

Зертханалық жұмыс №1

Тақырып: Микроскопиялық техникалар. Микроскоптың құрылысы.

Олармен жұмыс істеу.

Мақсаты: Студенттерді микрооргаиизмдерді микроскопиялық зерттеу әдісімен таныстыру.

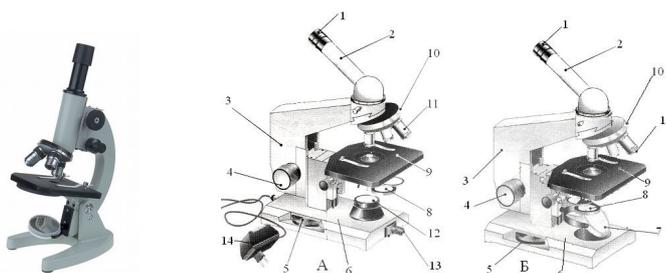
Сабақтың материалдық жабдықталуы

Микроскоптар -12, имерсиондық май - 6; Заттық шыны; Лункасы бар шыны - 6; Жабынды шыны оқытушы үстнліне 1 қароп; Бактериологиядық петля; Метильдік көк әр бір үстелге; Фуксин әр бір үстелге; Спиртовка әр бір үстелге; Дистелденген суы бар шайғыш әр бір үстелге; Физ, ерітінде бар приборка әр бір үстелге; кір сабыннан әр бір үстелге; Микроорганизмдер мәдениеті бар 1 приборка стоға; Микроорганизмдер мәдениеті бар Петри чашкасы столға; Мақта тампондары бар 1 столға; Қолға арналған дезоеріінді орамал.

Жұмыс барысы:

- 1) биологиялық микроскоп құрылысын және олармен жұмыс істеу тәртібін (МБИ-1), өсімдіктер анатомиясының практикалық әдісін қолданып естеріне түсіріңдер;
- 2)микроағзаларды микроскопиялау әдістерін оқып біліңдер;
- 3)келер бойынша жарық түсіргішті орналастыруды үйреніңдер;
- 4) тіркелген және боялған бактериялар препаратын дайындаңдар;
- 5) иммерсионды объективпен тіркелген және боялған бактерияларды мынандай тәртіпте кдрастырыңдар:
 - а) микроскопты үстелге қойып, жақсы жарығы бар орынды табу;
 - б) тіркелген препаратты зат үлшесіне қойып, оны бекіту;
 - в) препаратты құрған объективпен қарап, бөлшектеп зерттеудің ынғайлы орнын табу,
 - г) тубусты көтеріп, иммерсионды объективті крйып, препаратқа иммерсионды май тамшысын тамызу;
 - д) препаратқа кырынан қарап, иммерсинды объективтің линзасың төменгі фронтальды жағын иммерсинды майға малыңдар;
 - е) окулярға қарап, зерттелінетін объект көрінгенше, микроскоптың тубусын баяу көтеріңдер;
 - ж) микрометрлік винт арқылы фокусты нақтылау;
 - з) препаратты зерттер, суретін салу;
 - и) тубусты кетеріп, иммерсинды майды сүрту.

Микроскоп. Жасушалардың мембранасына,ядросына және цитоплазмасының құрамына кіретін молекулалар мен органоидтарды жарық немесе электрондық микроскоп арқылы көруге болады. Жарық арқылы көрсететін микроскоп зерттейтін заттарды 100-3000 есеге дейін үлкейтіп көрсетеді, ал жетілдірілген окулярды қолданып,зерттелетін объектіні экранға түсіргенде оны 100 мың есеге дейін үлкейтуге болады. Биологияның арнаулы саласы-биохимия жасушаның химиялық құрамын молекулалық деңгейде зерттеу үшін центрифуга деп аталатын күрделі құралды пайдаланады. Ол өте жылдам айналып,жасушаның құрылымдық бөліктерін бір-бірінен бөліп алады, себебі оның бөліктерінің тығыздықтары әр түрлі болады. Жасушаның аса нәзік құрылысы мен қызметін зерттек тек цитологтардың, биохимиктердің,физиологтардың, генетиктер мен биофизиктер күш-жігерін ұштастырудың нәтижесінде ғана мүмкін екені өзінен-өзі түсінікті.Жасуша теорясы негізінің қалануы және жетілдірілген техникалық құралдардың шығуы жасушаның құрылысы мен химиялық құрамын,атқаратын қызметін зерттеуге кең жол ашты.



А - МИКМЕД-1; Б - БИОЛАМ.

- 1 - окуляр, 2 - тубус, 3 - тубусодержатель, 4 - винт грубой наводки, 5 - микрометрический винт, 6 - подставка, 7 - зеркало, 8 - конденсор, ирисовая диафрагма и светофильтр, 9 - предметный столик, 10 - револьверное устройство, 11 - объектив, 12 - корпус коллекторной линзы, 13 - патрон с лампой, 14 - источник электропитания.

Электрондық микроскоп арқылы қазіргі кезде микроағзалардың морфологиясын зерттеуде үлкен жетістікке жеткенімен, жарықты микроскоп өзінің мәнін жоғалтқан жоқ. Қазіргі микроскоп 2000-2500 есеге үлкейтуге мүмкіндік береді және микроағзаның морфологиялық ерекшелігін анықтайды.

Микроскоппен керінетін көрші нүктелер - ең өз аралықты рұқсатты қабілеті деп атайды.

Рұқсатты қабілеттің үлкейтуі 2 жолмен жүзеге алады:

1) сандық апертурасы жоғары объективті қолдану (ол әр объективте белгіленген). Ең үлкен сандық апертурасы микроағзалардың морфологиясын жиі зерттейтін иммерсиондық объективтерде (МИ - 90 немесе ОИ - 90) болады;

2) Препаратқа түсетін жарық, толқын ұзындығына қысқарту арқылы. Бұл жағдайда зерттеуді ультракүлгін жарықта, яғни толқыны күндік жарықтан қысқа жағдайда жасайды. Ол үшін арнайы УФ -микроскоптары алынады. Күндік жарықта көрінетін ең ұсақ бөліктер, көлемі 1/3 жарық толқын ұзындығынан үлкен болу керек. Бұл жарықты микроскоп арқылы көлемі 0,2-0,3 мкм аз емес микроағзаларды керуге болатындығын көрсетеді.

Биологиялық микроскоп арқылы тұрақты және боялған микроағзаларды қарауға болады. Тірі болған жағдайда олар мөлдір және еткізгіш жарықта нашар көрінеді.

Микроағзаларды тірі жағдайда зерттеу үшін микроскопқа қоса құралдар қолданады.

Микроскоптың иммерсиондық объективті пайдалану тәртібі

Қазіргі жарықты микроскоптар ішінен микробиологиялық зерттеулер үшін ең қолайлысы МБИ - 1, МБИ - 3 модельдері биологиялық микроскоптар болып табылады.

Микроскоптың оптикалық қуатын анықтайтын негізі бөлігі -объектив. Микроскоп объективтері құрғақ және иммерсионды больш бөлінетіндігін естеріңізге түсірейік. Құрғақ объективтерді (8x, Ох) орташа үлкейткіш кездерінде қолданады (100-600 есе) объектив пен препарат арасында ауа қабаты болады.

Микроағзаларды зерттегенде әрқашан иммерсионды немесе майға батырылған объективті қолданады (90x). Үлкен үлкейту береді (900-1350 есе). Иммерсионды объективпен жұмыс істегенде препарат жағылған самырсын майына салады. Самырсын майының сынуға көрсеткіші шыны сыну көрсеткішіне жақын, сондықтан шыны мен объектив линза арасында біркелкі орта қалыптасады. Осыған байланысты барлық сәулелер сынуға ұшырамай және өзінің бағытын өзгертпей, объективке түсіп, ұсақ объектілердің көрінуіне жағдай жасайды.

Иммерсионды объективпен мына тәртіппен жұмыс істейді. Дайын тіркелген және боялған бактериялар препараттарын алдымен құрғақ жүйе объективімен қарау. Онда қолайлы орын тауып, оны 2 жақтан микроскоп зат үстелшесіндегі тіркемелерімен бекітеді.

Микроскоп тубусын көтеріп, револьверді бұрап, иммерсиялық объекті орналастырады. Кейін препарат бетіне зат үстелшесінен алмай, иммерсионды май тамшысын (жиі самырсын майын қолданады), тамызып, иммерсионды объективті түсіреді. Бұндай объективті түсіру және майға малуды микрометрлік бұранда кремальерасымен абайлап жасау керек.

