практикалық есептерді шешуде қолданылады.

Қойылған тапсырмаға байланысты әдістерге және бүкіл биобақылау жүйесіне әртүрлі талаптар қойылады.

Зерттелу зат ретінде биобақылау үшін әр түрлі организмлер қолданылады-бактериялар, балдырлар, дафниялар, сүліктер, моллюскалар, балықтар және т.б. Бұл

объектілердің барлығына назар аударарлықтай өзінің артықшылықтары бар, бірақ ешқандай организм барлық заттарға сезімтал әртүрлі мақсатта бірдей дәрежеде қолданылуда әмбебап объектісі бола алмайды. Осыған байланысты табиғи судағы химиялық құрамы белгісіз улы агентті анықтау үшін су топтастығының әртүрлі группасын құрушы объектілердің жиынтығын қолдану керек. Әр қосымша объектіні енгізгенде сынақтың тиімділік схемасы жоғарылайды, алайда мұндай бағада міндетті объектілердің жиынтығын шексіз кеңейтудің мағынасы жоқ. Бақылау объектісіне сулы өсімдіктердің бір түрін қосқанда жүйе оптимальды болады, омыртқасыздар мен балықтар (барлығы 3-5 түрлі), яғни жағдайлары параметрлері бойынша бағаланатын интегралдың әртүрлі деңгейіне жатады. Деңгейдің әрқайсысы жеке және интегралды бақылау функциясы болып бөлінеді. Интегралды параметрлер жүйенің жағдайын деңгейге сай етіп, жиынтық жауап бере отырып, қорытындылап сипаттайды. Жеке физиологиялық функциялар интеграл параметрлердің осы қызметін сипаттайды. Организмның интегралдылығы өсуі, өмір сүруі, ұрықтануымен сипатталса, физиологиялық, биохимиялық, гистологиялық және басқа параметрлері жеке интегралға жатады. Интегралдық популяция сандық және салмақтық параметрлер болса, ал экожүйенің түрлік құрамы органикалық заттардың белсенділік продукциялық және деструкциясымен сипатталады.

5.1 Ластанған су экожүйелерін микробалдырлармен биоиндикациялау

Қазір антропогенді әсерлерге ұшырайтын тоған жүйелерінің әрі қарай дамуын болжау және оны қайта қалпына келтіру жолдарын іздеу өзекті мәселенің бірі екені даусыз.

Суга биологиялық анализ жасаудың негізін XVIII ғасырдың 60-70 жылдары А. Мюллер мен Ф. Кон салған болатын. Ал XIX ғасырдың соңында Мец тұщы тоған суларының флора мен фауна өкілдеріне санитарлық және экологиялық сипаттама берді. Судың санитарлық және биологиялық анализінің принципі негізінде тоған суларына қалдық лас сулардың кұйылуынан бірқатар гидробионттардың тіршілігінің жойылуының нәтижесінде судың әр түрлі ластану деңгейін сипаттайтын арнайы организмдер бірлестігі пайда болуымен аяқталады. 1908-1909 жылдары Кольквитц пен Марссонның сапробты индикатор-организмдердің тізімін жариялағаннан кейін су сапасын санитарлы-биологиялық болжау практикада кең қолдау тапты.

Сапробтылыққа нақты түсінікті Ресейдегі санитарлы-гидробиологияның негізін салушылар профессор Я.Я. Никитинский мен Г.И. Долгов берді. «Сапробтылық дегеніміз – берілген организмнің әр түрлі органикалық заттардың құрамында, әр түрлі ластану деңгейіне байланысты олардың суда даму қабілетінің физиологиялық қасиетінің кешені».

Бірақ Кольквитц пен Марссонның сапробтылық жүйесі бірқатар кемшіліктерден тұрады және оны жөндеуді қажет етеді. Авторлар судың ластану деңгейінің жүйесін арнайы бірлестікпен емес, басшылық етуші индикатор формалармен сипаттады. Сондықтан сапробты организмдер тізімі шамамен 1000 түрден тұрады.

Физикалық және химиялық әдістерді қолдануға карамастан, гидробионттар табиғи судың сапасының өзгеруінің сезімтал индикаторы болып табылғандықтан, сапробтылық тізімін толық жетілдіру қосымша зерттеулерді талап етті.

Г.И.Долгов индикаторлы түрлердің тізімін қарастыруда организмдердің ластану аймағына сәйкестілігін ілеспелі формаларға тәуелділігімен анықтау қажеттілігіне сүйенеді. Ол ластану деңгейін бағалауда негізгі назарды жеке индикаторлық түрлерге емес, олардың бірлестігіне аударды. Бұл оған индикаторлы-организмдердің тізімін 103 түрге дейін қысқартуға мүмкіндік берді.

«Тірі индикаторлар шамасының» сезімталдығын жоғарылату үшін Чех зерттеушісі Сладечек индикатор-организмдердің айырмашылықтарын жасады. Ол сапробты организмдер жүйесін төрт топқа бөлді: катаробты (ауыз сулары), лимносапробты (Кольквиц пен Марссон жүйесіне сәйкес), зусапробты (бактериялық бұзылуларға ұшырайтын тұрмыстық және өндірістік қалдық сулар) және транссапробты (ластанулары бактериялық ластануларға әкелмейтін қалдық сулар). Сонымен бірге индикаторлы организмдердің сезімталдығын, ластанудың әсерін организмдердің тіршілігін жоймастан алдын-ала физиологиялық өзгерістерін бақылай отырып жоғарылатуға болады.

Сонымен көптеген зерттеулер нәтижесінде қазіргі кезде сапробтылық деңгейін көрсететін тізімі өзгертіліп, судың тазалығының деңгейін бағалауда бірнеше сапробтылық аймақтарға бөледі. Ксеносапробты немесе каторобты аймақ-судың өте тазалығымен сипатталады. Бұл аймақта сапрофитті микрофлора мен су саңырауқұлақтары кездеспейді, өте жиі қарапайымдылар мен балдырлар кездеседі. Бұл аймақтың сулары өте тұнық және

гидробионттардың әсерінен «гүлдену» құбылысы байқалмайды.

Олигосапробты аймаққа қалдық сулар құйылмайтын барлық табиғи сулар жатады. Бұл аймақта көптеген гидробионттар мен сапрофитті микрофлора дамиды, судың тұнықтылығы нашарлау. Барлық гидробионттар біркелкі дамиды, ешқашан бір түр жалпы дамып «гүлдену» құбылысы байқалмайды.

