

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԹՈՉՈՒՆՅԱՆ Ա. Հ., ՓԱՆՈՍՅԱՆ Հ. Հ., ԲԱԶՈՒԿՅԱՆ Ի. Լ.,
ՄԱՐԳԱՐՅԱՆ Ա. Ա., ՊՈՊՈՎ ՅՈՒ. Գ.

**ՄԱՆՐԷԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ
ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ
ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐ**

ՈՒՍՈՒՄՆԱՄԵԹՈՂԱԿԱՆ ՉԵՌՆԱՐԿ

ԵՐԵՎԱՆ
ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
2014

ՀՏԴ 579(07)

ԳՄԴ 52.64 ց7

Մ 725

Գրախոսներ՝

Վ. Ա. Շեկոյան

Մ. Հերացու անվան ԵՊԲՀ-ի բժշկական մանրէաբանության ամբիոնի վարիչ, ՀՀ գիտության վաստակավոր գործիչ, բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր

Կ. Օ. Հովնանյան

Հայաստանի էլեկտրոնային մանրադիտակման ընկերության նախագահ, ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի էլեկտրոնային մանրադիտակման լաբորատորիայի վարիչ, կենսաբանական գիտությունների դոկտոր

Մ 725 Մանրէաբանության լաբորատոր աշխատանքների ուսումնամեթոդական ձեռնարկ/ Ա. Հ. Թռչունյան, Հ. Հ. Փանոսյան, Ի. Լ. Բազումյան, Ա. Ա. Մարգարյան, Յու. Գ. Պոպով.- Եր.: ԵՊՀ հրատ., 2014.- 316 էջ:

Մանրէաբանության լաբորատոր աշխատանքների ուսումնամեթոդական ձեռնարկը ընդգրկում է մանրէաբանության հիմնական օբյեկտների և դրանց ուսումնասիրման մեթոդների մասին համապարփակ տեղեկություններ: Ձեռնարկում շարադրված են մանրադիտակային պատրաստուկների պատրաստման և մանրադիտակման, սննդամիջավայրերի պատրաստման, լաբորատոր գործիքների և ապակեղենի նախապատրաստման և մանրէազերծման, մանրէների աճեցման, մաքուր կուլտուրաների մեկուսացման և դրանց ձևաբանական, ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական առանձնահատկությունների ուսումնասիրության մեթոդներ: Առանձին բաժիններ են նվիրված օդի, ջրի և հողի միկրոբիոտայի ուսումնասիրությանն ու մանրէների քանակական վերլուծությանը:

Ձեռնարկը ներառում է նաև ինքնուրույն աշխատանքների կատարման առաջադրանքներ, թեստային հարցեր, ինչպես նաև մի շարք սննդամիջավայրերի, ներկանյութերի և ռեակտիվների բաղադրակազմն ու մանրէների մանրադիտակային պատկերներն ընդգրկող հավելվածներ:

Ձեռնարկը նախատեսված է բուհերի «Կենսաբանություն», «Կենսաքիմիա», «Կենսաֆիզիկա», «Կենսաինֆորմատիկա», «Դեղագործական քիմիա» և այլ մասնագիտություններով սովորող ուսանողների համար:

ՀՏԴ 579(07)

ԳՄԴ 52.64 ց7

ISBN 978-5-8084-1904-9

© ԵՊՀ հրատ., 2014

© Հեղ. խումբ, 2014

ՄԱՍ ԱՌԱՋԻՆ

ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՀԱՄԱՌՈՏ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ ԵՎ ՄԱՆՐԷԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

ԳԼՈՒԽ 1 : ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՀԱՄԱՌՈՏ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Մանրէներն անգեն աչքով անտեսանելի էակներ են: Կենդանի օրգանիզմների ֆիլոգենետիկական, նյութափոխանակային և էկոլոգիական կենսաբազմազանության ավելի քան 90%-ը բաժին է ընկնում միկրոաշխարհին, որն ընդգրկում է բոլոր պրոկարիոտները և որոշ էուկարիոտային օրգանիզմները:

Պրոկարիոտները, որոնք ներկայացված են բակտերիաներով և արքեաներով, մեր մոլորակի հնագույն և ամենատարածված բնակիչներն են: Գրեթե բոլոր պրոկարիոտները միաբջիջ են, որոնց չափերը տատանվում են 0.2-10 մկմ-ի սահմաններում: Դրանց շարքում կան «թգուկներ», օրինակ՝ բջջի 0.05 մկմ տրամագծով միկոպլազմաները և մանոարքեաները, և «հսկաներ», որոնք տեսանելի են մույնիսկ անգեն աչքով, օրինակ՝ *Thiomargarita namibiensis*-ը (երկարությունը 0.75 մմ է): Տարբերում են պրոկարիոտային բջջի երեք հիմնական ձևեր՝ գնդաձև, ձողաձև և պարուրաձև: Հայտնաբերված են նաև խորանարդաձև, եռանկյան կամ քառանկյան ձև ունեցող, աստղաձև, տափակ և մույնիսկ տձև պրոկարիոտային բջիջներ: Դրանք տարածության մեջ կարող են դասավորվել մեկական, երկուական, կարճ և երկար կանոնավոր շղթաներով կամ անկանոն կույտերով: Ակտինոմիցետները առաջացնում են սնկամարմին հիշեցնող թելիկներ: Հայտնի են նաև «բազմաբջիջ» պրոկարիոտներ, որոնք առաջացնում են ուղիղ և ճյուղավորված թելաձև կառուցվածքներ՝ տրիխոմներ:

Պրոկարիոտների գերակշիռ մեծամասնությունը ունի ամուր բջջապատ, որը շրջապատում է պլազմային թաղանթը: Բակտերիաների բջջապատի կառուցվածքային առանձնահատկությունները ունեն կարևոր կարգաբանական նշանակություն: Տարբերում են գրամդրական, գրամբացասական և բջջապատից զուրկ բակտերիաներ:

Գրամդրական բակտերիաները տարբերվում են գրամբացասականներից բջջապատում մեծ քանակությամբ մուրեխի պարունակությամբ և արտաքին թաղանթի բացակայությամբ: Արքեաները, որոնք ունեն բջջապատ, իրենց կառուցվածքում մուրեխն չեն պարունակում: Դրանցում բջջապատի հիմնականախառնը պսևորմուրեխային է, իսկ որոշ արքեաների բջջապատն ունի սպիտակուցային կառուցվածք:

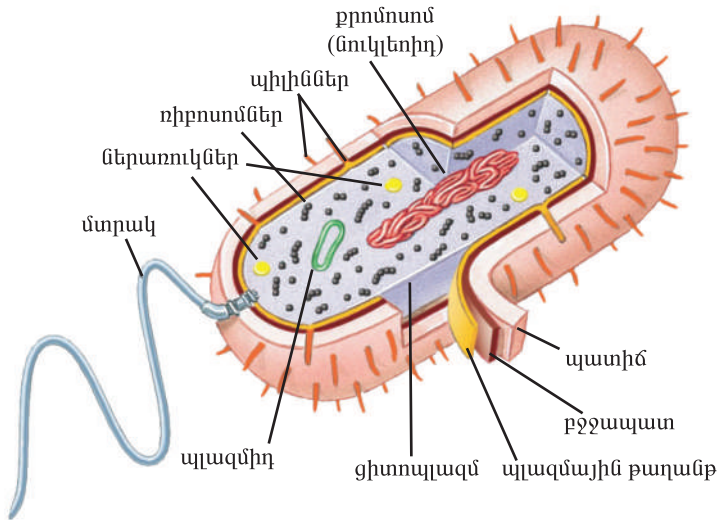
Բակտերիաների շատ տեսակներ բջջի մակերեսին ունեն թափիչներ (ֆիմբրիաներ և պիլիններ), իսկ շարժուն ձևերի մեծամասնությունը՝ նաև մտրակներ: Բազմաթիվ պրոկարիոտային բջիջներ շրջապատված են տարբեր հաստությամբ պոլիսախարիդային, երբեմն գլիկոպրոտեիդային կամ պոլիպեպտիդային բնույթ ունեցող լորձային պատիճներով:

Պրոկարիոտները բնորոշվում են համեմատաբար պարզ ներբջջային կառուցվածքով և գուրկ են թաղանթային ծագման օրգանոիդներից: Որոշ պրոկարիոտներ ցիտոպլազմային թաղանթի ներփքման հետևանքով առաջացնում են ներբջջային թաղանթային բշտիկներ: Ներբջջային թաղանթային ալդալիսի գոյացությունները հատկապես լավ ձևավորված են ֆոտոտրոֆ, միտրիֆիկացնող և մեթանը օքսիդացնող բակտերիաներում: Որոշ ջրային կենսակերպ վարող բակտերիաների բջիջներում առաջանում են սպիտակուցային թաղանթով պատված գազային վակուոլներ՝ աերոսոմներ: Պրոկարիոտների բազմաթիվ տեսակներ ցիտոպլազմում ներառուկների ձևով պարունակում են պաշարանյութեր՝ պոլիսախարիդներ, լիպիդներ, պոլի-β-օքսիկարագաթթու, պոլիֆոսֆատներ, ծծումբ: Էնդոսպոր առաջացնող բակտերիաների առանձին տեսակներ առաջացնում են սպիտակուցային բնույթի հարսպորային մարմնիկներ:

Պրոկարիոտների ժառանգակիր նյութը հիմնականում ներկայացված է մեկ օղակաձև ԴՆԹ-ով: Այն համապատասխանում է մեկ քրոմոսոմի (հապլոիդ հավաքակազմ է) և հաճախ կոչվում է նուկլեոիդ:

Պրոկարիոտների շարքում կան ինչպես շարժուն, այնպես էլ անշարժ տեսակներ: Ընդհանուր առմամբ պրոկարիոտների շարժումն իրականանում է մտրակների շնորհիվ, իսկ որոշ բջիջների շարժումն իրականանում է սահելու միջոցով: Մտրակների թիվը և դասավորությունը բջջի մակերեսին ունի կարգաբանական նշանակություն: Պրոկարիոտային բջջի կառուցվածքի մոդելը բերված է նկար 1-ում:

Շարժուն բակտերիաներն ունակ են իրականացնելու տարբեր՝ աերո-, ֆոտո-, քեմո- և մագնիտա-տաքսիսներ:



Նկար 1. Պրոկարիոտային բջջի կառուցվածքի մոդելը:

Բակտերիաների մեծամասնությունը հիմնականում բազմանում է երկակի կիսմամբ, հազվադեպ՝ բողբոջմամբ, իսկ ուրիշները, օրինակ՝ ակտինոմիցետները, էկզոսպորներով կամ միցելիումի հատվածավորմամբ: Յիամաբակտերիաներին բնորոշ է մասն բազմակի կիսմամբ բազմացումը: Բազմաբջիջ պրոկարիոտները կարող են բազմանալ տրիխոմից մեկ կամ մի քանի բջիջների անջատման հետևանքով:

Որոշ պրոկարիոտներ ունեն զարգացման բարդ կենսաշրջան, որի ընթացքում կարող է փոխվել բջջի ձևը կամ առաջանալ «հանգըստացող» ձևեր՝ ցիստեր, էնդոսպորներ կամ ակիներներ:

Բակտերիաները բնութագրվում են արագ բազմացման ունակությամբ: Բազմացման արագ տեմպերով օժտված են ֆոտոբակտերիաները, որոնց կիսումների միջև ընկած ժամանակը 8 ժամ է: Հաշվարկված է, որ անընդհատ աճի դեպքում աղիքային ցուպիկի՝ *Escherichia coli*-ի (կիսումների միջև ընկած ժամանակը 20 ժամ է) մեկ բջջի սերունդը 48 ժամ հետո կարող է առաջացնել Երկրի զանգվածը 150 անգամ գերազանցող կենսազանգված:

Մանրէների նյութափոխանակային գործընթացները բազմազան են: Տարբերում են ավտոտրոֆ (ինքնաստուն) մանրէներ, որոնք բջջային միացությունների կենսասինթեզը ամբողջությամբ իրակա-

նացնում են CO₂-ի կամ այլ միաձխածնային միացությունների հաշվին, և հետերոտրոֆ (տարասուն), որոնք որպես ածխածնի աղբյուր օգտագործում են պատրաստի օրգանական միացությունները: Հետերոտրոֆ մանրէները հիմնականում սապրոֆիտներ են, որոնք օգտագործում են այլ օրգանիզմների մահացման կամ կենսագործունեության ընթացքում առաջացած արգասիքային օրգանական միացությունները: Հետերոտրոֆ մանրէների շարքին են պատկանում նաև օբլիգատ (պարտադիր կամ անպայման) մակաբույծները (պարատրոֆները), որոնք օգտագործում են տեր օրգանիզմի սինթեզած բարդ օրգանական միացությունները, և հետևաբար, ամբողջությամբ կախված են տեր օրգանիզմի նյութափոխանակությունից:

Մանրէները ունակ են յուրացնելու ազոտի տարբեր միացություններ: Մանրէների մենամասնությունը յուրացնում են ազոտի ինչպես վերականգնված անօրգանական (օրինակ՝ ամոնիումի աղերը), այնպես էլ օրգանական միացությունները (օրինակ՝ ամինաթթուները, միզանյութը), իսկ որոշները՝ ազոտի օքսիդացված միացությունները (օրինակ՝ նիտրատները, նիտրիտները): Դիազոտրոֆները (ազոտ ֆիքսողները), որոնք ներառում են ինչպես ազատ ապրող, այնպես էլ այլ օրգանիզմների հետ սիմբիոզ առաջացնող պրոկարիոտները, ունակ են որպես ազոտի աղբյուր յուրացնել մոլեկուլային ազոտը:

Նուկլեինաթթուների և բջջի այլ կառուցվածքների կազմի մեջ մտնող ֆոսֆորը մանրէները հիմնականում ստանում են ֆոսֆատներից:

Ամինաթթուների և որոշ կոֆակտորների կենսասինթեզի համար անհրաժեշտ ծծմբի աղբյուր են սուլֆատները: Մանրէները, որոնք օժտված չեն սուլֆատը վերականգնելու ունակությամբ, յուրացնում են միայն ծծմբի վերականգնված միացությունները:

Մանրէները կենսագործունեության համար անհրաժեշտ էներգիան ստանում են խմորման, շնչառության (աերոբ կամ օդակյաց և անաերոբ կամ անօդակյաց) կամ ֆոտոսինթեզի գործընթացներում:

Մանրէներում էներգիական փոխանակության գործընթացները բազմազան են: Ըստ էլեկտրոնային դոնորի, էներգիայի և ածխածնի աղբյուրի մանրէների էներգիական փոխանակության հիմնական ձևերը ամփոփված են աղյուսակ 1-ում:

Աղյուսակ 1.

Մանրէների էներգիական փոխանակության շղերի բազմազանությունը

Էներգիայի աղբյուր	Էլեկտրոնների դոնոր	Ածխածնի աղբյուր	
		Օրգանական միացություններ	CO ₂
Լույս	Օրգանական միացություններ	Ֆոտոօրգանահետերոտրոֆիա	Ֆոտոօրգանաավտոտրոֆիա
Լույս	Անօրգանական միացություններ	Ֆոտոլիթոհետերոտրոֆիա	Ֆոտոլիթոավտոտրոֆիա
Օրգանական միացություններ	Օրգանական միացություններ	Քեմոօրգանահետերոտրոֆիա	Քեմոօրգանաավտոտրոֆիա
Անօրգանական միացություններ	Անօրգանական միացություններ	Քեմոլիթոհետերոտրոֆիա	Քեմոլիթոավտոտրոֆիա

Էուկարիոտ մանրէները ներկայացված են նախակենդանիներով և սնկերի ու ջիրիմուռների բազմաթիվ ներկայացուցիչներով: Էուկարիոտային բջջի կառուցվածքի մոդելը բերված է նկար 2-ում:

Նախակենդանիները՝ սարկոմաստիգոֆորաները (*Sarcomastigophora*), սպորավորները (*Sporozoa*), կնիդոսպորավորները (*Cnidosporidia*), միկրոսպորավորները (*Microsporidia*) և թարթչավորները (*Ciliophora*) լայնորեն տարածված են բնության մեջ և կազմում են միաբջջի հետերոտրոֆ (քեմոօրգանահետերոտրոֆ) մանրէների մեծ խումբ: Չուրկ են բջջապատից (որոշ ներկայացուցիչներ ունեն խեցի) և սննդանյութերը կլանում են (աբսորբում են) բջջաթաղանթով կամ էնդոցիտոզով: Բազմացումը իրականանում է սեռական և անսեռ եղանակներով, երբեմն վերարտադրության երկու եղանակները հերթազալում են օրգանիզմի զարգացման կենսաշրջանում:



Սնկերը հետերոտրոֆ (քեմոօրգանահետերոտրոֆ) մանրէների մեծ խումբ են կազմում և լայնորեն տարածված են բնության մեջ: Սնկերի մեծամասնությունը սապրոֆիտներ են, ներառում են նաև մակաբույծ տեսակներ: Գրեթե բոլոր սնկերին բնորոշ է միցելիումի առաջացումը: Սնկերի սեռական և անսեռ բազմացման առանձնահատկությունները, սեռական բազմացման ընթացքում սպորների առաջացման ձևը, բջջապատի պոլիսախարիդային կազմը, լիզինի կենսասինթեզի ուղիները, ինչպես նաև զարգացման կենսաաշրջանում շարժում ձևերի մտրակների թվաքանակը, կառուցվածքը և դասավորությունը ունեն կարգաբանական նշանակություն: Մանրէաբանության ուսումնասիրության օբյեկտներ են սնկանման օրգանիզմների՝ լաբիրինթոլոմիցետների (*Labyrinthulomycota*), հիֆոխիտրիդիոմիցետների (*Hyphochytridiomycota*) և օօմիցետների (*Oomycota*) և իսկական սնկերի՝ խիտրիդիոմիցետների (*Chytridiomycota*), զիզոմիցետների (*Zygomycota*), ասկոմիցետների (*Ascomycota*), բազիդիոմիցետների (*Basidiomycota*) և դեյտերոմիցետների (*Deuteromycota*) բազմաթիվ ներկայացուցիչները:

Ջրիմուռները ֆոտոտրոֆ (ֆոտոլիթոավտոտրոֆ) օրգանիզմներ են, պարունակում են կարոտինոիդներ և քլորոֆիլ *a*, ուրիշները՝ նաև քլորոֆիլ *b* և/կամ *c* և ֆիկոբիլիններ: Գունանյութերի կազմով պայմանավորված է ջրիմուռների գույնը: Ջրիմուռների բջիջներում կարող են կուտակվել մի շարք պաշարանյութեր՝ օսլա, պարամիլոն, լամինարին: Ջրիմուռները դասակարգվում են ըստ ձևաբանական կառուցվածքի, շարժունակության, գունանյութերի կազմի, պաշարանյութերի բնույթի, բջջապատի բաղադրության: Դրանք բաժանվում են մի շարք խմբերի, որոնցից մանրէաբանության ուսումնասիրման օբյեկտներն են կանաչ (*Chlorophyta*), օքրոֆիտային (*Ochromophyta*), հապտոֆիտային (*Haptophyta*), կրիպտոֆիտային (*Cryptophyta*), դինոֆիտային (*Dinophyta*), էվգլենային (*Euglenophyta*) և կարմիր (*Rhodophyta*) ջրիմուռների բազմաթիվ ներկայացուցիչները:

Մանրէների շարքին են դասվում նաև կյանքի ոչ բջջային ձևերը՝ վիրուսները (այդ թվում՝ ֆագերը), վիրոիդները և պրիոնները:

ԳԼՈՒԽ 2

ՄԱՆՐԷԱԲԱՆԱԿԱՆ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐԻԱՅԻ ԿԱՀԱՎՈՐՈՒՄԸ ԵՎ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐԻԱՅՈՒՄ ԱՇԽԱՏԵԼՈՒ ԿԱՆՈՆՆԵՐԸ

Մանրէաբանական հետազոտություններում հիմնականում օգտագործվում են մանրէների մաքուր կուլտուրաներ: Մաքուր կուլտուրա են անվանում մեկ տեսակի (շտամի) մանրէների պոպուլյացիան: Եթե կուլտուրան պարունակում է մեկից ավելի տեսակի մանրէային բջիջներ, այն կոչում են խառը կամ կոնտամինացված: Օդում և առարկաների (սեղանների, գործիքների, հագուստների, սարքավորումների) մակերեսին, ինչպես նաև ձեռքերի, մաշկի, մազերի վրա կան մեծ քանակությամբ տարատեսակ մանրէներ, հետևաբար, մանրէների հետ աշխատելիս հնարավոր կոնտամինացումից խուսափելու համար անհրաժեշտ է անընդհատ պահպանել ուսումնասիրվող մանրէային կուլտուրայի մաքրությունը:

Կախված հետազոտության նպատակից տարբերում են ուսումնական, արտադրական, գիտահետազոտական և ախտորոշիչ մանրէաբանական լաբորատորիաներ: Վարակիչ, հատկապես հատուկ վտանգավոր վարակիչ, հիվանդությունների հարուցիչները ուսումնասիրվում են միայն հատուկ լաբորատորիաներում, որոնցում ապահովված է աշխատակիցների անվտանգությունը և բացառված է լաբորատորիայից ախտածին մանրէների արտահոսքը: Մենք կանոդադառնանք ուսումնական մանրէաբանական լաբորատորիայում աշխատելու կանոններին և այդ լաբորատորիային ներկայացվող հիմնական պահանջներին:

Մանրէաբանական լաբորատորիան պետք է ընդգրկի բնական լավ լուսավորված (>110 լյուքս) ընդարձակ տարածք: Սեղանների մակերեսը պետք է պատված լինի հեշտ մաքրվող պաստառներով (օրինակ՝ պլաստիկատով), հատակը պետք է լինի սալիկապատված կամ պատված լինդեումով, իսկ պատերը պետք է յուղաներկով հատակից առնվազն 170 սմ բարձրությամբ լինեն ներկված կամ սալիկապատված: Հիմնական աշխատանքային տարածքը պետք է կահավորված լինի լաբորատոր սեղաններով, սարքավորումների, ամանեղենի և ռեակտիվների պահպանման համար նախատեսված պահարաններով և դարակներով:

Բացի հիմնական աշխատանքային տարածքից լաբորատոր-



Ջերմապահարան



Թափահարիչ



Ջեռոց



Լամինար բորս



Մանրէասպան լամպեր



Ավտոկլավ

Նկար 3. Մանրէաբանական լաբորատորիայի որոշ սարքավորումներ:

րիաներում պետք է լինի. ա) մանրէագերծման համար նախատեսված սենյակ կամ տարածք, որտեղ պետք է տեղավորել ավտոկլավները ու ջեռոցները (նկար 3), բ) մանրէների աճեցման համար նախատեսված սենյակ կամ տարածք, որտեղ պետք է տեղավորել ջերմապահարանները (թերմոստատները) (նկար 3), գ) սառնարանային սենյակ կամ տարածք և լվացարան: Մանրէների ցանքը և փոխացանքը իրականացնում են տարբեր կառուցվածք ունեցող հատուկ խցիկներում՝ լամինար բոքսերում (նկար 3), որոնցում մաքրությունը ապահովվում է ֆիլտրերի միջոցով մանրէագերծված օդային հոսքի շրջանառությամբ: Հատուկ խցիկների բացակայության դեպքում մանրէների հետ աշխատանքները կատարում են լաբորատորիայում մեկուսացված առանձին տարածքներում:

Լամինար բոքսերում սովորաբար ներկառուցված են ուլտրամանուշակագույն լամպեր: Աշխատանքը սկսելուց առաջ, լամինար բոքսի ներքին բոլոր հասանելի մակերեսներն անհրաժեշտ է մշակել չեզոք դետերգենտների լուծույթներով և քիմիական ախտահանիչներով (70% էթանոլ), որից հետո միացնել ուլտրամանուշակագույն լամպը (մինչև 40 րոպե):

Լամինար բոքսում կոնտամինացումից խուսափելու համար պետք է աշխատել գազայրոցի կամ սպիրտայրոցի բոցին մոտ:

Մանրէաբանական լաբորատորիայի նախապատրաստումը աշխատանքի

Մանրէաբանական լաբորատորիան անհրաժեշտ է պահպանել մաքուր վիճակում: Օդում, ինչպես նաև սարքերի ու առարկաների մակերեսից մանրէների թվաքանակը հնարավորինս նվազեցնելու նպատակով պետք է պարբերաբար իրականացնել լաբորատոր սարքերի և տարածքի մաքրում:

Մանրէաբանական լաբորատորիայի կահույքը, հատակը և պատերը մաքրում են փոշեկուլով և լվանում տարբեր մանրէագերծող նյութերով: Որպես մանրէագերծող նյութեր հաճախ օգտագործում են սոդայի (Na_2CO_3) 2-3%, ֆենոլի (կարբոլաթթու) 3-5% և քլորամինի 0.5-3% ջրային լուծույթները:

Օդափոխությունը (ոչ պակաս 30-60 րոպե), հատկապես արտաքին օդի և լաբորատորիայի օդի ջերմաստիճանների կտրուկ տարբերության պայմաններում, զգալի նվազեցնում է մանրէների քանակությունը:

Օղի մանրեագերծման ավելի նպատակային և հաճախ կիրառվող եղանակ է ճառագայթահարումը 260 մմ ալիքի երկարությամբ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով: Այս ճառագայթներն օժտված են մանրէասպան հատկությամբ և ոչնչացնում են ոչ միայն մանրէների վեգետատիվ բջիջները, այլ նաև դրանց սպորները: Ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների ազդեցությունը պետք է լինի անմիջական և երկարատև: Դա պայմանավորված է ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների ցածր թափանցելիությամբ: Դրանք չեն թափանցում հասարակ ապակիով և հեշտությամբ կլանվում են փոշու հատիկներով: Բացի դրանից, սպիտակ թղթի էջերը, ալյումինե կամ քրոմե թիթեղները, ինչպես նաև դրանցից պատրաստված առարկաները կարող են զգալիորեն անդրադարձնել ուլտրամանուշակագույն ճառագայթները: Այդ պատճառով մանրեագերծման համար անհրաժեշտ է ճառագայթահարել 30 րոպեից մինչև մի քանի ժամ՝ կախված օղի աղտոտվածությունից:

Որպես ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների աղբյուր օգտագործում են մանրէասպան լամպեր (նկար 3): Դրանցում, գազային սնդիկի ցածր ճնշման պայմաններում առաջանում է էլեկտրական աղեղ, որն էլ ճառագայթում է: Սովորաբար մանրէասպան լամպերն իրենցից ներկայացնում են տարբեր տրամագիծ և երկարություն ունեցող հատուկ ապակյա խողովակներ, որոնք թափանցելի են 254 մմ երկարություն ունեցող ալիքների համար:

Անհրաժեշտ է իմանալ, որ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթները կարող են հարուցել աչքերի ծանր վնասվածքներ, այդ պատճառով մանրէասպան լամպերի հետ աշխատելիս անհրաժեշտ է զգուշանալ աչքերի վրա ինչպես ուղիղ, այնպես էլ անդրադարձված ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների անմիջական ազդեցությունից: Մանրէասպան լամպերի աշխատանքի ընթացքում արգելվում է անձնակազմին մնալ լաբորատորիայում: Երկարատև անընդհատ աշխատանքի դեպքում մանրէասպան լամպերի ճառագայթման ուժգնությունն ընկնում է: Այդ պատճառով ճառագայթահարումը նպատակահարմար է իրականացնել ընդհատումներով:

Մանրէների աճեցման համար նախատեսված աշխատանքային տարածքը պետք է մանրեագերծել առավել մանրակրկիտ: Մինչ աշխատանքը և աշխատանքից հետո աշխատանքային սեղանները հարկավոր է մշակել ախտահանիչ նյութերով (քլորամին, 70% էթանոլ կամ իզոպրոպանոլ): Նշված լուծույթներով հարկավոր է մանրեագերծել նաև ձեռքերը: Աշխատանքային սեղանի մակերեսը

կարելի է մանրէագերծել նաև ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով, ընդ որում, պետք է հաշվի առնել, որ որքան ճառագայթահարվող մակերեսը մոտ է գտնվում ճառագայթման աղբյուրին, այնքան ճառագայթների մանրէասպան ազդեցությունը արդյունավետ է:

Լաբորատորիայում խստիվ արգելվում է ծխել, սնվել, խմել, սննդամթերք պահել, ծամել: Անհրաժեշտ է աշխատել միայն հատուկ հագուստով (խալաթներով):

Մանրէների կոպտության հետ աշխատանքի կանոնները

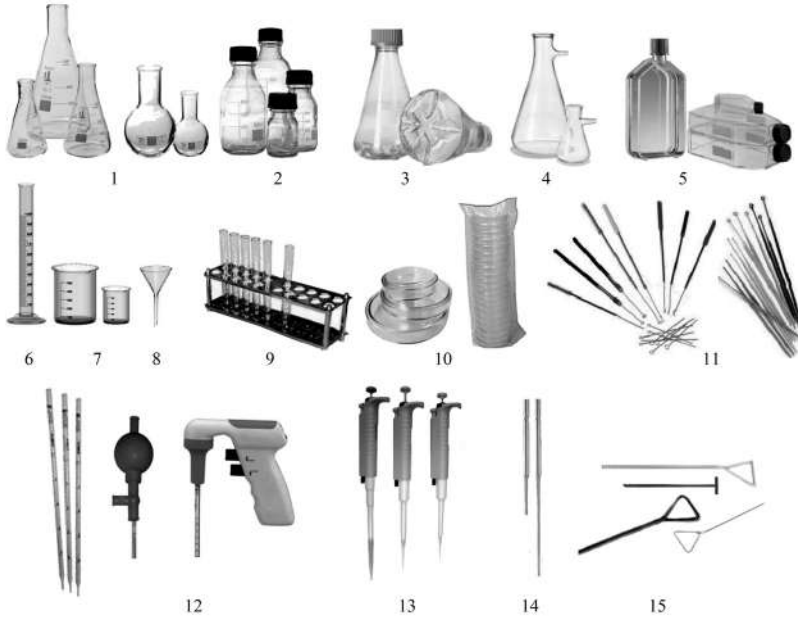
Լաբորատորիայում մանրէներն աճեցնում են սրվակներում, անոթներում, Պետրիի թասերում լցված սննդամիջավայրերում: Ամանեղենը և սննդամիջավայրերը նախապես մանրէագերծում են:

Մանրէների ներմուծումը սննդամիջավայր անվանում են ցանք կամ ինոկուլյացում: Մանրէների ցանքի ընթացքում անհրաժեշտ է հետևել որոշակի կանոնների, որոնք թույլ են տալիս խուսափելու կոնտամինացումից: Ցանքից առաջ պետք է սրվակների, անոթների և Պետրիի թասերի վրա նշել մանրէի անվանումը և ցանքի ամսաթիվը:

Մանրէների ցանքի համար, եթե մանրէներն աճեցված են պինդ սննդամիջավայրերի վրա, օգտագործում են մանրէաբանական (կամ բակտերիաբանական) ասեղ կամ օղակ (նկար 4):

Եթե մանրէներն աճեցված են հեղուկ սննդամիջավայրում, առավել հարմար է օգտագործել մանրէագերծված կաթոցիչ (պիպետ): Մանրէաբանական ասեղը կամ օղակը պատրաստում են վոլֆրամային կամ նիբրոմային բարակ մետաղալարից, որն ամրացված է մետաղյա կամ ապակյա բռնակին: Մանրէաբանական օղակի տրամագիծը պետք է լինի 4-5 մմ: Ցանքսից առաջ մանրէաբանական օղակը կամ ասեղը մանրէագերծվում է սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցի վրա շիկացնելով (նկար 5): Միաժամանակ պետք է բոցով մանրէագերծել բռնակին կից հատվածը:

Հարկավոր է մանրէաբանական օղակը պահել բոցի կողմնային



Նկար 4. Մանրէաբանական լաբորատորիայում կիրառվող ամանեղեն և պարագաներ:

1. Ապակյա անոթներ, 2. Ապակյա անոթներ պլաստիկ խցաններով, 3. Պալի ներփրումներ ունեցող անոթ, 4. Բունգեյնի անոթ, 5. Մալրբա, 6. Չափանոթ, 7. Չափանշանային բաժակ, 8. Չափար, 9. Սրվակներ շրայրիվում, 10. Պերիֆի բասեր, 11. Մանրէաբանական օղակներ, 12. Պիպետներ և պիպետների համար նախատեսված բաժանաչափեր, 13. Ավրոմար պիպետներ ծայրակայաններով, 14. Պաստերյան պիպետներ, 15. Մածկաքիսկներ (Դրեզալսկո շապրեկներ):

և վերին հատվածներում այնպես, որպեսզի մետաղալարը հավասարաչափ շիկանա ամբողջ երկարությամբ: Շիկացման ընթացքում պետք է հիշել, որ սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցի առավելագույն ջերմաստիճանը դրա վերին և կողմնային հատվածներում է (նկար 5.3): Շիկացնելուց հետո ասեղը կամ օղակը նախ սառեցնում են հալելով անոթի կամ սրվակի ներքին մակերեսին կամ մանրէներից զերծ սննդամիջավայրին, որից հետո վերցնում են մանրէային կենսազանգվածի փոքր քանակություն:

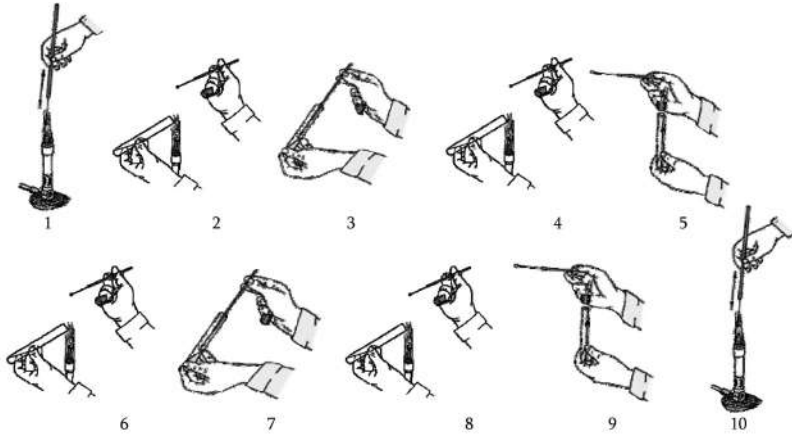


Նկար 5. Մանրէագերծման համար նախատեսված այրոցներ:

1. *Գազայրոց*, 2. *Սպիրտայրոց*, 3. *Ջերմաստիճանի արժեքները գազայրոցի բոցի տարբեր հարվածներում (°C):*

Սրվակում պինդ սննդամիջավայրի վրա աճեցված մանրէների բջիջների առանձնացումն իրականացնում են հետևյալ կերպ: Սրվակը հորիզոնական դիրքով կամ խցանի ծայրով դեպի վեր պահում են ձախ ձեռքում այնպես, որպեսզի սննդամիջավայրի վրա աճած մանրէային փառը լինի տեսանելի: Այնուհետև, շարունակելով ձեռքում պահել մանրէաբանական օդակը, աջ ձեռքի մատնեմատով և ճկույթով սեղմում են խցանը ափին, հանում այն սրվակից և մույն դիրքով պահում: Մանրէային կուլտուրայով բաց անոթի կամ սրվակի եզրերը մանրէագերծում են սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցով: Նույն բոցով շիկացնելով՝ մանրէագերծում են նաև մանրէաբանական օդակը, և այն խորասուզում սրվակի մեջ:

Շիկացած մանրէաբանական օդակը նախ սառեցնում են հպելով սրվակի ներքին մակերեսին կամ մանրէներից գերծ սննդամիջավայրին, ապա, պինդ սննդամիջավայրի մակերեսից վերցնելով կենսազանգվածի մի փոքր մաս, հանում են մանրէաբանական օդակը սրվակից՝ հետևելով որպեսզի փոխացանմով զանգվածը չդիպչի սրվակի պատերին և եզրերին: Սրվակի եզրերը նորից մանրէագերծում են սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցով, ապա խցանում սրվակը (նկար 6):



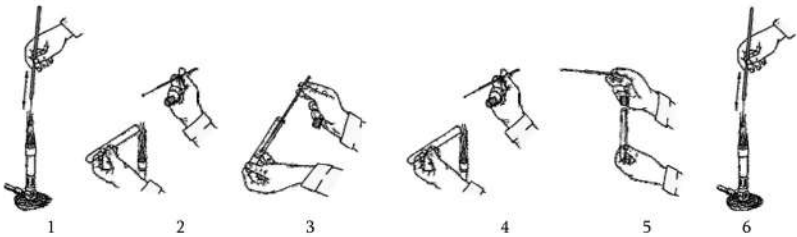
Նկար 6. Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսից մանրէների փոխացանքի հաջորդական փուլերը:

1. Մանրէաբանական օղակի մանրէագերծում, 2. Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին մանրէների կենսազանգված պարունակող սրվակի խցանի հեռացում, 3. Մանրէային կենսազանգվածի վերցնում, 4. Սրվակի եզրերի մանրէագերծումը զազայրոցի բոցով, 5. Սրվակի խցանում, 6. Պինդ սննդամիջավայրով լցված սրվակի խցանի հեռացում, 7. Մանրէաբանական օղակով կենսազանգվածի ցանքը շեղ ազարացված սննդամիջավայրի մակերեսին, 8. Մանրէաբանական օղակի հեռացում սրվակից և սրվակի եզրերի մանրէագերծումը զազայրոցի բոցով, 9. Սրվակի խցանում, 10. Մանրէաբանական օղակի մանրէագերծում:

Բամբակյա խցանն այրվելու դեպքում անհրաժեշտ է այն անմիջապես տեղադրել անոթի կամ սրվակի մեջ: Չի կարելի փչել վառվող խցանի վրա, քանի որ այն կուժեղացնի այրումը: Եթե փոխացանքի ընթացքում խցանն ընկնում է հատակին կամ սեղանին, ապա այն չի կարելի օգտագործել: Պետք է վերցնել նոր մանրէագերծված անոթ կամ սրվակ և վերսկսել աշխատանքը:

Եթե կուլտուրան փոխացանում են շեղ ազարացված սննդամիջավայրի՝ շեղակի վրա, ապա մանրէաբանական օղակն առանց ազարային մակերեսը վնասելու խորասուզում են մինչև սրվակի հատակը, և, թեթևակի հպելով մակերեսին, ցանք են կատարում՝ օղակը սահեցնելով ներքևից վերև զիգզագաձև կամ ուղիղ գծով (շտրիխով):

Հեղուկ սննդամիջավայրում ցանք իրականացնելիս կենսազանգվածը մանրէաբանական օղակով մինչև հեղուկի մեջ խորասուզելը հպում են սրվակի կամ անոթի պատին և տարածում: Այնուհետև, անոթը կամ սրվակը մի փոքր թեքելով, հեղուկ սննդամիջավայրում լուծում են պատին տարածված կենսազանգվածը մանրէների համասեռ կախույթ ստանալու համար (նկար 7):



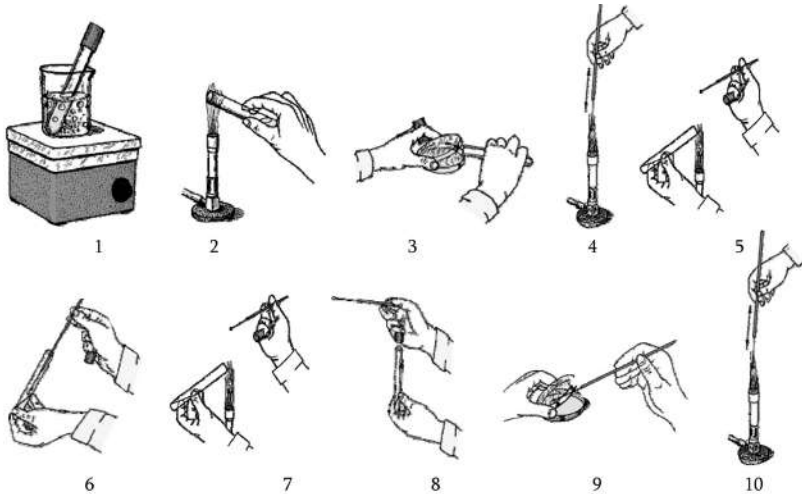
Նկար 7. Հեղուկ սննդամիջավայրում մանրէների ցանքի հաջորդական փուլերը:

1. Մանրէաբանական օդակի մանրէագերծում, 2. Հեղուկ սննդամիջավայրով լցված սրվակի խցանի հեռացում, 3. Մանրէային կենսազանգվածի տեղադրում սրվակի պարիս, 4. Մանրէաբանական օդակի հեռացում սրվակից և սրվակի եզրերի մանրէագերծում զազայրոցի բոցով, 5. Սրվակի խցանում, 6. Մանրէաբանական օդակի մանրէագերծում:

Փոխացանքից հետո մանրէների բջիջները, որոնք մնացել են մանրէաբանական օդակի վրա, այրում են սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցով:

Հեղուկ սննդամիջավայրում աճեցված կենսազանգվածը տեղափոխում են սովորական կամ ավտոմատ պիպետով: Մանրէագերծված պիպետը, վերին ծայրից բռնելով, խորասուզում են սրվակի կամ անոթի մեջ, որում աճեցվել է մանրէն: Օգտագործված պիպետն անմիջապես տեղադրվում է մանրէագերծող լուծույթի, օրինակ՝ 3-5% ֆենոլի կամ 2% բլորամինի լուծույթի մեջ:

Հեղուկ սննդամիջավայրից Պետրիի թասերում լցված պինդ սննդամիջավայրի վրա ցանքը կատարվում է հետևյալ եղանակով: Նախօրոք մանրէագերծված պինդ (ազարացված) սննդամիջավայրը ջրային բաղնիքում կամ միկրոալիքային վառարանում հալեցնելուց հետո լցվում է մանրէագերծված Պետրիի թասերի մեջ (նկար 8):



Նկար 8. Հեղուկ սննդամիջավայրից պինդ սննդամիջավայրի վրա մանրէների փոխացանքի հաջորդական փուլերը:

1. Ջրային բաղնիքում սրվակում լցված ազարացված սննդամիջավայրի հալեցում,
2. Սրվակի եզրերի մանրեագերծում, 3. Պեյրրիի թասերի մեջ հալեցված սննդամիջավայրի լցում, 4. Մանրէաբանական օղակի մանրեագերծում, 5. Մանրէային կենսազանգվածով լցված սրվակի եզրերի մանրեագերծում, 6. Մանրէաբանական օղակով սրվակից մանրէների կենսազանգվածի վերցնում, 7. Սրվակի խցանում, 8. Մանրէային կենսազանգվածի ցանք Պեյրրիի թասում լցված ազարացված սննդամիջավայրի մակերեսին, 9. Մանրէաբանական օղակի մանրեագերծում:

Դրա համար աջ ձեռքով պետք է բռնել սննդամիջավայրով լրացված սրվակը, ձախ ձեռքի ճկույթի և մատնեմատի օգնությամբ հանել խցանը, մանրեագերծել սրվակի եզրերը սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցով, ապա ձախ ձեռքի բութ մատի և միջնամատի օգնությամբ բացել Պետրիի թասի կափարիչը և հալեցված սննդամիջավայրն անմիջապես լցնել թասի մեջ այն քանակությամբ (20-30 մլ), որպեսզի թասի հատակն ամբողջությամբ ծածկվի սննդամիջավայրով: Այնուհետև պետք է կափարիչն անմիջապես փակել և թասը թողնել անշարժ վիճակում մինչև սննդամիջավայրի պնդանալը: Սննդամիջավայրի պնդանալուց հետո պետք է բացել Պետրիի թասը, պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին տեղադրել կենսազանգվածի կախույթը, ապա զգուշությամբ տարածել մանրեագերծված մածկաթիակով կամ մանրէաբանական օղակով:

Բոլոր նկարագրված գործողությունները կոնտամինացումից խուսափելու նպատակով անհրաժեշտ է իրականացնել հնարավորինս արագ և սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցին մոտ: Այդ ըն-

քացքում ցանկալի չէ կատարել կտրուկ շարժումներ, քայլել մաքուր կուլտուրայի հետ աշխատող մարդկանց կողքով, խոսել, քանի որ օդի շարժումը մեծացնում է կոնտամինացման հավանականությունը: Փոխացանքից հետո սրվակները տեղադրվում են ջերմապահարաններ: Օգտագործված ամանեղենը, որը պարունակում է մանրէների կուլտուրաներ, անհրաժեշտ է նախ մանրէազերծել ավտոկլավում, ապա լվանալ:

Փորձնական արդյունքների գրանցումներ

Փորձնական արդյունքների գրանցամատյանում պետք է գրանցել կատարված փորձի ընթացքի և արդյունքների վերաբերյալ տվյալները: Գրանցումը պետք է լինի հստակ, ճշգրիտ և ընդգրկի տեղեկություններ հետևյալ հաջորդականությամբ.

- փորձի անվանումն ու նպատակը, իրականացման և ավարտման ամսաթվերը,
- հետազոտման օբյեկտները,
- փորձի իրականացման պայմանները,
- օգտագործվող վերլուծական մեթոդների նկարագրությունը,
- ստացված տվյալները:

Թվային տվյալները պետք է ներկայացվեն աղյուսակներով: Անհրաժեշտության դեպքում փորձի ընթացքը կամ արդյունքները պետք է ներկայացնել նաև գծապատկերներով, դիագրամներով կամ նկարներով: Յուրաքանչյուր փորձնական աշխատանք պետք է հիմնվի ինքնուրույն դիտարկումների և եզրակացությունների վրա, որոնք ևս գրանցվում են գրանցամատյանում: Գրանցամատյանը միշտ պահպանվում է այն լաբորատորիայում, որտեղ իրականացվել է փորձը:

ԳԼՈՒԽ 3 ՄԱՆԳԱՄԻՋԱՎԱՅՐԵՐ ԵՎ ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ԱՃԵՑՈՒՄԸ

Մանրէների աճեցումը կամ կուլտիվացումը մանրէաբանության հիմնական մեթոդներից է: Մանրէների աճեցման համար կարևոր է իմանալ դրանց նյութափոխանակության առանձնահատկությունները և կենսագործունեության համար անհրաժեշտ միջավայրի ֆիզիկաքիմիական պայմանները:

Մանրէների աճեցման համար կիրառվող սննդամիջավայրեր

Սննդանյութերը, որոնք անհրաժեշտ են մանրէների աճի և զարգացման համար բազմազան են և որոշվում են մանրէների նյութափոխանակության առանձնահատկություններով: Մանրէների աճի համար նախատեսված սննդամիջավայրերը նախ պետք է պարունակեն բջջի համար հասանելի էներգիայի աղբյուրներ: Ընդ որում, քեմոօրգանատրոֆ մանրէների համար էներգիայի աղբյուր են օրգանական նյութերը, իսկ քեմոլիթոտրոֆների համար՝ անօրգանական վերականգնված միացությունները: Ֆոտոտրոֆ մանրէները սննդամիջավայրում որպես էներգիայի աղբյուր օրգանական կամ անօրգանական նյութեր չեն պահանջում, քանի որ դրանց համար որպես էներգիայի աղբյուր ծառայում է լույսը: Սննդամիջավայրը պետք է պարունակի նաև բոլոր այն բաղադրամասերը, որոնք անհրաժեշտ են բջջում նյութափոխանակային, հատկապես կենսասինթեզի գործընթացները իրականացնելու համար: Հետերոտրոֆ մանրէներն իրենց անհրաժեշտ օրգանական նյութերի կենսասինթեզի համար որպես ածխածնի աղբյուր պահանջում են երկ- կամ բազմաձխածնային օրգանական միացություններ՝ ածխաջրեր, թթուներ, սպիրտներ և այլն, իսկ ավտոտրոֆ մանրէները՝ միաձխածնային (կամ անօրգանական) միացություններ՝ ածխաթթու գազ, մեթան, մեթանոլ և այլն: Հետերոտրոֆ մանրէների գերակշիռ մեծամասնության համար միևնույն օրգանական միացությունը միաժամանակ կարող է ծառայել և՛ ածխածնի, և՛ էներգիայի աղբյուր:

Մանրէները տարբերվում են նաև ըստ ազոտի աղբյուրի յուրաց-

ման ունակությամբ: Որոշ պրոկարիոտային մանրէներ՝ դիագնոստիկները, որպես ազոտի աղբյուր, ունակ են յուրացնել մոլեկուլային ազոտը և կարող են աճել սննդամիջավայրում ազոտական միացությունների բացակայության պայմաններում (ազոտային ավտոտրոֆներ): Բազմաթիվ մանրէներ սննդամիջավայրում պահանջում են ազոտի օքսիդացված կամ վերականգնված անօրգանական միացությունների, հիմնականում ամոնիումի աղերի կամ նիտրատների առկայությունը: Մանրէների մեկ այլ խումբ էլ, որպես ազոտի միակ աղբյուր, ունակ է յուրացնելու ազոտի օրգանական միացությունները, օրինակ՝ ամինաթթուները, պուրինները, պիրիմիդինները, միզանյութը: Ամինաթթուները (*L*- կամ *DL*- ձևերը), որպես անհրաժեշտ ազոտի աղբյուր, ավելացնում են 100 մլ մանրէազերծված սննդամիջավայրին 0.1 մգ-ից մինչև 0.05 գ հաշվարկով: Գլիցինը, ալանինը, պրովինը, լիզինը և օրնիտինը լուծվում են թորած ջրում, ֆենիլալանինն ու տրիպտոֆանը՝ NaOH-ով հիմնայնացված թորած ջրում, իսկ մնացած ամինաթթուները՝ HCl-ով թթվեցված թորած ջրում: Յիստինը, ցիստեինը, գլուտամինն ու ասպարազինը ջերմազգայուն են, հետևաբար, դրանց մանրէազերծում են ֆիլտրելով: Մնացած ամինաթթուները կարելի է մանրէազերծել ավտոկլավում 0.5 ավելցուկային մթնոլորտային ճնշման (ամճ) պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում:

Մանրէների պահանջը մի շարք ամինաթթուների նկատմամբ բավարարելու համար հաճախ սննդամիջավայրին ավելացնում են սպիտակուցի հիդրոլիզատ: Հիդրոլիզատների կազմը, կախված էլալին սուբստրատից և ստացման եղանակից, տարբերվում է: Հաճախ օգտագործվում է կազեինի հիդրոլիզատը, որը սովորաբար պատրաստվում է լաբորատորիայում թթվային հիդրոլիզի եղանակով: Դրա քանակությունը սննդամիջավայրում, կախված մանրէի պահանջից, տատանվում է 1 մգ-ից մինչև 0.1 գ 100 մլ սննդամիջավայրի համար:

Առավել պահանջկոտ մանրէներն աճեցվում են սպիտակուցներ կամ դրանց ոչ լրիվ ճեղքման արգասիքներ՝ պեպտոններ, պարունակող սննդամիջավայրերում: Պեպտոնը պրոլի- և օլիգոպեպտիդների, ամինաթթուների, օրգանական ազոտական հիմքերի, աղերի և միկրոտարրերի խառնուրդ է և ստացվում է պրոտեազներով կենդանական կամ բուսական ծագում ունեցող սպիտակուցների ճեղքման հետևանքով: Պեպտոնն ավելացնում են 1-2 գ-ից մինչև 20 գ 1 լ սննդամիջավայրի համար:

Անհրաժեշտ է հիշել, որ մանրէները կարող են օգտագործել ամի-

նաթթուները և պեպտոնը թե՛ որպես ազոտի, թե՛ որպես ածխածնի և էներգիայի աղբյուր:

Բազմաթիվ մանրէների աճի համար անհրաժեշտ են այսպես կոչված աճի գործոններ, որոնց շարքին են դասվում վիտամինները, պորփինները, պիրիմիդինները և ամինաթթուները: Իրենց աճի համար այդ գործոնների նկատմամբ պարտադիր պահանջ ունեցող մանրէները կոչվում են օոթոտրոֆներ: Պրոտոտրոֆները, ընդհակառակը, կարող են աճել սննդամիջավայրում աճի գործոնների բացակայության պայմաններում: Եթե մանրէների աճը սահմանափակվում է մեկ կամ մի քանի վիտամիններով, ապա խորհուրդ է տրվում սննդամիջավայրերին ավելացնել 1 մկգ/մլ կոնցենտրացիայով քիամին (վիտամին B₁), Ca-ի պատտոտենատ, ռիբոֆլավին (վիտամին B₂), նիկոտինաթթու (նիացին), պիրիդոքսին, պիրիդոքսինամին, խոլին, կոբալամին (վիտամին B₁₂), 0.005 մկգ/մլ կոնցենտրացիայով՝ բիոտին, և 0.05 մկգ/մլ կոնցենտրացիայով՝ ֆոլաթթու և պարաամինաբենզոյաթթու:

Վիտամինները լուծույթների ձևով ավելացնում են մանրէազերծված սննդամիջավայրը մանրէներով ինոկուլացումից անմիջապես առաջ: Լուծույթները պատրաստում են նախօրոք մանրէազերծված քորած ջրում և մանրէազերծված անոթներում: Բացառությամբ են կազմում ռիբոֆլավինը և ֆոլաթթուն: Ռիբոֆլավինը լուծում են 0.02 Ն քաղախաթթվի մեջ, իսկ ֆոլաթթուն՝ 0.01 Ն NaOH-ում՝ հասցնելով լուծույթում NaOH-ի կոնցենտրացիան մինչև 0.001 Ն: Ստացված լուծույթները մանրէազերծում են եռացող ջրային բաղնիքում 3 րոպեի ընթացքում ջերմամշակմամբ: Թիամինի լուծույթը խորհուրդ է տրվում մանրէազերծել ֆիլտրելով, քանի որ ջերմամշակման ենթարկելիս թիամինը քայքայվում է: Վիտամինների լուծույթները 4°C ջերմաստիճանային պայմաններում կարելի է պահպանել մեկ ամիս: Ֆոլաթթվի, պիրիդոքսինի և ռիբոֆլավինի լուծույթները պահպանում են մթության մեջ, քանի որ դրանք լուսազգայում են:

Տարբեր աճի գործոններ պարունակող խառնուրդների օրինակներ են շաքարասնկային լուծամզվածքը, շաքարասնկային ավտոլիզատը, եզոպտացորենային լուծամզվածքը: 100 մլ սննդամիջավայրին ավելացնում են 0.05-0.5 գ շաքարասնկային լուծամզվածք, իսկ շաքարասնկային ավտոլիզատը ավելացնում են այնքան, որպեսզի ամինային ազոտի քանակությունը կազմի 5-30 մգ: Շաքարասնկային ավտոլիզատը կարելի է պատրաստել լաբորատորիայում: Եզոպտացորենային լուծամզվածքը օսլա-մաթային արտադրու-

բյան արտադրանք է: Այն պարունակում է ամինաթթուներ, վիտամիններ, մեծ քանակությամբ օրգանական թթուներ (կաթնաթթու, քացախաթթու և մրջնաթթու) և հանքային աղեր: Եգիպտացորենային լուծամզվածքն ավելացնում են սննդամիջավայրին 0.2-5% չափով և մանրէազերծում ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

Մանրէների բջջանյութի կառուցման համար անհրաժեշտ են ֆոսֆորը, ծծումբը, կալիումը և մի շարք այլ քիմիական տարրեր: Դրանք պետք է պարունակվեն սննդամիջավայրում մանրէների համար հասանելի ձևով: Ծծմբի, ֆոսֆորի և այլ տարրերի նկատմամբ պահանջը սովորաբար բավարարվում է հանքային աղերով: Այդ պատճառով սննդամիջավայրերի հանքային ֆոնը իր կազմով գրեթե նույնն է տարբեր մանրէների աճեցման համար: Մանրէների մեծամասնության համար ծծմբի պահանջը բավարարվում է սուլֆատներով, չնայած որ ծծումբը բջջում գտնվում է վերականգնված՝ սուլֆիդիդիլային խմբերի ձևով: Քիչ թվով մանրէների աճի համար անհրաժեշտ է ծծմբի վերականգնված ձևը: Այդ դեպքում սննդամիջավայր են ներմուծում սուլֆիդներ, հիմնականում Na_2S , կամ սուլֆիդիդիլային խմբեր պարունակող օրգանական միացություններ, օրինակ՝ ցիստեին: Ֆոսֆորի նկատմամբ մանրէների պահանջը բավարարվում է ֆոսֆորական թթվի աղերով:

Մանրէներին անհրաժեշտ են բոլոր մետաղները (K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Co, Cu և այլն), որոնք յուրացնում են անօրգանական աղերի կատիոնների կամ անիոնների ձևով: Օրինակ՝ մագնեզիումի աղբյուր ծառայում է MgSO_4 -ը, նատրիումի և քլորի աղբյուր՝ NaCl -ը, կալցիումի՝ CaCO_3 -ը կամ CaCl_2 -ը: Երկաթը ավելացնում են սննդամիջավայրին քլորիդի, սուլֆատի կամ ցիտրատի ձևով:

Որոշ կատիոնների (երկաթ կամ կալցիում) ֆոսֆատների չլուծվող կոմպլեքսների հետևանքով նստվածքի առաջացումից խուսափելու համար խորհուրդ է տրվում սննդամիջավայրին ավելացնել 0.001-ից մինչև 1 գ/լ էթիլենդիամինտետրաքացախաթթու (ԷԴՏԶ) կամ 4 գ/լ նատրիումի հեքսամետաֆոսֆատ: Կատիոնների հետ այդ միացությունները առաջացնում են կոմպլեքսներ, որոնց դիսոցման արդյունքում սննդամիջավայր են անցնում ազատ կատիոնները:

Կալիումը, մագնեզիումը, կալցիումը և երկաթն անհրաժեշտ են համեմատաբար մեծ քանակություներով, այդ պատճառով դրանց աղերը, որպես կանոն, պետք է ավելացվեն սննդամիջավայրերին: Մանգանը, մոլիբդենը, ցինկը, պղինձը, կոբալտը անհրաժեշտ են

քիչ քանակություններով: Այս տարրերը կոչվում են միկրոտարրեր և պատրաստվում են բոլոր՝ ջրում 1 մկգ/լ-ից մինչև 1 մգ/լ կոնցենտրացիայով և ավելացվում ստույգ կազմ ունեցող սննդամիջավայրերին: Միկրոտարրերի լուծույթները մանրէազերծվում են առանձին և ավելացվում սննդամիջավայրերին անմիջապես աշխատանքից առաջ: Մանրէների տարրեր խմբերի համար միկրոտարրերի պահանջը տարբեր է, այդ պատճառով առաջարկվում են տարբեր կազմ ունեցող միկրոտարրերի խառնուրդներ: Բնական բաղադրամասեր պարունակող, ինչպես նաև ծորակի ջրով պատրաստված սննդամիջավայրերն արդեն պարունակում են անհրաժեշտ միկրոտարրեր և լրացուցիչ ավելացնելու անհրաժեշտություն չկա:

Մանրէների աճի համար նախատեսված սննդամիջավայրերը ըստ կազմի լինում են բնական և սինթետիկ: Բնական սննդամիջավայրերը կազմված են կենդանական կամ բուսական ծագում ունեցող բաղադրամասերից՝ բանջարեղենային կամ մրգային հյութերից, կաթից, կենդանական հյուսվածքներից, մոսրացված արյունից, ծովերի, լճերի, հանքային աղբյուրների ջրերից, ինչպես նաև բնական սուբստրատներից՝ մսից, ձկնից, խմորասնկերից, բույսերից, ձավարեղենից, գոմաղբից կամ հողից ստացված լուծանքվածքներից կամ եփուկներից: Բնական սննդամիջավայրերին են դասվում նաև, այսպես կոչված, կիսասինթետիկ սննդամիջավայրերը, որոնք կազմված են բնական բաղադրամասերի և որոշակի քիմիական միացությունների համակցություններից: Բնական սննդամիջավայրերը հարուստ են օրգանական նյութերով, սակայն ունեն բարդ և ոչ հաստատուն կազմ: Այդ պատճառով մանրէների նյութափոխանակության ուսումնասիրության համար դրանց կիրառումը նպատակահարմար չէ: Սինթետիկ սննդամիջավայրերը բաղկացած են հստակ քանակի քիմիապես մաքուր միացություններից: Սինթետիկ սննդամիջավայրերը կիրառվում են մանրէների նյութափոխանակության առանձնահատկությունների ուսումնասիրության համար: Սինթետիկ սննդամիջավայրերի կազմը կախված է սննդանյութերի նկատմամբ աճեցվող մանրէների ունեցած պահանջներից: Կախված հետազոտության խնդրից սինթետիկ սննդամիջավայրերը պատրաստվում են ծորակային կամ բոլոր՝ ջրով:

Ըստ նշանակության սննդամիջավայրերը լինում են էլեկտիվ և տարբերակիչ-ախտորոշիչ (ցուցանիշային կամ հայտանյութային): Էլեկտիվ սննդամիջավայրերն ապահովում են հիմնականում միայն մանրէների մեկ տեսակի կամ խմբի աճը: Էլեկտիվ սննդամիջա-

վայրերը կիրառվում են բնական աղբյուրներից մանրէների մեկուսացման առաջին փուլում, այսինքն՝ կուտակիչ կուլտուրաների ստացման համար, օրինակ՝ Էշերիխի սննդամիջավայրը կիրառվում է *Azotobacter* ցեղի ներկայացուցիչների աճեցման համար:

Հայտանյութային սննդամիջավայրերը թույլ են տալիս արագ տարբերակել մեկ տեսակի մանրէներին մյուս տեսակներից կամ բացահայտել դրանց որոշ առանձնահատկություններ: Հայտանյութային սննդամիջավայրերի օրինակ կարող է ծառայել աղիքային խմբի բակտերիաների հայտնաբերման համար օգտագործվող Էնդոյի ազարացված սննդամիջավայրը: *Escherichia* ցեղի բակտերիաները այս սննդամիջավայրի վրա առաջացնում են մորու գույնի մետաղական փայլով գաղութներ (տե՛ս նկար 87 Ա):

Մանրէների նույնականացման (իդենտիֆիկացման) համար հաճախ օգտագործում են pH-հայտանյութային սննդամիջավայրեր, որոնց բաղադրության մեջ մտնում է որևէ հայտանյութ, օրինակ՝ նեյտրալոտը (0.0005%), ֆենոլոտը (0.005%) կամ բրոմֆինոլկապույտ (0.005%): Մանրէների նյութավիճակության արդյունքում առաջացած թթուն կամ հիմքը փոխում է հայտանյութի գույնը: pH-հայտանյութային սննդամիջավայրերը հաճախ կիրառվում են սանիտարական և բժշկական մանրէաբանությունում:

Ըստ ֆիզիկական վիճակի տարբերում են հեղուկ, կիսահեղուկ, և պինդ սննդամիջավայրեր: Պինդ և կիսահեղուկ սննդամիջավայրերը ստացվում են հեղուկ սննդամիջավայրերին պնդեցնող նյութեր՝ ազար-ազար, ժելատին, սիլիկատեղ կամ կարագինան ավելացնելով (աղյուսակ 2):

Ազար-ազարը բազմաշաքար է, որի բաղադրության մեջ մտնում է ազարոզը և ազարոպեկտինը: Ազար-ազարը ստացվում է որոշ ծովային ջրիմուռներից և արտադրվում է թիթեղների կամ փոշու ձևով: Մանրէների մեծամասնությունը ունակ չէ յուրացնելու ազար-ազարը որպես ածխածնի կամ էներգիայի աղբյուր: Ջրում լուծվելիս առաջացնում է ժել, որը հալվում է մոտավորապես 100°C և պնդանում 45°C ջերմաստիճանում: Այդ պատճառով ազարացված սննդամիջավայրերի վրա կարելի է աճեցնել հայտնի կուլտիվացվող մանրէների մեծամասնությունը: Կիսահեղուկ սննդամիջավայրերը ստացվում են հեղուկ սննդամիջավայրերի 0.5%, իսկ պինդ սննդամիջավայրին՝ 1.5-3% ազար-ազար ավելացնելով: Անհրաժեշտ է հաշվի առնել, որ ազար-ազարը պահպանում է իր հատկությունները միայն չեզոք pH-ի պայմաններում: Ազար-ազարը միշտ պարունակում է այլ օրգա-

նական և անօրգանական հավելանյութեր, այդ պատճառով խիստ որոշակի կազմ ունեցող սննդամիջավայրերի պատրաստման համար ազար-ազարը նախապես մաքրում են տարալվացմամբ: Հավելանյութերի լուծամզումն իրականացնում են 2-3 շաբաթվա ընթացքում ազար-ազարը ծորակային ջրում 30-37°C ջերմաստիճանային պայմաններում տարալվացմամբ՝ պարբերաբար (յուրաքանչյուր երկրորդ օրը) փոխելով ջուրը: Տարալվացումը դադարեցնում են այն դեպքում, երբ ջուրը այլևս չի պղտորվում: Այնուհետև ազար-ազարը տեղավորում են քանգիվե պարկի մեջ և 2-3 օր լվանում ծորակի հոսող ջրով, ապա չորացնում և օգտագործում:

Աղյուսակ 2.

Սննդամիջավայրերի պնդեցման նպատակով օգտագործվող նյութերի բնութագիրը

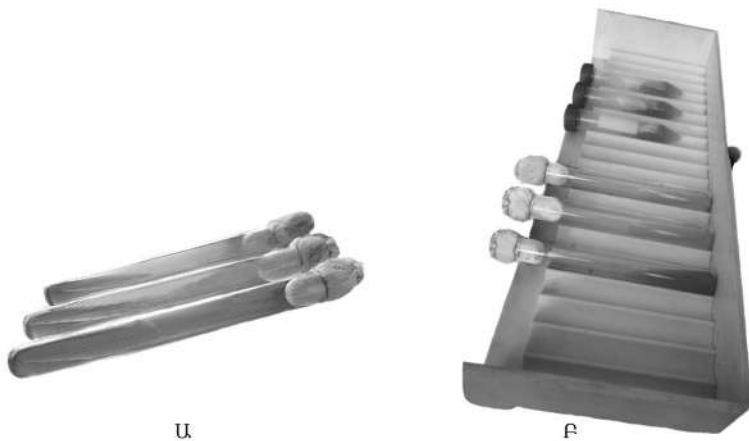
Բնութագիր	Ազար-ազար	Ժելատին	Սիլիկաժել
Ելանյութը	Ծովային ջրիմուռներ	Կաշի, ոսկոր, ջիլ	Սիլիկաթթվային կալիում կամ նատրիում և աղաթթու
Հիմնական բաղադրամասերը	Բազմաշաքարներ	Սպիտակուցներ	Սիլիկաթթու
Հալման ջերմաստիճան, °C	≈ 100	22-25	-
Պնդեցման ջերմաստիճան, °C	≈ 45	22-25	-
Պրոտեազների ազդեցությամբ	Չեն ազդում	Ազդում են	Չեն ազդում
Կոնդենսացվող ջուր	Անջատվում է	Չի անջատվում	Չի անջատվում
Կիրառվող կոնցենտրացիան, %	1-3	10-20	-

Ազար-ազար պարունակող սննդամիջավայրերը տաքացնում են ջրային բաղնիքում կամ միկրոալիքային վառարանում մինչև ամբողջական հալվելը: Եթե նախատեսվում է մանրէները աճեցնել ազարային շեղակների մակերեսին, ապա սրվակների 1/3-ը լցնում են ազարային սննդամիջավայրով, մանրէազերծում, որից հետո սրվակները թեթև վիճակում տեղավորում են շեղակների ստացման համար նախատեսվող հարմարանքի վրա և թողնում մինչև սննդամիջավայրի պնդանալը (նկար 9): Ստացված շեղակը պետք է լինի

խցանից 4-6 սմ հեռավորության վրա:

Պետրիի թասերում մանրէների աճեցման համար նախատեսվող ագարային սննդամիջավայրը լցնում են 20-25 մլ-ական մեծ սրբվակների կամ անոթների մեջ և մանրէազերծում, ապա մանրէազերծ պայմաններում լցնում Պետրիի թասերի մեջ: Ագարային սննդամիջավայրերի պնդեցման ընթացքում առաջանում է կոնդենսացված ջուր: Այդ պատճառով Պետրիի թասերում լցված սննդամիջավայրերը տեղավորում են ջերմապահարան շրջված վիճակով՝ կափարիչով ներքև: Հակառակ դեպքում կափարիչի վրա կուտակվում է կոնդենսացված ջուր, որը ծորալով ընկնում է ագարային մակերեսին՝ խոչընդոտելով առանձին գաղութների առաջացմանը:

Ժելատինը սպիտակուց է, որը ստացվում է կենդանիների ոսկորներից, ջլերից և կաշվից: Ժելատինը, լուծվելով ջրում, առաջացնում է ժել, որը հալվում է 24-26°C ջերմաստիճանում: Բազմաթիվ մանրէներ առաջացնում են պրոտեազներ, որոնք քայքայում են ժելատինը, հետևաբար այն հաճախ օգտագործվում է մանրէների պրոտեազային ակտիվության հայտնաբերման համար:



Նկար 9. Շեղակների պատրաստումը:

Ա) Շեղակներ, Բ) Սրբվակներում շեղակների պարրասրման համար նախապեսված հարմարանք:

Սիլիկաթթվային ժելը կամ սիլիկաժելը կիրառում են հատակ բաղադրություն ունեցող արհեստական սննդամիջավայրերի պնդեցման համար: Սիլիկաժելի ստացման համար աղաթթվին (խտությունը՝ $\rho=1.1$) ավելացնում են նույն ծավալով հեղուկ ապակի՝ Na_2SiO_3

կամ K_2SiO_3 (խտությունը՝ $\rho=1.1$): Խառնուրդը լցնում են Պետրիի քասերի մեջ և թողնում մինչև ժելի առաջանալը: Այնուհետև քասերը տեղադրում են ապակյա տարայում և քլորիդների հեռացման համար ժելը լվանում են հոսող ջրով: Քլորիդների առկայությունը ստուգում են $AgNO_3$ -ով որակական ռեակցիայով: Ժելի ստացման գործընթացն ավարտում են թորած ջրով սիլիկաժելի լվացմամբ:

Որպես պնդեցնող միջոց մանրէաբանական աշխատանքներում օգտագործվում է նաև կարագինան բազմաշաքարը, որը ստանում են կարմիր ջրիմուռներից: Կարագինանը նույնպես չի յուրացնում մանրէների մեծամասնությունը: 45 և 60°C ջերմաստիճաններում պինդ սննդամիջավայր ստանալու համար ավելացնում են 2 և 2.4% կարագինան, համապատասխանաբար:

Որոշ հետազոտություններում, օրինակ՝ խորքային ցանքի կատարելիս, անաերոբ մանրէների լավ տեսանելի մեկուսացված գաղութներ ստանալու համար կիրառվում են թափանցիկ սննդամիջավայրեր: Թափանցիկ սննդամիջավայրերը ստացվում են մի քանի եղանակներով: Առավել պարզ եղանակը բամբակով ֆիլտրումն է: Եթե այն բավարար չէ, սննդամիջավայրը պարզեցնում են հավկիթի սպիտակուցի օգնությամբ: 500 մլ սննդամիջավայրի պարզեցման համար բավական է մեկ հավկիթի սպիտակուցը: Սպիտակուցը տարանջատում են դեղնուցից և թափահարում նույն ծավալով ջրի հետ, մինչև փրփրագոյացումը: Փրփրացված սպիտակուցը լցնում են նախապես հալեցված սննդամիջավայրի մեջ: Սննդամիջավայրի ջերմաստիճանը պետք է լինի 45-50°C: Սպիտակուցն ավելացնելուց առաջ սննդամիջավայրի pH-ը պետք է հասցնել 7-7.3 արժեքի: Սննդամիջավայրը սպիտակուցի հետ լավ խառնելուց հետո այն 1 ժամ մշակում են ավտոկլավում 100°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Սպիտակուցը բնափոխվում է և մակակլանում սննդամիջավայրում եղած կախութային մասնիկները: Երբ բնափոխված սպիտակուցը բարձրանում է սննդամիջավայրի մակերեսին կամ իջնում անոթի հատակին, սննդամիջավայրը տաք վիճակում բամբակով ֆիլտրում են: Ֆիլտրելիս կիրառում են հատուկ տակդիրներով տաքացվող ձագարներ, որոնց շնորհիվ կասեցվում է սննդամիջավայրի պնդեցումը:

Արհեստական ագարացված սննդամիջավայրերը, որոնց պարզեցման համար ցանկալի չէ հավկիթի սպիտակուցի ավելացումը, ավտոկլավում մանրէազերծում են ջերմակայուն ապակյա բաժակներում և մանրէազերծումից հետո 10-12 ժամ թողնում փակ ավտոկ-

լավում: Դանդաղ սառեցման պայմաններում բոլոր կախութային մասնիկները նստում են բաժակի հատակին: Պնդացած սննդամիջավայրի վերին թափանցիկ հատվածը առանձնացվում է, տեղափոխվում մոր անոթի մեջ և մորից մանրէազերծվում:

Վերջերս լայն կիրառություն են ստացել հայտնի բաղադրությամբ չոր կամ փոշենման պատրաստի սննդամիջավայրերը, որոնց պատրաստման ընթացակարգը նշված է տարայի վրա: Այս սննդամիջավայրերի հաստատուն բաղադրությունը, հեշտ պահպանումը, տեղափոխումը և պատրաստումը դարձնում են դրանց առավել հարմար մանրէաբանական աշխատանքներում:

Մանրէների աճեցման պայմանները

Մանրէների աճեցման համար կարևոր նշանակություն ունի ոչ միայն սննդամիջավայրի կազմը, այլ նաև սննդամիջավայրի pH-ը, օդավորումը, ջերմաստիճանը, լույսը, խոնավությունը: Մանրէների զարգացումը հնարավոր է յուրաքանչյուր գործոնի միայն որոշակի սահմաններում, ընդ որում, մանրէների տարբեր խմբերի համար այդ սահմանները տարբեր են:

Սննդամիջավայրի pH-ը որոշիչ նշանակություն ունի մանրէների աճի համար: Մանրէների մեծամասնությունը լավ է աճում չեզոք pH-ի պայմաններում, չնայած միկրոմիցետները լավ աճ են դրսևորում pH-ի թույլ թթվային արժեքներում: Սննդամիջավայրեր պատրաստելիս անհրաժեշտ է ստուգել pH-ը: Սովորաբար սննդամիջավայրի pH-ը չափվում է պոտենցիաչափով: Լաբորատոր պայմաններում հարմար է pH-ը չափել հեղուկ հայտանյութերով կամ դրանցով ներծծված թղթե փթեղիկներով՝ հայտաթղթերով (նկար 10): Լայնորեն կիրառվում է, օրինակ՝ հեղուկ երկգույնանի հայտանյութը՝ բրոմֆինոլկապույտ: Դրա գույնը փոփոխվում է դեղինից կապույտ, երբ pH-ը փոխվում է 6-ից 7.6 սահմաններում: pH 7.3-ում հայտանյութը ունի կապտականաչ երանգ:

Անհրաժեշտության դեպքում սննդամիջավայրի pH-ը կարգավորում են HCl կամ H_2SO_4 թթուների, NaOH կամ KOH հիմքերի, կամ հիմնային ռեակցիա ունեցող աղերի՝ Na_2CO_3 կամ NaHCO_3 լուծույթներով: pH-ը կարգավորելու համար ցանկալի է օգտագործել տարբեր կոնցենտրացիա ունեցող մանրէազերծված լուծույթներ:



Նկար 10. pH հայտաթղթեր և pH պոտենցիաչափեր:

1. pH հայտաթղթեր, 2. Դյուրակիր pH պոտենցիաչափ, 3. Դյուրակիր համակցված pH պոտենցիաչափ, 4. Ոչ շարժական (սրացիոնար) համակցված pH պոտենցիաչափ:

Սննդամիջավայրերի pH-ի արժեքը կարող է փոփոխվել մանրէազերծման ընթացքում: Այդ պատճառով մանրէազերծումից հետո ևս պետք է ստուգել սննդամիջավայրի pH-ը և, եթե անհրաժեշտ է, կարգավորել մանրէազերծված թթվի կամ հիմքի լուծույթով: Սննդամիջավայրի pH-ը կարող է փոփոխվել մանրէների աճեցման ընթացքում: Այսպիսի փոփոխությունը կարող է տեղի ունենալ նյութափոխանակության արգասիքների առաջացման կամ սննդամիջավայրի առանձին բաղադրամասերի անհամաչափ յուրացման հետևանքով: Օրինակ՝ ածխաջրերի յուրացման դեպքում սննդամիջավայրում կուտակվում են օրգանական թթուներ, որոնք իջեցնում են սննդամիջավայրի pH-ը: KNO_3 պարունակող սննդամիջավայրերում pH-ը բարձրանում է նիտրատ իոնների ակտիվ յուրացման և սննդամիջավայրում կալիումի իոնների կուտակման պատճառով:

Սննդամիջավայրի pH-ը կայուն պահպանելու համար կիրառում են տարբեր մեթոդներ: Երբեմն սննդամիջավայրերին ավելացնում են բուֆերային լուծույթներ, օրինակ՝ ֆոսֆատային բուֆերներ: Երբ մանրէների աճը ընթանում է թթուների մեծ քանակության կուտակմամբ, բուֆերի թույլատրելի քանակությունը (մինչև 5 գ ֆոսֆատներ 1 լ սննդամիջավայրին) բավարար չէ, քանի որ ցանկացած բուֆերի հակազդումը pH-ի փոփոխությանը սահմանափակ է: Այդ պատճառով սննդամիջավայրի pH-ը կտրուկ փոփոխող մանրէների աճի համար նախատեսված սննդամիջավայրերում բուֆերային լուծույթների կիրառումը նպատակահարմար չէ: Այդպիսի մանրէների աճի համար սննդամիջավայրերին ավելացնում են կալիոն, որը չեզոքաց-

նում է առաջացած թթվային արգասիքները: Մանրէների աճեցման ընթացքում առաջացած թթուների չեզոքացման համար կարելի է սննդամիջավայրին ավելացնել մանրէազերծված NaHCO_3 -ի 10% ջրային լուծույթ:

Աճեցման ընթացքում սննդամիջավայրի pH-ի պահպանումը մեծ նշանակություն ունի այն մանրէների համար (օրինակ՝ կաթնաթթվային բակտերիաները և պսևոմոնադները), որոնք առաջացնում են մեծ քանակությամբ թթվային արգասիքներ, սակայն կայուն չեն դրանց նկատմամբ: Մեծ դժվարությունների հետ է կապված pH-ի պահպանումը թույլ հիմնային սննդամիջավայրում, քանի որ pH 7.2-8.5 սահմաններում համապատասխան բուֆերային լուծույթներ չկան: Այդ պատճառով անհրաժեշտություն է ստեղծվում անընդհատ կամ պարբերաբար շտկել սննդամիջավայրի pH-ը՝ ավելացնելով սննդամիջավայրին մանրէազերծված թթվի կամ հիմքի լուծույթներ:

Թթվածինը մտնում է ջրի և այլ միացությունների կազմի մեջ: Աերոբ մանրէների աճի համար անհրաժեշտ է սննդամիջավայրում սպահովել մոլեկուլային թթվածնի անընդհատ հոսքը: Այդպիսի մանրէները կոչվում են օրլիգատ աերոբներ: Էներգիաառաջացման գործընթացը այդ մանրէներում աերոբ շնչառությունն է, իսկ մոլեկուլային թթվածինն այդ գործընթացի վերջնական օքսիդիչն է: Օրլիգատ աերոբ մանրէներից պետք է տարանջատել միկրոաերոֆիլ մանրէներին, որոնք պահանջում են սննդամիջավայրում թթվածնի առկայություն, սակայն լավ են աճում, եթե թթվածնի պարցիալ ճնշումը ավելի ցածր է, քան օդում: Այլ մանրէների զարգացումը, ընդհակառակը, հնարավոր է միայն թթվածնի բացակայության պայմաններում: Էներգիայի ստացումն այդպիսի մանրէներում կախված չէ մոլեկուլային թթվածնի օգտագործման հետ, իսկ մեծամասնության համար թթվածինը նույնիսկ թունավոր է և ճնշում է մանրէների աճը կամ սպանում դրանց: Այդպիսի մանրէները կոչվում են օրլիգատ անաերոբներ: Ֆակուլտատիվ (պայմանական) անաերոբները ունակ են աճելու մոլեկուլային թթվածնի ինչպես առկայության, այնպես էլ բացակայության պայմաններում: Այսպես, որոշ շաքարասնկեր և աղիքային խմբի բակտերիաներ կախված սննդամիջավայրում մոլեկուլային թթվածնի առկայությունից ունակ են իրականացնելու կա՛մ աերոբ շնչառություն, կա՛մ խմորում (կամ անաերոբ շնչառություն): Որոշ անաերոբ մանրէներ կարող են աճել թթվածնի առկայության պայմաններում, այսինքն՝ զգայուն չեն թթվածնի նկատմամբ: Այդ մանրէներն անվանում են աերոտոլերանտ անաերոբներ: Ուս-