Қырынын объектив алдыңғы линзамен май тамшысына түсуін, ырық. препаратты тиістеу керегін қарау. Содан кейін, окулярға қарап, көру бөлінде зерттелген объект көрінгенше микрометрлік винтпен микроскоп тубусын көтеру. Фокусты микрометрлік бұранда арқылы нақтылайды. Бұл микрометрлік бұрандамен кейін әр уақытта препаратты тануда қолданылады. Сол кезде конденсор диафрагмасын ашып жарық түсіруді арттыру.

Иммерсионды объективтің толық күшін пайдалану үшін иммерсионды майды немесе суды конденсордың жоғарғы линза бетіне жағады.

Жұмыстан соң самырсын майынан объектив пен конденсорды тазалайды. Алдымен майды фильтрлейді қағаз кесіндісімен сүртіп, содан соң тазаланған бензинде малынған пгүберекпен сүртіледі. Ксилол мен спиртті қолдануға болмайды, өйткені, объектив линзаларының бүлінуіне әкеліп соғады.

Зертханалық жұмыс №2

Тақырып: Бактериялардың морфологиясы

Мақсаты: Студенттерді микроорганизмдер клеткасындағы қор заттары мен кажулаларының боялу әдісімен таныстыру

Материалдар және құрал-жабдықтар

Жабынды шыны, микробиологиялық ілмек, спирт шамы, пинцет, суы бар тамызғыш, бояғыштардың сулы ерітінділері (фуксин, метиленді көк, генцианвиолет), суы бар шайғыш, препараттарға арналған шыны көпіршесі бар кристаллизатор, сүзгіш қағаздың жолақтары, микроскоп, микроағзалардың таза культурасы, табиғи материалдардан (ет, балық, үн, көкөніс, көң т.б.) жасалған тунбалар.

Бактериялар микроағзалардың ең кең және әртүрлі болып келетін топ. Бактериялар көбінесе жасушаның көлденең бөліну арқылы көбейетін біржасушалы ағзалар. Морфологиялық жағынан бактерияларды пішініне, мөлшеріне, жасушалардың өзара орналасуына, талшықтардың және капсулалардың бар жоғына, жасушаның спора түзу қабілетіне қарай ажыратылады.

Пішініне қарай бактериялар 3 топқа бөлінеді: шар тәріздес, таяқша тәріздес және иірілген.

Шар тәріздес бактериялар - кокктар (Coccus). Жасушаның бөліну жазықтышының бағыты мен жасушалардың өзара орналасуының сипаты шар тәріздес бактериялардың тұқымдастарын бөлудегі систематикалық белгі болып табылады. Кокктардың диаметрі 0,5-1,2 мкм.

Моно - немесе **микрочокктар** (Micrococcus тұқымдасы). Олардың жасушалары әртүрлі жазықтықта бөлінеді де, бір-бірден орналасып оқшауланады.

Диплококктар (Diplococcus тұқымдасы) және стрептококктар (Streptococcus тұқымдасы) жасушалардың бір жазықтықта белінудің нәтижесінде пайда болады; диплококктарда жасушалар жұптасып, ал стрептококктарда тізбектеліп орналасады.

Тетракокктар (Tetracoccus тұқымдасы) екі жасушалардың өзара перпендикуляр жазықтықтарда бөлінудің нәтижесінде пайда болады. Жасушалар төрт-төрттен топ құрайды.

Сарциналар (Sarcina тұқымдасы). Жасушалардың үш өзара перпендикуляр жазықтықта белінудің нәтижесінде калыптасады. Осы кезде 8-16 не одан да кеп жасушалардан құралған пакеттер түзіледі.

Стафилококктар (Staphylococcus тұқымдасы) жүзімнің шоқ жемісіне ұқсайтын жасушалардың тобы. Жасушалардың белінуі әртүрлі жазықтықта жүреді.

Дұрыс шар тәріздес пішінімен қатар жасушалар сопақ немесе қандауырша тәріздес (пневмококктар) немесе бұршақ тәріздес (гонококктар, менингококктар) болады. Шар тәріздес бактериялар көбінесе талшықтары болмайды, қозғалмайды және спораларды түзбейді.

Таяқша тәріздес бактериялар. Бұл бактериялардың ең кеп және әртүрлі топ. Таяқша тәріздес бактериялар жасушалардың мөлшеріне қарай, олардың орналасуы, жасуша ұштарының кескініне, талшықтардың бар - жоғына қарай ажыратылады. Жасушаның ұзындығы мкм-дың ондық бөлшектерінен бастап 10-15 мкм не одан да кеп болады, диаметрі 0,5-1 мкм. Жасушаның мөлшері өсу ортасына (ортаның құрамы, рН-тың мәні, аэрация, температура) және культураның жасына тәуелді.

Таяқша тәріздес микроағзалардың көбі - спора түзбейтін формалары, олар бактериялар деп аталады (Bacterium, Bact. немесе B. деп белгіленеді). Қолайсыз жағдайларда спора түзе алатын таяқша тәріздес бактериялар бациллалар (Bacillus, Bac. деп белгіленеді). Бактериялар мен бациллалар жалғыз, жұптасып немесе тізбек (стрептобактериялар мен стрепто- бациллалар) құрап орналасады. Таяқша тәріздес бактериялар арасында сапрофит де, патогенді де түрлері кездеседі.

Иілген бактериялар. Жасушаның пішініне мен иірімдер санына байланысты жасушалардың 3 типі бөлінеді.

Вибриондар (Vibrio тұқымдасы). Үтір пішіндес қысқа иілген больш табылады. Вибриондардың жасушалары 1/3-1/4 айналымға иілген. Жасуша ұзындығы 1-3 мкм.

Спириллер (Spirillum тұқымдасы). Олардың жасушалары 2-3 айналымға иілген және латыш S әрпінің пішініне ие болады. Жасушаның мөлшері вибриондарға қарағанда үлкен 15-20 мкм.

Спирохеттер (Spirochaeta) штопор пішіндес жіңішке, ұзын, көптеген ұсақ иірімдері бар жасушалардан тұрады. Жасушаның ұзындығы енінен 5-200 есе көп. Иірімдердің саны турді анықтаған кезде систематикалық белгілердің бірі болып табылады.

Жұмыс барысы

Бактериялардың морфологиясы зерттеу үшін әртүрлі табиғи материалдардан жасалған тұнбаларды дайындау керек: ет, балық, ұн, көкөніс, көң, жұмыртқаның ақуызы, жемістер т.б. Материалдардың шағын мөлшерін ұсақтап, кішкентай шыныға салады. Қандауыр кескіш ұшына борды салып, су құбырынан суды шынының 2/3 көлеміне құю керек. Тұнбасы бар шыныны термостатта 25-28°C немесе жылы бөлмеде қараңғыда 3-5 күн ұстау керек. Осы уақытта ортада бактериялардың көп түрі жинақталады.

Табиғи материалдардың тұнбаларымен қатар, бактериялардың морфологиясын культуралардың шағын топтарын зерттеуде пайдалануға ыңғайлы. Таза культуралардың құрамында бактериялардың мына түрлерінің болуы ыңғайлы:

Микрококктар - *Micrococcus roseus*, *M. luteus*;

Диплококктар - *Azotobacter chroococcum*, *Az. vinelandii*;

Стрептококктар - *Streptococcus lactis*, *St. cremoris*;

Сарциналар - *Sarcina maxima*;

Бактериялар - *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*;

Achromobacter prodigiosus;

Бациллалар - *Bacillus subtilis*, *Bac. cereus*;

Вибриондар - *Cellvibrio*;

Спириллдер - *Spirillum volutans*.

Бактериялардың морфологиясын зерттеуді тұнбасының біреуіндегі (ет, балық, көңнің тұнбасы морфологиясына ең бай) {ікроағзаларын микроскоптаудан бастау керек. Тұнбаның сұйықтығынан бір мезгілде 2 препарат дайындайды (жұғыға). Тіршілік кезеңіндегі препаратты ВИ-40 объективті қолданып микроскоптайды; объективпен қарайды. Препараттарды қараған кезде микроағзалардың пішініне, жасушалардың өзара орналасуына және бактериялардың мөлшерінің микроскоптың әртүрлі үлкейтудегі арақатынасына назар аударып сурет салу.

Бактериялардың қозғалысын зерттеу үшін тіршілік кезеңіндегі препаратты микроскоптың қараңғы белігінде микроскоптау, қызығырақ болады.

