

: MIKROORGANIZM KOLONIYALARINI YOPPASIGA EKISH USLUBLARINI O'RGANISH

MIKROORGANIZMLARNI EKISH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: Mikroorganizmlarni oziqa muhitiga ekish usullari va texnikasi bilan tanishadilar. Har bir talaba mikrobiologik sirtmoq bilan go'sht-pepton qaynatmasi, go'sht-pepton agari, kartoshka, CHapeka agari solingan probirkalarga va Petri likobchalariga mikroorganizmlarni ekib sof kultura ajratishni o'rganadilar. Mikroorganizmlarni o'stirish uchun qo'yiladigan termostat bilan tanishadilar.

Kerakli asbob va reaktivlar: Mikroorganizmlar ekilgan probirkalar (*Bacillus subtilis*, *Bacterium coli*, *Sarcina flava*). Go'sht-pepton qaynatmasi, go'sht-pepton agari, kartoshkali agar, CHapeka oziqasi solingan probirkalar va Petri likobchalar. Mikrobiologik sirtmoq. Sterillangan Paster naychalari. Spirt lampasi, gugurt. Termostat.

Mikroorganizm koloniyalarini yoppasiga ekish usullari.

Ko'p tajribalarni bajarish uchun katta miqdordagi koloniyalarni har xil selektiv muhitlarga ekish zarurati tug'iladi. Bu ko'p mehnat talab qiladigan ishlarni bajarishda odatda nusxa olish texnikasi qo'llaniladi. Bunda dastlabki Petri likobchasidagi boshlang'ich materiallarning koloniyalarini bir yo'lda bir nechta selektiv muhitli likobchalarga ekish mumkin. Tajriba sharoitlaridan kelib chiqqan holda (dastlabki likobchadagi koloniyalar soniga, koloniyalar qayta ekiladigan selektiv muhit miqdoriga va olinadigan natijalarning aniqligiga) nusxa olishning turli usullari qo'llaniladi. Agarda ko'p sonli koloniyalarni nisbatan kamroq sonli selektiv muhitlarga (bitta, ikkita yoki uchta) qayta ekish kerak bo'lganda, odatda baxmal yoki filtr qog'ozli nusxa oluvchi moslamalar ishlatiladi. Noselektiv muhitda o'sgan koloniyalar (agarli) xuddi shunday muhitli likobchalarga (kontrol) va selektiv muhitlarga muhrlanadi. Ammo mikroorganizmlar koloniyalari shu tariqa qayta ekilganda aniq natija bermaydi, bu dastlabki likobchadan selektiv muhitga nihoyatda ko'p miqdordagi yoki shuningdek bir xil hujayra koloniyalarining ko'p marta takrorlanishiga bog'liq (natijada muxrlangan mikroorganizmlar muhitda sust o'sishi, bulardan yakka hujayr koloniyalarining shakllantirish qobiliyatini pasayishi yoki alohida hujayra revertantlaridan koloniyalarning o'sishi). Koloniyalardan baxmal yoki filtr qog'oz bilan nusxa olishda hamma nusxalar baxmal yoki filtr qog'ozdagi nusxadan olinadi va replikatsiyalanuvchi likobchalar sonining oshishi bilan o'tkazilayotgan hujayralar soni kamayadi. Baxmalni yuvib va sterillab ko'p marta ishlatish mumkin. Baxmal filtr qog'ozi o'ralib avtoklavda sterillanadi.

Klonlarning replikatsiyasida ninali nusxa ko'chiruvchilardan foydalanilganda aniq natijalar olishga erishish mumkin. Nusxa ko'chiruvchi materiallardan nusxalarni agarli muhit yuzasidan boshlang'ich likobchalar, matritsalarining metal

plastinkalari chuqurchalaridagi suspenziyalardan olish mumkin. Birinchi holda test klonlari ma'lum tartibda boshlang'ich likobchalarga ekiladi. Boshlang'ich likobchalarni belgilashda ishlatiladigan shablon qalinligi 5-6 mm li plastmassa, metall, faner yoki kartondan iborat plastinka bo'lib, Petri likobchasi o'lchamida, 2-3 mm qalinlikda bo'ladi. Plastinkalarda chuqurchalar o'yilgan bo'lib, ular nusxa ko'chiruvchi moslama ninalariga mos joylashgan. SHablon bo'lmagan taqdirda belgilangan qog'oz varag'idan foydalanish mumkin. Dastlabki likobchalarni ninali nusxa oluvchining o'zi bilan ham belgilash mumkin, buning uchun ehtiyotlik bilan nusxa ko'chiruvchi moslama ninalari muhit yuzasiga belgilarini qoldiradigan darajada tegiladi. Boshlang'ich likobchaga shablon bo'yicha steril gugurt cho'pi yoki qog'oz lentalar ekish qulaydir. Boshlang'ich likobchalar bakteriyaning o'sishi ko'ringuncha termostatga qo'yiladi (6-18 soat o'sish sharoitiga bog'liq holda).