Мезосапробты аймақта органикалық текті ластанулар байқалады. Бұл аймаққа жалпы саны 100 мың/мл дейін жететін сапрофитті бактериялардың кешені тән. Басқа аймақтардан балдыр мен қарапайымдылардың түрлерінің әртүрлілігімен ерекшеленеді. Мезосапробты аймақта балдырлардың «гүлденуі» 10-80 млн/мл-ге жетуі мүмкін. Мезосапробты аймақ өзінің бір қатар айырмашылықтарымен ерекшеленеді. Бұл аймақта гетеротрофты және автотрофты организмдерге жататын бактериялар, көптеген қарапайымдылар, көк жасыл, вольвоксты, эвгленалы, диатомды балдырлар өсіп өнеді, олар гетеротрофты қоректенуден оңай автотрофты қоректенуге өте алады. Бұл аймақтың биоценозы өте төзімді олар полисапробты аймақта да кездесуі мүмкін, бірақ сандық қатынасы өзгеше болады.

Полисапробты аймақта ластану еріген органикалық заттардың шамадан тыс көбеюінен, оттегінің жетіспеушілігімен шіріген иісімен, судың тұнықтылығының нашарлығымен ерекшеленеді. Мұнда негізінен гетеротрофты бактериялар, қарапайымдылар, эвгленалы, көк жасыл, вольвоксты балдырлар көп кездеседі.

Қалдық лас су және ауылшаруашылық қалдық суларының құйылуының салдарынан қоректік заттарға байыған көлдерде балдырлардың кейбір түрлерінің саны жоғарылап (*Asterionella ceratium*), ал кейбіреулері азайған

(*Oscillatoria*, *Dinobryon*, *Fabellaria*). Балдырлардың басқа түрлері дәл осы кезеңде бірінші рет пайда болып, кейіннен жылдық сукцессияда кездесіп отырған (*Stephanodiscus*, *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Microcystis*). Антропогенді эвтрофикацияға ұшыраған көлдерде судың «гүлденуін» туғызатын прокариотты көк жасыл балдырлардың түрлерінің пайда болуы бүкіл әлемде алаңдату туғызуда. Эвтрофикацияланудың бұндай «сапалы реакцияларын сандық өзгерістерге карағанда маңызды практикалық жайларға ұшыратады.

Эвтрофикациялану салдарының көрнекті көрсеткіші ретінде экожүйедегі өзін реттеу процесінің бұзылуының және биоценозда бір немесе бірнеше кең бейімделген балдырлардың доминантты орынды алу нәтижесінде су объектілерінің «гүлдену процесін келтіруге болады. Гүлдену кезінде судың түсі оны әкелетін организмнің түсіне, концентрациясына байланысты ашық жасылдан сары жасыл, сарғылт немесе сары, ашық қызылға дейін өзгереді. Гүлдену кезінде балдырлардың жеке түрлерінің саны тез жоғарылайды. Мысалы, судың қызыл түспен гүлденуі белгілеген жағдайда негізінен пиропитті балдырлар *Gonyaulax poletra* (16×10^6 кл/л), *Gymnodium sp* және перидинді балдырлар *Cochlodinium sp* (20×10^6 кл/л, 30×10^6 кл/л), *Cxuvilla baltica* (80×10^6 кл/л) кездеседі.

Диатомды балдырлар *Skeletonema costatum*, *Eutreptiella puscheri*, *Aulacodiscus kittonii var africanus*, *Pyramimonas cruciata*, сонымен бірге жасыл флагелляттардың дамуының әсерінен «қызыл тасу» құбылысы белгіленген Су «гүлденуінде» кең таралған түрі көк жасыл балдырлардың жеке түрлерінің көбеюінің нәтижесінде пайда болатын гүлдену.

Әртүрлі су экожүйелерінен алынған сынамалардағы микробалдырлардың түрлік құрамы Сиренко тәсілі бойынша жүріледі. Мұнда балдырлардың түрлік құрамын

анықтауда: Определитель сине-зеленых водорослей Средней Азии, том 1-2; Определитель пресноводных водорослей СССР, том 1-14, 1951; Определитель сине-зеленых водорослей Средней Азии, 1-3 том, 1987; Определитель протококковых водорослей Ср. Азии, том 1-2, 1988; Определитель сине-зеленых водорослей Средней Азии, 1987; Определитель пресноводных водорослей СССР, 1951; Определитель протококковых водорослей Ср. Азии, 1976; Краткий определитель хлорококковых водорослей Укр. ССР. Киев, 1990 анықтауыштары қолданылады.

Микробалдырларды тірі жағдайда анықтау жүргізілді. Жұмыс барысында фиксаторлар ретінде 2-4%-ды формалин ерітіндісі, түрлік құрамын анықтауда 0,01% нейтральды қызыл және метилен көк, сафранин бояғыштары қолданылды. Талшықты микробалдырлардың қозғалысын тоқтату үшін йод ерітіндісі қолданылды. Организмдердің көлемін анықтауда окуляр-микрометр пайдаланылады.

Ластанған су экожүйелеріндегі микробалдырлар сандық қатынасын Кнепп бойынша жеті балдық жүйемен бағаланды: 1 – жалғыз (сынамада жалғыз дана); 2 – өте сирек (әр препаратта жалғыз); 3 – сирек (көз аясында азғантай); 4 – жиі (барлық көз аясында кездеспейді); 5 – көп (әр көз аясында); 6 – өте көп (әр көз аясында көп); 7 – масса.

Қауымдастықтағы микробалдырлардың түрлік құрамының формальды сипатамасын түрлердің байлығы мен олардың алуантүрлілік индексіне пайдаланады. Су экожүйелерінің жағдайын фитопланктондармен баға беруге Пантле және Бука, өзгертіліс кіргізілген Сладечка тәсілдерін пайдаланды. Бұл тәсілді қолдану нәтижесінде сапробтық индекс төмендегідей формуламен есептеледі:

$$S = \sum (sh) / \sum h ;$$

мұнда s – әрбір түрдің индикаторлық тәуелділігі (сапботы организмдердің жоғарғы шегімен анықталады)

h – түрлердің саны немесе көзбен мөлшерлеп анықталатын түрлердің кездесу жиілігі. Сапботық индекс дәлдігі 0,01-ге дейін есептеледі. Ол ксеносапботы аймағында – 0-0,5; бетамезосапботы аймағында – 1,51-2,5; альфамезосапботы аймағында – 2,51-3,50; полисапботы аймағында – 3,51-4 аралығында орналасады. Микробалдырлардың сапботық жіктелуі фитопланктондарға арналған нұсқау бойынша анықталады.