Бактериялардың морфологиялық әртүрлілігі туралы үлкен әсер қалдыратын кез келген тұнба материалғаан жасалған теріс-қара сұйық препарат болып табылады. Препаратты МИ-90 объективті қолданып микроскоптайды. Қара сияның фонында пішіні, мөлшері әртүрлі және әртүрлі сәйкестікте орналасқан микроағзалардың боялмаған жасушалары микроскоптан қарағанда көрінеді.

Бактериялардың морфологиялық топтарын анығырақ зерттеу үшін таза немесе жинақталған культуралардан жасалған тұрақты микробиологиялық препараттарды дайындайды.

Таза культуралардың жиынтығы болмаған кезде, бактериялардың морфологиясын зерттеу үшін Петри шынысында пластинкасына ауадан себілген микроағзалардың колониясын қолданауға болады. Әдетте, ауадан *Micrococcus*, *Sarcina*, *Bacterium*, *Bacillus* тұқымдастардың өкілдерін алады.

Стрептококктарды қарау үшін, ашытылған сүттен жасалған тамдардың жұғынды қолданылады. Вибриондар мен филлалармен танысу үшін көң тұнбасы мен тоспа судан жасалғанынды қарайды.

Микроорганизмдердің морфологиясын зерттеу бойынша жүргізілген жұмыс нәтижесін кестге енгізу.

МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ МОРФОЛОГИЯСЫ

Мәдениет ағауы	Объектив	Жасушаның суреті	Анықтама

Зертханалық жұмыс №3

Тақырып: Актиномицеттер мен саңырауқұлақтардың морфологиясы

Мақсаты: Студенттерді микроорганизмдерді микроскопиялық зерттеу әдісімен таныстыру.

Материалдар және құрал-жабдықтар

Жабынды және заттық шынылар, препараттау инелері, пинцеттер, микробиологиялық ілмек, спирт шамы, Петри шынылары, аш агар, топырақ ұнтақтарын себуге арналған елек, топырақ, тегіс жиекті пробирка, 70-80%-ті уксус қышқылы, аммиактың іздері бар 60%-тік этанол, стерильді суы бар колба, фуксин немесе генцианвиолеттің судағы 1%-ті ерітіндісі, шыны шпатель, 0,1 мл-ге микропипеткалар, 1 және 10 мл-ге пипеткалар, крахмалды-аммиакты агар (КАА), МПА немесе КАА-ғы актиномицеттердің таза культуралары. КАА-ның құрамы (дистильденген судың г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 2.0; K_2HPO_4 -1.0; MgSO_4 -1.0; NaCl -1.0; бор -10,0; агар- 18,0 КАА-ны дайындау: тұздарды ерітіп, борды қосады. Осы кезде судың шағын мелшерін қалдырып, онда крахмалды жақсылап араластырады. Дайғадалған ерітінді қайнатып, үнемі араластырып, оған крахмалды құяды. Органы агарландырады, тауық жұмыртқасыға ақуызымен жарықтандырып, автоклавада стерильдейді.

Актиномицеттер

Бергенің (1980) анықтауышында актиномицеттер Streptomycetaceae тұқымдасының 17-ші топқа жатқызылды. Актиномицеттер - бактериялар мен зен саңырауқұлақтардың қасиеттерін байланыстыратын ерекше микроағзалар. Актиномицеттердің титік өкілдері жақсы керінетін мицелийі бар. Зең саңырауқұлақтарға қарағанда, актиномицеттердің мицелийі белінбеген және біралып, ете бұтақталатын жасушадан тұрады. Актиномицеттердің гифтердің диаметрінен шамамен 10 есе аз.

Актиномицеттердің мицелийдің жасуша қабықшасы құрылысы жағынан жақсы граммды бактериялардың қабықшасымен ұқсас. Ол ақуызды, липидті және мукополисахаридті компоненттерден түзілген, қабықшаның қалыңдығы 0,01-0,03 мкм. Кейбір актиномицеттердің қабықшасында тейхойды қышқылдар астында цитоплазмалық мембрана орналасады. Ол зат алмасу процесстері мен спораларды тузуге белсенді қатысады. Ультрамикроскоптық анализ кезінде актиномицеттердің цитоплазмасында цитоплазмалық мембранамен байланысқан, жіңішке мембраналық құрылымы бар мезосомалар керінеді. Актиномицеттер мицелийінің цитоплазмасы, әсіресе кәрі культураларда тұрпайы дәнді құрылыты болады. Онда еритін және ерімейтін полифосфаттар, полисахаридтер, ал кейбір түрлерінде майлы заттар байқалған. Органың құрамы мен өсу жағдайларына байланысты актиномицеттердің цитоплазмасында полифосфаттар мен РНҚ-дан тұратын волютиннің дәндері жиналады. Кейде актиномицеттердің цитоплазмасында ұсақ және ірі көпіршіктер ретінде вакуольдер пайда болады. Культураның қартаюуы кезінде қорға жиналған заттардың орнында вакуольдер пайда болады деген болжам бар.

Актиномицеттердің ядролық заты кабаттанған жішпелерден құралған жіңішке тордан тұрады. Онда ядролық мембрана жоқ және цитоплазмадан бөлінбеген. Жекелеген ядроның болуы актиномицеттерді зең саңырауқұлақтардан ерекшелендіреді де, бактериялармен жақындастырады.

Актиномицеттердің колониялары тығыз болады да, микробиологиялық ілмекпен алынбайды. Олар қатпарлы, кедір-бұдырлы, кабыршақты, сирек тегіс, түссіз немесе пигменттелген болады. Колониялардың түсі кек, күлгін, қызыл, сары, ашық қызыл, жасыл т.б. болады. Кейде актиномицеттер пигментті сыртқа бөліп, субстратты бұл түске бояйды. Актиномицеттердің колониялары берік болып субстратпен бірігіп кеткен. Субстраттың ішінде орналасқан мицелийдің бөлігін субстратты мицелий деп атайды. Субстраттан тыс орналасқан мицелийдің жішпелерден гифтер түзіліп, ауа мицелийін қалыптастырады. Актиномицеттердің көбінде колонияның бір бөлігін немесе барлық бетін ұнды, үлпілдек карадақпен жабатын жақсы дамыған ауа мицелийі бар. Түсі бойынша ауа мицелийі ақ немесе сұр, сирек жасыл, қызғылт, қоңыр, көкшіл түске боялады.

Ауа мицелийдің жішпелерінде тұқым таситыш мүшелер – споралары бар споратасығыштар. Актиномицеттердің споратасығыштарды орналасуы мен құрылысы бойынша ажыратады. Құрылысы жағынан споратасығыштар тік, ұзын немесе қысқа, бұйра және 1-ден 10 иірімге дейін не одан да кеп иірімдері бар спиральды иірілген болады. Иірімдердің спиралі қысыңқы немесе созылыңқы болуы мүмкін. Ауз мипелийдің гифтерінде споратасығыштар сатылап, мутовчато, супротивно, шок; тәрізді болып орналасады.

Споратасығыштарда споралар үзінділеу немесе сегменттеу типімен қалыптасады. Үзінділеу

кезінде споратасығыш гифаның адролық заты түйірлерге ыдырап, олардың айналасында цитоплазма шоғырланады. Әрбір осындай фрагмент өзіндік қабықшасымен қапталынып, піскен спораға айналады. Сегменттеу кезінде споратасығыш гифаның цитоплазмалық мембранасы дөңес форма түзейді. Осы дөңес форма споратасығышты перегородкалармен болашақта споралар болатын біртекті жасушаларға бөледі. Споралар піскенде споратасығыш ыдырап споралар шаншлады.

Споралардың шар тәрізді, таяқша тәрізді, цилиндрлі және алмұрт тәрізді пішіндері ажыратылады. Споралар қабықшасының беті тегіс, кедір-бұдырлы, шаш тәрізді және қалқашпа болуы мүмкін. Актиномицеттердің споралары қоршаған ортаның қолайсыз жағдайларына салыстырмалы түрде төзімді, бірақ бактериялардың спораларына қарағанда төзімділігі төмендеу. Қолайлы жағдайларға түсіп, актиномицеттердің споралары жаңа мицелийге өседі де, болашақта колонияларды қалыптастырады. Спораның өнуі бірнеше жерлерден басталады. Актиномицеттер споралармен көбеюмен қатар, мицелийдің үзінділері арқылы да көбейе алады.

Споратасығыштардың орналасуы мен құрылысы, спора тузудің типі, споралардың мөлшері мен пішіні, спора қабықшасының беті актиномицеттердің систематикалық орналасуын анықтау кезінде диагностикалық белгілер болып табылады.