տի անհրաժեշտ է հաշվի առնել մանրէների զգայունությունն ազատ թթվածնի նկատմամբ դրանց աճեցման ընթացքում:

Աերոբ մանրէները կարելի է աճեցնել հեղուկ և պինդ սննդամիջավայրերի մակերեսին (կոչվում է մակերեսային աճեցում) կամ հեղուկ սննդամիջավայրում (կոչվում է խորքային աճեցում): Մակերեսային աճեցման դեպքում թթվածինն անցնում է մանրէների բջիջների մեջ անմիջապես օդից, այդ պատճառով անհրաժեշտ է մեծացնել սննդամիջավայրի և օդի շփման մակերեսը: Այդ նպատակով սննդամիջավայրերը բարակ շերտով լցնում են Պետրիի թասերի մեջ:

Հեղուկ սննդամիջավայրերում աճեցվող աերոբ մանրէները հաճախ առաջացնում են մակերեսային թաղանթ: Ֆակուլտատիվ անաերոբները զարգանում են ոչ միայն սննդամիջավայրի մակերեսին, այլ նաև հեղուկ սննդամիջավայրի խորքում՝ առաջացնելով սննդամիջավայրի քիչ թե շատ հավասարաչափ պոտորություն: Մակերեսային աճեցումը կիրառվում է ինչպես լաբորատոր, այնպես էլ արտադրական պայմաններում:

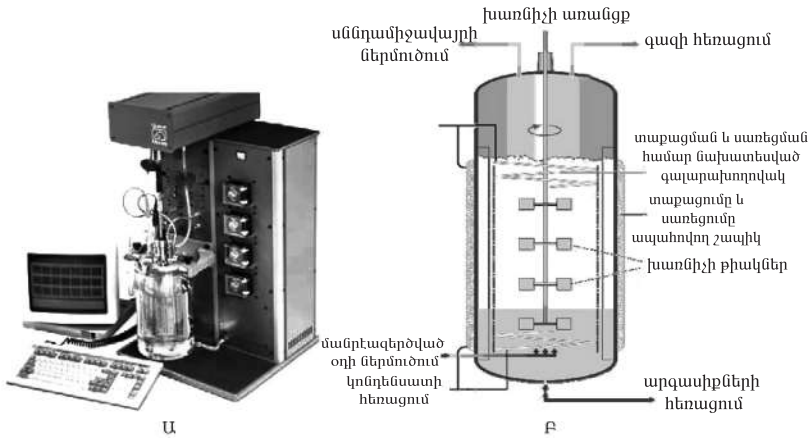
Աերոբ մանրէների խորքային աճեցման դեպքում անհրաժեշտ է մեծացնել սննդամիջավայրի և օդի թթվածնի շփման մակերեսը: Անհրաժեշտ է իմանալ նաև, որ խորքային աճեցման ընթացքում հեղուկ սննդամիջավայրերում մանրէներն օգտագործում են լուծված թթվածինը: Թթվածնի լուծելիությունը ջրում մեծ չէ, այդ պատճառով աերոբ մանրէների աճը սննդամիջավայրի խորքում ապահովելու համար անհրաժեշտ է այն անընդհատ օդավորել: Սննդամիջավայրի օդավորման դեպքում հաշվի են առնում երկու ցուցանիշ՝ օդավորման ուժգնությունն ու օդավորման աստիճանը: Օդավորման ուժգնությունը բնութագրվում է միավոր ժամանակում միավոր ծավալում թթվածնի լուծելիության արագությամբ: Օդավորման աստիճանը օդի այն ծավալն է, որը միավոր ժամանակում անցնում է որոշակի ծավալ ունեցող սննդամիջավայր: Լաբորատոր աշխատանքներում խորքային աճեցման առավել պարզ և լայն տարածված եղանակ է աճեցումը թափահարիչների վրա, որոնք ապահովում են անոթների և սրվակների թափահարումն ու պտտումը 100-200 պտույտ/րոպե արագությամբ: Ինչքան մեծ է թափահարման արագությունը, այնքան մեծ է սննդամիջավայրի շփումը օդի հետ և, հետևաբար, սննդամիջավայրի թթվածնով հագեցումը: Սննդամիջավայրի օդավորումը թափահարմամբ կարելի է մեծացնել՝ փոքրացնելով սննդամիջավայրի ծավալը կամ մանրէներն աճեցնելով 2-3 սմ երկարությամբ ապակյա պատի ներփքումներ ունեցող հատուկ անոթներում (տե՛ս նկար

4.3): Այդպիսի անոթների կիրառման դեպքում մեծանում է սննդամիջավայրի շփման մակերեսն օդի հետ, հետևաբար, ինչքան շատ են անոթի պատի ներփքումները, այնքան ավելի մեծ է օդավորման աստիճանը:

Բացի քափահարումից մանրէների կուլտուրաները կարելի է օդավորել մանրէազերծված օդի մղմամբ: Այս եղանակը հաճախ օգտագործում են լաբորատոր հետազոտություններում, սակայն ավելի լայնորեն կիրառվում է արտադրությունում մանրէների կենսազանգվածի կամ կենսազործունեության տարբեր արգասիքների՝ հակաբիոտիկների, ֆերմենտների, թթուների ստացման համար: Սննդամիջավայր մղվող օդի քանակությունը կարգավորվում է գազաչափերով: Ֆերմենտյորներում մղվող օդի քանակությունը կարգավորվում է ավտոմատ կերպով: Օդը մանրէազերծվում է ակտիվացված փայտածուխով, մանրէազերծիչ նյութերով ներծծված այսպես կոչված «ապակյա բամբակով», կամ պոլիմերներից պատրաստված հատուկ հյուսվածքներով: Հաճախ լաբորատոր փորձերում, երբ օդի ներմուծման ծավալն ու արագությունը շատ մեծ չէ, օգտագործվում են նախօրոք մանրէազերծված բամբակյա ֆիլտրեր: Օդամղման ուժգնությունը մեծացնելու համար օդը մղում են մանր ծակոտիներ ունեցող քիթեղներով՝ բարբոտյորներով: Մանրէների կուլտուրաների օդավորման համար որպես կանոն օգտագործում են մթնոլորտային օդը:

Լաբորատոր պայմաններում սննդամիջավայր մաքուր թթվածնի մղումը ցանկալի չէ, քանի որ սննդամիջավայրի չափազանց հագեցումը թթվածնով (մինչև 40 մգ/լ) կարող է ճնշել մանրէների աճը: Ֆերմենտյորներում օդավորումը սովորաբար զուգորդվում է սննդամիջավայրի մեխանիկական խառնմամբ: Խորքային աճեցման ֆերմենտյորի օրինակը բերված է նկար 11-ում:

Անաերոբ մանրէների աճեցումը ավելի բարդ է, քանի որ անաերոբ մանրէների թթվածնի հետ շփումը պետք է նվազեցվի կամ բացառվի: Դա իրականացնելու համար կիրառում են տարբեր մոտեցումներ:



Նկար 11. Աերոբ մանրէների խորքային աճեցման համար նախատեսված լաբորատոր ֆերմենտոյոր (Ա) և դրա գծապատկեր (Բ):

Մանրէների աճեցումը սննդամիջավայրի խորը շերտերում օդի սահմանափակման առավել պարզ եղանակ է: Դրա համար հեղուկ սննդամիջավայրը լցվում է մեծ ծավալով աճեցնելու համար նախատեսված հատուկ անոթների մեջ: Քանի որ չի կարելի մանրէազերծել անոթի ծավալի կեսից ավելին լցված սննդամիջավայրը, դրա մի մասը մանրէազերծվում է առանձին և ցանքից հետո մանրէազերծ պայմաններում անոթի մեջ ավելացվում է սննդամիջավայրի մյուս մասնաբաժինը: Անմիջապես ցանքից առաջ սննդամիջավայրը եռացվում կամ 30-40 րոպե տաքացվում է եռացող ջրային բաղնիքում, ապա, որպեսզի օդի թթվածինը չհասցնի լուծվել սննդամիջավայրում, արագ սառեցվում է: Այնուհետև ցանքանյութը ներմուծվում է սննդամիջավայր անոթի հատակամերձ մասում:

Երբեմն կիրառվում է աճեցում մածուցիկ սննդամիջավայրերում: Թթվածնի դիֆուզիան հեղուկի մածուցիկությամբ զուգընթաց պակասում է: Այդ պատճառով մածուցիկ սննդամիջավայրերում, օրինակ՝ կարտոֆիլային կամ եգիպտացորենի ալյուր պարունակող սննդամիջավայրերում, լավ են աճում որոշ օբլիգատ անաերոբներ, օրինակ՝ կարագաթթվային խմորման հարուցիչները: Սննդամիջավայրի մածուցիկությունը կարելի է բարձրացնել ավելացնելով 0.2-0.3% ագար-ագար:

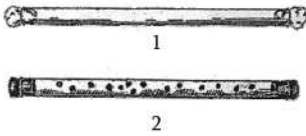
Աերոտոլերանտ անաերոբ մանրէների աճեցման համար օգտագործվում են վակուումային էքսիկատորներ (նկար 12): Այդ նպատակով վակուումային պոմպի միջոցով էքսիկատորից հեռացվում է օդը:

Այնուհետև, էքսիկատորը լցնում են իներտ գազով, օրինակ՝ ազոտով կամ ջրածնով կամ էլ դրանց խառնուրդով՝ հավելելով 5-10% ածխաթթու գազով:



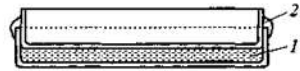
Նկար 12. Վակուումային պոմպին միացված էքսիկատոր:

Մաքուր կուլտուրաների մեկուսացման համար առանձին-առանձին գաղութներ ստանալիս կամ անաերոբ մանրէների թվաքանակը որոշելիս մանրէներն աճեցվում են պինդ սննդամիջավայրի խորքում: Դրա համար ցանքանյութը ներմուծվում է 48-50°C ջերմաստիճան ունեցող ազարացված (ցանկալի է թափանցելի) սննդամիջավայրի մեջ, ապա լավ խառնվում է, թողնելով անոթի մեջ, կամ տեղափոխվում է մանրէազերծված Բուրիի խողովակների կամ Պետրիի թասերի մեջ: Անոթների մակերեսը ծածկվում է պարաֆինով: Բուրիի խողովակները՝ 20-25 սմ երկարությամբ և 1-1.5 սմ տրամագծով սնամեջ սպակյա խողովակներ են (նկար 13): Խողովակները մանրէազերծում են նախապես երկու ծայրերն էլ փակելով բամբակյա խցաններով: Ցանքից առաջ ծայրերից մեկի բամբակյա խցանը փոխարինում են մանրէազերծված ռետինե խցանով, իսկ մյուս ծայրով լցնում ցանքանյութով ինոկուլացված սննդամիջավայր և փակում ռետինե խցանով: Պետրիի թասերում անաերոբ մանրէներ աճեցնելիս ցանքանյութով ինոկուլացված սննդամիջավայրը լցնում են թասի կափարիչի մեջ, և սննդամիջավայրը պնդանալուց անմիջապես հետո կիպ փակում թասի հատակով: Պետրիի թասի կափարիչի և հատակի միջև եղած տարածությունը, որով սննդամիջավայրը շփվում է օդի հետ, լցվում է մանրէազերծված պարաֆինով (նկար 14):



Նկար 13. Բուրիի խողովակ:

1. Մանրեագերծման պարրասարված Բուրիի խողովակ, 2. Անաերոբ մանրէների զաղութները Բուրիի խողովակում լցված ազարացված սննդամիջավայրի խորքում:

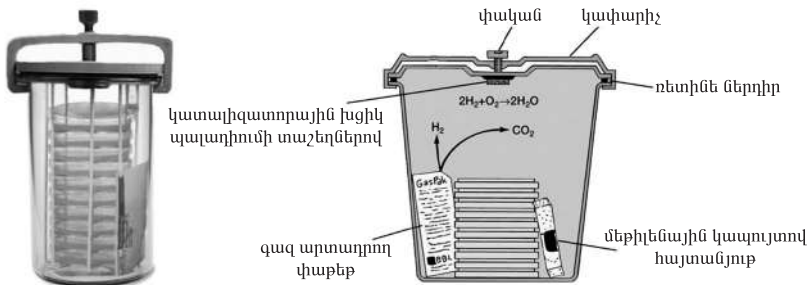


Նկար 14. Անաերոբների աճեցումը Պետրիի թասերում:

1. Ազարացված սննդամիջավայր, 2. Պարաֆին:

Մանրէների անաերոբ աճեցման համար հաճախ կիրառվում է գազային փաթեթ պարունակող անաերոբ տարա (նկար 15):

Գազային փաթեթում քիմիական ռեակցիայի արդյունքում առաջանում է ջրածին, որը փոխգործելով տարայում առկա թթվածնի հետ առաջացնում է ջուր: Սենյակային ջերմաստիճանում այդ ռեակցիան կատալիզում է պալադիումը: Փաթեթում ջրածնի առաջացումը խթանվում է ջրի ավելացմամբ: Հարկ է նշել, որ ռեակցիայի արդյունքում անջատվում է նաև CO_2 , որն անհրաժեշտ է բազմաթիվ անաերոբ մանրէների աճի համար: Մեթիլեն կապույտ հայտանյութի գունազրկումը վկայում է տարայում թթվածնի բացակայության մասին: Եթե հայտանյութը չի գունազրկվում 2 ժամվա ընթացքում, նշանակում է, որ տարան ամուր փակված չէ կամ քիմիական ռեակցիան չի ընթացել:



Նկար 15. Գազային փաթեթ և մանրէների կուլտուրաներով Պետրիի թասեր պարունակող անաերոբային տարա (ձախից) և գծապատկերը (աջից):

Անաերոբ մանրէները կարելի է աճեցնել անաերոստատների՝ մամոնտերերով վակուումային մետաղական կաթսաների մեջ (նկար 16): Անաերոստատից հեռացնում են օդը, և որպես կանոն, լցնում

$67 \cdot 10^3$ Պա ճնշմամբ (0.7 մմ) գազային խառնուրդով, որը կազմված է 90-80% ազոտից և 10-20% ածխաթթու գազից: Ավելցուկային ճնշումը բացառում է օդի թթվածնի դիֆուզիայի հնարավորությունը:

Որոշ օբյեկտ անաերոբներ, օրինակ՝ մեթան առաջացնող արքեաները, թթվածնի հետ նույնիսկ կարճատև շփումից ոչնչանում են: Այդպիսի մանրէների աճեցման ընթացքում պետք է ամբողջովին բացառել թթվածնի մուտքը սննդամիջավայր, ստեղծել և պահպանել օքսիդավերականգնողական (Eh) ցածր պոտենցիալ: Թթվածնի կլանման և սննդամիջավայրի վերականգնվածության աստիճանը բնորոշվում է Eh-ով, որը չափվում է պոտենցիաչափով կամ որոշվում հայտանյութերի, օրինակ՝ ռեզազուրինի, ֆենոսաֆրանինի, մեյտրալոտի և այլնի կիրառմամբ: Հատկապես հարմար է օգտագործել ռեզազուրինը, որն ավելացնում են սննդամիջավայրին 1 մգ/լ խտությամբ և մանրէազերծում սննդամիջավայրի հանքային տարրերի հետ: Օքսիդանալիս այն ներկվում է երկնագույն, վերականգնվելիս անգունանում է:



Նկար 16. Անաերոբ մանրէների աճեցման համար նախատեսված անաերոստատ (ձախից) և անաերոբ խցիկ (աջից):

Օբյեկտ անաերոբ մանրէների աճեցման մեթոդը մշակել է ամերիկացի գիտնական Ռ. Հանգեյթը: Այդ մեթոդը կիրառելիս անհրաժեշտ է հաշվի առնել հետևյալ պայմանները.

- բոլոր աշխատանքները՝ սննդամիջավայրերի պատրաստումն ու բաշխումը տարաներում, մանրէների ցանքն ու աճեցումը, կատարվում է թթվածնի բացակայության պայմաններում անաերոբ խցիկում (նկար 16), եռացման, մանրէազերծված գազի հոսքի, հերմետիկ փակվող անոթների կիրառմամբ,

- թթվածնի հետքային քանակությունների կլանման համար մինչև մանրէների ցանքը սննդամիջավայրին ավելացնում են վերականգնիչներ (ցիստեինի, մատրիումի սուլֆիդի, թիոգլիկոլատի հիմնային լուծույթներ),
- բոլոր փոխացանքերը և սննդամիջավայրերի հավելումները պետք է իրականացվեն թթվածին չպարունակող գազով մախապես մշակված ներարկիչներով,
- գազանցկացման համար նախատեսված բոլոր խողովակները պետք է պատրաստված լինեն օդի թթվածնի դիֆուզիան արգելակող նյութերից, օրինակ՝ պղնձից կամ բուրփլացված ռետինից:

Որպես թթվածնի կլանիչներ լաբորատոր պայմաններում օգտագործում են պիրոգալոլի կամ մատրիումի երկթիոնիտի հիմնային լուծույթները, մետաղական երկաթը, մինչև 400°C տաքացված պղինձը և որոշ այլ ռեակտիվներ: Անհրաժեշտ է հաշվի առնել ռեակտիվների կլանունակությունը և մանրէների աճեցման համար փակ անոթի ծավալը: Օրինակ՝ յուրաքանչյուր 100 մլ ծավալ ունեցող անոթի համար օգտագործում են 1 գ պիրոգալոլ և 10 մլ 2.5 Ն NaOH: Այն անաերոբ մանրէների, որոնց աճի համար անհրաժեշտ է ածխաթթու գազ, պետք է պիրոգալոլը լուծել ոչ թե հիմքի, այլ մատրիումի երկկարբոնատի խիտ լուծույթում: Թթվածնի կլանման աստիճանը որոշվում է օքսիդավերականգնողական հայտանյութ պարունակող լուծույթի միջոցով: Լուծույթի պատրաստման համար խառնվում են հալասար ծավալներով 0.025% NaOH, 0.015% մեթիլեն կապույտի ջրային լուծույթ և 6% գլյուկոզ, իսկ որպես մանրէազերծիչ նյութ լուծույթին ավելացվում է թիմոլ: Օգտագործելուց անմիջապես առաջ անոթի մեջ լցվում է 5 մլ խառնուրդն և տաքացվում եռացող ջրային բաղնիքի վրա մինչև անգունանալը, ապա արագ սառեցվում և տեղադրվում է անաերոստատում կամ անաերոբ խցիկում:

Մինչև 1.5% օդ պարունակող արտադրական գազերից թթվածնի մնացորդները հեռացվում են հետևյալ կերպ: Նախ գազն անցկացվում է պղնձե խառտուքներով լցված ապակյա խողովակով և էլեկտրական տաքացուցիչի օգնությամբ տաքացվում է մինչև 400°C: Այս եղանակով մշակված գազը չի պարունակում թթվածին, քանի որ բարձր ջերմաստիճաններում պղինձն արդյունավետ փոխազդում է թթվածնի հետ՝ առաջացնելով CuO: Պղնձի վերականգնման համար օգտագործվում է գազային ջրածինը՝ $\text{CuO} + \text{H}_2 = \text{Cu} + \text{H}_2\text{O}$: Այդպիսի թթվածնազերծ գազը անհրաժեշտ է անաերոբ խցիկների բաշխիչ

փականը լցնելու համար:

Որպես վերականգնիչ հաճախ օգտագործվում է նատրիումի սուլֆիդ և թիոգլիկոլատ: Վերականգնիչները օգտագործվում են մանրէների աճի վրա չազդող կոնցենտրացիաներով: Սովորաբար պատրաստվում է վերականգնիչների 1% լուծույթը 5% նատրիումի երկկարբոնատային լուծույթում, ապա մանրէազերծվում ավտոկլավում: Սննդամիջավայրին ավելացվում է նատրիումի սուլֆիդ (250-500 մգ/լ) կամ թիոգլիկոլատ (մինչև 250 մգ/լ):

Տարբեր մանրէների աճի ջերմաստիճանային միջակայքը տատանվում է լայն սահմաններում: Մեզոֆիլների, որոնց դասվում է հայտնի մանրէների մեծամասնությունը, աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը ընկած է 25-ից մինչև 37°C սահմաններում: Թերմոֆիլների աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը զգալի բարձր է՝ 45-ից մինչև 80-90°C: Պսիխրոֆիլները լավ են զարգանում 5-10°C ջերմաստիճանային միջակայքում: Ջերմաստիճանային տատանումները բացասաբար են ազդում մանրէների աճի վրա, այդ պատճառով մանրէներն աճեցվում են ջերմապահարաններում կամ հատուկ ջեռուցվող սենյակներում, որոնցում ջերմակարգավորիչների օգնությամբ պահպանվում է անհրաժեշտ ջերմաստիճանը: Մեզոֆիլ մանրէները, որոնց բնական կենսամիջավայրերը ջուրն ու հողն են, աճեցվում են 20-30°C ջերմաստիճանային միջակայքում, մինչդեռ մարդու և կենդանիների մաշկի, լորձաթաղանթների վրա կամ աղիներում բնակվող մանրէներն աճեցվում են ավելի բարձր՝ 35-37°C ջերմաստիճաններում: Պսիխրոֆիլների աճեցման համար օգտագործվում են սառցախցիկներ:

Մանրէների ճնշող մեծամասնության աճի համար լուսավորումն անհրաժեշտ չէ: Ավելին՝ լույսի ուղիղ ճառագայթները բացասական են ազդում մանրէների զարգացման վրա: Այդ պատճառով դրանք աճեցվում են մթության մեջ: Լույսն անհրաժեշտ է ֆոտոտրոֆ մանրէների աճի համար: Սակայն բնական լուսավորումն օգտագործվում է շատ հազվադեպ, քանի որ այն կանոնավոր չէ և վատ է կարգավորվում: Սովորաբար ֆոտոտրոֆ մանրէներն աճեցվում են լյումինոստատներում՝ շիկացման լամպերով կամ ցերեկային լույսի լուսածորող (ֆլուորեսցենտային) լամպերով լուսավորված խցիկներում: Լյումինոստատներում անհրաժեշտ ջերմաստիճանն ապահովվում է օդորակիչների կամ սառեցնող հարմարանքների կիրառմամբ: Լուսավորման աղբյուրի ընտրությունը որոշվում է վերջինիս լուսարձակման սպեկտրով և ալիքների երկարությամբ: Ծիրանագույն և կանաչ

բակտերիաների աճեցման համար ավելի նպատակահարմար է օգտագործել շիկացման լամպերը: Ֆիանաբակտերիաների և միկրոօրիմոնների աճեցման համար կիրառվում են ցերեկային լույսի լամպեր: Բացի լույսի սպեկտրի կազմից, կարևոր է նաև լուսավորվածությունը, որը որոշվում է լյուքսաչափի կիրառմամբ:

Մանրէների աճի համար պարտադիր է սննդամիջավայրում ջրի առկայությունը, ընդ որում, ջուրը պետք է լինի բջջի համար հասանելի ձևով, այսինքն՝ հեղուկ փուլում: Սակայն բնական սուբստրատներում ջրի մի մասը կապված է ջրում լուծված նյութերի մոլեկուլների հետ և մատչելի չէ մանրէների համար: Սուբստրատում մանրէների աճի համար ջրի հասանելիությունն արտահայտվում է ջրի ակտիվությամբ՝ a_w : Ջրի ակտիվությունը որոշվում է հետևյալ բանաձևով:

$$a_w = \frac{P}{P_0},$$

որտեղ P -ն լուծույթի վրա գոլորշու ճնշումն է, P_0 -ն՝ տվյալ ջերմաստիճանում մաքուր ջրի վրա գոլորշու ճնշումն է:

Թորած ջրի համար $a_w = 1$: Ջրի մեջ տարբեր նյութեր լուծելիս այս մեծությունը փոքրանում է, հետևաբար նվազում է ջրի հասանելիությունը բջջի համար: Մանրէները կարող են աճել այնպիսի սննդամիջավայրերում, որոնց $a_w = 0.99-0.61$: Պրոկարիոտների համար հասանելի ջրի պահանջը, որպես կանոն, ավելի բարձր է: Այսպես, պրոկարիոտների մեծամասնությունը, բացառությամբ հալոֆիլների, լավ են աճում միայն այն սննդամիջավայրերում, որոնցում a_w -ն $0.99-0.95$ է: Սննդամիջավայրերում ջրի տարբեր ակտիվությունները ստեղծվում են NaCl -ի, KCl -ի, գլյուկոզի, գլիցերինի, պոլիէթիլենգլիկոլի ավելացմամբ:

Մանրէների աճեցման օրինաչափությունները: Աճի կոր

Աճ ասելով պետք է հասկանալ կենդանի նյութի քանակի անհետադարձ մեծացումը, որը հաճախ գուգորդվում է բջիջների մեծացման և բաժանման հետ: Բակտերիաները հաճախ բազմանում են կրկնակի կիսմամբ, այդ իսկ պատճառով դրանց թիվն աճում է երկրաչափական պրոգրեսիայով. $2^0 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \rightarrow \dots \rightarrow 2^n$: Եթե սահմանափակ տարածությունում աճող կուլտուրայի (այսպես կոչված

պարբերական կուլտուրայի) միավոր ծավալին համապատասխանում են N_0 բջիջներ, ապա n բաժանումներից հետո բջիջների թիվը կլինի $N_0 \cdot 2^n$: Լոգարիթմելով ստանում ենք $\lg N = \lg N_0 + n \lg 2$, որտեղ բջջային բաժանումների թիվը կլինի՝

$$n = \frac{\lg N - \lg N_0}{\lg 2} :$$

Բջջային բաժանումների թիվը 1 ժամում կամ բաժանման արագության հաստատումը՝ v -ն, որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

$$v = \frac{n}{t} = \frac{\lg N - \lg N_0}{\lg 2(t - t_0)},$$

որտեղ t_0 -ն բաժանման սկզբնական ժամանակն է, իսկ t -ն՝ վերջնական ժամանակը:

Բաժանման մեկ ցիկլի համար անհրաժեշտ ժամանակը՝

$$g = \frac{t}{n} = \frac{1}{v} :$$

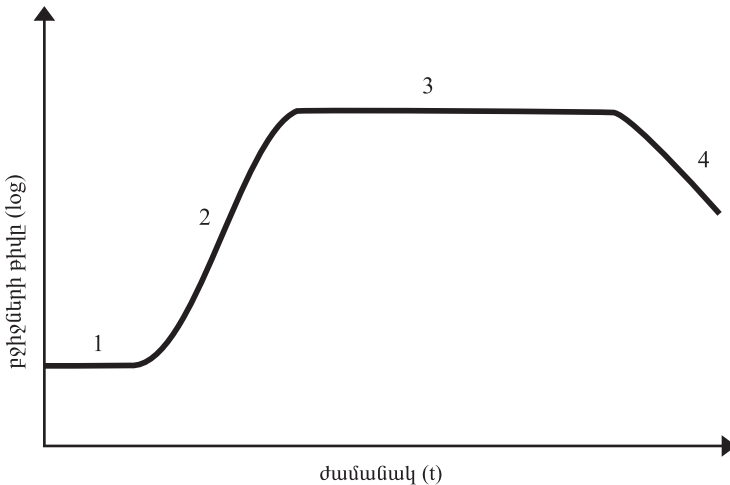
Եթե 10 ժամում բջիջների թիվը կախություն աճում է 10^3 -ից մինչև 10^6 , ապա բաժանման արագության հաստատումը կորոշվի հետևյալ բանաձևով՝

$$v = \frac{\lg 10^6 - \lg 10^3}{0.3010 \times 10} \times 10 \approx \frac{6}{3} = 2,$$

իսկ բջիջների կիսումների միջև ընկած ժամանակը հավասար կլինի կես ժամի:

Սննդամիջավայր ներմուծելիս բակտերիաները սովորաբար աճում են այնքան ժամանակ, մինչև անհրաժեշտ սննդամիջավայրի բաղադրիչներից որևէ մեկի պարունակությունը հասնում է նվազագույնի, որից հետո աճը դադարում է: Եթե այդ ընթացքում չափելացնենք անհրաժեշտ սննդանյութեր և չհեռացնենք նյութափոխանակության վերջնական արգասիքները, ապա կստանանք այսպես կոչված պարբերական կուլտուրա (այլ կերպ՝ սահմանափակ տարածությունում բջիջների պոպուլյացիա): Աճն այդպիսի «փակ համակարգում» ենթարկվում է օրինաչափությունների, որոնք իրական են ոչ միայն միաբջիջ, այլև բազմաբջիջ օրգանիզմների համար: Պարբերական կուլտուրան ըստ էության մնան է գենետիկորեն սահ-

մանափակ աճով բազմաբջիջ օրգանիզմի: Կորը, որը նկարագրում է կենդանի բջիջների թվի լոգարիթմի կախվածությունը ժամանակից կոչվում է աճի կոր (նկար 17): Բնորոշ աճի կորը S-աձև է, որում տարբերում են մի քանի փուլեր՝ սկզբնական (կամ lag) փուլ, էքսպոնենցիալ (կամ լոգարիթմական) փուլ, ստացիոնար (կամ կայուն) փուլ և մահացության փուլ:



Նկար 17. Մանրէային պարբերական կուլտուրայի աճի կոր:

1. *Սկզբնական (lag) փուլ,* 2. *Էքսպոնենցիալ կամ լոգարիթմական փուլ,*
3. *Ստացիոնար կամ կայուն փուլ,* 4. *Մահացության փուլ:*

Սկզբնական փուլ: Այս փուլն ընդգրկում է բակտերիաների սննդամիջավայր ներմուծման և բջիջների բաժանման առավելագույն արագության հասնելու միջև ընկած ժամանակահատվածը: Այս փուլի տևողությունը կախված է նախնական կուլտուրայի աճեցման պայմաններից, ներմուծվող կուլտուրայի տարիքից և սննդամիջավայրի ճիշտ ընտրությունից: Եթե ներմուծվող կուլտուրան թարմ չէ, ապա բջիջները նախ պետք է հարմարվեն նոր պայմաններին ՌՆԹ-ի սինթեզի, ռիբոսոմների ձևավորման և ֆերմենտների սինթեզի ճանապարհով, հատկապես, եթե էներգիայի և ածխածնի աղբյուրները նոր սննդամիջավայրում տարբերվում են նախորդից:

Էքսպոնենցիալ փուլ: Աճի էքսպոնենցիալ (լոգարիթմական) փուլը բնութագրվում է բջիջների բաժանման հաստատուն առավելագույն արագությամբ: Այդ արագությունը կախված է բակտերիաների տեսակից, ինչպես նաև սննդամիջավայրից: Օրինակ՝ *E. coli*-ն 37°C

ջերմաստիճանային պայմաններում կիսվում է մոտավորապես յուրաքանչյուր 20 րոպեից մեկ: Այլ բակտերիաների կիսումների միջև ընկած ժամանակը զգալիորեն ավելի մեծ է, օրինակ՝ շատ հողային տեսակների կիսումների միջև ընկած ժամանակը 60-150 րոպե է, իսկ *Nitrosomonas* և *Nitrobacter* ցեղերի ներկայացուցիչներինը՝ նույնիսկ 5-10 ժ:

Բազմաթիվ բակտերիաների բջիջների մեծությունը և դրանցում սպիտակուցի պարունակությունն աճի էքսպոնենցիալ փուլում ևս մնում են հաստատուն: Այլ կերպ ասած բակտերիական կուլտուրան այս դեպքում բաղկացած է «ստանդարտ բջիջներից»: Եթե հստակ որոշված է, որ բջիջների թիվը, դրանցում սպիտակուցի պարունակությունը և դրանց չոր կենսազանգվածը մեծանում են միևնույն արագությամբ, ապա կուլտուրայի աճին կարելի է հետևել՝ օգտվելով այս ցուցանիշների որևէ մեկից:

Մինչդեռ հաճախ նաև աճի էքսպոնենցիալ փուլում պարբերական կուլտուրայի բջիջները ենթարկվում են փոփոխությունների, քանզի աստիճանաբար փոփոխվում է սննդամիջավայրը. նվազում է սուբստրատի խտությունը, մեծանում է բջջային կախության խտությունը, կուտակվում են նյութափոխանակության արգասիքները: Էքսպոնենցիալ փուլում բջիջների բաժանման արագությունը համեմատաբար ավելի հաստատուն է, ուստի այս փուլն առավել հարմար է բաժանման (և աճի) արագության որոշման համար: Աճի էքսպոնենցիալ փուլում բջիջների թվի ավելացմանը կամ բջջային կախության պոտորությունը կարելի է հետևել՝ ուսումնասիրելով սննդամիջավայրի գործոնների (pH-ի, օքսիդավերականգնողական պոտենցիալի, ջերմաստիճանի, օդափոխման և այլն) ազդեցությունը, ինչպես նաև տարբեր սուբստրատների պիտանելիությունը:

Ստացիոնար փուլ: Ստացիոնար փուլն սկսվում է, երբ բջիջների թիվը դադարում է աճել: Աճի արագությունը կախված է սուբստրատի խտությունից: Երբ սուբստրատի խտությունը սկսում է նվազել, բջիջների աճի արագությունը փոքրանում է: Այդ պատճառով էքսպոնենցիալ փուլից դեպի ստացիոնար փուլ անցումը աստիճանաբար է տեղի ունենում: Աճի արագությունը կարող է նվազել ոչ միայն սուբստրատի անբավարարության, այլև բակտերիական պոպուլյացիայի մեծ խտության, սննդամիջավայրում O_2 -ի ցածր ճնշման կամ նյութափոխանակության թունավոր արգասիքների կուտակման պատճառով: Ստացիոնար փուլում դեռևս կարող են յուրացվել պաշարային նյութերը և սինթեզվել ֆերմենտներ: Դա կախված է աճը

սահմանափակող գործոնից: Արագ մահանում են միայն շատ զգալուն բջիջները, մյուսները դեռ երկար պահպանում են կենսունակությունը այնքան ժամանակ, քանի դեռ առկա է պաշարանյութի կամ բջջային սպիտակուցների օքսիդացման գործընթացում կենսագործունեության համար անհրաժեշտ էներգիան ստանալու հնարավորությունը:

Ստացվողնար փուլ հասած կենսազանգվածի քանակությունը անվանում են ելք կամ բերք: Այն կախված է օգտագործվող սննդանյութերի բնույթից և քանակությունից, ինչպես նաև աճեցման պայմաններից:

Մահացության փուլ: Մահացության փուլը և բջիջների մահացության պատճառները սննդամիջավայրերում անբավարար են ուսումնասիրված: Դրա պատճառը, օրինակ՝ կաթնաթթվային բակտերիաների աճեցման ընթացքում սննդամիջավայրում կուտակվող թթու արգասիքներն են: Կենդանի բջիջների թիվն այս փուլում շատ արագ նվազում է: Երբեմն բջիջները լիզիսի են ենթարկվում սեփական ֆերմենտներով (ապոտոլիզ):

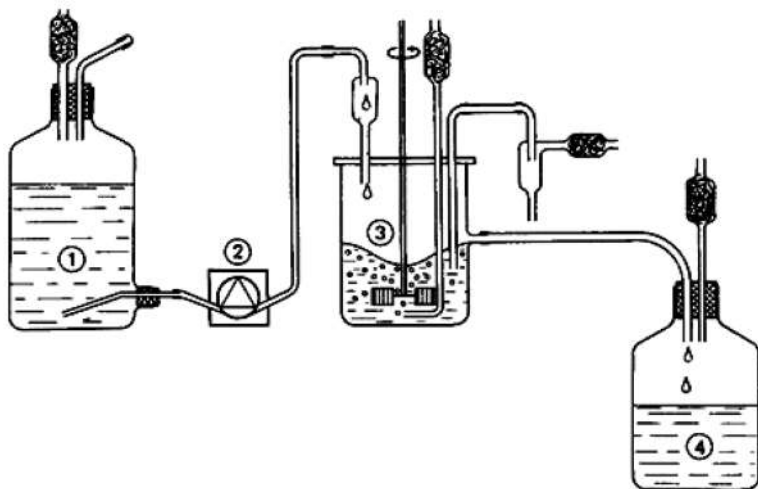
Մանրէների աճեցման եղանակները

Գոյություն ունեն հեղուկ սննդամիջավայրում մանրէների աճեցման սկզբունքորեն տարբերվող երկու եղանակ: Մի դեպքում սննդամիջավայրը ինոկուլացնելուց հետո դրան չեն ավելացնում և դրանից չեն հեռացնում որևէ բաղադրամաս, բացի գազային փուլից: Աճեցման այդպիսի եղանակը կոչվում է պարբերական, և ենթադրում է սահմանափակ ժամանակահատվածում մանրէների խտության անընդհատ աճ, որն ուղեկցվում է սննդամիջավայրի կազմի և պայմանների փոփոխությամբ: Եթե մենք այդ համակարգ անընդհատ ներմուծենք թարմ սննդամիջավայր և միաժամանակ հեռացնենք նյութափոխանակության արգասիքները և բակտերիաների աճած զանգվածը, ապա կունենանք այսպես կոչված անընդհատ աճող կուլտուրա:

Անընդհատ (հոսքային) աճեցումն, ի տարբերություն պարբերական աճեցման, բնութագրվում է թարմ սննդամիջավայրի անընդհատ ներմուծմամբ այն արագությամբ, ինչ արագությամբ հեռացվում է սինթեզված կենսազանգվածը: Այս դեպքում կախության ծավալը ֆերմենտյորում ժամանակի ընթացքում չի փոխվում: Անընդհատ աճեց-

ման եղանակի հիմնական պայմաններից է ֆերմենտորում կախույթի լավ խառնումը: Անընդհատ ածեցման եղանակը կարող է իրականացվել տուրբիդաստատի և քեմոստատի սկզբունքով:

Քեմոստատն իրենից ներկայացնում է ֆերմենտոր, որում անընդհատ ներմուծվում է թարմ սննդամիջավայր: Ֆերմենտորում խառնիչով նոր ներմուծված սննդամիջավայրն ու օդը խառնվում են՝ ստեղծելով մանրէների աճի համար սննդանյութերի և օդի անհրաժեշտ խտություններ: Նոր սննդամիջավայրի ներմուծմանը զուգընթաց, ֆերմենտորից հեռացվում է նույնքան ծավալով մանրէային կենսազանգված (նկար 18):



Նկար 18. Քեմոստատի գծապատկերը:

1. Սննդամիջավայրով լցված անոթ, 2. Մղող պոմպ, 3. Քեմոստատ խառնիչով, ֆիլտրված օդի, սննդամիջավայրի ներմուծման և արտադման խողովակներով,
4. Արգասիքների ընդունիչ անոթ:

Տուրբիդաստատն ավելի պարզ անընդհատ ածեցման եղանակ է, որի դեպքում բջիջների կոնցենտրացիան ընտրում է հետազոտողը, իսկ թարմ սննդանյութերի ներմուծումը սննդամիջավայր կարգավորվում է ավտոմատ՝ ըստ մանրէների պոպուլյացիայի խտության: Սննդամիջավայրի ավելացման արագությունը փոփոխելով՝ փորձարարը կարող է ստանալ պոպուլյացիայի աճի արագության տարբեր ցուցանիշներ՝ վերարտադրելով կուլտուրայի աճի տարբեր փուլերը (աճի էքսպոնենցիալ փուլից մինչև ստացիոնար փուլ):

Ի տարբերություն քեմոստատի, տուրբիդոստատում բոլոր սննդանյութերը գտնվում են ավելցուկով և կուլտուրայի աճի արագությունը հասնում է իր առավելագույն արժեքին: Աշխատանքը տուրբիդոստատի հետ տեխնիկապես ավելի բարդ է, քան քեմոստատի հետ:

Այսպիսով, պարբերական կուլտուրայի և անընդհատ կուլտուրայի միջև կան սկզբունքային տարբերություններ: Պարբերական կուլտուրան փակ համակարգ է և բազմափուլ, պայմաններն աճման փուլերում տարբեր են, ավտոմատ կարգավորումը բացակայում է: Անընդհատ կուլտուրան իրենից ներկայացնում է բաց համակարգ, որը ձգտում է դինամիկ հավասարակշռության հաստատման: Դրանում ժամանակի գործոնը բացակայում է, այն միափուլ է, սննդամիջավայրի պայմաններն անփոփոխ են և ենթարկվում են ավտոմատ կարգավորման:

ԳԼՈՒԽ 4 ՄԱՆՐԷԱԶԵՐՏՄԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

Մանրեագերծումը (լատ. *sterilization* - ստերիլացում) մանրեաբանական կարևորագույն և անհրաժեշտ գործընթացներից է: Մանրեագերծումը բոլոր կենդանի էակների ոչնչացմանը ուղղված գործընթաց է: Մանրեների զարգացումը կասեցնելու նպատակով մանրեագերծվում են սննդամիջավայրերը, ապակեղենը, գործիքները և հետազոտությունների համար անհրաժեշտ այլ առարկաները: «Մանրեագերծում» տերմինը ունի բացարձակ իմաստ: Օբյեկտը կարող է լինել մանրեագերծված կամ ոչ մանրեագերծված, և չի կարող լինել մասնակի կամ ոչ լիարժեք մանրեագերծված:

Տարբերում են ջերմային և ոչ ջերմային մանրեագերծում: Մանրեաբանության մեջ կիրառվում են ջերմային մանրեագերծման հետևյալ ձևերը՝ շիկացում, չոր մանրեագերծում (տաք օդով), հագեցած ջրային գոլորշիով մանրեագերծում (ավտոկլավացում), կոտորակային մանրեագերծում (տիմոլակացում) և եռացում: Ոչ ջերմային մանրեագերծման մեթոդներից են՝ ֆիլտրումը, գազային նյութերով և ուլտրամանուշակագույն կամ այլ տեսակի ճառագայթներով մանրեագերծումը:

Մանրեագերծման այս կամ այն եղանակի կիրառության նպատակահարմարությունը պայմանավորված է առաջին հերթին նյութի ֆիզիկա-քիմիական հատկություններով, երբեմն նաև հետազոտման նպատակով:

Սննդամիջավայրերի մանրեագերծում

Մանրեագերծում հագեցած գոլորշիով՝ ավտոկլավացմամբ: Ավտոկլավացումը սննդամիջավայրերի մանրեագերծման առավել հուսալի և լայն կիրառվող եղանակներից է, որի հիմքում ընկած է մրքնոլորտայինից բարձր ճնշմամբ հագեցած ջրային գոլորշիով նյութի ջերմամշակումը: Հայտնի է, որ գոլորշու ջերմաստիճանը մեծանում է դրա ճնշման ավելացմանը զուգընթաց (աղյուսակ 3):

Աղյուսակ 3.

Հազեցած գոլորշու ջերմաստիճանը տարբեր ճնշումների դեպքում

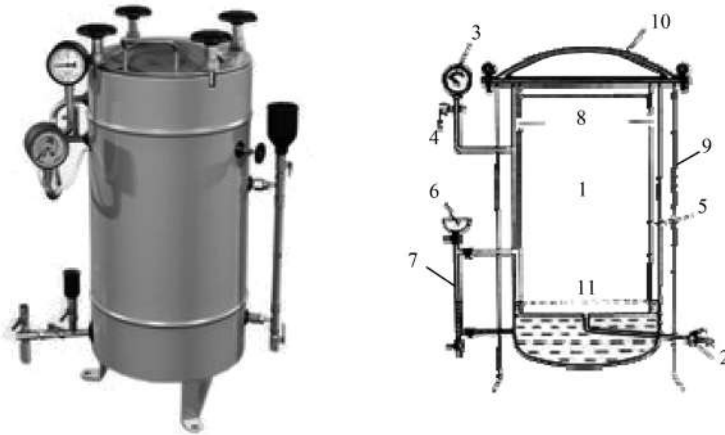
Ճնշում			Ջերմաստիճան, °C
Մթն	ամճ*	կՊա	
1	0	101.32	100
1.5	0.5	151.98	111
2	1	202.65	121
2.5	1.5	251.20	128
3	2	299.75	134

**ամճ – ավելցուկային մթնոլորտային ճնշում*

Ավտոկլավացման արդյունավետությունն ապահովվում է բարձր ջերմաստիճանի և գոլորշու միաժամանակյա ազդեցությամբ, որի ընթացքում ոչնչանում են մանրէների և՛ վեգետատիվ բջիջները, և՛ սպորները: Հաստատված է, որ գրեթե բոլոր մանրէների սպորները 121°C (1 ամճ) հազեցած գոլորշու պայմաններում չեն դիմանում նույնիսկ 5 րոպե, և միայն որոշ հողային բակտերիաների սպորները ոչնչանում են նույն պայմաններում 30 րոպե հետո:

Ավտոկլավացումը իրականացվում է հատուկ հերմետիկ փակվող հաստապատ սարքերում՝ ավտոկլավներում: Ավտոկլավները տարբերվում են ձևով, չափսով, ճնշման կարգավորմամբ, կառուցվածքով և այլ ցուցանիշներով: Դրանք կարող են լինել մեխանիկական, կիսաավտոմատ և ավտոմատ կարգավորմամբ:

Նկար 19-ում պատկերված է մեխանիկական կարգավորմամբ ուղղահայաց ավտոկլավի գծապատկերը: Այն բարձր ճնշմանը դիմակայող մետաղական երկպատ կաթսա է, որի մանրէազերծիչ խցիկում տեղադրում են մանրէազերծվող նյութերն ու պարագաները: Մանրէազերծիչ խցիկում առկա ծորակով օդը դուրս է մղվում խցիկից, իսկ ճնշաչափով որոշվում է խցիկում կուտակված ճնշումը: Մանրէազերծիչ խցիկը ունի ապահովիչ փական, որով ճնշման չափից ավելի բարձրացման դեպքում կարելի է բաց թողնել կուտակված գոլորշին՝ կանխելով ավտոկլավի պայթյունը:



Նկար 19. Մեխանիկական կարգավորմամբ ուղղահայաց ավտոկլավ (աջից) և դրա գծապատկերը (ձախից):

1. Մանրէազերծիչ խցիկ, 2. Մանրէազերծիչ խցիկից օդը դուրս մղող խողովակի ծորակ, 3. Դնշաչափ, 4. Ապահովիչ փական, 5. Ջրագոլորշիային խցիկ, 6. Չափար, 7. Ջրաչափային ապակյա խողովակ, 8. Ջրագոլորշիային խցիկի ներքին պատի անցքեր, 9. Պահպանիչ պարպան, 10. Կափարիչ, 11. Պարվանդան:

Պատերի միջև եղած տարածությունը՝ ջրագոլորշիային խցիկը, հատուկ ձագարով լցվում է ջրով (աղային նստվածքներից խուսափելու համար ցանկալի է լցնել թորած ջրով) մինչև որոշակի մակարդակ: Ջրի մակարդակը որոշվում է հատուկ ջրաչափային ապակյա խողովակով, որի առավելագույն նշաչափը գերազանցել ցանկալի չէ, քանի որ ջրի եռման ընթացքում այն կարող է անցնել մանոմետրը միացնող խողովակի մեջ և խաթարել մանոմետրի աշխատանքը: Ջրագոլորշիային խցիկի ներքին պատի վերին հատվածում առկա են անցքեր, որոնց շնորհիվ գոլորշին ներթափանցում է մանրէազերծիչ խցիկ: Կաթսան արտաքինից ծածկված է պահպանիչ պատյանով: Հերմետիկություն ստեղծելու համար ավտոկլավը պինդ փակվում է ռեզինե մեջադիր կրող զանգվածեղ կափարիչով: Մանրէազերծվող առարկաները տեղադրվում են հատուկ պատվանդանի վրա:

Ավտոկլավացում: Կախված ավտոկլավի տեսակից մանրէազերծման առանձին գործողությունները կարող են տարբերվել: Համապատասխանաբար տարբեր է նաև դրանց հետ աշխատելու տեխնիկան: Սակայն տարբեր ավտոկլավներում մանրէազերծման ընթացքի հիմնական մոտեցումները նույնն են:

Աշխատանքից առաջ պետք է զննել ավտոկլավը և չափիչ սար-

քաղորումները: Ավտոկլավի ցանկացած անսարքության դեպքում (մանումետրի սլաքի գրոյից շեղման, ջրաչափային խողովակի ճեղքի առաջացման) աշխատել չի թույլատրվում: Սարքի զննումից հետո, ջրագոլորշիային խցիկը պետք է լցնել ջրով, մինչև ջրաչափային խողովակի վերին նիշը: Մանրեագերծիչ խցիկի մեջ հատուկ պատվանդանի վրա տեղադրվում են մանրեագերծվող նյութերը: Առարկաները պետք է դասավորված լինեն իրարից որոշակի հեռավորության վրա, որպեսզի գոլորշին ազատ թափանցի դրանց միջով, հակառակ դեպքում, նյութերը լիարժեք ջերմամշակման չեն ենթարկվի և, հետևաբար, չեն մանրեագերծվի: Մանրեագերծիչ խցիկում առարկաները տեղադրելուց հետո պետք է փակել ավտոկլավի կափարիչը, այնուհետև բացել մանրեագերծիչ խցիկն արտաքին օդի հետ միացնող ծորակը և միացնել էլեկտրական սնուցմանը:

Մանրեագերծիչ խցիկից մնացորդային օդի հեռացումը ավտոկլավացման գործընթացի անհրաժեշտ պայմանն է, քանի որ մույն ճնշման տակ գոլորշու ջերմաստիճանն ավելի բարձր է, քան օդի և գոլորշու խառնուրդինը: Ավտոկլավում օդ մնալու դեպքում նյութը կարող է չմանրեագերծվել: Ավտոկլավից մնացորդային օդի հեռացման առավել պարզ և տարածված մեթոդը գոլորշիով օդի դուրս մղումն է: Ջրագոլորշին օդի հետ դուրս է մղվում ծորակի վրա ամրացված ռետինե փողրակով ջրով լցված հատուկ տարայի կամ կոյուղուն միացված հատուկ խողովակի մեջ: Օդի դուրս մղումը գոլորշիով չպետք է գերազանցի 15-20 րոպեն, այլապես ջրի ամբողջական գոլորշիացման արդյունքում ավտոկլավի աշխատանքը կխափանվի: Օդի ամբողջական հեռացման մասին վկայում է կայուն անդադար հագեցած գոլորշու շիթը: Հագեցած գոլորշու շիթը պետք է շարունակել դուրս մղել մինչև 10 րոպե: Գոլորշու ծախսը նվազեցնելու համար կարելի է կիսով չափ բացել ծորակը: Ժամանակակից ավտոկլավներում օդը մանրեագերծիչ խցիկից հեռացվում է վակուումային պոմպի օգնությամբ:

Օդը հեռացնելուց հետո ծորակը փակվում է, և ճնշումը բարձրացվում համապատասխան արժեքի: Ավտոկլավացման պայմանակարգը արտահայտվում է ավելցուկային մթնոլորտային ճնշման միավորներով և տևողությամբ, օրինակ՝ մանրեագերծում ավտոկլավում 1 ամս պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում: Ավտոկլավի ճնշաչափի վրա նշվում է ավտոկլավում առաջացած այն ավելցուկային ճնշումը, որը բարձր է նորմալ մթնոլորտայինից: Հաճախ մանրեագերծման պայմանակարգը բնութագրվում է ջերմաստիճանով և ժամանակով:

Այն պահին, երբ ճնշաչափի սլաքը հասնում է հավելյալ ճնշման ցուցանիշին, և, հետևաբար, գոլորշու ջերմաստիճանը հասնում է ցանկալի մեծության, ճնշման այդ մակարդակը մեխանիկական կամ ավտոմատ կարգավորմամբ պահպանվում է անհրաժեշտ ժամանակահատվածում: Մանրէագերծելուց հետո դադարեցվում է ավտոկլավի էլեկտրասնուցումը: Ավտոկլավում ճնշումը աստիճանաբար ընկնում է՝ հավասարվելով մթնոլորտայինին: Միայն այս դեպքում կարելի է բացել գոլորշին հեռացնող խողովակի ծորակը: Այս ծորակի վաղաժամ բացումը կարող է հանգեցնել սննդամիջավայրերի բուռն եռման, որն իր հերթին պատճառ է հանդիսանում բամբակյա խցանների խոնավացմանը և նույնիսկ ապախցանմանը: Մնացորդային գոլորշու հեռացումից հետո կարելի է բացել ավտոկլավի կափարիչը՝ պահպանելով անվտանգության կանոնները դեմքի և ձեռքերի գոլորշիահարումից խուսափելու համար: Ժամանակակից ավտոկլավների վակուումային պոմպը հեռացնում է մնացորդային գոլորշին և մասամբ չորացնում մանրէագերծվող նյութը:

Քանի որ ավտոկլավն աշխատում է բարձր ջերմաստիճանի և բարձր ճնշման պայմաններում, ապա սխալ աշխատանքը կարող է դժբախտ պատահարների պատճառ դառնալ: Ավտոկլավի տեղադրումն ու դրա հետ աշխատանքն իրականացվում է համաձայն անվտանգության կանոնների, որոնք նշվում են ավտոկլավին կցված հրահանգների մեջ: Ավտոկլավի հետ աշխատել բույլատրվում է միայն մասնագիտացված աշխատողներին:

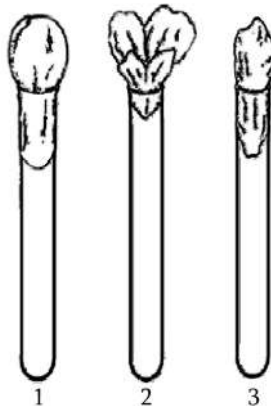
Ավտոկլավի մանրէագերծիչ խցիկում ջերմաստիճանի հսկման անհրաժեշտության դեպքում, կիրառում են ջերմակայուն նյութեր, որոնք նախապես խառնում են չեզոք ներկանյութերի հետ և տեղադրում մանրէագերծումից առաջ: Որպես ջերմաստիճանի հայտանյութներ օգտագործվում են ֆենամտրենը ($T_{\text{հալ}} 98-100^{\circ}\text{C}$), բենզադալինը ($T_{\text{հալ}} 115^{\circ}\text{C}$), ծծումբը ($T_{\text{հալ}} 119^{\circ}\text{C}$), բենզոյաթթուն ($T_{\text{հալ}} 121-122^{\circ}\text{C}$), միզանյութը ($T_{\text{հալ}} 132^{\circ}\text{C}$), գլյուկոզը ($T_{\text{հալ}} 146^{\circ}\text{C}$), քիմիզանյութը ($T_{\text{հալ}} 180^{\circ}\text{C}$), ասկորբինաթթուն ($T_{\text{հալ}} 187-192^{\circ}\text{C}$): Այս նյութերի 100 գ ավելացնում են 0.01 գ ներկանյութ (ֆուքսին, մեթիլեն կապույտ), մանրակրկիտ խառնում և լցնում ապակյա խողովակների մեջ, որոնք ունեն հավասար տրամագիծ և պատերի հաստություն: Այդ ապակյա խողովակների եզրերը գոդում են և ուղղահայաց դիրքով տեղադրում ավտոկլավում մանրէագերծվող պարագաների միջև: Համապատասխան ջերմաստիճանի հասնելով՝ նյութերը հալվում են և ներկվում համապատասխան գույնով:

Սննդամիջավայրերի նախապատրաստումը մանրէազերծման:

Ավտոկլավացման ընթացքում մանրէազերծվող հեղուկ նյութերի 3-5% գոլորշիանում է, հետևաբար, սննդամիջավայրերը պատրաստելիս խորհուրդ է տրվում ավելացնել պահանջվող ծավալից 5%-ով ավելի թորած ջուր: Այդ դեպքում մանրէազերծումից հետո սննդամիջավայրը (կամ լուծույթը) կունենա պահանջվող խտությունը:

Սննդամիջավայրերը սովորաբար մանրէազերծվում են սրվակներում, անոթներում, ապակյա այլ տարաներում: Խցանները թրջվելուց զերծ պահելու համար տարաները լցվում են իրենց բարձրության կեսից ոչ շատ: Սննդամիջավայրերով լցված տարաները փակվում են բամբակյա կամ այլ տիպի խցաններով: Դրանք պահպանում են սննդամիջավայրերը կոնտամինացումից: Բամբակյա խցանների մանրաթելերը պետք է լինեն հավասարաչափ դասավորված և այնքան խիտ, որպեսզի չխոչընդոտվի գազափոխանակությունը շրջակա միջավայրի հետ: Չափազանց խիտ խցանները դժվարացնում են օդի ներթափանցումը:

Խցանի պատրաստման համար բամբակի տափակ մի կտոր, որում մանրաթելերի ուղղվածությունը զուգահեռ է գլանափաթեթում են: Որպեսզի ստացված խցանը լինի անհրաժեշտ խիտ, այն մաքուր ապակյա հարթակի վրա գլանափաթեթում են ձեռքի ավով: Սովորական սրվակի համար խցանի երկարությունը պետք է լինի 4 սմ: Խցանը պետք է մտնի սրվակի մեջ 1.5-2 սմ (նկար 20): Սրվակի ձևը պահպանելու համար այն պետք է հանել սրվակից պտտատական շարժումներով: Այնուհետև խցանը ծածկվում է մաքուր թանգիվով:



Նկար 20. Բամբակյա խցաններով սրվակներ:

1. Խցանը ճիշդ է պատրաստված, 2. և 3. Խցանները սխալ են պատրաստված:

Մանրէագերծումից առաջ սրվակների և անոթների խցանները փաթաթում են թղթով: Չի կարելի ավտոկլավում մանրէագերծվող անոթների խցանները ծածկել ցելոֆանով, փայլաթիթեղով կամ այլ նյութերով, որոնք թափանցելի չեն գոլորշու համար: Գոլորշին պետք է ներթափանցի խցանով դեպի անոթ, հակառակ դեպքում միջավայրերը չեն տաքանա անհրաժեշտ չափով և չեն մանրէագերծվի: Ապակյա, ռեզինե, փայտե, պլաստմասե խցանների մանրէագերծման դեպքում դրանք փաթաթում են երկշերտ թղթով և ամրացնում բամբակյա խցանով փակ անոթին: Խցանները փոխանակվում են մանրէագերծ պայմաններում, սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցին մոտ:

Ավտոկլավացման պայմանակարգի ընտրությունը: Ավտոկլավում մանրէագերծումն իրականացվում է 111-138°C պայմաններում, այսինքն՝ 0.5-2.5 ամն պայմաններում: 111°C-ից ցածր ջերմաստիճանը հուսալի չէ, իսկ 138°C-ից բարձրը, որպես կանոն, նպատակահարմար չէ, ավելին՝ ինչքան բարձր է գոլորշու ճնշումը, այնքան դժվար է ավտոկլավի շահագործումը: Առանց վակուումային պոմպերի ավտոկլավների համար առավել հուսալի պայմանակարգերն են՝ մանրէագերծումը 121°C ջերմաստիճանում (1 ամն) 15-45 րոպեի ընթացքում և մանրէագերծումը 128°C ջերմաստիճանում (1.5 ամն) 10-30 րոպեի ընթացքում: Հաճախ սննդամիջավայրերի մանրէագերծումը իրականացվում է 0.5 և 1 ամն պայմաններում: Ավտոկլավացման ջերմաստիճանն ու պահաժամը որոշվում է առաջին հերթին սննդամիջավայրերի կազմով, բաղադրամասերի ջերմության նկատմամբ կայունությամբ: Կաթն ու ժելատինային սննդամիջավայրերը, զարեջրային քաղցուն, հյութերը, շաքարասնկային լուծանվածքը, որոնք պարունակում են շաքարներ, վիտամիններ կամ հեշտ քայքայվող նյութեր սովորաբար մանրէագերծում են 0.5 ամն պայմաններում 15-30 րոպեի ընթացքում: Մսապեպտոնային սննդամիջավայրերը կարելի է մանրէագերծել 1 ամն պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում: Ազար-ազար պարունակող սննդամիջավայրերը մանրէագերծվում են դժվարությամբ, քանի որ մանրէագերծումը սկսվում է միայն ազար-ազարը հալվելուց հետո: Հալված ազար-ազարը մանրէագերծելու համար անհրաժեշտ է երկու անգամ ավելի ժամանակ, քան մույն քանակությամբ ջրի մանրէագերծման համար: Դժվարությամբ են մանրէագերծվում փոշիացված նյութերը (տալկը, կավիճը), ինչպես նաև մածուցիկ հեղուկները (գլիցերինը, վազելինային յուղը), քանի որ դրանք վատ են փոխանցում ջերմությունը և տաքանում են

շատ դանդաղ: Այդպիսի նյութերը ենթարկում են չոր մանրէագերծման ջեռոցներում 160°C ջերմաստիճանային պայմաններում 2 ժամվա ընթացքում, կամ 170°C ջերմաստիճանային պայմաններում 1 ժամվա ընթացքում: Յուրի կամ փոշու շերտն անոթում չպետք է գերազանցի 1.5 սմ:

Որոշ սուբստրատներ, օրինակ՝ հողը, որը պարունակում է ջերմակայուն սպորներ, մանրէագերծում են 1 ամս պայմաններում մեկ անգամ 2 ժամ տևողությամբ կամ երկու օր շարունակ 1-ական ժամ, երբեմն էլ՝ 2 ամս պայմաններում 2 ժամ:

Մանրէագերծման պայմանակարգն ընտրելիս պետք է հաշվի առնել նաև սննդամիջավայրի pH-ը: Թթվային pH-ի պայմաններում սննդամիջավայրի բաղադրության մեջ մտնող նյութերի մեծ մասը կարող են հիդրոլիզի ենթարկվել: Ցածր pH-ը և բարձր ջերմաստիճանը երկարատև մանրէագերծման դեպքում նպաստում են նյութերի հիդրոլիզին: Դրա հետևանքով մանրէագերծումից հետո ժելատին կամ մույնիսկ ագար-ագար պարունակող սննդամիջավայրերը կարող են չանդանալ: Հիմնային pH-ի պայմաններում մանրէագերծման ընթացքում նստվածք են անցնում երկաթի աղերը, իսկ շաքարները կարամելացվում են և դառնում ոչ մատչելի: Որոշ դեպքերում մանրէագերծման ընթացքում փոփոխվում է սննդամիջավայրի pH-ը: Օրինակ՝ եթե ածխաջրեր պարունակող սննդամիջավայրի pH-ը 7-ից բարձր է, ապա ավտոկլավում մանրէագերծումից հետո pH-ը կարող է թթվայնանալ ընդհուպ pH 6: Դրանից խուսափելու համար խորհուրդ է տրվում ածխաջրերը, ֆոսֆատները, երկաթի աղերը մանրէագերծել առանձին խիտ լուծույթների ձևով և մանրէագերծումից հետո միայն խառնել անհրաժեշտ հարաբերությամբ:

Մանրէագերծման պայմանակարգը կախված է նաև մանրէագերծվող սուբստրատի ծավալից: Ինչքան մեծ է սուբստրատի ծավալը, այնքան երկարատև պետք է լինի նույն ջերմաստիճանի կամ ճնշման պայմաններում մանրէագերծումը: Նշանակություն ունեն անոթների պատերի հաստությունը, ինչպես նաև անոթների ձևը (աղյուսակ 4): Դա պետք է հաշվի առնել գործնական աշխատանքներում: Դիցուք՝ ցանկալի չէ մանրէագերծել ջերմազգայուն սուբստրատը սրվակների և մեծ ծավալային անոթներում նույն պայմանակարգով: Եթե սննդամիջավայրը մանրէագերծվում է այն պայմանակարգով, որն առաջարկվում է փոքր ծավալների մանրէագերծման համար, ապա մեծ անոթի պարունակությունն այդ պայմանակարգում կարող է չմանրէագերծվել: Եթե սննդամիջավայրը մանրէագերծվում

է այն պայմանակարգով, որն առաջարկվում է մեծ ծավալների մանրեագերծման համար, ապա փոքրածավալ անոթում սննդամիջավայրը մանրեագերծելիս ենթարկվում է երկարատև ջերմամշակման և կարող է փչանալ:

Ավտոկլավացումից հետո մանրեագերծումը ստուգելու համար սննդամիջավայրերը պահում են 30°C ջերմաստիճանում 2-3 օր: Եթե սննդամիջավայրերում նկատվում է մանրէների աճ, նշանակում է, որ սննդամիջավայրը չի մանրեագերծվել, ուստի անհրաժեշտ է այն նորից պատրաստել և մանրեագերծել:

Աղյուսակ 4.
Հեղուկի մանրեագերծման տևողության կախվածությունն անոթի ծավալից

Տարա	Ծավալ		Մանրեագերծման տևողությունը 121-123°C ջերմաստիճանային պայմաններում, րոպե
	մմ	Մլ	
Սրվակներ	18×150		12-14
	32×200		13-17
	38×200		14-20
Անոթներ՝ բարակապատ		50	12-14
		125	12-14
		200	12-15
		500	17-22
		900	19-24
		1000	20-25
		1800	25-30
		2000	30-35
հաստապատ		500	24-28
		1000	25-30
		2000	40-45
Մատրասներ		1000	30-35
Շշեր		9000	50-55
		100	13-17

Կոտորակային մանրեագերծում (տինդալացում) և պաստեռացում: Կոտորակային մանրեագերծում առաջարկել է 1877 թ. Ջ. Տինդալը: Այն կիրառվում է այն սննդամիջավայրերի համար, որոնք փչանում են 100°C-ից բարձր ջերմամշակման ընթացքում: Կոտորակային մանրեագերծման սկզբունքը սննդամիջավայրը կամ դրա առանձին բաղադրամասերը մի քանի անգամ ջերմաշակելն է բնա-

կանոն ճնշման պայմաններում: Կոտորակային մանրէազերծումն իրականացվում է Կոխի եռոցում (նկար 21) կամ ավտոկլավում՝ գոլորշու հոսքով (100°C):

Սննդամիջավայրերը ջեռոցներում ջերմամշակում են մի քանի անգամ՝ յուրաքանչյուրը 10-15 րոպե: Յուրաքանչյուր ջերմամշակումից հետո սննդամիջավայրերը տեղադրում են ջերմապահարան 30°C ջերմաստիճանային պայմաններում 8-12 ժամ՝ կենսունակ սպորների ծլման համար: Ջերմազգայուն բաղադարամասեր պարունակող սննդամիջավայրերը ջերմամշակվում են 60-80°C ջերմաստիճանային պայմաններում՝ յուրաքանչյուր 8-12 ժամը մեկ 4-5 անգամ:



Նկար 21. Ճնշաչափով (Ա) և առանց ճնշաչափի (Բ) Կոխի եռոցներ:

Նյութի մեկանգամյա ջերմամշակումը 100°C-ից ցածր ջերմաստիճանում հայտնի է որպես պաստերացում: Այս մեթոդն առաջին անգամ առաջարկել է Լ. Պաստյորը: Այն նախատեսվում է միայն ոչ սպորավոր մանրէների (կամ մանրէների վեգետատիվ ձևերի) ոչընչացման համար, հետևաբար, այն չի ապահովում մանրէազերծում: Պաստերացումն իրականացնում են 60-80°C 10-30 րոպեի ընթացքում: Պաստերացումն օգտագործում են սննդաբյուրեղացման մեջ, հատկապես կաթի, մրգային հյութերի, գինու, գարեջրի և այլ սննդամթերքների ջերմամշակման համար:

Մանրէազերծում ֆիլտրմամբ: Որոշակի կազմ ունեցող սինթետիկ սննդամիջավայրերը մանրէազերծում են ֆիլտրելով: Այդպիսի սննդամիջավայրերը պարունակում են հեշտ քայքայվող կամ ցնդող

բաղադրամասեր՝ վիտամիններ, ամինաթթուներ (ցիստեին և ցիստին), սպիտակուցներ, արոմատիկ ածխաջրեր, հակաբիոտիկներ և այլն: Հեղուկների ֆիլտրումն իրականացվում է մանր ծակոտիներ ունեցող նյութերի՝ ասբեստի, ցելյուլոզի, ճենապակու, կաոլինի կիրառմամբ, որոնք հեշտությամբ մակակլանում են մանրէների բջիջները:

Տեսականորեն մանրէազերծող ֆիլտրեր են համարվում 0.7 մկմ տրամագիծ ունեցող ծակոտիներով նյութերը: Գործնականում ֆիլտրերի պիտանելիությունը որոշվում է դրանցով որևէ մանրէի, օրինակ՝ *Serratia marcescens*-ի կախության փորձնական ֆիլտրմամբ: Մանրէազերծվածությունը որոշվում է սննդամիջավայրում մեծ քանակությամբ ֆիլտրատի ցանքով: Եթե 5 օրում թեստ օրգանիզմը չի աճում, ապա այդպիսի ֆիլտրերը կարելի է օգտագործել մանրէազերծման նպատակով:

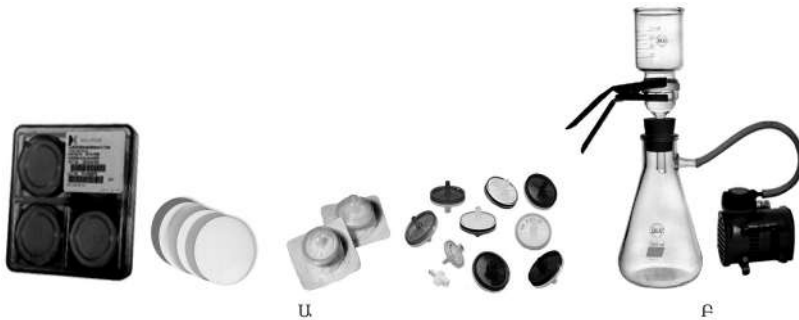
Լայն տարածում են ստացել թաղանթային ֆիլտրերը, որոնք տարբեր տրամագիծ և չափս ունեցող միտրոցելյուլոզային սկավառակներ են: Թաղանթային ֆիլտրերը, կախված ծակոտիների մեծությունից, կարող են օգտագործվել ֆիլտրման կամ մանրէազերծման նպատակով: Մանրէազերծման նպատակով օգտագործում են «Վլադիպոր» (Ռուսաստան) ընկերության արտադրության № 1 - 4 ֆիլտրերը, «Սինպոր» (Չեխիա) ընկերության արտադրության՝ № 5 - 10 և «Միլիպոր» (ԱՄՆ) ընկերության արտադրության VF, VM, VC, SLGS, SLHA, DA ֆիլտրերը:

Ասբեստի և ցելյուլոզի խառնուրդներից պատրաստված խիտ սկավառակները կոչվում են Ջեյտցի ֆիլտրեր: Ծակոտիների չափսերից կախված դրանք անվանակոչվում են տարբեր հապավումներով. EK – ծակոտիների տրամագիծը 1.5-1.8 մկմ է, EKS՝ 1.2-1.5 մկմ, EKS-1՝ 1-1.2 մկմ, և EKP՝ 0.8-1 մկմ (նկար 22 Ա):

Ասբեստային սկավառակը տեղադրվում է չժանգոտվող մետաղից կամ ապակուց պատրաստված բռնակի մեջ՝ բռնակի վերին գլանաձև և ստորին ձագարաձև հատվածների միջև: Բռնակի ստորին ձագարաձև հատվածի խողովակը ռեզինե խցանի միջով միանում է Բունզենի անոթին: Շատ հաճախ այդ ամբողջական սարքն անվանում են Ջեյտցի ֆիլտր (նկար 22 Բ): Նախքան օգտագործելը ֆիլտրերը, բռնակները և դրանք կրող անոթը պետք է լինեն մանրէազերծված:

Թաղանթային ֆիլտրերը մանրէազերծվում են ավտոկլավացմամբ 1 ամն պայմաններում 15 բոպեի ընթացքում կամ երկարատև եռացմամբ: Բռնակը ռեզինե խցանի հետ փաթաթում են թղթով և

մանրեագերծում 1 ամճ պայմաններում 20-30 րոպեի ընթացքում: Ձեյտցի ֆիլտրերը մանրեագերծվում են հավաքված վիճակում:



Նկար 22. Թաղանթային ֆիլտրեր (Ա) և Ձեյտցի ֆիլտրը միացված վակուումային պոմպին (Բ):

Ապակյա ամանեղենի մանրեագերծումը

Ապակյա ամանեղենը հիմնականում մանրեագերծվում է չոր օդով ջերմամշակմամբ ($<180^{\circ}\text{C}$ ջերմաստիճանային պայմաններում 1-3 ժամվա ընթացքում) (աղյուսակ 5): Այս դեպքում ոչնչանում են մանրէների և՛ վեգետատիվ բջիջները, և՛ սպորները:

Աղյուսակ 5.

Չոր ջերմամշակմամբ մանրեագերծման պայմանները

Ջերմաստիճան, $^{\circ}\text{C}$	Ժամանակ, րոպե
140	180
150	150
160	120
170	60

Մանրեագերծումն իրականացվում է հատուկ ջեռոցներում, որոնք տարբերվում են ձևով և ջերմացման եղանակով: Ջեռոցները պատրաստված են ջերմակայուն նյութերից՝ մետաղից և ասբեստից: Ջեռոցներում կան պատվանդաններ, որոնց վրա տեղադրվում են ամանեղենը և ջերմաչափը:

Ջեռոցի պատերի և ջեռուցվող մակերեսի ջերմաստիճանն ավելի բարձր է, քան դրանում գտնվող օդինը, այդ պատճառով ջերմաչափի սնդիկային ծայրը պետք է տեղադրված լինի ջեռոցի խցիկի վերին պատից 6-8 սմ ներքև: Ջեռոցների վերին մասում կան մաս օդափո-

խության համար նախատեսված անցքեր, որոնք մանրէազերծման ընթացքում փակվում են: Ջեռոցները ունեն ջերմակարգավորիչ սարքեր, որով կարգավորվում է անհրաժեշտ ջերմաստիճան:

Ամանեղենի նախապատրաստումը մանրէազերծման: Մանրէազերծումից առաջ ամանեղենը լավ լվացվում է, ապա փաթեթավորվում է թղթով, որպեսզի ջերմամշակումից հետո մնա մանրէազերծ: Պիպետների վերին ծայրերը խցանում են բամբակով, իսկ բամբակի ավելորդ ծայրն այրում են սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցի վրա: Պիպետները փաթեթավորում են 4-5 սմ լայնությամբ թղթե երիզներով: Փաթեթավորումը սկսում են պիպետի ստորին ծայրից և պարուրածն շարժումներով փաթաթում մինչև բամբակով խցանված ծայրը: Փաթեթավորված պիպետները տեղավորում են հատուկ մետաղյա գլանակներում: Պետրիի թասերը փաթեթավորում են 2-4 ական, իսկ մածկաթիակները՝ մեկական, և փաթեթավորում ընդհանուր փաթեթում: Անոթները և սրվակները խցանվում են բամբակյա խցաններով, ապա փաթեթավորում թղթով:

Մանրէազերծում: Մանրէազերծման համար նախապատրաստված ամանեղենը տեղավորում են ջեռոցներում միմյանցից որոշակի հեռավորությամբ, որպեսզի ջերմությունը տարածվի հավասարաչափ: Աշխատանքի ընթացքում ջեռոցը պետք է ամուր փակված լինի, իսկ մանրէազերծումից հետո այն չպետք է բացել մինչև ջերմաստիճանը չիջնի 80°C, հակառակ դեպքում, կտրուկ սառեցման հետևանքով կարող է խախտվել ամանեղենի մանրէազերծվածությունը, իսկ տաք ամանեղենը կարող է ճաքել:

Ամանեղենը կարելի է մանրէազերծել նաև ավտոկլավում: Այս դեպքում մանրէազերծման պայմանները կախված են ամանեղենի ծավալից և ապակու հաստությունից (տե՛ս աղյուսակ 4): Ավտոկլավում մանրէազերծման համար ամանեղենը պատրաստում են նույն ձևով, ինչպես ջեռոցներում մանրէազերծման դեպքում: Հարկավոր է նկատի ունենալ, որ ավտոկլավում ամանեղենը խոնավանում է:

Լաբորատոր գործիքների և պարագաների մանրէազերծումը

Փոքր մետաղյա գործիքները, ինչպես օրինակ՝ մանրէաբանական օղակները կամ ասեղները, նրբունեղիները, մկրատները, ապակյա մածկաթիակները մանրէազերծում են գազայրոցի կամ սպիրտայրոցի բոցով օգտագործելուց անմիջապես առաջ: Աշխատանք

քից առաջ բոցի վրա թեթևակի ջերմամշակման են ենթարկում մաս առարկայական ապակիները և ծածկապակիները, ապակյա մածկաթիակները և ձողիկները, ճենապակյա հավանգները և հավանգալոթերը, անոթների և սրվակների եզրերը, ինչպես մաս խցանները: Բոցի ջերմությունը ոչնչացնում է մանրէների և՛ վեգետատիվ ձևերը, և՛ սպորները: Մանրէաբանական լաբորատորիայում, միանվագ օգտագործման համար նախատեսված ներարկիչներից բացի, շատ հաճախ օգտագործվում են մաս բազմակի օգտագործման ապակյա ներարկիչներ, որոնք մանրէազերծվում են ջեռոցներում 160°C ջերմաստիճանի պայմաններում ամբողջական (75 րոպե), կամ անջատ (60 րոպե): Ամբողջական վիճակում ներարկիչները մանրէազերծում են սրվակում, իսկ անջատ վիճակում՝ փաթաթված թղթում: Ներարկիչներն անջատ կարելի է մանրէազերծել մաս ավտոկլավում (1 ամբ պայմաններում 15-20 րոպե): Ջերմակայուն ամանները, ռետինե խցանները և խողովակները մանրէազերծվում են ավտոկլավում, ընդ որում, թղթով փաթեթավորված: Մանրէազերծման ջերմաստիճանն ընտրվում է ըստ մանրէազերծվող գործիքի ջերմակայունության:

Որոշ առարկաներ, ինչպես օրինակ՝ մետաղյա գործիքները, մանր ապակյա սարքավորումները, թաղանթային ֆիլտրերը, մանրէազերծվում են թորած ջրում՝ երկարատև եռացնելով 20-30 րոպեի ընթացքում: Մետաղյա գործիքները և մանր ապակյա սարքավորումները եռացնում են հատուկ փակ տարաներում՝ մանրէազերծիչներում կամ մետաղյա ամաններում, իսկ թաղանթային ֆիլտրները մանրէազերծում են՝ եռացնելով բամբակյա խցանով փակված ապակյա անոթներում կամ քիմիական բաժակներում: Սակայն, մանրէազերծման այս եղանակը այդքան էլ նպատակահարմար չէ, քանի որ երկարատև եռացման ընթացքում մանրէազերծվող նյութը կարող է վնասվել: Եռացմամբ մանրէազերծումն առավել արդյունավետ է լինում եռացող լուծույթում մանրէազերծիչ նյութերի (օրինակ՝ 2% ֆորմալդեհիդ կամ 0.1% սուլենա) ավելացման դեպքում: Սակայն այս դեպքում էլ առաջանում է մանրէազերծվող նյութերի աղտոտման վտանգ:

Մանրէազերծում գազային նյութերով: Այն սարքավորումները, որոնք ունեն հայելային, օպտիկական և ռադիոէլեկտրոնային կառուցամասեր, ինչպես մաս սարքավորումները, որոնք պատրաստված են ջերմանկայուն նյութերից, օրինակ՝ կենտրոնախոսակային սրվակները, ենթարկում են գազային մանրէազերծման: Գազային մանրէազերծման ընթացքում օգտագործվում են սպորասպան նյու-

քեր, օրինակ՝ էթիլենի օքսիդ, մեթիլբրոմիդ, պրոպիլենի օքսիդ, ֆորմալդեհիդ, գլուտարալդեհիդ, բետա-պրոպիլալատոն, օզոն և այլն: Հատկապես շատ արդյունավետ է էթիլենի օքսիդի և մեթիլբրոմիդի 1:1.44 հարաբերությամբ խառնուրդը («ԷՄ» խառնուրդ):

Գազային մանրէազերծումն իրականացնում են հերմետիկ փակվող հատուկ տարաներում: Մանրէազերծվող նյութերը փաթեթավորվում են գազային մշակումից չփչացող թղթով, քլորփինիլային և նեյլոնային ժապավեններով և այլն: Մանրէազերծումից առաջ վակուումային խցիկի օդը պետք է հեռացնել, որպեսզի ապահովվի օբյեկտի և մանրէազերծիչ նյութի շփումը: Մանրէազերծման ընթացքում վերահսկվում է գազերի կոնցենտրացիան, խոնավությունը, ջերմաստիճանը և մշակման տևողությունը: Որոշ դեպքերում գազային մանրէազերծումն իրականացնում են բարձր ջերմաստիճանում (45-70°C): Մանրէազերծման պայմանակարգը կախված գազի տեսակից և մանրէազերծիչ սարքի կառուցվածքից կարող է տարբերվել: «ԷՄ» խառնուրդով 50°C ջերմաստիճանային պայմաններում 100 լ և ավելի տարողունակություն ունեցող մանրէազերծիչ տարայում մանրէազերծման օպտիմալ պայմանակարգը հետևյալն է՝ խառնուրդի խտությունը 3.36 գ/լ (1.2 ամբ պայմաններում), հարաբերական խոնավությունը՝ 80-100%, տևողությունը՝ 24 ժամ: Մանրէազերծման ավարտից հետո խցիկից վակուումային պոմպի միջոցով հեռացնում են գազերը, և խցիկը որոշ ժամանակ թողնում վակուումային պայմաններում, որպեսզի մանրէազերծվող նյութերի մակերեսից մնացորդային գազերը ապակլանվեն: Դրանից հետո խցիկը լցնում են մանրէազերծված օդով, իսկ մանրէազերծված սարքավորումներն օգտագործում են մանրէազերծումից 24 ժամ հետո: Դա անհրաժեշտ է գազերի ամբողջական հեռացման համար: Այդ ընթացքում առավել նպատակահարմար է խցիկը տեղավորել քարշիչ պահարանում, կամ լավ օդափոխվող տարածքում: Որոշ պլաստմասե իրեր խորհուրդ է տրվում թողնել լրացուցիչ օդավորման պայմաններում ընդհուպ 9 օր: Գազերով մանրէազերծման ընթացքում անհրաժեշտ է պահպանել բուժավոր նյութերի հետ աշխատանքային բոլոր կանոնները:

Մանրէազերծում ճառագայթմամբ: Տարածքների, սարքավորումների, սննդանյութերի մանրէազերծման համար կիրառում են ինֆրակարմիր, ուլտրամանուշակագույն, ռենտգենյան, α - β - և γ -ճառագայթները: Դառագայթման միավորը ռադն է (1 ռադ = 0.01 Գռ), որը էկվիվալենտ է կլանված էներգիային մոտավորապես 100 էրգ/գ: Մանրէազերծող համարվում են 2-3 Մռադ (10^4 Գռ) չափա-

բաժինները: Առավել հաճախ օգտագործում են ուլտրամանուշակագույն ճառագայթումը: Հարկ է նշել, որ ներկայումս առավել տարածում է գտնում միանվագ օգտագործման համար նախատեսված մանրեագերծված ամանեղենը:

Սննդամիջավայրերի, ամանեղենի և այլ լաբորատոր նյութերի մանրեագերծման եղանակները ներկայացված են աղյուսակ 6-ում:

Աղյուսակ 6.