5.2. Микробалдырлар көмегімен ластанған су экожүйелерін биобақылау

Су экожүйелерінің ластану деңгейлеріне тест жүргізу микробалдырлардың альгологиялық таза дақылдарынан протококалы балдырлар – *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas* туыстарының өкілдері, көкжасыл балдырлардан – *Microcystis*, *phanizomenon*, *Anabaena* эвгенлалы балдырлардан – *Euglena gracilis* диатомды балдырлардан – *Stephanodiscus Hantzshii* және т.б. перспективті қолданылады. Бұл бір клеткалы зукариотты организмдерді қолданудың негізгі артықшылығы олардың лабораториялық жағдайда көптеген ұрпақтар бойы клетка популяциясын бақылауға мүмкіндік беретін жоғарғы көбею жылдамдығы болып саналады. Теңіз балдырлары теңіздің мұнай және радиациялық заттармен ластануын зерттеуде өте қолайлы объект болып табылады. Балдырларды, сондай-ақ топырақтың пестицидтер және басқа да улы заттармен ластану дәрежесін, антропогендік факторлар әсерінен өзгеру бағытын және эрозияға ұшыраған жерлер жағдайын анықтауға қолданылады.

Балдырлардың улы әсерлерге қайтаратын реакциялары әртүрлі. Тест дақылдағы тірі және өлі клеткалардың катынасы, фотосинтез қарқындылығы, хлорофилл және каротиноид мөлшері, дақылдағы жалпы клетка саны сияқты тест функциялар көрсеткіштер ретінде қолданылады.

Әдіс принципі. Әдіс бақылауымен салыстырғанда бақылау жүргізілген судағы улы заттардың әсерінен балдырлардың көбею жылдамдығының өзгеруін анықтауға негізделген. Жылдам көбеюдің көрсеткіші балдырлар жасушаларының өсім санының коэффициенті болып табылады. Қысқа мерзімді биобақылау 96 сағат ішінде балдырларға бақылау жүргізу судағы өте улы әсердің барын анықтауға мүмкіндік береді, ал ұзақ 14 тәулік қалыпты улы әсер.

Улылықтың белгісі бақылаумен салыстырғанда жүргізілген судағы жасушалардың өсім санының коэффициенттерінің төмендеуі болып келеді.

Организмдердің үлкен бір тобын балдырлар құрайды. Олар біздің планетамызда кеңінен тараған және адам өмірі мен табиғаттағы зат алмасу процесінде маңызы зор.

Бір жасушалы балдырларды алғаш рет 1890 жылы Бейерник зерттеп бірнеше альгологиялық таза балдыр түрлерін бөліп шығумен қатар олардың биоэкологиялық ерекшеліктерін зерттеген.

Шетел зерттеушілерінің мәліметтері бойынша биологиялық тоғандарда ең алдымен жасыл (*Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Micractinium Fres.*, *Scenedesmus* туысының түрлері), эвгленалы (*Euglena* туысының түрлері), және жеке жағдайларда көкжасыл балдырлар (*Spirullina Turp.*, *Microcystis Kutz.*, *Oscillatoria Vauch.*) дамиды.

Төменде лаборатория жағдайында бөлініп алынып, су сапасын анықтауда маңызды объект болатын кейбір микробалдыр дақылдарына сипаттама берілді.

Бақылау объектілері туралы сипаттама.

Сценедесмус бақылау объектісі ретінде жіктелуі.

Бөлім Chlorophyta

Класс Euchlorophyceae

Қатар Chlorococcales

Тұқымдас Scenedesmaceae

Тұқымдас қатары Scenedesmoideae

Туыс Scenedesmus Meyen

Түр. Scenedesmus quadricatida (тигр). Vreb

Берілген түр ценобиальдық организмге жатады.

Ценобиялар – 2,-4, сирек 8, 16 – клеткалық, тегіс пластинка түрінде болады. Жасушалары ұзартылған сопақ, жұмырлы ұштарымен. Шеткі жасушаларының сыртқа қайырылған екі мүйізді болады. Қабығы тегіс. Жасуша көлемі 7-43x2,5-16 мкм. Автоспоралармен көбейеді. Олар аналық қабығында шоқтанып орналасады, жарылғаннан кейін пластинка түрінде жойылады. Кейде ценобиевтердің орнында бөлек жасушалар түзіледі. Бұл түр әртүрлі биотоптарда негізінен тұщы суаттардағы планктонттарда кең таралған.

Микробалдыр *Chlorella* – бақылау объектісі ретінде жүйелік жіктелуі.

Бөлім Chlorophyta

Класс Euchlorophyceae

Қатар Chlorococcales

Тұқымдас Chlorellaceae

Тұқымдас қатары Chlorellaideae

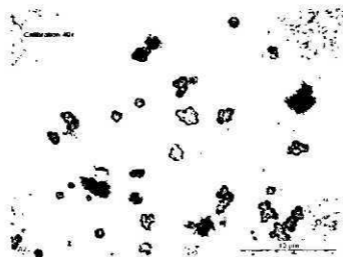
Туыс Chlorella Beijer

Түр Chlorella vulgares Beijer.

Chlorella – протококстар класына жататын бір жасушалы жасыл балдыр. Оларды көбінесе ағынды сулардан, көлдерден, теңіздерден және топырақтан кездестіруге болады (7-сурет).

Қазіргі кезде оның 30-ға жуық түрі белгілі. Пішіні шар тәрізді. Диаметрі 1,5-15 мкм дейін жетеді. Хлорелла балдырлары бір клеткалы, колониялы және ценобиальды болып бөлінеді. Бұлар қозғалмайтын автоспоралар түзу арқылы көбейеді. Автоспоралардың саны хлореллалар түрлеріне байланысты әр түрлі болып келеді. Көбінесе 4, 8, 16 автоспоралар түзеді (8-сурет).

7-сурет. *Chlorella sp.* --1



8-сурет. Хлорелланың көбею процесі

Хлорелла биомассасы құрамында: белок (40-55 пайызға дейін), көмірсулар (30-37 %), майлар (5,7 %), каротин, провитамин А, аскорбин қышқылы болады. Сонымен қатар витаминдердің В, Е, РР топтары кездеседі.

Бір жасушалы жасыл балдыр хлорелла ауыл шаруашылығы өсімдіктері үшін бағалы биостимулятор. Оларды топыраққа енгізу витаминдердің, амин қышқылдарының және басқа да физиологиялық белсенді заттардың көбеюіне, онда органикалық заттардың жиналуына әсер етіп, биологиялық белсенділігін арттыратындығы және адам организмсына де үлкен пайдалы екендігі зерттеу жұмыстары арқылы дәлелденген. Сонымен қатар хлорелла балдыры ғарыштық сапарларда зерттеу объектісі ретінде қолданылған. Хлорелла жыныстық жолмен көбеймейтіндіктен оны лас суларды биологиялық жолмен тазартуға жиі қолданады.