Актиномицеттер топырақта, суда, өсімдік пен жануарлар қаддықтарында кең таралған. Актиномицеттер қоректік орталарда жақсы өседі, минералды азотты, әртүрлі көмірсуларды (қанттар, крахмал, декстрин), сонымен қатар органикалық қышқылдар, майларды май тәріздес қосылыстарды жақсы қорығады. Олар күрделі қосылыстарды: жасымықты, парафинді, балауызды, хитинді т.б. белсенді ыдыратады. Актиномицеттердің көбі антибиотиктік заттардың, витаминдердің, биотиннің, фомий қышқылының, никотин қышқылының, ауксиннің продуценті болып табылады.

Жұмыс барысы

Актиномицеттерді зерттеу үшін топырақ ұнтақтарына Петри шынылардағы аш агардың пластинкаларына себеді.

8-10 тәліктен кейін топырақ бөлшектерінің айналасында актиномицеттердің колониялары дамиды. Тегіс жиекті пробиркамен актиномицеттердің колониялармен бірге олардың бөліктерін кеседі де, заттық шыныға апарып, кішкентай үлкейтулерде (объектив 8-20x) қарайды. Осылайша материалда ақшыл, мөлдір субстратты мицелий жақсы көрінеді, ауа мицелийдің гифтері анық көрінеді, споратасығыштардың орналасуы мен құрылысы.

Актиномицеттерді анығырақ зерттеу үшін КАА-да өсірілген колонияларды қолдану жөн. Петри шыныларда КАА пластинкаларында 1 тамшыдан немесе 0,1 мл. 3-4 өсудің топырақ суспензиясын (өсірудің әдістемесі 23-ші жұмыста) есіреді. 8-10 тәліктен кейін КАА-ның бетінде актиномицеттердің колониялары өсіп шығады. Тегіс жиекті пробиркамен актиномицеттердің колониялармен КАА-ның бөлігін кеседі де оны предметное шыныға әйнекке салып, микроскоптың кішкентай үлкейтулерде микроскоптайды. Колонияның сипатын құрастырады.

Тіршілік кезіндегі препаратты дайындау үшін агардың бөлшегімен бірге колонияның бір бөлігін екінші заттық шыныға 70-80%-ті сірке қышқылына немесе 60%-ті аммиактың іздері бар этанол тамшысына салады. Актиномицеттердің колониялары суланбайтындығын ескерген жөн. Актиномицеттердің колониясынан алынған материалды препараттау инелерімен жазып, жабынды шынымен жабады да, ВИ-40 объективті қолданып микроскоптайды. Препаратта мицелийдің үзінділері мен споратасығыштардың гифтер көрінеді.

Спораларды түзу типін, пішінін және мөлшерін зерттеу үшін тұрақты препараттарды дайындау керек - актиномицеттердің колониялардың таңбасы. Препарат таңбасы дайындау үшін актиномицеттер колониясының бетіне шыныны тығыз басады. Таңбасы ауада құрғатады, отға бекітеді, фуксин немесе генцианвиолетпен бояйды да, сумен шаяды. Жабынды шыныны заттық шыныға су тамшысына таңбасыны тоиен қаратып қояды. Препаратты МИ-90 объективті қолданып микроскоптайды. Микроскопқа қарағанда мицелийдің үзінділері, споратасығыштардың құрылысы, споралардың түзілу типі, споралардың мөлшері мен пішіні жақсы көрінеді.

Актиномицеттерді зерттеу үшін Петри шыныларда МПА немесе КАА пластинкаларда өсірілген таза культураларын қолдануға болады (*Actinomyces griseus*, *Act. flava*, *Act. chromogenes* т.б.).

Зертханалық жұмыс №4

Тақырып: Бактерия өсінділерінен препараттар дайындау. Препараттың бояудың қарапайым әдісі.

Мақсаты: Студенттерді микрооргаиизмдерді микроскопиялық зерттеу әдісімен таиыстыру.

Материал мен құрал - жабдықтар: зат, жабынды шынылар, ойыс, зат шынылары, микробиологиялық ілмектер.

Жұмыс барысы

Кептелген тамшы әдісі

Жұмыс 5 берілген сұйықтардың біреуін микробиологиялық ілмекпен зат шынысына тамызады. Егер дақылда бактериялар көп пайда болса, оны алдын ала сумен араластырады.

Жабынды шыныны тамшы қасына көлденең қойып, оны біртіндеп тамшыға түсіру. Жабынды шыныны абайлап түсірген кезде шынылар арасында микроскопияға кедергі жасайтын ауа көпіршіктері калмайды.

Тамшы үлкен болмауы керек. Өйткені оны басқан кезде сұйықтың жабынды шынының шетіне шықпауы тиіс.

Препарат жарық және қараңғы жерде зерттелінеді, бірақ кепкендіктен ұзақ сақталынбайды.

Ілінген тамшы әдісі

Жабынды шынының центріне бактериологиялық ілмек арқылы зерттелетін сұйықтықтың тамшысыны тамызып, арнайы зат шынысының ойыстығына аударады. Ойыстың шеттерін алдын ала вазелинмен жағады. Тамшы жабынды шынысында зат шынысының ойыстығының үстінде ілініп тұру керек. Препарат ұзақ сақталынады.

Ілінген тамшыны жазық айнаны қолданып, микроскоп арқылы қарайды. Бұл кезде диафрагманы тарылту кажет.

Кішкентай үлкейткіш қараңғы бөлікте жақсы көрінетін тамшы шетін тауып алады. Тамшы шетін кору бөлігінің центріне жылжытып, үлкен үлкейткішке ауыттырып, диафрагманы кеңейту. Осылай зерттелінетін микроағзаның қозғалмалы немесе қозғалмайтындығын көруге болады.

Жұғындыны дайындау.

Материал мен құрал -жабдықтар:

Майлық емес зат шынылары, бактериологиялық ілмек, спирттік, фильтрлейтін қағаз кесінділері, препараттар үшін көпірі бар кристаллизатор, суы бар жуғыш, фуксин, метилендік көк, генцианвиолет сияқты бояулардың, сулы ерітінділері, таза микроағзалар, картой тұндырмасы, бүршақ, садыра және т.б.

Жұмыс барысы

Этил спиртынде және күкірт эфирінің қоспасында сақталынатын зат шынысын спирттің жалынында құрғатады. Жаңғышпен зарарсыздырылған бактериологиялық ілмекпен зат шынысың центрінен зерттетін материал жұғындысын тигізеді. Егер микроағза дақылы тығыз қоректік ортада өсірілген болса, алдын ала зат шынысына су тамызып, содан соң бактериологиялық ілмекпен кішкене материал салып жұғынды жасайды. Жұғындыны ауада кептіреді, содан тіркейді. Микроағзалардың жұғындыларыш әдетте, термиялық түрде тіркейді. Жұғығады жоғары ұстап шыныны 2-3 рет жанғыпп жалшынан өткізеді.

Микробтардың жасушасының құрылысын зерттеу үшін жұғындының химиялық тіркеуін қолданады; тіркейтін сұйықтықты жұғынды бетіне жағып, мысалы этил спиртімен күкірт эфирінің қоспасын 1:1 келемде, тіркеу уақыты 10 мин, немесе препаратты өткізгіштерде Петри ыдысығаа жұғындыны тіркейтін тамшы үстіне қою, мысалы 40 % - ті формалин тіркеу уақыты бірнеше секунд (қосымшаны карау).

Жұғындыны тіркеу микроағзалардың тіршілік етуіне әкеледі. Шыны бетіне тығыз жабысын және микробтардың бояуға әсерлеуіне әкеп соғады.

Тіркелген жұғындының бетіне кез келген бояғыпшы 2-3 минутка кұйып, оны бояйды (метилендік көк, генцианвиолет, фуксин). Содан кейін бояуды жұғындыдан жұғығаі арқылы шайып, препараттың төменгі бөлігін фильтрлейтін қағаз кесіндісімен сүртіп, ал жоғарғысын жұғындыға тиіспей келденен құрғату керек. Содан соң препаратты ауада немесе спирттік жалында құрғатады. Дайын жұғығадығаы майлы иммерсия объективін пайдаланып, микроскопиялау.