Սննդամիջավայրերի, ամանեղենի և այլ լաբորատոր պարագաների մանրեագերծման եղանակները

Մանրեագերծվող նյութեր	Մանրեագերծման եղանակը	Մանրեագերծման պայմանակարգը	Ծանուցում
Հողային մզվածք պարունակող, կարտոֆիլային և որոշ այլ բնական սննդամիջավայրեր	Ավտոկլավացում	1.5-2 ամճ, 30 րոպե	Բամբակյա խցաններով փակված անոթներում, սրվակներում, շշերում և այլն:
Հեղուկ և ագարացված սննդամիջավայրեր, որոնք չեն պարունակում շաքարներ և 120°C-ում քայքայվող այլ միացություններ	Ավտոկլավացում	1 ամճ, 20 րոպե	Բամբակյա խցաններով փակված անոթներում, սրվակներում, շշերում և այլն:
Հեղուկ և ագարացված սննդամիջավայրեր, որոնք պարունակում են շաքարներ և 120°C-ում քայքայվող այլ միացություններ	Ավտոկլավացում	0.5 ամճ, 20 րոպե	Բամբակյա խցաններով փակված անոթներում, սրվակներում, շշերում և այլն:
Սննդամիջավայրեր, կամ դրա բաղադրիչները, որոնք քայքայվում են 100°C-ից բարձր ջերմաստիճաններում	Կոտորակային մանրեագերծում	Հոսող գոլորշի, 3 ամգամ 30-40 րոպե ընդմիջումներով	Բամբակյա խցաններով փակված անոթներում, սրվակներում, շշերում և այլն:
Սննդամիջավայրեր կամ դրա բաղադրիչները, որոնք տաքացնելիս դենատուրացվում են (սպիտակուցներ, որոշ վիտամիններ, ամինաթթուներ)	Բակտերիական ֆիլտրերով ֆիլտրում	-	-

Մանրէագերծվող նյութեր	Մանրէագերծման եղանակը	Մանրէագերծման պայմանակարգը	Ծանուցում
Վազելինային յուղ, գլիցերին, տալկ	Տաք օդ	160°C, 2 ժամ, կամ 170°C, 1 ժամ	Տարայում նյութի շերտը չպետք է գերազանցի 1.5 սմ-ը
Պետրիի քասեր, պի- պետներ, մածկաքիակներ	Տաք օդ	160°C - 170°C, 2 ժամ	Թղթով փաթե- թավորված (պի- պետների վերին ծայրը պետք է փակված լինի բամբակով)
Անոթներ, սրվակներ, քիմիական բաժակ- ներ, տարաներ, կենտ- րոնախուսակային ապակյա սրվակներ, Բուրիի խողովակներ	Տաք օդ	160°C - 170°C, 2 ժամ	Փակված բամ- բակյա խցան- ներով
Ներարկիչներ	Տաք օդ	160°C, 1 ժամ	Տարանջատված և թղթով կամ շորով փաթեթա- վորված
	Ավտոկլավացում	1 ամճ, 15-20 թուպե	Տարանջատված և թղթով կամ շորով փաթեթա- վորված
Թաղանթային ֆիլտրեր	Ավտոկլավացում	1 ամճ, 15-20 թուպե	Թորած ջրով տարայում
	Եռացում	30 թուպե	Թորած ջրով տարայում
Զեյտցի ֆիլտրեր	Ավտոկլավացում	1 – 1.5 ամճ, 20-30 թուպե	Բռնակի գլանը փակված բամ- բակյա խցանով
	Տաք օդ	160°C, 1 ժամ	Վերին հատվա- ծը թղթով փաթա- թած
Կենտրոնախուսա- կային սրվակներ, պատրաստված ոչ ջերմակայուն պլաստ- մասսայից	Գազային ման- րէագերծում	Կախված է օգ- տագործվող ման- րէասպան նյութից	-
	Ուլտրամանուշա- կագույն ճառա- գայթախարում	Պահաժամը որո- շում են փորձնա- կանորեն	Ճառագայթումից հետո սրվակները պահում են ման- րէագերծված տարաներում

ԳԼՈՒԽ 5 ՄԱՆՐԱԳԻՏԱԿՆԵՐ, ՄԱՆՐԱԳԻՏԱԿՄԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐ

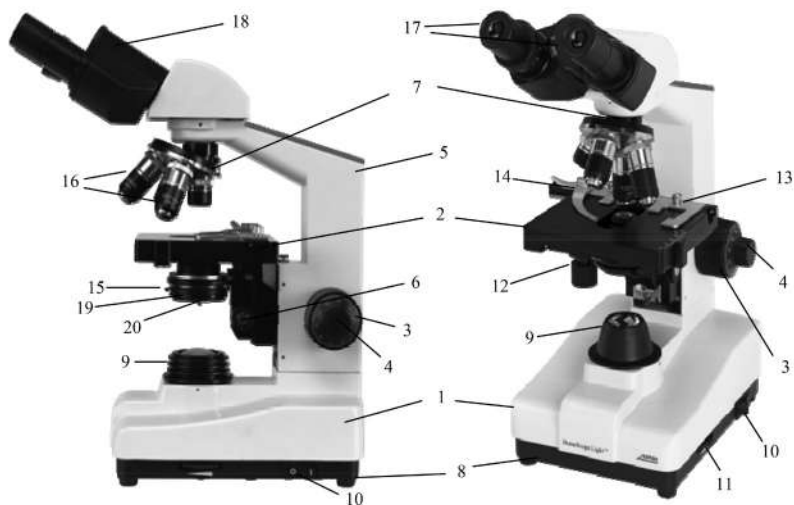
Մանրէային բջիջների մեծությունը չափվում է միկրոմետրերով ($1 \text{ մկմ} = 10^{-3} \text{ մմ}$)*: Այդ պատճառով դրանց ձևաբանության և կառուցվածքի ուսումնասիրությունը հնարավոր է միայն մանրադիտակներով: Մանրադիտակները հարյուրավոր (լուսային մանրադիտակ) կամ տասնյակ հազարավոր անգամ (էլեկտրոնային մանրադիտակ) խոշորացնում են հետազոտվող օբյեկտը: Լուսային մանրադիտակումը ներառում է սովորական լուսադիտամաբ (լուսավոր և մութ տեսադաշտերում), փուլացայտերանգային (ֆազային-կոնտրաստային), լուսարձակային (լյումինեսցենտային) մանրադիտակումը: Վերջերս մշակվել են մանրադիտակման այլ եղանակներ՝ կոնֆոկալ լազերային սքանավորող և զոնդային մանրադիտակում:

HumanScope Light մակնիշի երկփողյա լուսային մանրադիտակի կառուցվածքը

HumanScope Light մակնիշի երկփողյա մանրադիտակը (նկար 23) կազմված է մեխանիկական և օպտիկական մասերից: Մանրադիտակի մեխանիկական մասը կազմված է տակդիրից, կոպիտ նշանառման և մանրաչափային պտուտակներից, փողակապահիչից կամ ամրակալանից, կոնդենստրի բարձակից, կոնդենստրի տեղափոխման պտուտակից, դարձումից, առարկայական սեղանիկից: Տակդիրի ստորին հատվածը կրում է չորս ռետինե ոտիկներ մանրադիտակի սևեռակման համար, վերին հատվածում գտնվում է էլեկտրական լույսի աղբյուրը, իսկ աջ կողմում տեղադրված են լույսի ուժգնությունը կարգավորող պտուտակն ու հոսանքի աղբյուրի անջատիչը: Օբյեկտը կիզակետի բերվում է առարկայական սեղանիկը կոպիտ նշանառման պտուտակով տեղաշարժելով 15 մմ սահմաններում: Մանրաչափային պտուտակը ծառայում է նուրբ կիզակետման համար: Մանրաչափային պտուտակի լրիվ պտույտն առարկայական սեղանիկը տեղաշարժում է 400 մկմ -ով, իսկ մեկ բաժանմունքով պտույտն առարկայական սեղանիկն իջեցնում կամ բարձրացնում է

* $1 \text{ մմ} = 10^3 \text{ մկմ} = 10^6 \text{ նմ} = 10^9 \text{ պկմ} = 10^7 \text{ \AA}$

2 մկմ-ով: Մանրաչափային մեխանիզմը ցանկալի է պտտել մի ուղղությամբ և կես պտույտից ոչ ավելի: Փողակապահիչը իր վրա կրում է առարկայական սեղանիկը, կցափողը, որն իր վրա կրում է փողակները, երկու փողակների միջև անկյունը փոփոխող պտուտակը և դարձունը: Երկու փողակները անշարժ առանցքի նկատմամբ 10° - 30° անկյունով տեղաշարժելով՝ հետազոտողը մանրադիտակը հարմարեցնում է իր աչքերին: Չափս փողակը իր վրա կրում է պտուտակ, որը նախատեսված է թվային տեսախցիկի կիրառման դեպքում վերջինս կիզակետի բերելու համար:



Նկար 23. HumanScope Light մակնիշի երկփողյա լուսային մանրադիտակի կառուցվածքը:

1. Մանրադիտակի տակդիր, 2. Առարկայական սեղանիկ, 3. Կոպիտ նշանառման պտուտակ, 4. Մանրաչափային պտուտակ, 5. Փողակապահիչ կամ ամրակալան, 6. Կոնդենսորի բարձակ, 7. Դարձուն, 8. Ռեյինեն ուրիկներ, 9. Էլեկտրական լույսի աղբյուր, 10. Հոսանքի աղբյուրի անջատիչ, 11. Լույսի ուժգնությունը կարգավորող պտուտակ, 12. Հարթակին ամրացված առարկայական ապակին տեղաշարժող պտուտակ, 13. Շարժական հարթակ, 14. Պրիզ, 15. Կոնդենսոր, 16. Օբյեկտիվներ, 17. Օկուլյարներ, 18. Փողակ, 19. Իրիսային (ապերտուրային) դիաֆրագմ, 20. Լուսաֆիլտր:

Սեղանիկի վրա գտնվում է շարժական հարթակը, որը առարկայական սեղանիկի ձախ կողմում գտնվող վերին պտուտակի միջոցով կարելի է տեղաշարժել դիմախար ուղղությամբ 30 մմ-ի սահմաններում: Սեղանիկի ձախ կողմում գտնվող ստորին պտուտակի օգնու-

քյամբ հարթակին պրկիչով ամրացված առարկայական ապակին կարելի է տեղաշարժել աջ կամ ձախ ուղղությամբ 70 մմ-ի սահմաններում:

Առարկայական սեղանիկի տակ գտնվում է կոնդենստորը (լուսահավաք ապակի), որը մանրադիտակի աջ կողմում գտնվող հաստուկ պտուտակի՝ կոնդենստորի բարձակի օգնությամբ կարող է տեղաշարժվել ուղղահայաց ուղղությամբ 10 մմ-ի սահմաններում:

Մանրադիտակի օպտիկական մասը կազմված է լուսավորող սարքից, օբյեկտիվներից և փողակների վերին մասում տեղադրված օկուլյարներից: Լույսի աղբյուրը ներկառուցված է տակդիրի մեջ անմիջապես կոնդենստորի տակ: Կոնդենստորը կազմված է մի քանի ոսպնյակներից: Դրանք լույսի աղբյուրից ընկնող զուգահեռ ճառագայթները հավաքում են պատրաստուկի հարթության վրա գտնվող մի կետում՝ կիզակետում: Կոնդենստորի մեջ գտնվում է իրիսային (ապերտուրային) դիաֆրագմը, որը կասեցնում է լույսի եզրային ճառագայթների մուտքը: Կոնդենստորի ստորին հատվածին ամրացված է փայլատ ապակիով կամ լուսաֆիլտրով շարժուն օղակը:

Օբյեկտիվը կազմված է ոսպնյակների համակարգից, որոնք գտնվում են մետաղյա շրջանակի մեջ: Դեպի պատրաստուկը ուղղված օբյեկտիվի փոքր ոսպնյակը ամենակարևորն է և կոչվում է դիմային կամ ճակատային: Որքան մեծ է ճակատային ոսպնյակի կոորդյունը, այնքան կարճ է կիզակետային կամ աշխատանքային (դիմային ոսպնյակից մինչև օբյեկտ) տարածությունը և մեծ է օբյեկտիվի խոշորացումը: Օբյեկտիվի խոշորացման թվային արժեքը նրշվում է շրջանակի վրա:

Տարբերում են չոր և իմերսիոն համակարգերի օբյեկտիվներ: Չոր համակարգի օբյեկտիվների կիրառման դեպքում օբյեկտիվի և պատրաստուկի միջև գտնվում է օդային տարածություն, իսկ իմերսիոն համակարգի դեպքում ճակատային ոսպնյակի և պատրաստուկի միջև տարածությունը լցված է ջրով կամ հատուկ յուղով (սովորաբար կիրառվում է մայրիի յուղ): Չոր համակարգի օբյեկտիվները խոշորացնում են 4, 8, 10, 20 և 40 անգամ, իսկ իմերսիոն համակարգինը՝ 90 և 100 անգամ:

Օկուլյարը կազմված է երկու ոսպնյակից՝ վերին (ակնային) և ստորին (հավաքող): Օկուլյարները խոշորացնում են 5, 7, 10, 12, 15 և 20 անգամ: Օկուլյարի ընդհանուր խոշորացումը այնքան մեծ է, որքան փոքր է դրա կազմի մեջ մտնող ոսպնյակների կիզակետային հեռավորությունը: Ուստի մեծ խոշորացման օկուլյարները կլինեն

կարճ, իսկ փոքր խոշորացման օկուլյարները՝ երկար: Մանրադիտակի ընդհանուր խոշորացումը հավասար է օբյեկտիվի և օկուլյարի խոշորացումների արտադրյալին: Օրինակ՝ 15 անգամ խոշորացնող օկուլյարի և 90 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառման դեպքում օբյեկտը կմեծանա $15 \times 90 = 1350$ անգամ:

Մանրադիտակի խոշորացնող ֆունկցիայից անհրաժեշտ է տարբերել դրա մյուս ֆունկցիան՝ լուծող ունակությունը, որով որոշվում է օբյեկտի հստակ պատկերի ստացումը: Մանրադիտակի լուծող ունակությունը կախված է օգտագործվող լույսի ալիքի երկարությունից և մանրադիտակի օպտիկական համակարգի թվային ապերտուրայից: Մանրադիտակի լուծող ունակությունը հակադարձ համեմատական է երկու կետերի միջև եղած նվազագույն հեռավորությանը (d), երբ այդ կետերն ընկալվում են առանձին: Այդ հեռավորությունը՝ d-ն որոշվում է հետևյալ բանաձևով՝

$$d = \frac{\lambda}{A_1 + A_2},$$

որտեղ A_1 -ը օբյեկտիվի թվային ապերտուրան է, A_2 -ը՝ կոնդենսորի թվային ապերտուրան, λ -ն՝ օգտագործվող լույսի ալիքի երկարությունը: Թվային ապերտուրան (A) ընկնող լույսի փնջի մաքսիմալ անկյան կեսի սինուսի (α) և օբյեկտիվի ճակատային ուսպնյակի և ծածկապակու միջև գտնվող միջավայրի բեկման ցուցչի (n) արտադրյալն է՝ $A = n \cdot \sin \alpha$:

Այսպիսով, լուծող ունակությունն այնքան ավելի բարձր կլինի, որքան կարճ է օգտագործվող լույսի ալիքի երկարությունը և մեծ է միջավայրի բեկման ցուցիչը: Բեկման ցուցիչը մեծացնելու նպատակով օբյեկտիվի ճակատային ուսպնյակի և հետագոտվող օբյեկտի միջև տեղավորում են խմբափոն յուղի կաթիլ, որի բեկման ցուցիչը 1.51 է և մոտ է ապակու բեկման ցուցչին ($n=1.52$): Համեմատության համար նշենք, որ օղի բեկման ցուցիչը 1 է, իսկ ջրինը՝ 1.3:

Յուրաքանչյուր օբյեկտիվի վրա նշված է դրա խոշորացումը և ապերտուրան: Այսպես՝ 8 անգամ խոշորացման դեպքում թվային ապերտուրան 0.2 է, 40 անգամ խոշորացման դեպքում՝ 0.65, իսկ 100-ի դեպքում՝ 1.25:

Մանրադիտակի հետ աշխատանքի կանոնները

Մանրադիտակով աշխատելիս պետք է պահպանել ստորև քվարկված կանոնները և գործողությունների հաջորդականությունը:

1. Մանրադիտակը տեղադրում են սեղանի եզրին այնպես, որ պետքի օկուլյարները գտնվեն աչքերի դիմաց, և աշխատանքի ընթացքում այն չեն տեղաշարժում: Տետրը և աշխատանքի համար անհրաժեշտ բոլոր պարագաները դնում են մանրադիտակի աջ կողմում: Մանրադիտակով աշխատում են նստած: Աթոռի բարձրությունը պետք է լինի այնպես, որպեսզի ուղիղ նստած հնարավոր լինի նայել օկուլյարներով:
2. Այնուհետև բացում են դիաֆրագմը, իսկ կոնդենստորը բարձրացնում:
3. 10× խոշորացնող օբյեկտիվը բերվում է աշխատանքային դրությամբ:
4. Նայելով օկուլյարների մեջ և օգտվելով էլեկտրալամպից՝ առավելագույն չափով և հավասարաչափ լուսավորում են տեսողության դաշտը: Աշխատում են դիտել երկու աչքով, հակառակ դեպքում ամբողջ ծանրությունը կընկնի մեկ աչքին, իսկ դա կարող է առաջացնել աչքի մկանների գերհոգնածություն:
5. Պատրաստուկը տեղավորում են առարկայական սեղանի վրա (ուսումնասիրվող օբյեկտը պետք է գտնվի օբյեկտիվի տակ), և, կողքից նայելով, առարկայական սեղանիկը բարձրացնում են կոպիտ նշանառման պտուտակի օգնությամբ այնպես, որպեսզի ժամանակավոր պատրաստուկների դեպքում օբյեկտիվի դիմային ոսպնյակի և պատրաստուկի միջև լինի 4-5 մմ հեռավորություն, իսկ մշտական պատրաստուկների դեպքում օբյեկտիվն ընկղմվի իմերսիոն յուղի մեջ:
6. Նայելով օկուլյարների մեջ և կոպիտ նշանառման պտուտակը պտտելով ժամսլաքի ուղղությամբ՝ առարկայական սեղանիկը բարձրացնում են ընդհուպ այն դրության, որում լավ է երևում օբյեկտի պատկերը: Եթե պատկերը չի երևում (անհետացել է), ապա պետք է սկզբից կրկնել 5 և 6 կետերի բոլոր գործողությունները: Չի կարելի նայել օկուլյարների մեջ և, միաժամանակ, կոպիտ նշանառման պտուտակը պտտելով, բարձրացնել առարկայական սեղանիկը, քանի որ այդ ընթացքում դիմային ոսպնյակը կարող է սեղմել ծածկապակույն (ժամանակավոր պատրաստուկների դեպքում) կամ առարկայական

ապակուն (մշտական պատրաստուկների դեպքում)՝ ոսպնյակի վրա առաջացնելով քերծվածքներ: Պատկերը ստանալով՝ սեղանը տեղաշարժող պտուտակների օգնությամբ պատրաստուկը տեղաշարժում են, գտնում օբյեկտի անհրաժեշտ տեղը, տեղավորում այն տեսադաշտի կենտրոնում, և պատրաստուկն ամրացնում պրկիչներով:

7. Պատկերի հստակությունը ձեռք են բերում՝ համապատասխանեցնելով օբյեկտիվի վրա ընկնող լույսի փնջի և օբյեկտիվի դիմային ոսպնյակի տրամագծերը: Չափազանց շատ լուսավորվածության դեպքում պատկերման ցայտոնությունն ավելացնում են կոնդենստորն իջեցնելով:
8. Դարձունը շրջելով՝ 40× կամ 100× խոշորացնող օբյեկտիվին տալիս են աշխատանքային դրություն: Այնուհետև մանրաչափային պտուտակի օգնությամբ ձեռք են բերում օբյեկտի պատկերման հստակություն: Պետք է հիշել, որ մանրաչափային պտուտակը մի ուղղությամբ կարելի է պտտել կես պտույտից ոչ ավելի: Եթե 40× կամ 100× խոշորացման օբյեկտիվի տեղակայման ընթացքում պատկերը բոլորովին չի ստացվում, այն աշխատում են ստանալ կոպիտ նշանառման պտուտակը ժամսլաքի ուղղությամբ գոլշորեն պտտելով: Եվ միայն դրանից հետո օբյեկտը կիզակետում են մանրաչափային պտուտակի օգնությամբ:
9. Մեծ խոշորացմամբ աշխատանքը ավարտելուց հետո դարձունով տեղակայում են փոքր խոշորացման օբյեկտիվները և միայն դրանից հետո առարկայական սեղանիկից հեռացնում պատրաստուկը: Պատրաստուկը չի կարելի հեռացնել, երբ տեղակայված է 100× խոշորացնող օբյեկտիվը, քանի որ դրա աշխատանքային հեռավորությունը հավասար է 0.6 մմ, և այդ գործողության հետևանքով կարող է վնասվել դիմային ոսպնյակը:

Մանրադիտակի խնամքը: Միայն ճիշտ խնամքի դեպքում մանրադիտակը կարող է շահագործվել երկարատև: Հատկապես մանրազնին պետք է հետևել օբյեկտիվների, օկուլյարների, կոնդենստորի, լուսավորող հարմարանքի մաքրությունը: Դրանց փոշին մաքրում են մանրադիտակին հավելված վրձնիկով, իսկ հետո սրբում են բամբակյա լաթի կտորով, որը պահում են փակ տեղում: Աղտոտման դեպքում պետք է լաթի կտորը թրջել ջրով, իսկ եթե դրանից հետո էլ ոսպնյակի փառը չի անցնում, ապա լաթի կտորը թրջում են մաքուր բեն-

զինով կամ եթերի և սպիրտի խառնուրդով: Անթույլատրելի է ոսպնյակը տրորել մատներով, թղթի կամ լաթի կտորներով:

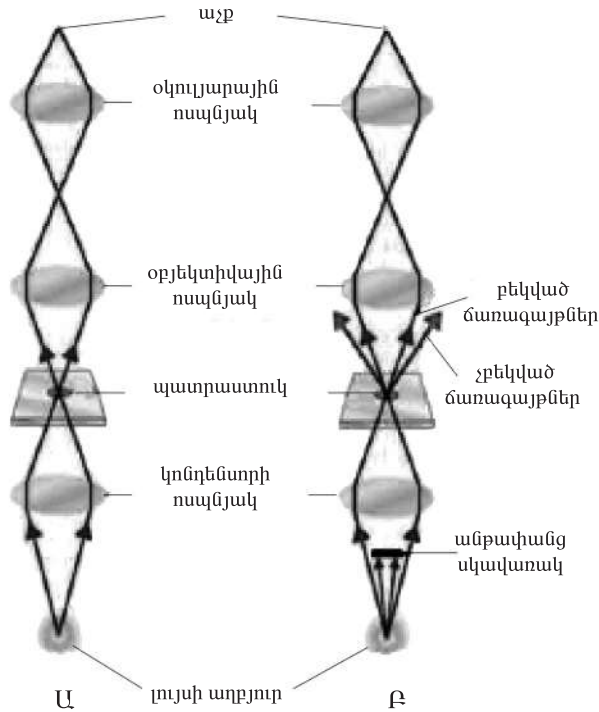
Աշխատելիս ոսպնյակները պաշպանում են մեխանիկական վնասվածքներից, հեղուկների, հատկապես թթուների և ռեակտիվների ազդեցությունից:

Մանրադիտակի մեխանիկական մասերի աշխատանքի ընթացքում դժվարությունների դեպքում ուժ չպետք է գործադրել: Անհրաժեշտ է պարզել անսարքության պատճառը և վերացնել այն:

Աշխատանքն ավարտելուց հետո սրբում են մանրադիտակի բոլոր մասերը, այն ծածկում պոլիէթիլենային պարկով և դնում պահարանի մեջ: Մանրադիտակը տեղափոխում են երկու ձեռքով. մեկով բռնում են փողակապահիչը, մյուսով՝ տակդիրը:

Մանրադիտակային հետազոտումը մութ տեսադաշտում

Նուրբ կառուցվածքները կենդանի վիճակում դիտելիս հաճախ չեն երևում լուսավոր տեսադաշտում: Այդ պատճառով հաճախ կենդանի պատրաստուկները լուսավորվում են լույսի թեք ճառագայթներով մութ տեսադաշտում: Այդ ճառագայթները չեն ընկնում օբյեկտի վի մեջ, ուստի տեսադաշտը երևում է մութ: Լույսի թեք ճառագայթները, անցնելով պատրաստուկի միջով, զգալի չափով անդրադառնում են բջիջների մակերեսից և, շեղվելով իրենց սկզբնական ուղղությունից, ընկնում են օբյեկտի վի մեջ (նկար 24): Այդ դեպքում մութ տեսադաշտում երևում են վառ լուսավորված մանրէների բջիջները: Այդպիսի լուսավորություն կարելի է ստանալ մանրադիտակի սովորական կոնդենսորը փոխարինելով հատուկ կոնդենսորով, որի կենտրոնական հատվածը մթնեցված է, ուստի պատրաստուկի հարթության վրա ընկնում են լույսի ոչ թե կենտրոնական, այլ միայն կողքային ճառագայթները: Մութ տեսադաշտում մանրադիտակմամբ կարելի է հետազոտել բավականին մանր օբյեկտներ, որոնց մեծությունը չափվում է միկրոմետրի հարյուրավոր մասերով: Սակայն մութ տեսադաշտում մանրադիտակմամբ կարելի է տարբերել միայն հետազոտվող օբյեկտների ուրվագծերը, իսկ օբյեկտի ներքին կառուցվածքի ուսումնասիրության հնարավորությունը բացառվում է:



Նկար 24. Լույսի ալիքի ուղին:

Ա) Լուսավոր տեսողաչյուրում մանրադիրակելիս, Բ) Մուր տեսողաչյուրում մանրադիրակելիս:

Մանրադիրակում փուլացայտերանգային հարմարանքի օգնությամբ

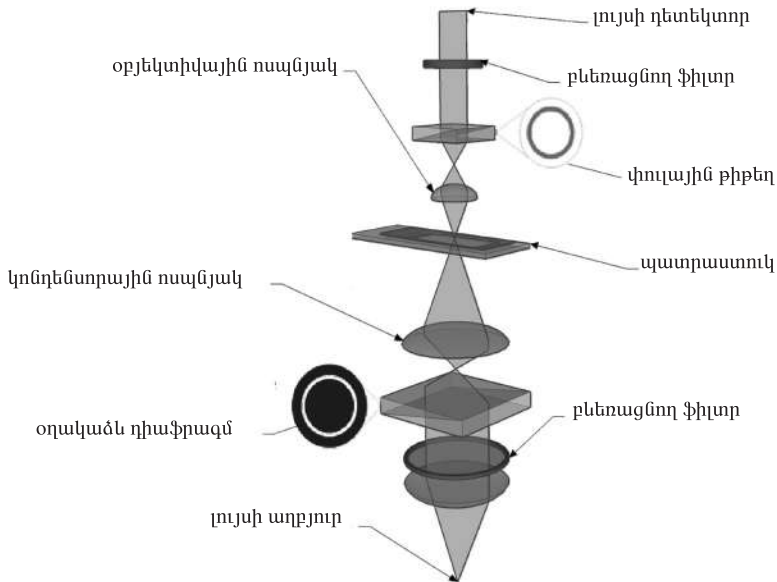
Փուլացայտերանգային մանրադիրակման էությունը թափանցիկ օբյեկտների միջով անցնելիս լույսի ճառագայթների փուլային տարբերությունների փոխակերպումն է ամպլիտուդայինի, որի հետևանքով օբյեկտները դառնում է ավելի ցայտուն տեսանելի: Մարդու աչքն ընկալում է լույսի ալիքի երկարության և դրա ամպլիտուդի տարբերությունները (այսինքն՝ գույնի և լույսի ուժգնության տարբերությունները), սակայն ունակ չէ տարբերակելու լույսի ալիքի փուլի տեղաշարժը: Մանրէների չներկված բջիջները լավ տեսանելի են սովորական լուսային մանրադիրակով միայն այն դեպքում, երբ

դրանց միջով անցնող լույսի էներգիայի զգալի մասը կլանվում է: Այդ դեպքում օբյեկտից (մանրէային բջջից) դուրս եկող լուսային ալիքը ունի ավելի փոքր ամպլիտուդ, հետևաբար բջիջներն ընկալվում են հետազոտողի աչքով ավելի մուգ, քան միջավայրը: Սակայն բազմաթիվ մանրէներ, որոնց չափսերն ընկած են մանրադիտակի լուծող ունակության սահմաններում, քիչ են տարբերվում միջավայրից իրենց բափանցելիությամբ: Այդ մանրէներով անցնող լուսային ճառագայթի ամպլիտուդը գրեթե չի փոփոխվում, այդ պատճառով օբյեկտները վատ են տարբերակվում կամ նույնիսկ տեսանելի չեն լուսային մանրադիտակում:

Փուլացայտերանգային հարմարանքի կիրառումը թույլ չի տալիս մեծացնել մանրադիտակի լուծող ունակությունը, բայց թույլ է տալիս ավելի հստակ տեսնել թափանցիկ օբյեկտները և տարբերակել խոշոր բջիջների որոշ կառուցվածքներ:

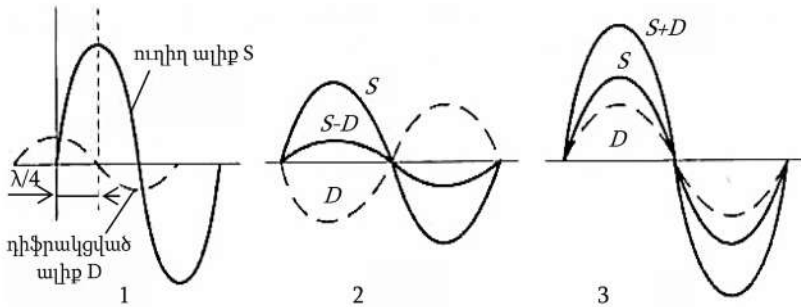
Փուլացայտերանգային մանրադիտակի օպտիկական համակարգը կազմված է փուլային թիթեղից և օղակաձև դիաֆրագմից: Փուլային թիթեղը գտնվում է օբյեկտիվի հետին կիզակետային հարթության վրա և իրենից ներկայացնում է մետաղյա օղակով թափանցիկ սկավառակ: Օղակաձև դիաֆրագմը գտնվում է կոնդենսորի տակ և իրենից ներկայացնում է օղակաձև թափանցիկ ճեղքով ոչ թափանցիկ թիթեղ (նկար 25):

Լույսի ալիքն անցնելով մանրէների բջիջների միջով՝ ուղիղ ճառագայթների համեմատությամբ ետ է մնում ըստ փուլի մոտավորապես $1/4$ լ-ով: Մանրադիտակի օբյեկտիվում այդ երկու ալիքները ենթարկվում են ինտերֆերենցիայի: Առաջացած ալիքն ունի ուղիղ ալիքի երկարությունը և ամպլիտուդան, բայց որոշ չափով տարբերվում է դրանից իր փուլով: Այս տարբերությունը բավարար չէ, որպեսզի ինչ-որ մասնիկ տեսնել սովորական մանրադիտակում: Փուլերի տարբերությունն ամպլիտուդայինի փոխակերպման համար կիրառվում է փուլային թիթեղը, որը լրացուցիչ տեղաշարժում է դիֆրակցիայի ենթարկված ճառագայթը $1/4$ լ-ով:



Նկար 25. Լույսի ալիքի ուղին փուլացայտերանգային հարմարանքով մանրադիտակելիս:

Փուլային էֆեկտը ստեղծվում է պատրաստուկի միջով անցնելիս չշեղված ուղիղ ճառագայթների և եզրային դիֆրակցիայի ենթարկված ճառագայթների ինտերֆերենցիայի հետևանքով: Եզրային ճառագայթներն անցնելով օբյեկտի և փուլային թիթեղի միջով կամ փուլով համընկնում են ուղիղ ճառագայթների հետ, կամ տեղաշարժվում են ուղիղ ճառագայթների նկատմամբ $1/2 \lambda$ -ով, այսինքն՝ գտնվում են հակափուլում: Առաջին դեպքում երկու ալիքները գումարվում են և օբյեկտը դառնում է ավելի լուսավոր, քան միջավայրը: Դա լուսավոր նեգատիվ ցայտերանգն է: Այդ սկզբունքով է աշխատում անոպտրային մանրադիտակը: Երկրորդ դեպքում դիֆրակցիոն ալիքը համվում է ուղիղ ալիքից և օբյեկտը դառնում է ավելի մուգ: Դա մուգ պոզիտիվ ցայտերանգն է (նկար 26): Բացի դրանից, օղակաձև դիաֆրագմը նվազեցնում է կենտրոնական լույսի փնջի ուժգնությունը, որի հետևանքով մույնպես ուժեղանում է ցայտերանգը:



Նկար 26. Դառագայթների ինտերֆերենցիան և ցայտերանգի ստեղծումը փուլացայտերանգային հարմարանքում:

1. Փուլերի շեղումը դիֆրակցված (D) և ուղիղ (S) ալիքների միջև, 2. Մութ պոզիտիվ ցայտերանգ, 3. Լուսային նեգատիվ ցայտերանգ:

Լայն կիրառություն է գտել KՓ-5Y4.2 փուլացայտերանգային հարմարանքը, որը նախատեսվում է պոզիտիվ ցայտերանգ ստեղծելու համար: KՓ-5Y4.2 փուլացայտերանգային հարմարանքը կազմված է օժանդակ օկուլյարից, հատուկ փուլային օբյեկտիվներից և կոնդենստորից, որը պարունակում է դիաֆրագմների հավաք, որոնցից յուրաքանչյուրը համապատասխանում է որոշակի օբյեկտիվի փուլային թիթեղին: Օղակաձև դիաֆրագմները գտնվում են կոնդենստորի տակ տեղադրված պտտում սկավառակում: Սկավառակը պտտելիս դրանք հեշտությամբ փոխվում են, ընդ որում, սկավառակի կափարիչի պատուհանում հայտնվում է թիվ, որը համապատասխանում է կիրառվող օբյեկտիվի խոշորացմանը: Բացի դրանից, պտտում սկավառակում կա ազատ ճեղք կամ զրոյական դիաֆրագմ սովորական եղանակով դիտելու համար: Կոնդենստորի երկու պտուտակների օգնությամբ կարելի է օղակաձև դիաֆրագմը կենտրոնացնել օբյեկտիվի փուլային օղակի նկատմամբ: Բոլոր փուլային օբյեկտիվների վրա նշված են KՓ տառերը (նկար 27):

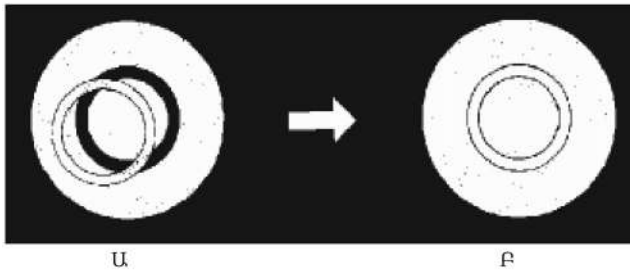


Նկար 27. Փուլացայտերանգային հարմարանքի օպտիկական համակարգը:

Մանրէների կենդանի վիճակում հետազոտումը փուլացայտերանգային հարմարանքի օգնությամբ կատարվում է ստորև թվարկված հաջորդականությամբ:

- Լուսային մանրադիտակի սովորական կոնդենստորի փոխարեն տեղադրել փուլացայտերանգային կոնդենստորը: Կոնդենստորի պտտում սկսվառակը պտտել այնպես, որպեսզի պատուհանում հայտնվի 0 նիշը: Կոնդենստորի իրիսային դիաֆրագմը այդ դեպքում պետք է լինի ամբողջովին բաց:
- Մանրադիտակի օբյեկտիվները, փոխարինել փուլային օբյեկտիվներով, օրինակ՝ 40× խոշորացնող սովորական օբյեկտիվի փոխարեն տեղադրել 40× խոշորացնող փուլային օբյեկտիվը:
- Առարկայական սեղանիկի վրա տեղավորել կենդանի պատրաստուկը և կարգավորել մանրադիտակի լուսավորությունը:
- Սովորական օկուլյարը փոխարինել օժանդակ օկուլյարով և կոպիտ նշանառման պտուտակի օգնությամբ ստանալ օբյեկտիվի փուլային սկավառակի հստակ կիզակետումը. այն ունի մուգ օղակի ձև:
- Կոնդենստորի պտտում սկսվառակը պտտելով՝ հարմարեցնել 40× խոշորացնող օղակաձև դիաֆրագմով: Այս դեպքում մանրադիտակում արդեն երևում է ոչ միայն փուլային, այլ լուսավոր օղակը՝ դիաֆրագմի ճեղքը:

- Կոնդենստրի կենտրոնացնող պտուտակների միջոցով օղակաձև դիաֆրագմը տեղաշարժել այնպես, որպեսզի այն համընկնի փուլային օղակի հետ (նկար 28): Եթե փուլային քիթեղի մուգ օղակի լայնությունը մեծ է լուսավոր օղակի լայնությունից, ապա անհրաժեշտ է պտուտակների օգնությամբ կենտրոնացնել այդ օղակներն այնպես, որպեսզի լուսավոր օղակը գտնվի մուգ օղակի մեջ:
- Օժանդակ օկուլյարը փոխարինել սովորականով և կիզակետել պատրաստուկը:



Նկար 28. Օղակաձև դիաֆրագմի և փուլային քիթեղի կենտրոնացումը:
Ա) Միսալ տեղադրվածություն, Բ) ճիշտ տեղադրվածություն

- Այլ օբյեկտիվների հետ աշխատելիս հարմարեցնել համապատասխան օղակաձև դիաֆրագմերը և յուրաքանչյուր անգամ ստուգել օղակների կենտրոնացումը օժանդակ օկուլյարի օգնությամբ:

Լուսարձակային մանրադիտակում

Լուսարձակային մանրադիտակի աշխատանքը հիմնված է լուսային ճառագայթներով ազդելիս կենսաբանական ծագմամբ բազմաթիվ նյութերի և ներկանյութերի լուսարձակման ունակության վրա: Լուսարձակման ունակ նյութերի մոլեկուլները կլանում են ընկնող լույսի էներգիան և անցնում գրգռված վիճակի, որը բնութագրվում է ավելի բարձր էներգիական մակարդակով: Գրգռված վիճակում մոլեկուլները գտնվում են կարճատև ժամանակահատվածում, որից հետո կրկին վերադառնում են ելակետային էներգիական մակարդակին: Այդ անցումը ուղեկցվում է լույսի ձևով էներգիայի ավելցուկի հետարձակմամբ, որն անվանում են լուսարձակում (լյումինեսցեն-

ցիա): Որպես կանոն լուսարձակման համար օբյեկտը լուսավորվում է 300-400 մմ երկարություն ունեցող ուղտրամանուշակագույն ճառագայթներով կամ 400-460 մմ երկարություն ունեցող կապտամանուշակագույն ճառագայթներով:

Կենսաբանական ծագման մի շարք նյութեր, օրինակ՝ քլորոֆիլները, վիտամին B₂-ը, ալկալոիդները, կարոտինոիդները, պորֆիրինները, կոֆակտորները, որոշ հակաբիոտիկներ և այլ միացություններ օժտված են լուսարձակման ունակությամբ: Կախված բջջում այդ նյութերի քանակից, որոշ մանրէների, օրինակ՝ կանաչ ջրիմուռների և մեթանածին արքեաներին, հատուկ է առաջնային լուսարձակումը: Սակայն մանրէների մեծ մասի բջիջները թույլ են լուսարձակում, ուստի դրանց մշակում են լուսարձակող ներկերով՝ ֆլուորոքրոմներով: Օբյեկտի լուսարձակումը ֆլուորոքրոմներով մշակումից հետո կոչվում է երկրորդային:

Ֆլուորոքրոմներից են՝ պրիմուլինը, ակրիդին օրանժը, բերբերին սուլֆատը, աուրոֆոսֆինը և այլ ներկեր: Կիրառում են ֆլուորոքրոմների 1:500 մինչև 1:100000 նոսրացված ջրային լուծույթները, որոնք բունավոր չեն կենդանի բջջի համար: Ֆլուորոքրոմները ներկում են մանրէների բջիջները, բայց և ընտրողաբար կուտակվում են բջջային որոշակի կառուցվածքներում՝ առաջացնելով դրանց լուսարձակումը: Կախված քիմիական կազմից՝ բջջային կառուցվածքները տարբեր չափով են կլանում ֆլուորոքրոմները, հետևաբար, լուսարձակում են տարբեր գույներով: Կենդանի և մեռած բջիջները միանման չեն կլանում ֆլուորոքրոմները:

Լուսարձակային մանրադիտակման դեպքում մեծանում է պատկերի ցայտերանգը, որը հնարավորություն է տալիս տարբերելու առանձին բջջային կառուցվածքները և մույնիսկ նկատելու դրանց փոփոխությունները բջջի տարբեր գործառությանին վիճակներում: Այս մանրադիտակումը լայնորեն կիրառվում է բջջաբանական հետազոտություններում, հողերում, տիղմում, բույսերի ռիզոսֆերայում մանրէների կենդանի և մահացած բջիջների հայտնաբերման և ուսումնասիրման համար:

Տեսանելի լույսի կապտամանուշակագույն ճառագայթներում լուսարձակումը կարելի է դիտել սովորական մանրադիտակի օգնությամբ կապույտ ապակյա կամ հեղուկ լուսաֆիլտրի կիրառմամբ: Կապույտ ճառագայթները, որոնք խանգարում են լուսարձակման հայտնաբերմանը, կարելի է հեռացնել՝ մանրադիտակի օկուլյարի վրա տեղադրելով դեղին լուսաֆիլտր: Արդյունքում մութ ֆոնի վրա

երևում են լուսարձակող օբյեկտները:

Մանրէաբանական հետազոտություններում առավել կիրառական են լուսարձակային մանրադիտակները, որոնցում լուսարձակումը գրգռվում է ուլտրամանուշակագույն և կապտամանուշակագույն ճառագայթներով:

Կոնֆոկալ լազերային սքանավորող մանրադիտակում

Կոնֆոկալ (համակիգակետող) լազերային սքանավորող մանրադիտակումը (ԿԼՍՄ) (նկար 29) թույլ է տալիս ուսումնասիրվող օբյեկտները (հյուսվածքները, բուսական, կենդանական և բակտերիական բջիջները) հետազոտել իրենց բնական վիճակում՝ չենթարկելով ջրազրկման: Այս մանրադիտակն անփոխարինելի է կենսաթաղանթների, բույսերի մակերևույթի և հողային մասնիկների վրա բակտերիաների և սնկերի տարածական տեղաբաշխվածության ուսումնասիրության համար, ինչպես նաև այնպիսի մանրադիտակային հետազոտություններում, երբ անհրաժեշտ է պահպանել հետազոտվող օբյեկտի ամբողջականությունը:

Ի տարբերություն լուսային մանրադիտակի, որում հետազոտվող օբյեկտից բեկվող ամբողջ լույսի փնջի սպեկտրն ընկնում է հետազոտողի աչքի կամ լուսազգաց համակարգի վրա, լազերային սքանավորող մանրադիտակում լազերային ալիքն այդ ալիքը ճեղքող տատանվող հայելու միջոցով անընդհատ և հաջորդաբար, գիծ առ գիծ սքանավորում է հետազոտվող օբյեկտի մակերեսը: Այդ ընթացքում օբյեկտի յուրաքանչյուր հատված, լազերային ալիքից գրգռվելով, լուսարձակում է և գրանցվում ալիքաչափով: Օգտագործվում է արգոնակրիպտոնային խոնային լազերներ, որոնք ապահովում են 488-512 նմ երկարությամբ ալիքներ, ինչպես նաև այլ իներտ գազերի հիմքով լազերներ՝ հելիումանեոնային (543 նմ), արգոնային (351-363 նմ): Գազի տեսակի, կամ խառնուրդի և լազերի էներգիական ուժգնության փոփոխությամբ կարելի է ստանալ գրգռող լույսի անհրաժեշտ երկարությունը: Ցանկացած դեպքում ֆոտոկրկնապատկիչի վրա ընկնում են միայն այն ալիքները, որոնք կիգակետված են եղել օբյեկտի վրա: Մնացած ալիքները հեռացվում են կոնֆոկալ մանրանցուղիներով: Ալիքի մեկանգամյա անցման դեպքում ձևավորվում է օբյեկտի միայն մեկ հարթ պատկեր: Այդպիսի հարթ պատկերների համադրմամբ ձևավորվում է օբյեկտի եռաչափ պատկերը, ընդ

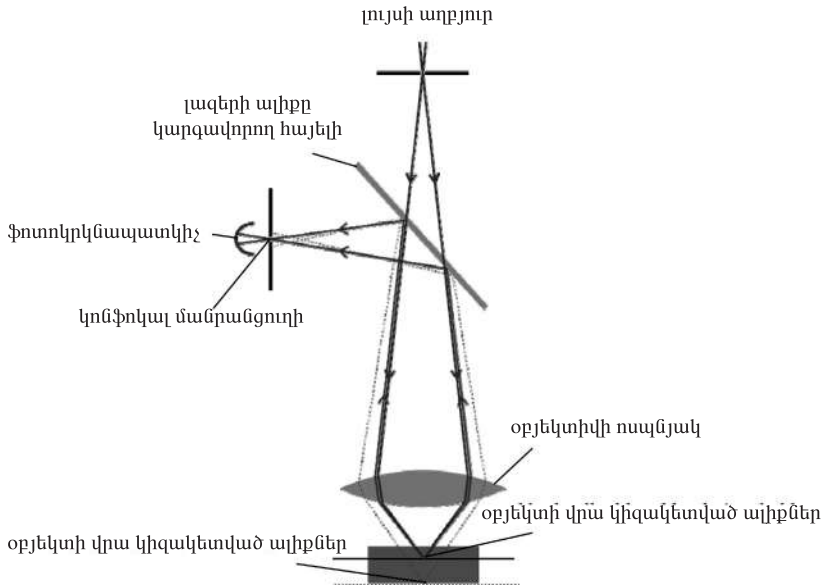
որում, պատկերը ձևավորվում է միայն օբյեկտի վրա ամբողջությամբ կիզակետված ալիքներից, իսկ մնացած բոլոր ալիքները հեռացվում են:



Նկար 29. Կոնֆոկալ լազերային սքանավորող մանրադիտակ համակարգչային վերլուծությամբ:

Օբյեկտի յուրաքանչյուր հատվածի սքանավորման արագությունը տատանվում է 0.25-ից մինչև 4 վայրկյան: Պատկերն ավելի խոշորացնելու համար կարելի է փոփոխել օբյեկտի կիզակետման հեռավորությունը: Սքանավորման ընթացքում ձևավորվող պատկերը խտանում է կետային ձևով: Հետագոտման արդյունքները թվայնացվում են և գրանցվում համակարգչով, որը հնարավորություն է տալիս ստացված տվյալները ենթարկել մաթեմատիկական վերլուծության և վերծանել օբյեկտի եռաչափ կառուցվածքը:

ԿԼՍՄ հիմնական բաղադրամասերն են՝ մանրադիտակը, մեկ կամ մի քանի լազերներ, սքանավորող գլխիկը և ֆոտոդիոդային պատկիչը: ԿԼՍՄ-ի գծապատկերը բերված է նկար 30-ում: ԿԼՍՄ-ով հնարավոր է նաև ստանալ օբյեկտի գունավոր պատկերը:



Նկար 30. Լազերային ալիքի ուղին ԿԼՍՄ-ով մանրադիտակելիս:

Մանրէների ուսումնասիրությունը լուսային մանրադիտակմամբ

Մանրէների բջիջների ձևաբանական առանձնահատկությունները կարելի է ուսումնասիրել մանրադիտակման տարբեր մեթոդների, այդ թվում՝ տարբերակիչ ներկման որոշ մեթոդների կիրառմամբ: Մանրադիտակային վերլուծության և ներկման եղանակի ընտրությունը որոշվում է հետազոտման նպատակով: Սակայն, գոյություն ունեն մի շարք սկզբունքներ, որոնք ընկած են բակտերիաների ձևաբանության և բջջաբանության ուսումնասիրման հատուկ մեթոդների, օրինակ՝ պատրաստուկների պատրաստման, ֆիքսման և ներկման մեթոդների հիմքում:

Պատրաստուկները, որպես կանոն, պատրաստում են առարկայական ապակիների վրա, որոնց հաստությունը չպետք է գերազանցի 1.2-1.4 մմ-ը: Ավելի հաստ ապակիները թույլ չեն տալիս լուսավորող հարմարանքի դիաֆրագմի եզրերից պատրաստուկի հարթությունում ստանալ հստակ պատկեր, քանի որ այն հայտնվում է ապակու

հաստոության մեջ, իսկ դա խախտում է կոնդենստրի կիզակետումը և կտրուկ իջեցնում է պատկերի հստակությունը: Հաստ առարկայական ապակիների օգտագործումն անթույլատրելի է իմերսիոն օբյեկտիվով աշխատանքի դեպքում, երբ անհրաժեշտ է ամբողջությամբ օգտագործել համակարգի թվային ապերտուրան:

Էական նշանակություն ունի առարկայական ապակիների մակերեսների նախապատրաստումը, ինչը հատկապես կարևոր է ֆիքսված պատրաստուկների պատրաստման ընթացքում: Ապակու մակերեսը պետք է մանրակրկիտ մաքրված և ճարպագրկված լինի, որպեսզի հեղուկի կաթիլը հավասարաչափ տարածվի ապակու վրա, ոչ թե հավաքվի փքված, դանդաղ չորացող կաթիլներով: Դարպագրկման առավել ապահով միջոց է ապակիների մշակումը քրոմային խառնուրդով՝ ջրով և էթանոլով հաջորդաբար ողողմամբ: Առօրյա աշխատանքներում, սակայն, բավարար է լինում ապակիների օճառով լվացումը, որից հետո չորացվում է մաքուր անձեռոցիկով: Լավ ճարպագրկման կարելի է հասնել լվացված և չորացված ապակիները եթերով թրջված բամբակով (դրանից հետո ջրով լվացում անհրաժեշտ չէ) մաքրմամբ կամ ապակիների մակերեսը գազայրոցի բոցում (այդ դեպքում ճարպն այրվում է) ջերմամշակմամբ: Արգելվում է ապակիները եռացնել և երկարատև պահպանել ալկալիների լուծույթներում, այդ թվում՝ լվացող միջոցների լուծույթներում, քանի որ ալկալիները քայքայում են ապակին՝ դրա մակերեսը դարձնելով անհարթ: Մաքուր ճարպագրկված ապակիները կարելի է պահել չոր վիճակում կամ էթանոլում:

Մանրէների պատրաստուկների պատրաստման համար կիրառվող ծածկապակիները ևս պետք է լինեն մանրակրկիտ լվացված և չորացված: Ծածկապակիների հաստությունը չպետք է գերազանցի 0.15-0.17 մմ-ը: Ավելի հաստ ապակիները կտրուկ վատացնում են ստացված պատկերի հստակությունը:

Տարբերում են մանրէների կենդանի (կամ ժամանակավոր) և ֆիքսված (կամ մշտական) մանրադիտակային պատրաստուկներ:

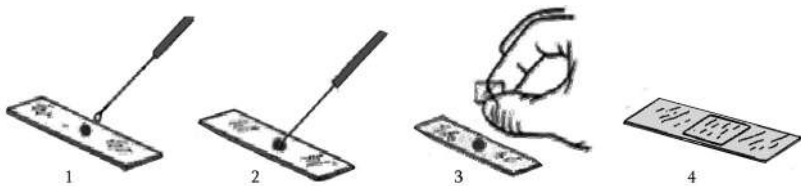
Մանրէների կենդանի պատրաստուկներ

Մանրէների կենդանի բջիջների ուսումնասիրման համար կիրառում են ճզմված կաթիլի, կախ կաթիլի, մատնահետքերի, միկրոկուլտուրա (ազարային թաղանթների) մեթոդներով պատրաստ-

ված պատրաստուկները: Կենդանի բջիջների պատրաստուկները դիտարկում են մանրադիտակի չոր համակարգի օբյեկտիվների կիրառմամբ: Պատրաստուկները մանրադիտակումից հետո նախ պետք է ընկղմել մանրէագերծող լուծույթի մեջ, ապա լվանալ:

Պատրաստուկ պատրաստված ճզմված կաթիլի մեթոդով:

Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցվում է ֆիլտրմամբ մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, որում տեղադրում են հետագոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, խառնում և ծածկում են ծածկապակիով (նկար 31): Պինդ և հեղուկ սննդամիջավայրերում աճեցված մանրէային բջիջները ջրի կաթիլի մեջ տեղափոխում են մանրէաբանական օղակով: Հեղուկ սննդամիջավայրում աճեցված մանրէային բջիջները կարելի է տեղափոխել նաև մանրէագերծ պիպետով: Վերջին դեպքում առարկայական ապակու վրա ջրի կաթիլ կարելի է չդնել: Հետագոտվող կաթիլը պետք է այնքան փոքր լինի, որպեսզի ծածկապակիով ծածկելուց հետո հեղուկի ավելցուկ չառաջանա: Եթե այն գոյացել է, ապա անհրաժեշտ է հեռացնել ֆիլտրի թղթով: Երկարատև հետագոտման դեպքում պատրաստուկի չորացումը կանխելու նպատակով ծածկապակու եզրերը կարելի է լաքապատել:

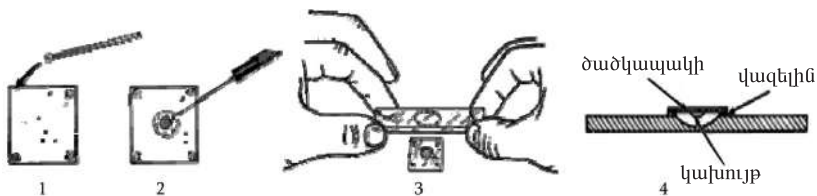


Նկար 31. Պատրաստուկի պատրաստումը ճզմված կաթիլի մեթոդով:

1. Առարկայական ապակու վրա կաթեցված մանրէագերծված ջրի կաթիլի մեջ մանրէաբանական օղակով մանրէի կենսազանգվածի տեղադրում, 2. Կախույթի սրացում, 3. Կախույթի ծածկում ծածկապակիով, 4. Պատրաստի պատրաստուկ:

Պատրաստուկ պատրաստված կախ կաթիլի մեթոդով:

Մանրէային կախույթի կաթիլը մանրէաբանական օղակով կաթեցնում են ծածկապակու վրա, որը զգուշությամբ տեղադրում են կենտրոնում փոսիկ ունեցող հատուկ առարկայական ապակու վրա և շրջում այնպես, որպեսզի կաթիլը ազատ կախվի ծածկապակուց՝ չհավելվով փոսիկի եզրերին և հատակին (նկար 32):

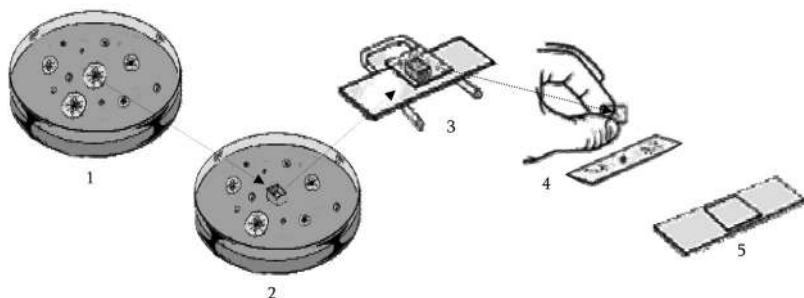


Նկար 32. Պատրաստուկի պատրաստումը կախ կաթիլի մեթոդով:

1. Ծածկապակու ծայրերի վազելինապատում, 2. Մանրէաբանական օղակով մանրէի կենսազանգվածի տեղադրում ծածկապակու կենտրոնում և կախույթի ստացում, 3. Փոսիկով առարկայական ապակու տեղադրում ծածկապակու վրա, 4. Պատրաստի պատրաստում:

Փոսիկի եզրերին նախապես քսում են վազելին, ինչը հնարավոր է դարձնում պատրաստուկի երկարատև ուսումնասիրությունը: Ավելի երկարատև ուսումնասիրությունների համար օգտագործում են մանրէագերծ ապակիներ, իսկ մանրէների կախույթը պատրաստում են հեղուկ սննդամիջավայրում: Բակտերիաների հետ աշխատանքում այս մեթոդը հազվադեպ է կիրառվում:

Պատրաստուկ պատրաստված մատնահետքերի մեթոդով: Մանրէների հոծ շերտով կամ առանձին գաղութների ձևով աճեցված ազարային սննդամիջավայրից նշտարով կտրում են ոչ մեծ խորանարդիկ և տեղափոխում առարկայական ապակու վրա այնպես, որպեսզի մանրէներով մակերեսը ուղղված լինի դեպի վեր: Այնուհետև մանրէային գաղութին հպում են մաքուր ծածկապակի, քեթև սեղմում են օղակով կամ ունելիով և անմիջապես հեռացնում (նկար 33):



Նկար 33. Պատրաստուկի պատրաստումը մատնահետքի մեթոդով:

- 1-2. Ազարային սննդամիջավայրի մակերեսից մանրէի գաղութով ազարային խորանարդիկի կտրում, 3. Ազարային խորանարդիկին առարկայական ապակու վրա ծածկված ծածկապակիով, 4. Ծածկապակու հեռացում և տեղադրում առարկայական ապակու վրա, 5. Պատրաստի պատրաստում:

Մատնահետքով ծածկապակին տեղադրում են ջրի կամ ներկանյութի, օրինակ՝ մեթիլենային կապույտի (1:40) կաթիլ պարունակող առարկայական ապակու վրա այնպես, որպեսզի ստացված մատնահետքն ընկղմվի կաթիլի մեջ: Մատնահետքը կարելի է ստանալ նաև առարկայական ապակու վրա՝ առարկայական ապակին հպելով գաղութի կամ գազոնի մակերեսին: Պատրաստուկ մատնահետքն օգտագործում են հիմնականում ստրեպտոմիցետների սպորագոյացումն ուսումնասիրելու համար:

Պատրաստուկ պատրաստված միկրոկուլտուրայի մեթոդով:

Մանրէագերծված և տաքացված առարկայական ապակու վրա մանրէագերծ տաքացված պիպետով լցնում են տաք ազարային սննդամիջավայրի 0.2-0.3 մլ և բաշխում այն ապակու ամբողջ մակերեսով: Սննդամիջավայրի սառելուց հետո օղակով հեռացնում են ավելորդ ազար-ազարը՝ թողնելով թաղանթի երկու բարակ ծածկապակու մեծությամբ տեղամասեր: Քառակուսիների կենտրոնում մանրէաբանական օղակով կամ պիպետով կաթեցնում են մանրէների բջիջների հեղուկ կուլտուրայի կամ կախույթի կաթիլ: Ապակին նախ տեղադրում են խոնավ խցիկ (թաց ֆիլտրի թղթի շերտով Պետրիի թաս), ապա՝ ջերմապահարան: Մանրադիտակումից առաջ աճած միկրոկուլտուրայի թաղանթի վրա կաթեցնում են ներկի կաթիլ, կամ թաղանթի չորացման դեպքում՝ ջրի կաթիլ, այնուհետև զգուշորեն ծածկում ծածկապակիով:

Մանրէների աճեցումն անմիջապես առարկայական ապակու վրա թույլ է տալիս իրականացնել դրանց աճի և զարգացման գործընթացների մանրադիտակային հետազոտություն, ուսումնասիրել զարգացման կենսաշրջանը, բազմացման տիպը (բաժանում, բողբոջում), այդ գործընթացների վրա տարբեր գործոնների ազդեցությունը: Միկրոգաղութի աճեցումը կարելի է իրականացնել աերոբ կամ անաերոբ (լաքով հերմետիկացված ծածկապակու տակ) պայմաններում:

Ազարային շերտը կարելի է տեղադրել ծածկապակու վրա և պատրաստել կախ կաթիլ պատրաստուկը: Այդպիսի պատրաստուկները թույլ են տալիս ուսումնասիրել բակտերիաների շարժումը:

Մանրէների ֆիքսված պատրաստուկներ

Ֆիքսված պատրաստուկների ստացումը ներառում է քսուկի պատրաստումը, չորացումը, ֆիքսումը և ներկումը:

Քսուկի պատրաստման համար ճարպագրկված առարկայական ապակու վրա տեղադրում են մանրէագերծ ծորակային ջրի կաթիլ, այնուհետև մանրէաբանական օղակով դրանում պատրաստում են հետազոտվող մանրէի կախույթը, ինչպես ճգնված կաթիլի մեթոդով պատրաստուկի պատրաստման դեպքում: Ստացված կախույթն օղակով հավասարաչափ և բարակ շերտով տարածում են 1-2 սմ² մակերեսով:

Քսուկը չորացնում են սենյակային ջերմաստիճանում: Եթե չորացումը դանդաղ է ընթանում, պատրաստուկը կարելի է թեթև տաքացնել տաք օդի հոսքում գազայրոցի բոցի վրա՝ պահելով ապակին քսուկով դեպի վեր կամ տեղադրելով հատուկ չորացնող հարմարանքների վրա (նկար 34): Այս գործողությունը պետք է իրականացնել զգույշ՝ խուսափելով գերտաքացումից, այլապես մանրէների բջիջները կարող են ձևախախտվել:



Նկար 34. Առարկայական ապակու վրա պատրաստված քսուկը չորացնող հարմարանքներ:

Պատրաստուկի ֆիքսումը մի քանի նպատակ է հետապնդում. սպանել մանրէներին՝ անվտանգ դարձնելով դրանց հետ աշխատանքը, ապահովել բջիջների առավելագույն հպումն ապակուն, դյուրացնել ներկումը, քանի որ մահացած բջիջներն ավելի հեշտ են ներկվում, քան կենդանի բջիջները: Ֆիքսման ամենատարածված մեթոդը ջերմային մշակումն է: Դրա համար պատրաստուկը սովորաբար երեք անգամ անց են կացնում գազայրոցի բոցի ամենատաք հատվածով՝ պահելով առարկայական ապակին քսուկով դեպի վեր: Քսուկը չպետք է չափից շատ տաքացնել, քանի որ այդ դեպքում տեղի են ունենում բջջային կառուցվածքների և արտաքին տեսքի կոպիտ ձևախախտումներ: Բջջի նուրբ կառուցվածքն ուսումնասիրե-

լու համար ֆիքսումը կատարում են տարբեր բիմիական նյութերով: Ֆիքսող հեղուկը լցնում են քսուկի վրա կամ պատրաստուկը ընկղմում են ֆիքսող լուծույթով բաժակի մեջ:

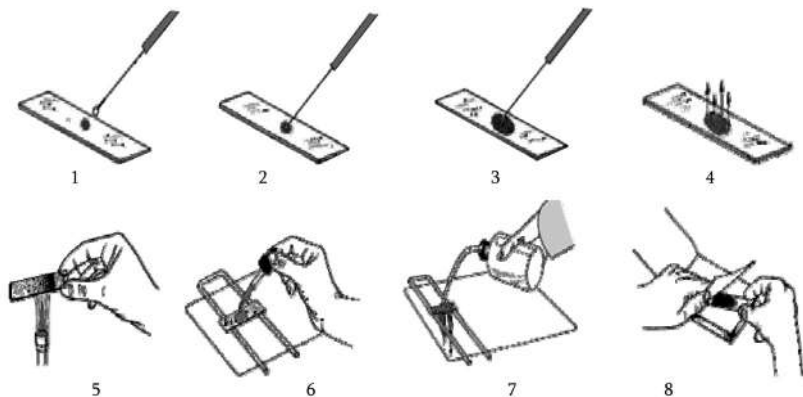
Մանրէային բջիջները ներկում են գլխավորապես անիլինային ներկերով: Տարբերում են թթվային և հիմնային ներկեր: Թթվայիններին են դասվում այն ներկերը, որոնց ներկող հատկություններով օժտված է անիոնը, իսկ հիմնային ներկերի բրոմֆոֆոր կատիոնն է: Թթվային ներկերի օրինակներ են էոզինը, էրիթրոզինը, միգրոզինը, թթվային ֆուքսինը, դրանք բոլորն էլ ամուր կապվում են բջջի ցիտոպլազմի բաղադրիչների հետ: Հիմնային ներկեր են մեթիլենային կապույտը, հիմնային ֆուքսինը, գենցիանային մանուշակագույնը, բյուրեղային վիոլետը, սաֆրանինը, որոնք ավելի ուժգին կապվում են բջջի կորիզային բաղադրիչների հետ: Բջիջներում ԴՆԹ-ի և ռիբոսոմային ՌՆԹ-ի բարձր կոնցենտրացիան բակտերիաներին ավելի զգայուն է դարձնում հիմնային ներկերի նկատմամբ: Այդ պատճառով մանրէների ֆիքսված պատրաստուկների ներկման համար մեծամասամբ կիրառվում են հիմնային ներկեր:

Տարբերում են մանրէների պարզ և տարբերակիչ ներկման եղանակներ: Առաջին դեպքում ամբողջ բջիջը ներկվում է այնպես, որպեսզի լավ տեսանելի դառնան դրա ձևը և չափսերը, երկրորդ դեպքում ներկվում են բջջի որոշակի կառուցվածքները և պաշարային նյութերը:

Մանրէային բջիջների պարզ ներկման համար առավել հաճախ օգտագործում են ֆուքսին, գենցիանային մանուշակագույն, մեթիլենային կապույտ: Պատրաստուկը ներկում են 1-3 րոպեի ընթացքում: Ներկման ընթացքում քսուկի վրա ներկը չպետք է չորանա, անհրաժեշտության դեպքում պետք է ավելացնել ներկի մոր չափաբաժին (նկար 35):

Ներկումից հետո պատրաստուկը լվանում են ջրով մինչև թափվող կաթիլի անգունանալը: Այնուհետև պատրաստուկը չորացնում են ֆիլտրի թղթով, ներկված քսուկի վրա կաթեցնում իմերսիոն յուղ և մանրադիտակում իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվով: Ավելի մաքուր պատրաստուկներ ստանալու համար ներկը կաթեցվում է ֆիլտրի թղթով ծածկված քսուկի վրա: Ճիշտ ներկված և լավ լվացված պատրաստուկում տեսադաշտը լուսավոր է և մաքուր, ներկված են միայն բջիջները:

Ֆիքսել և ներկել կարելի է մաս պատրաստուկ մատնահետքը: Ֆիքսված և ներկված պատրաստուկները կարելի է երկարատև պահպանել:



Նկար 35. Մանրէների ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստումը:

1. Առարկայական ապակու վրա կաթեցված մանրէագերծված ջրի կաթիլի մեջ մանրէաբանական օղակով մանրէի կենսազանգվածի տեղադրում, 2. Կախույքի սրացում, 3. Կախույքի տարածում 1-2 սմ² մակերեսով, 4. Պատրաստուկի չորացում, 5. Ֆիքսում, 6. Ներկում, 7. Լվացում, 8. Պատրաստուկի չորացումը ֆիլտրի թղթով:

Բջջիների ձևը և դրանց տեղադրությունը (շղթաներ, ողկույզներ, փաթեթներ, տետրադներ և այլն), որպես կանոն, հայտնաբերում են ճգմված կաթիլի մեթոդով պատրաստված պատրաստուկներում լուսավոր դաշտով սովորական լուսային կամ փուլացայտերանգային մանրադիտակմամբ: Փոքր ձողաձև բակտերիաների, օրինակ՝ *S. marcescens*-ի բջջիների ձևի որոշման համար պատրաստում են ֆիքսված բջջիների պատրաստուկ և կատարում պարզ ներկում: Ելուստներ առաջացնող բակտերիաները (օրինակ՝ *Caulobacter*, *Labrys*, *Prosthecomicrobium*, *Stella* և մի քանի այլ ցեղերի ներկայացուցիչները) նպատակահարմար է հետազոտել մթնեցված դաշտում փուլացայտերանգային մանրադիտակմամբ:

Անհրաժեշտ է հիշել, որ կուլտուրայի տարիքը, սննդամիջավայրի կազմը և կուլտիվացման պայմաններն ազդում են մանրէների ձևաբանության և բջջաբանության վրա:

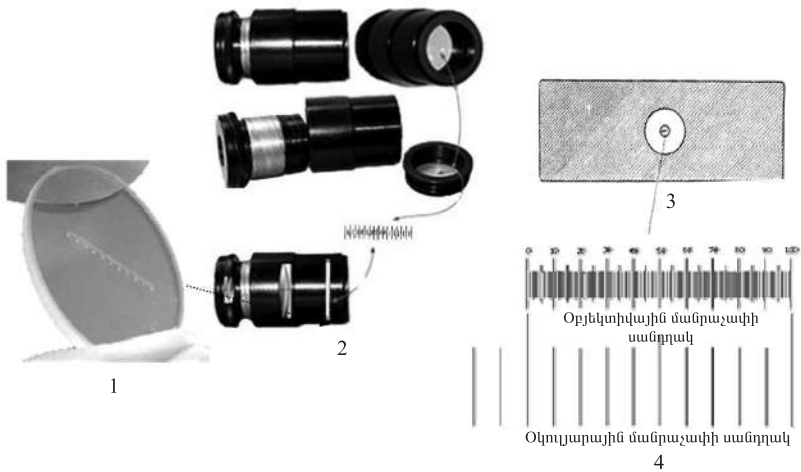
Մանրէների չափսերի որոշումը

Մանրէների բջջիների չափսերը որոշելու համար մանրադիտակային հետազոտության ընթացքում կիրառվում է օկուլյարային քա-

նոն՝ մանրաչափ կամ օկուլյարային պտուտակային մանրաչափ: Չափագրման համար ցանկալի է օգտագործել կենդանի բջիջներ, քանի որ բջիջների ֆիքսման և ներկման արդյունքում դրանց իրական չափսերը կարող են փոխվել: Բջջի չափսերը որոշելու համար օգտագործվում է փուլացայտերանգային հարմարանք: Եթե բջիջները շարժուն են, ապա պետք է պատրաստուկը թույլ տաքացնել կամ հետագոտվող կախության կաթիլին ավելացնել 0.1% ազար-ազարի ջրային լուծույթ: Բջիջների չափսերը արտահայտում են միկրոմետրերով:

Օկուլյարային մանրաչափն իրենից ներկայացնում է կենտրոնում 5 մմ երկարությամբ փորագրված քանոն պարունակող կլոր ապակյա թիթեղ: Քանոնը բաժանված է 50 մասի: Օկուլյարային մանրաչափը տեղադրում են օկուլյարում, որի համար ապապտուտակում են օկուլյարի ակնային ոսպնյակը, ապա դրա դիաֆրագմի վրա տեղադրում են օկուլյարային մանրաչափը սանդղակով դեպի ներքև և ամրացնում ոսպնյակը: Սակայն միայն օկուլյարային մանրաչափի միջոցով հնարավոր չէ չափագրել բջիջները, քանի որ վերջիններս դիտարկվում են օբյեկտիվի և օկուլյարի միջոցով, իսկ քանոնային սանդղակը՝ միայն օկուլյարի վերին ոսպնյակով (նկար 36): Այդ իսկ պատճառով մինչ չափագրումն անհրաժեշտ է որոշել տվյալ մանրադիտակի խոշորացման համար օկուլյարային մանրաչափի բաժանումների արժեքները: Դա իրականացնում են օբյեկտիվային մանրաչափի միջոցով:

Օբյեկտիվային մանրաչափն իրենից ներկայացնում է կենտրոնում շրջանաձև անցքով մետաղական թիթեղիկ: Անցքում տեղադրված է 1 մմ երկարությամբ քանոն պարունակող ապակի: Վերջինս բաժանված է 100 մասի, այսինքն՝ օբյեկտիվային մանրաչափի բաժանումները համապատասխանում են 0.01 մմ-ի: Օկուլյարային մանրաչափի բաժանման արժեքը որոշելու համար նախ օբյեկտիվային մանրաչափը տեղադրում են առարկայական սեղանիկի վրա և կիզակետում փոքր խոշորացման օբյեկտիվի օգնությամբ: Քանոնի պատկերը տեղավորում են դիտարկման հարթության կենտրոնում, որից հետո օբյեկտիվը փոխում են չափագրման համար նախատեսվող օբյեկտիվով: Պտտելով մանրադիտակի առարկայական սեղանիկը և օկուլյարը՝ օկուլյարային և օբյեկտիվային մանրաչափերը տեղադրում են այնպես, որպեսզի դրանց սանդղակները լինեն միմյանց զուգահեռ և վերածածկեն միմյանց:



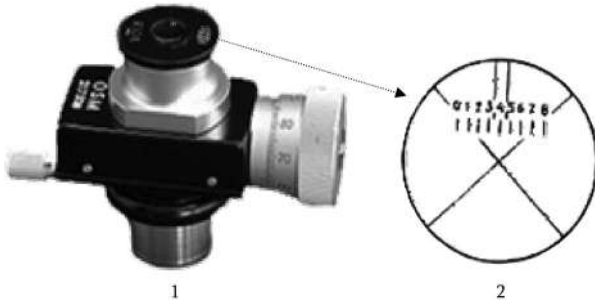
Նկար 36. Օկուլյարային և օրյեկտիվային մանրաչափեր:

1. Օկուլյարային մանրաչափ, 2. Օկուլյարային մանրաչափի տեղադրում օկուլյարում, 3. Օրյեկտիվային մանրաչափ, 4. Օկուլյարային և օրյեկտիվային մանրաչափերի սանդղակների համադրում:

Օկուլյարային մանրաչափի արժեքը որոշում են նոնիուսի սկզբ-բունքով, այսինքն՝ համապատասխանեցնում են օկուլյարի և օրյեկտիվի սանդղակի մի բաժանումը մյուսով և գտնում դրանց հաջորդ համընկնումը: Հաշվարկվում է, թե օրյեկտիվային մանրաչափի բանի բաժանումն է համապատասխանում օկուլյարային մանրաչափի մեկ բաժանմանը: Օրինակ՝ եթե օրյեկտիվային մանրաչափի 2 բաժանումը (20 մկմ) համապատասխանում է օկուլյարային մանրաչափի 5 բաժանումներին, ապա օկուլյարային մանրաչափի մեկ բաժանումը հավասար կլինի 4 մկմ-ի (20:5): Հետևաբար, եթե մանրադիտակի առարկայական սեղանի վրա տեղադրենք մանրեային բջիջներով պատրաստուկ և մանրադիտակենք նույն խոշորացմամբ, ապա կարող ենք չափագրել ուսումնասիրվող մանրեային բջջի մեծությունը: Դրա համար որոշում են, թե օկուլյարային քանոնի որքան բաժանումներին է համապատասխանում բջջի չափսը և այդ թիվը բազմապատկում են օկուլյարային մանրաչափի բաժանումների արժեքին:

Բջջի չափսերը որոշելու համար հարմար է օգտագործել նաև օկուլյարային պտուտակային մանրաչափ (նկար 37): Վերջինս ամրացնում են մանրադիտակի վողակին՝ նախապես հեռացնելով օկուլյարը: Օկուլյարային պտուտակային մանրաչափը ունի խոշոր

օբյեկտների չափագրման համար նախատեսված 1 մմ բաժանման արժեքով անշարժ սանդղակ և տրամախաչման նշանով շարժուն ապակյա փթեղիկ: Թիթեղիկը կապված է մանրաչափային պտուտակային թմբուկի հետ և պտտելիս տեղափոխվում է տրամախաչման նշանի հետ մեկտեղ:



Նկար 37. Օկուլյարային պտուտակային մանրաչափ (1) և օկուլյարում տրամախաչման նշանը (2):

Բջիջների երկարության որոշման համար մանրաչափային պտուտակային թմբուկի պտտմամբ տրամախաչման նշանը տեղափոխում են այնպես, որպեսզի այն հայտնվի բջջի մի ծայրին, և նշում են թմբուկի բաժանումների արժեքը: Այնուհետև թմբուկը շարունակում են պտտել այնպես, որպեսզի տրամախաչման նշանը հայտնվի բջջի մյուս ծայրին, և նշում են թմբուկի բաժանումների տվյալ արժեքը: Որոշում են, թե բջջի երկարությունը մանրաչափային պտուտակային թմբուկի որ բաժանումներին է համապատասխանում և ստացված թիվը բազմապատկում մանրադիտակի տվյալ խոշորացման դեպքում թմբուկի բաժանումների նախապես որոշված արժեքին:

Յուրաքանչյուր օբյեկտիվի թմբուկի բաժանումների արժեքը որոշում են օբյեկտիվային մանրաչափի միջոցով: Դրա համար տրամախաչման նշանը տեղադրում են օբյեկտիվային մանրաչափի մեկ բաժանման սկզբնամասում և նշում թմբուկի բաժանումը: Այնուհետև, թմբուկը պտտում են այնպես, որպեսզի տրամախաչման նշանը տեղափոխվի օբյեկտիվային մանրաչափի բաժանման վերջը և նշում են թմբուկի բաժանումը: Որոշում են, թե մանրաչափային պտուտակային թմբուկի քանի բաժանումներին է համապատասխանում օբյեկտիվային մանրաչափի մեկ բաժանումը: Դիցուք՝ եթե օբյեկտիվային մանրաչափի մեկ բաժանումը (10 մկմ) համապա-

տասխանում է մանրաչափային պտուտակային թմբուկի X բաժանումներին, ապա թմբուկի մեկ բաժանումը տվյալ խոշորացմամբ մանրադիտակի համար կլինի 10:X (մկմ):

Հավաստի տվյալներ ստանալու համար հարկավոր է չափել առնվազն 20-30 բջիջ: Գնդաձև բջիջների դեպքում որոշվում է տրամագիծը, այլ բջիջների համար՝ երկարությունը և լայնությունը, նրշվում են բջջի միջին չափսերը և տատանման սահմանները (նվազագույն և առավելագույն արժեքները):