Балдырларды өсіру.

3-кесте. Микробалдырлар Успенскийдің номер бірінші жасанды ортасында өсіріледі:

Реактивтер	Құрамы, г/л	
	өсіруге арналған орта.	Тұздар ерітіндісіндегі биобақылау.
K NO ₃	0,025	50,0
MgSO 7H ₂ O	0,025	50,0
KH 2-PO ₄	0,025	50,0
K 2CO 3	0,0345	69,0
Ca NO 3 2	0,1	200,0
Fe SO 4-7H ₂ O	0,003	-
Микроэлементтер ерітіндісі.	1мл	-

Микроэлементтер құрамы: H₃PO₄-286; MnCl₂-4H₂O - 1681; ZnSO₄-7H₂O-06222 г/л, MoO₃-17661; NH₄NO₃ - 22696 мг/л.

Микроэлементтер ерітіндісін себу алдында залалсыздырылғаннан кейін ортаға енгізеді. Балдырларды өсіру үшін қоректік орта-дафнияларға

жем дайындау процедурасына сәйкес дайындалады. Биобақылау үшін бөлек 100 мл-ден әр тұздың ерітіндісін дайындайды (3-кесте).

Қоректік ортаны бөлек тұздардың ерітіндісін және микроэлементтерді автоклавта 1 атмосферада 45 минут бойы залалсыздандырады. Балдырлардың дақылын қоректік ортасы бар залалсыздандырылған колбаға ашық жасыл түс беретін мөлшерде енгізеді. Отырғызғаннан кейін колбаны залалсыздандырылған мақта-дәкелі тығынмен тығыздап, және пергамент қағазынан жасалған қалпақпен жабамыз. Балдырларды дақыл бетінен 30-40 см қашықтықта орналасқан күндізгі жарық шамдарында тәулік бойы жарық түсіру кезінде өсіреді, жарықтану 2000-3000л/к.

Балдырларды табиғи жарықтануда тік түсетін күн сәулесінен қорғай отырып терезеде өсіруге болады. Балдырлардың дақылын тәулігіне 1-2 рет шайқап, уақыт сайын араластырып отыру керек. Балдырларды өсіру үшін қолайлы температура 18-20 градус.

Биобақылаудың шарттары. Егу үшін экспоненцияльды өсу сатысында 5-7 тәуліктік балдырлардың дақылын пайдаланады. Биобақылау жүргізу алдында оны номер төртінші мембрандық сүзгіш немесе сүзгіштік қағаз арқылы Зейту аппаратының көмегімен қоюдатады. Жасушаларды культураны тұндырумен және кейін колбадан ортаны сорып алумен шоғырландыруға болады.

Балдырларды сүзгіштен 30-50 мл бақылау суы бар колбаларға көшіріледі. Егу үшін қолданылатын жасушалардың сұйықтық санын тексереді. Сұйықтықта жасуша саны 5-10 млн.кл/мл болу керек.

Жасушалар санын санау үшін Горяевтің немесе Фукс-Розентальдің есеп камерасын пайдаланады. Камера және оған қатысты жабын әйнекпен майсыздандырады.

Жабын әйнекпен камераның үстін жабады және оны интерференцияның дөңгелек сақиналары пайда болғанға дейін сылайды. Әр колбадан пипеткамен жабын әйнектің үстіңгі және астыңғы жағына жақсы араластырылған сұйықтықны 1 тамшы тамызады. Камераны ауалы көпіршіктер түзілмейтіндей етіп толтырады, сұйықтықны артық мөлшерін канавтар арқылы шығарып тасталынады. Диагональ бойынша 16 төртбұрышты немесе камераның бүкіл өрісі балдырлардың саны аз болған жағдайда (камераны толтырғанның өзінде 50 клеткадан кем саналмайды) қарастырылады. Әр колбадан үш проба қарастырылады. 1 мл сұйықтықта балдырлар жасушаларының санын төмендегі формула бойынша есептейді.

$$M = \frac{m}{n \cdot v} 10^3$$

Мұндағы m – саналған жасушалардың саны; n – камераның кіші төртбұрыштарының есептелген саны; v – кіші төртбұрыштың ауданы бар камера бөлігінің көлемі.

Биобақылау жарықта және қолайлы температурада жүргізіледі.

Биобақылау процесі. Тұщы немесе табиғи судың пробаның көлемі 0,5 л. Тұщы судың қысқа мерзімді биобақылау кезінде сиымдылығы 250мл колбаларға 100 мл бақыланған немесе бақылау жүргізілген суды құяды. Екі рет қайталанады. Әр колбаға пипеткамен 0,5 мл балдырлардың қоюланған дақылын, 0,1 мл әр тұздың ерітіндісін және микроэлементтердің ерітіндісін қосады (3-кесте).

Колбаларды макта-дәкелі тығындармен тығындайды, оларды жақсылап араластырады және әр колбада жасушалар санын анықтайды. Олардың саны 25-50 000 кл/мл болу керек. Колбаларды люминостагқа немесе

тік түсетін күн сәулелерінен қорғаланатын, жақсы жарықтанған жерге қояды.

Биобақылау 96 сағаттан кейін аяқталады. Әр колбадан жасушалардың санын тұщы судың өте улы әсердің барын анықтау үшін санайды. Бақылау жүргізілген судың улы әсері барын анықтау үшін биобақылау басталғаннан 96 сағаттан кейін балдырлар жасушаларының сандық өлшемі жүргізіледі.

Өте улы әсер болмаған жағдайда биобақылау жалғастырылады. Жетінші тәулікте биобақылау алдында бақыланған және бақылау жүргізілген суды жаңа алынған суға ауыстыру жасалады. Бұл үшін сыйымдылығы 250 мл колбалардың жаңа партиясына жаңа алынған пробадан бақыланған немесе бақылау жүргізілген суды 75 мл-ден құямыз. Әр колбаға тұздар және микроэлементтер ерітінділерінің мөлшерін жоғарыда көрсетілгендей етіп қосады. Алдымен 7 тәулік бойы биобақылау жүргізілген колбалардың құрамын жақсылап араластырады. Резинкалы грушасы бар пипеткамен әр колбадан 25 мл-ден алып, жаңадан дайындалған ерітінділерге құйып араластырады. Әрі қарай әр колбадағы жасушалар санын анықтайды. Кейін тағы 7 тәулік бойы биобақылау жалғастырылады. 14-тәуліктен кейін бақылау жүргізілген, ұзақ уақыт бойы уланған судың балдырларға әсердің болу болмауын анықтайды.