СҰРАҚТАР:

1. Бури бойынша капсулалардың боялу әдісі
2. Антони бойынша капсулалардың боялу әдісі
3. Тинси бойынша капсулалардың боялу әдісі
4. Олилянск бойында капсулалардың боялу әдісі
5. Леффлер бойынша капсулалардың боялу әдісі
6. Гликоген мен гранулездардың боялу әдістері
7. Майдың боялу әдісі

Зертханалық жұмыс №5

Тақырып: Күрделі бояу әдістері. Грам және Михин әдістерімен бояу.

Микроағзалардың көбінде ядролық мембранадан цитоплазмадан істелген ядролары жоқ. Қалыптасқан ядро тек жоғары дамыған -цсроағзаларда: ашытқыштарда, саңырауқұлақтарда және иксобактерияларда ғана кездеседі. Қалған микроағзалардың цитоплазмасында ерекше химиялық реакциялармен құрамында ДНҚ-сы бар үзілетін құрылымдар анықталды. Оларды бактериялық ядро немесе нуклеоид деп атайды.

Бактериялық ядро жасушаның тұқым қуалау қасиеттерін тасушы және ұрпаққа осы қасиеттерді беретін фактор болып табылады. Бактериялық ядро ширатылып, сақинаға түйықталған ДНҚ-ның ұзын жібімен көрсетілген хромосомамен тендестіріледі. ДЦ-ның сақиналық пішіні Eschericha coli-да анықталған.

А.А. Имшенский мен А.Н. Белозерскийдің жұмыстарында бактериялық жасушаның цитоплазма құрамында РНҚ өте көп мөлшерде бар екені көрсетілді. Ол ядроның ДНҚ-сы сияқты ядролық бояулармен боялады. Сондықтан препараттарда бактериялық ядроны табу өте қиын. Бактериялық ядроны бояу әдістердің көбі жұғынды тұз қышқылында гвдролездеу арқылы цитоплазмадағы РНҚ-ны алыш тастап, ДНҚ-ны бояуда негізделеді.

Материалдар жене құрал-жабдықтар

Жабынды шыны, микробиологиялық. ілмек, спирт шамы, препараттарға тұғырығы бар кристаллизатор,суы бар шайғыш, су моншасы, термометр, шынының кесінділері бар Петри шынысы, пипетка, химиялық стакан, 1-2 мл-ге арналған стерильді пипеткалар, стерильді суы бар пробирка, осмиев қышқылдың 2%-тік ерітіндісі, тұз қышқылының 1н ерітіндісі, формалиннің 1%-ті ерітіндісі, фуксиннің 1%-ті ерітіндісі, микроскоп, бактериялардың тәуліктік культуралары.

Жұмыс барысы

Бактерияның тәуліктік культурасынан суспензияны дайындап жұғынды жабынды шынысына жағады. жұғынды ауада құрғатады да, 2-3 мин. ішінде осмиев қышқылының 2%-тік ерітіндінің буымен бекітеді. жұғынды Петри шынысының түбіне бекіту үшін бекіткіштің 2-3 тамшысын салады, ал жабынды шынысын шыныларның кесінділеріне жұғынды төмен қарап салады.

Содан кейін жұғынды тұз қышқылының 1н ерітіндісінде 60°C температурада 2-3 мин. гидролизге ұшыратады да, дереу препаратты сумен жуады. жұғындың гидролизін су моншасына салынған тұз қышқылы бар химиялық стаканға салу арқылы жүргізеді. Сосын жұғынды 1,5 мин-қа формалиннің 1%-ті ерітіндісін құяды да, қайтадан сумен шаяды. Жұғынды 1-2 мин. негізгі фуксиннің 1%-ті сулы ерітіндімен шаяды, ауада құрғзтады да микроскоптайды.

Препараттағы цитоплазманың қызғылт түсінде нуклеоид ерекшеленеді. Ол ашық малина түске боялған жасушаның ортасында жатқан белгілі пішіні жок түзіліс немесе **полюстарға жақынырақ** орналасқан екі денешік ретінде көрінеді.

Тапсырмалар:

1. Оқушының алғы сөзі
2. Бактериялар спорасын боялу әдісімен танысу (практикум 35бет)
3. Мәдениеттер коспасынан мазоктар дайындау
4. Грам әдісі бойынша бактериалдық препараттардың боялу әдісін үйрену (практикум 46-47 бет)
5. Грам бойынша боялған препараттық микробтық пейзажын микроскоп арқышы көру. Грам теріс және грам оң микроб клеткаларын кору
6. Препараттардың микроскоптық суретін дәптерге салу

СҰРАҚТАР:

1. Бактерия спораларының боялу әдісі
2. Грам бойынша бактериялардың боялу әдісі
3. Грам оң және грам теріс бактериялар түсі қандай болады?

Зертханалық жұмыс №6

Тақырып: Аэробты бактерияларды өсіру.

Мақсаты: Студенттерді аэробты жағдайларда микроорганизмдерді микроскопиялық зерттеу әдісімен таныстыру.

Материалдар және құрал-жабдықтар

Жабынды шыны, микробиологиялық ілмек, спирт шамы, препараттарға тұғырығы бар кристаллизатор, суы бар шайғыш, су моншасы, термометр, шынының кесінділері бар Петри шынысы, пипетка, химиялық стакан, 1-2 мл-ге арналған стерильді пипеткалар, стерильді суы бар пробирка, осмиев қышқылдың 2%-тік ерітіндісі, тұз қышқылының 1н ерітіндісі, формалиннің 1%-ті ерітіндісі, фуксиннің 1%-ті ерітіндісі, микроскоп, бактериялардың тәуліктік культуралары.

Жұмыс барысы

Лабораториялық тәжірибелерде аэробтарды өсіру үшін тығыз және сұйық ортада микроағзаларда жайыш өсіру әдісін жиі қолданады. Құнарлы ортаны үлкен ыдысқа, соның ішінде Петри ыдысына немесе Виноградскийдің колбасына құяды. Ортаның бетінде аэробтың микроағзалар тығыз колония ретінде дамиды. Бұдан басқа, лабораториялық тәжірибеде аэробтарды өсіру үшін сұйық қоректі ортада қозғалғыштарда тереңде микроағзаларды өсіру әдісі қолданады. Қозғалғыштар колба мен пробиркалардың ішіндегі заттардың айналуын және араластырылуын 1 минутына 100-200.

Айналым жылдамдығымен жасауын қамтамасыз етеді. Жылдамдық артуы кезінде ортаның ауамен әрекеттесуі артады, яғни ортаның аэрация деңгейінде артады.

СҰРАҚТАР:

1. ЕПС, БПА орталары қалай дайындалады?
2. Биофабрикаларда қандай орталарды дайындайды?
3. Эшби ортасы, оның қолданылуы.
4. Түйнек бактерияларына орта, оның қолданылуы.
5. Орталарды стерилизацияға дайындау.
6. Қандай препараттар көмегімен орталарды стерилдеуге болады?
7. Қандай орталарды автоклавтауға болмайды?

Зертханалық жұмыс №7

Тақырып: Анаэробты микроорганизмдерді өсіру. Анаэробноз жағдайын жасау әдістері.

Мақсаты: Студенттерді анаэробты жағдайларда микроорганизмдерді микроскопиялық зерттеу әдісімен таныстыру. Анаэробноз жағдайын қалыптастыру әдісімен таңыстыру.

Материалдар және құрал-жабдықтар

Жабынды шыны, микробиологиялық ілмек, спирт шамы, препараттарға тұғырығы бар кристаллизатор, суы бар шайғыш, су моншасы, термометр, шынының кесінділері бар Петри шынысы, пипетка, химиялық стакан, 1-2 мл-ге арналған стерильді пипеткалар, стерильді суы бар пробирка, осмиев қышқылдың 2%-тік ерітіндісі, тұз қышқылының 1н ерітіндісі, формалиннің 1%-ті ерітіндісі, фуксиннің 1%-ті ерітіндісі, микроскоп, бактериялардың тәуліктік культуралары.

Жұмыстың барысы

Микроағзалардың ауадан механикалық изоляциясына негізделген.

Ең жеңіл өдіс - анаэробтарды қоректік ортаның биік қабатында өсіру. Сұйық орталарды үлкен пробиркаларға немесе колбаның ортасына дейін құяды. Егу материалын ортаның төменгі қабатына енгізеді. Ортаның бетіне зарарсыздандырылған вазелин маймен немесе ерітілген парафин құяды. Газ шағармайтын дақылдарды резеңкелі тығыз немесе ніыны тығындымен жабады.