Էլեկտրոնային տրանսմիսիոն, սքանավորող և սքանավորող գոնդային մանրադիտակում

Ներկայումս հայտնի են էլեկտրոնային մանրադիտակների բազմաթիվ տարատեսակներ, որոնք տարբերվում են գործողության սկզբունքով, լուծող ունակությամբ և աշխատանքային մեծությունների տիրույթով: Մանրէաբանական հետազոտություններում կիրառվում են թափանցող կամ տրանսմիսիոն էլեկտրոնային մանրադիտակներ (ՏԷՄ), որոնք հնարավորություն են տալիս մինչև 100 հազար անգամ մեծացնել հետազոտվող օբյեկտը՝ տեսանելի դարձնելով նուրբ կառուցվածքները և մասնիկները: Լուսային ճառագայթների փոխարեն ՏԷՄ-ում օգտագործվում են էլեկտրոնների փնջեր, որոնք օժտված են ալիքային հատկություններով, ընդ որում, ալիքիսի փնջերի էկվիվալենտ երկարությունը (Դե-Բրոյլի ալիքի երկարությունը) մի քանի կարգով փոքր է լուսայինից, ինչը ապահովում է այս տիպի էլեկտրոնային մանրադիտակների ավելի բարձր լուծող ունակությունը: Գործնականում (կենսաբանական օբյեկտների համար) լուծող ունակության մեծությունը ՏԷՄ-ի համար կազմում է 0.5 մմ, ընդ որում, այս սահմանը որոշվում է ոչ թե ՏԷՄ-ի բնութագրերով, այլ գերբարակ կտրվածքների հաստությամբ, որի դեպքում պատկերը բավականին ցայտերանգային է ստացվում: Օպտիմալ պայմաններում (գերբարակ մոնոբյուրեղային շերտերի վրա) ՏԷՄ-ի լուծող ունակությունը հասնում է 0.1 մմ:

Սքանավորող էլեկտրոնային մանրադիտակի (ՍԷՄ) հիմքում ընկած է էլեկտրոնաճառագայթային խողովակի էկրանի վրա հետազոտվող օբյեկտի մակերեսի հաջորդաբար ճառագայթմամբ սքանավորված պատկերի ձևավորման սկզբունքը: Ընդ որում, այս մանրադիտակմամբ միաժամանակ գրանցվում են մի շարք երկրոր-

դային ճառագայթումներ, ինչը ապահովում է բարձր տեղեկատվությունն ու մեծ լուծող ունակությունը, և որի շնորհիվ ուսումնասիրվում են տարբեր օբյեկտների ձևաբանությունը և մակերեսային կառուցվածքները: Շատ կարևոր է մանրէների առանձին բջիջների մակերեսի ռելիեֆի, կամ այդ բջիջները կազմող կառույցների, ինչպես նաև մեծ քանակությամբ մանրէներ պարունակող գաղութների, կոնգլոմերատների, կոնսորցիումների ուսումնասիրությունը: ՄԷՄ-ի առավել կարևոր առանձնահատկությունը կայանում է նաև դրա ցայտուն պատկերվող տարածության խորությունը (կիզակետման խորությունը): Դա ունի հատուկ նշանակություն մանրէների մակերեսային կառույցների և տարածության մեջ մանրէների ձևի ուսումնասիրման համար: ՄԷՄ-ի և ՏԷՄ-ի պատկերները բերված են նկար 38-ում:

ՄԷՄ-ով և ՏԷՄ-ով մանրադիտակման դեպքում օբյեկտը պետք է ֆիքսել, ջրազրկել և չորացնել մակերեսը, քանի որ այն ենթարկվում է խորը վակուումի պայմաններում (10^{-5} մմ սնդիկի սյան) արագացված էլեկտրոններով ուժգին ռմբակոծման: Արագացնող լարվածությունը ՄԷՄ-ի համար ավելի քիչ է (20 կՎ), քան ՏԷՄ-ինը: ՄԷՄ-ի դեպքում օբյեկտի ֆիքսումն ու հետագա մշակումը ընդգրկում է ավելի քիչ փուլեր, քան ՏԷՄ-ինը: ՄԷՄ-ի օգնությամբ կարելի է ստանալ ծավալադիտակային միկրոլուսանկարներ, որոնցով հնարավոր է դառնում հաշվարկել պատկերված մակերեսի երկու կետերի միջև իրական հեռավորությունը, վերծանել առանձին կառուցվածքների տեղաբաշխումը բջջում, ինչպես նաև տարածություն մեջ մանրէային բջիջների տեղաբաշխումը:



Նկար 38. Էլեկտրոնային մանրադիտակներ, ՄԷՄ (ձախից) և (ՏԷՄ) աջից:

Վերջին տարիներին մշակվել է ընդհուպ նախնադարյան լուծող ունակությամբ մեթոդ, որը թույլ է տալիս հետազոտել փայլարի, գրաֆիտի և այլ նյութերից պատրաստված երկէլեկտրիկ հարթակների վրա տեղադրված օբյեկտների մակերեսները ուսումնասիրվող մակերեսի և յուրահատուկ զոնդերի միջև հատուկ (թունելային) հոսանքների առաջացմամբ: Որպես զոնդեր օգտագործվում են պլատինե կամ վոլֆրամե ասեղները: Սքանավորող թունելային, ատոմաուժային և այլ տեսակի զոնդային մանրադիտակման տարբեր եղանակները հիմնված են էլեկտրոնային մանրադիտակումից տարբերվող ֆիզիկական օրինաչափությունների վրա: Սքանավորող զոնդային մանրադիտակման մեթոդները կիրառվում են մակերևութային ատոմային մակարդակով թույլատրելի սահմաններով տեղագրության համար: Իրենց հնարավորություններով (նախնադարերից փոքր չափեր) այս մեթոդները համադրելի են միայն ռենտգենականությամբային վերլուծության հետ, սակայն ի տարբերություն վերջինիս, այս դեպքում օբյեկտի բյուրեղացումն անհրաժեշտ չէ: Նմուշները չեն քայքայվում բարձր էներգիայով օժտված էլեկտրոններով, ինչպես ավանդական էլեկտրոնային մանրադիտակման ընթացքում: Նախնադարային տիրույթում մորագույն հետազոտությունների այս մեթոդները գտել են լայն կիրառություն նյութագիտության բնագավառում մետաղների, կիսահաղորդիչների, պոլիմերների, թաղանթային կառույցների, մոլեկուլային կլաստերների հետազոտության համար՝ նախադրյալ հանդիսանալով նախնադարյանների, այդ թվում՝ նախնադարյանության բուռն զարգացման համար: Այս մեթոդների կիրառմամբ կենսաբանական մի շարք օբյեկտների և մոլեկուլների կառուցվածքների, ինչպես նաև որոշ կենսաբանական գործընթացների կինետիկայի վերաբերյալ տվյալներ են ստացվել:

ԳԼՈՒԽ 6 ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՄԱՔՈՒՐ ԿՈՒՆՏՈՒՐԱՆԵՐԻ ՄԵԿՈՒՍԱՅՈՒՄԸ

Մանրեների ֆիզիոլոգիան, կենսաքիմիական հատկությունները և զարգացման փուլերը, որպես կանոն, ուսումնասիրվում են միայն մաքուր կուլտուրաների ստացումից հետո: Բնության մեջ գոյություն ունեցող մանրեների խառը պոպուլյացիաներից մեկ տեսակին պատկանող մանրեների մեկուսացման հմտությունը և մաքուր կուլտուրաների պահպանումը մանրեների հետ աշխատելու անհրաժեշտ պայման է: Մաքուր կուլտուրայի մեկուսացումը սովորաբար ներառում է երեք փուլ՝ 1. կուտակիչ կուլտուրայի ստացում; 2. մաքուր կուլտուրայի մեկուսացում; 3. մեկուսացված կուլտուրայի մաքրության որոշում:

Կուտակիչ կուլտուրայի ստացում

Մանրեային կուլտուրան, որում գերակշռում են մեկ ֆիզիոլոգիական խմբին կամ մույնիսկ մեկ տեսակին պատկանող մանրեներ, անվանվում է կուտակիչ կուլտուրա: Մանրեաբանական հետազոտություններում կուտակիչ կուլտուրաների ստացման մեթոդն առաջին անգամ օգտագործել են Ս. Ն. Վինոգրադսկին և Մ. Բեյերինկը: Դրա էությունն այնպիսի էլեկտիվ (ընտրողական) սննդամիջավայրի ստեղծումն է, որով ապահովվում է խառը պոպուլյացիայից հետազոտողի համար անհրաժեշտ կամ մպատակային մանրեների կամ մանրեների խմբի զարգացումը:

Էլեկտիվ պայմաններ ստեղծելիս անհրաժեշտ է իմանալ մեկուսացվող մանրեների ֆիզիոլոգիան կամ հստակ պատկերացնել դրանց առանձնահատկությունները: Շատ հաճախ էլեկտիվ պայմաններ ստեղծում են համապատասխան սննդամիջավայրերի ընտրությամբ, քանի որ տարբեր մանրեներ իրենց կենսագործունեության համար պահանջում են տարբեր սուբստրատներ: Օրինակ՝ դիագոտրոֆ մանրեները ունակ են աճելու սննդամիջավայրերում, որոնցում բացակայում են կապված ազոտի միացությունները: Ավտոտրոֆ մանրեների կուտակիչ կուլտուրան ստանում են այնպիսի սննդամիջավայրերում, որոնցում ածխածնի միակ աղբյուրն ածխաթթու

գազն է կամ միաժխածնային այլ միացությունները: Սննդամիջավայրում այլ ածխածնային միացությունների բացակայությունը չի նպաստում հետերոտրոֆների զարգացմանը: Սննդամիջավայրերը, որոնք բավարարում են գլխավորապես մեկ խմբին պատկանող մանրէների պահանջները, կոչվում են ընտրողական (էլեկտիվ), հաճախ կուտակիչ կամ սելեկտիվ սննդամիջավայրեր:

Երբեմն բնական պոպուլյացիաներից մանրէների մեկուսացման համար նախատեսված սննդամիջավայրերում ավելացնում են հակաբիոտիկներ, որոնք օժտված են մենահատուկ ազդեցությամբ և թույլ են տալիս ընտրողաբար ճնշել մանրէների որոշակի խմբերի աճը: Այսպես, գրամբացասական բակտերիաների համար էլեկտիվ պայմաններ կարելի է ստեղծել սննդամիջավայրում ավելացնելով 0.2-ից մինչև 100 մգ/լ պենիցիլին, որի առկայությամբ դանդաղում կամ ընկճվում է գրամդրական մանրէների մեծամասնության զարգացումը: Բակտերիաների աճի համար նպաստավոր պայմաններ ստեղծելու և, ընդհակառակը, միգելային սնկերի աճը ճնշելու համար, սննդամիջավայրում ավելացնում են 0.1-ից մինչև 20 մգ/լ նիստատին, կամ 1-ից մինչև 20 մգ/լ գրիզեոֆուլվին:

Էլեկտիվ պայմանների ստեղծման համար հարկավոր է հաշվի առնել օդավորման, ջերմաստիճանի, սննդամիջավայրի թթվայնության, լուսավորման և այլ պայմանների նկատմամբ մանրէների պահանջը: Այսպես, աերոբ մանրէների կուտակիչ կուլտուրայի ստացման համար ապահովում են սննդամիջավայրի առավել մեծ մակերեսի շփումը օդի հետ, իսկ անաերոբ մանրէների կուտակիչ կուլտուրայի ստացման համար՝ ստեղծվում են անաերոբ պայմաններ: Բարձր ջերմաստիճանային պայմաններում աճեցումը ($>50^{\circ}\text{C}$) բացառում է մեզոֆիլ մանրէների զարգացումը և ապահովում է թերմոֆիլների աճը: Ընտրողական գործոն կարող են հանդիսանալ նաև տարբեր մանրէների տվյալ ջերմաստիճանային պայմաններում ցուցաբերած աճի տարբեր արագությունները: Օրինակ՝ աճի տարբեր օպտիմալ ջերմաստիճանների արժեքների շնորհիվ, մինիմալ սննդամիջավայրում լուսավորման և 35°C ջերմաստիճանային պայմաններում հաջողվում է գրեթե ամբողջությամբ ճնշել կանաչ ջրիմուռների աճը և ստանալ ցիանաբակտերիաներով հարստացած կուլտուրա:

Կուտակիչ կուլտուրա ստանալիս հարկավոր է հաշվի առնել նաև որոշ մանրէների էնդոսպորներ առաջացնելու ունակությունը: Սպոր առաջացնող մանրէների կուլտուրայի ստացման համար, որպես կանոն, սննդամիջավայր են ներմուծում նախապես պաստերացված

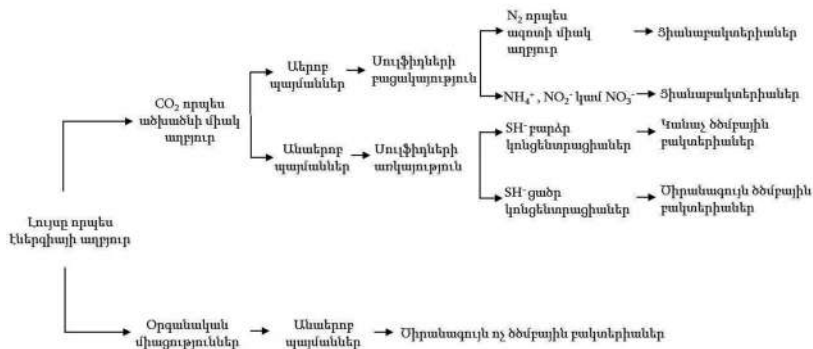
(ջերմամշակում 10 րոպե 75°C կամ 2-5 րոպե 80°C ջերմաստիճանում) բնական սուբստրատը: Այս եղանակով հնարավոր է բացառել սպոր չառաջացնող բակտերիաների զարգացումը:

Հարկ է նշել, որ էլեկտիվ պայմանները ոչ միշտ են բարենպաստ մեկուսացվող մանրէների աճի համար, սակայն դրանք առավել նպաստավոր են վերջիններիս, քան ուղեկցող մանրէների զարգացման համար:

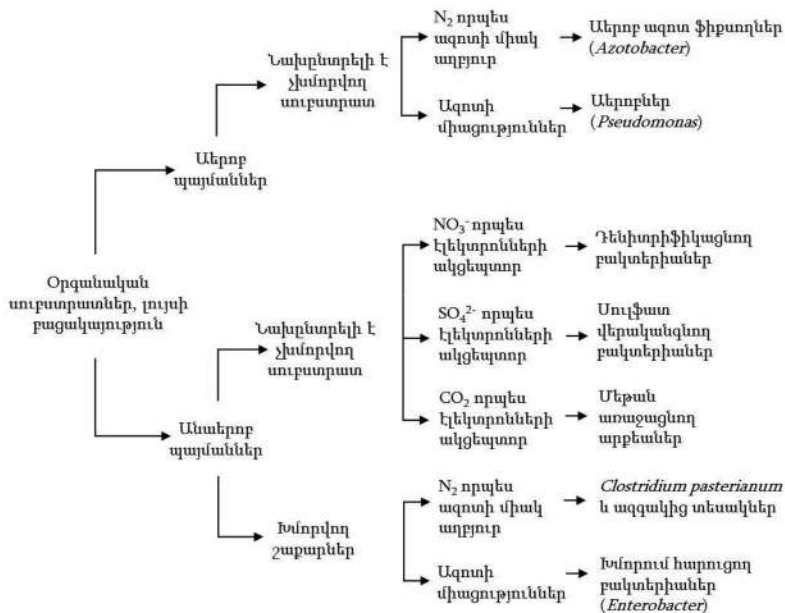
Կուտակիչ կուլտուրայի զարգացումը գնահատում են մեկուսացվող մանրէային կուլտուրային բնորոշ աճի նշանների՝ սննդամիջավայրի պղտորությամբ, գունանյութերի, փառնի, նստվածքի կամ զազի առաջացմամբ: Բացի ակնառու փոփոխությունների նկարագրումից, կուտակիչ կուլտուրան մանրադիտակում են: Երբեմն անհրաժեշտ է որոշել նաև մեկուսացվող մանրէին բնորոշ նյութափոխանակության արգասիքների առկայությունը: Օրինակ՝ միտրիֆիկացնող մանրէների զարգացումը բնորոշվում է սննդամիջավայրում միտրիտների և միտրատների առկայությամբ և ամոնիումի իոնների քանակի նվազեցմամբ կամ բացակայությամբ:

Տարբեր տիպի նյութափոխանակությամբ օժտված մանրէների կուտակիչ կուլտուրաների ստացման էլեկտիվ պայմանները ներկայացված են նկար 39-ում:

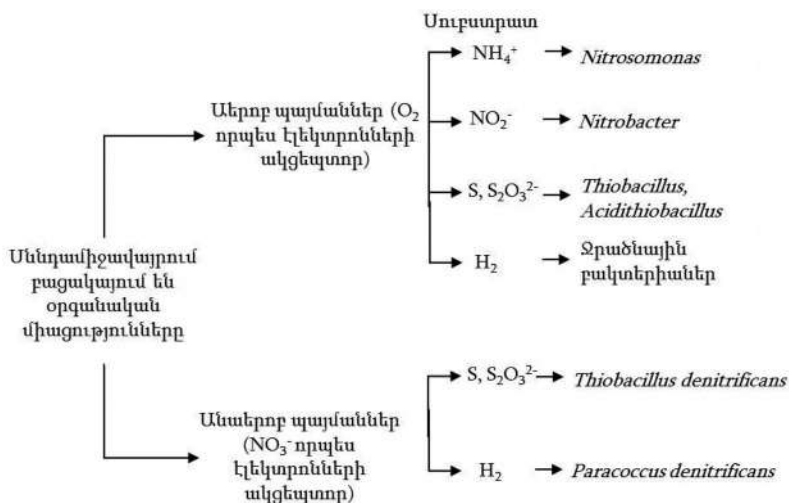
Ֆոտոտրոֆ մանրէներ



Քեմոհետերոտրոֆ մանրէներ



Քեմոլիթոավտոտրոֆ մանրէներ



Նկար 39. Տարբեր տիպի էներգիական փոխանակությամբ օժտված մանրէների կուտակիչ կուլտուրաների ստացման էլեկտիվ պայմանները:

Մաքուր կուլտուրայի մեկուսացումը

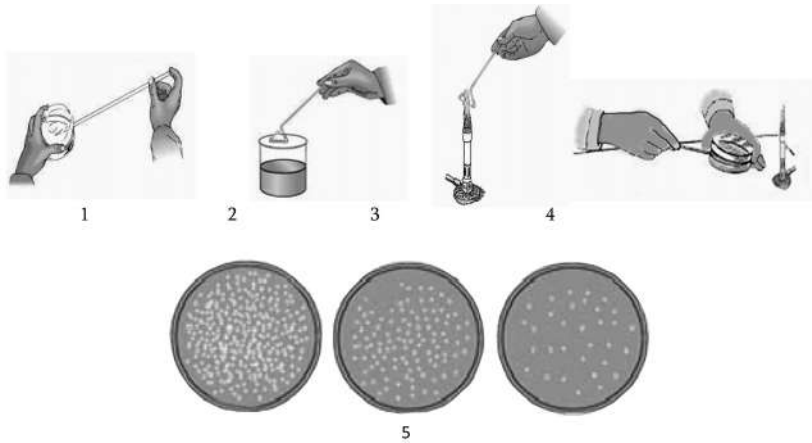
Կուտակիչ կուլտուրա ստանալուց հետո անջատում են մանրէի մաքուր կուլտուրան: Այն կարելի է մեկուսացնել առանձին գաղութից կամ մեկ բջջից:

Մաքուր կուլտուրայի անջատումը միայնակ գաղութից

Մանրէների մաքուր կուլտուրաների անջատման հիմնական մեթոդն առանձին գաղութից մաքուր կուլտուրայի մեկուսացումն է: Այն առաջին անգամ կիրառել է գերմանացի մանրէաբան Ռ. Կոխը և ի պատիվ նրա կոչվել է Կոխի մեթոդ: Այս մեթոդը կիրառելի չէ այն մանրէների համար, որոնք չեն աճում կամ վատ են աճում պինդ սննդամիջավայրերի վրա: Այդպիսի մանրէների թվին են պատկանում որոշ բակտերիաներ, բազմաթիվ ջրիմուռներ և նախակենդանիներ:

Աերոբ մանրէների մաքուր կուլտուրաների անջատման համար կուտակիչ կուլտուրայի կախույթը տարածում են պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին: Աշխատանքի հաջորդականությունը հետևյալն է: Եռացող ջրային բաղնիքում հալեցված նախապես մանրէազերծված և մինչև 50°C պաղեցված ագար-ագար կամ ժելատին պարունակող պինդ սննդամիջավայրը լցնում են մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ: Միջավայրի պնդանալուց հետո, դրա մակերեսին ավելացնում են կուտակիչ կուլտուրայի կամ մանրէազերծված ջրում դրա կախույթի մեկ կաթիլ և Դրիգալսկու մանրէազերծ ապակյա մածկաթիակով այն լավ տարածում են սննդամիջավայրի ողջ մակերեսով: Այնուհետև այդ նույն մածկաթիակը սահեցնում են հաջորդաբար երկրորդ, ապա երրորդ, անհրաժեշտության դեպքում նաև չորրորդ թասում լցված սննդամիջավայրի մակերեսով: Մոկոբաբար ինկուբացումից հետո առաջին երկու թասերում մանրէների աճը լինում է համատարած, իսկ հաջորդող թասերում՝ առանձին գաղութներով (նկար 40):

Կուտակիչ կուլտուրայից մաքուր կուլտուրայի մեկուսացումը կարելի է կատարել նաև մոսթացող գծերի մեթոդով: Այս դեպքում կուտակիչ կուլտուրան կամ մանրէազերծված ջրում դրա կախույթը մանրէաբանական օդակով տարածում են պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին գծերի այնպիսի հաջորդականությամբ, ինչպես ցույց է տրված նկար 41-ում: Յուրաքանչյուր նոր գծից առաջ մանրէաբանական

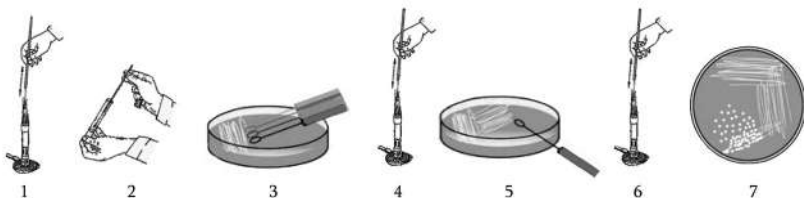


Նկար 40. Կուտակիչ կուլտուրայի տարածումը պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին մածկաթիակով:

1. Ապակյա պիպետով մանրէների կենսազանգվածի փրեղադրում պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին, 2. և 3. Մածկաթիակի մանրէագերծում, 4. Կախույթի փարսածում, 5. Մանրէների գաղութներ:

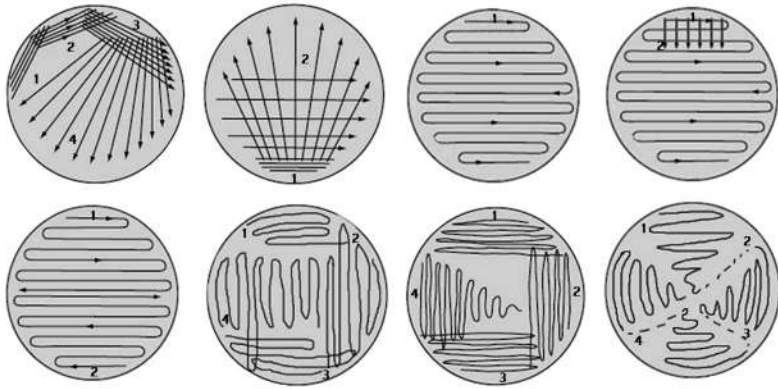
օղակը մանրէագերծում են զազայրոցի կամ սպիրտայրոցի բոցով: Միայնակ գաղութներ ստանալու համար պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին մանրէաբանական օղակով գծային ցանքը կարելի է իրականացնել գծերի տարբեր հաջորդականությամբ (նկար 42):

Ցանքից հետո Պետրիի թասերը տեղադրում են ջերմապահարան՝ կափարիչով դեպի ներքև շրջված, որպեսզի թասի կափարիչի վրա առաջացած ջրի կաթիլները պինդ սննդամիջավայրի վրա չկաթեն: Այլապես մանրէների առանձին-առանձին գաղութների փոխա-



Նկար 41. Մանրէային կուլտուրայի կախույթի ցանքը պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին մանրէաբանական օղակով:

1. Մանրէաբանական օղակի մանրէագերծում, 2. Մանրէաբանական օղակով մանրէային կախույթի փրեղադրում, 3. Առաջնային գծային ցանք, 4. Մանրէաբանական օղակի մանրէագերծում, 5. Երկրորդային գծային ցանք, 6. Մանրէաբանական օղակի մանրէագերծում, 7. Մանրէների գաղութներ:



Նկար 42. Գծային ցանքի տարբեր հաջորդականություններ:

րեն կառաջանա համատարած աճ՝ գազոն: Թասերը, կախված մանրէի աճման արագությունից, ինկուբացում են ջերմապահարանում 1-7 օրվա ընթացքում: Առաջացած մեկուսացված գաղութները վերացանում են սրվակներում լցված շեղակի մակերեսին կամ հեղուկ սննդամիջավայրում:

Խորքային ցանքի մեթոդը: Միկրոաերոֆիլ և ֆակուլտատիվ անաերոբ մանրէների գաղութները հաճախ ստանում են խորքային ցանքի մեթոդով: Դրա համար պինդ սննդամիջավայրը (15-20-ական մլ) նախապես լցնում են սրվակների մեջ, և մանրէազերծում: Ցանքից առաջ սրվակներում պինդ սննդամիջավայրերը հալեցնում են եռացող ջրային բաղնիքում կամ միկրոալիքային վառարանում: Ցանքը կատարում են նախապես մանրէազերծված ծորակային ջրում կուտակիչ կուլտուրայի նոսրացված կախույթներից: Նոսրացումները պատրաստում են այն հաշվարկով, որպեսզի կախույթի 0.5-1 մլ-ի ցանքի դեպքում ստացվեն առանձին գաղութներ: Նոսրացման աստիճանը որոշվում է կուտակիչ կուլտուրայի խտությամբ:

Ցանքը, որպես կանոն, կատարում են վերջին 3-4 նոսրացումներից: Դրա համար հալեցված և մինչև 48-50°C պաղեցված սննդամիջավայր պարունակող սրվակի մեջ ներարկում են 0.5-1 մլ կուտակիչ կուլտուրայի նոսրացված կախույթը: Ցանքանյութը լավ խառնում են՝ պտտելով սրվակը ձեռքի ափերով: Այնուհետև, գազայրոցի կամ սպիրտայրոցի բոցի մոտ հանում են սրվակի խցանը՝ ջերմամշակելով սրվակի եզրերը գազայրոցի բոցով, և արագորեն սրվակի պարունակությունը լցնում մանրէազերծված Պետրիի քասի մեջ: Ագարային

սննդամիջավայրի պնդանալուց հետո Պետրիի թասերը տեղադրում են ջերմապահարանում: Սննդամիջավայրի խորքում աճած գաղութները կտրում են մանրեագերծված նշտարով, մեկուսացնում են մանրեագերծված մազանոթային պիպետներով կամ ուղղակի մանրեաբանական ասեղով և տեղափոխում անջատվող մանրեների աճի և զարգացման համար բարենպաստ հեղուկ սննդամիջավայր:

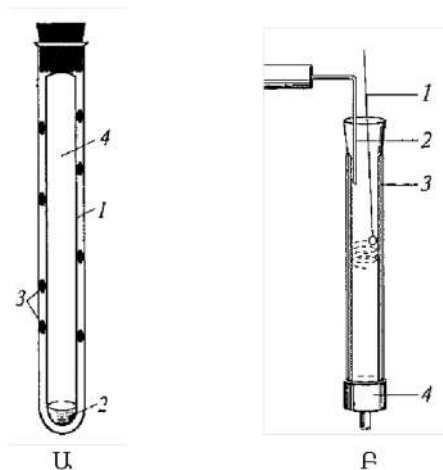
Հատկապես դժվար է մեկուսացնել օբլիգատ անաերոբ մանրէների մաքուր կուլտուրաները: Եթե մոլեկուլային թթվածնի հետ շփումը անմիջապես չի բերում բջիջների մահվան, ապա ցանքը կատարում են Պետրիի թասերում սննդամիջավայրի մակերեսին, բայց ցանքից հետո թասերն ինկուբացնում են անաերոբային տարայում (տե՛ս նկար 15) կամ անաերոստատներում (տե՛ս նկար 16): Սակայն հաճախ կիրառում են նոսրացման մեթոդը: Այս մեթոդի էությունը կայանում է նրանում, որ կուտակիչ կուլտուրայի նոսրացումներն իրականացնում են հալեցված և մինչև 45-50°C պաղեցված ազարային սննդամիջավայրում: Կատարում են 6-10 հաջորդական նոսրացումներ: Այնուհետև սրվակներում սննդամիջավայրն արագ սառեցնում են որպեսզի պնդանա, ապա օդի ներթափանցումը կանխելու նպատակով ավելացնում պարաֆինի և վազելինային յուղի (3:1 հարաբերությամբ) մարեագերծված խառնուրդ:

Երբեմն ազարացված սննդամիջավայրը ցանքից և լավ խառնումից հետո տեղափոխում են մանրեագերծված Բուրրիի խողովակների (տե՛ս նկար 13) մեջ: Կարելի է օգտագործել Պաստերյան մազանոթային պիպետները (տե՛ս նկար 4), որոնցում լցնում են հալեցված ազարային սննդամիջավայրում նոսրացված կուտակիչ կուլտուրայի կախույթը, ապա զոդում մազանոթի ծայրերը: Ինկուբացումից հետո սրվակներից (Պաստերյան պիպետներից, Բուրրիի խողովակներից) որևէ մեկում կարելի է հայտնաբերել մանրէների առանձին գաղութներ:

Առաջացած գաղութների մեկուսացումը կատարվում է հետևյալ կերպ: Մանրեագերծված ներարկիչով հեռացնում են պարաֆին-վազելինային շերտը, իսկ ազարային սննդամիջավայրի սյունը սրվակի պատի և ազարային սննդամիջավայրի միջև տեղադրված մազանոթի կամ ասեղի միջով թթվածին չպարունակող գազի հոսքի ճնշմամբ զգուշորեն դուրս են բերում սրվակից և տեղադրում մանրեագերծված Պետրիի թասի մեջ: Բուրիի խողովակից ազարացված սննդամիջավայրը ևս դուրս են բերում թթվածին չպարունակող գազի հոսքի ճնշմամբ:

Որոշ դեպքերում պինդ սննդամիջավայրը սրվակից դուրս են բերում տաքացմամբ՝ ամբողջ ընթացքում արագ պտտելով այն գազայրոցի կամ սպիրտայրոցի բոցի վրա: Այս դեպքում անմիջականորեն սրվակի պատին հարող ազար-ազարը հալվում է, և սրվակի պարունակությունը ազարային սյան ձևով հեշտությամբ սահում է մանրեագերծ Պետրիի թասի մեջ: Ազարն սյունը կտրտում են մանրեագերծված նշտարով և մեկուսացնում գաղութները՝ առանձնացնելով դրանց մանրեագերծված մազանոթային պիպետներով կամ մանրեաբանական ասեղով: Մեկուսացված գաղութները տեղափոխում են ուսումնասիրվող մանրէների զարգացման համար բարենպաստ հեղուկ սննդամիջավայրի մեջ: Եթե մեկուսացված գաղութները ստացվել են մազանոթում, ապա մազանոթի մակերեսը մանրեագերծելուց հետո այն կտրտում են մանրեագերծված ունեղիով և մեկուսացված գաղութներ պարունակող մազանոթային կտորները տեղադրում մանրեագերծված սննդամիջավայրի մեջ:

Պտտվող սրվակների մեթոդ: Թթվածնի նկատմամբ բարձր զգայունություն ունեցող օրլիգատ անաերոբ մանրէների կուլտուրաները ստանում են Ռ. Հանգեթի պտտվող սրվակների մեթոդով: Դրա էությունը կայանում է հետևյալում: Սրվակի մեջ լցված դեռևս հե-



Նկար 43. Օրլիգատ անաերոբների կուլտուրաների ստացումը գազով լցված Ռ. Հանգեթի պտտվող սրվակների մեթոդով (Ա) և այլ մեթոդի ձևավորությամբ (Բ):

Ա) 1. Պինդ սննդամիջավայր, 2. Կոնդենսացված ջուր, 3. Բակտերիաների գաղութներ, 4. H_2 և CO_2 գազերի խառնուրդ, Բ) 1. Մանրեաբանական օդակ, 2. Մանրեագերծ իներյուր գազի մղման խողովակ, 3. Սրվակի պարերին պնդացած սննդամիջավայր, 4. Սրվակը պտտող հարմարանք:

դուկ ազարային սննդամիջավայրը թթվածնից զուրկ մանրէագերծ-ված իներտ գազի մշտական հոսքի պայմաններում ինոկուլացնում են մանրէային կախությո՜ւմ: Այնուհետև սրվակը փակում են ռետի-նե խցանով և հորիզոնական դիրքով տեղադրում սեղմակի մեջ, որը պտտում է սրվակը: Ազարային սննդամիջավայրն այդ դեպքում հա-մաչափ բաշխվում է և, սառելով, բարակ շերտով պատում սրվակի պատերը: Գազային խառնուրդով լցված սրվակի ազարային սննդա-միջավայրի բարակ շերտը թույլ է տալիս ստանալ մեկուսացված գա-ղութներ, որոնք լավ երևում են անգեն աչքով (նկար 43):

Կիրառում են նաև Ռ. Հանգեյթի մեթոդի ձևափոխությունը: Այդ դեպքում դեռևս հեղուկ ազարային սննդամիջավայրը մանրէագերծ-ված իներտ գազի մշտական հոսքի պայմաններում լցնում են սրվակ-ների մեջ: Այնուհետև սրվակը փակում են ռետինե խցանով և հորի-զոնական դիրքով տեղադրում սեղմակի մեջ, որը պտտում է սրվակը: Երբ սննդամիջավայրը պնդանում է, մանրէագերծված գազի անընդ-հատ հոսքի պայմաններում մանրէաբանական օդակի միջոցով կա-տարում են ցանք՝ հպելով օդակը պտտվող սրվակի պատերին հա-տակից դեպի վեր ուղղությամբ:

Մաքուր կուլտուրայի մեկուսացումը մեկ բջից

Մեկ բջից մաքուր կուլտուրա կարելի է մեկուսացնել կաթիլային մեթոդով՝ կիրառելով միկրոմանիպուլյատոր կամ միկրոսեղեկտոր:

Լինդկերի կաթիլային մեթոդը: Մեթոդը կիրառվում է խոշոր չափ-սեր ունեցող մանրէների՝ շաքարասնկերի, միցելիում առաջացնող սնկերի, ցիանաբակտերիաների, ջրիմուռների հետ աշխատելիս: Աշխատանքի հաջողականությունը հետևյալն է: Կուտակիչ կուլ-տուրան մոսրացնում են մանրէագերծ սննդամիջավայրում այնպիսի հաշվարկով, որ ոչ մեծ կաթիլում լինեն մանրէների մեկական բջիջ-ներ: Այնուհետև մի քանի մանրէագերծված ծածկապակիների մա-կերեսին մանրէագերծված պողպատե ծայրակալով կաթեցնում են մոսրացված կախությո՜ւքից մեկական կաթիլ: Պատրաստում են պատ-րաստուկ կախ կաթիլի մեթոդով: Ծածկապակիների մակերեսին առ-կա կաթիլները մանրադիտակում են և նշում այն պատրաստուկները, որոնցում հայտնաբերվել է միայն մեկ բջիջ: Դրանից հետո պատ-րաստուկը տեղափոխում են խոնավ խցիկ, որն իրենից ներկայաց-նում է հատակին խոնավ ֆիլտրի թղթով Պետրիի թաս, և տեղադրում

ջերմապահարան: 12-24 ժամ անց նշված կաթիլները կրկին մանրադիտակում են: Այն կաթիլները, որոնցում դիտվում է միկրոգաղութների ձևավորում, մանրէագերծ ֆիլտրի թղթի կտորներով զգուշորեն հանում են ծածկապակու վրայից և թղթերը տեղափոխում մանրէագերծված սննդամիջավայրով սրվակների մեջ:

Առանձին բջիջների մեկուսացումը միկրոմանիպուլյատորի միջոցով: Միկրոմանիպուլյատորը մի սարք է, որը թույլ է տալիս հատուկ միկրոպիպետի կամ միկրոասեղի միջոցով կախության առանձնացնել մեկ բջիջ: Այս գործընթացը վերահսկում են մանրադիտակմամբ: Միկրոմանիպուլյատորն ունի երկու գործառութային շտատիվ, որոնց միջև տեղադրված է սովորական մանրադիտակ: Մանրադիտակի առարկայական սեղանի վրա տեղադրված է խոնավ խցիկ, որում տեղադրում են կախ կաթիլի պատրաստուկը: Գործառութային շտատիվների պրկիչներին ամրացված են միկրոպիպետներ (միկրոասեղներ), որոնց տեղաշարժումը մանրադիտակի տեսադաշտում պտուտակների և լծակների համակարգի շնորհիվ իրականացնում է միկրոնի ճշտությամբ: Միկրոպիպետները տեղադրում են խոնավ խցիկում այնպես, դրանց ծայրերը հայտնվեն կախ կաթիլում: Կարելի է մեկուսացնել առանձին բջիջները միկրոպիպետների օգնությամբ և տեղափոխել դրանց մանրէագերծված սննդամիջավայրով սրվակների մեջ:

Միայնակ բջիջների մեկուսացումը Պերֆիլի միկրոսելեկտորի օգնությամբ: Պերֆիլի միկրոսելեկտորի կարևոր բաղադրամասն ապակյա միկրոմագնոթն է, որն ունի ուղղանկյուն հատույթ: Մանրէագերծված միկրոմագնոթը լցնում են հետազոտվող բջջային կախությամբ պատրաստված ագարացված սննդամիջավայրով, և մանրադիտակի մեծ խոշորացմամբ գտնում մեկ բջջով հատված: Հատուկ հարմարանքի օգնությամբ մագնոթի այդ հատվածը մանրէագերծ պայմաններում դուրս են մղում և տեղափոխում մանրէագերծված սննդամիջավայր: Պերֆիլի միկրոսելեկտորը կարելի է օգտագործել ինչպես խոշոր, այնպես էլ փոքր չափսեր ունեցող մանրէների մեկուսացման համար:

Մեկուսացված կուլտուրայի մաքրության որոշումը

Մանրէների մեկուսացված կուլտուրայի մաքրությունը պետք է մանրակրկիտ ստուգել: Դա սովորաբար իրականացվում է մի քանի

եղանակով՝ ակնադիտակմամբ, մանրադիտակմամբ և մի շարք սննդամիջավայրերի վրա ցանքի միջոցով: Ակնադիտմամբ վերահսկվում է մանրէների աճը շեղակի մակերեսին: Եթե աճը համասեռ չէ, ապա կուլտուրան մաքուր չէ: Այսպիսի վերահսկողությունը հնարավոր է միայն այն կուլտուրաների համար, որոնք ունակ են աճել պինդ սննդամիջավայրերի մակերեսին:

Մանրէների կուլտուրաների մաքրությունն անհրաժեշտ է վերահսկել մանրադիտակմամբ: Դրա համար պետք է պատրաստել ներկված բջիջների մշտական պատրաստուկ և դիտել այն իմերսիոն օբյեկտիվով կամ պատրաստել կենդանի բջիջների պատրաստուկ և դիտել այն փուլացայտերանգային հարմարանքով: Բազմաթիվ մանրէների մաքուր կուլտուրաներ, որպես կանոն, ձևաբանորեն միատարր են և առկա են միայն բջիջների չափսերի աննշան տարբերություններ: Սակայն հարկ է հիշել, որ որոշ մանրէների, օրինակ՝ միկոբակտերիաների, նոկարդիաների բջիջները շատ բազմաձև (պոլիմորֆ) են, հետևաբար դրանց մաքրության որոշումը մանրադիտակմամբ որոշ բարդություններ է առաջացնում:

Մանրէների կուլտուրաների մաքրությունը ստուգվում է նաև տարբեր սննդամիջավայրերում ցանքով: Առաջին հերթին անջատված կուլտուրան ցանում են դրա աճի համար բարենպաստ սննդամիջավայրերի վրա: Աճած գաղութների միատարրությունը կուլտուրայի մաքրության վկայությունն է: Բազմաթիվ քեմոհետերոտրոֆների համար պարտադիր է նաև աճեցնել մսապեպտոնային ազարում (ՄՊԱ): Կուլտուրայի մաքրության չափանիշ է աճած գաղութների միատարրությունը կամ աճի բացակայությունը, եթե տվյալ մանրէները ՄՊԱ-ում պարզապես չեն զարգանում:

Անհրաժեշտ է նկատի ունենալ, որ որոշ մանրէների մաքրության մասին եզրակացություն չի կարելի կատարել միայն ըստ ՄՊԱ-ում ցանքի արդյունքների: Դա հատկապես վերաբերում է ավտոտրոֆ մանրէներին, ինչպես նաև այն հետերոտրոֆների, որոնք ունակ են զարգանալու մեկ կամ մի քանի ուղեկից տեսակների հետ: Մանրէների այդպիսի կուլտուրաների մաքրությունը ստուգում են նաև մի շարք այլ սննդամիջավայրերի, օրինակ՝ ածիկային քաղցու ազար, կարտոֆիլային օսլա պարունակող ազարացված սննդամիջավայրի վրա ցանքի մեթոդով: Սննդամիջավայրերի հավաքակազմը և դրանց բաղադրությունը որոշվում են ըստ մեկուսացված մանրէների, ինչպես նաև դրանց հնարավոր ուղեկից տեսակների նյութափոխանակային առանձնահատկություններով:

Մանրէների թվաքանակի որոշման մեթոդները

Սննդամիջավայրերում և բնական սուբստրատներում մանրէների աճի մասին դատում են միավոր ծավալում բջիջների թվաքանակի կամ կենսազանգվածի փոփոխությամբ: Այս ցուցանիշների որոշման մեթոդները կարող են լինել ուղղակի (մանրադիտակով բջիջների հաշվարկում, կենսազանգվածի կշռում) կամ անուղղակի: Անուղղակի մեթոդները հիմնված են այնպիսի ցուցանիշների փոփոխության վրա, որոնց արժեքները կախված են մանրէների թվաքանակից կամ կենսազանգվածից (օրինակ՝ բջիջների կախույթը պինդ սննդամիջավայրի վրա տարածելուց հետո առաջացած գաղութների թվով, կախույթի լույսը ցրելու կամ կլանելու չափով, կախույթում սպիտակուցի պարունակությամբ և այլն): Մեթոդի ընտրությունը կախված է հետազոտության նպատակից, սննդամիջավայրի կամ սուբստրատի կազմից, ինչպես նաև մանրէների աճի և ձևաբանության առանձնահատկություններից:

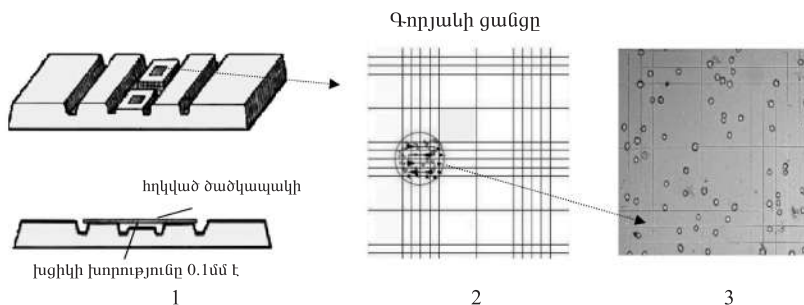
Մանրէների թվաքանակի հաշվարկման համար, հատկապես բնական սուբստրատներում, օրինակ՝ հողում, անհրաժեշտ է հիշել, որ դրանց բջիջները հաճախ գտնվում են հողային կնձիկին ամրացված (մակակլանված) վիճակում կամ միկրոգաղութների ձևով: Այդ պատճառով նախքան մանրէների թվաքանակի հաշվարկը դրանց անհրաժեշտ է առանձնացնել սուբստրատի մասնիկներից և միմյանցից բջջային կախույթի մեխանիկական խառնմամբ, տրորմամբ, ուլտրաձայնով մշակմամբ, մակերեսային ակտիվ նյութերի կիրառմամբ՝ հաշվի առնելով նաև հետազոտվող սուբստրատի առանձնահատկությունները:

Մանրէային բջիջների թվաքանակի որոշումը մանրադիտակով

Մանրադիտակով մանրէների բջիջների թվաքանակի հաշվարկման համար կիրառվում են հաշվիչ խցիկներ, առարկայական ապակիների կամ թաղանթային ֆիլտրերի վրա ֆիքսված և ներկված բջիջների պատրաստուկներ: Թվարկված մեթոդները բույլ են տալիս որոշել միավոր ծավալում բջիջների (ինչպես կենդանի, այնպես էլ մահացած) ընդհանուր թվաքանակը: Նշված մեթոդների հիմնական սահմանափակումը հետազոտվող սուբստրատի միավոր ծավալում բջիջների բավականին մեծ թվաքանակի անհրաժեշտությունն է:

Քջիջների թվաքանակի հաշվարկումը հաշվիչ խցիկների կիրառումամբ

Այս մեթոդը խորհուրդ է տրվում օգտագործել խոշոր օբյեկտների՝ շաքարասնկերի, միաբջջիջ ջրիմուռների, սնկերի կոնիդիումների, որոշ համեմատաբար խոշոր բակտերիաների հաշվարկման համար: Դիցուք՝ Գորյասի-Տոմի խցիկը (նկար 44) իրենից ներկայացնում է հաստ առարկայական ապակի, որը բաժանված է ակոսներով: Ապակու կենտրոնում գտնվում է 0.1 մմ խորությամբ փոսիկ՝ հաշվիչ խցիկ, որի հատակին տեղադրված է մեծ և փոքր քառակուսիներից բաղկացած ցանց: Խցիկի բարձրությունը (0.1 մմ) և մեծ ու փոքր քառակուսիների մակերեսները (համապատասխանաբար 1/25 և 1/400 մմ²) նշված են առարկայական ապակու վրա:



Նկար 44. Գորյասի-Տոմի խցիկի կառուցվածքը (1) և պատկերը մանրադիտակով 40× (2) և 90× խոշորացմամբ (3):

Հաշվիչ խցիկի հետ աշխատելիս անհրաժեշտ է հետևել խցիկը կախությունով լցնելու որոշակի կանոններին: Ցանցավոր փոսիկը ծածկում են հատուկ հղկված ծածկապակիով և, թեթևակի սեղմելով, կատարում հակառակ ուղղություններով պտտական տեղաշարժումներ մինչև ինտերֆերենցիայի պատկերի (Նյուտոնի օղակների) հայտնվելը, որը վկայում է խցիկի պատերին ծածկապակու ամրացված լինելու մասին: Միայն այս դեպքում է խցիկի ծավալը համապատասխանում հաշվարկայինին: Նախապես հաշվիչ խցիկի մեջ կաթոցիկով լցնում են հետազոտվող մանրէի կախությունը և այն տեղադրում մանրադիտակի առարկայական սեղանի վրա: Խորհուրդ է տրվում բջիջների հաշվարկը սկսել նշված գործողությունից 2-3 րոպե հետո, որպեսզի բջիջներն անշարժանաճ հպվելով խցիկի պատերին և ման-

րադիոտակման ընթացքում գտնվեն մեկ հարթության վրա: Շարժում բջիջները կարելի է անշարժացնել ջերմամշակմամբ կամ 0.5% ֆորմալինի լուծույթով մշակմամբ:

Բջիջների թվաքանակը հաշվում են կիրառելով 8 և 10, հազվադեպ 40 անգամ մեծացնող օբյեկտիվ: Չի կարելի աշխատել իմերսիոն օբյեկտիվով, քանի որ այդ օբյեկտիվի աշխատանքային հեռավորությունները փոքր են խցիկի ապակու հաստությունից: Սովորաբար հաշվում են հաշվիչ խցիկի ցանցի 10 մեծ կամ 20 փոքր քառակուսիներում մանրէների թվաքանակը՝ տեղաշարժելով մանրադիտակի առարկայական սեղանը անկյունագծով: Հաշվարկում են այն բոլոր բջիջները, որոնք գտնվում են քառակուսու ներսում կամ քառակուսու վերին և աջ կողմերին: Մեծ քառակուսիներում բջիջների թվաքանակի հաշվարկման դեպքում բջիջների թիվը չպետք է գերազանցի 20-ը, իսկ փոքր քառակուսիներում՝ 10-ը, հակառակ դեպքում սկզբնական կախույթը լուծում են ծորակային ջրով (ցանկալի է նախապես մանրեագրեթմված):

Առավել ճշգրիտ տվյալներ ստանալու համար վերոնշյալ գործողությունը կրկնում են 3-5 անգամ՝ յուրաքանչյուր անգամ նորովի նախապատրաստելով խցիկը և հաշվելով մանրէների թվաքանակը մանրէային կախույթի նոր մասնաբաժնում: Բջիջների քանակությունը (M) 1 մլ հետազոտվող կախույթում հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$M = \frac{a \times n}{h \times S} \times 10^3,$$

որտեղ a-ն բջիջների թվաքանակի միջին մեծությունն է ցանցի մեկ քառակուսու մեջ, h-ը՝ հաշվիչ խցիկի բարձրությունը (մմ), S-ը՝ հաշվարկային քառակուսու մակերեսը (մմ²), 10³-ը՝ սմ³-ից մմ³ հաշվարկման հաստատունը, n-ը՝ հետազոտվող կախույթի նոսրացումների թիվը:

Մանրէների ուղղակի հաշվարկման մագանոթային մեթոդ

Մանրէների հաշվարկման նպատակով Բ.Վ. Պերֆիլևը մշակել է հատուկ բազմուղի հաշվիչ մագանոթներ՝ բաղկացած հարթ զուգահեռ ապակիներից, որոնք ունեն ուղղանկյուն հատույթ, և հաշվարկման սկզբունքով նման են հաշվիչ խցիկներին: Դրանց բարձրությունն

ու լայնությունը որոշվում են մագանոթի կառուցվածքով և իրենցից ներկայացնում են հաստատուն մեծություններ, իսկ երկարությունը սովորաբար համապատասխանում է մանրադիտակի տեսադաշտի տրամագծին կամ չափելի է: Ի տարբերություն Գորյակի-Տոմի խցիկի, Պերֆիլևի մագանոթների մանրադիտակման համար կարելի է օգտագործել մեծ խոշորացումով օբյեկտիվներ, այդ թվում՝ իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվներ, և, հետևաբար, կարելի է հաշվարկել նաև փոքր չափսեր ունեցող մանրէների թվաքանակը: Բազմուղի մագանոթներն իրենցից ներկայացնում են մի քանի (սովորաբար 5) գուգահեռ մագանոթային խցիկներից բաղկացած կառույցներ, որոնք տեղադրված են հատուկ առարկայական ապակու վրա: Մանրէային բջիջները նախ հաշվարկում են յուրաքանչյուր մագանոթային խցիկում, իսկ հետագայում ընդհանուր հաշվարկի համար միջինացնում ստացված արդյունքները:

Սուբստրատի մեջ տեղադրելիս մագանոթային հատկությունների շնորհիվ մագանոթը լցվում է սուբստրատով: Այնուհետև մագանոթը տեղադրում են առարկայական ապակու վրա, ծայրը փակում են պարաֆինով (դա թույլ է տալիս պահպանել մագանոթի պարունակությունը չորացումից) և հաշվարկում են բջիջները՝ օգտագործելով 40× կամ 90× խոշորացնող օբյեկտիվներն կամ փուլացայտերանգային հարմարանք:

Հավաստի տվյալներ ստանալու համար յուրաքանչյուր խցիկում հաշվարկում են 50-100 տեսադաշտերում բջիջների թվաքանակը, ապա հաշվարկում միջինը: 1 մլ հետազոտվող սուբստրատում բջիջների թվաքանակը (M) որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

$$M = \frac{a \times n}{h \times l \times d} \times 10^3,$$

որտեղ a-ն մանրադիտակի տեսադաշտի տրամագծի երկայնքով մագանոթի մեջ բջիջների միջին թվաքանակն է, h-ը՝ մագանոթի բարձրությունը (մմ), l-ը՝ մագանոթի լայնությունը (մմ), d-ն՝ տեսադաշտի տրամագիծը (մագանոթի երկարությունը) մանրադիտակի տվյալ խոշորացման պայմաններում (մմ), 10^3 -ը՝ սմ³-ից մմ³ հաշվարկման հաստատումը, n-ը՝ հետազոտվող կախույթի նոսրացումների թիվը:

Բջիջների հաշվարկը մշտական (ներկված) պատրաստուկում (Վինոգրադսկու-Քրիդի մեթոդ)

Այս մեթոդը կիրառվում է տարբեր բնական սուբստրատներում՝ հողում, աղտոտված ջրում, օպտիկապես անթափանց, ջրում չլուծվող բաղադրամասեր (օրինակ՝ օսլա, սոյայի ալյուր և այլն) պարունակող սննդամիջավայրերում մանրէների թվաքանակի որոշման համար: Մեթոդի առավելությունը ներկված մշտական պատրաստուկների երկարատև պահպանման հնարավորությունն է, որի շնորհիվ հաշվարկը կարելի է իրականացնել հետազոտողի համար հարմար պահին:

Պատրաստուկը պատրաստում են հետևյալ կերպ: Առարկայական ապակին տեղադրում են միլիմետրական թղթի վրա, որի վրա նշագծված է 4 կամ 6 սմ² մակերեսով ուղղանկյուն: Այնուհետև ապակու վրա տեղադրում են հստակ ծավալով հետազոտվող կախույթը (10, 20 կամ 30 մլ), իսկ որոշ դեպքերում ավելացնում են նաև մեկ կաթիլ 0.03-0.1% ազար-ազարի ջրային լուծույթ: Կախույթը մանրէաքանական օղակով հավասարաչափ տարածում են միլիմետրական թղթի վրա նշագծված ուղղանկյան մակերեսով: Պատրաստուկը չորացնում են օդում, 10-20 րոպե ֆիքսում էքանով (96%) և ներկում մեթիլեն կապույտով, ֆուքսինով կամ այլ ներկանյութով: Այնուհետև պատրաստուկը լվանում են՝ հաջորդաբար տեղադրելով ջրով լցված 4-5 անոթների մեջ, (լվանալ հոսող ջրի տակ չի կարելի) և կրկին չորացնում օդում: Այս ձևով պատրաստուկները լավ են պահպանվում:

Պատրաստուկը մանրադիտակում են իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվով: Բջիջների թվաքանակը հաշվարկում են օկուլյարային ցանցի քառակուսիներում, որը տեղադրում են օկուլյարի մեջ կուտակիչ և ակնային ոսպնյակների միջև: Ցանցի բացակայության դեպքում հաշվարկվում է բջիջների թվաքանակը մանրադիտակի տեսադաշտում: Օկուլյարային ցանցի քառակուսիներում և հաշվիչ խցիկների ցանցի քառակուսիներում հաշվարկման կանոնները նույնն են: Որպեսզի ստացված տվյալը հավաստի լինի, խորհուրդ է տրվում մանրէների բջիջները հաշվարկել 50-100 տեսադաշտերում: 1 մլ հետազոտվող սուբստրատում բջիջների թվաքանակը (M) որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

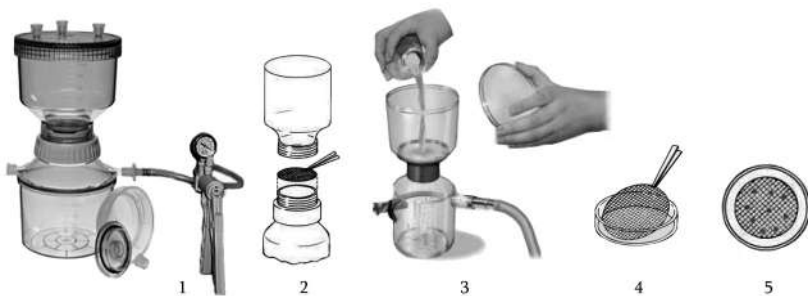
$$M = \frac{a \times S \times n}{s \times V},$$

որտեղ a -ն օկուլյարային ցանցի քառակուսում (կամ մանրադիտակի տեսադաշտում) բջիջների միջին թիվն է, s -ը՝ օկուլյարային ցանցի վանդակի մակերեսը, մմ², V -ն՝ ապակու վրա տեղադրված կախույթի ծավալը, մլ, S -ը քսուքի մակերեսը, մմ², n -ը՝ հետազոտվող կախույթի նոսրացումների թիվը:

Ցանցի քառակուսու կամ տեսադաշտի մակերեսը որոշվում է օբյեկտ-միկրոչափով: Այն տեղադրում են մանրադիտակի սեղանի վրա պատրաստուկի փոխարեն և խոշորացմամբ, որով իրականացվել էր մանրէների բջիջների հաշվարկը, որոշում են օկուլյարային ցանցի քառակուսու կողմը կամ տեսադաշտի տրամագիծը: Տեսադաշտի մակերեսը հաշվարկում են $S = \pi r^2$ բանաձևով:

Թաղանթային ֆիլտրերի օգնությամբ բջիջների հաշվարկում

Այս մեթոդը կիրառվում է մանրէների ցածր խտությամբ սուբստրատներում բջիջների թվաքանակի հաշվարկման համար: Այն կիրառում են ջրամբարներում մանրէների թվաքանակի որոշման համար, սանիտարամանրէաբանական և այլ հետազոտություններում: Հայտնի ծավալով նմուշի ֆիլտրումը (մի քանի մլիլիտրից մինչև մի քանի լիտր) թույլ է տալիս ֆիլտրի մակերեսին կուտակել նմուշում առկա մանրէային բջիջները: Այնուհետև այն ներկում են և հաշվում ֆիլտրի վրա կուտակված մանրէների թվաքանակը (նկար 45):



Նկար 45. Հեղուկ նմուշի ֆիլտրման համար նախատեսված ֆիլտր (1) և ֆիլտրման ընթացքը (2-5):

1. Նմուշի ֆիլտրման համար նախատեսված հարմարանք միացված վակուումային պոմպին, 2. Թաղանթային ֆիլտրի տեղադրում, 3. Հեղուկը փոխադրվող հեղուկի ֆիլտրում, 4. Թաղանթային ֆիլտրի ներկում, 5. Ներկված բջիջներ:

Այս նպատակով կիրառվող ֆիլտրի ծակոտիների տրամագիծը չպետք է գերազանցի մանրէների միջին չափերի տրամագծին: Օղի և լուծիչների մնացորդների հեռացման նպատակով օգտագործումից առաջ ֆիլտրերը եռացնում են թորած ջրում: Ջուրն անհրաժեշտ է 2-3 անգամ փոխել (եռացումը պետք է լինի հանդարտ, այլ կերպ ֆիլտրերը ոլորվում են): Այնուհետև, ֆիլտրը թավշյա մակերեսով վեր տեղադրում են հատուկ կրիչի վրա և ֆիլտրում հստակ ծավալով հեղուկ:

Ինչքան շատ է բջիջների խտությունը հետազոտվող մուշում, այդքան քիչ պետք է լինի հետազոտվող մուշի ծավալը և հակառակը: Ֆիլտրի վրա մնացած մանրէների բջիջները ներկում են կարբոլային էրիթրոզինով: Դրա համար ֆիլտրը ստորին մակերեսով տեղադրում են Պետրիի թասի մեջ տեղադրված և նախապես ներկանյութով ներծծված թղթե ֆիլտրի վրա, փակում կափարիչով և թողնում 3-5 ժամ կամ մեկ օր: Բջիջների հավասարաչափ ներկման համար թաղանթային ֆիլտրը պետք է պինդ հպվի էրիթրոզինով ներծծված թղթե ֆիլտրին: Այնուհետև թաղանթային ֆիլտրը լվանում են՝ ներկանյութից պարբերաբար տեղափոխելով թորած ջրով ներծծված թղթե ֆիլտր պարունակող Պետրիի թասերի մեջ այնքան, մինչև այլևս չի ներկում թղթե ֆիլտրը: Պատրաստուկը լվանալուց հետո ֆիլտրը չորացնում են օդում և պատրաստում մանրադիտակման: Առարկայական ապակու վրա ավելացնում են իմերսիոն յուղի մեկ կաթիլ և այդ կաթիլի վրա տեղադրում ներկված թաղանթային ֆիլտրն այնպես, որպեսզի մանրէների բջիջները լինեն վերևից: Թաղանթային ֆիլտրի մակերեսին ավելացնում են ևս մեկ կաթիլ իմերսիոն յուղ և ֆիլտրը ծածկում ծածկապակիով:

Մանրէային բջիջների թվաքանակը հաշվարկում են իմերսիոն օբյեկտիվի օգնությամբ օկուլյարային ցանցի քառակուսում կամ մանրադիտակի տեսադաշտում: Հաշվարկման կանոնները նույնն են ինչպես Վինոգրադսկու-Բրիդի մեթոդի դեպքում: 1 մլ հետազոտվող սուբստրատում բջիջների թվաքանակը (M) հաշվարկվում է հետևյալ բանաձևով՝

$$M = \frac{a \times F}{s \times V} \times 10^6,$$

որտեղ a-ն օկուլյարային ցանցի քառակուսում կամ տեսադաշտում առկա մանրէների միջին թվաքանակն է, F-ը՝ թաղանթային ֆիլտրի մակերեսը, մմ², V-ն՝ ֆիլտրված հեղուկի ծավալն է, մլ, s-ը՝ օկուլյարային ցանցի քառակուսու (կամ տեսադաշտի) մակերեսը:

Մանրէների հայտնաբերման և քանակական հաշվարկման համար լայնորեն կիրառվում է նաև լուսարձակային մանրադիտակումը: Մանրէային պատրաստուկները պատրաստում են անմիջապես հետազոտվող կախույթից կամ դրա նոսրացումներից կամ էլ հատուկ մշակված չլուսածորող ֆիլտրերով նախապես ֆիլտրմամբ: Պատրաստուկները և մանրէներով ֆիլտրերը մշակում են ակրիդինային նարնջագույնով կամ այլ լուսածորող ներկանյութով: Լուսային և լուսարձակային մանրադիտակմամբ մանրէների բջիջների հաշվարկման սկզբունքները նույնն են: Ֆլուորոքրոմներով ներկված բջիջներն ավելի հստակ են երևում մթնադաշտային մանրադիտակման ընթացքում, դրանց ավելի հեշտ է տարբերակել ոչ կենսաբանական օբյեկտներից (տիղմի մասնիկներից, հողից և այլն) և իրականացնել ավելի ստույգ հաշվարկ:

Լուսարձակային մանրադիտակումը հնարավորություն է տալիս նաև հետազոտվող նմուշում հայտնաբերել և որոշել առանձին խմբերի մանրէների թվաքանակը: Այդ նպատակով կիրառում են հատուկ ֆլուորոքրոմներ, օրինակ՝ կալկոֆլուոր սպիտակը կիրառվում է սնկերի հայտնաբերման համար:

Կենդանի և մահացած մանրէների ընդհանուր թվաքանակի հաշվարկի համար օգտագործվում են լուսածորող նյութեր՝ ակրիդին օրանժ, 4,6-երկամինա-2-ֆենիլիմիդոլ, ֆլուորեսցեին իզոթիոցիանատ և այլն: Կենդանի, ակտիվ կենսագործող մանրէների հաշվարկի համար օգտագործվում են երկքացախաթթվային ֆլուորեսցեին և երկքացախաթթվային 5-սուլֆոֆլուորեսցեին: Հետևաբար, միևնույն հետազոտվող նմուշում միաժամանակ կենդանի և մահացած բջիջների հաշվարկի համար անհրաժեշտ է պատրաստել երկու պատրաստուկ:

Ներկայումս մշակվել են համալիր ներկանյութեր, որոնք թույլ են տալիս միևնույն պատրաստուկում հաշվարկել միաժամանակ և՛ կենդանի, և՛ մահացած բջիջները, օրինակ՝ Live/Dead Bac-համալիրը:

Մանրէների թվաքանակի որոշումը սննդամիջավայրերում ցանքի մեթոդով

Ի տարբերություն մանրէների թվաքանակի որոշման մանրադիտակային մեթոդի, սննդամիջավայրում ցանքի միջոցով մանրէների թվաքանակի հաշվարկման մեթոդը հնարավորություն է տալիս որո-

շել մանրէային պոպուլյացիայի միայն կենսոմակ բջիջների թիվը: Քանի որ գոյություն չունեն սննդամիջավայրեր, որոնք պիտանի են միաժամանակ բոլոր մանրէների աճի համար, ցանքի մեթոդով մանրէների թվաքանակի հաշվարկման մեթոդը հնարավորություն է տալիս որոշել միայն այն մանրէների թվաքանակը, որոնք ունակ են աճել տվյալ կազմով սննդամիջավայրում: Ընդ որում, այս մեթոդով հնարավոր չէ հաշվել այդ սննդամիջավայրում չաճող (ներառյալ մանրէների այսպես կոչված կենսոմակ, բայց չկուլտիվացվող ձևերը) կամ դանդաղ աճող մանրէների քանակությունը: Դա հատկապես կարևոր է հաշվի առնել բնական սուբստրատների (օրինակ՝ հողի, ջրի և այլնի) վերլուծության դեպքում:

Մանրէների թվաքանակի որոշումը պինդ սննդամիջավայրերի վրա ցանքի մեթոդով (Կոխի մեթոդով)

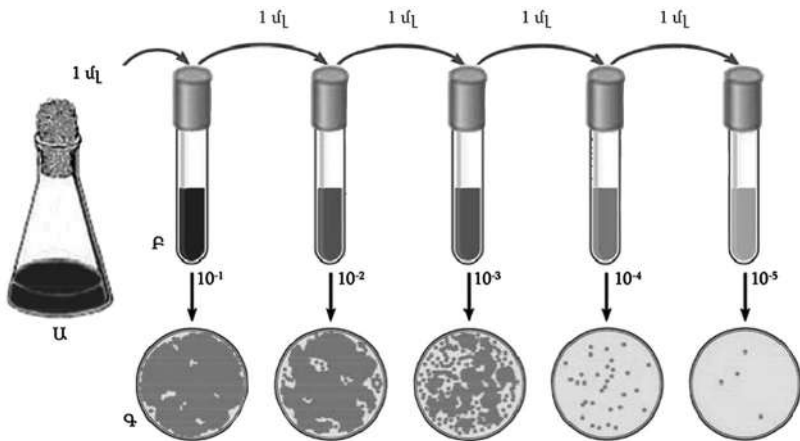
Այս մեթոդը լայնորեն կիրառում են տարբեր սուբստրատներում և լաբորատոր կուլտուրաներում կենսոմակ բջիջների քանակի որոշման համար: Դրա հիմքում ընկած է Կոխի մոտեցումը, համաձայն որի մանրէային յուրաքանչյուր գաղութը մեկ մանրէային բջջից առաջացած պոպուլյացիա է: Հետևաբար, ըստ պինդ սննդամիջավայրի վրա առաջացած գաղութների թվի կարելի է հաշվարկել որոշակի ծավալով հետազոտվող կախություն մանրէների բջիջների նախնական թիվը: Կոխի եղանակով մանրէների քանակական որոշման տվյալները հաճախ արտահայտում են ոչ թե բջիջների թվով, այլ պայմանական, այսպես կոչված, գաղութ առաջացնող միավորներով (ԳԱՄ):

Այս եղանակով մանրէների թվաքանակի որոշումն ընդգրկում է երեք փուլ. նոսրացումների պատրաստում, ցանք Պետրիի թասերում լցված պինդ սննդամիջավայրի վրա և առաջացած գաղութների հաշվարկում:

Նոսրացումների պատրաստումը: Մանրէների պոպուլյացիաների թվաքանակը տվորաբար շատ մեծ է, այդ պատճառով մեկուսացված գաղութների ստացման համար անհրաժեշտ է մանրէային կախությոնը հաջորդական նոսրացնել: Նոսրացումները կատարում են մանրէազերծված ծորակային ջրում կամ 0.85% NaCl լուծույթում (ֆիզիոլոգիական լուծույթ): Փորձի ընթացքում նպատակահարմար է օգտագործել նոսրացման միևնույն գործակիցը, օրինակ՝ 10, որը

նվազեցնում է սխալի հավանականությունը:

Նոսրացման համար մանրէազերծված ծորակային ջուրը (9 մլ) լցնում են մանրէազերծված չոր սրվակների մեջ: Այնուհետև հետազոտվող կախույթը (1 մլ) մանրէազերծված պիպետով տեղափոխում են 9 մլ մանրէազերծված ջուր պարունակող սրվակի մեջ և լավ խառնում ստացված կախույթը: Դա առաջին նոսրացումն է՝ 10^{-1} : Այնուհետև ստացված կախույթից 1 մլ տեղափոխում են երկրորդ սրվակի մեջ՝ ստանալով երկրորդ նոսրացումը՝ 10^{-2} (նկար 46): Նույն սկզբունքով կատարում են հաջորդ նոսրացումները: Նոսրացման աստիճանը կախված է հետազոտվող մանրէների պոպուլյացիայի խտությունից, և, համապատասխանաբար, ինչքան մեծ է պոպուլյացիայի խտությունը, այնքան մեծ է նոսրացման աստիճանը: Յուրաքանչյուր նոսրացման համար անհրաժեշտ է օգտագործել նոր պիպետ: Այդ կանոնի անտեսումը հանգեցնում է սխալ տվյալի ստացմանը մանրէային բջիջների ապակու մակերեսին ամրանալու բարձր ունակությամբ պատճառով:



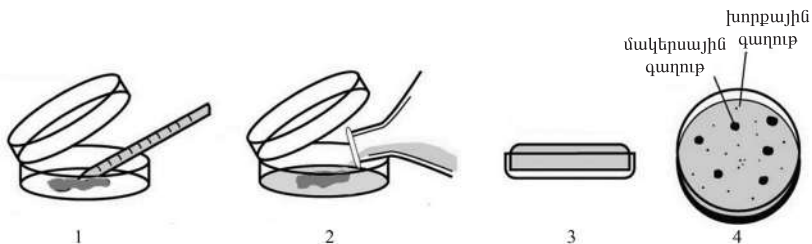
Նկար 46. Նոսրացումների պատրաստման և ցանքի հաջորդականությունը:

Ա) Կուրակի: Կուլյուրա, Բ) Հաջորդական նոսրացումներ, Գ) Համապատասխան նոսրացման ցանքից հետո առաջացած գաղութներ:

Ցանք: Մանրէների կախույթը կարելի է ցանել մակերեսային կամ խորքային եղանակով: Մակերեսային ցանք կատարելիս նախապես հալեցված ագարացված սննդամիջավայրը (15-20 մլ) լցնում են մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ՝ թողնելով դրանք անշարժ մինչև սննդամիջավայրի պնդանալը: Ագարացված սննդամիջավայրե-

րի մակերեսից կոնդենսացված ջուրը հեռացնելու համար կարելի է Պետրիի թասերը շրջել (կափարիչներով ներքև) և 2-3 օր տեղադրել ջերմապահարանում: Այնուհետև սննդամիջավայրի վրա լցնում են համապատասխան նոսրացմամբ հստակ ծավալով մանրէային կախույթը (0.05 կամ 0.1 մլ) և ապակյա մածկաթիակով լավ տարածում սննդամիջավայրի ամբողջ մակերեսով: Պինդ սննդամիջավայրերի վրա ցանքը կատարում են վերջին երեք նոսրացված կախույթներից, ընդ որում, յուրաքանչյուրը 2-4 կրկնօրինակներով: Ցանքը կարելի է կատարել նույն պիպետով, բայց այդ դեպքում պետք է սկսել ամենափոքր խտություն ունեցող (ամենանոսր) կախույթից: Յուրաքանչյուր նոսրացման համար օգտագործում են նոր մանրէազերծված մածկաթիակ: Ցանքից հետո կափարիչներով ներքև շրջված Պետրիի թասերը տեղադրում են ջերմապահարանում:

Խորքային ցանքի դեպքում հստակ ծավալով (0.1, 0.5 կամ 1 մլ) նախնական նմուշը կամ համապատասխան նոսրացված կախույթն ավելացնում են սրվակներում լցված և տաքացմամբ հալեցված, բայց մինչև 45-50°C պաղեցված ագարացված սննդամիջավայրին, լավ խառնում են և անմիջապես լցնում Պետրիի թասերի մեջ՝ թողնելով սենյակային պայմաններում մինչև սննդամիջավայրի պնդանալը: Մեծածավալ փորձերի դեպքում համապատասխան նոսրացված մանրէային կախույթը (1 մլ) մանրէազերծված պիպետով տեղադրում են 2-4 Պետրիի թասերի մեջ: Այնուհետև թասերի մեջ լցնում են 15-20 մլ տաքացմամբ հալեցված, բայց մինչև 45-50°C պաղեցված ագարացված սննդամիջավայրը, և խառնում սննդամիջավայրը ցանքանյութի հետ ժամալաքի և հակառակ ուղղություններով դանդաղ պտուտակային շարժումներով: Թասերը թողնում են սենյակային ջերմաստիճանի պայմաններում մինչև սննդամիջավայրի պնդանալը:



Նկար 47. Մանրէների կախույթի ցանքը խորքային եղանակով:

1. Մանրէների կախույթի տեղադրում Պետրիի թասի մեջ, 2. Պաղեցված սննդամիջավայրի ավելացում, 3. Ինկուբացում, 4. Ինկուբացումից հետո առաջացած գաղութներ:

լը, այնուհետև, կափարիչներով ներքև շրջված ինկուբացնում ջերմապահարանում (նկար 47):

Անատերոք մանրէների բջիջների թվաքանակի որոշման համար Պետրիի թասերը պետք է ինկուբացնել անատերոստատում (տե՛ս նկար 16) կամ անատերոքային տարայում (տե՛ս նկար 15): Երբեմն անատերոքների թվաքանակի որոշման համար ագարային հեղուկ սննդամիջավայրը մանրէային կախույթով ինոկուլացնելուց հետո թողնում են սրվակներում: Պնդանալուց հետո օդի մուտքը սահմանափակելու համար սննդամիջավայրի մակերեսին ավելացնում են պարաֆին և ինկուբացնում ջերմապահարանում: Խիստ անատերոք մանրէների թվաքանակի որոշման համար անհրաժեշտ է կիրառել Ռ. Հանգեյթի տեխնիկան:

Առաջացած գաղութների հաշվարկ: Կախված մանրէների աճի արագությունից գաղութների հաշվարկը կատարում են 1-15 օր ինկուբացնելուց հետո: Հաշվարկը, որպես կանոն, պետք է կատարել չբացելով Պետրիի թասերը: Հարմարավետության համար յուրաքանչյուր հաշված գաղութ Պետրիի թասի հատակի արտաքին մակերեսին նշում են կետով: Գաղութների մեծ թվաքանակի դեպքում թասի հատակը բաժանում են հատվածների, հաշվում գաղութների թիվը յուրաքանչյուր հատվածում և ընդհանրացնում ստացված տվյալները: Երբեմն հաշվարկման համար օգտագործում են հատուկ կիսաավտոմատ հաշվիչներ (նկար 48):



Նկար 48. Ագարացված սննդամիջավայրի վրա առաջացած գաղութների հաշվարկման համար կիսաավտոմատ հաշվիչ:

Ճիշտ է համարում այն մոսթրացումը, երբ կախույթի ցանքից հետո Պետրիի թասում աճում են 30-50-ից մինչև 100-150 գաղութներ: Եթե գաղութների թիվը պակաս է 10-ից, ապա այդ տվյալները չեն օգ-

տագործվում նախնական մոտում բջիջների թվաքանակի որոշման համար: Յուրաքանչյուր նոսրացված կախույթի միաժամանակ կատարված ցանքերի կրկնօրինակների տվյալները ընդհանրացնում են և հաշվում մեկ թասում առաջացած գաղութների միջին թիվը:

Հետագոտվող սուբստրատի 1 մլ-ում գտնվող բջիջների թվաքանակը (M) հաշվում են հետևյալ բանաձևով.

$$M = \frac{a \times 10^n}{V},$$

որտեղ a-ն տվյալ նոսրացումից կատարված ցանքից հետո աճած գաղութների միջին թվաքանակն է, V-ն՝ ցանքի համար օգտագործված կախույթի ծավալը, n-ը՝ նոսրացման գործակիցը:

Բջիջների թվաքանակի որոշումը հեղուկ սննդամիջավայրերում ցանքի մեթոդով (սահմանային նոսրացումների մեթոդ)

Տվյալ մեթոդը կիրառում են այն մանրէների հետազոտության համար, որոնք չեն աճում, կամ վատ են աճում պինդ սննդամիջավայրերում: Հեղուկ սննդամիջավայր պարունակող սրվակների մեջ ավելացնում են հստակ ծավալով տարբեր նոսրացումներով մոտշուներ: Համապատասխան պայմաններում ինկուբացնելուց հետո, ելնելով այն սրվակների թվից, որոնցում դիտվել է մանրէների աճ կամ աճի բացակայություն, հաշվում են նախնական մոտշի 1 մլ-ում բջիջների ամենահավանական թիվը: Սահմանային նոսրացումների մեթոդով բջիջների թվաքանակի որոշումը ներառում է նոսրացումների պատրաստումը, ցանքը հեղուկ սննդամիջավայրում, ինկուբացումից հետո մանրէների աճի առկայության կամ բացակայության ստուգումը և նախնական սուբստրատի միավոր ծավալում բջիջների ամենահավանական թվաքանակի որոշումը:

Նոսրացումների պատրաստում: Նախնական կախույթի նոսրացումները ստանում են ինչպես Կոխի մեթոդով նոսրացումների դեպքում:

Ցանքը և տվյալների հաշվարկը: Մանրէազերծված սննդամիջավայրը նախապես լցնում են սրվակների կամ անոթների մեջ: Սրվակների (անոթների) մեջ անհրաժեշտ է լցնել խիստ հստակ ծավալով սննդամիջավայր: Ցանքը կատարում են յուրաքանչյուր նոսրացումից կամ վերջին 4-5-րդ նոսրացված կախույթից, ընդ որում, յուրա-

քանչյուր նոսրացումից ցանում են 3-5 կրկնօրինակներով՝ ավելացնելով միննույն ծավալի ցանքանյութ (1 մ): Մանրէներով ինոկուլացված սննդամիջավայրերով սրվակները ինկուբացվում են ջերմապահարանում: Ինկուբացման տևողությունը կախված հետազոտվող մանրէների աճի առանձնահատկություններից տևում է 2-ից 15 օր: Ինկուբացումից հետո մանրէների աճը որոշում են ըստ մի շարք ցուցանիշների, օրինակ՝ սննդամիջավայրի պոտորությամբ, փառի կամ նստվածքի առաջացմամբ, գազի կամ սննդամիջավայրում նյութափոխանակության տարբեր արգասիքների կուտակմամբ:

Աղյուսակ 7.