Нәтижелерді өңдеу және бағалау. Балдырларға бақылау жүргізілген судың қалыпты немесе улы әсердің барын анықтау үшін бақыланған және бақылау жүргізілген суда балдырлар жасушаларының өсім

санының коэффициентін есептейді.
$$K = \frac{N_t}{N_0}$$

4-кесте. Сценедесмус қолданылған биобақылаудың нәтижелерін жазу формасы.

1	2	3	4	5	Өсім санының коэффициенті.				10	11
					6	7	8	9		
Сынамалардың іріктеліп алынған күні.	Сынамалардың іріктеліп алынған орны.	Бақылау жүргізілген су	Биобақылау басталған уақыт. таул.	Микробалдырлардың						
		Бақыланған	0 4 7 14	кайталау	кайталау	Арифметикалық орташа	Анық белгі		Бақылау жүргізілген судың бағасы, әсер ететін улы заттар.	
		Тұщы немесе табиғи	0 4 7 14							

Мұндағы N – есептелген уақыт аралығында, кл/мл бақыланған немесе бақылау жүргізілген судағы балдырлар жасушаларының саны; кл/мл.

Ұзақ мерзімді биобақылау кезінде N - ді суды араластырғаннан кейін бақыланған және бақылау жүргізілген суда 7 тәулікте анықтайды.

Өңдеудің статистикалық әдістерін қолданғанда бақыланған және бақылау жүргізілген судағы жасушалар өсім санының коэффициентінің арасындағы айырмашылығының дұрыстығын анықтайды. Бақылаумен салыстырғанда бақылау жүргізілген судағы жасушалар өсім саны төмендеп, бақылау жүргізілген суда балдырларға өте немесе қалыпты улы әсердің барын көрсетеді.

Биобақылау нәтижелері 4-кестеде көрсетілгендей жазылады.

Құрал-жабдықтар, материалдар, реактивтер: кәдімгі лабораториялық құрал-жабдықтар, ыдыстар және реактивтер, автоклав (ГОСТ 9886 бойынша), Зейту аппараты немесе басқа сүзгі аппараты, пипеткалық дозаторлар 0,1 және 0,5мл ПТ ТУ-64-1-3329-81, Горяевтің немесе Фукс-Розентальдің есептеу камерасы (ТУ-64-1-816-77 бойынша), люминолат, биологиялық микроскоп биолом, мембраналық сүзгіштер қолданылады..

5.3. Альгологиялық әдіспен беткі белсенді заттардың улылығын анықтап баға беру

Әртүрлі антропогендік факторлардың биоиндикациясына микроскопиялық балдырларды традициялық организм ретінде пайдаланады. Альгологиялық бақылау көмегімен әртүрлі улы субстраттардың химиялық заттарын және оның қоспаларын, сонымен бірге беткі белсенді заттарды салыстырмалы түрде сараптама жасауға болады.

кологиялық факторлар және әр түлі химиялық реакциялардың балдырларға сезімталдығын зерттеу нәтижесінде бұл деректер алынған. Балдырлардың аз өмір сүруі әсер ететін факторларды анықтауда бірнеше ұрпақта және олардан қалатын дақтардың тиімді әсерін бағалауға қолайлы. Балдырлар өте ұзақ өмір сүрмейді. Бұлар лабораторияда жасанды қоректік орталарда жақсы өседі.

Материалдар мен жабдықтарды дайындау.

Балдырларды өндіру кезінде Бристоль, Голлербах қатты және сұйық қоректік орталарды қолданылады. Оның құрамы: (дистилденген су г/л), NaNO_3 – 0,25; KH_2PO_4 – 0,25; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,75; CaCl_2 – 0,05; NaCl – 0,05; FeCl (3 тамшы ерітінді 1 л-ге).

Агарлы орта дайындау кезінде алынған ерітіндіге 8 г агарды қосады. Су тектік орта көрсеткіші (pH) 7,0-7,6 болуы керек. Қоректік орта қысымы 0,1 МПа/1 кг/см² автоклавта 45-60 мин залалсыздандырады. Жұмысқа керек ыдыстарды температурасы 160-165 °С болатын құрғақ ыстықпен 2 сағат бойы залалсыздандырады. Кварцты немесе өзен құмын диаметрі 1мм сүзгіден сүзіп, бастапқыда сумен шайылады, артынан одан соң 6-8 сағатқа температурасы 160-165 °С кептіргіш шкафаға қойылады. Мембраналық сүзгілер көлемі 250 см³ дистилденген судың жаңа порциясымен қойылады.

Бақылау организм ретінде микроскоптық балдырлардың альгологиялық таза (бір түрдегі) дақылдары пайдаланылады. Негізгі бақылау дақылын таңдау зерттеу мақсаттарына және есептеулеріне (мысалы жақсы нәтиже беру үшін жасыл балдырларды қолданған жөн, олар басқа бөлімдегі балдырларға қарағанда физиологиясы жағынан жоғары сатылы өсімдіктерге жақын.) альгологиялық таза дақылдардың зерттелген факторлардың сезімталдығына және т.б. байланысты.

Альгологиялық таза микробалдырлардың дақылдарын Санкт-Петербург университетінің микробиология кафедрасы, Ресей Федерациясының Ғылым академиясының Ботаникалық институтының альгология лабораториясы (Санкт-Петербург), және Тимирязев атындағы өсімдіктер физиологиясы институтының микробалдырлар коллекциясы (Москва), Киров Ауылшаруашылық институтының ботаника кафедрасы, Башқұрт Мемлекеттік педагогикалық институты (Уфа) және әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің микробиология кафедрасының фототрофты микроорганизмдер коллекциясынан (Алматы) алуға болады.

Альготоксикалық беткі-белсенді заттарға беруде топтық топырақ балдырларына қарағанда бақылау жүргізуге азот сіңіргіш көк жасыл *Nostoc linckia* және *Anabaena variabilis* балдырларын қолданған жөн. Таңдау түрлері келесідегідей. Балдырлардың негізгі түрлері (жасыл, көкжасыл, диатомды, сарыжасыл). Диатомды, көкжасыл, сарыжасылдары топырақта жиі кездеседі және беткі-белсенді заттарға (ББЗ) өте сезімтал.