Анаэробтардың изоляцияланған колонияларды алу үшін агаризацияланған ортаның қалыңдығына микроағзаларды терең егу әдісі қолданады. Егілетін материалды жылытылған және суытылған 45-50 ° С дейін, агаризацияланған ортаға енгізу, мұқият араластырыш, содан үлкен зарарсыздандырған пробиркалар мен Бурри түтікшелеріне құяды (Бурри түтікшелері - 20-25 см ұзындығы, диаметрі 1,0-1,5 см). Ортаның бетіне парафин құяды, мақталы тығындарды тығыз резеңке тығындарға ауыстырады.

Қоректік ортада араласқан оттегіні ортаны 30-40 минут аралығына сулы моншада қайнату арқылы егу алдында жояды.

СҰРАҚТАР:

8. ЕПС, БПА орталары қалай дайындалады?
9. Биофабрикаларда қандай орталарды дайындайды?
10. Эшби ортасы, оның қолданылуы.
11. Түйнек бактерияларына орта, оның қолданылуы.
12. Орталарды стерилизацияға дайындау.
13. Қандай препараттар көмегімен орталарды стерилдеуге болады?
14. Қандай орталарды автоклавтауға болмайды?

Зертханалық жұмыс №8 Тақырып: Топырақтың микробиологиясы

Мақсаты: Студенттерді топырақ жағдайларда тіршілік ететін микроорганизмдерді микроскопиялық зерттеу әдісімен таныстыру.

Материалдар және құрал-жабдықтар

Жабынды шыны, микробиологиялық ілмек, спирт шамы, препараттарға тұғырығы бар кристаллизатор, суы бар шайғыш, су моншасы, термометр, шынының кесінділері бар Петри шынысы, пипетка, химиялық стакан, 1-2 мл-ге арналған стерильді пипеткалар, стерильді суы бар пробирка, осмиев қышқылдың 2%-тік ерітіндісі, тұз қышқылының 1н ерітіндісі, формалиннің 1%-ті ерітіндісі, фуксиннің 1%-ті ерітіндісі, микроскоп, бактериялардың тәуліктік культуралары.

Жұмыстың барысы

Микроорганизмдер топырақ қалыптастыру процесінде маңызды роль атқарады. Топырақтағы микроорганизмдерсаны оның едәір құнарлығын анықтайды. Топырақ микроорганизмдер оқу сенімді нәтижелер береді тек сондай жағдайда, егер топырақ үлгілерін дұрыс алсақ.. Топырақ үлгілерін алғанға дейін зерттейтін ауданның сипаттамасын істеу керек, рельефтың сипатын, өсімдіктер және агротехниканы. Нақты топырақ сипатын беру керек.

Микроорганизмдерді зерттегенде топырақ көкжиегінде топырақ қиығын істеу керек. Топырақ қиығының тік қабырғасын топырақ үлгісін олардың алдында әрқашан тазалайды. Микрофлораны оқу кезінде белгілі жердің ауданын араласқан топырақ үлгісін, керекті бір тереңдікпен келденең қиылысқан жерінің бетінен дайындайды.

Микроорганизмдер топырақта бір қалыпта таратылмаған, сондықтан топырақ үлгілерін үлкен санмен анализдеу керек. Н.А. Красильков бойынша 100 м жер ауданында үш топырақ үлгісін анализдеу кепілденеді, әрбіреуі оның ішінде үш пробадан тұруы керек.

Топырақ үлгілерін стерильді пергамент пакетіне немесе шыны ыдысқа, мақта-дәке пробкамен жабады. Топырақ үлгілерін іріктеу үшін темір қалақтарын, бақша пышақтарын немесе үлкен емес күректерді, кейде топырақ бұрыш пайдалану ыңғайлы. Құрал-жабдықтарды спиртке батырылған мақта тамтанышпен бүртеді және жалынға күйдіреді. Топырақ микроорганизмдерді сандық есеп және қатал сапалық анализ үшін қалақ пен пышақтарды бірнеше рет зерттелетін топыраққа батырыш істеу керек. Әрбір топырақ үлгісі этикеткамен болуы керек, онда үлгінің алған күнін, ауданын және көкжиегін көрсету керек. Стерилді пыпақпен топырақ пробасын алу үшін топырақтың үстіңгі қабатын (1,5-2,0 см) алып, басқа микрофлорасымен ластануы мүмкін. Со дан кейін қалқпен немесе күрекпен 100-200 г топырақ алады және пакетке немесе шыны ыдысқа толтырады. Жыртылатын топырақ үлгісінің микроорганизмдермен танысу үшін жыртылатын қабаттың барша тереңдігін алады. Микроорганизмдерді танысу кезінде әр түрлі тереңдікте топырақ үлгісін генетикалық көкжиектен топырақ қиығынан алады. Көкжиекте оны істейді одан топырақ үлгісін алады, төменгі көкжиектен жоғарыға. Топырақ үлгілерін анализдеу сол күні жасағаны дұрыс, ейткені микроорганизмдер саны өзгеруі мүмкін. Егер топырақ үлгілерін сол күні анализдеу мүмкін болмаса, сонда топырақ үлгісін 30 С келтіру керек.

Зертханалық жұмыс №9

Тақырып: Судың микрофлорасы. Судың коли-титрін анықтау.

Мақсаты: Студенттерді су жағдайларда тіршілік ететін микроорганизмдерді микроскопиялық зерттеу әдісімен таныстыру.

Су қоймалардың органикалық заттар және оларда бар микроорганизмдер белгілі сапраностық аймағыша тән. Үш аймақ сапраностқа айырылады.

1) олигосапробты-органикалық заттар шағын мелшерін құрайды және бактериялар аз -10-нан 1000 1мл -де.

2) мезосапробты-суы ластанған аса аймақ, онда ақуыздар және көміртегі ыдырауы жүреді. Бактериялар мөлшері 1мл 100 000 дейі жетеді.

3) полисапробты - өте ластанған аумақ, аноэробты типті шіру процестер өте айқын байқалады. Бактерияның саны 1000 000 дейін және астам 1 мл-де.

Суда бактерияның сандық есебі тазалығын анықтауға мүмкіндік береді.

Материал және құрал-жабдықтар

Микроскоп, стерильді МПА пробиркада, стерильді Петри шыны, стерильді пипеткалар 1 мл, 9 мл стерильді сумен пробиркалар, су моншасы, электр плитасы, термометр, су құбырынан алынған су (колбада немесе пробиркада), ашық су қоймасынан су, спиртовка, сірінке, стерильді шыны шпательдер, микробиологиялық петлялар, зат шынысы, бояулар, тушь.

Жұмыс барысы

Қатты коректік орта ретінде стерильді МПА колданылады ашық су құбырынан су алады, 5-10 мөлшерде және стерильді мақта тығшмен жабады. Су үлгілерін температурасы 4 жоғары болмауы және 3 сағ аспауы керек. Сандық есеп үшін зерттелетін суды (ластанған) ажыратады. Ажырату келесі түрде ажыратылады. 9 мл стерильді суға бірнеше пробирканы дайындайды. Пробиркаларды нөмірлейді. Стерильді пипеткамен 1 мл зерттелетін суды алады және №1 пробиркаға 9 мл стерильді су енгізеді, сонымен қатар тығынды және пробирканың аузын спирт жалынында күйдіреді (ажырату 1: 10).

Ауаны үрлеу жолымен суды араластырылғаннан кейін жаңа стерильді пипетка арқылы.

№ 1 пробиркадан 1 мл алады және № 2 пробиркаға енгізеді (ажырату 1 :100).

Суды араластырылғаннан кейін № 2-ші пробиркадан стерильді пипеткамен 1 мл алады.

№ 3-ші пробиркаға енгізеді (ажырату 1 : 1000) т.б.

1 Стерильді шыны Петриге су моншасында балқыған МПА коректік органы 10 мл мелшерде (2/3 пробиркалар), шыныны жабады және табақша суыту керек. Сосын соңғы ажыраған пробиркадан стерильді пипеткамен 0,2 мл су алады, шынының қақпағын ашады, табақшаның бетіне пипеткадан суды құяды және стерильді шыны шпательмен бет бойы тегістейді. Шыны жабады этикетка жапсырады. Су табақшаға сіну керек, сосын шышы температурасы 20-25 термостатқа қояды, қақпада су буы конденсацияланбау үшін түбімен жоғары қою керек.

2 Соңғы ажыраған пробиркадан 1 мл суды стерильді шыны Петри түбіне құяды және үстіне балқыған коректік органы құяды, температурасы 45 жоғары болмау керек. Шыныны жабады және коректік ортамен абайлап шайқайды шыны түбіне бірқалыпты.