Նախնական կախույրի միավոր ծավալում մանրէների բջիջների առավել հնարավոր քվաքանակը (ըստ Մակ-Զրեդիի)

Թվային բնութագրիչ	Մանրէների առավել հավանական բիվր կրկնօրինակ սրվակների թվում				Թվային բնութագրիչ	Մանրէների առավել հավանական բիվր կրկնօրինակ սրվակների թվում				Թվային բնութագրիչ	Մանրէների առավել հավանական բիվր կրկնօրինակ սրվակների թվում			
	2	3	4	5		2	3	4	5		2	3	4	5
000	0	0	0	0	222	110	3.5	2	1.4	433	-	-	30	-
001	0.5	0.3	0.2	0.2	223	-	4	-	-	434	-	-	35	-
002	-	-	0.5	0.4	230	-	3	1.7	1.2	440	-	-	25	3.5
003	-	-	0.7	-	231	-	3.5	2	1.4	441	-	-	40	4
010	0.5	0.3	0.2	0.2	232	-	4	-	-	442	-	-	70	-
011	0.9	0.9	0.5	0.4	240	-	-	2	1.4	443	-	-	140	-
012	-	-	0.7	0.6	241	-	-	3	-	444	-	-	160	-
013	-	-	0.9	-	300	-	2.5	1.1	0.8	450	-	-	-	4
020	0.9	0.6	0.5	0.5	301	-	4	1.6	1.1	451	-	-	-	5
021	-	-	0.7	0.6	302	-	6.5	2	1.4	500	-	-	-	2.5
022	-	-	0.9	-	303	-	-	2.5	-	501	-	-	-	0.3
030	-	-	0.7	0.6	310	-	4.5	1.6	1.1	502	-	-	-	4
031	-	-	0.9	-	311	-	7.5	2	1.4	503	-	-	-	6
040	-	-	0.9	-	312	-	11.5	3	1.7	504	-	-	-	7.5
041	-	-	1.2	-	313	-	16.5	3.5	2	510	-	-	-	3.5
100	0.6	0.4	0.3	0.2	320	-	9.5	2	1.4	511	-	-	-	4.5
101	1.2	0.7	0.5	0.4	321	-	15	3	1.7	512	-	-	-	6
102	-	1.1	0.8	0.6	322	-	20	3.5	2	513	-	-	-	8.5
103	-	-	1	0.8	323	-	30	-	-	520	-	-	-	5
110	1.3	0.7	0.5	0.4	330	-	25	3	1.7	521	-	-	-	7
111	2	1.1	0.8	0.8	331	-	45	3.5	2	522	-	-	-	9.5
112	-	-	1.1	0.8	333	-	110	4	-	523	-	-	-	12
113	-	-	1.3	-	340	-	140	5	-	524	-	-	-	15
120	2	1.1	0.8	0.6	341	-	-	3.5	2	525	-	-	-	17.5

Թվային բնութագիր	Մանրէների առավել հավանական թիվը կրկնօրինակ սրվակների բխում				Թվային բնութագիր	Մանրէների առավել հավանական թիվը կրկնօրինակ սրվակների բխում				Թվային բնութագիր	Մանրէների առավել հավանական թիվը կրկնօրինակ սրվակների բխում			
	2	3	4	5		2	3	4	5		2	3	4	5
121	3	1.5	1.1	1.8	350	-	-	4.5	2.5	530	-	-	-	8
122	-	-	1.3	1	400	-	-	-	2.5	531	-	-	-	11
123	-	-	1.6	-	400	-	-	2.5	1.3	532	-	-	-	14
130	-	1.6	1.1	1.8	401	-	-	3.5	1.7	533	-	-	-	17.5
131	-	-	1.4	1	402	-	-	5	2	534	-	-	-	20
132	-	-	1.6	-	403	-	-	7	2.5	535	-	-	-	25
140	-	-	1.4	1.1	410	-	-	6.5	1.7	540	-	-	-	13
141	-	-	1.7	-	411	-	-	5.5	2	541	-	-	-	17
200	2.5	0.9	0.6	0.5	412	-	-	8.2	2.5	542	-	-	-	25
201	5	1.4	0.9	0.7	412	-	-	8	-	543	-	-	-	30
202	-	2	1.2	0.9	414	-	-	14	-	544	-	-	-	35
203	-	-	1.6	1.2	420	-	-	6	2	545	-	-	-	45
210	6	1.5	0.9	0.7	421	-	-	6.5	2.5	550	-	-	-	25
211	13	2	1.3	0.9	422	-	-	17	-	551	-	-	-	35
212	2	3	1.6	1.2	423	-	-	13	3	552	-	-	-	60
213	-	-	2	-	424	-	-	20	-	553	-	-	-	90
220	25	2	1.3	0.9	430	-	-	11.5	1.5	554	-	-	-	100
221	70	3	1.6	1.2	431	-	-	16.5	3	555	-	-	-	180
					432	-	-	20	4					

Աղյուսակ 8.

Մանրէների քվաքանակի որոշման օրինակներ

Նախնական կախույթի նոսրացումներ	Օրինակ 1					Օրինակ 2				
	0	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
Սրվակների թիվը, որոնցում կատարվել է ցանք	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3
Սրվակների թիվը, որոնցում դիտվել է աճ	4	4	3	1	0	3	3	2	0	0
Թվային բնութագիր	431	-	-	-	-	320	-	-	-	-
Մանրէների առավել հավանական թիվը	16.5	-	-	-	-	9.5	-	-	-	-
Նախնական կախույթի 1 մլ-ում մանրէների առավել հավանական թիվը	165	-	-	-	-	9.5×10 ³	-	-	-	-

Միավոր ծավալում մանրէների ամենահավանական քվաքանակի հաշվարկը կատարվում է ըստ Մակ-Զրեդիի աղյուսակի (աղյուսակ 7), որը կազմված է համաձայն վարիացիոն-վիճակագրական մեթոդի: Դրա համար նախ կազմում են թվային բնութագրիչ, որը ընդ-

գրկում է երեք թիվ: Չախից առաջին թիվը ցույց է տալիս սրվակների թիվը այն վերջին նոսրացված կախույթի, որի ցանքից բոլոր կրկնօրինակներում դիտվել է մանրէների աճ: Մյուս երկու թվերը ցույց են տալիս սրվակների թիվը, որոնցում դիտվում է մանրէների աճը երկու հաջորդական նոսրացումներից:

Այնուհետև աղյուսակով գտնում են մանրէների առավել հավանական թիվը, որը համապատասխանում է տվյալ նշանակության թվային բնութագրիչին: Նախնական սուբստրատի 1 մլ-ում (1 գ-ում) մանրէների թվաքանակը համապատասխանում է այդ թվին՝ բազմապատկած այն նոսրացումների թիվը, որը վերցվել է թվային բնութագրիչի առաջին թվի ստացման համար: Աղյուսակ 8-ում բերված են օրինակներ:

Մանրէների թվաքանակի որոշման յուրաքանչյուր եղանակի ճշտությունը սահմանափակված է մեթոդի սխալով, որն առաջանում է կախույթում բջիջների պատահական բաշխման հետևանքով, ինչպես նաև տեխնիկական սխալներով, որոնց պատճառ կարող են լինել ոչ ճիշտ նոսրացված կախույթները, ոչ ճիշտ նախապատրաստված մազանոթային կամ Գորյակի-Տոմի խցիկը, մույն գաղութի կրկնակի հաշվարկը և այլն: Անհրաժեշտ է հիշել, որ փորձի վիճակագրական վերլուծությունը հնարավոր է միայն նվազագույն տեխնիկական սխալների դեպքում: Կոխի և սահմանային նոսրացումների մեթոդները պահանջում են աշխատանքի բոլոր փուլերի հատուկ զգուշություն և ճշգրտություն: Անհրաժեշտ է նաև պահպանել պիպետների, սրվակների և սննդամիջավայրերի մանրէազերծվածությունը և խուսափել կոնտամինացումից:

Կենսազանգվածի որոշումը կշռելով

Այս մեթոդը լայնորեն կիրառվում է հեղուկ սննդամիջավայրում մանրէների աճը գնահատելու համար: Մեթոդը կիրառելի չէ, երբ մանրէներն աճեցվում են բարդ կազմությամբ և ջրում չլուծվող միացություններ պարունակող սննդամիջավայրերում: Այս մեթոդը կարելի է օգտագործել նաև պինդ սննդամիջավայրերի վրա աճեցված մանրէների կենսազանգվածը որոշելու համար, սակայն այդ դեպքում անհրաժեշտ է նախօրոք ֆիզիոլոգիական լուծույթով կամ ջրով մանրէային բջիջները լավ լվանալ սննդամիջավայրի մակերեսից և ստանալ մանրէների կախույթ:

Կենսազագվածի որոշումն ընդգրկում է երեք հաջորդական գործողություններ՝ կենտրոնախուսման համար նախատեսված սրվակների կամ ֆիլտրերի զանգվածները հաստատուն արժեքների բերելը, կախությանից բջիջների տարանջատումը, դրանց զանգվածի որոշումը: Ավելի հաճախ որոշում են բջիջների չոր զանգվածը, սակայն երբեմն կարելի է սահմանափակվել թաց քաշի որոշմամբ: Թաց քաշը որոշելիս առաջին փուլի իրականացումն անհրաժեշտ չէ, պետք է միայն կշռել կենտրոնախուսման համար նախատեսված սրվակը կամ ֆիլտրը: Կենսազանգվածը սովորաբար արտահայտում են գրամներով կամ միլիգրամներով 1 լիտր կախությամբ:

Կենտրոնախուսման համար նախատեսված սրվակների կամ ֆիլտրերի զանգվածի հաստատուն արժեքների բերելը: Այս նպատակով Պետրիի թասերի մեջ նախօրոք տեղադրված ֆիլտրերը կամ կենտրոնախուսման համար նախատեսված սրվակները (ոչ պլաստիկ) տեղադրում են ջերմախցիկներ և չորացնում 1-2 ժամ 80-85°C կամ 90-100°C ջեմաստիճանային պայմաններում: Այնուհետև ֆիլտրերը կամ սրվակները ջերմախցիկից տեղափոխում են կալցիումի քլորիդ (CaCl_2) կամ խիտ ծծմբական թթու պարունակող էքսիկատորի մեջ: Էքսիկատորը տեղադրում են վերլուծական կշեռքի մոտ: Մեկ ժամ հետո ֆիլտրերը (կենտրոնախուսման համար նախատեսված սրվակները) կշռում են 0.0001 գ ճշգրտությամբ: Չորացումն ու կշռումը կրկնում են, պահպանելով վերը նշված գործողությունների հաջորդականությունը, մինչև զանգվածը կհասնի հաստատուն արժեքի, այսինքն՝ զանգվածի արժեքների տատանումները չեն գերազանցի միլիգրամի մեկ տասներորդ մասը:



Նկար 49. Կենտրոնախուսակներ (1, 3) և կենտրոնախուսման համար օգտագործվող սրվակներ (2):

Սննդամիջավայրից կենսազանգվածի տարանջատումը կարելի է իրականացնել կենտրոնախուսմամբ կամ ֆիլտրմամբ: Կենտրոնախուսման համար նախատեսված սրվակի մեջ (նկար 49) լցնում են հստակ չափված ծավալով (կախված խտությունից՝ 5-20 մլ) լավ խառնված մանրէային կախույթ: Կենտրոնախուսման տևողությունը և պտույտների քանակությունը կախված են բջիջների չափսերից: Ինչքան փոքր են բջիջները, այնքան ավելի շատ պետք է լինի պտույտների թիվը և կենտրոնախուսման տևողությունը: Առավել հաճախ կենտրոնախուսում են 15-20 րոպե 3-5000 g արագացմամբ: Կենտրոնախուսումից հետո վերնստվածքային հեղուկը զգուշությամբ թափում են, նստվածքը լվանում թույլ թթվային թորած ջրով (1 մլ խիտ HCl-ը ավելացնել 1 լ թորած ջրին) և նորից կենտրոնախուսում: Վերնստվածքային հեղուկը թափում են անմիջապես կենտրոնախուսումն ավարտելուց հետո, քանի որ հակառակ դեպքում նրստվածքի մի մասը կարելի է կորցնել:

Ակտինոմիցետների և սնկերի միցելն առանձնացնում են ֆիլտրելով: Թղթե ֆիլտրը տեղադրում են ապակյա ձագարի մեջ, և հստակ չափված ծավալով (5-10 մլ) մանրային կախույթը ֆիլտրում են: Կենսազանգվածը մի քանի անգամ լվանում են թույլ թթվեցված թորած ջրով:

Բակտերիաների տարանջատման համար օգտագործում են թաղանթային ֆիլտրեր: Թաղանթային ֆիլտրերի ծակոտիների չափսերը պետք է լինեն ավելի փոքր, քան բակտերիաների բջիջների մեծությունը: Թաղանթային ֆիլտրը տեղադրում են անոթի մեջ տեղադրված հատուկ ծակոտկեն թիթեղի վրա: Ֆիլտրումն արագացնելու համար հարմարանքը միացնում են վակուումային պոմպին (տե՛ս նկար 22): Նստվածքը մի քանի անգամ լվանում են թույլ թթվեցրած թորած ջրով:

Կենսազանգվածի որոշումը: Բջիջների չոր զանգվածի որոշման համար մանրէների բջիջների նստվածքով սրվակը կամ ֆիլտրը տեղադրում են ջերմապահարան, չորացնում և կշռում: Չորացման և կշռման պայմանները նույնն են, ինչ որ կենտրոնախուսման համար նախատեսված սրվակների կամ ֆիլտրերի չորացման և կշռման պայմանները: Չոր կենսազանգվածը (M, գ/լ) որոշում են հետևյալ բանաձևով.

$$M = \frac{(A - B)}{V} \times 10^3,$$

որտեղ A-ն նստվածքով սրվակի (ֆիլտրի) զանգվածն է (զ), B-ն՝ առանց նստվածքի կենտրոնախուսման համար նախատեսված սրվակի (ֆիլտրի) զանգվածը (զ), V-ն՝ կենտրոնախուսման կամ ֆիլտրման համար օգտագործած մանրէային կախույթի ծավալը (մլ): Մեթոդի ճշտությունը կախված է սննդամիջավայրի բաղադրամասերից, բջիջների առանձնացման և կշռման հստակությունից:

Բջիջների թվաքանակի և կենսազանգվածի որոշումը պղտորաչափական մեթոդով

Կենսազանգվածի որոշումն օպտիկական պղտորաչափական (նեֆելաչափական, տուրբիդաչափական) մեթոդով լայն կիրառություն է ստացել մանրէաբանական հետազոտություններում, քանի որ հնարավորություն է տալիս արագ և բավականին ճշգրիտ որոշել բջիջների խտությունը կախույթում:

Այս մեթոդի հիմքում ընկած է բջիջների կախույթով անցնելիս լուսային փնջի ուժգնության փոփոխության չափումը: Որոշակի սահմաններում այն հիմնականում պայմանավորված է բջիջներով լույսի ցրմամբ և համեմատական է դրանց կոնցենտրացիային: Այս ցուցանիշի արժեքը կախված է շատ գործոններից (բջիջների ձևից և չափերից, կախույթի օպտիկական հատկություններից, լույսի ալիքի երկարությունից և այլն), այդ պատճառով պղտորաչափական եղանակը հարմար է կիրառել միայն այն մանրէների թվաքանակը կամ կենսազանգվածը որոշելու համար, որոնց աճն ընթանում է սննդամիջավայրի համաչափ պղտորմամբ և չի ուղեկցվում բջիջների ձևի և չափերի կտրուկ փոփոխությամբ, միգելլումի, փառի, նստվածքի կամ այլ կուտակումների առաջացմամբ:

Մանրէների աճի համար սննդամիջավայրը, որում լույսի ցրմամբ որոշվում է մանրէների բջիջների թիվը, պետք է լինի օպտիկապես թափանցելի:

Լույսի ուժգնության փոփոխությունը չափում են պղտորաչափով, լուսաէլեկտրագոնաչափով կամ սպեկտրալուսաչափով՝ ընտրելով ալիքի այն երկարությունը (սովորաբար 540-650 նմ սահմաններում), որում տվյալ բջջային կախույթի կլանումը նվազագույնն է (նկար 50): Կախույթում բջիջների բարձր կոնցենտրացիայի դեպքում տեղի է ունենում լույսի երկրորդային ցրում, ինչը հանգեցնում է տվյալների աղճատման:

Որոշ դեպքերում բջջային կախույթի խտությունն արտահայտում են պոտորաչափի ցուցմունքներով: Սակայն հաճախ կառուցում են լուսացրման ցուցանիշների և բջիջների թվաքանակի կամ միավոր ծավալում չոր կենսազանգվածի միջև համադրելի կորեր: Այդպիսի կորերը կառուցում են հետևյալ կերպ: Չափում են բջիջների տարբեր կոնցենտրացիաներով կախույթների օպտիկական խտությունները և յուրաքանչյուրում որոշում բջիջների թվաքանակը կամ կենսազանգվածը վերը նշված որևէ մեթոդով: Ստացված տվյալներն արտահայտում են գրաֆիկորեն, օրդինատների առանցքում նշելով պոտորաչափի տվյալները, իսկ աբսցիսների առանցքում՝ 1 մլ կախույթում եղած բջիջների թիվը կամ կենսազանգվածը, գ/լ-ով: Յուրաքանչյուր մանրէի համար պետք է կառուցել իրեն համապատասխան համադրելի կոր:



Նկար 50. Մպեկտրալուսաչափ (աջից) և լուսաէլեկտրագունաչափ (ձախից):

Որոշ դեպքերում կախույթում բջիջների թվաքանակը բավական է լինում որոշել՝ համեմատելով պոտորության չափորոշիչների հետ: Պոտորության չափորոշիչներն իրենցից ներկայացնում են թորած ջրում պիրենկա սպակու կախույթներ: Որպես պոտորության չափորոշիչ միավոր պայմանականորեն ընդունվում է ֆիզիոլոգիական լուծույթում 100 մլն/մլ կոնցենտրացիայով տիֆի հարուցչի կախույթի պոտորությունը: Պոտորության չափորոշիչն ընդգրկում է չորս էտալոն 11, 10, 9 և 5 միավորներով, որոնք համապատասխանում են 1 մլ կախույթում համապատասխանաբար 1.1×10^9 ; 1×10^9 ; 0.9×10^9 և 0.5×10^9 բջիջների թվաքանակին: Բջիջների թվաքանակի որոշման համար սրվակը հետազոտվող կախույթով տեղադրում են էտալոն 10-ի կող-

քին և դիտում են կենտրոնում սև գծեր ունեցող սպիտակ թղթի ֆոնի վրա անդրադարձվող և թափանցող լույսում: 9 և 11 էտալոնները համարվում են օժանդակ, որոնք թույլ են տալիս առավել հստակ համեմատել հետազոտվող բակտերիաների կախույթը էտալոնի հետ: Բակտերիաների կախույթի պոտորության չափորոշումը (առավել հաճախ թեստ օրգանիզմների դեպքում) կարևոր նշանակություն ունի հաջորդական փորձերում ցանքանյութի պատրաստման համար, օրինակ՝ ազարում դիֆուզիայի մեթոդով հակաբակտերիական ակտիվությունը որոշելիս:

Հոսքային բջջաչափման մեթոդ

Հոսքային բջջաչափման մեթոդը և համապատասխան սարքը մշակվել էր արյան ձևավոր տարրերի հաշվարկման նպատակով: Որոշակի կատարելագործումից հետո հոսքային բջջաչափը սկսեցին օգտագործել նաև մանրէային բջիջների հաշվարկման նպատակով (նկար 51): Մեթոդի սկզբունքը հիմնված է մագնոթով մասնիկի անցման ընթացքում լուսային կամ էլեկտրոնային ազդակի գրանցման վրա: Տարբեր բջիջներ լուսային ճառագայթը տարբեր կերպ են ցրում, ուստի կարելի է տարբերակված ձևով իրականացնել տարբեր բջիջների հաշվարկը: Սակայն այս սարքը գրանցում է ինչպես անցնող բջիջը (մահացած կամ կենդանի), այնպես էլ՝ ցանկացած այլ մասնիկ: Դա շրջանցելու համար մնուշներում բջիջները նախա-



Նկար 51. Հոսքային բջջաչափ:

պես ներկում են հատուկ լուսաձորող ներկանյութերով և հաշվարկում միայն լուսաձորող բջիջները: Եթե մանրէային կախույթը նախապես մշակվի տարբեր լուսաձորող ներկանյութերով, որոնք տարբեր կերպ են ներկում կենդանի և մահացած բջիջները, ապա միևնույն մնուշում հնարավոր կլինի տարբերակված հաշվարկել կենդանի և անկենդան բջիջների թվաքանակը:

ԳԼՈՒԽ 7 ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ԿՈՒԼՏՈՒՐԱՅԻՆ, ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԵՎ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Մի շարք խնդիրների լուծման համար բավական է որոշել մանրեների կուլտուրաների միայն որոշ դրսևորվող հատկանիշները և ֆիզիոլոգիական ու կենսաքիմիական առանձնահատկությունները: Դրանց իմացությունը մանրեների ձևաբանական բնութագրի հետ մեկտեղ երբեմն թույլ է տալիս պարզաբանել հետազոտվող մանրէի պատկանելությունը այս կամ այն տաքսոնին՝ դասին, կարգին, ընտանիքին:

Կուլտուրային հատկությունները

Կուլտուրային կամ մակրոձևաբանական հատկություններին են վերագրվում մանրեների աճի բնութագրական առանձնահատկությունները պինդ և հեղուկ սննդամիջավայրերում աճելիս:

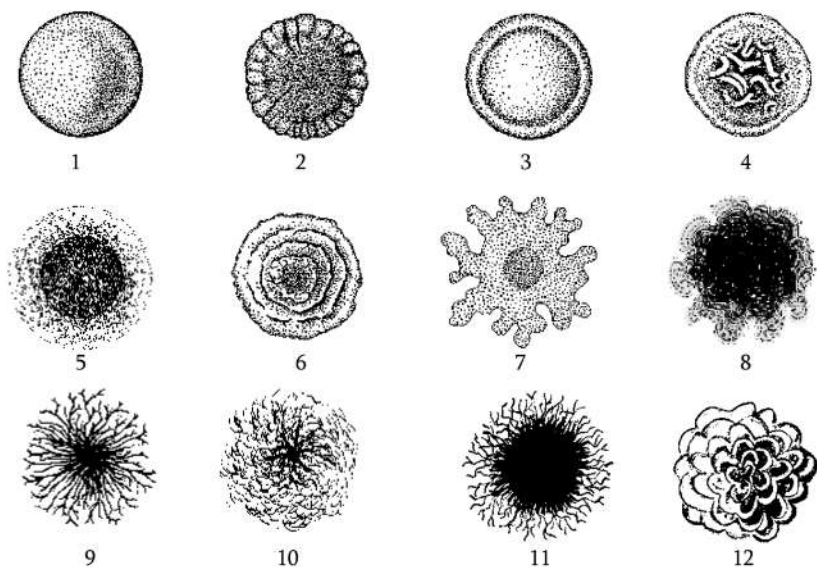
Աճը պինդ սննդամիջավայրերի վրա

Կախված ցանքի բնույթից պինդ սննդամիջավայրերի մակերեսին մանրեները կարող են աճել առանձին գաղութների, գծային կամ համատարած աճի (գազոնի) տեսքով: Գաղութ են անվանում մեկ տեսակի բջիջների մեկուսացված կուտակումը, որն առաջացել է մեկ բջջից: Կախված, թե որտեղ են զարգանում բջիջները՝ պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին, դրա խորքում, թե անոթի հատակին, տարբերում են մակերեսային, խորքային և հատակային գաղութներ: Պինդ սննդամիջավայրի վրա մակերեսային գաղութների առաջացումը բազմաթիվ մանրեների աճի բնութագրական առանձնահատկությունն է: Մակերեսային գաղութները տարբերվում են մեծ բազմազանությամբ: Դրանց նկարագրման ընթացքում հաշվի են առնում հետևյալ առանձնահատկությունները.

- ձևը (կլոր, ամեոբաձև, տձև, արմատաձև և այլն) (նկար 52),
- չափսը կամ տրամագիծը (չափում են միլիմետրերով, իսկ եթե

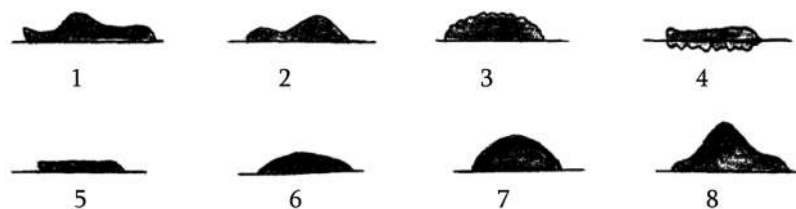
գաղութի չափսերը չեն գերազանցում 1 մմ-ը, ապա դրանց անվանում են կետային),

- մակերեսը (հարթ, խորդուբորդ, ակոսավոր, ծալքավոր, կրնճ-ռոտ, խիտ շրջաններով կամ ճառագայթային գծապատկերով),
- պրոֆիլը (տափակ, ուռուցիկ, խառնարանային, կոնաձև և այլն) (նկար 53),
- փայլը և թափանցիկությունը (փայլուն, անփայլ, պղտոր, փոշենման, թափանցիկ),
- գույնը (անգույն կամ գունավոր՝ սպիտակ, դեղին, ոսկեգույն, նարնջագույն, մանուշակագույն, կարմիր, սև և այլն՝ նշելով գունանյութի արտազատումը սուբստրատի մեջ, իսկ ակտինոմիցետների գաղութների նկարագրման ընթացքում՝ նշելով նաև օդային և սուբստրատային միցելիումի գունավորվածությունը),
- եզրը (հարթ, ալիքաձև, ատամնաձև, ծոփավոր և այլն) (նկար 54),
- կառուցվածքը (միասեռ, մանր կամ խոշոր հատիկավոր, շիթանման և այլն (նկար 55), ընդ որում, գաղութի եզրը և կառուցվածքը որոշում են խոշորացույցի օգնությամբ կամ մանրադիտակի փոքր խոշորացմամբ՝ Պետրիի թասը կափարիչը նեքև շրջված տեղադրելով մանրադիտակի առարկայական սեղանիկի վրա,
- կազմությունը կամ կոնսիստենցիան (որոշում են՝ մանրէաբանական ասեղը հպելով գաղութի մակերեսին. գաղութը կարող է հեշտությամբ պոկվել ագարից, լինել խիտ, փափուկ կամ սերտաճած ագարի մեջ, լորձային (կաշում է ասեղին), մածուցիկ, ունենալ թաղանթի տեսք (պոկվում է ամբողջությամբ), լինել փխրուն և հեշտությամբ կոտրվել ասեղով դիպչելիս):



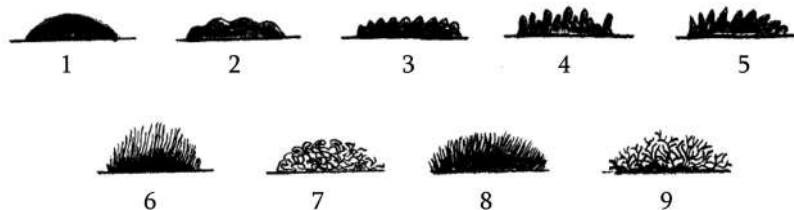
Նկար 52. Գաղութի ձևը:

1. Կլոր, 2. Կլոր ժաներիզավոր, 3. Կլոր քմբաշև եզրով, 4. Կնճռույ, 5 և 6. Համակենդրոն, 7. Ամեռաշև, 8 և 9. Ճառագայթաշև, 10. Թելաշև, 11. Կլոր ճառագայթաշև եզրերով, 12. Բարդ:



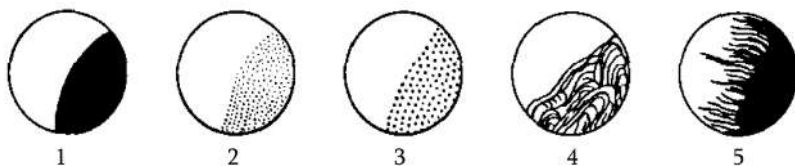
Նկար 53. Գաղութի պրոֆիլը:

1. Կորացած, 2. Խառնարանային, 3. Բլրածածկ, 4. Սնկդամիջավայրի մեջ ներած, 5. Տափակ, 6. Ուռուցիկ, 7. Կաթիլային, 8. Կոնաշև:



Նկար 54. Գաղութի եզրը:

1. Հարթ, 2. Ալիքաձև, 3. Ալամնաձև, 4. Թխկաձև, 5. Անկանոն, 6. Թարթաձև, 7. Թելաձև, 8. Ծոփալոր, 9. Շյուղալորված:



Նկար 55. Գաղութի կառուցվածքը:

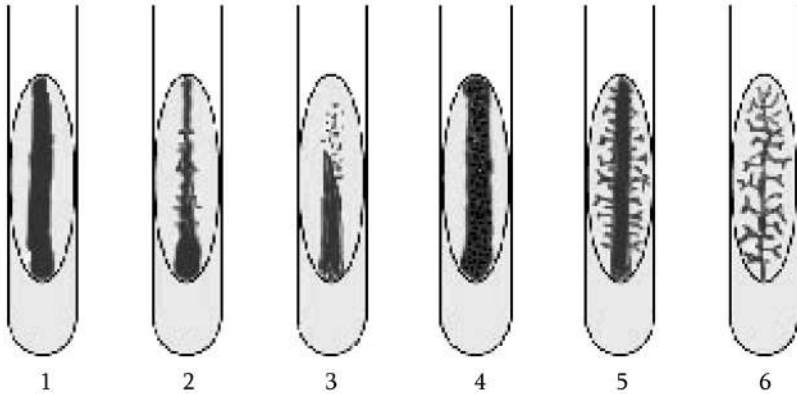
1. Միասեռ, 2. Մանր հափիկալոր, 3. Խոշոր հափիկալոր, 4. Շիբանման, 5. Թելանման:

Խորքային գաղութները, ընդհակառակը, բավականին միատարր են, հաճախ դրանք ուսպան են, պրոեկցիայում ձվաձև են՝ սրացած եզրերով: Որոշ բակտերիաների խորքային գաղութները սննդամիջավայրում հիշեցնում են թելաձև ելուստներով բամբակի փնջեր կամ ձյան փաթիլներ: Ածխաթթու կամ այլ գազերի բուռն արտադրությամբ բնորոշվող մանրէների խորքային գաղութների առաջացման ընթացքում պինդ սննդամիջավայրերը հաճախ ճեղքվում են:

Տարբեր մանրէների հատակային գաղութները սովորաբար ունեն անոթի հատակին կպած բարակ թափանցիկ շերտերի տեսք:

Գաղութի չափերը և բազմաթիվ այլ առանձնահատկություններ կարող են փոփոխվել տարիքի հետ և կախված են սննդամիջավայրի կազմից: Այդ պատճառով դրանց նկարագրելիս նշում են կուլտուրայի տարիքը, սննդամիջավայրի կազմը և աճեցման ջերմաստիճանը: Մանրէների գծային աճը նկարագրելիս նշում են հետևյալ առանձնահատկությունները՝ սակավ, չափավոր կամ առատ աճը, պինդ, հարթ կամ ալիքաձև եզրերը, պարզ նկատելի, առանձին գաղութների շրթաններից կազմված (համրիչանման), տարածված, փետրաձև կամ արմատաձև տեսքը (նկար 56): Բուսական և փայտիկական հատկությունները՝ գույնը, մակերևույթը և կազմությունը:

նը: Առանձին գաղութները կամ գծային տեսքով աճը նկարագրելու համար մանրէները հաճախ աճեցվում են ՄՊԱ-ի կամ ժելատինային սննդամիջավայրերի վրա:



Նկար 56. Մանրէների գծային աճը:

1. Համարաբարձ հարթ եզրով, 2. Համարաբարձ ալիքաձև եզրով, 3. Համրիչանման,
4. Տարածվող, 5. Փեղրաձև, 6. Արմատաձև:

Աճը հեղուկ սննդամիջավայրում

Մանրէների աճը հեղուկ սննդամիջավայրում ավելի միատեսակ է և ուղեկցվում է սննդամիջավայրի պոտորությամբ, փառի կամ նստվածքի առաջացմամբ: Բնութագրելով մանրէների աճը հեղուկ սննդամիջավայրերում՝ նշում են պոտորության աստիճանը՝ թույլ, չափավոր կամ ուժեղ, փառի առանձնահատկությունները՝ բարակ, պինդ կամ փխրուն, հաստ կամ ծալքավոր, իսկ նստվածքի առաջացման դեպքում նշում են այն սակավ է, թե՞ առատ, պինդ է, թե՞ փլվախուն, լորձային է, թե՞ փաթիլանման:

Հաճախ մանրէների աճը ուղեկցվում է հոտի առաջացմամբ, սննդամիջավայրի գունավորմամբ, գազային նյութերի արտազատմամբ: Վերջինս հայտնաբերում են փրփուրի, պղպղակների առաջացմամբ, ինչպես նաև լողանների օգնությամբ: Լողանը տեղադրում են սրվակի մեջ փակ ծայրով դեպի վեր նախքան սննդամիջավայրի մանրէազերծումը և հետևում են, որպեսզի այն ամբողջությամբ լըցված լինի սննդամիջավայրով: Գազառաջացման դեպքում գազը կու-

տակվում է լողաններում պղպջակների տեսքով:

Հեղուկ սննդամիջավայրերում մանրէների աճի նկարագրման համար դրանց աճեցնում են մսապեպտոնային արգանակում կամ աճը լավ ապահովող այլ սննդամիջավայրերում:

Ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունները

Մանրէների ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական առանձնահատկությունների բնութագիրը ներառում է տարբեր սննդամիջավայրերի վրա աճելու և այլ սննդամիջավայրերի բաղադրության մեջ մտնող նյութերի որոշակի փոխակերպումներ առաջացնելու ունակության նկարագրությունը: Հաշվի են առնվում ածխածնի, ազոտի և ծծմբի տարբեր միացությունների յուրացումը, մոլեկուլային թթվածնի նկատմամբ վերաբերմունքը, հակաբիոտիկային նյութեր առաջացնելու և որոշակի սուբստրատների նկատմամբ ֆերմենտային ակտիվություն դրսևորելու ունակությունը: Որոշ դեպքերում որոշվում է նաև մանրէների զգայունությունն այս կամ այն հակաբիոտիկի նկատմամբ:

Ածխածնի միացությունների յուրացումը

Մանրէները բնութագրվում են ածխածնի տարբեր միացությունները յուրացնելու ոչ միանման ունակությամբ: Ածխածին պարունակող այս կամ այն նյութերի հաշվին մանրէների աճի ունակությունը պարզելու համար դրանք սովորաբար ցանում են սինթետիկ սննդամիջավայրերում, որոնք որպես ածխածնի միակ աղբյուր պարունակում են տարբեր մոնո-, երկ- և բազմաշաքարներ, բազմատոմ սպիրտներ, օրգանական թթուներ, ածխաջրածիններ: Ածխաջրերից և բազմատոմ սպիրտներից որպես կանոն, փորձարկում են հետևյալ միացությունները՝ արաբինոզ, քսիլոզ, ռամնոզ, գլյուկոզ, ֆրուկտոզ, մաննոզ, գալակտոզ, սորբոզ, սախարոզ, լակտոզ, մալտոզ, տրեզալոզ, ցելոբիոզ, ռաֆինոզ, դեքստրին, օսլա, ինուլին, ցելյուլոզ, գլիցերոլ, էրիթրիտոլ, մանիտոլ, դուլցիտոլ, սորբիտոլ, ինոզիտոլ, սալիցին:

Մանրէների ածխաջրեր և սպիրտներ յուրացնելու ունակության որոշումը: Պատրաստում են սննդամիջավայրի հիմնական ֆոնը, որն ունի հետևյալ բաղադրությունը (գ/լ). պեպտոն 5, K_2HPO_4 1, բորած

ջուր: Կախված մանրէների ֆիզիոլոգիական առանձնահատկություններից կարելի է կիրառել սննդամիջավայրի հիմնական ֆոնի այլ կազմ: Օրինակ՝ կորինեբակտերիաների համար խորհուրդ է տրվում կիրառել հետևյալ բաղադրությամբ ֆոնային սննդամիջավայրը (գ/լ). $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.6, KH_2PO_4 2.4, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 5.6, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1, միկրոտարրերի լուծույթ 0.1 մլ, թորած ջուր: Միկրոտարրերի լուծույթի բաղադրությունն է՝ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.64 գ, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.11 գ, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.79 գ, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15 գ, թորած ջուր 100 մլ: Լուծույթը պատրաստում են առանձին և պահում 3-5°C ջերմաստիճանային պայմաններում:

Մանրէների աճն ածխաջրերով կամ բազմատոմ սպիրտներ պարունակող սննդամիջավայրերում հաճախ ուղեկցվում է օրգանական բթուների, չեզոք արգասիքների, գազերի կուտակմամբ: Թթուների առաջացումը գրանցում են սննդամիջավայրի pH-ի փոփոխությամբ: Դրա համար հիմնական ֆոնին ավելացնում են հայտանյութ: Սովորաբար 1 լ սննդամիջավայրին ավելացնում են 2 մլ հայտանյութի 1.6% սպիրտային լուծույթ: Որպես հայտանյութ հաճախ կիրառվում է բրոմֆինոլկապույտը, որը սննդամիջավայրի գույնը pH 6-7.6 միջակայքում փոխում է դեղինից կապույտ, կամ բրոմկրեզոլ ծիրանագույնը, որը սննդամիջավայրի գույնը pH 6.8-5.2 միջակայքում փոխում է ծիրանագույնից դեղին: Սննդամիջավայրի հիմնական ֆոնը հայտանյութ ավելացնելուց հետո լցնում են սրվակների մեջ (8-10 մլ-ական), յուրաքանչյուր սրվակի մեջ տեղադրում են լողան և մանրէազերծում ավտոկլավում 1 ամս պայմաններում 5 րոպեի ընթացքում:

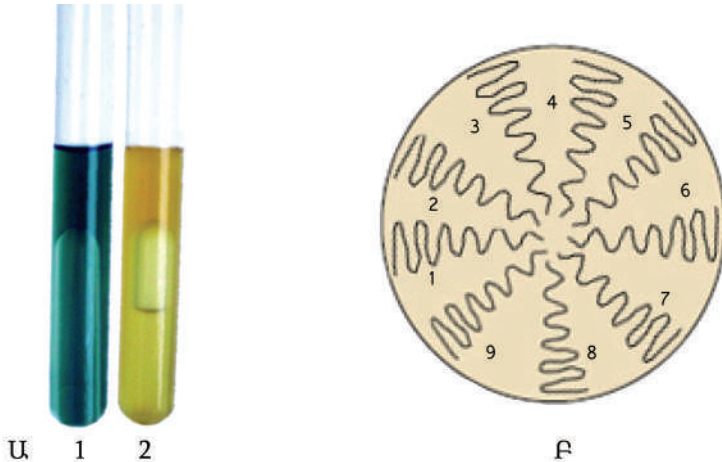
Ածխաջրերը և բազմատոմ սպիրտները պատրաստում են 10-40% ջրային լուծույթների ձևով և մանրէազերծում են ավտոկլավում սննդամիջավայրի հիմնական ֆոնից առանձին 0.5 ամս պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում կամ ֆիլտրմամբ: Սննդամիջավայրի բաղադրամասերի առանձին մանրէազերծումը պայմանավորված է ֆոսֆատների և սննդամիջավայրի այլ բաղադրամասերի առկայությամբ ավտոկլավում մանրէազերծելիս շաքարների մասամբ քայքայմամբ և մանրէների համար թունավոր միացությունների առաջացմամբ: Մանրէազերծված լուծույթները սննդամիջավայրի հիմնական ֆոնին ավելացնում են այն քանակությամբ, որպեսզի շաքարի (կամ բազմատոմ սպիրտի) վերջնական կոնցենտրացիան սննդամիջավայրում կազմի 10 գ/լ: Սննդամիջավայրերը ինոկուլացնում են մանրէների բջիջների կախությով և պահում 1-5 օր համապատասխան ջերմաստիճանային պայմաններում: Դանդաղ աճող մանրէները ինոկուլացնում են 7-10 օր: Աճը կամ դրա բացակայությունը ածխածնի

տվյալ աղբյուրով սննդամիջավայրում որոշում են սննդամիջավայրի պոտորությունը, փառի կամ նստվածքի առաջացմամբ: Հայտանյութի գույնի փոփոխությունը վկայում է նյութափոխանակության թթու կամ հիմնային (պեպտոնի քայքայման հետևանքով) արգասիքների առաջացման մասին: Գազառաջացման մասին վկայում է գազի պղպշակների կուտակումը լողաններում (նկար 57 Ա): Ուսումնասիրությունների արդյունքները համեմատում են մանրէների աճի ցուցանիշների հետ ստուգիչ (ֆոնային) սննդամիջավայրում, որում չի պարունակվում փորձարկվող ածխածնի աղբյուրը:

Ածխաջրեր և բազմատոմ սպիրտներ յուրացնելու մանրէների ունակությունը կարելի է որոշել՝ դրանք աճեցնելով պինդ սննդամիջավայրի վրա: Տվյալ դեպքում ածխաջրի կամ սպիրտի մանրէազերծված լուծույթն ավելացնում են մանրէազերծված, ազարացված և հալեցված սննդամիջավայրին, լավ խառնում են և լցնում մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ: Սննդամիջավայրի պնդանալուց հետո Պետրիի թասի հատակի արտաքին մակերեսը թանաքով կամ մատիտով բաժանում են հատվածների: Այնուհետև մանրէների հետազոտվող կուլտուրաներից յուրաքանչյուրը մանրէաբանական օդակով ճառագայթային կամ զիզագաձև գծերով տարածում են սննդամիջավայրի մակերեսի առանձին հատվածներում (նկար 56 Բ):

Որպես ցանքանյութ օգտագործում են բջիջների կախույթները, որոնք ստացվում են շեղակների մակերեսից բջիջների լվացմամբ: Աճեցման տևողությունը 2-10 օր է: Արդյունքների մասին դատում են մանրէների աճի ցուցանիշներով՝ համեմատելով ածխածնի համապատասխան աղբյուր չպարունակող ստուգիչ սննդամիջավայրի մակերեսին մանրէի աճի ցուցանիշների հետ: Այս մեթոդը թույլ է տալիս մեկ Պետրիի թասերում միաժամանակ ստուգելու մի քանի մանրէային կուլտուրաների այս կամ այն սուբստրատը յուրացնելու ունակությունը:

Բազմաթիվ մանրէներ որպես ածխածնի միակ աղբյուր ունակ



Նկար 57. Մանրէների ածխաջրեր յուրացնելու ունակության որոշում:

Ա) Որոշումը հեղուկ սննդամիջավայրում. 1. Սրուգիչ, 2. Ածխաջրերի խմորումն ընթանում է թթվառաջացմամբ, որը դիտվում է սննդամիջավայրի գույնի փոփոխությամբ, իսկ գազառաջացումը՝ լողանում գազի կուտակմամբ, Բ) Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին փաթեք մանրէների (1-9) ցանք:

են յուրացնելու նաև օրգանական թթուները: Օրգանական թթուներ պարունակող սննդամիջավայրերում մանրէների աճի ունակությունը որոշելու համար պատրաստվում է հետևյալ բաղադրությամբ սննդամիջավայր (գ/լ). $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, NaCl 0.1, ագար-ագար 15, օրգանական թթու՝ Na -ական կամ K -ական աղի ձևով 2, pH 6.8: Մինչև մանրէագերծումը սննդամիջավայրին ավելացնում են 20 մլ հայտանյութի (օրինակ՝ մեթիլլոտի) 0.04% ջրային լուծույթ, որը սննդամիջավայրի գույնը փոխում է դեղինից կարմիր pH 6.8-8.4 միջակայքում: Հայտանյութ պարունակող սննդամիջավայրը լցնում են սրվակների մեջ և մանրէագերծում ավտոկլավում 1 ամս պայմաններում 15 լույսի ընթացքում: Ցանքը կատարում են մանրէաբանական ասեղով վերը նշված ձևով: Աճեցման տևողությունը 2-14 օր է՝ կախված մանրէների աճի առանձնահատկություններից: Օրգանական թթուների յուրացման մասին վկայում են մանրէաբանական ասեղով ցանքի հետագծով և սննդամիջավայրի pH-ի հիմնայնացման արդյունքում հայտանյութի գույնի փոփոխությամբ (նկար 58):

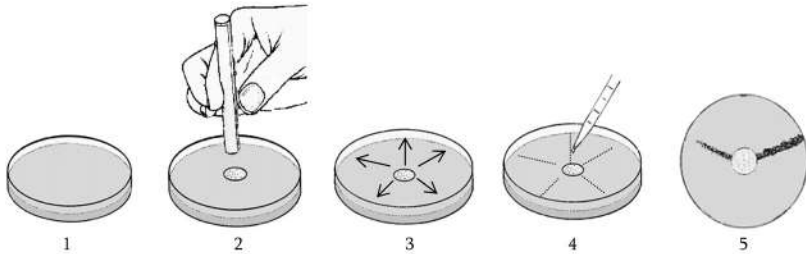
Որոշ մանրէներ ունակ են յուրացնելու նաև քիմիապես կայուն



Նկար 58. Na-ցիտրատը յուրացնելու մանրէների ունակության որոշումը:

1. Սննդամիջավայրի գույնի անփոփոխ մնալը վկայում է, որ Na-ցիտրատը չի յուրացվել, 2. Սննդամիջավայրի գույնի փոփոխությունը վկայում է Na-ցիտրատի յուրացման մասին:

այնպիսի միացություններ, ինչպիսիք են ածխաջրածինները: Հեղուկ չցնդող ածխաջրածիններն օքսիդացնելու մանրէների ունակությունը կարելի է հայտնաբերել՝ մանրէները աճեցնելով հետևյալ բաղադրությամբ սննդամիջավայրի մակերեսին (գ/լ). KNO_3 4, KH_2PO_4 0.6, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.4, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.8, ագար-ագար 20, pH 7.2: Սննդամիջավայրը մանրէազերծում են ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 15 լուպեի ընթացքում, ապա հաստ շերտով լցնում Պետրիի քասերի մեջ: Սննդամիջավայրի պնդանալուց հետո ագարային շերտի կենտրոնում շրջանաձև կտրվածք (փոսիկ) են անում: Այդ նպատակով կարելի է օգտագործել սովորական դակիչ (տրամագիծը 8-10 մմ) (նկար 59), որը մանրէազերծում են սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցով: Մանրէները ցանում են ճառագայթաձև հետազոտելով և կենտրոնախույս ուղղությամբ՝ փոսիկից մինչև թափ ծայրերը (նկար 59): Փոսիկի մեջ լցնում են նախապես ֆիլտրմամբ մանրէազերծված հետազոտվող ածխաջրածնի 2-3 կաթիլ: Միևնույն թասում կարելի է ստուգել մի քանի մանրէային կուլտուրաների աճը: Թասերը հորիզոնական դիրքով և առանց շրջելու (կափարիչները դեպի վեր) տեղադրում են ջերմապահարանում: 7-10 օր ինկուբացնելուց հետո նշում են ցանքի հետազոտվածի առկայությունը կամ բացակայությունը՝ համեմատելով ածխաջրածին չպարունակող ստուգիչ սննդամիջավայրի վրա աճի հետ:



Նկար 59. Մանրէների ածխաջրածին յուրացնելու ունակության որոշումը:

1. Պինդ սննդամիջավայր, 2. Դակիչով պինդ սննդամիջավայրի կենտրոնում փոսիկի դրակում, 3. Մանրէների ցանք կենտրոնախույս ուղղությամբ, 4. Մանրէազերծված ածխաջրածնի ավելացում փոսիկում, 5. Մանրէների աճ:

Ազոտի միացությունների յուրացումը

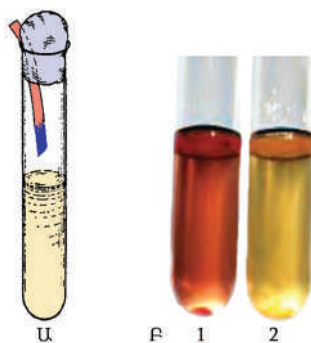
Ազոտի այս կամ այն միացությունը յուրացնելու մանրէների ունակությունը որոշելու համար դիւրանք աճեցնում են համապատասխան սննդամիջավայրերի վրա:

Ազոտ պարունակող օրգանական նյութերի յուրացումը

Բազմաթիվ մանրէներ ունակ են յուրացնել ազոտ պարունակող օրգանական միացությունները, օրինակ՝ պեպտոնները, ամինաթթուները և սպիտակուցները: Սպիտակուցի ֆերմենտային հիդրոլիզի արդյունքում առաջացած ամինաթթուները անմիջականորեն օգտագործվում են կամ բջջում ընթացող կենսասինթեզի գործընթացներում, կամ շնչառության, կամ խմորման գործընթացներում ճեղքվում են ավելի պարզ միացությունների: Սպիտակուցի քայքայումը միշտ ուղեկցվում է կողմնակի արգասիքների, օրինակ՝ ամոնիակի (ամոնիֆիկացման գործընթացում), ծծմբաջրածնի կամ իմդոլի առաջացմամբ, որոնք անջատվում են համապատասխանաբար դեզամինացման, ծծումբ պարունակող ամինաթթուների (ցիստին, ցիստեին, մեթիոնին) քայքայման և տրիպտոֆանի քայքայման արդյունքում: Հետևաբար, այս արգասիքների հայտնաբերումը սննդամիջավայրում մանրէների աճի ընթացքում վկայում է ամինաթթուները յուրացնելու մանրէների ունակության մասին: Ավելին՝ ամոնիֆիկացման գործընթացը միշտ ուղեկցվում է սննդամիջավայրի հիմնայնացմամբ:

Ամոնիակի հայտնաբերումը: Դեգամինացման գործընթացում ամոնիակ առաջացնելու մանրէների ունակությունը կարելի է հայտնաբերել՝ դրանք աճեցնելով մսապեպտոնային արգանակում: Դրա համար յուրաքանչյուր սրվակի մեջ լցնում են 8-10 մլ մսապեպտոնային արգանակ և մանրէազերծում ավտոկլավում 1 ամժ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Ցանքից հետո սրվակի և բամբակյա խցանի միջև տեղադրում են նախապես մանրէազերծված լակմուսային թղթի նեղ կտորն այնպես, որպեսզի այն չդիպչի սննդամիջավայրին: Լակմուսային թուղթը, տեղադրելով Պետրիի թասի մեջ, մանրէազերծում են ավտոկլավում 0.5 ամժ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում: Ինկուբացման ընթացքում ամոնիակի ցնդումը կանխելու նպատակով ցանկալի է սրվակի խցանը փաթաթել պոլիէթիլենով: Ամոնիակի առաջացման դեպքում կարմիր լակմուսը կապտում է (նկար 60 Ա):

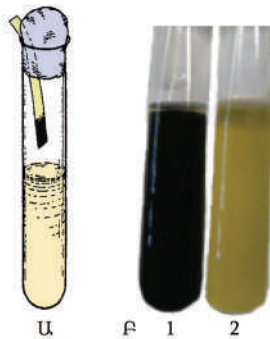
Եթե որպես սննդամիջավայր օգտագործում են 4% պեպտոնաջուրը, ապա ամոնիակի առաջացումը հայտնաբերում են Նեալերի ռեակտիվով (ռեակտիվի պատրաստումը տես հավելված 2-ում): Հախճապակյա թիթեղի վրա կաթեցնում են պեպտոնաջրում աճեցված մանրէային կախույթի մի քանի կաթիլ և ավելացնում մեկ կաթիլ Նեալերի ռեակտիվ: Նեալերի ռեակտիվը կարելի է անմիջապես ավելացնել նաև մանրէային կախույթին: Ամոնիակի հետքերի առկայության դեպքում հեղուկը ներկվում է դեղին գույնով, իսկ ամոնիակի մեծ քանակության դեպքում առաջանում է շագանակագույն կամ դարչնագույն մտվածք (նկար 60 Բ):



Նկար 60. Մանրէների ամոնիֆիկացման ունակության հայտնաբերումը:

Ա) Առաջացած ամոնիակի ազդեցությամբ լակմուսային թղթի կապտում, Բ) Կախույթի մշակումը Նեալերի ռեակտիվով. 1. Առաջացնում են ամոնիակ, 2. Ամոնիակ չեն առաջացնում:

Ծծմբաջրածնի հայտնաբերումը: Ծծմբաջրածին արտադրելու մանրէների ունակության որոշումը հիմնված է մետաղների սուլֆիդների առաջացման ռեակցիայի վրա: Առավել տարածված եղանակը քացախաթթվային կապարով փորձն է: Դրա համար մախ մանրէներն աճեցնում են մսապեպտոնային արգանակում, որը պարունակում է 0.01% ցիստին և ցիստեին: Այս ամինաթթուները սննդամիջավայրին ավելացնում են թթվային թորած ջրային լուծույթի ձևով՝ մախապես մանրէազերծելով ֆիլտրմամբ: Հետագուտվող մանրէային կուլտուրայի ցանքից հետո սրվակի և բամբակյա խցանի միջև տեղադրում են մանրէազերծված ֆիլտրի թղթի նեղ կտոր, որը ներծծված է քացախաթթվային կապարի լուծույթով (պատրաստումը տե՛ս հավելված 2-ում): Քացախաթթվային լուծույթով ներծծված ֆիլտրի թղթի կտորները տեղադրում են Պետրիի թափ կամ սրվակի մեջ և մանրէազերծում ավտոկլավում 0.5 ամս պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Ինկուբացման ընթացքում (7-10 օր) ծծմբաջրածնի ցրնդումը կանխելու նպատակով ցանկալի է սրվակի բամբակյա խցանը ծածկել պոլիէթիլենով: Ծծմբաջրածնի անջատումը ուղեկցվում է կապարի սուլֆիդի առաջացման հետևանքով ֆիլտրի թղթի սևացմամբ (նկար 61 Ա):

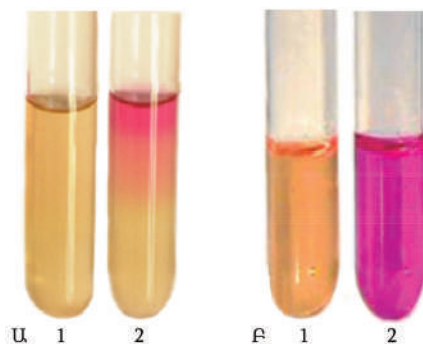


Նկար 61. Ծծմբաջրածին արտադրելու մանրէների ունակության հայտնաբերումը:
 Ա) Ծծմբաջրածնի առկայությանը ֆիլտրի թղթի սևացումը, Բ) Սննդամիջավայրում ծծմբաջրածնի հայտնաբերումը. 1. Դիտվում է ծծմբաջրածնի առաջացում, 2. Չի դիտվում ծծմբաջրածնի առաջացում:

Առավել ճշգրիտ արդյունքներ են ստացվում հետևյալ բաղադրությամբ սննդամիջավայրի կիրառման դեպքում (գ/լ). պեպտոն 10, NaCl 5, NH_4Fe -ի ցիտրատ 0.3, ազար-ազար 15, շաքարասնկային լուծամզվածք 2 մլ, ծորակի ջուր, pH 7: Սննդամիջավայրը լցնում են

սրվակների մեջ և մանրէազերծում ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում: Մանրէազերծումից հետո ստանում են շեղակ և կատարում գծային ցանք: Կարելի է պատրաստել նաև հեղուկ սննդամիջավայր: Ծծմբաջրածնի անջատման մասին դատում են երկաթի սուլֆիդի առաջացման հետևանքով սննդամիջավայրի սևացմամբ (նկար 61 Բ):

Ինդոլի հայտնաբերումը: Ինդոլը հայտնաբերում են Էրլիխսի ռեակտիվի կիրառմամբ որակական ռեակցիայի միջոցով (տե՛ս հավելված 2): Ինդոլի հայտնաբերման համար կարելի է օգտագործել զանազան սննդամիջավայրեր. 0.01% տրիպտոֆան պարունակող մսապեպտոնային արգանակ, որին ավելացվում է 1% կազեինային ջուր (զ/լ կազեին 10, Na_2HPO_4 2, NaCl 3) կամ 2-3% պեպտոնաջուր (զ/լ պեպտոն 25, Na_2HPO_4 2, NaCl 3), pH 7.2-7.4: Սննդամիջավայրերը լցնում են սրվակների մեջ 8-10 սկան մլ, մանրէազերծում ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Տրիպտոֆանն ավելացնում են մանրէազերծված արգանակին լուծույթի ձևով, որը պատրաստում են հետևյալ եղանակով: Տրիպտոֆանը լուծում են ջրում և կաթիլներով ավելացնում NaOH -ի 5-10% լուծույթ մինչև դրա ամբողջությամբ լուծվելը: Ստացված լուծույթը մանրէազերծում են ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Մանրէների ցանքից հետո ինկուբացնում են 5-7 օր և որակական ռեակցիայով ստուգում են սննդամիջավայրում ինդոլի առկայությունը: Դրա համար սննդամիջավայրին ավելացնում են 1-2 մլ Էրլիխսի ռեակտիվ: Կարմիր գունավորման առաջացումը վկայում է ինդո-



Նկար 62. Մանրէների ամոնիֆիկացման ունակության հայտնաբերումը:

Ա) Ինդոլի առաջացման հայտնաբերումը. 1. Չի դիտվում ինդոլի առաջացում, 2. Դիտվում է ինդոլի առաջացում, Բ) Միզանյութի ամոնիֆիկացիա. 1. Միզանյութը չի յուրացվում, 2. Միզանյութը յուրացվում է:

լի առկայության մասին: Ձուգահեռ ստուգվում է մանրէազերծված սննդամիջավայրում ինդոլի առկայությունը (նկար 62 Ա):

Ամոնիֆիկացման համար սուբստրատ կարող են ծառայել նաև ազոտի ավելի պարզ օրգանական միացությունները, օրինակ՝ միզանյութը: Միզանյութի ֆերմենտային հիդրոլիզը մինչև ամոնիակ և ածխաթթու գազ ունակ են իրականացնելու մանրէները, որոնք սինթեզում են ուրեազ: Առաջացած ամոնիակն այս մանրէներն օգտագործում են որպես ազոտի աղբյուր: Միզանյութի ամոնիֆիկացումը ուղեկցվում է սննդամիջավայրի հիմնայնացմամբ (նկար 62 Բ):

Միզանյութը յուրացնելու մանրէների ունակության հայտնաբերման համար հաճախ օգտագործում են հետևյալ բաղադրությամբ սննդամիջավայր (գ/լ). $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 5, K_2HPO_4 0.5, խնձորաթթվային, կիտրոնաթթվային կամ գինեթթվային Na 5: Առանց միզանյութի սննդամիջավայրը բարակ շերտով լցնում են կոնաձև անոթների մեջ և մանրէազերծում ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Առանձին պատրաստում են միզանյութի 20% լուծույթ (թթվեցված թորած ջրում) և մանրէազերծում ֆիլտրմամբ կամ ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Միզանյութն ավելացնում են մանրէազերծված սննդամիջավայրին այնքան, որպեսզի դրա վերջնական կոնցենտրացիան սննդամիջավայրում կազմի 20%: Սննդամիջավայրը մանրէներով ինոկուլացնելուց հետո սրվակի և բամբակյա խցանի միջև տեղադրում են նախապես մանրէազերծված կարմիր լակմուսային թղթի մի կտոր: Ինկուբացման տևողությունը 3-5 օր է: Ամոնիակի առաջացումը հայտնաբերում են լակմուսային թղթի գույնի փոփոխությամբ կամ Նեալերի ռեակտիվով որակական ռեակցիայով (տե՛ս նկար 60 Բ):

Ազոտի հանքային միացությունների յուրացումը

Մանրէների ունակությունը յուրացնելու ամոնիումի աղերը կամ նիտրատները որպես ազոտի աղբյուր ստուգում են սինթետիկ սննդամիջավայրերում: Պատրաստում են սննդամիջավայրի երկու տարբերակ: Հիմնական սննդամիջավայրի բաղադրությունը հետևյալն է. (գ/լ) գլյուկոզ 20, K_2HPO_4 1, KH_2PO_4 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, NaCl 0.5, ագար-ագար 15, pH 7.1-7.2: Հիմնական սննդամիջավայրին առաջին տարբերակում ավելացնում են 1գ NH_4Cl և 5գ CaCO_3 (քանի որ ամոնիումի քլորիդը ֆիզիոլոգիապես թթու աղ է), իսկ երկրորդ

տարբերակում՝ 1գ KNO_3 : Սննդամիջավայրերը լցնում են սրվակների մեջ, մանրէազերծում ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Մանրէազերծումից հետո ստանում են շեղակներ և կատարում գծային ցանք: Ինկուբացման տևողությունը $2-10$ օր է: Աճը կամ դրա բացակայությունը վկայում են ազոտի հանքային միացությունների յուրացման մասին: Ամոնիումի աղերը կամ նիտրատները յուրացնելու ունակությունը կարելի է ստուգել նաև նույն բաղադրությամբ հեղուկ սննդամիջավայրերում: Այդ դեպքում նպատակահարմար է որոշել ինկուբացումից հետո տվյալ աղի ամբողջական յուրացումը: Այդ նպատակով մանրէային կախույթում որոշում են ամոնիումի իոնների կամ նիտրատների առկայությունը որակական ռեակցիաներով: Որպես ստուգիչ կիրառում են համապատասխան մանրէազերծված սննդամիջավայրերը:

Մոլեկուլային ազոտի յուրացումը

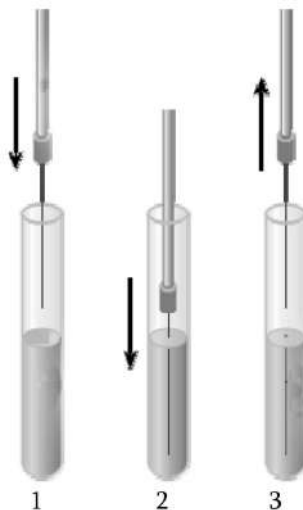
Մոլեկուլային ազոտը յուրացնելու աերոբ մանրէների ունակության մասին կարելի է դատել ազոտ չպարունակվող էշբիի սննդամիջավայրում ըստ դրանց աճի: Էշբիի սննդամիջավայրը ունի հետևյալ բաղադրությունը (գ/լ). մաննիտ 20 , KH_2PO_4 0.2 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 , NaCl 0.2 , K_2SO_4 0.1 , CaCO_3 5 , ազար-ազար 20 , pH $7.1-7.3$: Սննդամիջավայրը լցնում են սրվակների մեջ, մանրէազերծում են ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում, որից հետո ստանում շեղակ: Կատարում են գծային ցանք: Ինկուբացման տևողությունը $7-10$ օր է: Ամիրաժեշտ է նշել, որ Էշբիի սննդամիջավայրի վրա կարող են աճել ոչ միայն մանրէները, որոնք ֆիքսում են մոլեկուլային ազոտը, այլ նաև օլիգոնիտրոֆիլ մանրէները, այսինքն՝ մանրէները, որոնք ունակ են յուրացնելու քիմիական ռեակտիվներում, ջրում և օդում կապված ազոտի աննշան քանակությունները: Առատ աճն Էշբիի սննդամիջավայրի վրա կարող է վկայել այն մասին, որ մանրէները պատկանում են դիազոտրոֆներին:

Մոլեկուլային ազոտը կարող են ֆիքսել նաև աներոբ մանրէները: *Clostridium* ցեղի ներկայացուցիչների այդ ունակության հայտնաբերման համար օգտագործում են սննդամիջավայր հետևյալ բաղադրությամբ (գ/լ). շաքարասնկային լուծամզվածք 0.015 , գլյուկոզ 20 , KH_2PO_4 1 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 , NaCl 0.5 , MnSO_4 -ի և FeSO_4 -ի հետքեր (1 -սկան մլ յուրաքանչյուր աղի 1% ջրային լուծույթից), CaCO_3 20 , pH

7: Սննդամիջավայրը լցնում են սրվակների մեջ և մանրէագերծում ավտոկլավում 0.5 ամս պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Մանրէագերծումից հետո սրվակները գրեթե մինչև խցանը լցվում են մանրէագերծված սննդամիջավայրով և լուծված թթվածնի հեռացման համար 20-30 ր. տաքացվում եռացող ջրային բաղնիքում: Այնուհետև սրվակներն արագ սառեցնում են սառը ջրի շիթի տակ և կատարում ցանք՝ մանրէների կախույթը պիպետով ներարկելով մինչև սրվակի հատակը: Ինկուբացման տևողությունը 2-7 օր է: Անաերոբ դիագնոստիկների աճը ուղեկցվում է սննդամիջավայրի պղտորմամբ, գազառաջացմամբ, կարագաթթվի հոտի առաջացմամբ:

Մոլեկուլային թթվածնի նկատմամբ մանրէների վերաբերմունքը և աճը անաերոբ պայմաններում

Ըստ մոլեկուլային թթվածնի նկատմամբ վերաբերմունքի տարբերում են մանրէների հետևյալ խմբերը՝ օրլիգատ անաերոբ, միկրոաերոֆիլ, ֆակուլտատիվ աերոբ կամ անաերոբ, աերոտոլերանտ և օրլիգատ անաերոբ մանրէներ (տե՛ս գլուխ 1): Այս կամ այն խմբին

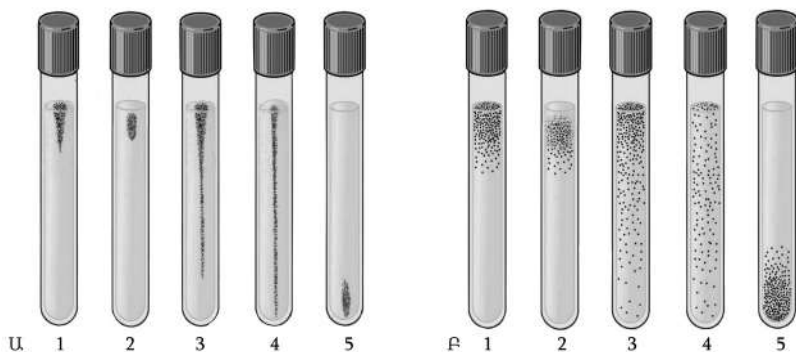


Նկար 63. Մանրէային կուլտուրայի ցանքը մանրէաբանական ասեղով:

1. Մանրէաբանական ասեղով մանրէային կուլտուրայի ներմուծում սննդամիջավայր, 2. Մանրէային կուլտուրայի ներարկում սննդամիջավայրի մեջ, 3. Մանրէաբանական ասեղի հեռացում:

մանրէների պատկանելության մասին դատելու համար մանրէային կախույթն ավելացնում են սրվակների մեջ լցված դեռնա հեղուկ (40-45°C) ազարացված սննդամիջավայրի մեջ, լավ թափահարում և ինկուբացնում հետազոտվող մանրէի աճի համար բարենպաստ պայմաններում: Ցանքը կարելի է կատարել նաև մանրէաբանական ասեղի միջոցով մանրէային կուլտուրան դեռնա կիսահեղուկ ազարային սննդամիջավայր ներարկելով (ներարկմամբ ցանք), ինչպես ցույց է տրված նկար 63-ում:

Աերոբներն աճում են սննդամիջավայրի մակերեսին կամ դրա վերին շերտերում, միկրոաերոֆիլները՝ մակերեսից ոչ շատ խորը շերտերում, իսկ ֆակուլտատիվ անաերոբները սովորաբար զարգանում են սննդամիջավայրի ամբողջ հատույթում: Խիստ անաերոբներն աճում են միայն սննդամիջավայրի խորքում՝ սրվակի հատակամերձ մասում (նկար 64):



Նկար 64. Մանրէների աճը ազարացված սննդամիջավայրում:

Ա) Աճը ազարացված սննդամիջավայրում մանրէաբանական ասեղով ցանքից հետո, Բ) Աճը ազարացված սննդամիջավայրում մանրէային կախույթի ավելացնելուց ու թափահարելուց հետո. 1. Աերոբ, 2. Միկրոաերոֆիլ, 3. Ֆակուլտատիվ անաերոբ, 4. Աերոտոլերանս, 5. Անաերոբ:

Ֆակուլտատիվ անաերոբները (կամ ֆակուլտատիվ աերոբները) լավ աճում են և՛ աերոբ, և՛ անաերոբ պայմաններում: Անաերոբ պայմաններում դրանցից շատերը շնչառական շղթայում որպես էլեկտրոնների վերջնական ակցեպտոր ունակ են օգտագործել ոչ թեթթվածինը, այլ օրինակ՝ նիտրատը: Այդ գործընթացը կոչվում է նիտրատային շնչառություն, որի արդյունքում նիտրատները վերականգնվում են մինչև նիտրիտներ, ապա մինչև N_2O և N_2 : Նիտրատային շնչառությունը, որն ուղեկցվում է ազոտի գազային միացություններ-

րի առաջացմամբ կոչվում է դենիտրիֆիկացում (կամ դիսմիլյացիոն միտրատվերականզմում): Որոշ ֆակուլտատիվ անաերոբ մանրէներ կարող են անաերոբ պայմաններում շնչառությունից անցնել խմորման: Այդ դեպքում ածխաջրերով հարուստ սննդամիջավայրերում մանրէների աճի հետևանքով կուտակվում են զգալի քանակությամբ օրգանական թթուներ և նյութափոխանակության այլ արգասիքներ:

Դենիտրիֆիկացման ունակությունը

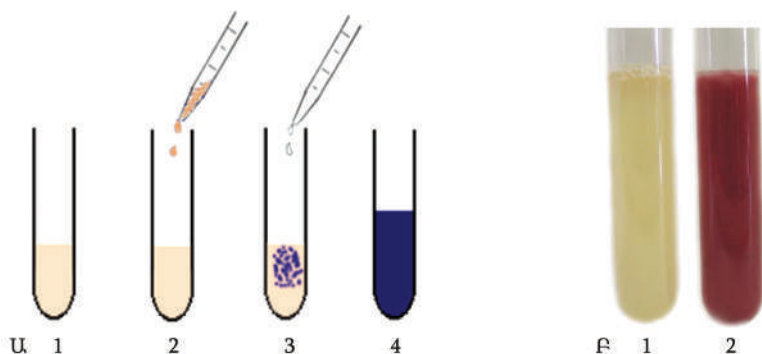
Դենիտրիֆիկացման հատկությունը սննդամիջավայրում որոշում են հետևյալ բաղադրությամբ՝ (գ/լ). գլիցերին 10, շաքարասնկային լուծամզվածք 5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2, KNO_3 10, K_2HPO_4 2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.025, NaCl 0.5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001, ագար-ագար 1: Սննդամիջավայրը (5 և 10 մլ-ական) լցնում են սրվակների մեջ և մանրէազերծում ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Փորձարկվող մանրէները մանրէաբանական ասեղով ներարկում են 5 մլ սննդամիջավայր պարունակող սրվակների մեջ (առաջնային ցանք): 24 ժամ ինկուբացնելուց հետո առաջնային ցանքի մանրէային զանգվածը մանրէաբանական ասեղով տեղափոխում են 10 մլ դեռևս հեղուկ ($40-45^\circ\text{C}$) ագարացված սննդամիջավայր պարունակող սրվակների մեջ: Մանրէների ցանքից հետո սննդամիջավայրը խառնում են, հովացնում և անաերոբ պայմաններ ստեղծելու համար սննդամիջավայրին ավելացնում նախապես մանրէազերծված 2-3 մլ 1% ջրային ագար-ագար: Դենիտրիֆիկացման ունակ մանրէների աճը ուղեկցվում է սննդամիջավայրի պղտորմամբ և գազառաջացմամբ:

Նիտրատները վերականգնելու մանրէների ունակությունը կարելի է ստուգել նաև մասապետոմային արգանակում, որին ավելացնում են KNO_3 -ի 0.2% լուծույթ: Սննդամիջավայրը (10-ական մլ) լցնում են սրվակների մեջ, որոնցից յուրաքանչյուրի հատակին իջեցնում են լողան և մանրէազերծում ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում: Ցանքը կատարում են՝ նախապես ստացված բլջջային կախույթի մի քանի կաթիլ ավելացնելով սննդամիջավայրին: Ինկուբացման տևողությունը 2-5 օր է, որից հետո ստուգում են լողանում գազի (N_2) կուտակումը և որակական ռեակցիայով որոշում են սննդամիջավայրի կախություն միտրատների և միտրիտների առկայությունը:

Նիտրատների հայտնաբերման որակական ռեակցիան իրակա-

նացնում են հետևյալ կերպ: Հախճապակյա թիթեղիկի վրա կաթեցնում են 1 կաթիլ խիտ ծծմբական թթու, ավելացնում դիֆենիլամինի մի քանի բյուրեղ և դրա լուծվելուց հետո ավելացնում են փորձարկվող կախույթի 1 կաթիլ: NO_3^- իոնների առկայության դեպքում հեղուկը ներկվում է մուգ կապույտ գույնով: Պետք է հաշվի առնել, որ նիտրիտները (NO_2^-) դիֆենիլամինի հետ ևս առաջացնում է կապույտ գունավորում, ուստի նիտրատների առկայության մասին դատելու համար պետք է բացառել սննդամիջավայրում նիտրիտների առկայությունը:

Նիտրիտների հայտնաբերման օսլա-յոդային որակական ռեակցիան հիմնված է թթվային միջավայրում նիտրիտով ZnI_2 -ի օքսիդացման և արդյունքում I_2 անջատելու հատկության վրա: Անջատված յոդը հայտնաբերվում է օսլայի միջոցով: Ռեակցիայի իրականացման համար կախույթին ավելացնում են լուծույթ, որը պարունակում է ZnCl_2 , KI , օսլա (ռեակտիվի պատրաստումը տե՛ս հավելված 2-ում) և HCl -ի լուծույթ: Սննդամիջավայրում նիտրիտի առկայության դեպքում առաջանում է կապույտ գունավորում (նկար 65 Ա):



Նկար 65. Մանրէների նիտրատները նիտրիտների վերականգնման ունակության հայտնաբերումը:

- Ա) Օսլա-յոդային ռեակցիա. 1. Հեղազուրվող մանրէային կախույթ, 2. ZnCl_2 , KI և օսլա պարունակող լուծույթի ավելացում, 3. HCl -ի լուծույթի ավելացում, 4. Նիտրիտի առկայությանը կապույտ գունավորման առաջացում, Б) Գրիսի ռեակտիվով մշակում. 1. Սրուգիչ, 2. Նիտրիտի առկայությանը կարմիր գունավորման առաջացում:

Նիտրիտների հայտնաբերման որակական ռեակցիան Գրիսի ռեակտիվով հիմնված է թթվային սննդամիջավայրում նիտրիտների և արոմատիկ ամինների (սուլֆոֆենոլային թթվի և α -նավթիլա-

մինի) փոխազդեցությամբ կարմրավարդագույն գունավորում ունեցող ազոմիացության առաջացման վրա: Ռեակցիայի իրականացման համար բջջային կախույթին ավելացնում են Գրիսի ռեակտիվ (ռեակտիվի պատրաստումը տե՛ս հավելված 2-ում): Կարմիր գունավորման առաջացումը վկայում է նիտրիտների առկայության մասին (նկար 65 Բ): Որպես ստուգիչ ռեակցիան զուգահեռ իրականացնում են բջիջներից զուրկ մանրէազերծված սննդամիջավայրում:

Խմորման ունակության որոշումը

Խմորման ունակությունը սովորաբար որոշում են ածխաջրերի համեմատաբար բարձր խտությամբ և պեպտոնի ոչ մեծ քանակությամբ սննդամիջավայրում: Սննդամիջավայրի բաղադրությունը հետևյալն է (գ/լ). ածխաջուր 1, պեպտոն 2, NaCl 0.5, K_2HPO_4 0.3, ագար-ագար 3: 100 մլ սննդամիջավայրին ավելացնում են 0.3 մլ 1% բրոմֆինոկապույտի ջրային լուծույթ, սննդամիջավայրի pH 7.1-7.2: Սննդամիջավայրը առանց ածխաջրի ավելացման մանրէազերծում են ավտոկլավում 1 ամս պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Ածխաջրերը (գլյուկոզ, սախարոզ, լակտոզ) 20-40% լուծույթների ձևով մանրէազերծում են ավտոկլավում 0.5 ամս պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում և ավելացնում նախապես մանրէազերծված սննդամիջավայրին: Այնուհետև սննդամիջավայրը լցնում են մանրէազերծված սրվակների մեջ 5-6 սմ շերտով և պաղեցնելուց հետո ինոկուլացնում են փորձարկվող մանրէային կուլտուրաներով: Ցանքը կատարում են մանրէաբանական ասեղով: Յուրաքանչյուր ածխաջրի համար օգտագործում են երկուսկան սրվակ: Ցանքից հետո սրվակներից մեկում գտնվող սննդամիջավայրին անաերոբ պայմաններ ստեղծելու նպատակով 1-2 սմ շերտով ավելացնում են մանրէազերծված պարաֆին կամ վազելինային յուղի և պարաֆինի խառնուրդ (1:1) կամ էլ՝ 1.5% ջրային ագար-ագար: Ինկուբացման տևողությունը 2-7 օր է: Փորձի վերջում գրանցում են սննդամիջավայրի pH-ի փոփոխությունը ըստ հայտանյութի գույնի փոփոխության: Աերոբ մանրէները, որոնք կատարում են շնչառություն և ունակ չեն խմորման, աճում են միայն առանց պարաֆինի սրվակներում սննդամիջավայրի մակերեսին և առաջացնում են թթուների ոչ մեծ քանակություն միայն սննդամիջավայրի վերին շերտերում: Պեպտոնի քայքայման արդյունքում առաջացած արգասիքներով այդ թթուների չեզոքացման

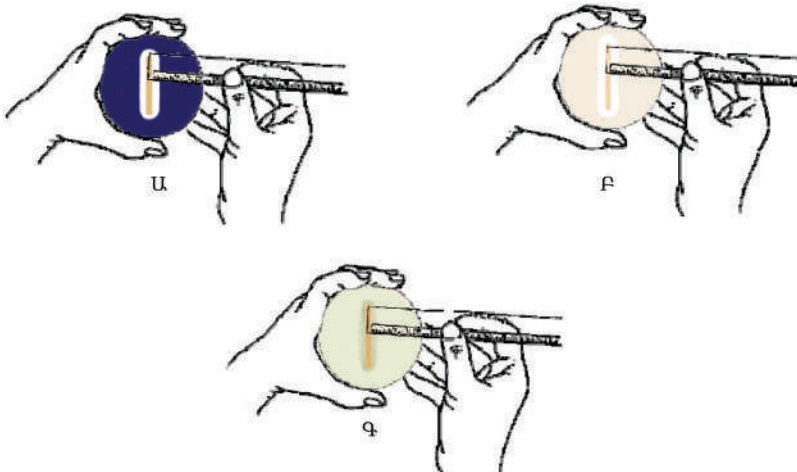
դեպքում սննդամիջավայրի մակերեսային շերտում դիտվում է հիմնային ռեակցիա: Մանրէները, որոնք ունակ են խմորել ածխաջրերը, աճում և առաջացնում են թթուներ երկու սրվակներում էլ, բայց ամաներոք պայմաններում թթվագոյացումը զգալիորեն ավելի շատ է լինում: Դա լավ նկատվում է հայտանյութի գույնի փոփոխությամբ: Եթե խմորումն ուղեկցվում է գազերի առաջացմամբ, ապա ազարացված սննդամիջավայրը նաև ճեղքվում է:

Արտաբջջային ֆերմենտներ սինթեզելու որոշումը

Ինչպես հայտնի է մանրէները ունակ են որպես սննդարար սուբստրատներ օգտագործել ամենատարբեր բարձրամոլեկուլային միացություններ՝ բազմաշաքարներ, սպիտակուցներ, նուկլեինաթթուներ, լիպիդներ և այլն: Սակայն մակրոմոլեկուլները չեն կարող ներթափանցել բջջաթաղանթով: Այդպիսի մակրոմոլեկուլները ենթարկվում են քայքայման հիդրոլազների պատկանող արտաբջջային ֆերմենտներով: Դրանց մեծամասնությունը կատալիզում է պոլիմերի հիդրոլիզը մինչև լուծելի արգասիքների՝ դիմերների կամ մոնոմերների, որոնք բջիջ են ներթափանցում շնորհիվ հատուկ փոխադրող մեխանիզմների գործունեությամբ: Արտաբջջային ֆերմենտներ սինթեզելու ունակությունը լայն տարածված է մանրէների տարբեր կարգաբանական խմբերում: Հիդրոլազների ակտիվ արտադրիչներ հայտնաբերելու համար կիրառվում են հատուկ մեթոդներ: Դրանց էությունը հետևյալում է. մանրէներն աճեցնում են համապատասխան մակրոմոլեկուլային սուբստրատներ պարունակող ազարացված սննդամիջավայրի վրա: Եթե մանրէն սինթեզում է տվյալ մակրոմոլեկուլային միացությունը հիդրոլիզող արտաբջջային ֆերմենտները, ապա գաղութների շուրջ առաջանում են գոտիներ, որոնցում հայտնաբերվում են հիդրոլիզի արգասիքները:

Բազմաշաքարների հիդրոլիզը: Օսլան ճեղքվում է ամիլազների ազդեցությամբ, որոնց ակտիվ արտադրիչներ են բացիլները, պսևդոմոնադները, ստրեպտոմիցետները և միցելիումային սնկերը: Օսլան հիդրոլիզելու մանրէների ունակությունը հայտնաբերելու համար հաճախ օգտագործում են հետևյալ բաղադրությամբ սննդամիջավայրը. (գ/լ) պեպտոն 10, K_2HPO_4 5, լուծվող օսլա 2, ազար-ազար 15, pH 6.8-7: Սննդամիջավայրը մանրէագերծում են ավտոկլավում 1 ամն պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում և լցնում մանրէագերծված Պետ-

րիի թասերի մեջ: Երբ սննդամիջավայրը պնդանում է, կատարում են գծային ցանք: Ինկուբացման տևողությունը 2-10 օր է: Օսլայի հիդրոլիզը հայտնաբերում են Լյուգոլի լուծույթով ազարային շերտի մշակմամբ (տես հավելված 2): Օսլա պարունակող սննդամիջավայրը ներկվում է կապույտ, իսկ հիդրոլիզի գոտին մնում է անգույն (եթե օսլան ամբողջապես քայքայվել է) կամ ձեռք է բերում կարմրագորշավուն երանգ (եթե օսլան հիդրոլիզվել է մինչև դեքստրինների): Օսլայի հիդրոլիզի գոտին չափում են միլիմետրերով՝ գաղութի ծայրից մինչև լուսավոր գոտու սահմանը (նկար 66 Ա): Որքան մեծ է չգունավորված գոտու տրամագիծը, այնքան բարձր է ամիլազի ակտիվությունը:



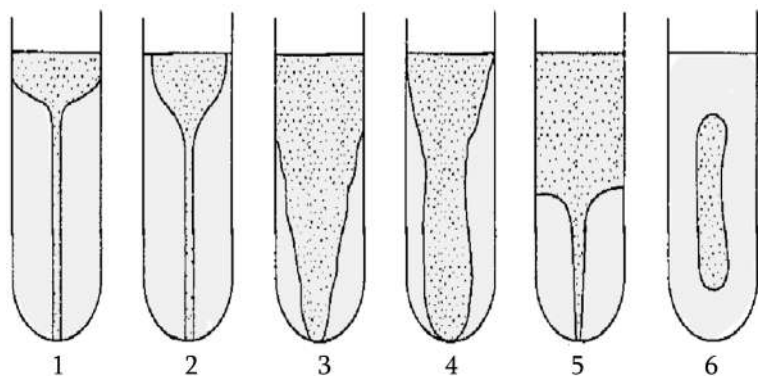
Նկար 66. Արտաբջջային ֆերմենտների հայտնաբերումը:

Ա) Օսլայի հիդրոլիզը, Բ) Կազեինի հիդրոլիզը, Գ) Լիպիդների հիդրոլիզը:

Սպիտակուցների հիդրոլիզը: Պրոտեազները կատալիզում են սպիտակուցների ճեղքումը պոլի- և օլիգոպեպտիդների: Պրոտեազների արտադրիչներ են բացիլները, ակտինոմիցետները և միցելիումային սնկերը: Արտաբջջային պրոտեազների ակտիվությունը որոշում են՝ որպես սուլֆատրատ ժելատին, կազեին և այլ սպիտակուցներ օգտագործելով:

Մանրէների ժելատինը հիդրոլիզելու ունակությունը հայտնաբերելու համար դրանք ցանում են մսապեպտոնային ժելատինում (ՄՊԺ): Պատրաստում են հետևյալ կերպ. 100 մլ մսապեպտոնային արգանակին ավելացնում են 10-15 գ ժելատին, թողնում են 20-30 րո-

պե, որպեսզի ուռչի, այնուհետև խառնուրդը տաքացնում են ջրային բաղնիքում մինչև ժելատինի լրիվ լուծվելը, և ստացված ՄՊԺ-ն 8-10-ական մլ լցնում են արվակների մեջ: Մանրէազերծում են ավտոկլավում 0.5 ամհ պայմաններում 15 րոպե: Ցանքը կատարում են մանրէաբանական ասեղով ներարկմամբ: Ինկուբացման տևողությունը 2-10 օր է: Ժելատինազայի առկայությունը որոշվում է սենյակային ջերմաստիճանում սննդամիջավայրի հեղուկացմամբ: Եթե ժելատինը քայքայվում է, ապա նշում են քայքայման ձևը և ուժգնությունը՝ շերտավոր, ձագարած, պարկանման, պղպջակի տեսքով և այլն (նկար 67):



Նկար 67. Տարբեր մանրէների ժելատին հիդրոլիզելու ունակությունը:

1. *Խառնարանաչի*, 2. *Շաղգամանման*, 3. *Չագարաչի*, 4. *Պարկանման*, 5. *Շերտավոր*, 6. *Պղպջականման* (1-3 և 5 առաջացնում են տերրոք մանրէները, 4-ը՝ ֆակուլտարիով անաերոբները, 6-ը՝ անաերոբները):

Կազեինը հիդրոլիզելու մանրէների ունակությունը հայտնաբերելու համար օգտագործում են սննդամիջավայր յուղազերծված կաթ: Որպես կանոն, սննդամիջավայրի պատրաստումից առաջ կաթը յուղազրկում են՝ կենտրոնախուսելով 15 ր. 650-1500 պտույտ արագությամբ: Ճարպերը, որոնք կաթի մակերևույթին առաջացնում են բավականին խիտ շերտ, հեռացնում են, իսկ կաթը մանրէազերծում են ավտոկլավում 0.5 ամհ պայմաններում 20 րոպե: Մանրէազերծումից հետո տաքացնում են և, անընդհատ խառնելով ավելացնում մանրէազերծված, հալեցված և մինչև 50°C պաղեցված 3 % ազար-ազար պարունակող ջրին: Ստացված սննդամիջավայրը լցնում են մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ: Սննդամիջավայրի պնդանալուց հետո մակերեսին կատարում են գծային ցանք: Ինկուբացման տևո-

դությունը 2-10 օր է: Կազեինի հիդրոլիզը հայտնաբերվում է գաղութի կամ մանրէների ցանքի հետագծով աճած զանգվածի շուրջ սննդամիջավայրի թափանցիկ գոտու առաջացմամբ: Թափանցիկ գոտին հատկապես լավ երևում է եռլորքացախաթթվի 5% լուծույթով ագարային շերտի մշակումից հետո: Կազեինի հիդրոլիզի գոտին չափում են միլիմետրերով՝ մանրէային գաղութի եզրից մինչև թափանցիկ գոտու սահմանը (նկար 66 Բ): Որքան մեծ է թափանցիկ գոտու տրամագիծը, այնքան բարձր է մանրէների կազեինալիտիկ ակտիվությունը:

Լիպիդների հիդրոլիզը: Լիպիդները ճեղքվում են լիպազների ազդեցությամբ: Լիպազների ակտիվ արտադրիչներ են շաքարասնկերը, միցելիումային սնկերը և *Clostridium* ցեղի բակտերիաները: Լիպազային ակտիվության հայտնաբերման համար հետազոտվող մանրէները ցանում են համապատասխան լիպիդ պարունակող սննդամիջավայրում: Այսպիսի փորձերում բարդությունը ճարպերի ջրում չլուծվելն է: Այդ պատճառով հաճախ ճարպերի փոխարեն օգտագործում են տվյալներ՝ սորբիտի և ճարպաթթուների էթերներ: Տվյալները չափում են ստեարինային, իսկ տվյալները 80-ը՝ օլեինային թթուներ: Տվյալները ջրում լավ լուծվում են և ունեն չեզոք ռեակցիա: Սննդամիջավայրն ունի հետևյալ կազմը (գ/լ). տվյալներ 10, պեպտոն 10, NaCl 5, CaCl₂·H₂O 0.1, ագար-ագար 20, pH 7.4:

Նախ պատրաստում են առանց տվյալների սննդամիջավայրը և մանրէազերծում ավտոկլավում 1 ամս պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Համապատասխան կոնցենտրացիայով տվյալների ջրային լուծույթը մանրէազերծում են առանձին ավտոկլավում 0.5 ամս պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում և մանրէազերծ պայմաններում ավելացնում հիմնական սննդամիջավայրին: Այնուհետև սննդամիջավայրը լցնում են մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ: Սննդամիջավայրի պնդանալուց հետո ագարային շերտի մակերեսին կատարում են գծային ցանք: Թասերն ինկուբացնում են համապատասխան ջերմաստիճանում, մանրէների աճի համար անհրաժեշտ ժամանակահատվածում: Լիպազ սինթեզելու ունակությունը հայտնաբերվում է գաղութի կամ մանրէի ցանքի հետագծով աճած զանգվածի շուրջ տվյալների քայքայումից առաջացած ճարպաթթուների կալցիումական աղերի ոչ թափանցիկ գոտիների առաջացմամբ (նկար 66 Գ):

Հակաբիոտիկների առաջացումը

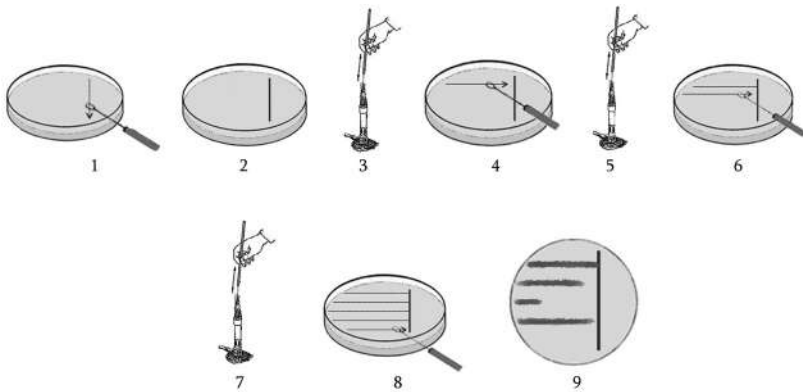
Բազմաթիվ մանրէների կենսագործունեության ընթացքում առաջանում են արգասիքներ, որոնք օժտված են բարձր ֆիզիոլոգիական ակտիվությամբ այլ մանրէների, այդ թվում՝ վիրուսների նկատմամբ: Նյութափոխանակության այդպիսի արգասիքները կոչվում են հակաբիոտիկներ: Ի տարբերություն ընդհանուր կենսաբանական թույլների՝ հակաբիոտիկներն իրենց ազդեցությունը դրսևորում են միայն մանրէների որոշակի տեսակների կամ խմբերի նկատմամբ: Որոշ հակաբիոտիկներ, օրինակ՝ պենիցիլինը, ֆունգիցիլինը, բացիտրացինը, ճնշում են սահմանափակ թվով մանրէների աճը, իսկ տետրացիկլինը, քլորամֆենիկոլը, էրիթրոմիցինը, կարբոմիցինը ունեն ազդեցության լայն տիրույթ և ճնշում են բազմաթիվ գրամդրական և գրամբացասական բակտերիաների, ինչպես նաև որոշ վիրուսների աճը: Որպես կանոն, գրամդրական բակտերիաներն ավելի զգայուն են հակաբիոտիկների ազդեցությանը, քան գրամբացասականները, ինչը պայմանավորված է դրանց բջջապատի կառուցվածքով: Հակաբիոտիկների ակտիվ արտադրիչներ են սպոր առաջացնող բակտերիաները, այդ թվում՝ ակտինոմիցետները և միցելիում առաջացնող սնկերը:

Մանրէների հակաբիոտիկային ակտիվության որոշումը

Գոյություն ունեն մանրէների հակաբիոտիկային հատկությունների հայտնաբերման տարբեր եղանակներ: Դրանց մեծամասնությունը հիմնված է ազարացված սննդամիջավայրերում հակաբիոտիկների դիֆուզվելու և թեստ մանրէների աճի բացակայության գոտիներ առաջացնելու վրա: Աճի բացակայության այդպիսի գոտու մեծությունը ցույց է տալիս տվյալ թեստ մանրէի նկատմամբ հակաբիոտիկի զգայնության աստիճանը: Գոտու մեծությունը կախված է նաև հակաբիոտիկի կոնցենտրացիայից, ինչպես նաև թեստ մանրէի կուլտուրայի խտությունից, ազարացված սննդամիջավայրի կազմից և շերտի հաստությունից, ինկուբացման ջերմաստիճանից, դիֆուզիայի տևողությունից և այլ գործոններից: Որպես թեստ օրգանիզմ կիրառվում են տարբեր մանրէների կուլտուրաներ, սակայն առավել հաճախ՝ *E. coli* (գրամբացասական բակտերիա), *S. aureus* (գրամդրական բակտերիա), *Bacillus subtilis* կամ *B. cereus* (էնդոս-

պոր առաջացնող բակտերիա), *Candida* կամ *Saccharomyces* ցեղի խմորասնկեր: Անհրաժեշտության դեպքում թեստ օրգանիզմների այս հավաքը լրացնում են այլ մանրէներով: Հակաբիոտիկային ակտիվությունը հայտնաբերում են մանրէային կուլտուրայի փոխտոլդահայաց ուղղություններով գծային ցանքով և ագարային գլանակների մեթոդներով:

Փոխտոլդահայաց ուղղություններով գծային ցանքի մեթոդ: Պետրիի թասերում լցված ագարացված սննդամիջավայրի վրա գծային ցանքով ցանում են հակաբիոտիկային նյութի ենթադրվող արտադրիչ մանրէի կուլտուրան: Գծային ցանքը կատարում են Պետրիի թասի տրամագծով: Հակաբիոտիկ արտադրիչ մանրէի ինկուբացման ընթացքը կախված է իր աճի արագությունից: Հակաբիոտիկ արտադրիչ մանրէի աճից և ագարային սննդամիջավայրում դիֆուզվող հակաբիոտիկային նյութի առաջացումից հետո կատարում են թեստ օրգանիզմների գծային ցանք՝ թասի եզրից կենտրոնաձիգ և աճած մանրէային զանգվածին ուղղահայաց ուղղությամբ (նկար 68): Ցանքի համար օգտագործում են թեստ օրգանիզմների նախապես մանրէազերծված ծորակային ջրում պատրաստված



Նկար 68. Հակաբիոտիկային նյութի հայտնաբերումը փոխտոլդահայաց գծային ցանքի մեթոդով:

1. Հակամանրէային նյութ արտադրող մանրէի ցանք, 2. Մանրէի աճ, 3. Մանրէաբանական օղակի մանրէազերծում, 4. 1-ին թեստ օրգանիզմի ցանք փոխտոլդահայաց արտադրիչ մանրէին, 5. Մանրէաբանական օղակի մանրէազերծում, 6. 2-րդ թեստ օրգանիզմի ցանք փոխտոլդահայաց արտադրիչ մանրէին, 7. Մանրէաբանական օղակի մանրէազերծում, 8. 5-րդ թեստ օրգանիզմի ցանքը փոխտոլդահայաց արտադրիչ մանրէին, 9. Մանրէների աճը ինկուբացումից հետո (հակամանրէային նյութի առկայության մասին վկայում են արտադրիչ մանրէի և թեստ օրգանիզմի միջև առաջացած աճի բացակայության գործիները):

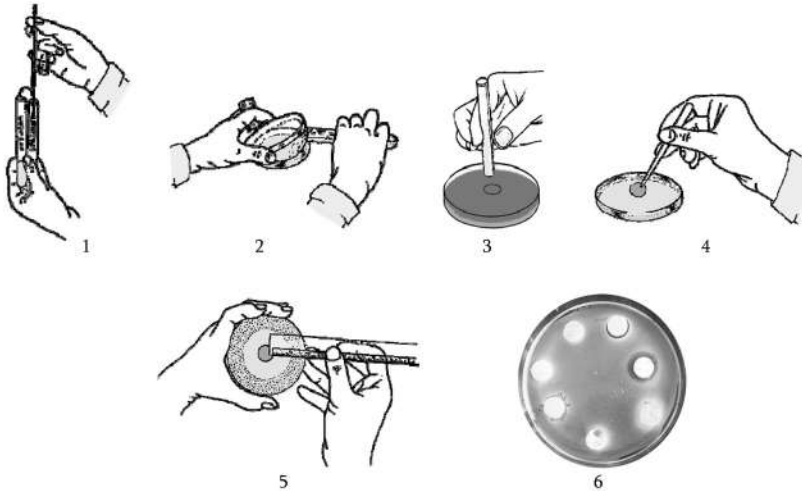
խիտ կախույթները: Ցանքից հետո թասերը ինկուբացնում են ջերմապահարանում 28-30°C-ում 2-8 օր՝ կախված թեստ օրգանիզմների աճի արագությունից: Հակաբիոտիկային նյութի նկատմամբ ոչ զգայուն թեստ օրգանիզմներն աճում են արտադրիչ մանրէի աճած զանգվածին մոտ, իսկ զգայուն թեստ օրգանիզմները՝ արտադրիչ մանրէի աճած զանգվածից հեռու: Ընդ որում, որքան մեծ է աճած հակաբիոտիկ արտադրող մանրէի և զգայուն թեստ օրգանիզմների միջև հեռավորությունը, այնքան թեստ օրգանիզմն ավելի զգայուն է հակաբիոտիկային նյութի նկատմամբ:

Այս մեթոդը, սակայն, ունի էական թերություն: Հակաբիոտիկային նյութի արտադրիչը և թեստ օրգանիզմն աճեցնում են միևնույն սննդամիջավայրի վրա և միևնույն պայմաններում, թեև հայտնի է, որ ոչ միշտ է միևնույն սննդամիջավայրը համանման ձևով բարենպաստ հակաբիոտիկ արտադրող մանրէի և թեստ օրգանիզմների աճի համար:

Ագարային գլանակների մեթոդ: Այս մեթոդը ենթադրում է տարբեր սննդամիջավայրերի օգտագործումը հակաբիոտիկ արտադրիչ մանրէի և թեստ օրգանիզմների աճեցման համար: Ակտինոմիցետների հակաբիոտիկային հատկությունների հայտնաբերման համար ենթադրվող արտադրիչն աճեցվում է հետևյալ բաղադրությամբ սննդամիջավայրի վրա (գ/լ). գլյուկոզ 30, KNO_3 5.5, MgSO_4 0.5, NaCl 1, K_2HPO_4 0.4, ZnSO_4 0.002, FeSO_4 0.002, ագար-ագար 25, թորած ջուր, pH 7.1-7.2: Սննդամիջավայրը մանրէազերծում են ավտոկլավում 0.5 ամս պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում և լցնում մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ:

Սննդամիջավայրի պնդանալուց հետո հակաբիոտիկային նյութի արտադրիչը ցանում են այնպես, որպեսզի ստացվի համատարած աճ՝ գազոն: Դրա համար ակտինոմիցետի սպորները մանրէաբանական ասեղով տեղափոխում են սննդամիջավայրի վրա և մածկաթիակի օգնությամբ տարածում դրա ամբողջ մակերեսով, ապա ինկուբացնում 28-30°C ջերմաստիճաններում 8-10 օրվա ընթացքում: Այնուհետև մանրէազերծված հատուկ դակիչով (տրամագիծը 6-8 մմ) ակտինոմիցետի գազոնից կտրում են ագարային գլանակ և տեղափոխում նախապես թեստ օրգանիզմով աճեցված ագարացված սննդամիջավայրի, օրինակ՝ ՄՊԱ-ի մակերեսին (նկար 69): Ագարային գլանակները աճած զանգվածով դեպի վեր տեղադրում են միսյանցից հավասար և թասի եզրերից 1.5-2 սմ հեռավորության վրա և ամուր սեղմում են ագարացված սննդամիջավայրին: Թեստ

օրգանիզմով ցանված սննդամիջավայրի հաստության մեջ հակաբիոտիկային նյութերի առավել լավ դիֆուզման համար գլանակները կարելի է տեղադրել մույն դակիչով մախապես պատրաստված փոսիկների մեջ: Մինևույն Պետրիի թասում կարելի է տեղադրել 4-5 հակաբիոտիկների տարբեր արտադրիչներով ազարային գլանակներ (նկար 69.6):



Նկար 69. Հակաբիոտիկական նյութի հայտնաբերումն ազարային գլանակների մեթոդով:

1. Թեստ օրգանիզմի ցանք ազարային հալեցված սննդամիջավայրում, 2. Թեստ օրգանիզմ պարունակող սննդամիջավայրի ավելացումը թասերում, 3. Մանրէների կուլտուրայով պինդ սննդամիջավայրից դակիչով գլանակի դակում, 4. Գլանակի տեղադրումը թեստ օրգանիզմով պինդ ազարային սննդամիջավայրի մակերեսին, 5. Մանրէի աճից հետո առաջացած աճի բացակայության գույր ու մեծության (մմ Ø) գրանցում, 6. Տարբեր մանրէների ազարային գլանակների ազդեցությամբ առաջացած աճի բացակայության գույրիներ:

Սննդամիջավայրում հակաբիոտիկային նյութերի դիֆուզիայի համար թասերը պահում են 1 ժամ սենյակային ջերմաստիճանում, այնուհետև տեղադրում ջերմապահարան՝ թեստ օրգանիզմի զարգացման համար բարենպաստ ջերմաստիճանում և ինկուբացնում՝ կախված դրա աճի արագությունից: Եթե թեստ օրգանիզմը զգայուն է արտադրիչի հակաբիոտիկային նյութի նկատմամբ, ապա ինկուբացումից հետո ազարային գլանակների կամ փոսիկների շուրջ առաջանում են դրա աճի բացակայության գոտիներ: Որքան շատ է

արտադրվում հակաբիոտիկը և որքան այն ակտիվ է, այնքան ավելի մեծ կլինի թեստ օրգանիզմի աճի բացակայության գոտու տրամագիծը: Թեստ օրգանիզմը, որը զգայուն չէ տվյալ արտադրիչի հակաբիոտիկային նյութի նկատմամբ, աճում է սննդամիջավայրի ամբողջ մակերեսով:

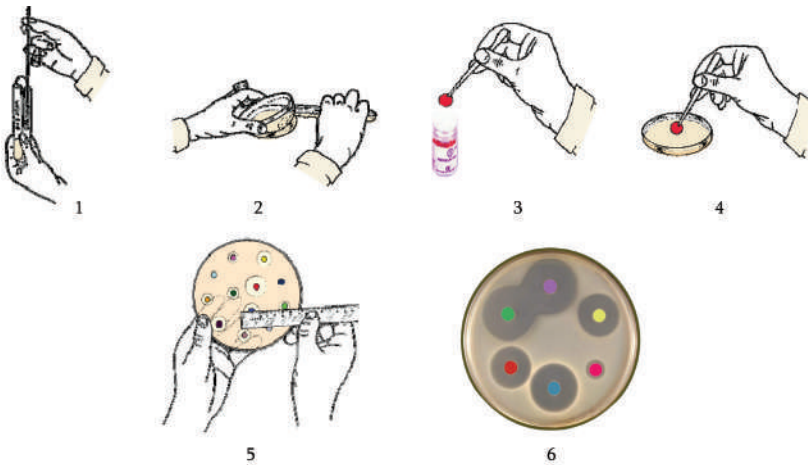
Հակաբիոտիկային նյութերի նկատմամբ մանրէների զգայունության որոշումը

Հակաբիոտիկների նկատմամբ մանրէների զգայունությունը հարմար է որոշել որոշակի հակաբիոտիկներով ներծծված պատրաստի թղթե սկավառակների օգնությամբ: Սովորաբար այդպիսի սկավառակներում հակաբիոտիկների կոնցենտրացիան ընտրվում է այն հաշվարկով, որպեսզի թեստ օրգանիզմների աճի ճնշման գոտիների տրամագիծը լինեն 28-32 մմ:

Հետազոտվող մանրէներն աճեցնում են համապատասխան ագարացված սննդամիջավայրերի վրա: Մանրէազերծված ծորակի ջրում պատրաստում են բջիջների համասեռ կախույթ. 1 մլ կախույթում պետք է պարունակվեն շուրջ 2 մլրդ բջիջներ (որոշում են պոտորության աստիճանով): Կախույթից 1 մլ ավելացնում են 20 մլ մանրէազերծված և մինչև 50°C պաղեցված ագարացված սննդամիջավայրին, օրինակ՝ սրվակի մեջ լցված ՄՊԱ-ին: Սրվակի պարունակությունը լավ խառնում են և անմիջապես լցնում մանրէազերծված Պետրիի թասի մեջ: Երբ սննդամիջավայրը պնդանում է, դրա մակերեսին տեղադրում են հակաբիոտիկներով ներծծված պատրաստի թղթե սկավառակները միմյանցից հավասար և թասի եզրերից 1.5-2 սմ հեռավորությամբ: Թասը պահում են 2 ժամ սենյակային ջերմաստիճանում հակաբիոտիկների առավել լավ դիֆուզիայի համար, ապա ինկուբացնում 24 ժ 28-30°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Եթե հետազոտվող մանրէները զգայուն են տվյալ հակաբիոտիկների նկատմամբ, ապա սկավառակների շուրջ նկատվում են այդ մանրէների աճի բացակայության գոտիներ: Գոտու տրամագիծը չափում են միլիմետրերով: Ավելի քան 30 մմ տրամագծով գոտին վկայում է հակաբիոտիկի նկատմամբ մանրէների բարձր զգայունության, իսկ 12 մմ-ից փոքր տրամագծով գոտին՝ թույլ զգայունության մասին (նկար 70):

Հակաբիոտիկային նյութերի լուծույթների կամ հակաբիոտիկներ

արտադրող մանրէային կախույթների առկայության դեպքում կիրառվում է ագարային փոսիկների մեթոդը: Այդ դեպքում փորձարկվող մանրէներով աճեցված ագարացված սննդամիջավայրում մանրէազերծված դակիչով (տրամագիծը 6-8 մմ) քասի եզրերից 1.5-2 սմ հեռավորության վրա դակում են փոսիկներ: Յուրաքանչյուր փոսիկի մեջ լցնում են հակաբիոտիկների լուծույթներ կամ մանրէային կախույթ: Այս մեթոդը բույլ է տալիս մասն հայտնաբերել հեղուկ սննդամիջավայրում աճեցված մանրէների հակաբիոտիկային նյութեր առաջացնելու ունակությունը:



Նկար 70. Հակաբիոտիկների նկատմամբ մանրէների զգայունության որոշումը տարբեր հակաբիոտիկներով ներծծված թղթե սկավառակների օգնությամբ:

1. Թեստ օրգանիզմի ցանք ագարային հալեցված սննդամիջավայրում, 2. Թեստ օրգանիզմ պարունակող սննդամիջավայրի լցնում քասերում, 3. Մանրէազերծված ունեղիով հակաբիոտիկով ներծծված թղթե սկավառակի տեղափոխում անոթից, 4. Հակաբիոտիկային սկավառակի տեղադրում թեստ օրգանիզմով ինոկուլացված սննդամիջավայրի մակերեսին, 5. Մանրէի աճից հետո առաջացած աճի բացակայության գոտիների մեծության (մմ Ø) գրանցում, 6. Տարբեր հակաբիոտիկային սկավառակների ազդեցությամբ առաջացած աճի բացակայության ճնշման գոտիները (տարբեր հակաբիոտիկային սկավառակներ ունեն տարբեր զուսակություն):

ԳԼՈՒԽ 8 ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՊԱՀՊԱՆՈՒՄԸ

Մանրէների հետ արդյունավետ աշխատանքի անհրաժեշտ պայման է դրանց ճիշտ պահպանումը: Տարբեր կարգաբանական խմբերի պատկանող մանրէներ, և նույնիսկ մեկ տեսակի տարբեր շտամներ և տարբերակներ (վարեր) տարբերվում են պահպանման եղանակի նկատմամբ իրենց զգայունությամբ: Այդ պատճառով, համընդհանուր մեթոդ, որը հնարավոր է կիրառել մանրէների բազմաքանակ և տարաբնույթ խմբերի պահպանման համար, դեռևս գոյություն չունի: Խոշոր հավաքածուներում մանրէների տարբեր խմբերը պահպանվում են տարբեր մեթոդներով: Բացի այդ, մանրէների հնարավոր կորուստը բացառելու համար յուրաքանչյուր շտամ պահպանվում է ոչ քե մեկ, այլ մի քանի մեթոդներով:

Պահպանման ընթացքում մանրէների պոպուլյացիայի հետեւող գեոնությամբ պայմանավորված փոփոխականության արդյունքում փոփոխվում են դրանց ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական առանձնահատկությունները: Պահպանման գործընթացում, ինչպես մանրէների կուլտիվացման ընթացքում, կարող է տեղի ունենալ դիստրոֆ, այսինքն՝ բակտերիաների միատարր պոպուլյացիայի ճեղքավորում միմյանցից գենետիկական, ֆիզիոլոգիական, կենսաքիմիական և ձևաբանական հատկություններով տարբերվող տարբերկաների: Այդ պատճառով որոշ դեպքերում նպատակահարմար է ընտրել տվյալ տարբերակի պահպանման համար օպտիմալ պայմաններ, օրինակ՝ այն տարբերակի համար, որն օժտված է առավելագույն կենսասինթետիկ ակտիվությամբ:

Մանրէների պահպանման առավել տարածված մեթոդների թվին են պատկանում պարբերական փոխացանքերը թարմ սննդամիջավայրերում, կուլտուրայի պահպանումը սննդամիջավայրում վազելինային յուղի շերտի տակ, բջիջների պահպանումը լիոֆիլացված վիճակում: Մանրէները կարելի է պահպանել ցածր կամ գերցածր ջերմաստիճաններում, թորած ջրում կամ նատրիումի քլորիդի 1% լուծույթում, ինչպես նաև՝ մակակլանիչների վրա՝ չորացված վիճակում: Պահպանման մեթոդի ընտրությունը կախված է այն նպատակից, որի համար կիրառվում են մանրէները, ինչպես նաև՝ առկա տեխնիկական հնարավորություններից:

Մանրէների պահպանումը սննդամիջավայրում պարբերական փոխացանքերով

Այս մեթոդը լաբորատոր պայմաններում մանրէների երկարատև պահպանման սկզբնական մեթոդներից մեկն է և մինչ այժմ լայնորեն կիրառվում է մանրէաբանական աշխատանքներում: Աերոբ մանրէների փոխացանքը առավել հաճախ կատարվում է շեղակի մակերեսին, միկրոտերոֆիլ մանրէների փոխացանքը՝ 0.2-0.3% ազար-ազար պարունակող կիսահեղուկ սննդամիջավայրերում, անաերոբ մանրէների փոխացանքը՝ պինդ սննդամիջավայրերում խոլքային ցանքով կամ հեղուկ սննդամիջավայրերում՝ հետևելով Ռ. Հանգեյթի տեխնիկայի սկզբունքներին: Կուլտուրաների փոխացանքը կատարում են քարմ սննդամիջավայրում 2 կրկնօրինակով: Հետագայում դրանցից մեկը օգտագործում են աշխատանքի համար, իսկ երկրորդը՝ պահպանում:

Թարմ սննդամիջավայրերում տարբեր մանրէների փոխացանքի հաճախականությունը տարբեր է և հիմնականում որոշվում է դրանց հատկություններով: Բազմաթիվ մանրէների փոխացանքը կարելի է կատարել 1-2 ամիս պարբերությամբ, չնայած այլ մանրէներ, օրինակ՝ կաթնաթթվային բակտերիաները, ավելի հաճախակի փոխացանքերի կարիք ունեն: Որոշ մանրէների փոխացանքի թույլատրելի ժամկետները ներկայացված են աղյուսակ 9-ում: Կուլտուրաների պահպանումը սառնարանում 4-6°C ջերմաստիճանային պայմաններում թույլ է տալիս երկարաձգել փոխացանքերի միջև ժամանակահատվածը:

Աղյուսակ 9.

Որոշ հեյրերոբոֆ մանրէների պահպանման պայմանները և դրանց պարբերական փոխացանքերի թույլատրելի ժամկետները

Մանրէ	Սննդամիջավայր	Պահպանման ջերմաստիճանը, °C	Փոխացանքերի թիվը տարվա ընթացքում
<i>Acetobacter aceti</i> <i>A. xylinum</i>	6°C քաղցու+6% էթանոլ	18-20	12
<i>Azotobacter chroococcum</i> <i>A. vinelandii</i>	Էշբիի ազարային սննդամիջավայր	18-20	6
<i>B. cereus</i> <i>B. polymyxa</i> <i>B. subtilis</i>	Կարտոֆիլային	18-20	4

Մանրէ	Սննդամիջավայր	Պահպանման ջերմաստիճանը, °C	Փոխացանքերի թիվը տարվա ընթացքում
<i>Caulobacter</i> sp.	ՄՊԱ շաքարասնկային լուծանգվածքով	4-6	2-3
<i>Citrobacter freundii</i> <i>E. coli</i>	ՄՊԱ ՄՊԱ Մսապեպտոնային արգանակ + 0.2% ագար-ագար	18-20 18-20 18-20	6 12 6-8
<i>Lactobacillus casei</i>	Յուղազրկված կաթ	18-20	18-20
<i>L. delbrueckii</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	8-10°C քաղցու+կավիճ	18-20	18-20
<i>Micrococcus luteus</i> <i>M. varians</i>	ՄՊԱ	18-20	6
<i>Mycobacterium flavescens</i> <i>M. fortuitum</i> <i>M. phlei</i> <i>M. smegmatis</i> <i>Nocardia</i> sp.	ՄՊԱ + 3°C քաղցու (1:1)	18-20 4-6 18-20	3-4 2-3 3-4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i>	ՄՊԱ	18-20	6-8
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Եգիպտացորենի լուծանգվածքով կամ լակտատով սննդամիջավայրեր	4-6	4-5
<i>Proteus vulgaris</i> <i>P. mirabilis</i>	ՄՊԱ	18-20	9
<i>S. aureus</i>	ՄՊԱ	18-20	6
<i>Streptomyces anulatus</i> var. <i>griseus</i> <i>S. lavendulae</i>	Չապեկի ագարային սննդամիջավայր Վարսակային ագար	18-20	4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Candida guilliermondii</i> <i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Schizosaccharomyces pombe</i> <i>Saccharomycodes ludwigii</i>	4-5°C ածիկային քաղցու ագար	18-20	4-5 6 6 6 4-5

Մանրէների կուլտուրաների պահպանումը մշտական փոխացանքերով ունի մի շարք էական թերություններ: Դրանցից հիմնականը որոշ ձևաբանական և ֆիզիոլոգիական հատկանիշների հնարավոր կորուստն է: Բացի այդ, հաճախակի փոխացանքերն ազդում են կուլտուրաների կենսաքիմիական ակտիվության վրա, մեծացնում կոնտամինացման վտանգը: Հեղուկ սննդամիջավայրերում հաճախակի փոխացանքերի դեպքում մեծ է ինքնաբուխ (սպոնտան) մուտանտների առաջացման և դրանց սելեկցիայի հավանականությունը:

Մանրէների պահպանումը հանքային յուղում

Հանքային յուղի տակ պահպանման եղանակը լայնորեն կիրառվում է բակտերիաների և մանրատիտակային սնկերի պահպանման համար: Այս մեթոդն ապահովում է կենսունակության և տարբեր կարգաբանական խմբերի մանրէների տաքսոնոմիական ու այլ հատկանիշների կայունության բավական երկարատև պահպանում: Յուղը կանխում է սննդամիջավայրի չորացումը, դանդաղեցնում նյութափոխանակության գործընթացները և թույլ է տալիս երկարաժամկետ փոխացանքների միջև ժամանակահատվածը:

Մանրէներն աճեցնում են համապատասխան ազարային սննդամիջավայրերի վրա. աերոբ մանրէները՝ շեղակների (45° անկյան տակ) մակերեսին, միկրոաերոֆիլ և ֆակուլտատիվ անաերոբ մանրէները՝ կիսահեղուկ սննդամիջավայրերում, անաերոբ մանրէները՝ սննդամիջավայրի խորքում: Լավ աճ դրսևորած կուլտուրաները ծածկում են յուղով: Որպես կանոն, սպոր չառաջացնող բակտերիաների կուլտուրաները ծածկում են ցանքից 2-7 օր հետո՝ կախված մանրէի աճի առանձնահատկություններից, իսկ սպոր առաջացնող մանրէների, օրինակ՝ բացիլների ու ակտինոմիցետների կուլտուրաները՝ սպորառաջացման փուլում: Շաքարասնկերին խորհուրդ է տրվում յուղով ծածկել 4-10, միցելիում առաջացնող սնկերին՝ 7-12 օր հետո: Մանրէների կուլտուրաների պահպանման համար հաճախ կիրառվում է մաքրության բարձր աստիճանով 0.8-0.9 խտությամբ վազելինային յուղը: Կուլտուրաները ծածկում են նախապես մանրէազերծված յուղով այնպես, որ յուղի շերտը սննդամիջավայրի մակերեսից (շեղակի դեպքում վերին ծայրը) չգերազանցի 1 սմ-ը, և պահպանում են սենյակային ջերմաստիճանում կամ սառնարանում՝ $4-6^{\circ}\text{C}$ ջերմաստիճանային պայմաններում:

Ցանքի համար բջիջները վերցնում են մանրէաբանական օդակով, ապա յուղի ավելցուկը հեռացնելու համար այն զգուշությամբ հպում են սրվակի պատերին և փոխադրում թարմ սննդամիջավայր: Խորհուրդ է տրվում օգտագործել նույն կազմով սննդամիջավայր, որում պահպանվել է կուլտուրան: Շատ մանրէներ յուղի տակ պահելուց հետո առաջին փոխացանքում դանդաղ են աճում, սակայն հաջորդող փոխացանքների դեպքում դրանց աճի արագությունը վերականգնվում է:

Վազելինային յուղի տակ մանրէների պահպանման մեթոդը պարզ է, հարմար, կարող է օգտագործվել ցանկացած լաբորատորիայում: Այս մեթոդի թերություններից է կոնտամինացման վտանգը, ինչպես նաև օգտագործվող ամանեղենը յուղից հատուկ միջոցներով մաքրելու անհրաժեշտությունը:

Մանրէների պահպանումը լիոֆիլացմամբ

Լիոֆիլացված բջիջների պահպանումը մանրէների երկարատև պահպանման լայն տարածված մեթոդ է: Լիոֆիլացում են անվանում սառեցված բջիջների վակուումում չորացման գործընթացը վակուումում: Լիոֆիլացված բջիջները պահպանում են սրվակներում, որոնք զրոյված են վակուումում, կամ մանրէազերծված գազի (առավել հաճախ ազոտի) շիթում: Այս մեթոդի կիրառումը թույլ է տալիս 10-20 և



Նկար 71. Արտադրական (աջից) և լաբորատոր (ձախից) լիոֆիլատորներ:

ավելի տարիներ առանց նկատելի փոփոխությունների պահպանել բջիջների կենսունակությունը, ձևաբանական, կուլտուրային, ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունները: Լիոֆիլացումն իրականացնում են հատուկ սարքավորումներում՝ լիոֆիլատորներում (նկար 71):

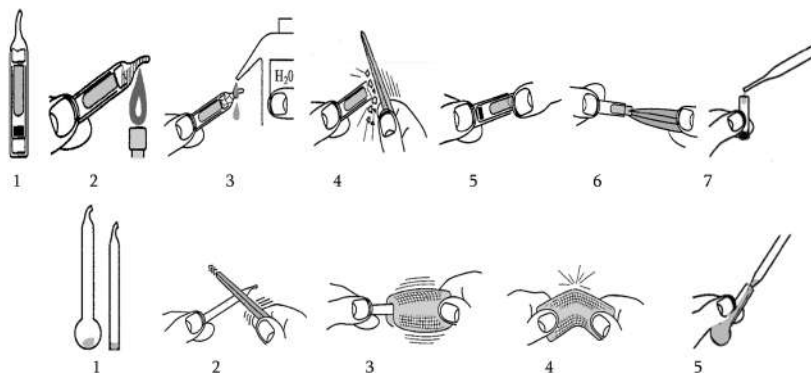
Լիոֆիլացվող մանրէները նախապես աճեցնում են օպտիմալ պայմաններում մինչև աճի ստացիոնար փուլի սկսվելը կամ հանգրստացող ձևերի ձևավորման ավարտը: Այնուհետև հատուկ հեղուկներում, որոնք կոչվում են պաշտպանիչ սննդամիջավայրեր, ստանում են այդ բջիջների կամ հանգստացող ձևերի կախույթը: Պաշտպանիչ սննդամիջավայրերի կազմի մեջ մտնում են տարբեր նյութեր, որոնք պաշտպանում են բջիջները վնասումներից սառեցման և չորացման ընթացքում:

Ստորև ներկայացված են որոշ պաշտպանիչ սննդամիջավայրերի բաղադրատոմսերը, որոնք օգտագործվում են տարբեր մանրէների բջիջների լիոֆիլացման ընթացքում.

- ժելատին 1 գ, սախարոզ 10 գ, թորած ջուր 100 մլ,
- յուղազրկված կաթ 100 մլ, գլյուկոզ 7 գ,
- յուղազրկված կաթ 100 մլ, NH_4Cl 0.5 գ, ասկորբինաթթու 0.5 գ, թիոմիզանյութ 0.5 գ,
- ձիու շիճուկ 75 մլ, մսային արգանակ 25 մլ, գլյուկոզ 7.5 գ:

Արդյունավետ լիոֆիլացման համար մանրէների կոնցենտրացիան պաշտպանիչ սննդամիջավայրում պետք է լինի որքան հնարավոր է բարձր՝ 10^9 - 10^{10} բջիջ 1 մլ-ում: Ստացված կախույթը լցնում են չեզոք ապակուց պատրաստված սրվակների մեջ՝ 0.5-1-ական մլ, սառեցնում են -20 -ից մինչև -70°C ջերմաստիճանում, այնուհետև չորացնում են և գոդում վակուումում: Լիոֆիլացված բջիջների մնացորդային խոնավությունը տատանվում է 1 -ից մինչև 6% և որոշվում է պաշտպանիչ սննդամիջավայրի կազմով և չորացման պայմաններով: Տարբեր լաբորատորիաներում սառեցման և չորացման պայմանները նկատելիորեն տատանվում են և կախված են առկա սարքավորումներից: Լիոֆիլացված բջիջներով սրվակները խորհուրդ է տրվում պահպանել մթության մեջ 4 - 6°C ջերմաստիճանում: Ավելի բարձր, հատկապես՝ 25 - 30°C -ից բարձր ջերմաստիճաններում, պահպանումը զգալիորեն իջեցնում է բջիջների կենսունակությունը:

Վերաակտիվացման համար լիոֆիլացված բջիջներին կաթիլ առ կաթիլ ավելացնում են (0.5 - 1 մլ) մանրէազերծված թորած կամ ծորակային ջուր (նկար 72), ապա ռեհիդրատացումից հետո (10 րոպեից



Նկար 72. Լիոֆիլացված բջիջներով երկխցիկանի (1-6) և միախցիկանի (1-4) սրվակների բացման հաջորդականությունը և սրվակում սննդամիջավայրի ավելացումը (7 և 5 համապատասխանաբար):

մինչև 2 ժամ) բջիջները ցանում են հարուստ սննդամիջավայրերում:

Լիոֆիլացումը լայնորեն կիրառում են տարբեր մանրէների երկարատև պահպանման համար: Այնուամենայնիվ, այս մեթոդը չի կարելի համընդհանուր համարել: Հարկ է նշել, որ լիոֆիլացմանն ավելի կայուն են գրամդրական, քան գրամբացասական բակտերիաները: Լիոֆիլացմամբ վատ են պահպանվում ֆոտոտրոֆ և քենոլիթոտրոֆ բակտերիաները, միկոպլազմաները, բազմաթիվ օրլիզատ անաերոբ մանրէները: Սպորների կենսունակությունը լիոֆիլացումից հետո զգալիորեն բարձր է, քան վեգետատիվ բջիջներինը: *Pichia* և *Lipomyces* ցեղերի շաքարասնկերի փոքր բջիջները և ասկոսպորները լիոֆիլացմանն ավելի լավ են դիմանում, քան *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Rhodotorula* ցեղերի շաքարասնկերի խոշոր բջիջները և ասկոսպորները:

Մանրէների պահպանումը ցածր և գերցածր ջերմաստիճաններում

Մանրէների պահպանումը սառեցված վիճակում ցածր և գերցածր ջերմաստիճաններում այլ մեթոդների համեմատ բնորոշվում է առավել համընդհանրությամբ: Սակայն այս մեթոդը պահանջում է հատուկ սարքավորումներ և մեծ զգուշություն հեղուկ ազոտի հետ աշխատանքի ընթացքում, այդ իսկ պատճառով, կիրառվում է միայն

այն մանրէների պահպանման համար, որոնք չեն դիմանում լիոֆիլացմանը:

Բջջիները սառեցնում են ջերմաստիճանի լայն տիրույթում (-10 -ից մինչև -196°C) և սառեցման տարբեր արագություններով: Ցածր ջերմաստիճանի վնասակար ազդեցությունից պաշտպանելու նպատակով նախապես բջջիներին ավելացնում են սառցապաշտպանիչ (կրիոպրոտեկտոր) լուծույթներ: Առավել հաճախ կիրառվող սառցապաշտպանիչներ են 10 - 20% գլիցերինի լուծույթը, 7 - 10% դիմեթիլսուլֆօբսիդի լուծույթը կամ 20% սախարոզի լուծույթը: Բարձր կոնցենտրացիայով (10^9 - 10^{10} բջիջ 1 մլ-ում) բջջային կախույթը լցնում են սրվակների մեջ, դրանք զոդում և տեղադրում են -70°C ջերմաստիճանով սառնարան (սառեցման արագությունը՝ $1^{\circ}\text{C}/\text{վ}$), այնուհետև տեղափոխում են հեղուկ ազոտի մեջ, որում և պահպանում են -196°C -ում: Սառեցված բջիջների հալեցումը պետք է իրականացնել որքան հնարավոր է արագ: Դրա համար սրվակները ընկղմում են 35 - 45°C ջերմաստիճանով ջրային բաղնիք և ինկուբացնում 2 ժամ, որից հետո ցանում են հարուստ սննդամիջավայրերում:

-20 -ից մինչև -40°C ջերմաստիճանային պայմաններում պահպանելիս կենսունակ են մնում քիչ թվով մանրէներ: Առավել արդյունավետ է պահպանումը պինդ ածխաթթվում (-70°C) և հատկապես գերցածր ջերմաստիճանային պայմաններում, օրինակ՝ հեղուկ ազոտում (-196°C -ում), կամ հեղուկ ազոտի գազային փուլում (-210°C):

Մանրէների պահպանումը գլիցերոլում

Մանրէների պահպանման ամենահարմար մեթոդներից մեկը դրանց պահպանումն է ցածր ջերմաստիճաններում (-20°C) գլիցերոլի լուծույթում, որը ծառայում է որպես սառցապաշտպանիչ: Այս մեթոդը լայն տարածված է, սակայն ոչ բոլոր մանրէներն են դիմանում այդպիսի մշակմանը: Մանրէների պահպանման այս մեթոդն առավել լայն կիրառվում է սպորների կախույթների պահպանման համար:

Մանրէների պահպանումը թորած ջրում կամ մատրիումի քլորիդի 1% լուծույթում

Այս մեթոդը չի պահանջում հատուկ սարքավորումներ և հասանելի է ցանկացած փորձարարին:

Մանրէները նախապես աճեցնում են համապատասխան սննդամիջավայրերում օպտիմալ պայմաններում, անհրաժեշտության դեպքում կենտրոնախուսում են, որից հետո ստանում են թորած ջրում կամ 1% NaCl-ի լուծույթում այդ բջիջների կախույթը: Բջիջների արդյունավետ պահպանմանը նպաստում է կախույթում բջիջների բարձր կոնցենտրացիան: Այն չպետք է 10^8 - 10^9 բջիջ/մլ քիչ լինի:

Կախույթը լցնում են մանրէազերծված անոթների կամ սրվակների մեջ և պահպանում են սառնարանում կամ սենյակային ջերմաստիճանում: Խորհուրդ է տրվում պահպանման համար վերցնել աճի վաղ ստացիոնար փուլի բջիջներ կամ արդեն ձևավորված հանգրստացող ձևեր՝ սպորներ կամ ցիստեր:

Այս մեթոդով որոշ մանրէների պահպանման թույլատրելի ժամկետները սառնարանում $4-6^{\circ}\text{C}$ -ի պայմաններում ներկայացված են աղյուսակ 10-ում:

Աղյուսակ 10.

Մանրէների պահպանման թույլատրելի ժամկետները (ամիս) սառնարանային պայմաններում ($4-6^{\circ}\text{C}$) թորած ջրում և 1% NaCl-ի լուծույթում

Մանրէ	Թորած ջուր	1% NaCl-ի լուծույթ
<i>Arthrobacter globiformis</i>	6	6
<i>E. coli</i>	12	12
<i>Gluconobacter oxydans</i>	12	6
<i>B. subtilis</i>	12	12
<i>M. varians</i>	12	12
<i>P. aeruginosa</i>	6	6
<i>M. luteus</i>	6	6
<i>S. marcescens</i>	12	12

Մանրէների պահպանումը մակակառնիչների վրա

Այս մեթոդը կիրառում են հիմնականում ակտինոմիցետների, մանրադիտակային սնկերի և սպոր առաջացնող անաերոբ բակտերիաների պահպանման համար: Որպես մակակառնիչ օգտագործում են հողը, կվարցի ավազը, սիլիկահողը, բամբակը, ֆիլտրի թուղթը:

Այս եղանակը չունի մշակված տեխնիկա: Ըստ այդ մեթոդի մանրէագերծված մակակլանիչը խառնում են բջիջների խիտ կախույթի հետ և չորացնում վակուումում կամ սենյակային ջերմաստիճանում: Ըստ որոշ տվյալների ակտիվումիցետները հողում կամ կվարցի ավազում պահպանելիս վերականգնում են որոշ կարգաբանական հատկանիշներ (օդային և սուբստրատային միցելիումի գոնավորումը), որոնք անհետացել էին լաբորատորիայում երկարատև աճեցման գործընթացում:

Մանրէների կենսունակության գնահատումը երկարատև պահպանումից հետո

Պահպանման տարբեր ժամկետներից հետո մանրէների կենսունակությունը որոշում են հարուստ սննդամիջավայրերում դրանց ցանքով: Եթե ցանքը կատարվում է ագարացված սննդամիջավայրի վրա, ապա հաշվարկում են առաջացած գաղութները: Մանրէների դիմացկունության տոկոսը գտնում են կենսունակ բջիջների սկզբնական թվին (մինչև պահպանման սկիզբը) պահպանված բջիջների թվի հարաբերությամբ, որն ընդունվում է 100%:

ՄԱՍ ԵՐԿՐՈՐԴ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐ

Թեմա 1

Մանրէների ուսումնասիրության մանրադիտակային մեթոդներ

Աշխատանք 1

**Մանրադիտակներ, լուսային մանրադիտակի կառուցվածքը:
Մանրէների կենդանի պատրաստուկներ**

Քովանդակություն: Մանրէաբանական լաբորատորիայում աշխատելու կանոնները, լաբորատոր սարքավորումների և աշխատատեղի նախապատրաստումը: Մանրէային կուլտուրաների հետ աշխատելու կանոնները (տե՛ս գլուխ 2): Լուսային մանրադիտակի կառուցվածքը, աշխատանքի սկզբունքը և խնամքը: Մանրադիտակում փուլացայտերանգային հարմարանքի կիրառմամբ: Մանրէների կենդանի պատրաստուկների պատրաստումը և մանրադիտակումը (տե՛ս գլուխ 5):

Առաջադրանք 1

Ծանոթացում լուսային մանրադիտակի կառուցվածքին: Տիղմի կենդանի պատրաստուկի պատրաստում ճգնված կաթիլի մեթոդով:

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: Լուսային մանրադիտակ, մանրէաբանական օղակ, սպիրտայրոց, առարկայական ապակիներ, ծածկապակիներ, ունեյի, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի մեկ կաթիլ, ապա, կաթիլին տիղմի մի փոքր զանգված ավելացնելով՝ ստանալ կախույթ, ծածկել ծածկապակիով ինչպես ցույց է տրված նկար 31-ում (տե՛ս գլուխ 5): Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը լուսային մանրադիտակով չոր համակարգի 40 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվով: Համեմատել պատրաստուկում տարբեր էուկարիոտային և պրոկարիոտային մանրէների ձևերը և չափսերը (նկար 73), նկարել գրանցամատյանում, աշխա-

տանքն ավարտելուց հետո մանրադիտակը ծածկել պոլիէթիլենային պարկով և մաքրել աշխատանքային տարածքը, լվանալ առարկայական ապակիները:



Նկար 73. Տիւնի մանրադիտակային պատկերը (400×):

Առաջադրանք 2

Spirulina platensis մանրէի կենդանի պատրաստուկի պատրաստում ճզմված կաթիլի մեթոդով:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Cyanobacteria

Դաս Chroobacteria

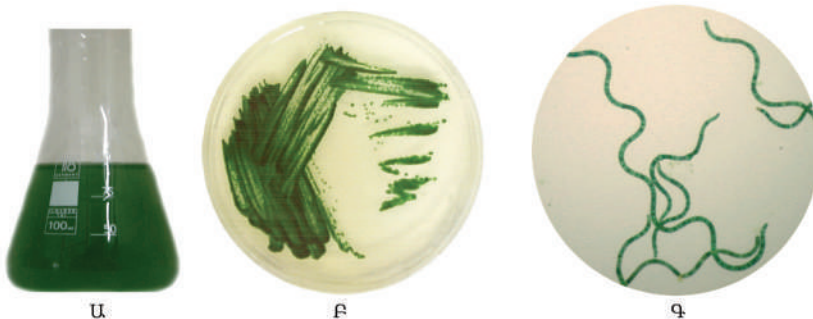
Կարգ Oscillatoriales

Ընտանիք Phormidiaceae

Ցեղ *Spirulina*

Տեսակ *S. platensis*

Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են կլոր, հարթ եզրերով և մակերեսով գաղութներ (նկար 74 Բ): Թելանման օրգանիզմներ են, բաժանվում են միայն մեկ հարթությունում երկակի կիսմամբ: Թելիկի լայնությունը տատանվում է 1-5 մկմ սահմաններում, երկարությունը 12 մկմ է (նկար 74 Գ): Ֆոտոլիթոսվտոտրոֆ են: Շնորհիվ նիտրոգենազ ֆերմենտի անաերոբ պայմաններում ունակ են դիագոտրոֆ սննդառության:



Նկար 74. *S. platensis*-ի կուտակիչ կուլտուրան հեղուկ սննդամիջավայրում (Ա), գաղութների պատկերը ագարացված հանքային սննդամիջավայրի մակերեսին (Բ), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (400×) (Գ):

Հանդիպում են քաղցրահամ, ծովային և աղի ջրերում, որոշ տեսակներ հանդիպում են աղի լճերում և որոշ տաք աղբյուրներում, որոնց ջերմաստիճանը 50°C է: Կայուն են սուլֆիդի նկատմամբ:

Որոշ տեսակներ ունեն սննդային նշանակություն (օգտագործվում են որպես սպիտակուցի աղբյուր):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *S. platensis* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ և ծածկապակիներ, մանրէագերծված պիպետներ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, ծածկել ծածկապակիով ինչպես ցույց է տրված նկար 31-ում (տե՛ս գլուխ 5): Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը լուսային մանրադիտակմամբ չոր համակարգի 40 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվով: Նկարել գրանցամատյանում, առարկայական ապակիները և ծածկապակիները լվանալ:

Առաջադրանք 3

Azotobacter chroococcum մանրէի ճգնված կաթիլի մեթոդով պատրաստված պատրաստուկի մանրադիտակումը լուսային մանրադիտակով փուլացայտերանգային հարմարանքի օգնությամբ:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Proteobacteria

Դաս Gammaproteobacteria

Կարգ Pseudomonadales

Ընտանիք Azotobacteraceae

Ցեղ *Azotobacter*

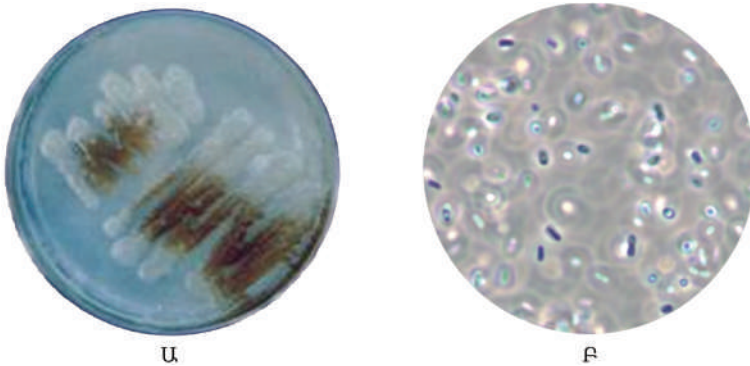
Տեսակ *A. chroococcum*

Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են խոշոր լորձային, երբեմն՝ կնճռոտված գաղութներ: Ծերանալիս գաղութները դառնում են նախ վարդագույն, ապա դարչնականաչավուն կամ գորշ գույնի: Գաղութի գունավորումը ունի կարգաբանական նշանակություն (նկար 74 Ա):

Գրամբացասական, խոշոր՝ 1.5-2 մկմ տրամագծով, պլեոմորֆ բջիջներ են (նկար 75 Բ): Պատրաստուկում դասավորվում են մեկական, գույգերով, շղթաներով կամ անկանոն կույտերով: Էնդոսպոր չեն առաջացնում, սակայն անբարենպաստ պայմաններում կարող են առաջացնել ցիստեր: Ծերանալիս շրջապատվում են հաստ լորձային պատիճով: Բջիջները կամ անշարժ են, կամ շարժուն շնորհիվ պերիտրիխ դասավորված մտրակների:

Աերոբ կամ միկրոաերոֆիլ (աճում են թթվածնի ցածր պարցիալ ճնշման պայմաններում) են, սինթեզում են կատալազ: Սինթեզում են ջրալույծ կամ ջրում չլուծվող գունանյութեր: Քեմոօրգանահետերոտրոֆ են, յուրացնում են շաքարներ, սպիրտներ և օրգանական թթուներ: Սպիտակուցները չեն հիդրոլիզում: Որպես ազոտի աղբյուր օգտագործում են ազոտի ինչպես անօրգանական, այնպես էլ օրգանական միացությունները: Ազոտի աղբյուրների բացակայության պայմաններում ունակ են յուրացնելու մթնոլորտային ազոտը: Այս մանրէներն ազատ ապրող դիագոտրոֆներ են, այսինքն՝ իրականացնում են մթնոլորտային ազոտի ֆիքսում: Ազոտի ֆիքսումը կատալիզվում է նիտրոգենազ ֆերմենտով, որը պարունակում է մոլիբդեն և վանադիում: Աճում են 4.8-8.5 pH-ի տիրույթում: Մթնոլորտային ազոտի ֆիքսման և աճի օպտիմալ pH-ը 7-7.5 է: Մեկուսացվում են հողերից և ջրամաբարային ջրից:

Կուլտուրայի մեկուսացման և պահպանման նպատակով կիրառվում է Էշբիի էլեկտիվ սննդամիջավայրը (տե՛ս հավելված 1):



Նկար 75. *A. chroococcum*-ի գաղութների պատկերը Էշբիի սննդամիջավայրի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (400×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *A. chroococcum* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, փուլացայտերանգային հարմարանք, մանրէաբանական օդակ, ունեյի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ և ծածկապակիներ, մանրէագերծված պիպետներ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի բուրդ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Նախապատրաստել լուսային մանրադիտակը փուլացայտերանգային մանրադիտակման՝ կցելով մանրադիտակին փուլացայտերանգային հարմարանքը և փոխելով օբյեկտիվները (տե՛ս գլուխ 5):

Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետագոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակությամբ, ծածկել ծածկապակիով ինչպես ցույց է տրված նկար 31-ում (տե՛ս գլուխ 5): Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել փուլացայտերանգային հարմարանքով լուսային մանրադիտակով՝ կիրառելով 40 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվը: Նկարել գրանցամատյանում, առարկայական ապակիները և ծածկապակիները լվանալ:

Առաջադրանք 4

Rhodospirillum rubrum մանրէի ճգնված կաթիլի մեթոդով պատրաստված պատրաստուկի մանրադիտակումը լուսային մանրադիտակով փուլացայտերանգային հարմարանքի օգնությամբ:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Proteobacteria

Դաս Alphaproteobacteria

Կարգ Rhodospirillales

Ընտանիք Rhodospirillaceae

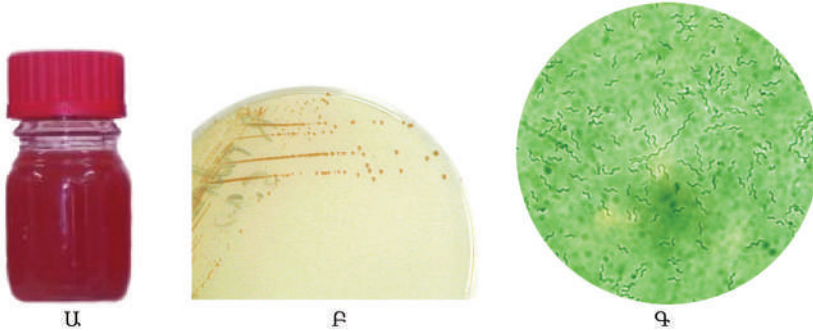
Ցեղ *Rhodospirillum*

Տեսակ *R. rubrum*

R. rubrum-ի կուտակիչ կուլտուրան Օրմերոդի հեղուկ սննդամիջավայրում ունի վառ կարմիր կամ վարդագույն գունավորում (նկար 76 Ա): Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են ուռուցիկ, կլոր, հարթ եզրերով, կետային գաղութներ: Մթում գաղութները չեն գունավորվում, իսկ լույսի պայմաններում առաջացնում են մուգ վարդագույն բլթակավոր գաղութներ (նկար 76 Բ):

Գրամբացասական, պարուրածև, 0.7-1.5 մկմ երկարությամբ, շնորհիվ բևեռային դասավորված մտրակների շարժուն բակտերիաներ են (նկար 76): Պատկանում են ծիրանագույն ոչ ծծմբային ոչ թթվածնածին (անօքսիդեն) ֆոտոտրոֆ բակտերիաներին: Հիմնականում ֆոտոսինթետրոֆ են, բայց կարող են գոյատևել որպես ֆոտոհետերոտրոֆներ, այսինքն՝ աճում են լույսի առկայությամբ անաերոբ պայմաններում պարզ օրգանական նյութերի ֆոտոասիմիլյացիայի հաշվին: Ունակ են ֆոտոտրոֆ սննդառության միայն անաերոբ պայմաններում: Մթության մեջ և աերոբ պայմաններում աճում են որպես քեմոօրգանահետերոտրոֆներ: Այս մանրէներում հայտնաբերվել են բակտերիալքլորոֆիլ «a» և կարոտինոիդներ: Դրանց ֆոտոսինթեզող համակարգերը տեղակայված են բջջի պլազմային թաղանթում կամ դրա ներփքումներում: Աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը 25-35°C է, pH-ը՝ 6.8-7.2:

Հանդիպում են ջրամբարների անաերոբ շերտերում, դանդաղ հոսող ջրերում, լճերում և ծովերում: Հայտնի են *R. rubrum*-ի արգինազ ֆերմենտի շտամ-արտադրիչներ:



Նկար 76. *R. rubrum*-ի կուտակիչ կուլտուրան Օրմերոդի հեղուկ սննդամիջավայրում (Ա), գաղութների պատկերը Օրմերոդի պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին (Բ), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (400×) (Գ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *R. rubrum*-ի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, փուլացայտերանգային հարմարանք և օբյեկտիվ, մանրէաբանական օղակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ծածկապակիներ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Նախապատրաստել լուսային մանրադիտակը փուլացայտերանգային մանրադիտակմամբ՝ կցելով մանրադիտակին փուլացայտերանգային հարմարանքը և փոխելով օբյեկտիվները (տե՛ս գլուխ 5): Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետագոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, ծածկել ծածկապակիով՝ ինչպես ցույց է տրված նկար 31-ում և մանրադիտակել փուլացայտերանգային հարմարանքով լուսային մանրադիտակմամբ՝ կիրառելով 40 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվը: Նկարել գրանցամատյանում, առարկայական ապակիները և ծածկապակիները լվանալ:

Աշխատանք 2

Մանրէների կենդանի պատրաստուկների պատրաստում մատնահետքերի մեթոդով և պատրաստուկների մանրադիտակում

Առաջադրանք 1

Streptomyces roseosporus մանրէի մատնահետքերի մեթոդով պատրաստված պատրաստուկի մանրադիտակումը լուսային մանրադիտակով:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria
Ֆիլում Actinobacteria
Դաս Actinobacteria
Կարգ Actinomycetales
Ընտանիք Streptomycetaceae
Ցեղ *Streptomyces*
Տեսակ *S. roseosporus*

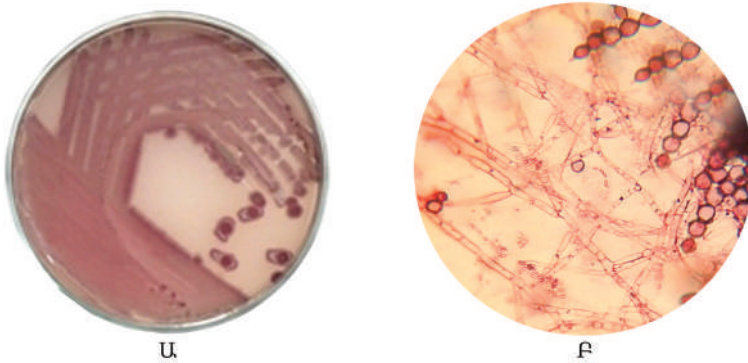
Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են կլոր, կնճռոտ, ուռուցիկ պրոֆիլով, անթափանց գաղութներ: Ստրեպտոմիցետների տարբեր տեսակների գաղութներն ունեն տարբեր գունավորում (սպիտակ, վարդագույն, դարչնագույն, սև և այլն), որն ունի կարգաբանական նշանակություն: Գրամդրական բակտերիաներ են, առաջացնում են ճյուղավորված թելեր կամ հիֆեր, որոնք բաժանվում են առանձին հատվածների (նկար 77 Ա): Վեգետատիվ հիֆերի յուրաքանչյուր ճյուղի մեծությունը տատանվում է 0.5-2 մկմ-ի սահմաններում: Պինդ սննդամիջավայրի վրա առաջացնում են առաջնային (սուբստրատային) և երկրորդային (օդային) «միցելիումներ»: Բազմաթիվ ձևերի վեգետատիվ բջիջները բաժանվում են միջնապատերով: Դյուղավորումը կատարվում է բողբոջման եղանակով: Որոշ տեսակներ կարող են առաջացնել սպորներ (նկար 77 Բ): Ըստ սպորի առաջացման ձևի տարբերում են մոնո-, օլիգո- և պոլիսպորային սկտինոմիցետներ: Սպորառաջացումը հիմնականում էկզոգենային, հազվադեպ պսևոէնդոգենային է:

Ակտինոմիցետներն աերոբ կամ ֆակուլտատիվ անաերոբ օրգանիզմներ են: Հիմնականում նեյտրոֆիլներ են, սակայն մեկուսացվել են նաև ալկալոֆիլ և ալկալիֆիլ ձևեր: Ակտինոմիցետները պահանջկոտ չեն սննդամիջավայրում ածխածնի աղբյուրների նկատմամբ, որոշները նույնիսկ օլիգոտրոֆ են:

Ստրեպտոմիցետների կարևոր առանձնահատկություններից

է գունանյութերի, ցնդող նյութերի (գեոսմին, արգոսմին, մուցիլոցն, 2-մեթիլ-իզոբորնեոլ) սինթեզը: Դրանցով էլ ձևավորվում է հողի և ակտինոմիցետներով հարուստ ջրի յուրահատուկ հոտը: Ստրեպտոմիցետներն առաջացնում են մաս մի շարք հակաբիոտիկներ (ստրեպտոմիցին, նեոմիցին, քլոթամֆենիկոլ):

Հիմնականում տարածված են հողում և ակտիվորեն մասնակցում են հումուսային նյութերի սինթեզին և քայքայմանը: Հայտնաբերվում են մաս ջրամբարներում և դրանց նստվածքներում, մի շարք անողնաշարավորների (անձրևորդի, տերմիտների) մարսողական համակարգում:



Նկար 77. *S. roseosporus*-ի գաղութների պատկերը Գաուգեի սննդամիջավայրի մակերեսին (Ա), միցելների և սպորների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: Ազարային սննդամիջավայրի մակերեսին նախապես աճեցված *S. roseosporus* մանրէի հոծ շերտով կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ծածկապակի, ֆուքսինի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծիչ լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրէների հոծ շերտով աճեցված ազարային սննդամիջավայրից նշտարով կտրել ոչ մեծ խորանարդիկ և այն տեղադրել առարկայական ապակու վրա այնպես, որպեսզի մանրէներով մակերեսը ուղղված լինի դեպի վեր: Այնուհետև զազոնին հպել մաքուր ծածկապակի, թեթև սեղմել մանրէաբանական օդակով կամ ունելիով ինչպես ցույց է տրված նկար 33-ում և

անմիջապես հեռացնել: Մատնահետքով ծածկապակին տեղադրել ֆուքսինով կաթիլ պարունակող առարկայական ապակու վրա: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես ծածկապակու վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում, առարկայական ապակիները և ծածկապակիները լվանալ:

Աշխատանք 3

Մանրէների ֆիքսված (կամ մշտական) պատրաստուկներ:

Մանրէների ձևաբանության ուսումնասիրությունը

Բովանդակություն: Մանրէների ֆիքսված պատրաստուկների պատրաստման ընթացակարգը և մանրադիտակում իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվների կիրառմամբ (տե՛ս գլուխ 5): Քսուքի պատրաստումը, չորացումը, ֆիքսումը և ներկումը (նկար 35):

Տարբեր ձևաբանություն ունեցող մանրէների մշտական պատրաստուկների պատրաստումը և մանրադիտակումը լուսային մանրադիտակով:

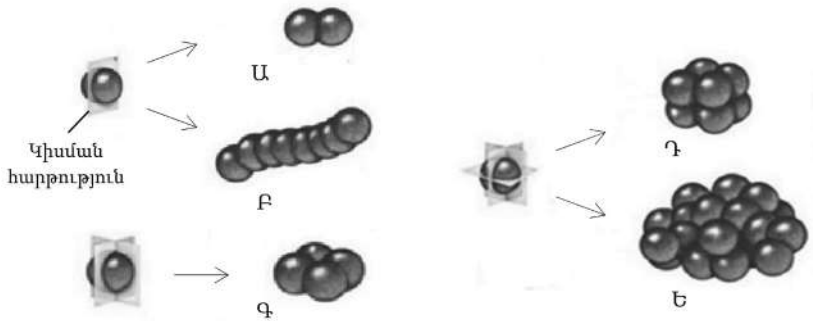
Մանրէների ձևաբանության համառոտ բնութագիրը

Տարբերում են պրոկարիոտների երեք հիմնական ձևեր՝ գնդաձև (կոկեր), ձողաձև (ցուպիկներ) և ոլորում կամ պարուրաձև (սպիրիլներ): Որոշ պրոկարիոտների չափսն ու ձևը կենսացիկլի տարբեր փուլերում կարող է փոփոխվել կախված աճի պայմաններից: Այդպիսի պրոկարիոտներին անվանում են տարաձև կամ պլեոմորֆ:

Տարբերում են գնդաձև մանրէների մի քանի տարատեսակներ (մոնոկոկային, դիպլոկոկային, ստրեպտոկոկային, տետրադային, սարցինաձև, ստաֆիլոկոկային)՝ կախված, թե ինչ հարթությամբ են կիսվում բջիջները և կիսվելուց հետո ինչպես են դասավորվում տարածության մեջ (նկար 78):

Չողաձև մանրէները կիսվելուց հետո միմյանց նկատմամբ դասավորությունից կախված ևս լինում են տարատեսակ՝ մոնոբացիլային, դիպլոբացիլային և ստրեպտոբացիլային (նկար 79 Ա-Գ): Գնդաձև և ձողաձև մանրէների միջև միջանկյալ տեղ են զբաղեցնում կոկաբացիլները (նկար 79 Դ):

Պարուրաձև մանրէները բաժանվում են վիբրիոնային, զսպանակաձև և սպիրիոխետային տարատեսակների (նկար 80):



Նկար 78. Գնդաձև բակտերիաների տարատեսակները:

Ա) Դիպլոկոկային, Բ) Սիրեպյոկոկային, Գ) Տեթրադային, Դ) Սարցինաչև, Ե) Ստաֆիլոկոկային



Նկար 79. Չողաձև բակտերիաների տարատեսակները:

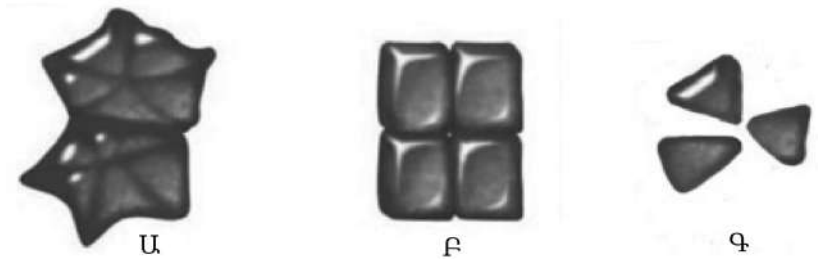
Ա) Մոնոբացիլային, Բ) Դիպլոբացիլային, Գ) Սիրեպյոբացիլային, Դ) Կոկաբացիլային:



Նկար 80. Պարուրաձև մանրէներ:

Ա) Վիբրիոնային, Բ) Զապանակաչև, Գ) Սպիրոխետային:

Հանդիպում են նաև ելունդավոր, խորանարդաձև, աստղաձև, եռանկյան կամ ուղղանկյան տեսք ունեցող և նույնիսկ տձև պրոկարիոտային բջիջներ (նկար 81): Այդպիսի ձևաբանություն ունեն հատկապես արքեաները: Որոշ պրոկարիոտներ, որոնք ընդհանրապես զուրկ են բջջապատից, ունեն բջջի անկանոն ձև:



Նկար 81. Արքեաներին բնորոշ բջջի ձևերը:

Ա) Ասրդաշև, Բ) Խորանարդաշև, Գ) Եռանկյունաշև:

Առաջադրանք 1

Enterococcus faecium մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Firmicutes

Դաս Bacilli

Կարգ Lactobacillales

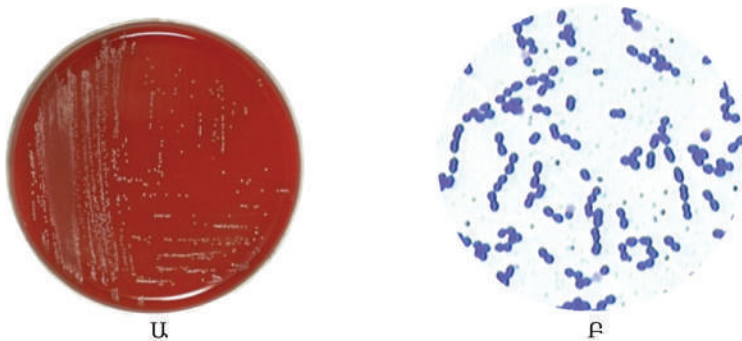
Ընտանիք Enterococcaceae

Ցեղ *Enterococcus*

Տեսակ *E. faecium*

Արյուն պարունակող սննդամիջավայրերի մակերեսին առաջացնում են կլոր, սպիտակ կամ կաթնագույն, հարթ եզրերով և մակերեսով, մինչև 1 մմ տրամագծով գաղութներ (նկար 82 Ա): *E. faecium*-ը ձվաձև կամ գնդաձև 0.6-2.5 մկմ տրամագծով, էնդոսպոր չառաջացնող գրամդրական բակտերիաներ են (նկար 82 Բ): Երբեմն միավորվում են կարճ շղթաներում: Բջջիջները ունակ են շարժման փոքրաթիվ մտրակներով: Պատիճ չեն առաջացնում: Աերոտոլերանտ անաերոբ են, քենոօրգանաիէտերոտրոֆ, կաթնաթթվային խմորում հարուցող մանրէներ են: Խմորում են տարբեր ածխաջրեր՝ առաջացնելով հիմնականում L-կաթնաթթու և թթվեցնելով սննդամիջավայրը ընդիուպ pH-ի 4.2-4.6 արժեքները: Խմորումը չի ուղեկցվում գազառաջացմամբ: Կատալազ չեն սինթեզում: Աճի ջերմաստիճանային տիրույթը 10-45°C է, իսկ օպտիմումը՝ 37°C: Լավ աճում են սննդամիջավայրերում, որոնցում NaCl-ի պարունակությունը կազմում է 6.5%, լեղաթրքվային աղեր՝ 40%, pH-ը՝ 9.6: Ունակ են վերականգնելու միտրատը: Լայն տարածված են շրջակա միջավայրում: *E. faecium* աղեստա-

մոքսային ուղու մշտական ներկայացուցիչ է: Որոշ էնտերոկոկեր պայմանական ախտածին մանրէներ են:



Նկար 82. *E. faecium*-ի գաղութների պատկերը արյունային ազարի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *E. faecium* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, մեթիլեն կապույտի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել մեթիլեն կապույտով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակմամբ իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 2

Neisseria gonorrhoeae մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի մանրա-
նիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Proteobacteria

Դաս Beta Proteobacteria

Կարգ Neisseriales

Ընտանիք Neisseriaceae

Ցեղ *Neisseria*

Տեսակ *N. gonorrhoeae*

Այս մանրէներն առաջին անգամ նկարագրել է Ա. Նեյսերը 1879 թ.-ին:

N. gonorrhoeae առաջացնում է ցողի տեսք ունեցող, թափանցիկ, փայլուն, հարթ մակերեսով, 1-2 մմ տրամագծով գաղութներ (նկար 83 Ա): Գրամբացասական, անշարժ, էնդոսպորներ չառաջացնող դիպլոկոկային ձև ունեցող մանրէներ են, հաճախ կոչվում են գոնոկոկեր (նկար 83 Բ): Բջջիջները ունեն 0.6-1 մկմ տրամագիծ, երիկամաձև են՝ դասավորված գոգավոր կողմով միմյանց հանդիպակաց: Առաջացնում են պատիճ, որն օժտված է իմունագեն հատկություններով: Գոնոկոկերը ունեն ֆիմբրիաներ: Լավ են ներկվում անիլինային ներկերով: Գոնոկոկերի ցիտոպլազմում պարունակվում են նաև օսմեոֆիլ ներառուկներ: Այս մանրէներն աերոբ կամ ֆակուլտատիվ անաերոբ են, ունեն կատալազ, ցիտոքրոմօքսիդազ և օքսիդազ: Լավ են աճում 35-ից 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում, pH 6-8 տիրույթում, արյան շիճուկ և ասցիտային հեղուկ պարունակող սննդամիջավայրում:

Գոնոկոկերը հարուցում են գոնորեա (սուսանակ) սեռավարակը: Դրանք մարդու բացարձակ մակաբույծներ են, գոնոկոկերը բնական կամ փորձնական պայմաններում կենդանիներում ախտածնություն չեն առաջացնում:

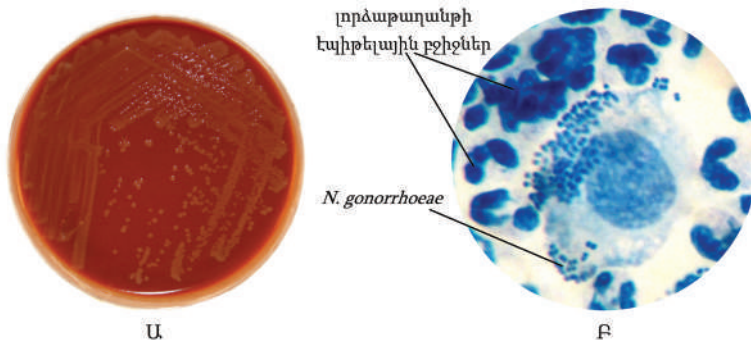
Գոնորեան փոխանցվում է սովորաբար սեռական ճանապարհով: Գոնոկոկերը ներթափանցում են օրգանիզմ լորձաթաղանթով, որում և կատարվում է դրանց բազմացումը:

Տղամարդկանց գոնորեան ընթանում է միզուկի կամ դրա առաջնային հատվածի լորձաթաղանթի սուր թարախային բորբոքմամբ: Այն կարող է բարդանալ՝ առաջացնելով պրոստատիտ, էպիդիդիմիտ կամ վերածվել բրոնխիալ կանաչի: Կանանց այդ հիվանդություն-

նր հենց սկզբից ընդունում է քրոնիկական, առանց ախտանշանների ընթացք՝ ախտահարելով միզուկը, հեշտոցը և արգանդի վզիկը:

Գոնոկոկերը հաճախ կարող են անցնել արյան մեջ և տարածվել օրգանիզմում՝ հարուցելով մենինգիտ, արթրիտ, էնդոկարդիտ: Գոնոկոկերը զգայուն են լույսի, ցածր և բարձր ջերմաստիճանի, չորացման և որոշ հակաբիոտիկների (պենիցիլինի, տետրացիկլինի և այլնի) նկատմամբ:

Գոնոկոկերը հարուցում են մորաձին երեխաների աչքի շողկապենու բորբոքում՝ բլենորեա: Նորաձին երեխան գոնոկոկերով վարակվում է ծննդաբերության ընթացքում վարակակիր մոր սեռական օրգանների լորձաթաղանթների հետ շփման հետևանքով: Բլենորեայի կանխարգելման նպատակով մորաձինների աչքերը մշակում են AgNO_3 -ի 1-2% լուծույթով (Լյապիսի լուծույթով):



Նկար 83. *N. gonorrhoeae* -ի գաղութների պատկերը շոկոլադային-արյունային ագարի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *N. gonorrhoeae*-ի ֆիքսված պատրաստուկներ, լուսային մանրադիտակ, մայրիի յուղ, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը:

Առաջադրանք 3

Streptococcus thermophilus մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Firmicutes