Осының ішінде көкжасыл балдыр қатты қоректік ортада жақсы өседі. Бұлар тың және егінді топырақта кеңінен таралған. Сонымен қатар азотсіңіргіштер топырақтың азот балансында негізгі роль де атқарады. *Nostoc linckia* және *Anabaena variabilis* қатты қоректік ортада жылдам және бірқалыпты жайылған шекарасы айқын оңай байқалатын колонияларды құрайды. Экспериментті жүргізудің алдында музей дақылдарынан жинақтарды алады. Агарлы орта дайындау үшін залалсыздандырып және залалсыздандырылған Петр табақшасына құяды. Тұнған агар бетіне аздаған музей дақылын құйып және бөлме температурасында жарықта инкубациялайды, 10-15 тәуліктен соң агар бетіне

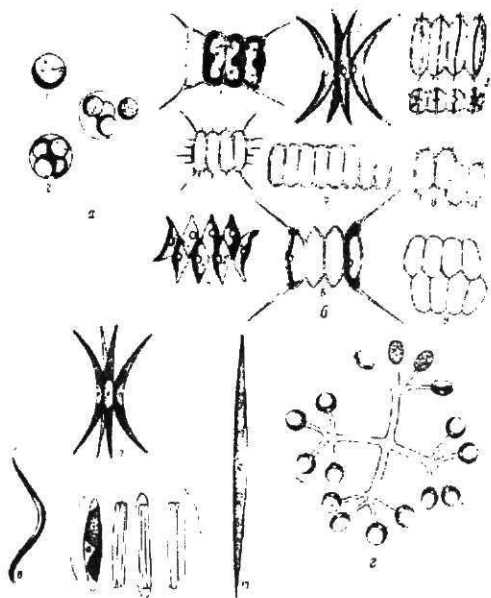
балдырлардың макроколониясы өседі, жинақталған дақылдар әрі қарай жұмысқа қолданылады.

Зерттеу жүргізілуі. Залалсыздандырылған Петри табақшасына 50 г. Кварц немесе өзен құмын салып, ерітіндімен ылғалдап, қоректік ортаға зерттелетін препараттың концентрациясын сәйкестіріледі. Ерітіндінің көлемі табақшаны 30-35⁰ қиғаштағанда ол құмның бетін жауып тұруы тиіс. Бақылау табақшасында құм қоректік ортамен ылғалданады. Әр табақшадағы ылғалданған құмның бетіне 4 мембраналық фильтр қояды. Фильтр мен құмның арасында ауа қалмау керек, егер ауа қалса ерітіндімен сүзгінің арасындағы байланыс бұзылады.

Жинақталған дақылдың микроколониясынан диаметрі 3 мм шыны бурикісы аздаған бөлік жұқа қабатты агармен қосып Петри табақшасының мембраналық фильтрдің ортасына орналастырады. Бақылау дақылының кесілген блогын балдыр қабатының фильтріне салады, зерттелетін ерітіндінің объектісімен жақындастық жылдамдығын арттыру үшін. Табақшаларды бөлме температурасында жарықта 10-20 тәулік бойы дақылдың өсу жылдамдығына байланысты инкубациялайды. Алғашқы ылғалдығын қоректік орта қолдайды, ББЗ-нің және олардың қоспаларының улылығын бақылау организмнің тіршілігіне әсер ету дәрежесі бойынша анықтайды. Тірішіліктің көрсеткіші ретінде мембраналық фильтрдегі колониялардың өсу жылдамдығын пайдаланады. Колониялардың диаметрінің өлшемі әр екі тәулік сайын жүргізіліп тұрады, бұл өсу динамикасын және зерттелген факторлардың әсерін бағалауға мүмкіндік береді. Егер колониялар дұрыс емес пішінді болса, онда әр түрлі өлшемдердің орташа диаметрін есептейді. Колониядағы өлшемнің біреуі сүзгінің өлшемімен бірдей болғанда зерттеуді тоқтатады. Фактордың әсер ету дәрежесін тәжірибе вариантындағы бақылау дақылының

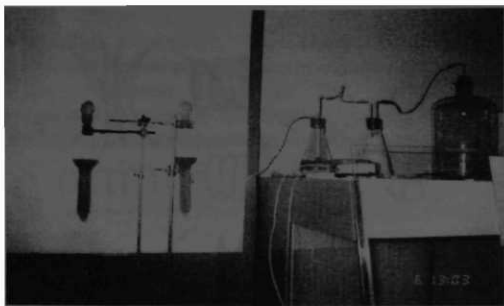
колониясының орташа диаметрінің мәнін бақылаудағы колониялардың орташа диаметрінің мәніне сәйкес бағалайды.

$K = D_{\text{тэж}} / D_{\text{бак}}$, мұндағы K -эсер ету коэффициенті зерттелген фактордың колониялардың өсу жылдамдығына эсер ету дәрежесін көрсетеді. $D_{\text{тэж}}$ – тэжірибе вариантындағы колониялар диаметрінің орташа мәні. $D_{\text{бак}}$ – бақылаудағы колониялар диаметрінің орташа мәні.



Микробалдырлардын кейбір өкілдері

а) *Chlorella vulgaris*: 1 – өсіп жетілген жасуша, 2 – автоспора түзілу, 3 – автоспора шығу б) *Scenedesmus* түрі, 1 – *S. Quadricauda*, 2 – *S. acuminatus* 3 – *S. brasiliensis*, 4 – *S. Adundans* 5 – *S. bijugatus* 6 – *S. denticulatus*, 7 – *S. obliquus*, 8 – *S. opoliensis*, 9 – *S. ecorinis* ө) *Ankistrodesmus* түрі, 7 – *A. falcatus* 8 – *A. angustus* 9 – *A. pfizerii* 10 – *A. acicularis* з) *Dictyosphaerium pulchellum*.



Микробалдырларды лабораториялық жағдайда өсіру қондырғысы

ҚЫСҚАРТЫЛҒАН СӨЗДЕР

УК – ультракүлгін

БУВ – бактерицидтік сәулелендіру көзі ретінде пайдаланатын, бөлме немесе басқа тұрғын жайлардың ауасын ультра күлгін сәулемен залалсыздандыратын сынап-кварц лампалары