3 Соңғы ажыраған пробиркадан 1 мл суды алады да және стерильді тегістелген органы пробиркаға енгізеді температурасы 45 жоғары болмауы керек. Пробирканы жауып тез араластырады, және стерильді Петри шыныға барша бетің түбі бойымен коректік органы тегістейді, табақша қатаю керек, шыныны этикеткамен таңбалайды және термостатқа қояды. Соңғы әдіс коректік орта мен су араластырудың ең қолайлысы. 3 рет қайталаудан кем болмау керек.

3-5 тәулік өткен соң Петри шышыларда колонияларды санайды және бактериялардың мөлшерін 1 мл суда (колонияның орта мөлшерін ажырауға көбейтеді).

Зерттеудің мәліметін таблица түрінде көрсетуге болады

Су көзі	1 мл микроорганизм мөлшері зерттеу
Қаланың аумағындағы көлдің суы	460000
Тоған суы	1350000

Зертханалық жұмыс №10 Тақырып: Ауаның микрофлорасы

Мақсаты: Студенттерді ауа жағдайларда тіршілік ететін микроорганизмдерді микроскопиялық зерттеу әдісімен таныстыру.

Қоршаған ауада көптеген сапрофитті және патогенді микроорганизмдер бар, оған шаңмен түседі, түшкіргенде, жөтелгенде, сөйлегенде бөлінеді.

Ауаның ластануын болжамды және салыстырмалы түрде анықтау үшін ең қарапайым седиментациялық әдіс, бір бірлік уақыт ішінде Петри шынының агар табақшасына түскен, онымен микроорганизмдердің жалпы санын есептейміз.

1 м ауада микроорганизмдердің ең нақты болуын аспирациондық әдіс арқылы аппарат Кротов көмегімен анықтаймыз.

Материал және құрал-жабдықтар

Стерильді Петри шығаулар, МПА пробиркада, су моншасы, тушь, электрплитасы, микроскоп.

Жұмыс барысы.

Стерилдікті сақтай отырып, қыздырған МПА Петри шыныларға құяды. Пробирканың аузын спирт жалынында күйдіреді, шыны қақпағын сәл ғана ашады, оған пробирканы енгізу үшін Петри шынысын устел бетінде айналдырып, агар бір шынының түбінде бірқалыпты таралады, бірқалыпты қатаю керек. Петри шынының қақпағында тушьпен тәжірибе нұсқасын, егу күнін көрсетеді. Петри шынысын жұқтыру үшін ашады, зерттелетін бөлмеде және далада 5-20 мин ластанған ауаға байланысты. Петри шынығаыц қақпасыға түсіреді, аудармай, жанына қояды.

Аппарат Кротов барда ашық Петри шынысын үстіңгі прибор дискісінде бекітеді, жеңіл сағаттың тілі бойынша қолмен айналдыруды байқайды және прибордың қақпағын жабады. Приборды тоққа қосады. Микрометрмен ауаны босату жылдамдығыға реттейді прибор арқылы әдетте 25л/мин. Ауаны сору уақыты 3-5 мин, шамамен 100 л ауа Петри шынысына.

Жұқтырылған Петри шыныларға термостатқа орналастырады температурасы 25-28, 2-3 тәуліктен соң Петри шынының агар табақшасында дамыған микроорганизмдер колониялардың санын есептейді. Седиментациялық әдіс кезінде тәжірибе нұсқаларын салыстыру үшін Петри шынының Ідм ауданында колониялар санын есептейді. Петри шынының диаметрін миллиметрлік қағазбен өлшейді ' және ауданын табады. Таблицада мүмкін болатыға тәжірибе нұсқаулары және нәтижелер көрсетілген. Кротов приборымен жұмыс істегенде тәжірибе нәтижелері микроорганизмдер санымен білдіріледі, 1м ауада.

Ауадан ең жиі микрококкалар колониясы, сарцин, кейбір бацилдер және бактериялар бөлінеді.

Нәтижелер таблицанда

Зерттелген бөлме	Экспозиция уақыты, мин	колониялар саны 1дм ² агар табақша	
		бактериялар	саңырауқұлақтар
Оқу лабораториясы	10	16,2	2,7
Дәріс аудиториясы	10	52,7	4,6
Оқу корпусының дәлізі	5	91,9	7,0
Киім ілінетін жер	5	141,2	12,4
Институт бақшасы	20	5,6	0
Институт ауласы	20	12,7	1,3

Тақырып: Микроорганизмдердің таза өсінділерін бөліп алу әдістері.

Мақсаты: Студенттерді микроорганизмдердің таза өсінділерін бөліп алу әдісімен таныстыру.

Жинақы дакыддар деп, бір топ немесе бір түр болатын микроағзалар.

Жинақы дақылдарды алу үшін микроағза тобы немесе түрі жақсы өсіп даму үшін және микробтар үшін қолайсыз элективтік жағдай жасайды.

Элективтік жағдайлар факторларыш тобыш карастырады, мәселен: микроағзалар керектік субстартта, оттегіге қатынасына, температурада, споралар түзілуінде және т.б. қажегсінеді.

Жинақы дақылдардан кейін негізінде таза микроағзалар дақылын ерекшелейді.

Материал мен құрал-жабдықтар:

Картоп түйіндері, құрғақ шөп, қайшы, Петри ыдысы, колбалар, бор, мақта, электр плиталары, фильтрлейтін қағаз.

Жұмыс барысы

Құрғақ шөп таяқшасын алу (*Bacillus subtilis*) 100-150 мл колбаларды кайнатады. Ол үшін 10-15 минут ішізде су қайнатады. Әр түрлі құрғақ шөпті ұсақтап 500 мл көлемді колбаға салып, оның төрттен бір бөлігіне толтырып, бор ұнтағын қосып, орта қою шай тусіне ие болғанша 15-20 минут қайнатады. Шөпті тұндырманы дайындалған колбаларға 1,0-1,5 қабатты етіп құяды. Содан макталы тығынмен жауып 22-25°C температурасында термостатка немесе орталық жылу беру радиатор маңында қояды.

Екі тәуліктен соң орта бетінде ақшыл қабықша *Bac. Subtilis* пайда болады. Ескеру кезінде 3-4 тәулікке сур -жасыл болады. Басқа микроағзалар бұнда аз және сирек өседі.

Қартоп таяқшасын алу (*Bacillus subtilis var mesentericus*)

Жуылған картоп туйнектерін тазаламай дөңгелектеп кеседі. Ортаны нейтрализациялау үшін олардың бетін бормен жағып, дистилденген суда малынған екі қабатты фильтрлейтін қағаздың үстіне Петри ыдысына орналастырады. Ыдыстағы картопты ортаны автокнафта 0,5 атм кезінде 10 минут ұстап, 27-30°C температурасы бар термостатқа 3-4 тәулікке қояды.

Картоп кесінділерінің бетінде бұдыр тығыз картоп таяқшасының қабықшасы пайда болады. Қабықша түсі әр түрлі болуы мүмкін: ақшыл сұр, қою сары, қара. Ол дақылдың әр түрлігіне байланысты.

Зертханалық жұмыс №12

Тақырып: Генетикалық зерттеу әдістері. Градиенттік таяқшалар арқылы бактериялардың антибиотиктерге сезімталдығын анықтау.

Мақсаты: Студенттерді градиенттік таяқшалар арқылы бактериялардың антибиотиктерге сезімталдығын анықтау таныстыру.

Құрылыстың ерекшеліктері мен даму циклінің күрделілігіне байланысты миксобактериялар сырғитын бактериялардың екінші тобына Мухобacteriales мен Cytophagales қатарының ішіне кіреді. Кәдімгі бактерияларға қарағанда миксобактериялардың қарапайымдылардың қабықшасына ұқсас жіңішке созылғып қабықшасы бар. Миксобактериялардың кебінде жекелеген ядро болады, басқаларында ядролық зат вегетативті жасушалардың микроцисталар кезеңіне өткен кезде оқшауланады. Микроцисталар вегетативті жасушаларына айналғанда ядролық зат қайтадан цитоплазманың ішінде диффузды орналасады. Миксобактерияларда талшықтары жоқ. Олар денесін жасушалар бөлетін шырынды заттың ішінде белсенді бұту арқылы қозғалады.

Миксобактериялар тартылу пайда болу жолымен бөліну арқылы кебейеді.