Dastlabki likobchaga mikroorganizmlar klonlarini temir nusxa ko'chiruvchi yordamida ekilganda dastlabki likobcha yuzasidan behisob selektiv muhitlarga ekish mumkin. Turli selektiv muhitlarga ekiladigan hujayralarning miqdoridagi farqni kamaytirish uchun yana boshlang'ich likobchadan nusxa olinadi va har bir selektiv muhitga yoki ikki-uch likobchaga ekish mumkin. Agardagi klonlardan selektiv likobchalarga nusxa olishda ko'p miqdorda hujayra o'tadi, xuddi baxmal yoki qog'oz filtr ishlatilganidek.

Matritsalaridan selektiv likobchalarga qayta ekiladigan hujayralar sonini kamaytirish uchun, agarda o'sayotgan koloniyalardan emas balki hujayralar suspenziyasidan olish kerak. Buning uchun chuqurchali metal plastinka matritsasidan foydalaniladi. CHuqurchalarning joylashishi nusxa ko'chiruvchi moslama ninalarining joylashishiga mos keladi. CHuqurchalarga 2-3 tomchi fiziologik eritma tomiziladi. Har bir chuqurchada alohida koloniyalar suspenziyasi tayyorlanadi. Bakterial hujayralarni aralashtirish va ekish uchun gugurt cho'plarida yoki steril qog'oz lentalaridan foydalanish mumkin.

Ba'zida replikatsiyalash o'rniga har bir tahlil qilinuvchi koloniyalar selektiv muhitlarga alohida-alohida ekiladi. Ko'p bo'lmagan miqdordagi selektiv muhitlarga, har bir klonning kam miqdordagi hujayralarini qayta ekish zarur bo'lgan hollarda yuqoridagi usul ishlatiladi. Boshlang'ich koloniyalarni qayta ekishda uchi uchli qir qilgan qattiq steril qog'ozlardan foydalanilsa, bu kam miqdordagi hujayralarni ko'chirish va zich ekilgan likobchalardan mayda koloniyalarni qayta ekish imkoniyatini beradi.

Mikroorganizmlarni o'stirish uchun sterillangan oziqa muhitlari tayyorlanadi. Tarkibida mikroorganizmlar bo'lgan materialni (tuproq, suv, oziq-ovqat) sterillangan oziqa muhiti yuzasiga tushirish *ekish* deyiladi. O'stirilgan mikroorganizmlarni oziqa muhiti solingan bir probirka, kolba yoki Petri likobchasiga ekish *qayta ekish* deyiladi. Mikrobiologik sirtmoq mikroorganizmlarni ekish uchun eng qulay asbob hisoblanadi. Bundan tashqari, sanchib ekish uchun maxsus mikrobiologik nina, Petri likobchasiga ekish uchun - metallardan yoki shishadan tayyorlangan shpatellar qo'llaniladi. Suyuq oziqa muhitlarga ekish uchun sirtmoqlar bilan bir qatorda turli xil pipetkalar ishlatiladi. Pipetkalarining ikkinchi,

ya'ni keng tomoni paxta bilan berkitiladi, so'ngra ular maxsus idishga joylashtiriladi yoki qog'oz bilan o'ralib sterillanadi. Mikroorganizmlarni oziqa muhitiga ekkanda havodan yoki tevarak-atrofdagi narsalardan yot mikroblarning tushishiga yo'l qo'ymaslik uchun quyidagi ishlar amalga oshiriladi:

- Spirt lampasi yoqiladi;
- CHap qo'lga ikkita - birinchisi, unib chiqqan va qayta ekiladigan mikroorganizmlar, ikkinchisi, sterillangan oziqa muhiti solingan probirkalar olinadi. Mikroorganizmlar unib chiqqan probirkadan ikkinchi probirkaga mikroorganizmlar olib ekiladi. Probirkalar gorizontal ushlanadi.
- Mikrobiologik sirtmoq tikka ushlanib, spirt lampasining alangasida qizarguncha qizdiriladi. So'ng sirtmoq alanga ustidan yotiq holda o'tkaziladi, sirtmoqning simigina emas, dastasini ham mikroorganizmlar nobud bo'lishi uchun alangadan o'tkazish kerak.
- Ikkala paxta probka o'ng qo'lning kichik barmog'i bilan kafti orasida ushlanib, probirkalar ochiladi.
- Ikkala probirkaning chetlari spirt lampasining alangasiga tutib qizdiriladi.
- Sirtmoq mikroorganizmli probirkaga tiqilib, avval mikroorganizmsiz joyiga tegiziladi, bundan maqsad, sirtmoqning haddan tashqari qizib ketmaganligini tekshirib ko'rishdir, so'ngra sirtmoq bilan mikroorganizmlar yoki mikroorganizmlar aralashgan suyuqlikdan bir oz olinadi, bunda sirtmoqni probirkaning devorlariga tekkizmasdan yangi sterillangan oziq muhiti ustiga surkaladi yoki oziqa muhiti suyuq bo'lsa, suyuqlikka botirib olinadi.