ПРК – неғұрлым жоғары қондырғылар үшін пайдаланатын сынап-кварцты лампа

ЕПА – ет пептонды агар

БС Көбінесе аквариумды жарықтандыруға арналған жылы ақ түсті люминесцентті лампа

ТБС – жасанды су қоймаларды жарықтандыруға арналған ақ түсті люминесцентті лампа

ҰСЫНЫЛАТЫН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Акмуханова Н.Р. Алматы қаласының ластанған қалдық суларды тазарту жүйесіндегі микробалдырлардың ролі. биол. ғылым. канд. автореф. – Алматы, 2004. – 18 б.
2. Альберт Сассон, Биотехнология: Сверхшения и надежды. Москва, "Мир", 1987. – С.404.
3. Андреюк Е.И., Копетева Ж.П., Занина В.В. Цианобактерии. – Киев: Наука думка, 1990. – 200 с.
4. Биотехнология (8 книг). //Под общей редакцией Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова, Москва, " Высшая школа" – 1987.
5. Богданов Н.И. Хлорелла повышает продуктивность птицы. // Жур. Птицеводство. – 2002. – N 3. – С.5-9.
6. Ваулина Э.Н., Аникеева И.Д., Коган И.Г. Индуцированный мутагенез и селекция хлореллы. – Москва: Наука, 1978. – 75 с.
7. Владимирова М.Г., Семененко В.Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. – М.: Наука, 1962. 85 с.
8. Громов Б.В. Ультраструктура синезеленых водорослей. Л.: Наука, 1976. – 101 с.
9. Громов Б.В. Микроорганизмы – паразиты водорослей: Автореф. д – ра биол.наук. Л.: ЛГУ, 1972. – 42 с.
10. Гусев М.В., Минеева, Микробиология, Издательство Московского университета, 1985.
11. Гусев М.В., Никитина К.А. Цианобактерии. – М.: Наука, 1979. – 320 с.
12. Емцев В.Т., Е.Н.Мишустин, Микробиология, Дрофа, Москва.2005
13. Жубанова А.А., Заядан Б.К. Перспективы использования микроводорослей в биотехнологии. // Биотехнология. Теория и практика, 2002, N4, стр. 63-70.

14. Жубанова А.А., Заядан Б.К. Способ биологической очистки бытовых сточных вод с использованием цианобактерии – *Spirulina platensis*. Новости науки Казахстана. 2004, N 2. С.210-213
15. Заядан Б.К. Роль фототрофных микроорганизмов в мониторинге, функционировании и ремедиации водных экосистем дисс....доктора биол. наук. – Алматы, 2006. – 38 с.
16. Заядан Б.К. Генетический анализ мутантов *Chlamydomonas reinhardtii*, устойчивых к норфлуразону. дисс....канд. биол. наук. – Санкт-Петербург, 1996. – 18 с.
17. Заядан Б.К., Су экожүйелеріне биологиялық тест жүргізуге жасыл балдыр *Chlorella sp – 1* табиғи түрін пайдаланудың маңызы // Вестник КазГУ. серия экологии, N2 (14) 2001, с.
18. Заядан Б.К. Возможности использования микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii* для генетического мониторинга в искусственной экосистеме // Вестн. КазГУ. Сер. биологии. – Алматы, 2002. – N 2 (17). – С.90-94
19. Заядан Б.К., Жубанова А.А. Перспективы использования цианобактерии – *Spirulina platensis* в медицинской биотехнологии // Биотехнология. Теория и практика. – 2002. – N1. – 71-75 с.
20. Заядан Б.К., и др. Мутантные штаммы устойчивые *Chlamydomonas reinhardtii* к кадмию Биотехнология. Теория и практика, 2004, N1 С.73-78.
21. Заядан Б.К. Способ культивирования микроводорослей *Spirulina platensis* в лабораторных условиях Новости науки Казахстана. – 2004, N 2 С. 214-21.
22. Заядан Б.К. и др. Генетический анализ кадмий – устойчивых мутантов *Chlamydomonas reinhardtii*//

Вестник КазНУ, серия биологическая, N3 (29), 2006 г.
С.75-78

23. Заядан Б.К., Кирбаева Д.К., Жұбанова А Селенмен байытылған цианобактерия – *Spirulina platensis* биомассасының тауық балапандарының салмағы мен қан құрамына әсері.//ПОИСК Серия естественных и технических наук N 4 2006, С.26-30
24. Заядан Б.К., Перспективы очистки сточных вод нефтеперерабатывающих предприятий с помощью микроводорослей//Вестник КазНУ, Серия биологическая. – 2007. N 1 (31), С. 70-75
25. Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К., Биоаккумуляция ионов тяжелых металлов клетками микроводоросли *CHLORELLA VULGARIS* Z 1// Вестник КазНУ, Серия биологическая. – 2007. N 1 (31), С. 100-105
26. Заядан Б.К., Кирбаева Д.К., Жұбанова А.А., Микроэлемент селенмен байытылған *SPIRULINA PLATENSIS*-тің фоторезистентті штамынан алынған биомассаның тауық жұмыртқаларының өнімділігіне әсері //Вестник КазНУ, Серия биологическая. – 2007. N 1 (31). С.130-13
27. Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К. Современное состояние биоразнообразия микроводорослей оз. Балхаш. Вестник КазНУ, Сер. экологическая. N2 (19), 2006. С. 47 – 51.
28. Квитко К. В. Получение культур отдельных клеток у хлореллы. Исследования по генетике. Ленинград: ЛГУ, 1971. – С.50-62.
29. Кондратьева Е.Н., Максимова И.В., Самуилова В.Д. Фототрофные микроорганизмы: Учеб. пособие. – М.: МГУ, 1989. – 376 с
30. Кондратьева Е.Н. Автотрофные прокариоты. – М.: МГУ, 1996. – 302 с.

31. Крайнюкова А.Н. Биотестирование в охране вод от загрязнения//Методы биотестирования вод. – Черногловка. – 1988. – С.4-14.
32. Культивирование коллекционных штаммов водорослей. – Ленинград, 1983. С.3-35.
33. Культивирование коллекционных штаммов водорослей. – Ленинград: – 1983. – С.3-35.
34. Музафаров А.М., Таубаев Т.Т., Культивирование и применение микроорганизмов. Ташкент, Издательства "Фан" Узбекской ССР, 1984.
35. Музафаров А.М., Таубаев Т.Т., Методы массового культивирования и применения хлореллы. – Ташкент: Фан, 1974. – 120 с.
36. Музафаров А.М., Эргашев А.Э., Халилова С.Х. Определитель сине – зеленых водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1987. – Т. 1. – С.3-405.
37. Музафаров А.М., Эргашев А.Э., Халилова С.Х. Определитель сине – зеленых водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1988. – Т.2. – С.406-815.
38. Музафаров А.М., Эргашев А.Э., Халилова С.Х. Определитель сине – зеленых водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1987. – Т.3. – С. 815-1215.
39. Методическое руководство по биотестированию воды РД-118-02-90. – М., 1999. – 58 с.
40. Овсеникова М. Н. Методы получения бактериологически чистых культур одноклеточных зеленых водорослей // Бот.журн. – 1971. – N58. – С.1141-1147.
41. Определитель пресноводных водорослей СССР / Отв. ред. М.М. Голлербах. – Л.: Наука, 1951. – Т.1-14.
42. Пиментел Флоресь Хосе Луис Микроводоросли – как объект биомониторинга в условиях антропогенного стресса при действии тяжелых металлов: автореф. ...канд. биол. наук. – Москва, 2004. – 25 с.