Миксобактериялар даму цикльғада бірнеше кезендерден етеді. жас культурада миксобактериялар ұштары сүйірленген, ұршық пішіндес таяқша тәріздес болады. Жасушалар интенсивті бөлініп, кеп шырынды бөледі. Оның ішінде олар тіршілік етіп, субстратта белсенді қозғалады. Миксобактерияның бұл даму сатысы псевдоплазмодия деп аталады, 1-7 тәліккесозылады.

Қартайған сайын миксобактериялар қысқарып, жұмырланады да микроцисталарға айналады. Микроцисталар ортақ шырынды қабықшамен жамылып, цисталарға айналады. Цисталардың жиіше жеміс денесін түзейді. Жеміс денелер жұмыртқа, саңырауқұлақ, пирамида, ағаш пішінді болады. Миксобактериялардың кейбір түрлерінде жемісті дене құрғап қалған шырығанан тұратын аяқта қалыптасады. Жеміс денелердің мелшері 0,2-1,7 мм құрайды. Жеміс денелер түссіз немесе сарғыш және күлгін түстерге боялған. Миксобактериялардың көбі жеміс денелерді түзе алады. Бірақ кейбіреулері жеміс дене, цисталар және микроцисталарды түзбейді. Оларды жетілмеген миксобактериялар деп атайды.

Жеміс денелер мен цисталар піскен кезде микроцисталар қайтадан вегетативті таяқша тәрізді жасушаларға айналады.

Миксобактериялар топырақта, көнде, илде және қарапгіріндіге мол ыдырап жатқан материалдарда кездеседі. Олардың көбі целлюлоза мен хитинді ыдыратады. Миксобактериялардың көбі - тек аэробтылар, коректену типі - гетеротрофтылар, негізінде сапрофиттер. Жеміс денелерді түзе алатын миксобактериялардың типті өкілдері *Poliangium*, *Mухосoccus*, *Archangium* бактериялар болып табылады.

Жасушаның пішіні, сырғау қозғалысы және целлюлозаны ыдырау қасиетімен миксобактериялар мен целлюлозаны ыдырататын бактериялардың екі тұқымдасы - *Cytophaga* мен *Sporocytophaga* жатады. Бірақ осы целлюлозаны ыдырататын бактериялар жеміс денелерді түзбейді. *Sporocytophaga* бактериялардың вегетативті жасушалары қартайғанда, жұмырлануға және микроцисталар кезеңіне өтуге қабілетті. *Cytophaga* бактериялары микроцисталарды түзбейді.

Материалдар және құрал-жабдықтар

Петри шынылары, қоянның жаңа қиы, пинцет, стерильді дистилденген суы бар колба, пипетка, жабынды шыны, спирт шамы, микробиологиялық ілмек, тегіс жиекті пробирка, фуксин немесе генцианвиолеттің судағы 1%-ті ерітіндісі, микроскоп, кең ағары.

Жұмыс барысы

Миксобактериялардың жинақтағыш культурасын алу үшін көң ағарының пластинкаларын қолданады.

Көң ағарын дайындау. Қоянның жаңа қиының ЮОг-ын құбырының 1л суында қайнатып, жақта фильтрі арқылы сүзеді. Фильтратқа 5г крахмал және 20 г ағар қосылады. Органы ағардың еруіне дейін пісіреді де, пробиркаларға құйып, 1 атм қысымда 30 мин. автоклавада стерильдейді.

Стерильдігін сақтап, жылытылған көң ағарын Петри шыныларға құйып, пластинкалардың суып қатқанын тосады. Ылғалдандырылған қоянның жаңа қиының бөліктерін жіңішке ұштары бар пинцетпен қоректік ортаның пластинкаларына салады. Себілген Петри шыныларын 25-28°C температурасында термостатқа қояды. жаңа қиының түйірлерін Петри шыныларда стерильді дистилденген сумен ылғалдандырып, үнемі ылғалды жағдайда ұстау керек. Ылғал жетіспегенде жаңа қиының түйірлерінде зең саңырауқұлақтары дамиды. 10-14 тәуліктен кейін қиының түйірлерінде миксобактериялардың жеміс денелері түзіледі Олар кебінесе сары, ашық қызыл түске боялған. Миксобактериялардың әсу сипатын зерттеу үшін, тегіс жиекті пробиркамен қиының түйірлерімен ағарланған ортадан бөліктерді ойып кеседі де, жабын шынысына салып микроскоптың аз үлкейтуде микроскоптайды.

Миксобактериялардың топтарының шырынды салмағынан мазоктарды дайындап, оларды бояп, МИ-90 объективті қодданып микроскоптайды. Препаратгарда ұзыш таяқша тәрізді шық

пішінді жасушалар мен көптеген жұмыр микроцисталар көрінеді.

Зертханалық жұмыс №15

Тақырып: Преципитация реакциясы (ПР) және КБР

Мақсаты: Студенттерді преципитация реакциясы (ПР) және КБР таңыстыру.

Материал және құрал-жабдықтар

Көң тұнбасы, фуксин, эммерсион майы, микроскоп, зат және жамылғы шынысы, пересев үшін инелер мен петли, препараталды инелер, шыны таяқшалар, тіс тазалығыш немесе сіріңкелер, спиртовка, окуляр-микрометрі, объектив-микрометрі, затты шыныларға арналған штативтер.

Негізгі мағлұмат

Ирек-ирек пішінді бактериялар үш топқа бөлінеді: вибриондар, спирилдер және спирохеттер. Барлығы да қозғалмалы келеді.

Вибриондар-қозғалыс кезінде пішіні майыспайды; жасуша өзін спиралдың бір ирек белігін көрсетеді, пішінімен үтірге ұқсайды.

Спирилдер - қозғалыс кезінде пішіні майыспайды; жасушада бір немесе көп спираль ирекері болады. Осы бактериялардың қозғалысқа бейімделігі талшықтар арқылы болады. Қозғалыс сипатының қозғалысы бактериясының денесінде талшықтың жағдайына байланысты.

Спирилдерде пурпурлы фототрофты *Rhodospirillum rubrum* жатады. Бұл түр полярлы талшықтармен сонымен қатар хроматофорада пурпур пигменті родопсин және бактериохлорофилдер. Бірақ та микроскопен қарағанда тірі қалпындағы жалғыз жасушалы *Rhodospirillum rubrum* сұр боп көрінеді де ,тек қана көп мөлшерде бактериялық жасушалар жиналғанда дақыл сұйықтығы пурпур туске боялады.

Спирохеттер-өте ұсақ ирек-ирек пішінді қозғалыс кезінде майысады. Прокариотты бір жасушалы организмдердің ерекше тобы. Басқа бактерияларға қарағанда жасуша қабықшасына шар ригидті, сондықтан спирохеттердің денесі қозғалыс кезінде жылан сияқты бүктенеді. Жасушаның ішкі құрылымында спирохеттерде айырмашылық белгісі; мысалы, аксимальді цитоплазмалық жіпшенің болуы, бактерияның бүкіл денесі бойында орналасқан.

Спирохеттер адамға қауіпсіз, мысалы, ауыз қуысында және патогенді, олар топырақта, су қоймасында және адам, жануар ағзасында тіршілік етеді.

Тіс шабуылының микроскопиялық зерттеу

Зат шынысына бір тамшы су алады, сосын сіріңкемен немесе тіс тазалығышпен кішкене тіс шабуылын алады да сумей араластырады, шатпақты дайындайды, бекітеді және фуксинмен бояйды. Шайылған және кептірілген препаратты иммерсионды объективпен қарайды. Препаратта әр түрлі пішінді бактерияларды көреміз. *Vac.maximus buccalis*, *Shirochaeta buccalis*, *S.dentum*, *Vibrio buccalis*, *Streptococcus albus* және басқа кейде кездейсоқ түрлері.

Vac.maximus Бассайз-аэроб. ұзынша пішінді жуан жіпшелер. Колонияға сары, боз-сары немесе алтын түс береді.

Spirochaeta buccalis-аэроб, жасушалар ұзын, ірі спиральді бүралған жіпшелер түрі болады.

S.dentum-ол да спиральді бүралған жіп, бірақ та *S.buccalis*-ке қарағанда жіңішкеу.

Көң тұнбаның микроскопиялық зерттеу

Зат шынысына бір тамшы көң тұнбаны салады, шынымен жауып тірі қалпында микроскоптың үлкен үлкейтумен қараймыз.

Препаратта әр түрлі пішінді бактериялар кереміз (вибриондар, спирилдер, спирохеттер). Бактерияның қозғалысын анық көреміз, егер салбыраған тамшысында қарасақ.