43. Промышленное культивирование микроводорослей – М.: Наука. – 1985. – 155 с.
44. Промышленная микробиология: Учебное пособие для вузов / З.А. Аркадьева, А.М. Безбородов и др.: Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Высш.шк., 1989. – 688 с.
45. Садвакасова А.К. Получение мутантных штаммов *Chlamydomonas reinhardtii*, устойчивых к кадмию, для применения в экобиотехнологии автореф. ... канд. биол. наук. Алматы, 2006. 16 с.
46. Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф., Лукина Л.Ф. и др. Методы физиолого биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. Киев: Наукова думка, 1975. – 247 с.
47. Сопрунова О.Б. Особенности функционирования альго – бактериальных сообществ техногенных экосистем: автореф. дисс.... д-ра биол. наук. – Москва, 2005. – 47 с.
48. Таубаев Т.Т. Хлорелла. – Ташкент: Фан, 1980. – 150 с.
49. Унифицированные методы исследования качества вод // Методы биологического анализа воды. Приложение I. Индикаторы сапробности. – М.: СЭВ, 1977. – С.11-42.
50. Унифицированные методы исследования качества воды // Методы биологического анализа воды. Приложение II. Атлас сапробных организмов. – М.: СЭВ, 1977 – С.11-42.
51. Vonshak A., Strain selection of *Spirulina* for mass production. // Hydrobiologia. – 1987. – V. 151/152. – P.75-77.
52. Harris E.H. The *Chlamydomonas* sourcebook // Acad, 1989. – P. 395.
53. Царенко П.М. Краткий определитель хлорококковых водорослей Укр. ССР. – Киев: Наукова думка, 1990. – 208 с.
54. Шевченко В.А. Радиационная генетика одноклеточных водорослей. – М.: Наука, 1979. – 254 с.

55. Шорабаев Е.Ж. Экологиялык жүйеде бір жасушалыжасыл балдырлар көмегімен ауыр металдар әсерін зерттеу. биол. ғылым. канд. автореф. – Алматы, 2001. – 216 с.
56. Эргашев А.Э. Определитель протококковых водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1979. – Ч.І. – 343 с.
57. Эргашев А.Э. Определитель протококковых водорослей Средней Азии. Ташкент: Фан, 1979. – Ч.ІІ. – 383 с.

МАЗМҰНЫ

КІРІСПЕ.....	3
1. ТАБИҒАТТАҒЫ МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫ ЖИНАУ ЖӘНЕ ОЛАРДАН АЛЬГОЛОГИЯЛЫҚ ТАЗА ДАҚЫЛДАРДЫ БӨЛІП АЛУ.....	8
1.1. Микробалдырлар сынамаларын жинау.....	8
1.2. Жинақы дақылдарды алу.....	9
1.3. Альгологиялық таза дақылдарды алу.....	11
1.4. Микробалдырлардың таза дақылдарын өсіруге арналған қоректік орталар және оларды дайындау.....	13
1.5. Микробалдырлардың бактериологиялық таза дақылын бөліп алу.....	20
1.5.1. Больд әдісі бойынша микробалдырларды бактериялардан тазарту.....	21
1.5.2. Микробалдыр дақылдарын химиялық залалсыздандыру.....	24
1.5.3. Гусев, Телитченко және Федоров тәсілдері бойынша микробалдырлардың бактериологиялық таза дақылдарын алу.....	32
1.5.4. Михайлов тәсілі бойынша көкжасыл балдырлардың бактериологиялық таза дақылдарын алу.....	34
1.5.5. Микробалдырларды бактериялардан ультракүлгін (УК) сәулелендіру және ультра дыбыстың көмегімен тазарту.....	34
1.5.6. Көкжасыл балдырларды ілеспелі бактериялардан табиғи антисептиктер көмегімен тазарту (Горюнов, Одоевский, Герасименко бойынша).....	35
2. МИКРОБАЛДЫРДЫҢ КОЛЛЕКЦИЯЛЫҚ ДАҚЫЛДАРЫН ӨСІРУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТҰРАҚТЫ ҰЗАҚ САҚТАУ ТӘСІЛДЕРІ.....	36
2.1. Сұйық орталарда микробалдырларды өсіру және өсіру.....	36
2.2. Агар-агарлы қоректік орталарда микробалдырларды өсіру	37
2.3. Микробалдырларды арнайы қоректік орталарда өсіру ..	40
3.1 Микробалдырлардың белсенді дақылдары, негізгі жабдықтар, тәжірибеге дайындық және тәжірибені қою.....	43

3.2. Микробалдырлардың белсенді өндірістік дақылдарын лабораториялық жағдайларда өсіруге қойылатын талаптар	46
4. МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫҢ БИОМАССАСЫ ЖӘНЕ КЕЙБІР БИОХИМИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН АНЫҚТАУ	51
4.1. Микробалдырлардың жасушалар санын есептеу	51
4.2. Балдырлардың құрғақ биомассасын анықтау	54
4.3 Микробалдырлардың құрамындағы ақуызды анықтау әдісі	55
4.4. Балдырлардың пигменттік құрамын анықтау	56
4.5. Микробалдыр биомассасындағы органикалық заттарды бихромат әдісімен анықтау	58
5. Микробалдырларды биоиндикация және биологиялық бақылауға (БИО-тест) қолдану	60
5.1 Ластанған су экожүйелерін микробалдырлармен биоиндикациялау	64
5.2. Микробалдырлар көмегімен ластанған су экожүйелерін биобақылау	69
5.3. Альгологиялық әдіспен беткі белсенді заттардың улылығын анықтап баға беру	78
ҚОСЫМШАЛАР	83
ҚЫСҚАРТЫЛҒАН СӨЗДЕР	85
ҰСЫНЫЛАТЫН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	86

Заядан Болатхан Қазыханұлы
Өнерхан Гүлжайна

МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫҢ ТАЗА ДАҚЫЛДАРЫН
БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ БЕЛСЕНДІ
ӨСІРУ ТӘСІЛДЕРІ

Оқу құралы

Техникалық редактор: Әбдірахманова Р.
Компьютерлік калыптау Секенова Д.
Корректор: Байтан А.

Басылуға берілген күні 16.01.2008 ж.
Формат 60x90 ¹/₁₆ . Шартты баспа табағы 5,9
Тапсырыс № 21. Таралымы 100 дана.