Դաս Bacilli

Կարգ Lactobacillales

Ընտանիք Streptococcaceae

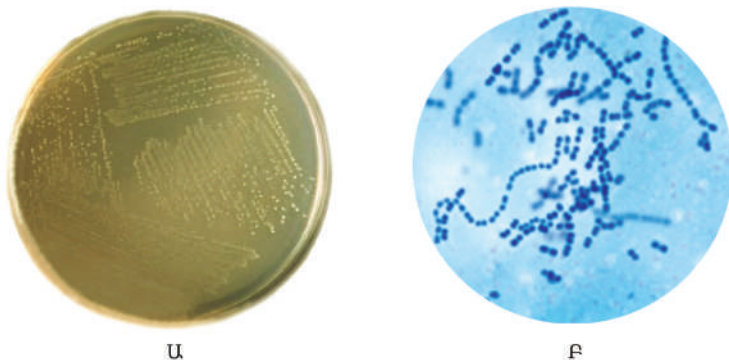
Ցեղ *Streptococcus*

Տեսակ *S. thermophilus*

Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են մանր, կլոր (սննդամիջավայրի խորքում կարող են առաջացնել մաս ուսպածն), տափակ պրոֆիլով, սպիտակ, հարթ եզրերով և մակերեսով գաղութներ (նկար 84 Ա):

Streptococcus ցեղի ներկայացուցիչները գրամդրական, անշարժ, սպոր չառաջացնող, շրթայաձև դասավորված ձվաձև կամ գնդաձև, 0.5-2 մկմ տրամագիծ ունեցող բակտերիաներ են (նկար 84 Բ): Որոշ տեսակների բջիջները շրջապատված են բազմաշաքարային պատիճով: Աերոտոլերանտ անաերոբներ են, կատալազ չեն սինթեզում, երբեմն աճի համար պահանջում են 5% ածխաթթու գազ: Քենոթրոգանահետերոտրոֆներ են, աճում են բարդ սննդամիջավայրերում՝ հարուցելով կաթնաթթվային խմորում, որի հետևանքով սննդամիջավայր են արտազատում հիմնականում կաթնաթթու: Խմորումը չի ուղեկցվում գազառաջացմամբ: Աճի ջերմաստիճանային տիրույթը 25-55°C է, իսկ օպտիմումը՝ 37°C: Ախտածին տեսակներն առաջացնում են արյունալուծում (հեմոլիզ): Մակարոյժ տեսակները սովորաբար հայտնաբերվում են ողնաշարավոր կենդանիների բերանային խոռոչում և վերին շնչառական ուղիներում:

S. thermophilus-ը մտնում է կաթնամթերքների մերանների կազմի մեջ: Աճի ջերմաստիճանային օպտիմում 45°C է: *S. thermophilus*-ի որոշ շտամներ ունակ են սինթեզելու հակաբակտերիական ակտիվությամբ օժտված բակտերիացիներ:



Նկար 84. *S. thermophilus*-ի գաղութների պատկերը հիդրոլիզացված կաթնային ագարի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *S. thermophilus* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, մեթիլեն կապույտի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետագոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել մեթիլեն կապույտով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 4

Micrococcus luteus մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Actinobacteria

Դաս Actinobacteria

Կարգ Micrococcales

Ընտանիք Micrococcaceae

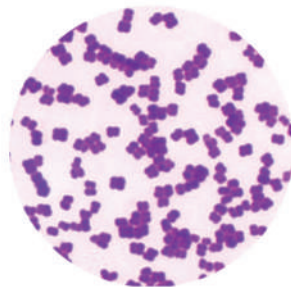
Ցեղ *Micrococcus*

Տեսակ *M. luteus*

Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են կլոր, ուռուցիկ պրոֆիլով, հարթ մակերեսով և եզրերով գաղութներ (նկար 85 Ա): Կարոտինոիդային գունանյութերի շնորհիվ դրանց գաղութները դեղին (*M. luteus*) կամ կարմիր են (*M. roseus*): Միկրոկոկների բջիջները գնդաձև են, 0.5 - 2 մկմ տրամագծով, դասավորվում են մեկական, զույգերով, տետրադների կամ 8, 16, 32 և ավելի բջիջներ պարունակող խորանարդաձև փաթեթների ձևով (նկար 85 Բ): Հիմնականում անշարժ են, սպոր չեն առաջացնում: Քեմոօրգանահետերոտրոֆներ են, օբլիգատ աերոբ, սինթեզում են կատալազ, պարունակում են ցիտոքրոմներ, ինդոլ չեն առաջացնում: Ածխաջրերի յուրացումը ուղեկցվում է թթվառաջացմամբ: Աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը 25-ից մինչև 37°C է: Որպես կանոն աղաղիմացկուն են (հալոտոլերանտ), կարող են աճել սննդամիջավայրում մինչև 20% NaCl-ի առկայությամբ: Հանդիպում են հողերում և քաղցրահամ ջրերում, հաճախ մարդկանց և կաթնասունների մաշկի վրա, սակայն հիմնականում մեկուսացվում են օդից և սննդամթերքներից:



Ա



Բ

Նկար 85. *M. luteus*-ի գաղութների պատկերը սննդային ագարի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրեային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *M. luteus* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, մեթիլեն կապույտի կամ ֆուքսինի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել մեթիլեն կապույտով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 5

Staphylococcus aureus մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Firmicutes

Դաս Bacilli

Կարգ Bacillales

Ընտանիք Staphylococcaceae

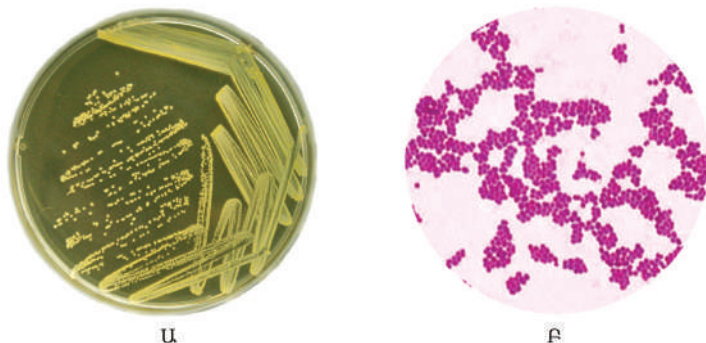
Ցեղ *Staphylococcus*

Տեսակ *S. aureus*

Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են կլոր, հարթ եզրերով և մակերեսով, պղտոր գաղութներ (նկար 86 Ա): Ստաֆիլակոկների տարբեր տեսակների գաղութներն ունեն տարբեր գունավորում: Օրինակ՝ *S. albus*-ը ունի սպիտակ, *S. aureus*-ը՝ ոսկեգույն, *S. citreus*-ը՝ կիտրոնագույն գունավորում: Հեղուկ սննդամիջավայրերում առաջացնում են հավասարաչափ բաշխված պղտորություն կամ փխրում նստվածք:

Ստաֆիլակոկները գրամդրական, անշարժ, 0.5-1.5 մկմ տրամագծով բջիջներ են, սպոր և պատիճ չեն առաջացնում (նկար 86 Բ): Ֆակուլտատիվ անաերոբ մանրէներ են, սինթեզում են կատալազ և օքսիդազ ֆերմենտներ: Քենոօրգանաիտերոտրոֆներ են: Լիզիսի են ենթարկվում լիզոստաֆինի ազդեցությամբ, իսկ լիզոցինի նկատմամբ կայուն են: Շնորհիվ β -լակտամազային ակտիվության ունակ են ճեղքելու լակտամային շաքիի հակաբիոտիկներ, որի շնորհիվ կայուն են որոշ հակաբիոտիկների նկատմամբ: Սովորաբար աճում են 10% NaCl-ի առկայությամբ: Ստաֆիլակոկների աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը 30-37°C է:

Ստաֆիլակոկները հանդիպում են փոշում, օդում, ջրում, տարբեր սննդամթերքներում, մարդու և կենդանիների լորձաթաղանթների, մաշկի, վերքերի վրա: Որոշ տեսակներ հարուցում են հարմարվողական (օպորտունիստական) վարակներ: Ախտածին ստաֆիլակոկներն առաջացնում են էմտերոտոքսիններ, որոնք հարուցում են սննդային թունավորումներ:



Նկար 86. *S. aureus*-ի գաղութների պատկերը ՄՊԱ-ի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *S. aureus* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունեյի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ֆուքսինի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել ֆուքսինով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 6

Escherichia coli մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Proteobacteria

Դաս Gammaproteobacteria

Կարգ Enterobacteriales

Ընտանիք Enterobacteriaceae

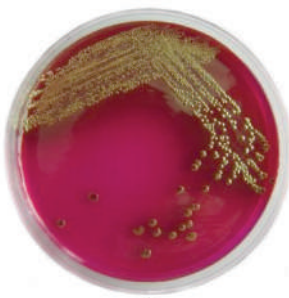
Ցեղ *Escherichia*

Տեսակ *E. coli*

Էնդոյի սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են միջին չափսի կլոր, հարթ եզրերով և մակերեսով, ուռուցիկ պրոֆիլով, կարմիր, մետաղական փայլով գաղութներ (նկար 87 Բ):

Գրամբացասական, 1.1-1.5 լայնությամբ և 2-6 մկմ երկարությամբ ձողաձև բակտերիաներ են, որոնք դասավորվում են մեկական կամ զույգերով (նկար 87 Բ): Շտամների մեծամասնության համար բնորոշ է պատիճների կամ միկրոպատիճների առկայությունը: Շարժունակ են պերիտրիխ դասավորված մտրակների շնորհիվ, հանդիպում են նաև անշարժ ձևեր: Ֆակուլտատիվ անաերոբ մանրէներ են, սինթեզում են կատալազ, բայց ոչ օքսիդազ: Անաերոբ պայմաններում խմորում են շաքարներ՝ առաջացնելով թթուներ և գազ: Աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը 37°C է:

Հանդիպում են սառնարյուն և տաքարյուն կենդանիների, ինչպես նաև մարդկանց աղիների միկրոբիոտայում: *E. coli*-ը պայմանական ախտածին է, արտադրում է էնտերոտոքսիններ, որոնք կարող են հարուցել աղիքային հիվանդություններ:



Ա



Բ

Նկար 87. *E. coli*-ի գաղութների պատկերը Էնդոյի ազարի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *E. coli* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ֆուքսինի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել ֆուքսինով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկն ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 7

Salmonella typhimurium մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Proteobacteria

Դաս Gammaproteobacteria

Կարգ Enterobacteriales

Ընտանիք Enterobacteriaceae

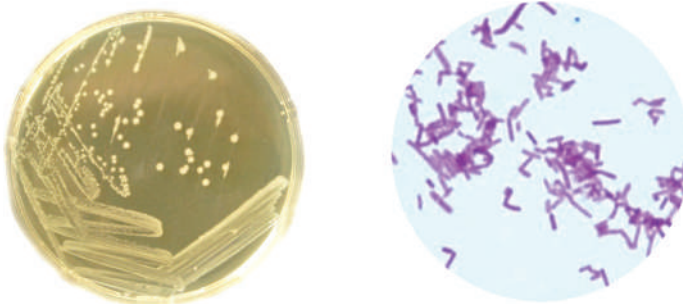
Ցեղ *Salmonella*

Տեսակ *S. typhimurium*

ՄՊԱ-ի մակերեսին առաջացնում են կլոր, ուռուցիկ կամ խառնարանային պրոֆիլով, հարթ եզրերով և մակերեսով, կիսաթափանցիկ սպիտակ մետաղական փայլով գաղութներ (նկար 88 Ա):

Գրամբացասական, 0.7-1.5 լայնությամբ և 2-5 մկմ երկարությամբ ձողաձև մանրէներ են (նկար 88 Բ): Սովորաբար շարժուն են պերիտրիխ դասավորված մտրակների շնորհիվ: Ֆակուլտատիվ անաերոբ են, սինթեզում են կատալազ ֆերմենտը, բայց չեն սինթեզում օքսիդազ ֆերմենտը: Քեմոօրգանահետերոտրոֆներ են, անքփվածին պայմաններում խմորում են շաքարներ՝ առաջացնելով քթուներ և գազ: Աճի օպտիմալ ջերմաստիճանը 37°C է: Հանդիպում են մարդկանց, ինչպես նաև տաքարյուն և սառնարյուն կենդանիների աղիներում, ինչպես նաև սննդամթերքներում:

S. typhimurium-ը հարուցում է որովայնային տիֆ աղիքային հիվանդությունը: Այս մանրէի լիպոպոլիսախարիդային պատիճի կազմում գտնվող O-հակածնի ագետիլացման հետևանքով փոխվում է վերջինիս կոնֆորմացիան, ինչը դժվարացնում է մանրէի ճանաչումը հակամարմիններով:



Նկար 88. *S. typhimurium*-ի գաղութների պատկերը ՄՊԱ-ի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *S. typhimurium* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ֆուքսինի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել ֆուքսինով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 8

Pseudomonas aeruginosa մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Proteobacteria

Դաս Gammaproteobacteria

Կարգ Pseudomonadales

Ընտանիք Pseudomonadaceae

Ցեղ *Pseudomonas*

Տեսակ *P. aeruginosa*

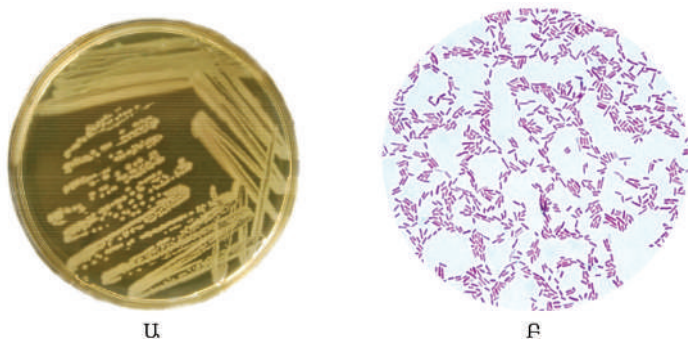
Pseudomonas ցեղի տեսակները առաջացնում են կլոր, հարթ եզրերով և մակերեսով, ուռուցիկ կամ տափակ պրոֆիլով, լորձալին և մածուցիկ կազմությամբ, հատիկավոր կամ միասեռ կառուցվածքով գաղութներ (նկար 89 Ա):

Գրամբացասական ուղիղ կամ թույլ կորացած ձողաձև 0.5-1 լայնությամբ և 1.5-5 մկմ երկարությամբ բակտերիաներ են (նկար 89 Բ): Շարժուն են մեկ կամ մի քանի բևեռային դասավորված մտրակների շնորհիվ: Աերոբ կամ ֆակուլտատիվ ամաերոբներ են, էներգավոր խանակությունը շնչառական տիպի է: Աերոբ պայմաններում որպես էլեկտրոնների վերջնական ակցեպտոր օգտագործում են թթվածինը, իսկ անաերոբ պայմաններում՝ նիտրատները (լրականացնում են դենիտրիֆիկացում): Որոշ տեսակներ ամաերոբ պայմաններում խմորում են արգինինը: Սինթեզում են կատալազ ֆերմենտը, իսկ որոշ տեսակներ՝ նաև օքսիդազ ֆերմենտը: Քեմոօրգանահետերոտրոֆներ են, որոշ տեսակներ ունակ են որպես էներգիայի աղբյուր օգտագործել H_2 և CO :

P. aeruginosa մանրէները հանդիպում են օդում, ծովային և քաղցրահամ ջրերում, հողում, տիղմում, հոսքային ջրերում և կարևոր դեր ունեն օրգանական նյութերի հանքայնացման գործընթացներում: Առաջացնում են մի շարք գունանյութեր՝ պիկոցիանին (կապտականաչ), պիովերդին (դեղնականաչ և լուսածողող) և պիոռուբին (կարմրադարչնագույն):

Որոշ տեսակներ առաջացնում են հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված նյութեր, իսկ որոշ տեսակներ էլ օգտագործվում են մանրէաբանական արտադրություններում մի շարք օրգանական թթուների (պիրոլիսադոդաթթվի, գլյուկոնաթթվի, α -կետոգլյուտարաթթվի), ամինաթթուների (ասպարգինաթթվի, գլյուտամինաթթվի,

վալինի), ֆերմենտների (ասպարգինազի և պերօքսիդազի) ստացման համար: Որոշ տեսակներ հարուցում են մարդկանց, կենդանիների և բույսերի հիվանդություններ:



Նկար 89. *P. aeruginosa*-ի գաղութները պատկերը ցենտրիմիդային ազարի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *P. aeruginosa* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ֆուքսինի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել ֆուքսինով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 9

Bacillus subtilis մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Firmicutes

Դաս Bacilli

Կարգ Bacillales

Ընտանիք Bacillaceae

Ցեղ *Bacillus*

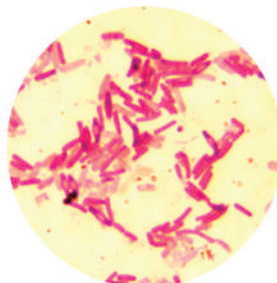
Տեսակ *B. subtilis*

Պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են տարբեր ձևերի, անկանոն կամ ալիքաձև եզրերով, թավշային, անգույն կամ գունավորված գաղութներ (նկար 90 Ա):

Գրամդրական, 1-1.5 մկմ լայնությամբ և 2-6 մկմ երկարությամբ, էնդոսպոր առաջացնող բակտերիաներ են (նկար 90 Բ): Սպորները ձվաձև են, կենտրոնական դասավորվածությամբ, վեգետատիվ բջջի ուռչեցում չեն առաջացնում: Շարժուն են պերիտրիխսային դասավորված մտրակների շնորհիվ: Աերոբ կամ ֆակուլտատիվ անաերոբներ են, որոշ տեսակները անաերոբ պայմաններում կարող են իրականացնել շաքարների խմորում: Սինթեզում են կատալազ ֆերմենտը: Էներգավորիսանակությունը շնչառական տիպի է: Անաերոբ պայմաններում որպես էլեկտրոնների վերջնական ակցեպտոր կարող են օգտագործել նիտրիտներն և նիտրատները: Արտադրական նշանակության կարևոր ֆերմենտների՝ ամիլազների, պրոտեազների, ինչպես նաև պոլիպեպտիդային հակաբիոտիկների, ամինաթթուների և որոշ բազմաշաքարների ակտիվ արտադրիչներ են:



Ա



Բ

Նկար 90. *B. subtilis*-ի գաղութների պատկերը ՄՊԱ-ի մակերեսին (Ա), բջջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրեային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *B. subtilis* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ֆուքսինի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել ֆուքսինով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 10

Clostridium botulinum մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Գիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Firmicutes

Դաս Clostridia

Կարգ Clostridiales

Ընտանիք Clostridiaceae

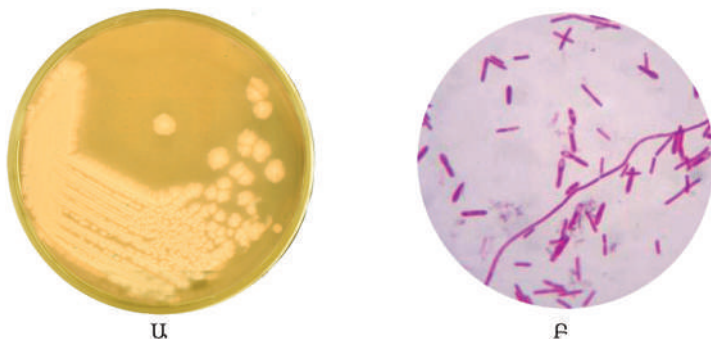
Ցեղ *Clostridium*

Տեսակ *C. botulinum*

Չվի դեղնուց պարունակող ՄՊԱ-ի մակերեսին անաերոբ պայմաններում առաջացնում են անկանոն եզրերով, կաթնագույն խոշոր գաղութներ (նկար 91 Ա):

Գրամդրական, 0.3-2 մկմ լայնությամբ և 5-20 մկմ երկարությամբ, էնդոսպոր առաջացնող ձողաձև բակտերիաներ են (նկար 91 Բ): Հաճախ բջիջները դասավորվում են զույգերով կամ կարճ շղթաներով: Էնդոսպորները ձվաձև կամ գնդաձև են, ծայրային դասավորվածությամբ, առաջացնում են վեգետատիվ բջջի ուռչեցում: Շարժուն են պերիտրիխային դասավորված մտրակների շնորհիվ: Օբլիգատ անաերոբներ են, սակայն կարող են դիմանալ թթվածնի կարճատև ազդեցությանը շնորհիվ սուպերօքսիդիլիսմուտազ ֆերմենտի: Կատալազ չեն առաջացնում: Մեծամասամբ քեմոօրգանահետերոտրոֆներ են, որոշ տեսակներ կարող են աճել քեմոավտոտրոֆ կամ քեմոլիթոտրոֆ եղանակով: Խմորում են շաքարները և ամինաթթուները՝ առաջացնելով թթուներ և սպիրտներ: Աճի ջերմաստիճանային տիրույթը լայն է՝ 10-65°C, pH-ինը՝ 4.8-7: Հիդրոլիտիկ ֆերմենտների, մասնավորապես լիպազների ակտիվ արտադրիչներ են: Լայն տարածված են շրջակա միջավայրում: Շատ տեսակներ մարդու և կենդանիների ախտածիններ են:

C. botulinum-ը առաջացնում է բոտուլին նյարդատոքսինը և հարուցում բոտուլիզմ հիվանդությունը: *C. botulinum*-ն առաջին անգամ մեկուսացրել է Էմիլ վան Էրմենգենը խոզապուխտից: Բոտուլիզմը անվանվել է նաև «երշիկային թունավորում» (լատ. botulus - երշիկ), քանի որ 18-ից 19-րդ դարերում վարակի հիմնական պատճառը եղել է երշիկը:



Նկար 91. *C. botulinum*-ի գաղութների պատկերը անաերոբ պայմաններում ձվի դեղնուցային ագարի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *C. botulinum*-ի ֆիքսված պատրաստուկներ, լուսային մանրադիտակ, մայրիի յուղ, ֆիլտրի թուղթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը:

Առաջադրանք 11

Mycobacterium tuberculosis մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Actinobacteria

Դաս Actinobacteria

Կարգ Actinomycetales

Ընտանիք Corynebacterineae

Ցեղ *Mycobacterium*

Տեսակ *M. tuberculosis*

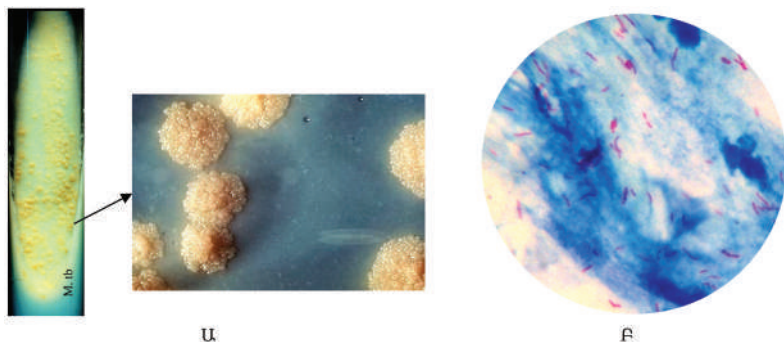
Լովենստեին-Ջենսենի պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են բարդ, բլրածածկ, կնճռոտ և լորձալին, փոփոխական գույնի գաղութներ (նկար 92 Ա):

Դրանց զգալի մասը լավ աճում է պարաֆինային սննդամիջավայրում: Հողում ապրող սապրոֆիտ միկոբակտերիաներն ավելի արագ են աճում պարզ սննդամիջավայրերում, իսկ ախտածին ձևերը աճում են ավելի բարդ կազմ ունեցող սննդամիջավայրերում և ավելի դանդաղ: Միկոբակտերիաները աերոբ, անշարժ, գրամդրական, ուղիղ կամ կորացած ձողաձև բակտերիաներ են (նկար 92 Բ): Երբեմն առաջացնում են թելանման կամ սնկամարմնի նման կառուցվածքներ, որոնք հատվածավորվում են՝ առաջացնելով ձողեր կամ գնդաձև բջիջներ: Որոշ տեսակներ պարունակում են կարոտինոիդային գունանյութեր: Սինթեզում են կատալազ և արիլսուլֆատազ ֆերմենտները: Թթվա- և սպիրտադիմացկուն են: Թթուների, ինչպես նաև դեղորայքի, նկատմամբ ունեցած դիմացկունությունը պայմանավորված է բջջապատում լիպիդների և մոմերի (մինչև 60%), այդ թվում՝ միկոլաթթուների առկայությամբ: Լիզոցիմի նկատմամբ բավականին կայուն են: Միկոբակտերիաները լայնորեն տարածված են շրջակա միջավայրում՝ ջրում, հողում, բուսական և կենդանական օրգանիզմներում: Ներկայումս հայտնի են մոտավորապես 200 ախտածին և սապրոֆիտ ձևեր: Աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը 37-38°C է, pH-ը՝ 7-7.2:

Պալարախտի հարուցիչը՝ *Mycobacterium tuberculosis*-ը, հայտնաբերել է Ռ. Կոխը 1882 թ, այդ պատճառով էլ կոչվում է նաև Կոխի ցուպիկ: *M. tuberculosis*-ը առաջացնում է պալարախտ՝ խրոնիկ վարակիչ հիվանդություն, որը բնորոշվում է շնչառական օրգանների (թոքախտ), ոսկրների (ոսկրախտ), հոդերի, մաշկի, միզասեռական և

մի քանի այլ օրգանների ախտահարմամբ: Մարդկանց պալարախտ հարուցում են միկոբակտերիաների ևս 2 այլ տեսակներ՝ *M. bovis* և *M. avium*:

M. tuberculosis-ը բարակ, նուրբ 0.2-0.7 մկմ լայնությամբ և 1-10 մկմ երկարությամբ պոլիմորֆ ցուպիկներ են: Կոխի ցուպիկները դիմացկուն են տարբեր ազդեցությունների նկատմամբ՝ կաթի մեջ ոչնչանում են 15-20 րոպե ընթացքում 60°C ջերմաստիճանային պայմաններում, խորխի մեջ պահպանվում են 1 ժ: Եռացնելիս այդ մանրէները ոչնչանում են 5 րոպե հետո: Ուղիղ արևի ճառագայթները ոչնչացնում են այս մանրէներին 45-55 րոպեում, իսկ ցրված լույսը՝ 8-10 օրվա ընթացքում: 5% ֆենոլը ոչնչացնում է մանրէներին 5-6 ժ ընթացքում:



Նկար 92. *M. tuberculosis*-ի գաղութների պատկերը Լովենստեին-Ջենսենի սննդամիջավայրի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *M. tuberculosis*-ի ֆիքսված պատրաստուկներ, լուսային մանրադիտակ, բենզին, մայրիի յուղ, ֆիլտրի թուղ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը:

Առաջադրանք 12

Thermus scotoductus մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Գիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Deinococcus-Thermus

Դաս Deinococci

Կարգ Thermales

Ընտանիք Thermaceae

Ցեղ *Thermus*

Տեսակ *T. scotoductus*

Առաջացնում են համակենտրոն, հարթ մակերեսով, տափակ պրոֆիլով, ալիքաձև եզրերով, դեղնամարնջագույն գաղութներ (նկար 93 Ա): Գրամբացասական 0.5-0.8 մկմ լայնությամբ և 5-10 մկմ երկարությամբ ձողաձև մանրէներ են (նկար 93 Բ): Աճեցման որոշ պայմաններում կարող են առաջացնել 2-20 մկմ և նույնիսկ ավելի երկար թելանման բջիջներ: Գրեթե բոլոր տեսակների առանձին բջիջների միաձուլման հետևանքով առաջացնում են 10-20 մկմ տրամագծով գնդաձև մարմնիկներ: Այդ մարմնիկները հիմնականում առկա են մանրէի ծերացող կուլտուրայում: Բջիջները անշարժ են, մտրակներ չունեն, էնդոսպոր չեն առաջացնում: Կարոտինոիդային գունանյութերի շնորհիվ պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին ձևավորում են կարմիր, դեղին կամ մարնջագույն գաղութներ:

Աերոբներ են, սինթեզում են օքսիդազ և կատալազ ֆերմենտները: Թերմոֆիլներ են, աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը 70-75°C-ն է, իսկ pH օպտիմումը՝ թույլ հիմնայինից չեզոք:

Հիմնականում տարածված են տաք և ջերմային աղբյուրներում, հանդիպում են նաև ջրատաքացման համակարգերում:



Նկար 93. *T. scotoductus*-ի գաղութների պատկերը սննդային ազարի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *T. scotoductus* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունեղի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ֆուքսինի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թղթով, քսիլոլի կամ էթանոլի լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետագոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել ֆուքսինով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 13

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria
Ֆիլում Firmicutes
Դաս Bacilli
Կարգ Lactobacillales
Ընտանիք Lactobacillaceae
Ցեղ *Lactobacillus*
Տեսակ *L. delbrueckii*

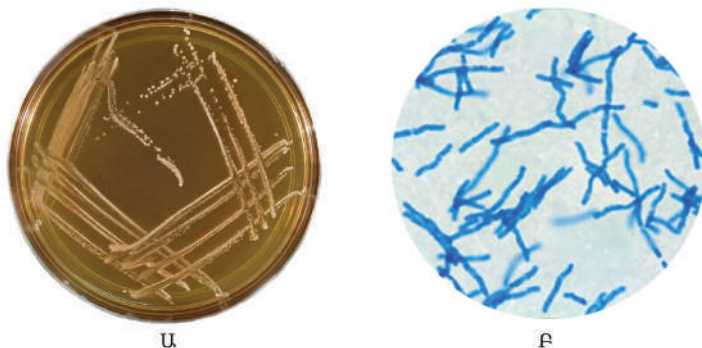
Ենթատեսակ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Գաղութները միջին մեծության են, կլոր, հարթ մակերեսով և եզրերով, կաթիլային պրոֆիլով և սպիտակ գունավորմամբ (նկար 94 Ա): Ման-Ռագոգա-Շառպի (ՄՌՇ) սննդամիջավայրի խորքում առաջացնում են 2-5 մմ տրամագիծ ունեցող անգույն, ուռուցիկ գաղութներ բրգաձև կամ հնդկացորենի ձևի գաղութներ: Լավ են աճում նաև կաթնային շիճուկ պարունակող ազարի վրա (40°C-ում)՝ առաջացնելով խճճված բամբակի թելիկներ կամ ձյան վաթիկներ հիշեցնող գաղութներ:

Գրամդրական 0.5-1.2 մկմ լայնությամբ և 1-10 մկմ երկարությամբ բարակ, երկար, երբեմն թելանման անշարժ ցուպիկներ են (նկար 94 Բ): Որոշ տեսակներ շարժուն են, ունեն մտրակների պերիտրիխ դասավորություն: Դրանց բնորոշ է պլեոմորֆիզմը: Այս մանրէները համարվում են տիպիկ հոմոֆերմենտային կաթնաթթվային խմորման հարուցիչներ, որոնք սննդամիջավայրում կուտակում են հիմնականում կաթնաթթու: Լակտոբացիլները աերոտոլերանտ անաերոբներ են, չեն սինթեզում կատալազ, չեն պարունակում ցիտոքրոմներ:

Այս ցեղի ներկայացուցիչները՝ *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. casei*-ն ունեն կարևոր արդյունաբերական նշանակություն: Դրանք հայտնաբերվում են կենդանական և բուսական ծագմամբ սննդամթերքներում՝ սիլոսում, խմորվող զարեջրում, պահածոյացվող պտուղներում, բանջարեղենում և հյութերում, կաթնամթերքներում:

Այս մանրէները կազմում են կաթնասունների և թռչունների մարսողական համակարգի միկրոբիոտայի բաղադրիչ մասը:



Նկար 94. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*-ի գաղութների պատկերը ՄՌՇ-ի սննդամիջավայրի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրեային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաքանական օդակ, ունեյի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, մեթիլեն կապույտի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում, կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել մեթիլեն կապույտով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 14

Bifidobacterium bifidum մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Actinobacteria

Դաս Actinobacteria

Կարգ Bifidobacteriales

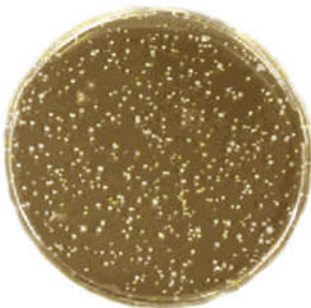
Ընտանիք Bifidobacteriaceae

Ցեղ *Bifidobacterium*

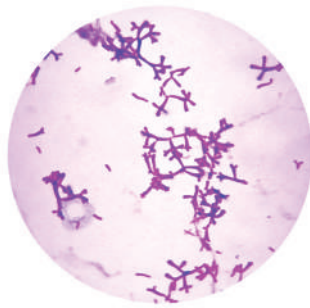
Տեսակ *B. bifidum*

Առաջին անգամ մեկուսացրել է ֆրանսիացի մանկաբույժ Հեն-րի Թիսերը նորածին երեխայի կղանքից: Անատրոփ պայմաններում ՄՌՇ սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են կլոր, մանր, հարթ մակերեսով և եզրերով, տափակ պրոֆիլով, սպիտակ գաղութներ (նկար 95 Ա): Գրամդրական, անշարժ, կեռացած կամ հաճախ ճյուղավորվող (*bifidum* լատիներեն նշանակում է երկճեղքված, կիսված երկու կեսի) անատրոփ սպոր չառաջացնող ցուպիկներ են: Բջջների դասավորվածությունը մեկական է, զույգերով, երբեմն շղթաներով կամ վարդակներով (նկար 95 Բ):

Աճի համար սննդամիջավայրում պահանջվում է պարասամինաբենզոյաթթու և պանտոտենաթթու: Չեն դիմանում թթվային պայմաններին, չեն աճում $pH < 4.5$ պայմաններում: Ակտիվորեն սինթեզում են պերօքսիդներ: Սինթեզում են նաև B խմբի (B1, B2 և այլն) և K վիտամիններ: Ակտիվ խմորում են ածխաջրերը՝ առաջացնելով քացախաթթու և կաթնաթթու: Աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը $37-41^{\circ}C$: Կիրառվում են պրոբիոտիկների ստացման համար:



Ա



Բ

Նկար 95. *B. bifidum*-ի գաղութների պատկերը անատրոփ պայմաններում ՄՌՇ-ի ագարացված սննդամիջավայրի մակերեսին (Ա), բջջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *B. bifidum* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, մեթիլեն կապույտի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել մեթիլեն կապույտով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 15

Leptospirillum sp. մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Bacteria

Ֆիլում Nitrospirae

Դաս Nitrospira

Կարգ Nitrospirales

Ընտանիք Nitrospiraceae

Ցեղ *Leptospirillum*

Տեսակ *Leptospirillum* sp.

Մաննինգի և Ջոնսոնի սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են մանր լորձային դեղնամարնչագույն գաղութներ (նկար 96 Ա):

Գրամբացասական, 0.2-0.4 մկմ լայնությամբ և 0.9-1.1 մկմ երկարությամբ վիբրիոիդ կամ պարուրաձև մանրէներ են (նկար 96 Բ): Շարժուն են բևեռային մտրակի շնորհիվ: Աերոբ, օքսիդատ քեմոլիթոտրոֆներ են, էներգիա ստանում են Fe^{2+} օքսիդացմամբ: Թիոբացիլների հետ սինտրոֆ աճի պայմաններում կարող են յուրացնել սուլֆիդները: Ացիդոֆիլներ են, ունակ են աճելու pH-ի 1.5-4 տիրույթում, pH օպտիմումը՝ 2.5-3: Որոշ շտամներ չափավոր թերմոֆիլներ են:

Լայն տարածված են սուլֆիդային հանքավայրերում և մետաղական հանքապարներում: Կարևոր դեր են կատարում մետաղների կենսատարրավազման գործընթացներում և օգտագործվում են արտադրական նպատակներով հանքաքարերից և հանքաքափոններից արժեքավոր մետաղների կորզման համար:



Ա



Բ

Նկար 96. *Leptospirillum* sp.-ի գաղութների պատկերը Մաննինգի և Ջոնսոնի սննդամիջավայրի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *Leptospirillum sp.* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, մեթիլեն կապույտի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, մանրէագերծիչ լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված ծորակային ջրի կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել մեթիլեն կապույտով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը ինչպես ցույց է տրված նկար 35-ում: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 16

Methanospirillum hungatei մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Archaea

Ֆիլում Euryarchaeota

Դաս Methanomicrobia

Կարգ Methanomicrobiales

Ընտանիք Methanospirillaceae

Ցեղ *Methanospirillum*

Տեսակ *M. hungatei*

Անատերոք պայմաններում սննդամիջավայրի մակերեսին առաջացնում են վառ կաթնագույնից մինչև վառ դեղին, կլոր, ուռուցիկ, թիակավոր եզրերով գաղութներ (նկար 97 Ա): Պարուրածն, 0.4-0.5 մկմ լայնությամբ և 7-10 մկմ երկարությամբ մեկական կամ շղթաներով դասավորված մանրէներ են (նկար 97 Բ): Շղթաների երկարությունը կարող է հասնել մի քանի հարյուր միկրոմետրի: Բջջիջները ծածկված են պատյանով: Էնդոսպորներ չեն առաջացնում: Ըստ Գրամի ներկվում են բացասական: Շարժում են շնորհիվ բևեռային մտրակների: Խիստ անատերոք են, մեթանաձին: Քենոլիթոավտոտրոֆ են: Որոշ շտամներ աճի համար պահանջում են սննդամիջավայրում ցիստեինի և ալետատի առկայություն: Էներգիան ստանում են անատերոք շնչառական գործընթացում, որն ուղեկցվում է մեթանի առաջացմամբ: Աճի ջերմաստիճանային օպտիմումը 35-45°C, pH-ը՝ 7-7.5: Ներառում են նաև թերմոֆիլ ձևեր:

Ազոտային ավտոտրոֆներ են, այսինքն՝ որպես ազոտի աղբյուր յուրացնում են ազոտի անօրգանական միացությունները, հիմնականում դիազոտրոֆ են: Հանդիպում են խոշոր եղջերավոր կենդանիների գանձակում, մետանտենկերում, երկրաջերմային աղբյուրներում և ոռոգման ջրերի տիղմում:



Նկար 97. *M. hungatei*-ի գաղութների պատկերը անաերոբ պայմաններում աճեցված ազարային սննդամիջավայրի մակերեսին (Ա), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *M. hungatei*-ի ֆիքսված պատրաստուկներ, լուսային մանրադիտակ, մայրիի յուղ, ֆիլտրի թուղթ, բենզին:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը:

Առաջադրանք 17

Haloarcula japonica մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում:

Դիտարկվող օբյեկտի համառոտ բնութագիրը

Դոմեն Archaea

Ֆիլում Euryarchaeota

Դաս Halobacteria

Կարգ Halobacteriales

Ընտանիք Halobacteriaceae

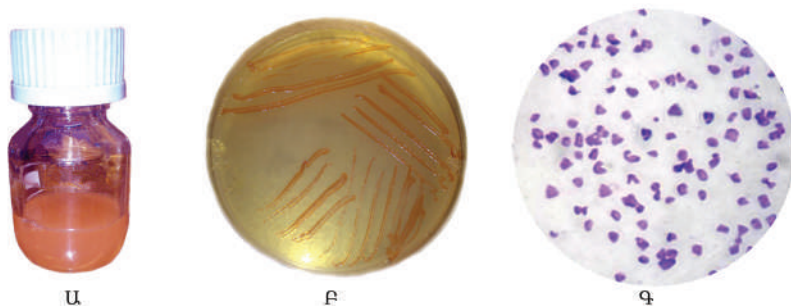
Ցեղ *Haloarcula*

Տեսակ *H. japonica*

Կազամիմաթթվային ազարացված պինդ սննդամիջավայրերի մակերեսին առաջացնում են կլոր, 0.2-3 մմ տրամագիծ ունեցող, հարթ եզրերով և մակերեսով, ուռուցիկ պրոֆիլով, լորձային գաղութներ, որոնց գույնը կախված սննդամիջավայրի կազմից և աճեցման պայմաններից կարող է փոխվել վարդագույնից նարնջագույնի (նկար 98 Ա):

Եռանկյունաձև, մեկական դասավորված մանրէներ են (նկար 98 Բ): Էքստրեմալ հալոֆիլներ են: Բնորոշվում են եռզլիցերիդ-2 փետային լիպիդների պարունակությամբ: Տարածված են աղի լճերում, աղի ծովերում, աղուտ-ալկալի հողերում և աղի հանքերի քարաղում: Աճի համար պահանջում են սննդամիջավայրում նվազագույնը 1.5 Մ NaCl-ի պարունակություն, իսկ աճի օպտիմում են դրսևորում 2-4.5 Մ աղի պայմաններում: Աճի ջերմաստիճանային տիրույթը 25-45°C:

Ֆակուլտատիվ անաերոբ են, էներգափոխանակությունը շնչառական տիպի է: Պլազմային թաղանթում պարունակում են կարոտինոիդների կովալենտ կապված բակտերիառոդոպսին (արքեառոդոպսին) սպիտակուցը, որը լույսի պայմաններում ծառայում է որպես պրոտոնային պոմպ և, դրանով իսկ, մասնակցում ԱԵՖ-ի սինթեզին: Իրականացնում են միայն իրենց մենահատուկ բակտերիոռոդոպսին կախյալ ֆոտոտրոֆ գործընթաց: Անաերոբ պայմաններում մթության մեջ էներգիայի կուտակման եղանակն անաերոբ շնչառությունն է (էլեկտրոնների վերջնական ակցեպտորն է NO_3^-): Անաերոբ պայմաններում կարող են իրականացնել նաև արգինինի և ցիտրուլինի խմորում:



Նկար 98. *H. japonica*-ի կուտակիչ կուլտուրան կազամինաթթվային հեղուկ սննդամիջավայրում (Ա), գաղութների պատկերը կազամինաթթվային ագարացված սննդամիջավայրի մակերեսին (Բ), բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Գ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *H. japonica* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սաքքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, մանրէագերծված պիպետներ, մանրէագերծված 20% NaCl-ի լուծույթ, 2%-ոց քացախաթթու, բյուրեղային վիոլետի լուծույթ, մայրիի յուղ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին կաթեցնել մանրէագերծված 20% NaCl-ի լուծույթի մեկ կաթիլ, ապա կաթիլում կախույթ ստանալու նպատակով տեղադրել հետազոտվող մանրէային բջիջների ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և մշակել 2 % քացախաթթվի լուծույթով 5 րոպե, ապա ներկել բյուրեղային վիոլետով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Աշխատանք 4

Մանրէների համակեցությունների կազմի ուսումնասիրությունը մանրադիտակային մեթոդներով

Բովանդակություն: Բնական համակեցություններ: Մածնի և բերանի խոռոչի միկրոբիոտայի ուսումնասիրությունը: Մածնի ֆիքսված պատրաստուկների պատրաստումը, մանրադիտակումը իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվների կիրառմամբ:

Ատամների վառի և քիմքի լորձաթաղանթի ֆիքսված պատրաստուկների պատրաստումը և մանրադիտակումը իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվների կիրառմամբ:

Առաջադրանք 1

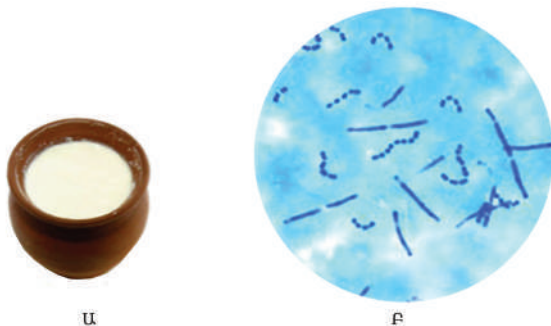
Մածնի միկրոբիոտայի ուսումնասիրությունը:

Մածնի միկրոբիոտա

Մածունը (գրաբար մածանել, մածնել - թանձրանալ, մակարդվել բառից) հայկական ավանդական կաթնամթերքն է, որն օժտված է բարձր կենսաքիմիական ակտիվությամբ և պարունակում է կենդանի կաթնաթթվային մանրէներ: Հարուստ է վիտամիններով և օրգանիզմի համար օգտակար բազմաթիվ տարրերով:

Մածունը որոշակի կաթնաթթվային մանրէների բնականորեն ձևավորված համակեցություն է, որի կազմում հայտնաբերվում են կաթնաթթվային մանրէներից *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* ցեղերի տեսակներ և տարբեր շաքարասնկեր (նկար 99):

Մածնում կաթնաթթվային բակտերիաները հարուցում են հետերոֆերմենտային խմորում, որի հետևանքով սննդամիջավայրում կուտակվում է կաթնաթթու, քաղախաթթու և էթանոլ: Մածունն օժտված է սպիտակուցները ճեղքելու ունակությամբ, հակաբակտերիական և լիպազային ակտիվությամբ: Մածնի բաղադրության մեջ մտնող կաթնաթթվային բակտերիաները ունակ են սինթեզելու սպիտակուցային բնույթ ունեցող հակաբիոտիկներ՝ բակտերիացիներ:



Նկար 99. Մածնից (Ա) պատրաստված պատրաստուկի մանրադիտակային պատկերը (1000×) (Բ):

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: Մածուն, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օղակ, ունեյի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, մեքիլեն կապույտի լուծույթ, մայրիի յուղ, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու մակերեսին մանրէագերծված մանրէաբանական օղակով տեղադրել հետազոտվող մածնի ոչ մեծ քանակություն, տարածել քսուքի ստացման համար, չորացնել, ֆիքսել և ներկել մեքիլեն կապույտի լուծույթով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իմերսիոն համակարգի 100 անգամ խոչորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Համեմատել պատրաստուկում տարբեր մանրէների ձևերը և չափսերը, նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 2

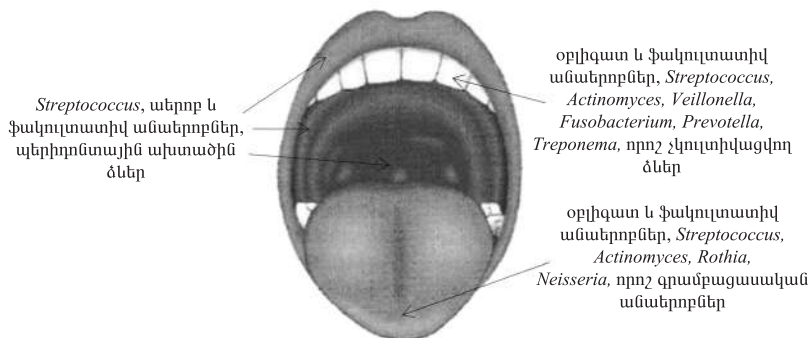
Բերանի միկրոբիոտայի ուսումնասիրությունը:

Բերանի խոռոչի միկրոբիոտան

Բերանի խոռոչի միկրոբիոտան չափազանց հարուստ է: Թքի կայուն ջերմաստիճանը, խոնավությունը, դրա թույլ հիմնային ռեակցիան, սննդի մնացորդները նպաստավոր պայմաններ են ստեղծում տարբեր մանրէների աճի և բազմացման համար: Մեկ միլիլիտր թուրքը պարունակում է տասնյակ միլիոնավոր աեքոբ և անաեքոբ մանրէներ, որոնց մի մասը բերանի խոռոչի մշտական բնակիչներն են (աուտոխտոն միկրոբիոտա), իսկ մյուս մասը՝ պատահական մանրէներ (ալոխտոն միկրոբիոտա): Մանրէներով հատկապես հարուստ են լնդերը և ատամների միջև եղած տարածությունները (նկար 100):

Մարդու բերանի միկրոբիոտայի մշտական ներկայացուցիչներից են ստրեպտոկոկերը՝ ներկայացված ֆակուլտատիվ անաեքոբ (*Streptococcus salivarius*, *S. mitis*, և կարիեսի հարուցիչը՝ *S. mutans*) և օբլիգատ անաեքոբ (*Peptostreptococcus*) ձևերով, ինչպես նաև գրամդրական թելանման մանրէներով (*Actinomyces viscosus*): Բերանի խոռոչի միկրոբիոտայում հայտնաբերվում են նաև լակտոբացիլներ, *Neisseria* և *Veillonella* ցեղերին պատկանող գնդաձև գրամբացասական մանրէներ, ինչպես նաև օբլիգատ անաեքոբ գրամբացասական ցուպիկներ, որոնք պատկանում են *Bacteroidaceae* ընտանիքին (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*): Բերանի խոռոչի մշտական միկրոբիոտայի կազմում ընդգրկված են նաև սպիրոխետների տարբեր տեսակներ՝ *Treponema denticola*, *T. orale*, *T. macrodenticum*, *Borrelia buccalis*, լեպտոսպիրաներ, միկոպլազմներ, նոկարդիաներ և զանազան մախակենդանիներ՝ *Entamoeba buccalis*, *E. dentalis*, *Trichomonas buccalis*: Բերանի խոռոչի պատահական միկրոբիոտային են պատկանում մաշկի և այլ լորձաթաղանթների վրա բնակվող կոմենսալները, արտաքին միջավայրից ներթափանցող բազմաթիվ սապրոֆիտներ և հիվանդ կամ վարակակիր մարդկանցից օղակաթիլային կամ սննդային ճանապարհով ներթափանցող այլ ախտածին մանրէներ: Բերանի խոռոչում բնակվելու բարձր հարմարվողական ունակությամբ օժտված են ստաֆիլակոկերը, ստրեպտոկոկերը, կորինեբակտերիաները, *Candida* ցեղի խմորասնկերը, հերպեսային վիրուսները, էպիդեմիկ պարոտիտի հարուցիչները և այլն:

Բերանի խոռոչի առաջնային միկրոբիոտան ձևավորվում է ծնընդաբերական ուղիներով պտղի անցման ընթացքում և ներկայացված է լակտոբացիլներով, էնտերոբակտերիաներով, կորինեբակտերիաներով, ստաֆիլակոկներով և միկրոկոկներով:



Նկար 100. Բերանի խոռոչի տարբեր հատվածներում մանրէների տեղաբաշխվածությունը:

Մանրէային կոպտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: Ատամնափառի կամ քիմքի լորձաթաղանթ, լուսային մանրադիտակ, քսուքի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէազերծված ատամի փայտիկներ կամ բամբակյա խծուծ, ունեղի, սպիրտայրոց, ճարպազերծված առարկայական ապակիներ, ֆուքսին, մայրիի յուղ, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրէազերծված ատամի փայտիկով վերցնել ատամնափառի (կամ բամբակյա խծուծով քիմքի լորձաթաղանթի) ոչ մեծ քանակություն և տեղադրել նախապես առարկայական ապակու վրա կաթեցված ջրի կաթիլում և տարածել այն համասեռ կախույթ ստանալու համար: Մտացված քսուքը չորացնել, ֆիքսել և ներկել ֆուքսինի լուծույթով: Այնուհետև լվանալ ծորակային ջրի բարակ շիթով, ֆիլտրի թղթով զգուշությամբ չորացնել պատրաստուկը: Մանրադիտակը նախապատրաստել աշխատանքի և մանրադիտակել պատրաստուկը (նախապես պատրաստուկի վրա ավելացնելով 1 կաթիլ մայրիի յուղ) լուսային մանրադիտակով իններսիս համակարգի 100 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվի կիրառմամբ: Համեմատել պատրաստուկում տարբեր մանրէների ձևերը և չափսերը, նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Աշխատանք 5

Տարբերակիչ ներկմամբ ֆիքսված պատրաստուկների պատրաստման մեթոդներ

Քովանդակություն: Բակտերիաների բջջապատի կառուցվածքը: Գրամդրական և գրամբացասական մանրէները: Բջջապատի ներկումը տարբերակիչ ներկմամբ:

Էնդոսպորներ, Էնդոսպոր առաջացնող մանրէներ: Սպորների ներկումը ըստ Պեշկովի տարբերակիչ ներկմամբ:

Պատիժ, դրա հայտնաբերումը ըստ Հինսի: Մտրակներ, տեղաբաշխվածությունը և հայտնաբերումը ըստ Պեշկովի մշակմամբ Լյոֆլերի մեթոդի: Պատրաստուկների մանրադիտակում իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվների կիրառմամբ:

Առաջադրանք 1

Բակտերիաների ներկումն ըստ Գրամի:

Բակտերիաների բջջապատի կառուցվածքի առանձնահատկությունները

Բջջապատի մոլեկուլային կառուցվածքի և քիմիական բաղադրության հետ է կապված բակտերիաների ունակությունը ներկվելու ըստ Գրամի: Այդ ներկումը, որն առաջարկել է դեռևս 1884 թ. դանիացի գիտնական Քրիստիան Գրամը, կարևոր տարբերակիչ հատկանիշ է, որը կապվում է բակտերիաների բազմաթիվ այլ հատկանիշների հետ: Ըստ Գրամի առաջարկած մեթոդի բակտերիաները բաժանվում են 2 խմբի՝ գրամդրական, որոնք ըստ այդ մեթոդի ներկելիս ներկվում են, և գրամբացասական՝ որոնք չեն ներկվում:

Ըստ Գրամի բակտերիաները ներկելիս կիրառում են անիլինային խմբի ներկերից մեթիլ վիոլետը (գենցիանային մանուշակագույն կամ բյուրեղային վիոլետ), որը յոդի հետ առաջացնում է ջրում չլուծվող, բայց սպիրտում լուծվող կոմպլեքսային միացություն: Գրամդրական բակտերիաների բջիջներում յոդի և մեթիլ վիոլետի կոմպլեքսն ամուր կապվում է բջջապատի և պլազմային թաղանթի հետ և բջիջները սպիրտով մշակելիս չի լուծվում, ուստի այդ բակտերիաները ներկվում են մանուշակագույն: Գրամբացասական բակտերիաների բջիջներում յոդի և մեթիլ վիոլետի կոմպլեքսը սպիրտով մշակելիս լուծվում է, և, հետևաբար, բջիջները գունազրկվում են:

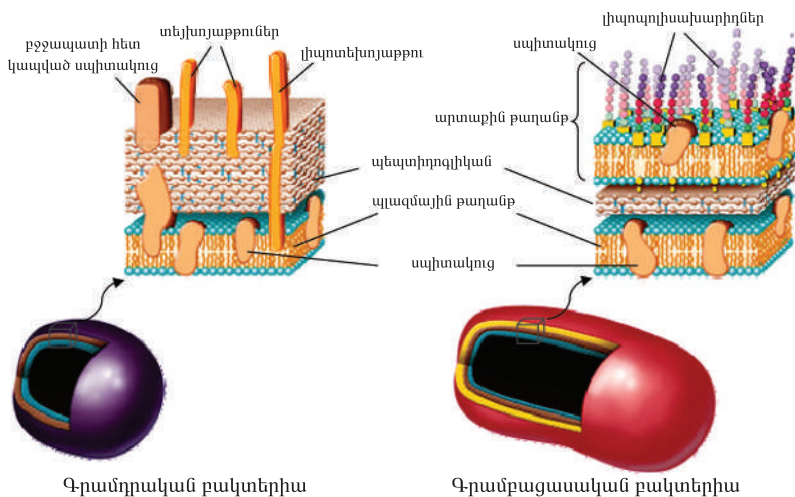
Գունագրկված բջիջները լրացուցիչ ֆուսինոլ կամ սաֆրանինոլ ներկելիս ձեռք են բերում վարդագույն գունավորում:

Որպես կանոն ըստ Գրամի ներկում են միայն երիտասարդ բջիջները, քանի որ յոդի և մեթիլ վիուլետի կոմպլեքսը պահելու ունակությունը կախված է բակտերիաների ֆիզիոլոգիական վիճակից:

Գրամդրական բակտերիաներից են *Clostridium*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Mycobacterium*, *Streptomyces*, *Bifidobacterium* և այլ ցեղերի ներկայացուցիչները:

Գրամբացասական մանրէներից են *Escherichia*, *Salmonella*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Rhodospirillum*, *Thermus* և այլ ցեղերի ներկայացուցիչները:

Գրամդրական և գրամբացասական բակտերիաների բջջապատի կառուցվածքային առանձնահատկությունները բերված են նկար 101-ում:

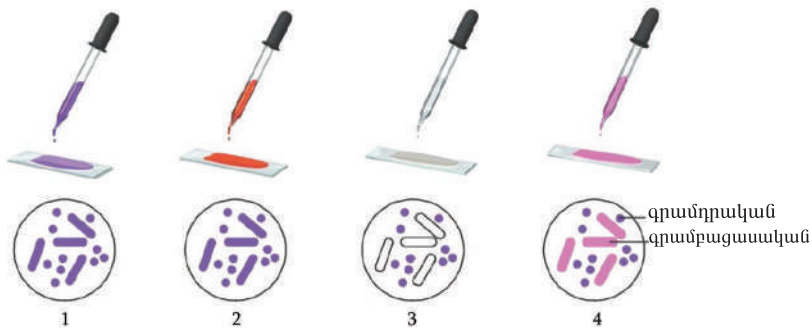


Նկար 101. Բակտերիական բջջապատի կառուցվածքը:

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *S. aureus*-ի, *E. coli*-ի մաքուր կուլտուրաներ, հետազոտվող որևէ մանրէի կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, սպիրտայրոց կամ գազայրոց, պատրաստուկի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, ճարպագրկված առարկայական սպակի, մանրէագերծված պլպետ-

ներ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, մեթիլ վիոլետի 1% ջրային լուծույթ, Լյուգոլի լուծույթ, սաֆրանինի 1-2% ջրային լուծույթ, 96% էթանոլ, ապակյա բաժակ, մայրիի յուղ, բենզին, մանրէագերծող լուծույթ:

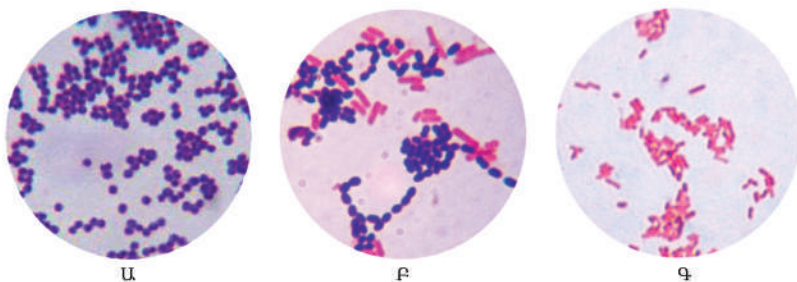
Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու վրա միաժամանակ պատրաստել 3 տարբեր բակտերիական կուլտուրաների քսուքներ՝ գրամդրական (*S. aureus*), գրամբացասական (*E. coli*) և դրանց միջև հետագոտվող կուլտուրա: Քսուքները չորացնել, ֆիքսել և պատրաստուկին ավելացնել մեթիլ վիոլետի 1% ջրային լուծույթ՝ թողնելով 2 րոպե (նկար 102), որից հետո ներկանյութը թափել և առանց լվանալու պատրաստուկին ավելացնել Լյուգոլի լուծույթ ($KI+I_2$) և թողնել 2 րոպե: Այնուհետև թափել Լյուգոլի լուծույթը, պատրաստուկը 15-20 վայրկյան ընկղմել 96% էթանոլի մեջ և անմիջապես լվանալ ջրի բարակ շիթով: Ապա պատրաստուկի վրա ավելացնել սաֆրանին և թողնել 2 րոպե, որից հետո լվանալ ջրի բարակ շիթով, չորացնել և մանրադիտակել՝ կիրառելով իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվները:



Նկար 102. Ներկման հաջորդականությունը ըստ Գրամի:

1. Ներկումը մեթիլ վիոլետով, 2. Ներկումը Լյուգոլի լուծույթով, 3. Գունազրկումը 96% սպիրտով, 4. Կրկնակի ներկումը սաֆրանինով:

Գրամդրական բակտերիաները ներկվում են մանուշակագույն, իսկ գրամբացասականները՝ վարդագույն կամ կարմիր (նկար 103):



Նկար 103. Մանրէների ներկումը ըստ Գրամի:

Ա) Գրամդրական մանրէ (*S. aureus*) (1000×), Բ) Հեղազուրվող բուրբ (1000×),
Գ) Գրամբացասական մանրէ (*E. coli*) (1000×):

Պարզել հետազոտվող քուբում մանրէների բջջապատի կառուցվածքը և նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:

Առաջադրանք 2

B. subtilis-ի էնդոսպորների ներկումը Պեշկովի մեթոդով:

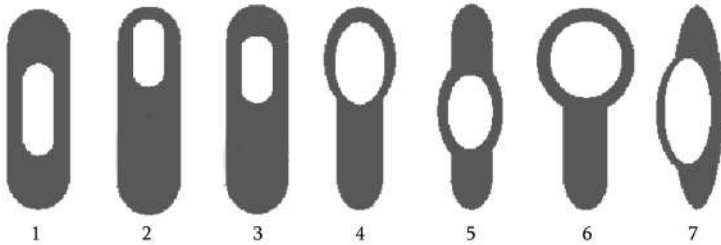
Էնդոսպորներ

Որոշ բակտերիաներ սննդանյութերի պակասին, նյութափոխանակության արգասիքների կուտակմանը, միջավայրի pH-ի և ջերմության փոփոխությանը և այլ գործոնների ազդեցությանը դիմակայելու համար առաջացնում են էնդոսպորներ: Յուրաքանչյուր վեգետատիվ բջջում առաջանում է մեկ էնդոսպոր: Էնդոսպորների առաջացումը ուղեկցվում է բջջի բարդ ֆիզիոլոգիական փոփոխություններով: Էնդոսպորները բավականին դիմացկուն են բարձր ջերմաստիճանի, չորացման, ճառագայթման և քիմիական նյութերի ազդեցության նկատմամբ: Էնդոսպորների ջերմակայունությունը պայմանավորված է ազատ ջրի քիչ քանակությամբ (մոտավորապես 15%) և միայն դրանցում հայտնաբերվող դիպիկոլինաթթվի (պիրիդին 2,6-երկկարբոնաթթու) կալցիումական աղով, որի սինթեզը բջջում նախորդում է էնդոսպորների առաջացմանը: Հասուն էնդոսպորը պատված է մի քանի շերտից բաղկացած ամուր թաղանթով:

Էնդոսպորների մեծությունը, ձևը (կլորավուն, ձվաձև, ձվածիր) և վեգետատիվ բջջում դրանց տեղադրությունը տարբեր է (նկար 104) և ունի կարգաբանական նշանակություն:

Հասուն էնդոսպորները երկար տարիներ պահպանում են իրենց ծլելու և վեգետատիվ բջիջների վերածվելու ունակությունը: Այսպես, *B. subtilis*-ի և *B. licheniformis*-ի էնդոսպորները հողում կարող են պահպանել իրենց կենսունակությունը 200-300 տարի, իսկ *B. coagulans*-ի էնդոսպորները՝ 50-100 տարի: Կենսունակ էնդոսպորներ են մեկուսացվել նաև հազարամյակների ընթացքում պահպանված բրածո կենդանիների դիակներից և եգիպտական մումիաներից:

Էնդոսպորներ առաջացնում են գրամդրական բակտերիաներից *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina*, *Thermoactinomyces*, *Desulfotomaculum* ցեղերի, իսկ գրամբացասականներից *Helibacter* ցեղի ներկայացուցիչները:



Նկար 104. Բակտերիաների վեգետատիվ բջջում էնդոսպորների տեղադրությունը և ձևը: 1. Կենդանական, առանց ուռչեցման (*B. megaterium*), 2. Ծայրային կամ բևեռային, առանց ուռչեցման (*B. thuringiensis*) 3. Ենթաձայրային կամ ենթաբևեռային, առանց ուռչեցման (*B. subtilis*) 4. Ծայրային կամ բևեռային ուռչեցմամբ (*B. macerans*), 5. Կենդանական ուռչեցմամբ՝ կլուսրիդիում (*B. polymyxa*), 6. Ծայրային կամ բևեռային, ուռչեցմամբ՝ պլեկուրիդիում (*B. sphaericus*), 7. Կողքային կամ լատերալ ուռչեցմամբ (*B. laterosporus*):

Էնդոսպորներին շրջապատող բավականին հաստ քաղանքը գրեթե անթափանցելի է ներկանյութերի համար, ուստի ներկման սովորական մեթոդների դեպքում դրանք չեն ներկվում: Էնդոսպորների հայտնաբերման համար կիրառվում են ներկման հատուկ տարբերակիչ մեթոդներ:

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *B. subtilis*-ի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, սպիրտայրոց կամ գազայրոց, պատրաստուկի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, ճարպագրկված առարկայական ապակի, մանրէազերծված պիպետներ, մանրէազերծված ծորակային ջուր, ըստ Լյոֆլերի մեթիլեն կապույտի ջրային լուծույթ, 0.5% չեզոք կարմիրի ջրային լուծույթ, մայրիի յուղ, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրէի կուլտուրայի ֆիքսված քսուրի վրա ավելացնել ըստ Լյոֆլերի մեթիլեն կապույտ ներկանյութը, տաքացնել սպիրտայրոցի բոցի վրա մինչև եռալը (10-15 վրկ), որից հետո սառեցնել, լվանալ ջրի բարակ շիթով և լրացուցիչ ներկել (30 վրկ) նեյտրալ կարմիրի 0.5% ջրային լուծույթով (նկար 105): Այնուհետև ներկանյութը թափել, պատրաստուկը լվանալ, չորացնել և մանրադիտակել՝ կիրառելով իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվը: Բակտերիաների վեգետատիվ բջիջները ներկվում են կարմիր կամ վարդագույն, էնդոսպորները՝ կապույտ: Նկարել գրանցամատյանում:

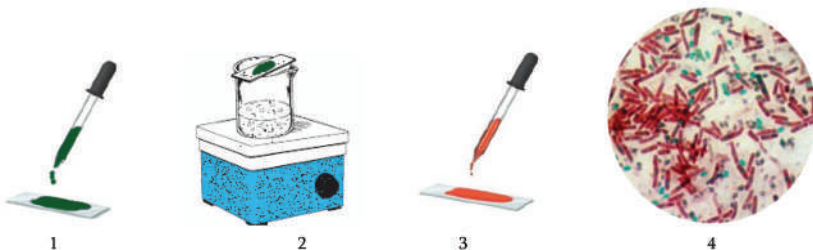
Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:



Նկար 105. Էնդոսպորների ներկման փուլերը ըստ Պեշկովի:

1. Ներկում Լյոֆերի մեթիլեն կապույտով, 2. Ջերմամշակում 10 վայրկյան, 3. Կրկնակի ներկում չեզոք կարմիրով, 4. Էնդոսպորների և վեգետարիվ բջիջների մանրադիտակային պարկերը (1000×):

Մեթիլեն կապույտի փոխարեն կարելի է օգտագործել մալաքիտային կանաչ: Այդ դեպքում նախապես ֆիքսված պատրաստուկի վրա պետք է ավելացնել 7.5% մալաքիտային կանաչի լուծույթ, տաքացնել 7-10 րոպե՝ տեղադրելով պատրաստուկը եռացող ջրով անոթի կամ սպիրտայրոցի բոցի վրա (նկար 106): Այնուհետև պատրաստուկը սառեցնել, լվանալ ջրի բարակ շիթով և 1-2 րոպե լրացուցիչ ներկել սաֆրանինի 0.25% ջրային լուծույթով: Դրանից հետո լվանալ պատրաստուկը, չորացնել և մանրադիտակել՝ կիրառելով իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվը: Բակտերիաների վեգետատիվ բջիջները ներկվում են վարդագույն, իսկ էնդոսպորները՝ կանաչ: Նկարել գրանցամատյանում: Պատրաստուկի մակերեսից ֆիլտրի թղթով հեռացնել յուղը և լվանալ առարկայական ապակին:



Նկար 106. Մալաքիտային կանաչով էնդոսպորների ներկման հաջորդականությունը:

1. Ներկում մալաքիտային կանաչով, 2. Ջերմամշակում ջրային բաղնիքի վրա 10 րոպե, 3. Կրկնակի ներկում սաֆրանինի 0.25% ջրային լուծույթով, 4. Էնդոսպորների և վեգետարիվ բջիջների մանրադիտակային պարկերը (1000×):

Առաջադրանք 3

A. chroococcum-ի պատիճի ներկումը Հինսի մեթոդով:

Պատիճի հայտնաբերումը

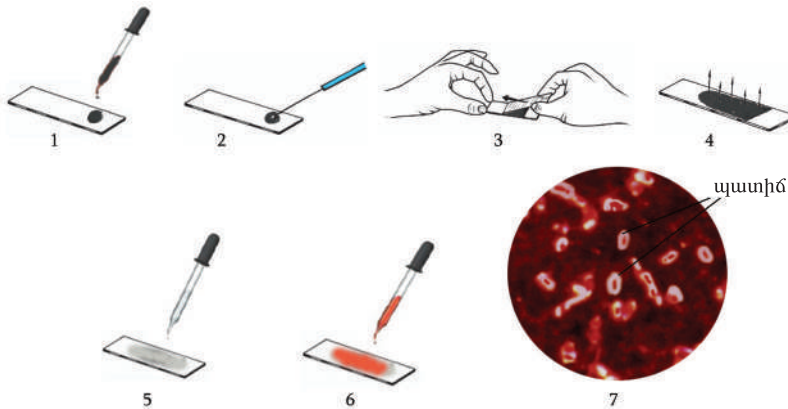
Պատիճը մանրէային բջջի կենսասինթեզի արգասիքն է, որը կուտակվում է բջջի շուրջ, ունի ամորֆ կառուցվածք և պահպանում է կապը բջջապատի հետ: Այն մանրէի համար կենսականորեն կարևոր նշանակություն չունի, բայց օժտում է բջջին որոշակի առանձնահատկություններով: Այսպես, օրինակ՝ պատիճի առկայությունը մի շարք ախտածին բակտերիաներին օժտում է ֆագոցիտոզի նկատմամբ կայունությամբ և դրանով մեծացնում դրանց վիրուլենտությունը: Պատիճի պոլիսախարիդները հանդես են գալիս որպես հակածիններ (K-հակածին): Պատիճը պահպանում է բակտերիաները չորացումից և խոչընդոտում ֆագերի ներթափանցմանը:

Բազմաթիվ մանրէների (օրինակ՝ *S. mutans*, *S. salivarius*, *L. mesenteroides*) պատիճը բազմաշաքարային բնույթ ունի: Հաճախ բազմաշաքարային հիմքով պատիճները բացի շաքարներից պարունակում են նաև ամինաթթուներ, 2-կետո-3-դեզօքսիզալակտոնաթթու, ուրոնային թթուներ, պիրոլիսադոլաթթու, քաջախաթթու: *Bacillus* ցեղի որոշ տեսակների պատիճը (օրինակ՝ *B. anthracis*, *B. subtilis*) ունեն պոլիպեպտիդային (պոլիգլյուտամինաթթվային) բնույթ:

Պատիճը հայտնաբերվում է հատուկ տարբերակիչ ներկման մեթոդներով այնպիսի ներկերի (նիգրոզին, կոնգո-կարմիր կամ չինական տուշ) կիրառմամբ, որոնք չեն ներթափանցում պատիճի մեջ, հետևաբար, պատիճը մուգ ֆոնում երևում է բջիջը շրջապատող բաց գույնի տեսքով:

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *A. chroococcum* մանրէի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, սպիրտայրոց կամ գազայրոց, պատրաստուկի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օղակ, ունեղի, ճարպագրկված առարկայական ապակի, մանրէազերծված պիպետներ, մանրէազերծված ծորակային ջուր, սև քանաք, 1:3 նոսրացմամբ Յիլի կարբոլային ֆուքսին, մայրիի յուղ, բամբակյա անձեռոցիկ, քսիլոլի կամ սպիրտի լուծույթներ, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու ծայրին տեղադրել սև քանաքի կաթիլ և մանրէաբանական օդակով այն խառնել *A. chroococcum*-ի երիտասարդ կուլտուրայի հետ: Առարկայական ապակու կամ ծածկապակու օգնությամբ ստացված կախույթը տարածել առարկայական ապակու ամբողջ մակերեսով: Քսուքը չորացնել և ֆիքսել 5-10 րոպե Նիկիֆորովի խառնուրդով կամ 3 րոպե մեթանոլով: Այնուհետև ներկել 1:3 նոսրացմամբ Յիլի կարբոլային ֆուրսինով 5 րոպե, որից հետո զգուշությամբ լվանալ և չորացնել (նկար 107): Մանրադիտակել և նկարել: Բակտերիաները ներկվում են կարմիր, իսկ չներկված պատիճները ցայտում երևում են պատրաստուկի մուգ ֆոնում: Նկարել գրանցամատյանում:



Նկար 107. Պատիճի ներկման հաջորդականությունը ըստ Հինսի:

1. Սև քանաքի կաթիլի տեղադրումն առարկայական ապակու ծայրին, 2. Մանրէաբանական օդակով մանրէային կուլտուրայի տեղադրում քանաքում, 3. Կախույթի տարածում, 4. Պատրաստուկի չորացում, 5. Ֆիքսում քաղաքչակ մեթանոլով, 6. Ներկում 1:3 նոսրացմամբ Յիլի կարբոլային ֆուրսինով, 7. Պատիճի և վեգետարիով բջիջների մանրադիտակային պատկերը (1000×):

Առաջադրանք 4

B. subtilis-ի մտրակների ներկումը Պեշկովի մշակմամբ Լյոֆլերի մեթոդով:

Մտրակների հայտնաբերումը

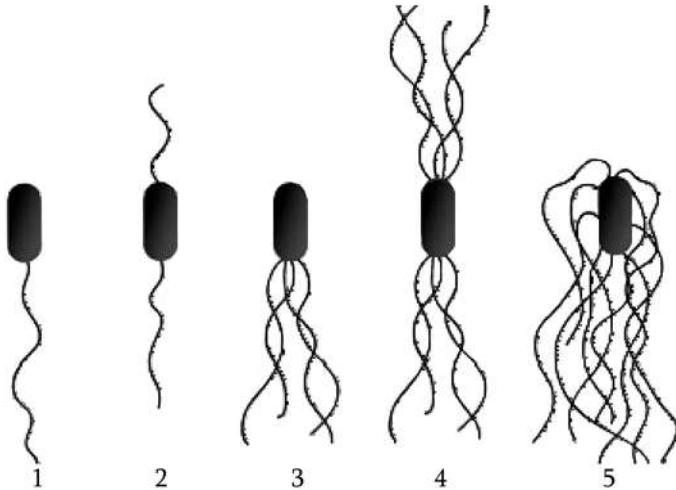
Մանրէների մեծամասնության շարժումը պայմանավորված է մտրակներով: Մտրակների շնորհիվ բակտերիաները զարգացնում են մեծ արագություն, օրինակ՝ *V. cholera*-ն կարող է զարգացնել մինչև 12 մմ/ր արագություն, այսինքն՝ մանրէն 1 րոպեում կարող է անցնել սեփական մարմնի երկարությունը 3000 անգամ գերազանցող տարածություն:

Տարբեր մանրէների մտրակների դասավորությունը բջջի մակերեսին և դրանց քանակությունը տարբեր է և ունի կարգաբանական նշանակություն (նկար 108): Չողածև բակտերիաների մտրակները կարող են դասավորվել բևեռային կամ կողքային: Միաբևեռ մտրակավորմամբ որոշ բակտերիաներ (օրինակ՝ *V. cholerae*) ունեն մեկ խոշոր մտրակ (միամտրակ կամ մոնոտրիխային): Միաբևեռ և երկբևեռ մտրակավորմամբ բակտերիաների մտրակային խուրճը կազմված է 2-50 մտրակներից (բազմամտրակ կամ պոլիտրիխային): Մտրակային խրճի միաբևեռ դասավորությունը կոչվում է լոֆոտրիխային (օրինակ՝ *Pseudomonas*), իսկ մտրակների և մտրակային խրճերի երկբևեռ դասավորությունը՝ ամֆիտրիխային (օրինակ՝ *Spirillum*): Որոշ բակտերիաների մտրակային խուրճը դասավորված է կողքային: Եթե մտրակները դասավորված են բակտերիայի ամբողջ մակերեսին (օրինակ՝ *E. coli*, *B. subtilis*), ապա դասավորությունը կոչվում է պերիտրիխային:

Բակտերիական մտրակը կազմված է ֆլագելին սպիտակուցից: Մտրակային սպիտակուցները հանդես են գալիս որպես հակաժիններ (H-հակաժին): Տարբեր բակտերիաների մտրակի հաստությունը տատանվում է 12-18 նմ սահմաններում, իսկ երկարությունը՝ մինչև 20 մկմ:

Բակտերիական մտրակը չափազանց բարակ է լուսային մանրադիտակով տեսնելու համար: Միայն շատ քիչ մանրէների, ինչպես, օրինակ՝ *Spirillum* ցեղի ներկայացուցիչների մտրակների խրճերը շատ հոծ են և դրանց հնարավոր է մանրադիտակել լուսային դաշտում փուլացայտերանգային համակարգի միջոցով կամ մութ դաշտում: Ուստի մանրէների մտրակները լուսային մանրադիտակով

տեսանելի դարձնելու համար դրանք պետք է ներկել դրա տրամագիծը մեծացնող հատուկ արծնիչ ներկերով: Մտրակների ներկման ընթացքը պահանջում է զգուշություն, քանի որ դրանք հեշտությամբ կոտրվում են, նույնիսկ կախույթի թույլ թափահարման դեպքում:



Նկար 108. Մտրակների դասավորությունը:

1. Մոնոտրիխային, 2 և 4. Անֆիտրիխային, 3. Լոֆոտրիխային, 5. Պերիտրիխային:

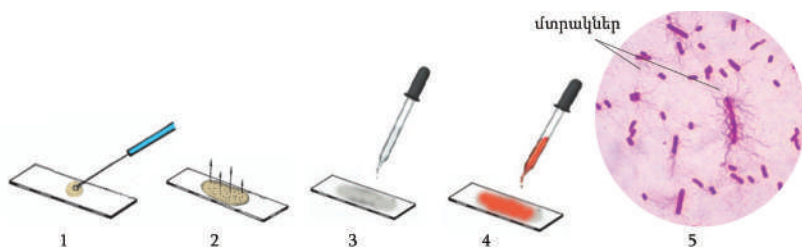
Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *B. subtilis*-ի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, սպիրտայրոց կամ գազայրոց, պատրաստուկի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունեղի, ճարպագրկված առարկայական ապակի, մանրէագերծված պիպետներ կամ Պաստերյան պիպետ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, արծնիչ նյութ, 1:3 նոսրացմամբ Յիլի կարբոլային ֆուքսին, մայրիկի յուղ, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: *B. subtilis*-ի թարմ կուլտուրայի բջիջները մանրէաբանական օդակով զգուշությամբ տեղավորել մանրէագերծ ջրով լցված սրվակի մեջ (ջրի ջերմաստիճանը պետք է համապատասխանի կուլտուրայի աճեցման ջերմաստիճանին): Քսուք պատրաստելուց առաջ հարկավոր է մանրադիտակել կախույթը և համոզվել, որ բջիջները շարժուն են, իսկ կախույթի խտությունը համապատասխանում է տեսադաշտում 5-10 բջիջներին:

Քսուքի պատրաստման ընթացքում բջիջները հեշտությամբ

կորցնում են մտրակները, ուստի անհրաժեշտ է ստուգել առարկայական ապակու մաքրությունը և դրա վրա զգուշությամբ տեղադրել բակտերիական կախույթը:

Քսուքի պատրաստումից անմիջապես առաջ առարկայական ապակին 3-4 անգամ անցկացնել սպիրտայրոցի բոցի վրայով, պահեցնել և Պաստերյան պիպետի կամ մանրէաբանական օղակի միջոցով ապակու վրա տեղադրել բակտերիական կախույթի 3-4 կաթիլ (նկար 109):



Նկար 109. Մտրակների ըստ Պեշկովի մշակմամբ Լյոֆլերի մեթոդով ներկման հաջորդականությունը:

1. Մանրէաբանական օղակով կենսազանգվածի փոքրադրում առարկայական ապակու վրա, 2. Պարբասարուկի չորացում, 3. Արծնիչի ավելացում, 4. Ներկում Ցիլի կարբոլային ֆուքսինով, 5. Մտրակների և վեզեյարիով բջիջների մանրադիփակային պարկերը (1000×):

Կաթիլները պետք է լավ տարածվեն ապակու երկայնքով և արագ չորանան: Չոր քսուքի վրա պետք է ավելացնել արծնիչ նյութ և հետևել որպեսզի այն չչորանա: 15 բույս հետո պատրաստուկը լվանալ թորած ջրով և ներկել Ցիլի ֆուքսինի նոսրացված լուծույթով՝ ընկղմելով պատրաստուկը ներկանյութի մեջ, և թողնել 5 բույս: Այնուհետև պատրաստուկը լվանալ ջրով, չորացնել և մանրադիտակել իմերսիոն համակարգով: Ուշադրություն դարձնել մտրակների դասավորությանը, քանակությանը և երկարությանը: Նկարել գրանցամատյանում:

Աշխատանք 6

Բջջային ներառուկների ուսումնասիրության մանրադիտակային մեթոդներ

Բովանդակություն: Մանրէների ցիտոգոլում կուտակվող տարբեր ներառուկներ: Գլիկոգենի, լիպիդների, պոլիֆոսֆատների և հարսպորային մարմնիկների հայտնաբերումը ներկմամբ: Պատրաստուկների մանրադիտակում չոր կամ իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվների կիրառմամբ:

Մանրէային ներառուկներ

Մանրէների ցիտոգոլում հայտնաբերվում են տարբեր ներառուկներ, որոնք կամ օգտագործվում են մանրէի կենսագործունեության ընթացքում, կամ նյութափոխանակության արգասիքներն են: Որոշ ներառուկներ ունեն հարմարողական բնույթ, իսկ մյուսները պաշարանյութեր են, որոնք բջջում կուտակվում են սննդամիջավայրում նյութերի ավելցուկի պայմաններում և օգտագործվում սննդամիջավայրում տվյալ նյութի բացակայության պայմաններում:

Բջջում գործառնության նշանակություն ունեցող ներբջջային ներառուկներից են, օրինակ՝ բակտերիաների քլորոսոմները և ֆիկոբիլիսոմները: Այս կառուցվածքները մեծ դեր ունեն ֆոտոսինթեզի գործընթացում, քանի որ դրանցում կենտրոնացված են բջջային գունանյութերը: Ֆոտոտրոֆ և քեմոլիթոտրոֆ բակտերիաների ցիտոպլազմում պարունակվող կարբօքսիսոմները ևս ունեն գործառնության բնույթ և պարունակում են CO_2 -ի ֆիքսումը կատալիզող ռիբուլոզա-դիֆոսֆատկարբօքսիլազ:

Բջջում հարմարողական դեր ունեցող ներառուկներից են մագնիսատոմները և գազային վակուոլները՝ աերոսոմները: Մագնիսատոմները կազմված են մագնետիտից (Fe_3O_4) կամ գրեիզիտից (Fe_3O_4) և պիրիտից (FeS_2), որոնց շնորհիվ բակտերիաները տեղաշարժվում են մագնիսական դաշտի ուղղությամբ: Աերոսոմները անհրաժեշտ են մանրէներին ջրի հատույթում տեղաշարժվելու համար: Մագնիսատոմներ հայտնաբերվել են երկաթով հարուստ և սուլֆիդային միջավայրերում բնակվող մանրէներում, ինչպես, օրինակ՝ *Aquaspirillum magnetotacticum*-ի բջիջներում: Աերոսոմներ հայտնաբերվել են միշարք գիանաբակտերիաների, ծիրանագույն և կանաչ ֆոտոտրոֆ բակտերիաների, ինչպես նաև *Halobacterium* և *Thiothrix* ցեղերի ներ-

կայացուցիչների բջիջներում:

Մանրէային պաշարանյութերից են բազմաշաքարները, ճարպերը, պոլիպեպտիդները, պոլիֆոսֆատները, ինչպես նաև ծծմբի կուտակումները թիոնային բակտերիաներում:

Առաջադրանք 1

Գլիկոգենային ներառուկների հայտնաբերումը *S. cerevisiae*-ի բջիջներում:

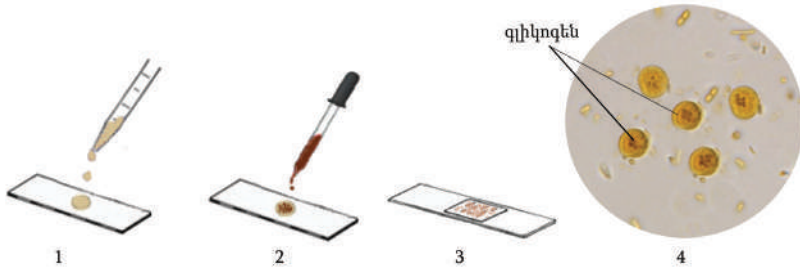
Ածխաջրային բնույթի ներառուկներ

Բազմաշաքարներից մանրէների ցիտոպլազմում հանդիպում են գլիկոգենը, օսլան և օսլայաման միացություն՝ գրանուլոզը: Վերջինիս կուտակումը բնորոշ է ամառերոբ մանրէներին, ինչպես, օրինակ՝ *Clostridium* ցեղի ներկայացուցիչներին: Բազմաշաքարների ներառուկները անբարենպաստ պայմաններում ծառայում են որպես ածխածնի և էներգիայի աղբյուր:

Բազմաշաքարները հայտնաբերում են հետազոտվող մանրէային կախույթը Լյուգոլի լուծույթով մշակմամբ: Գրանուլոզը և օսլան ներկվում են կապույտ, իսկ գլիկոգենը՝ կարմրադարչնագույն: Գլիկոգենը լավ է հայտնաբերվում թթվային միջավայրում:

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *S. cerevisiae*-ի կուլտուրային հեղուկ, լուսային մանրադիտակ, մանրէազերծված պիպետներ, ունելի, ճարպազրկված առարկայական ապակիներ և ծածկապակիներ, Լյուգոլի լուծույթ, սպիրտայրոց, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Առարկայական ապակու վրա կաթեցնել *S. cerevisiae*-ի բջջային կախույթ, ապա ավելացնել Լյուգոլի լուծույթ, ծածկել ծածկապակիով և մանրադիտակել չոր համակարգի օբյեկտիվով (նկար 110): Գլիկոգենը երևում է դարչնագույն հատիկների տեսքով:



Նկար 110. Գլխիկոցենի ներկման հաջորդականությունը:

1. *S. cerevisiae*-ի բջջային կախույթի տեղադրում առարկայական ապակու վրա, 2. Լյուգոլի լուծույթի ավելացում, 3. Պատրասարի պատրաստում, 4. Պատրաստումի մանրադիտակային պատկերը (400×):

Առաջադրանք 2

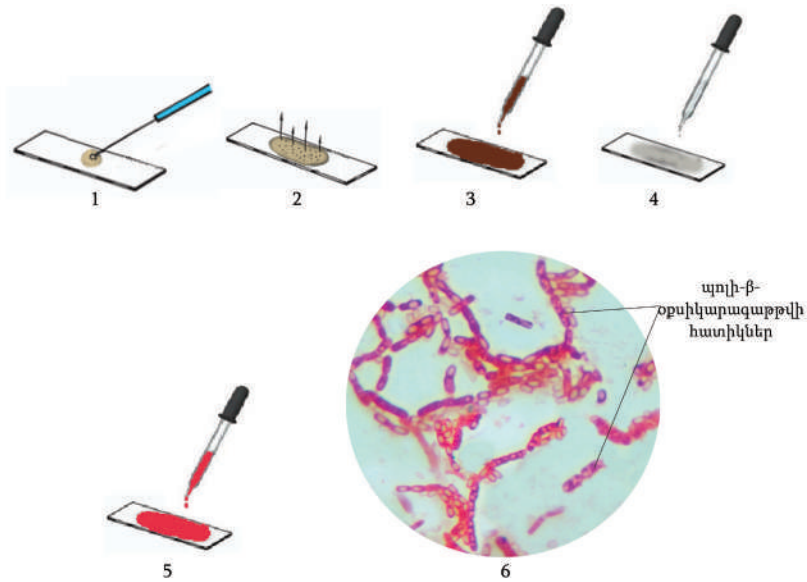
Լիպիդային ներառուկների հայտնաբերումը *B. megaterium*-ի բջիջներում:

Լիպիդային ներառուկներ

Լիպիդները կուտակվում են հատիկների տեսքով և լույսը կտրուկ բեկելու շնորհիվ լավ երևում են լուսային մանրադիտակում: Մանրէների մեծամասնության համար լիպիդային պաշարանյութերն իրենց ներկայացնում են β -օքսիկարագաթթվի պոլիմեր, որը կարող է կազմել բջջի չոր քաշի 70%-ը: Խմորասնկերի և միցելային սնկերի պաշարային լիպիդները ներկայացված են չեզոք ճարպերով: Լիպիդների կուտակումը բջջում տեղի է ունենում սննդամիջավայրում ածխաջրերի ավելցուկի և ազոտի անբավարարության պայմաններում: Լիպիդային պաշարանյութերն անբարենպաստ պայմաններում օգտագործվում են որպես ածխածնի և էներգիայի աղբյուր: Լիպիդային ներառուկների հայտնաբերման համար բջիջները ներկում են լիպոֆիլ ներկանյութերով՝ սուդան III-ով կամ սուդան սևով:

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *B. megaterium*-ի կուլտուրայի կախույթ, լուսային մանրադիտակ, պատրաստուկի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, ճարպագրկված առարկայական ապակիներ և ծածկապակիներ, մանրէազերծված պիպետներ, սուդան սևի լուծույթ, 0.1% սաֆրանինի ջրային լուծույթ, սպիրտայրոց, ապակյա բաժակ, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, քսիլոլ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Պատրաստել բջիջների բարակ քսուք, չորացնել և ֆիքսել: Քսուքի մակերեսին լցնել սուդան սևի լուծույթ և թողնել 5-15 րոպե (նկար 111): Ներկանյութի ավելցուկը թափել, պատրաստուկը չորացնել ֆիլտրի թղթով, այնուհետև գունաթափել՝ պատրաստուկը մի քանի անգամ ընկղմելով քսիլոլի մեջ: Գունաթափման տևողությունը չպետք է գերազանցի 1 րոպեն: Այնուհետև բջիջները լրացուցիչ ներկել 0.1% սաֆրանինի ջրային լուծույթով 10 վրկ: Սաֆրանինով ավելի երկարատև մշակումը ցանկալի չէ, քանի որ քողարկվում է հիմնական գունավորումը: Պոլի- β -օքսիկարագաթթվի հատիկները ներկվում են սև, բջջի մնացած մասը՝ վարդագույն:



Նկար 111. Պոլի-β-օքսիկարագաթքվի հատիկների ներկման հաջորդականությունը:

1. *B. megaterium*-ի քսուքի պատրաստում առարկայական ապակու վրա,
2. Քսուքի չորացում, 3. Քսուքի մշակում սուդան սևով, 4. Քսուքի գունաքափում քիլոլի լուծույթով, 5. Բջջիների ներկում 0.1% սաֆրանինի ջրային լուծույթով,
6. Վեգետարիվ բջջիներում պոլի-β-օքսիկարագաթքու հատիկների մանրադիտակային պատկերը (1000×):

Առաջադրանք 3

Պոլիֆոսֆատների հայտնաբերումը *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*-ի բջիջներում:

Պոլիֆոսֆատներ (վոլյուտին և մետաքրոմատին)

Պոլիֆոսֆատային ներառուկները կոչվում են մաս վոլյուտին-նային կամ մետաքրոմատինային հատիկներ: Վոլյուտինը պրոկարիոտների բջիջներում տեղակայված է ցիտոպլազմում, իսկ էուկարիոտների բջիջներում՝ վակուոլներում: Այն ծառայում է որպես ֆոսֆորի աղբյուր: Պոլիֆոսֆատները պարունակում են մակրոէրգիկ կապեր, որոնց շնորհիվ կարող են էներգիա պահեստավորել: Վոլյուտինային հատիկները որոշ ներկանյութերով (մեթիլենային կապույտ, տոլոլիդինային կապույտ) ներկելիս առաջացնում են գույնի փոփոխություն՝ մետաքրոմագիա (այստեղից էլ՝ մետաքրոմատինային հատիկներ անվանումը):

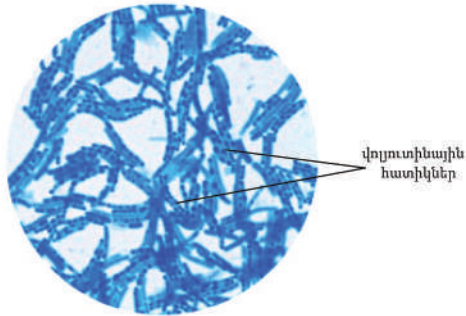
Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*-ի կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, պատրաստուկի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, ճարպագրկված առարկայական սպակի, մանրէագերծված պիպետներ, Լյոֆլերի մեթիլենային կապույտ, Յիլի կարբոլային ֆոքսին, 1% ծծմբական քթվի լուծույթ, ապակյա բաժակ, սպիրտայրոց, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*-ի կուլտուրայի ֆիքսված քսուքի վրա կաթեցնել Լյոֆլերի մեթիլենային կապույտ և ներկել 10 րոպե: Ներկանյութը թափել, պատրաստուկը լվանալ, չորացնել և մանրադիտակել իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվ:

Բջիջները ներկվում են կապույտ, իսկ վոլյուտինային հատիկները՝ մանուշակագույն-կարմիր (նկար 112):

Պոլիֆոսֆատները կարելի է հայտնաբերել մաս Օմեյանսկու մեթոդով: Դրա համար *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*-ի կուլտուրայի ֆիքսված քսուքի վրա կաթեցնել Յիլի կարբոլային ֆոքսին և ներկել 0.5-1 րոպե: Ներկը թափել, պատրաստուկը լվանալ և գունագրկել 1% H_2SO_4 -ի լուծույթով 20-30 վրկ: Թթուն թափել, պատրաստուկը լվանալ և լրացուցիչ ներկել մեթիլենային կապույտով (1:40) 20-30 վրկ: Պատրաստուկը լվանալ, չորացնել և մանրադիտակել իմերսիոն հա-

մակարգում: Կապույտ ցիտոպլազմի դաշտում վոլյուտինային հատիկները ներկվում են կարմիր:



Նկար 112. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*-ի բջիջներում վոլյուտինային հատիկների մանրադիտակային պատկերը (1000×):

Առաջադրանք 4

Հարսպորային ներառուկների հայտնաբերումը *B. thuringiensis*-ի բջիջներում:

Հարսպորային ներառուկներ

B. thuringiensis-ի և ցեղակից մի շարք տեսակների (*B. laterosporus*, *B. medusa*) էնդոսպորների առաջացումը զուգակցվում է հարսպորային ներառուկների կուտակմամբ: Սովորաբար այդ ներառուկները բաղկացած են մի քանի բազմագործառութային սպիտակուցներից, որոնք ազդում են որոշ անողնաշարավոր կենդանիների վրա՝ քայքայելով դրանց աղիքային էպիթելը: Այդ միջատասպան (էնտոմոստատիկ) մանրէների հիմքով ներկայումս ստեղծվել են պատրաստուկներ, որոնք հաջողությամբ կիրառվում են վնասատուների դեմ կենսաբանական պայքարում: Բջջում հարսպորային ներառուկները բրգաձև, շեղանկյունաձև, ռոմբաձև և անկանոն ձևի բյուրեղային կառուցվածքներ են: Դրանց ներկում են սպիտակուցների հետ լավ կապվող ներկանյութերով, օրինակ՝ ամիդաշվարցով կամ բջջի ներկման համար կիրառվող անիլինային սևով:

Հարսպորային ներառուկները կենդանի բջիջները փուլացայտեքանգային հարմարանքով լուսային մանրադիտակով մանրադիտակելիս երևում են ուժեղ լուսաբեկող հատիկների տեսքով: Հարսպորային ներառուկները կարելի է տեսանելի դարձնել հատուկ ներկման մեթոդով:

Մանրէային կուլտուրա և փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ պարագաներ: *B. thuringiensis*-ի մաքուր կուլտուրա, լուսային մանրադիտակ, պատրաստուկի չորացման համար նախատեսված սարքավորում, մանրէաբանական օդակ, ունելի, առարկայական ապակի, մանրէազերծված պիպետներ, անիլինային սև, սաֆրանինի լուծույթ կամ Յիլի ֆուքսին, սպիրտայրոց, ֆիլտրի թուղթ, բենզին, էթանոլ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Պատրաստել *B. thuringiensis*-ի քսուք, չորացնել օդում և ֆիքսել: Հետևելով, որպեսզի ներկանյութը չչորանա՝ ներկել անիլինային սևով և թողնել 1-2 րոպե: Զգուշությամբ լվանալ և ներկել Յիլի ֆուքսինով կամ սաֆրանինով 15-30 վայրկյան: Պատրաստուկը կրկնակի լվանալ, չորացնել և մանրադիտակել՝ կիրառելով իմերսիոն համակարգի օբյեկտիվը: Հարսպորային ներառուկները ներկվում են սև, իսկ բջիջները՝ վարդագույն:

Թեմա 2

Մանրէների աճեցման և մաքուր կուլտուրայի մեկուսացման մեթոդներ

Աշխատանք 1

Սննդամիջավայրերի պատրաստում և մանրէազերծում

Բովանդակություն: Սննդամիջավայրերի պատրաստում և մանրէազերծում (տե՛ս գլուխ 3): Մանրէազերծման մեթոդները, ավտոկլավացում և չոր մանրէազերծում, ծանոթացում ավտոկլավի և ջեռոցի միջոցով մանրէազերծման աշխատանքի կանոններին և սկզբունքներին (տե՛ս գլուխ 4): Սրվակների և անոթների բամբակյա խցանների պատրաստում, Պետրիի թասերի, պիպետների, մածկաթիակների մանրէազերծում (տե՛ս գլուխ 4):

Առաջադրանք 1

Սննդամիջավայրերի և անհրաժեշտ պարագաների մանրէազերծում:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

Մսապեպտոնային արգանակ կամ ՄՊԱ, թորած ջուր, չափանոթ, չափանշմամբ բաժակներ, սրվակներ (մեծ և փոքր), անոթներ (250 մլ), պիպետներ (1-2 մլ և 10 մլ), մածկաթիակներ, Պետրիի թասեր, խցանների պատրաստման համար բամբակ և թանգիֆ, լաբորատոր կշեռք, սննդամիջավայրի պատրաստման համար նախատեսված մագնիսական խառնիչ, ավտոկլավ, ջեռոց:

Աշխատանքի ընթացքը: Սրվակների և անոթների համար բամբակյա խցանները պատրաստել ինչպես նկարագրված է գլուխ 4-ում (տե՛ս նկար 20): Պետրիի թասերը և մածկաթիակները տեղավորել բյուքսերում և մանրէազերծել ջեռոցում 150°C ջերմաստիճանային պայմաններում, 3-4 ժամ: Պիպետները խցանել բամբակով, փաթաթել թղթե ժապավեններով (տե՛ս գլուխ 4), խցաններով անոթների և սրվակների հետ միասին մանրէազերծել ավտոկլավացմամբ 1 ամճ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

200 մլ ՄՊԱ-ն պատրաստում են հետևյալ եղանակով: Չափանոթի միջոցով համապատասխան քանակությամբ թորած ջուրն ավելացնել ապակյա բաժակի մեջ, տեղավորել մագնիսը և բաժակը տեղադրել մագնիսական խառնիչի վրա (նկար 113):



Ա



Բ

Նկար 113. Մագնիսական խառնիչ (Ա) և լաբորատոր կշեռք (Բ):

Կշռել համապատասխան քանակությամբ սննդամիջավայր և ավելացնել պարբերաբար խառնվող թորած ջրին: Ազար-ազարի լուծման համար միացնել նաև խառնիչի տաքացուցիչը: Ազար-ազարի ամբողջությամբ լուծվելուց հետո սննդամիջավայրից 5-ական մլ ավելացնել 10 սրվակների մեջ (շեղակների ստացման համար), իսկ մնացած 150 մլ-ը լցնել անոթում, կամ 25-ական մլ մեծ սրվակներում: Մսապեպտոնային արգանակը պատրաստել նույնությամբ և 100-ական մլ լցնել անոթների մեջ: 5 սրվակների մեջ 9-ական մլ լցնել ծորակային ջուր և սննդամիջավայրի հետ մանրէազերծել ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

Սննդամիջավայրի բաղադրությունը, պատրաստման եղանակը և մանրէազերծման պայմանակարգը գրանցել գրանցամատյանում:

Աշխատանք 2

Էլեկտիվ սննդամիջավայրերի պատրաստում: Մանրէների կուտակիչ կուլտուրայի ստացում

Քովանդակություն: Սննդամիջավայրերի պատրաստում և մանրէազերծում (շարունակություն): Տարբեր տիպի նյութափոխանակությամբ օժտված մանրէների կուտակիչ կուլտուրաների ստացման էլեկտիվ պայմանները (տե՛ս գլուխ 6): Աերոբ էնդոսպոր առաջացնող և դիագնոտորֆ մանրէների կուտակիչ կուլտուրաների ստացումը և աճեցման պայմանները:

Առաջադրանք 1

Աերոբ էնդոսպոր առաջացնող մանրէների կուտակիչ կուլտուրայի ստացումը:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: Հող, մանրէազերծված մսապեպտոնային արգանակ (100 մլ), ծորակային ջուր պարունակող սրվակներ, պիպետներ (1-2 մլ և 10 մլ), ինչպես նաև լաբորատոր կշեռք, ջրային բաղնիք, ջերմաչափ, ջերմապահարան, թափահարիչ:

Աշխատանքի ընթացքը: Լամինար բոքսում, մանրէազերծ պայմաններում կշռել 1 գ հող, լցնել 9 մլ մանրէազերծված ծորակային ջուր պարունակող սրվակի մեջ: Լավ թափահարել և պաստերացնել ջրային բաղնիքում ($60-80^{\circ}\text{C}$ ջերմաստիճանային պայմաններում 10-15 րոպե): Պաստերացման ընթացքում հողում գտնվող մանրէների վեգետատիվ բջիջները ոչնչանում են, իսկ էնդոսպորները՝ պահպանվում: Այնուհետև 1 մլ պաստերացված հողային կախույթը մանրէազերծված պիպետով ավելացնել 100 մլ մսապեպտոնային արգանակ պարունակող անոթի մեջ և աճեցնել ջերմապահարանում, թափահարիչի վրա, 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում 1-5 օր:

Սննդամիջավայրի բաղադրությունը, պատրաստման եղանակը, մանրէազերծման պայմանակարգը և կուլտիվացման պայմանները գրանցել գրանցամատյանում:

Առաջադրանք 2

Աերոբ դիազոտոբի կամ ազոտ ֆիքսող մանրէների կուտակիչ կուլտուրայի ստացումը:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: Մանրէների մեկուսացման համար սուրստրատ (հող), սննդամիջավայրի պատրաստման համար՝ մանիտ, K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $NaCl$, K_2SO_4 , $CaCO_3$, ագար-ագար, թորած ջուր, չափանոթ, չափանշմամբ բաժակ, անոթ (250 մլ), Պաստերյան պիպետներ, Պետրիի թասեր, լաբորատոր կշեռք, սննդամիջավայրի պատրաստման համար նախատեսված մագնիսական խառնիչ, ավտոկլավ, ջերմապահարան:

Աշխատանքի ընթացքը: Պատրաստել էշբիի սննդամիջավայրը հետևյալ բաղադրությամբ (գ/լ). մանիտ 20, K_2HPO_4 0.2, $MgSO_4$ 0.2, $NaCl$ 0.2, K_2SO_4 0.1, $CaCO_3$ 5, ագար-ագար 15, թորած ջուր (պատրաստման ընթացքն իրականացնել վերոհիշյալ եղանակով): Սննդամիջավայրը մանրէազերծել ավտոկլավացմամբ (1 ամհ պայմաններում 20 րոպե): Տաք սննդամիջավայրը լցնել մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ և թողնել մինչև սննդամիջավայրի պնդանալը: Այնուհետև մանրէազերծված ապակյա մագանոթների միջոցով սննդամիջավայրի մակերեսին միմյանցից որոշակի հեռավորությամբ տեղադրել գնդասեղի գլխիկի մեծությամբ 10-15 հողի կնձիկներ: Թասերը փակել և տեղադրել ջերմապահարան ($30^{\circ}C$)՝ ինկուբացնելով 3-5 օր:

Սննդամիջավայրի բաղադրությունը, պատրաստման եղանակը, մանրէազերծման պայմանակարգը և կուլտիվացման պայմանները գրանցել գրանցամատյանում:

Աշխատանք 3

Մանրէների մաքուր կուլտուրաների մեկուսացում

Բովանդակություն: Մանրէների մաքուր կուլտուրա, մանրէների կուտակիչ կուլտուրայից մաքուր կուլտուրայի մեկուսացման մեթոդները, միայնակ գաղութների ստացում (տե՛ս գլուխ 6):

Առաջադրանք 1

Աշխատանք 2-ում ստացված կուտակիչ կուլտուրաների մանրադիտակային հետազոտությունը և մաքուր կուլտուրայի ստացումը Ռ. Կոլսի և նոսրացող գծերի մեթոդով:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

Աերոբ էնդոսպոր առաջացնող և դիագնոստիկ մանրէների կուտակիչ կուլտուրաներ, լուսային մանրադիտակ, մանրէաբանական օդակ, ունեյի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ծածկապակիներ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի բուրբ, մանրէագերծված ՄՊԱ, Էշբիի սննդամիջավայր, պիպետներ (1-2 մլ), մածկաթիակներ, Պետրիի թասեր, ինչպես նաև ջերմապահարան, ապակյա բաժակ, սպիրտ:

Աշխատանքի ընթացքը: Հետազոտել առաջացած մանրէների կուտակիչ կուլտուրաները: Աերոբ էնդոսպոր առաջացնող մանրէների կուտակիչ կուլտուրայում մանրէների առկայության մասին վկայում է սննդամիջավայրի պղտորությունը, իսկ աերոբ դիագնոստիկ մանրէների կուտակիչ կուլտուրայի առաջացման մասին վկայում է սննդամիջավայրի մակերեսին հողային կնձիկների շուրջ առաջացած լորձային, երբեմն մուգ շագանակագույն գունավորում ունեցող գաղութները: Սննդամիջավայրում մանրէների առկայությունը հաստատելու համար կուտակիչ կուլտուրաներից պատրաստել կենդանի պատրաստուկ ճզմված կաթիլի մեթոդով և մանրադիտակել լուսային մանրադիտակի 40 անգամ խոշորացնող օբյեկտիվով: Ստացված արդյունքները աղյուսակ 11-ի ձևով գրանցել գրանցամատյանում:

Աղյուսակ 11.

Կուտակիչ կուլտուրայի սրաքման պայմանները և աճի ցուցանիշները

Կուտակիչ կուլտուրա	Աճեցման պայ- մանները և սննդա- միջավայրը	Աճի տեսա- ների ցուցա- նիշները	Մանրադիտակում և բջջի ձևաբանական առանձնահատկու- թյունները
Աերոբ էնդոսպոր առաջացնող մանրէներ			
Աերոբ, դիագոտրոֆ մանրէներ			

Կուտակիչ կուլտուրաներից մանրէների մեկուսացման համար նախապես մանրէագերծված համապատասխան պինդ սննդամիջավայրերը (ՄՊԱ և Էշբիի սննդամիջավայր) եռացող ջրային բաղնիքում կամ միկրոալիքային վառարանում հալեցնել, պաղեցնել մինչև 50°C, լցնել մանրէագերծված Պետրիի թասերի մեջ և սննդամիջավայրի վրա կոնդենսացված ջրի կաթիլները չորացնելու նպատակով տեղադրել ջեռոց (50-60°C պայմաններում 10-15 րոպե):

ՄՊԱ-ի մակերեսին պիպետով ավելացնել աերոբ սպորառաջացնող մանրէների կուտակիչ կուլտուրա 1 մլ ծավալով և Դրիգալսկու մանրէագերծ ապակյա մածկաթիակով այն լավ տարածել սննդամիջավայրի ողջ մակերեսով: Այնուհետև այդ նույն մածկաթիակը սահեցնել հաջորդաբար երկրորդ, ապա երրորդ, անհրաժեշտությամբ դեպքում նաև չորրորդ թասում լցված սննդամիջավայրի մակերեսով (տե՛ս նկար 40):

Էշբիի սննդամիջավայրի մակերեսին մանրէաբանական օդակով տարածել աերոբ դիագոտրոֆ մանրէների կուտակիչ կուլտուրայից կենսազանգվածն ինչպես ցույց է տրված նկար 41-ում:

Թասերը տեղավորել ջերմապահարան 30°C ջերմաստիճանային պայմաններում աերոբ սպորառաջացնող և դիագոտրոֆ մանրէների աճեցման համար: Մանրէներն աճեցնել 1-5 օր: Աճեցման պայմանները և տևողությունը գրանցել գրանցամատյանում:

Աշխատանք 4

Օդային ավազանի միկրոբիոտայի ուսումնասիրություն

Բաց և փակ տարածքների օդում մանրէների քանակական և որակական կազմը զգալիորեն տարբերվում է: Բնակելի շենքերում օդում մանրէների, այդ թվում՝ ախտածին տեսակների թվաքանակը ավելի մեծ է, քան մթնոլորտային օդում: Օդի մանրէային կազմը ձևավորվում է հողային մանրէներով, որոնք բնորոշվում են արտաքին միջավայրի անբարենպաստ տարբեր գործոնների՝ չորացման, արեգակնային լույսի ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների, ջերմաստիճանային տատանումների նկատմամբ բարձր կայունությամբ: Սովորաբար օդից մեկուսացվում են *Micrococcus* ցեղի ներկայացուցիչները, *B. subtilis*, *B. cereus* var. *mycoides*, *B. mesentericus*, *Actinomyces* ցեղի տարբեր տեսակների բակտերիաները, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* և այլ ցեղերի սնկերը:

Փակ տարածքների սանիտարական վիճակը գնահատելիս, կախված հետազոտության նպատակից, որոշում են մանրէների ընդհանուր թիվը, սանիտարացուցանիշային մանրէների՝ ստաֆիլակոկների, α - և β -արյունալույծ ստրեպտոկոկների առկայությունը, որոնք մարդու քիթընկալային միկրոբիոտայով աղտոտման ցուցանիշներն են: Բժշկական ստացիոնարների՝ վիրահատարանների կամ ծնարանների օդը հետազոտելիս հիմնական ուշադրությունը դարձնում են ներհիվանդանոցային վարակների հարուցիչների՝ ախտածին ստաֆիլակոկների, կապտաթաթախային ցուպիկի և այլ գրամ-բացասական պայմանական ախտածինների հայտնաբերման վրա:

Օդի միկրոբիոտայի հետազոտման համար կիրառվող մեթոդներից է նստեցումը կամ սեղիմենտացիայի մեթոդը (հայտնի է նաև Կոխի մեթոդ անվամբ): Այն հիմնված է բաց վիճակում Պետրիի թասում լցված սննդամիջավայրի մակերեսին ծանրության ուժի շնորհիվ բակտերիական մասնիկների և կաթիլների նստեցման վրա: Սովորաբար մանրէների թվի հաշվարկը կատարվում է ըստ Օմեյյանսկու մեթոդի, համաձայն որի 100 սմ² պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին 5 բույերում նստում են այնքան մանրէներ, որքան մանրէ պարունակվում է 10 լ օդում: Սակայն այս մեթոդը սահմանափակ կիրառություն ունի և ճիշտ է կիրառել միայն փակ տարածքների օդի ուսումնասիրության համար:

Ներկայումս կիրառվում են օդի մանրէաբանական հետազոտությունների մի շարք այլ մեթոդներ, օրինակ՝ ֆիլտրման, օդային հոսքի

կամ գոլորշիով մանրէային աերոզոլների նստեցման մեթոդներ:

Առաջադրանք 1

Փակ տարածքների օդի մանրէաբանական կազմի որոշումը նստեցման (սեդիմենտացիայի) մեթոդով:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

Մանրէազերծված Պետրիի թասեր, 40-50 մլ ՄՊԱ, 25 և 37°C ջերմաստիճաններով ջերմապահարաններ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրէազերծված Պետրիի թասերում լցնել մանրէազերծված ՄՊԱ, թողնել, որպեսզի սննդամիջավայրը պնդանա, այնուհետև բաց վիճակում տեղավորել հետազոտվող տարածքում 20 րոպե: Եթե անհրաժեշտություն կա որոշելու օդի սանիտարացուցանչային մանրէների կազմը, ապա Պետրիի թասերը տեղավորում են այնպիսի բարձրության վրա, որը համապատասխանում է նստած կամ կանգնած մարդու շնչառության մակարդակին: Այնուհետև Պետրիի թասերը փակել և տեղավորել 25 և 37°C ջերմաստիճաններով ջերմապահարաններում, 1-7 օր: Աճեցումից հետո հաշվել երկու թասերում աճած գաղութների գումարային քանակությունը: Այն դեպքում, երբ գաղութների թիվը պակաս է 250-ից, օդը համարվում է մաքուր, 250-500՝ միջին կարգի աղտոտված, իսկ եթե գաղութների թիվը գերազանցում է 500՝ շատ աղտոտված:

Աշխատանք 5

Ջրային էկոհամակարգերի միկրոբիոտայի ուսումնասիրություն

Ջուրը մանրէների կենսագործունեության համար բնական կենսամիջավայր է: Ջրային էկոհամակարգերում մանրէների քանակական և որակական կազմը կախված է ջրի քիմիական կազմից, ջերմաստիճանից, pH-ից, գազերի քանակությունից, լուսային ճառագայթների ներթափանցումից, սեզոնային փոփոխություններից, ջրային ֆլորայից և ֆաունայից և այլն: Ջրի միկրոբիոտայում տարբերում ենք մանրէների երկու խումբ՝ ավտոխտոն և ալոխտոն: Ավտոխտոն մանրէները ջրի միկրոբիոտայի մշտական բնակիչներն են, իսկ ալոխտոն մանրէները՝ միկրոբիոտայի պատահական կամ ժամանակավոր ներկայացուցիչներն են, որոնք ներթափանցում են, օրինակ՝ հոսքաջրերի հետ: Ալոխտոն մանրէների մեծամասնության զարգացման համար ջուրը նպաստավոր կենսամիջավայր չէ, այդ պատճառով ջուր ներթափանցելուց կարճ ժամանակ հետո դրանք ոչնչանում են:

Քաղցրահամ ջրավազանների՝ գետերի և լճերի միկրոբիոտան հիմնականում ձևավորվում է շրջապատող հողային միկրոբիոտայից, ինչպես հոսքաջրերով ներթափանցող մանրէներով: Ջրի միկրոբիոտան հիմնականում ներկայացնում են *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Spirillum*, *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Bacillus* և այլ ցեղերի ներկայացուցիչները, ինչպես նաև մի շարք ջրիմուռները (դիատոմային և կանաչ) և նախակենդանիները:

Ծովերի և օվկիանոսների միկրոբիոտան համեմատաբար աղքատ է և ներկայացված է հիմնականում հալոֆիլ մանրէներով: Ծովերում և օվկիանոսներում մանրէների տեղաբաշխվածությունը տարբեր խորություններում տարբեր է:

Ուրույն մանրէաբանական կազմ ունեն նաև երկրաջերմային աղբյուրները և ստորերկրյա ջրային ավազանները:

Ջրի մանրէաբանական կազմը ուսումնասիրվում է որոշակի ծավալով ջրի ֆիլտրմամբ ստացված մանրէային զանգվածի կամ ջրի նմուշի տարբեր սննդամիջավայրերում ցանքի մեթոդով:

Առաջադրանք 1

Գետի ջրի մանրէաբանական կազմի որոշումը Կոխի մեթոդով:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

Գետի ջուր, մանրէազերծված 9-ական մլ ծորակային ջուր պարունակող սրվակներ, պիպետներ (1-2 մլ և 10 մլ), Պետրիի թասեր, 40-50 մլ ՄՊԱ, ինչպես նաև լաբորատոր կշեռք, 25 և 37°C ջերմաստիճաններով ջերմապահարաններ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրէազերծված ՄՊԱ լցնել Պետրիի թասերի մեջ, թողնել սենյակային ջերմաստիճանում մինչև պնդանալը, այնուհետև չորացնել մակերեսը: Լամինար բոքսում, մանրէազերծ պայմաններում 1 մլ գետի ջուրը մոսրացնել մինչև 10⁶ անգամ: Լավ քափահարել և յուրաքանչյուր մոսրացումից ստացված կախույթից 1 մլ մանրէազերծված պիպետի միջոցով ավելացնել Պետրիի թասերում ՄՊԱ-ի մակերեսին, տարածել մածկաքիակով և թասերը կափարիչով դեպի վեր տեղավորել 25 և 37°C ջերմաստիճաններով ջերմապահարաններ 1-5 օր: Նախապես Պետրիի թասերի վրա նշել հետազոտվող նմուշի անվանումը, մոսրացման չափը, աճեցման պայմանները և ամսաթիվը:

Օգտագործված սննդամիջավայրի բաղադրությունը, մոսրացումների հաջորդականությունը, ցանքի եղանակը և կուլտիվացման պայմանները գրանցել գրանցամատյանում: Աճեցումից հետո հաշվել թասերում աճած գաղութների գումարային քանակությունը:

Աշխատանք 6

Մանրէների կուլտուրային և ձևաբանական հատկանիշների բնութագրում

Բովանդակություն: Բնական աղբյուրներից մեկուսացված մանրէների որոշ կուլտուրային և ձևաբանական հատկանիշների բնութագրումը (տե՛ս գլուխ 7): Մանրէների կարգաբանական խմբի որոշման սկզբունքները:

Առաջադրանք 1

Գաղութների նկարագրություն և մանրադիտակային հետազոտում:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

Լուսային մանրադիտակ, մանրէաբանական օղակ, ունելի, սպիրտայրոց, ճարպագերծված առարկայական ապակիներ, ծածկապակիներ, մանրէագերծված ծորակային ջուր, ֆիլտրի թուղթ, մանրէագերծված ՄՊԱ-ով շեղակներ, ջերմապահարան:

Աշխատանքի ընթացքը: Սննդամիջավայրի մակերեսին աճած գաղութներից ընտրել 1-2-ը և նկարագրել հաշվի առնելով ձևը (տե՛ս նկար 52), չափը կամ տրամագիծը, մակերեսը, պրոֆիլը (տե՛ս նկար 53), փայլը և թափանցիկությունը, գույնը, եզրը (տե՛ս նկար 54), կառուցվածքը (տե՛ս նկար 55), կազմությունը կամ կոնսիստենցիան: Գաղութից մանրէաբանական օղակի միջոցով վերցնել կենսազանգված և ցանել ազարացված սննդամիջավայրի մակերեսին այնպես, ինչպես ցույց է տրված նկար 6-ում: Նույն մանրէաբանական օղակի միջոցով պատրաստել կենդանի պատրաստուկ ճզմված կաթիլի մեթոդով և մանրադիտակել լուսային մանրադիտակով: Ուշադրություն դարձնել մանրէների շարժունակությանը, բջիջների ձևին և դասավորվածությանը: Ցանքերը տեղադրել ջերմապահարան 25 և 37°C պայմաններում: Արդյունքները (աղյուսակ 12) գրանցել գրանցամատյանում:

Թեմա 3

Մանրէների քանակական հաշվարկման մեթոդներ

Որոշ հետազոտություններում անհրաժեշտ է որոշել մանրէների քվաքանակը: Մանրէների քվաքանակի արագ որոշման մեթոդներից է պոտորաչափական եղանակը: Սակայն պոտորաչափական եղանակով ստացված տվյալները անհրաժեշտ է նախապես համապատասխանեցնել այլ մեթոդների կիրառմամբ ստացված տվյալների հետ: Դրանցից են Կոխի մեթոդն ու Գորյանսկի-Տոմի խցիկում մանրէների քվաքանակի որոշման մեթոդները:

Աշխատանք 1

Մանրէների քվաքանակի որոշում Կոխի մեթոդով

Առաջադրանք 1

S. cerevisiae-ի կախություն բջիջների թվի որոշումը Կոխի մեթոդով (տե՛ս գլուխ 6):

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: *S. cerevisiae*-ի մեկօրյա կուլտուրա, մանրէազերծված 3 Պետրիի քաս, 9-ական մլ մանրէազերծված ծորակային ջուր պարունակող 6 սրվակ, 75 մլ ածիկային քաղցու (տե՛ս հավելված 1), ազար-ազար, ջերմապահարան, 0.1 և 1 մլ պիպետներ, մածկաթիակ, սպիրտայրոց:

Աշխատանքի ընթացքը: Պատրաստել 75 մլ ածիկային քաղցու 1.5% ազար-ազարի պարունակությամբ և մանրէազերծումից հետո լցնել 3 Պետրիի քասերի մեջ: Պնդանալուց հետո սննդամիջավայրի մակերեսը չորացնել ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների տակ 15 րոպե: Նախապես աճեցված մանրէի 1մլ կուլտուրան նոսրացնել 9 մլ մանրէազերծված ֆիզիոլոգիական լուծույթում (կամ ծորակային ջրում): Կատարել հաջորդական նոսրացումներ, ինչպես ցույց է տրված նկար 46-ում, մինչև սկզբնական լուծույթը նոսրանա 10⁶ անգամ: Յուրաքանչյուր նոսրացումից հետո սրվակի պարունակությունը լավ խառնել: Յուրաքանչյուր հաջորդ նոսրացումն իրականացնել մանրէազերծված նոր պիպետի օգնությամբ: Վերջին նոսրացումներից 0.1-ական մլ մանրէազերծված պիպետով տեղափոխել Պետրիի քասերում գտնվող սննդամիջավայրի մակերեսին: Տարածել մանրէազերծված մածկաթիակով: Կարելի է օգտագործել մեկ մանրէազերծված մածկաթիակ, եթե տարածումը սկսում են առավել նոս-

րացված մնուշից: Պետրիի թասերը տեղավորել ջերմապահարանում համապատասխան ջերմաստիճանային պայմանում, 3-5 օր: Պետրիի թասերը անհրաժեշտ է ջերմապահարանում տեղավորել հատակով դեպի վեր խուսափելու համար սննդամիջավայրի մակերեսին կոնդենսատի տարածումից:

Հաջորդ դասին հաշվարկել աճած գաղութ առաջացնող միավորների (ԳԱՄ) թիվը և բանաձևով վերահաշվարկել 1 մլ կախույթում եղած կենդանի բջիջների թվաքանակը (տե՛ս գլուխ 6):

Աշխատանք 2

Մանրէների թվաքանակի որոշում պոտորաչափական մեթոդով

Առաջադրանք 1

S. cerevisiae-ի կախություն բջիջների թվի որոշումը սպեկտրալուսաչափական եղանակով:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

S. cerevisiae-ի մեկօրյա կուլտուրա, 9-ական մլ մանրեագերծված ծորակային ջուր պարունակող 6 սրվակներ, 75 մլ ածիկային քաղցու, ջերմապահարան, 0.1 և 1 մլ պիպետներ, սպիրտայրոց, սպեկտրալուսաչափ, կյուվետներ, բամբակյա անձեռոցիկ, ֆիլտրի թուղթ, մանրեագերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Նախորդ փորձում պատրաստված մոսրացումներից 0.1-ական մլ ավելացնել սրվակներում գտնվող 5 մլ ածիկային քաղցուին և տեղավորել ջերմապահարանում 30°C ջերմաստիճանային պայմանում 3-5 օր: Յուրաքանչյուր սրվակից 1 մլ կախույթ տեղափոխել 0.5 սմ³ կյուվետների մեջ և չափել օպտիկական խտությունը ($\lambda=595$ նմ):

Ճշգրիտ տվյալների դեպքում օպտիկական խտությունը տատանվում է 0.1-0.6 սահմաններում: Այն դեպքում, երբ մանրէների խտությունը գերազանցում է 0.6-ը, կարող է տեղի ունենալ լույսի կրկնակի ցրում, որը կարող է տվյալների արհեստական նվազեցման պատճառ դառնալ: Այդ պատճառով բարձր խտությունների կախությունները մոսրացնում են մանրեագերծված ջրով 2, 4, 6, 8 կամ 10 անգամ:

Ստացված տվյալները համեմատել Կոխի մեթոդով ստացված տվյալների հետ:

Աշխատանք 3

Մանրէների թվաքանակի որոշում Գորյակի-Տոմի խցիկի կիրառմամբ

Առաջադրանք 1

S. cerevisia-ի կախություն բջիջների թվի որոշումը Գորյակի-Տոմի խցիկի կիրառմամբ:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

Աշխատանք 2-ում ստացված *S. cerevisiae*-ի կուլտուրայի նոսրացումներ, 0.1 մլ պլաեթներ, Գորյակի-Տոմի խցիկներ, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, ֆիլտրի թուղթ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Աշխատանքում օգտագործել նախորդ փորձում *S. cerevisiae*-ի կախությից պատրաստված նոսրացումները: Յուրաքանչյուր սրվակից 0.1-ական մլ կախույթ տեղափոխել Գորյակի-Տոմի խցիկի մեջ և հաշվել բջիջները: Բջիջները հաշվում են ցանցի մեծ վանդակներում՝ օգտագործելով 40× խոշորացնող օբյեկտիվը: 1 մլ համապատասխան կախություն բջիջների թվաքանակը հաշվարկել բանաձևով (տե՛ս գլուխ 6):

Ստացված տվյալները գրանցել ստորև բերված աղյուսակում: Օգտագործելով աղյուսակ 13-ում բերված տվյալները՝ կառուցել համադրելի կոր: Աբսցիսի վրա նշել բջիջների թվաքանակը, օրդինատի վրա՝ համապատասխան կախության օպտիկական խտությունը: Համադրելի կորը կառուցում են բջիջների թվաքանակի արագ որոշման համար՝ հիմնվելով միայն սպեկտրալուսաչափական տվյալների վրա:

Աղյուսակ 13.

Գորյակի-Տոմի խցիկի, պոպորաչափական և Կոխի եղանակներով որոշված շաքարասնկերի բջիջների թվաքանակը

Ցուցանիշ	Կախության համարը							
	1	2	3	4	5	6	7	և այլն
Բջիջների թվաքանակը, մլն/մլ (M)								
Օպտիկական խտությունը								
ԳԱՄ, մլն/մլ								

Թեմա 4

Մանրէների կենսաքիմիական հատկությունների ուսումնասիրության մեթոդներ

Աշխատանք 1

Մանրէների հիդրոլազային ֆերմենտների ուսումնասիրությունը

Բովանդակություն: Մանրէների հիդրոլազային ֆերմենտների ընտրության համար համապատասխան սուբստրատ պարունակող սննդամիջավայրերի պատրաստում: Հետազոտվող մանրէների գծային ցանք սննդամիջավայրի մակերեսին, աճեցում և հիդրոլիտիկ ակտիվության որոշում (տե՛ս գլուխ 7):

Մանրէային ֆերմենտներ

Մանրէային ֆերմենտները ըստ քաղանքային կառույցների հետ կապվածության լինում են արտաբջջային և ներբջջային: Մանրէների ֆերմենտային համակարգի ամբողջական նկարագրման համար ուսումնասիրվում է և՛ կենսազանգվածում, և՛ կուլտուրային հեղուկում ֆերմենտների ակտիվությունը: Սակայն անհրաժեշտ է հաշվի առնել, որ սննդամիջավայրում կարող են պարունակվել ինչպես արտաբջջային, այնպես էլ ներբջջային ֆերմենտներ, որոնք արտազատվում են մահացած բջիջների լիզիսի հետևանքով:

Ֆերմենտների բարձրակտիվ պատրաստուկների ստացման համար անհրաժեշտ է իմանալ մանրէների աճեցման այն պայմանները, որոնք նպաստավոր են տվյալ ֆերմենտի կենսասինթեզի և ակտիվության համար: Եթե ուսումնասիրման օբյեկտի ֆիզիոլոգիան հետազոտված չէ, ցանկալի է կուլտուրայի ֆերմենտային ակտիվությունը ուսումնասիրել աճի էքսպոնենցիալ փուլում:

Մանրէային ծագման հիդրոլազային ֆերմենտները (ամիլազ, լիպազ, պրոտեազ) լայն կիրառություն են գտել արտադրության տարբեր ոլորտներում: Մանրէաբանական հետազոտություններում հաճախ հիդրոլազային ֆերմենտների ակտիվ արտադրիչ մանրէների որոնման և ընտրության խնդիրներ են դրվում:

Առաջադրանք 1

Լիպազային ակտիվության որոշումը:

Մանրէային լիպագներ

Լիպազը դասվում է այն էսթերազների խմբին, որոնք կատալիզում են գլիցերինի բարդ էսթերների հիդրոլիզը, որի հետևանքով առաջանում են գլիցերին ու ճարպաթթուներ: Մանրէները սինթեզում են ինչպես ներ-, այդպես էլ արտաբջջային լիպագներ:

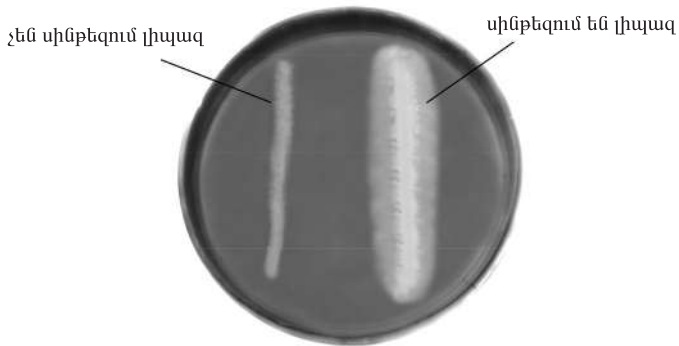
Ճարպեր քայքայելու ունակությամբ օժտված են մի շարք մանրէներ՝ բակտերիաներ, բորբոսասանկեր (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Endomyces*) և շաքարասանկեր (*Candida*):

Մանրէների լիպազային ակտիվությունը դիտվում է միջավայրի pH-ի լայն տիրույթում:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: Հետազոտվող մանրէային մաքուր կուլտուրա, պեպտոն, NaCl, $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, տվին, ազար-ազար, թորած ջուր, չափանոթ, չափանըմամբ բաժակներ, լաբորատոր կշեռք, մագնիսական խառնիչ, Պետրիի թասեր, մանրէաբանական օղակ, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, ավտոկլավ, ջերմապահարան, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Լիպոլիպազային ակտիվության դրսևորման համար պատրաստել համապատասխան սննդամիջավայրը հետևյալ բաղադրությամբ (գ/լ). պեպտոն 10, NaCl 5, $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.1, տվին 10, ազար-ազար 20, pH 7.4: Սննդամիջավայրը պատրաստել առանց տվինի և մանրէազերծել ավտոկլավացմամբ (1 ամն պայմաններում 20 րոպե): Տվինի ջրային լուծույթը համապատասխան խտությամբ մանրէազերծել ավտոկլավում 0.5 ամն պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում, որից հետո մանրէազերծ պայմաններում ավելացնել մանրէազերծված սննդամիջավայրին: Տաք սննդամիջավայրը լցնել մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ, թողնել մինչև պնդանալը և չորացնել մակերեսը: Ուսումնասիրվող մանրէային կուլտուրաները բծերով ցանել սննդամիջավայրի մակերեսին: Աճեցնել մանրէների աճի համար օպտիմալ ջերմաստիճանային պայմաններում 1-7 օր: Լիպազային ակտիվության մասին կարելի է դատել գաղութի կամ մանրէի ցանքի հետագծով աճած զանգվածի շուրջը տվինի քայքայումից առաջացած ճարպաթթուների կալցիումական աղերի ոչ թափանցիկ գոտիների մեծությամբ (նկար 114): Քանոնով չափել

յուրաքանչյուր կուլտուրայի շուրջ առաջացած ոչ թափանցիկ գոտու մեծությունը: Ստացված արդյունքները, սննդամիջավայրի բաղադրությունը, պատրաստման եղանակը, մանրէագերծման պայմանակարգը և աճեցման պայմանները գրանցել գրանցամատյանում:



Նկար 114. Մանրէների լիպագային ակտիվության հայտնաբերումը:

Առաջադրանք 2

Ամիլազային ակտիվության որոշումը:

Մանրէային ամիլազներ

Ամիլազները օսլան ու գլիկոգենը ճեղքող ֆերմենտներ են, որոնց կարելի է դասակարգել երկու՝ էնդո- և էկզոամիլազներ խմբի: Էնդոամիլազներից α -ամիլազը (1,4- α -D-գլյուկանգլյուկանահիդրոլազ կամ գլիկոգենազ) ճեղքում է օսլան՝ հիդրոլիզելով ամիլոզում և ամիլոպեկտինում առկա 1,4- α -կապերը: Օսլայի հիդրոլիզը ուղեկցվում է ցածրամոլեկուլային օլիգոշաքարների, α -դեքստրինների, մալտոզի և գլյուկոզի առաջացմամբ: Էկզոամիլազներից β -ամիլազը (1,4- α -D-գլյուկանմալտահիդրոլազ) օսլայի հիդրոլիզն իրականացնում է շղթայի ծայրից՝ ճեղքելով յուրաքանչյուր երկրորդ 1,4- α -կապերը, որի արդյունքում առաջանում են մալտոզ և β -դեքստրիններ:

α -ամիլազը, ի տարբերություն β -ամիլազի, ջերմակայուն ֆերմենտ է և իր ակտիվությունը երկար ժամանակ պահպանում է 70°C ջերմաստիճանում, բայց զգալուն է թթվային pH-ի նկատմամբ և pH 3.3 արժեքում արագ կորցնում է ակտիվությունը:

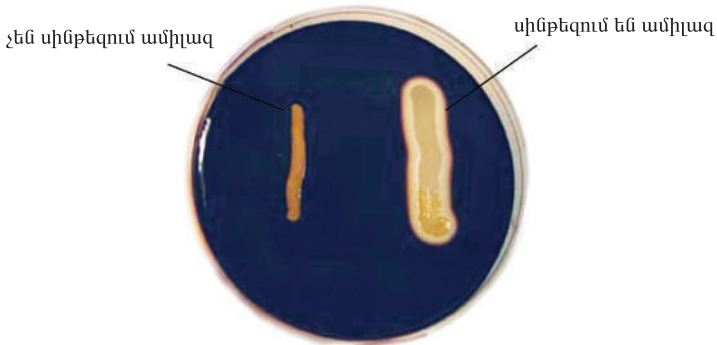
Ամիլազների ակտիվ արտադրիչներ են բորբոսասնկերը (*Aspergillus*) և բակտերիաները (*Bacillus*):

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: Հետազոտվող մանրէային մաքուր կուլտուրա, օսլա, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl , CaCO_3 , ագար-ագար, թորած ջուր, չափանոթ, չափանշմամբ բաժակներ, լաբորատոր կշեռք, մագնիսական խառնիչ, Պետրիի թասեր, մանրէաբանական օդակ, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, ավտոկլավ, ջերմապահարան, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Պատրաստել ամիլազային ակտիվության որոշման համար համապատասխան սննդամիջավայր հետևյալ բաղադրությամբ (գ/լ). օսլա 10, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2, K_2HPO_4 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1, NaCl 1, CaCO_3 3, ագար-ագար 20, pH 7.4: Սննդամիջավայրը մանրէազերծել ավտոկլավացմամբ (1 ամն պայմաններում 20 րոպե): Տաք սննդամիջավայրը լցնել մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ, թողնել մինչև պնդանալը և չորացնել մակերեսը: Ուսումնասիրվող մանրէային կուլտուրաները բծերով ցանել սննդամիջավայրի մակերեսին: Աճեցնել մանրէների աճի համար օպտիմալ

ջերմաստիճանային պայմաններում 1-7 օր:

Օսլայի հիդրոլիզը հայտնաբերելու համար աճած կուլտուրայով սննդամիջավայրի մակերեսը մշակել 3-5 մլ Լյուգոլի լուծույթով: Ամիլազային ակտիվության մասին վկայում է մանրէի աճի շուրջ թափանցիկ գոտիների առաջացումը, մինչդեռ Պետրիի թասի մակերեսը ամբողջությամբ ներկվում է կապույտ գույնի (նկար 115): Քանոնով չափել յուրաքանչյուր կուլտուրայի շուրջ առաջացած թափանցիկ գոտու մեծությունը: Ստացված արդյունքները, սննդամիջավայրի բաղադրությունը, պատրաստման եղանակը, մանրէագերծման պայմանակարգը և աճեցման պայմանները գրանցել գրանցամատյանում:



Նկար 115. Մանրէների ամիլազային ակտիվության հայտնաբերումը:

Առաջադրանք 3

Կազեինալիտիկ և ժելատինազային ակտիվության որոշումը:

Մանրէային պրոտեազներ

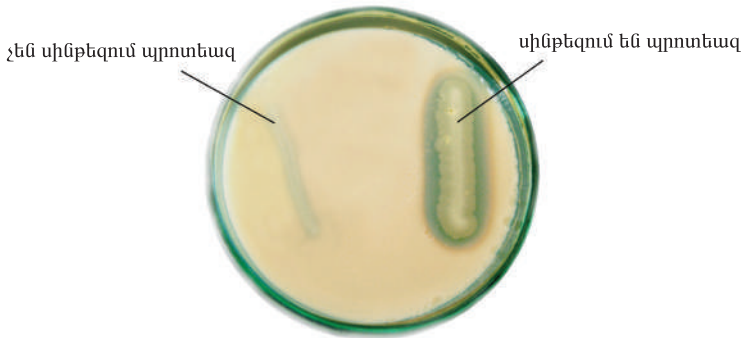
Պրոտեազները, ճեղքելով պեպտիդային կապերը, հիդրոլիզում են սպիտակուցները և պոլիպեպտիդները: Կախված հիդրոլիզվող սուբստրատի կառուցվածքից տարբերում են պրոտեինազներ, պոլիպեպտիդազներ և երկպեպտիդազներ: Պրոտեինազները հիդրոլիզում են չբնափոխված սպիտակուցները՝ առաջացնելով պեպտիդներ: Պոլիպեպտիդազները և երկպեպտիդազները հիդրոլիզում են, համապատասխանաբար, պոլիպեպտիդները և դիպեպտիդները՝ առաջացնելով ամինաթթուներ:

Պրոտեազներ սինթեզում են մի շարք մանրէներ՝ բացիլները, ակտինոմիցետները, միցելային սնկերը և այլն: Պրոտեազների ակտիվության ուսումնասիրման համար որպես սուբստրատ օգտագործում են ժելատինը կամ կազեինը:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: Հետազոտվող մանրէային մաքուր կուլտուրա, մսապեպտոնային արգանակ, ժելատին, ճարպագրկված կաթի փոշի, ագար-ագար, թորած ջուր, չափանոթ, չափանշմամբ բաժակներ, լաբորատոր կշեռք, մագնիսական խառնիչ, Պետրիի թասեր, մանրէաբանական օղակ, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, ավտոկլավ, ջերմապահարան, մանրէազերծող լուծույթ:

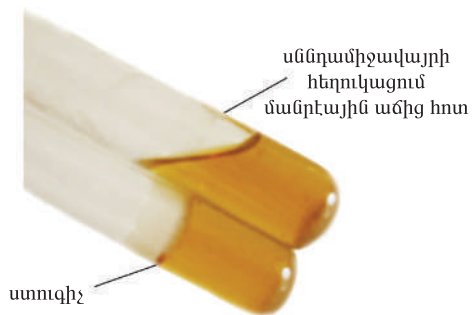
Աշխատանքի ընթացքը: Կազեինալիտիկ ակտիվության դրսևորման համար պատրաստել համապատասխան սննդամիջավայր հետևյալ բաղադրությամբ (գ/լ). ճարպագրկված կաթի փոշի 100, ագար-ագար 20, pH 7.4: Կաթը և ագար-ագարը պատրաստել առանձին և մանրէազերծել ավտոկլավում 1 ամն պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում: Կաթի խտությունը խիտ լուծույթում չպետք է գերազանցի 15%-ը: Մանրէազերծված սննդամիջավայրերը մանրէազերծ պայմաններում խառնել, լցնել մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ, թողնել մինչև պնդանալը և չորացնել մակերեսը: Ուսումնասիրվող մանրէային կուլտուրաները գծային ցանքի մեթոդով ցանել սննդամիջավայրի մակերեսին: Աճեցնել մանրէների աճի համար օպտիմալ ջերմաստիճանային պայմաններում 1-7 օր: Կազեինալիտիկ ակտիվության մասին կարելի է դատել մանրէի աճի շուրջ առաջա-

ցած քափանցիկ գոտիներով (նկար 116): Քանոնով չափել յուրաքանչյուր կուլտուրայի շուրջ առաջացած քափանցիկ գոտու մեծությունը: Ստացված արդյունքները, սննդամիջավայրի բաղադրությունը, պատրաստման եղանակը, մանրէազերծման պայմանակարգը և աճեցման պայմանները գրանցել գրանցամատյանում:



Նկար 116. Մանրէների կազեինալիտիկ ակտիվության հայտնաբերումը:

Ժելատինազային ակտիվության դրսևորման համար պատրաստել համապատասխան սննդամիջավայր հետևյալ բաղադրությամբ. մսապեպտոնային արգանակ 100 մլ, ժելատին 10-15 գ, pH 7.4: Սննդամիջավայրը 5 մլ-ական լցնել սրվակների մեջ և մանրէազերծել ավտոկլավում 1 ամժ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում: Ուսումնասիրվող մանրէային կուլտուրաները ցանել մանրէաբանական ասեղով ներարկման մեթոդով: Աճեցնել մանրէների աճի համար օպտիմալ ջերմաստիճանային պայմաններում 1-7 օր: Ժելատինազային ակտիվության մասին վկայում է սննդամիջավայրի հեղուկացումը ստուգիչի համեմատ (նկար 117): Ստացված արդյունքները, սննդամիջավայրի բաղադրությունը, պատրաստման եղանակը, մանրէազերծման պայմանակարգը և աճեցման պայմանները գրանցել գրանցամատյանում:



Նկար 117. Մանրէների ժելատինազային ակտիվության դրսևորումը:

Թեմա 5

Մանրէների փոխհարաբերության ձևերի և հակաբիոտիկների նկատմամբ զգայունության ուսումնասիրության մեթոդներ

Աշխատանք 1

Մանրէների փոխհարաբերության ձևերի ուսումնասիրությունը

Բովանդակություն: Տարբեր մանրէների միջև փոխհարաբերության ուսումնասիրությունը փոխտոլղահայաց գծային ցանքի մեթոդով (տե՛ս գլուխ 7):

Մանրէների միջև փոխհարաբերության ձևերը

Բնական համակեցություններում տարբեր մանրէների միջև փոխհարաբերության ձևերը տարբեր են: Համակեցությունում երկու և ավելի մանրէների սերտ և երկարաժամկետ զարգացումը անվանվում է սիմբիոզ: Այն փոխհարաբերության ձևը, երբ սիմբիոզում մանրէներից մեկը ստեղծում է նպաստավոր պայմաններ երկուսի զարգացման համար էլ, անվանվում է մուտուալիզմ: Այն դեպքում, երբ սիմբիոզում մի մանրէն օգտագործում է մյուսին իր զարգացման համար, անվանվում է մակաբուծություն (պարազիտիզմ): Շատ դեպքերում սիմբիոզում մանրէները միմյանց նկատմամբ ոչ մի փոխներգործություն չունեն (մեյտրալիզմ):

Առավել մեծ հետաքրքրություն են ներկայացնում մանրէների հակազոնիստական փոխհարաբերությունները: Հակազոնիզմը մի մանրէի կենսագործունեության ճնշումն է մյուսով, կամ այդ մանրէի ամբողջական ոչնչացումը շրջակա միջավայրում նյութափոխանակության արգասիքների կուտակմամբ: Հակազոնիզմը պայմանավորված է օրգանական թթուների, սպիրտների կամ հակաբիոտիկ ազդեցությամբ օժտված այլ միացությունների արտադրությամբ և արտազատմամբ:

Առաջադրանք 1

Մանրէների միջև հակագոնիզմի ուսումնասիրությունը փոխադրահայաց գծային ցանքի մեթոդով:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: *S. roseus*-ի, *S. aureus*-ի, *B. subtilis*-ի, *M. luteus*-ի, *E. coli*-ի և *S. cerevisiae*-ի մաքուր կուլտուրաներ, մանրէազերծված ՄՊԱ, Պետրիի թասեր, մանրէաբանական օղակ, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, ջերմապահարան, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Մանրէազերծված Պետրիի թասերում լցնել մանրէազերծված ՄՊԱ, թողնել, որպեսզի սննդամիջավայրը պնդանա: Որպես թեստ օրգանիզմ ընտրել *S. roseus*-ին: Մանրէների ցանքն իրականացնել այնպես, ինչպես ցույց է տրված նկար 68-ում: Աճեցնել ջերմապահարանում 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում 1-3 օր: Հակագոնիստական հարաբերության մասին վկայում են մանրէների աճի բացակայության գոտիները: Ընդ որում, կարող է բացակայել ինչպես թեստ օրգանիզմի աճը, այնպես էլ ուսումնասիրվող մանրէների աճը: Ստացված արդյունքները, սննդամիջավայրի բաղադրությունը, ցանքի եղանակը և աճեցման պայմանները գրանցել գրանցամատյանում:

Աշխատանք 2

Հակաբիոտիկների նկատմամբ մանրէների զգայունության որոշումը

Քովանդակություն: Հակաբիոտիկների նկատմամբ մանրէների զգայունության ուսումնասիրությունը թղթային սկավառակների մեթոդով (տե՛ս գլուխ 7):

Առաջադրանք 1

Մանրէների զգայունության որոշումը տարբեր հակաբիոտիկների նկատմամբ:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

S. aureus-ի, *B. subtilis*-ի, *E. coli*-ի և *S. cerevisiae*-ի մաքուր կուլտուրաներ, մանրէազերծված 25-ական մլ ՄՊԱ պարունակող սրվակներ, Պետրիի թասեր, պենիցիլին, ամպիցիլին, ստրեպտոմիցին, ռիֆամպիցին և կանամիցին հակաբիոտիկներով ներծծված թղթե սկավառակներ, ունեյի, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, մանրէազերծող լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: Սրվակներում ՄՊԱ-ն հալեցնել ջրային բաղնիքում կամ միկրոալիքային վառարանում: Մանրէների ցանքը և հակաբիոտիկային սկավառակների տեղադրումը յուրաքանչյուր մանրէ պարունակող սննդամիջավայրի մակերեսին կատարել այնպես, ինչպես ցույց է տրված նկար 70-ում: Աճեցնել ջերմապահարանում 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում 1 օր: Եթե հետազոտվող մանրէները զգայուն են տվյալ հակաբիոտիկների նկատմամբ, ապա սկավառակների շուրջ առաջանում են այդ մանրէների աճի բացակայության գոտիներ: Գոտու տրամագիծը չափել քանոնով և աղյուսակ 14-ի ձևով գրանցել գրանցամատյանում: Ուշադրություն դարձնել գրամդրական, գրամբացասական և էուկարիոտ մանրէների վրա միևնույն հակաբիոտիկի ազդեցության չափին: Գրանցամատյանում մշել նաև օգտագործված սննդամիջավայրի բաղադրությունը, ցանքի եղանակը և աճեցման պայմանները:

Աղյուսակ 14.

Հակաբիոտիկների ազդեցությունը մանրէների աճի վրա:

Հակաբիոտիկ	Աճի բացակայության գոտու տրամագիծը (մմ Ø)				
	<i>S. roseus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Պենիցիլին					
Ամպիցիլին					
Ստրեպտոմիցին					
Ռիֆամպիցին					
Կլանամիցին					

Թեմա 6

Սանիտարամանրէաբանական հետազոտության մեթոդներ

Աշխատանք 1

Ջրի սանիտարամանրէաբանական հետազոտության մեթոդներ

Ջրի մանրէաբանական աղտոտման հիմնական պատճառ են չմշակված կենցաղային և արտադրական կեղտաջրերը: Կոյուղաջրերը պարունակում են մարդու և կենդանիների աղիների միկրոբիոտայի մանրէներ, այդ թվում՝ ախտածին կամ պայմանական ախտածին տեսակներ: Ախտածին մանրէները վատ են զարգանում ջրում, քանի որ դրանց վրա բացասական ազդեցություն են թողնում արևի ճառագայթները և այլ գործոնները, այդ թվում՝ ջրի միկրոբիոտայի այլ ներկայացուցիչները: Այնուամենայնիվ դրանցից շատերը կարող են որոշ ժամանակ մնալ կենսունակ:

Ջրի սանիտարամանրէաբանական հետազոտությունում առաջին հերթին որոշվում է 1 մլ ջրում մանրէների ընդհանուր թվաքանակը: Խմելու ջուրը համարվում է մաքուր, եթե 1 մլ ջրում մանրէների ընդհանուր թվաքանակը չի գերազանցում 100-ը, կասկածելի՝ 100-150 և աղտոտված՝ 500 և ավելի:

Ջրի սանիտարամանրէաբանական հետազոտումը ներառում է նաև ախտածին մանրէների՝ սալմոնելների, խոլերայի վիբրիոնների, լեպտոսպիրիլների, շիգելների և էնտերովիրուսների հայտնաբերումը: Քանի որ շրջակա միջավայրից ախտածին մանրէների մեկուսացումը պահանջում է հատուկ հետազոտություններ, մշակվել են անոտղակի մեթոդներ, որոնք թույլ են տալիս գնահատել ջրի կղանքային աղտոտումը *E. coli*-ի և աղիքային ցուպիկի խմբի բակտերիաների (ԱՑԽԲ), էնտերոկոկերի և ստաֆիլակոկերի հայտնաբերմամբ: Հատկապես կարևոր է սանիտարամանրէաբանական ցուցանիշների՝ կոլի տիտրի և կոլի ինդեքսի որոշումը: Կոլի տիտրը դա հետազոտվող ջրի ամենափոքր ծավալն է (մլ), որում հայտնաբերվում է աղիքային ցուպիկի խմբի բակտերիա: Կոլի ինդեքսը դա աղիքային ցուպիկի խմբի բակտերիաների թվաքանակն է, որը հայտնաբերվում է ջրի միավոր (1 լ) ծավալում: Այս ցուցանիշները որոշում են երկփուլ խմորման (ավանդական) եղանակով կամ թաղանթային ֆիլտրերի մեթոդով: Խմորման մեթոդի էությունը հետազոտվող ջրի որոշակի ծավալների ցանքի արդյունքում աճած բակտերիաների

կրկնակի աճեցումն է Էնդոյի սննդամիջավայրում: Թաղանթային ֆիլտրերի մեթոդի էությունը որոշակի ծավալով հետազոտվող ջրի բակտերիաների խտացումն է թաղանթային ֆիլտրերի մակերեսին, այնուհետև դրանց աճեցումն էնդոյի սննդամիջավայրում: Երկու մեթոդների դեպքում էլ առաջացած գաղութները տարբերակվում են, և որոշվում է 1 և ջրում աղիքային ցուպիկի խմբի բակտերիաների թվաքանակը՝ կոլի ինդեքսը, և դրա հիման վրա նաև՝ կոլի տիտրը:

Առաջադրանք 1

Ջրում մանրէների ընդհանուր թվի որոշումը, ջրի կոլի-տիտրի և կոլի-ինդեքսի որոշումը երկփուլ խմորման մեթոդով:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: Մանրէազերծված Պետրիի թասեր (10), սրվակներ (10), պիպետներ (10), 500 մլ տարողությամբ անոթներ, մանրէազերծված 150-200 մլ 0.85% NaCl-ի լուծույթ (կամ ծորակային ջուր), 150 մլ ՄՊԱ, 30 մլ կիսահեղուկ սննդամիջավայր գլյուկոզով (լցված 7 կամ 10-ական մլ սրվակների մեջ), 50 մլ Էնդոյի սննդամիջավայր՝ լցված 2-3 մանրէազերծված Պետրիի թասերի մեջ, 33 մլ 10× խիտ ԿՈԴԱ կամ Կեսլերի սննդամիջավայր՝ լցված 10-ական մլ 150-200 մլ ծավալ ունեցող 3 անոթների մեջ, ինչպես նաև 1-ական մլ 3 սրվակների մեջ, 60 մլ ԿՈԴԱ կամ Կեսլերի ստանդարտ խտությամբ սննդամիջավայր՝ լցված 10-ական մլ 3 հատ սրվակների մեջ, լողաններ:

Աշխատանքի ընթացքը

Ջրի մոնիտահանում: Սանիտարամանրէաբանական հետազոտությունների համար մոնիտահանել առնվազն 500 մլ ջուր և լցնել մախապես մանրէազերծված շշերի կամ սրվակների մեջ: Բաց մակերեսով ջրամբարներից և լողավազաններից մոնիտահանումը կատարել 10-15 սմ խորությունից: Ծորակային ջրի մոնիտահանումն իրականացնել մախապես սպիրտով թրջված բամբակով մշակված, ապա 10-15 բույս ջրի հոսքից հետո: Նմուշահանումից հետո անոթը փակել ռետինե խողովակով: Քլորացված ջրի մոնիտահանման համար մախապես մանրէազերծ անոթի մեջ տեղադրել դեքլորացնող նյութ՝ 10 մգ մատրիումի հիպոսուլֆատ:

Ջրի մոնիշների բակտերիաբանական հետազոտությունը իրականացնել ոչ ուշ քան 2 ժամ մոնիտահանումից հետո, իսկ դրա անհնարինության դեպքում՝ մոնիշը պահպանել 1-6°C ջերմաստիճան

նում, և իրականացնել հետազոտությունը ոչ ուշ, քան մոուշահանումից 6 ժամ հետո:

Ջրում մանրէների ընդհանուր թվի որոշումը: Նմուշները ցանքից առաջ նոսրացնել մանրէագերծված ծորակային ջրով կամ ֆիզիոլոգիական լուծույթով: Պատրաստել հաջորդական նոսրացումները՝ օգտագործելով յուրաքանչյուր նոսրացման համար նոր մանրէագերծված պիպետ: Յուրաքանչյուր նոսրացումից 1-ական մլ տեղափոխել մանրէագերծված Պետրիի քասերի մեջ, որից հետո ծածկել 10-15 մլ հալեցված և մինչև 45-50°C պաղեցված ՄՊԱ-ով: Թողնել մինչև սննդամիջավայրի պնդանալը, ապա ինկուբացնել 37°C պայմաններում 1 օր:

Բաց ջրամբարների ջրի ցանքը կատարել երկու քասերում, որոնցից մեկը ինկուբացնել 37°C պայմաններում 1 օր, իսկ մյուսը՝ 20°C պայմաններում 2 օր: Ինկուբացումից հետո հաշվել սննդամիջավայրի մակերեսին և խորքում աճած գաղութների թիվը: Հաշվարկել 1 մլ հետազոտվող ջրում մանրէների ընդհանուր թվաքանակը:

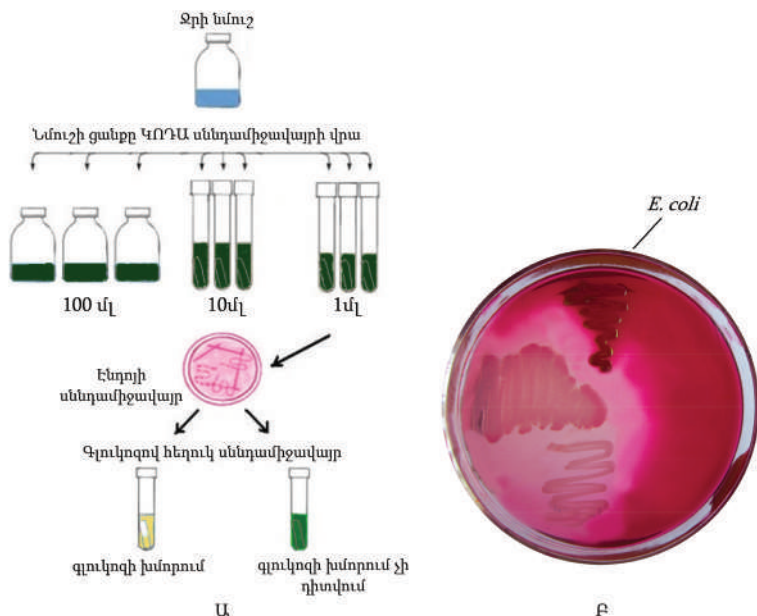
Ջրի կոլի-տիտրի և կոլի-ինդեքսի որոշումը: Բաց ջրամբարների ջրի հետազոտման համար սննդամիջավայր ներմուծել 100, 10, 1 և 0.1 մլ ծավալով ջրի մոուշներ, իսկ ծորակային ջրի հետազոտման համար՝ 100, 10 և 1 մլ ծավալով ջրի մոուշներ: Նշված ծավալներով հետազոտվող մոուշները ավելացնել Կեսլերի կամ ԿՌԴԱ սննդամիջավայրեր պարունակող անոթների և սրվակների մեջ: 100 և 10 մլ ջրի ցանքը իրականացնել համապատասխանաբար 10 և 1 մլ խիտ սննդամիջավայրում, իսկ 1 և 0.1 մլ ծավալով ջուրը՝ ստանդարտ խտությամբ 10 մլ սննդամիջավայրում (նկար 117 Ա): Ինկուբացնել 24 ժամ 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Պղտորության, թթվի և գազի բացակայության դեպքում տվյալները համարել բացասական և ավարտել հետազոտությունը:

Յուրաքանչյուր սրվակից, որում նկատվել է պղտորություն, թրթվառաջացում կամ գազառաջացում, իրականացնել ցանք 3-4 հատվածների բաժանված Էնդոյի սննդամիջավայրի վրա: Յանքանյութը վերցնել այն հաշվարկով, որ ստացվեն առանձին գաղութներ: Թասերը ինկուբացնել 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում 16-18 ժամ: Աճի բացակայության կամ աղիքային ցուպիկի խմբի բակտերիաներին ոչ բնորոշ գաղութների առկայության դեպքում ստացված տվյալները համարել բացասական և ավարտել հետազոտությունը:

Կարմիր, վարդագույն, բաց վարդագույն մետաղական փայլով կամ առանց փայլի (լակտոզդրական գաղութներ) գաղութներից (նկար 117 Բ) պատրաստել քսուքներ, ներկել ըստ Գրամի և ստուգել օքսիդազների առկայությունը: Այդ նպատակով սննդամիջավայրի մակերեսից 2-3 առանձին գաղութներ ապակյա ձողով վերցնել և տեղադրել երկմեթիլ-*n*-ֆենիլէներկամինով թրջած ֆիլտրի թղթի վրա: Բացասական օքսիդազային թեստի դեպքում թղթի գույնը չի փոխվում, դրականի դեպքում՝ այն կապտում է 1 րոպեի ընթացքում: Օքսիդազբացասական և գրամբացասական բակտերիաները կրկնակի աճեցնել 0.5% գլյուկոզ պարունակող կիսահեղուկ սննդային ագարում: Ինկուբացնել մեկ օր 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Թթվառաջացման և գազի առկայության դեպքում ստացված տվյալները գնահատել դրական և հաստատել հետազոտվող ջրում աղիքային ցուպիկի խմբի ներկայացուցիչների առկայությունը:

Տվյալները արտահայտել կոլի-ինդեքսով՝ հաշվարկելով ըստ աղյուսակներ 15-ի և 16-ի: Կոլի տիտրը կարելի է աժանցել կոլի իդեքսից ըստ հետևյալ բանաձևի՝

$$\text{Կոլի-տիտր} = 1000/\text{կոլի-ինդեքս}:$$



Նկար 117. Կոլի-տիտրի որոշման փորձի ընթացքի գծապատկերը (Ա), Էնդոյի սննդամիջավայրի մակերեսին աճած գաղութները (Բ):

Աղյուսակ 15.

Ջրի կոլի-ինդեքսի որոշումը

Հետազոտվող ջրի ծավալը, մլ				Կոլի-ինդեքս	Կոլի-տիտր
100	10	1	0.1		
-	-	-	-	9-ից պակաս	111-ից ավելի
-	-	+	-	9	111
-	+	-	-	10	105
+	-	-	-	23	43
+	-	+	-	94	10
+	+	-	-	230	4
+	+	-	+	960	1
+	+	+	-	2380	0.4
+	+	+	+	2380-ից ավելի	0.4-ից պակաս

Աղյուսակ 16.

Խմելու ջրի կոլի-ինդեքսի որոշումը

Ջրի հետազոտման դրական տվյալների թիվը			Կոլի-ինդեքս
100 մլ պարունակող երեք անոթներից	10 մլ պարունակող երեք սրվակներից	1 մլ պարունակող երեք սրվակներից	
0	0	0	3-ից պակաս
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120

Ջրի հետազոտման դրական տվյալների քիվը			Կոլի-ինդեքս
100 մլ պարունակող երեք անոթներից	10 մլ պարունակող երեք սրվակներից	1 մլ պարունակող երեք սրվակներից	
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	1100-ից ավել

Առաջադրանք 2

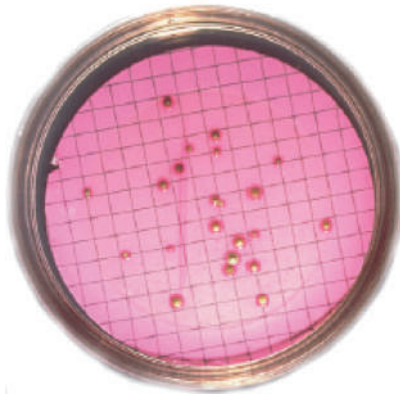
Ջրի կոլի-տիտրի և կոլի-ինդեքսի որոշումը թաղանթային ֆիլտրերի մեթոդով:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: Պետրիի թասեր, սրվակներ, պլակետներ, 150, 250 և 500 մլ տարողությամբ անոթներ, ապակյա հրակայուն բաժակներ, ապակյա ձողիկներ, ունելիներ, մանրէաբանական ասեղ, խոշորացույց, ճրնշաչափ, Ձեյցի ֆիլտր, պոմպ, թաղանթային ֆիլտրեր, ֆիլտրի թուղթ, բամբակ, մանրադիտակներ, առարկայական ապակիներ և ծածկապակիներ, ջերմապահարաններ, մանրէագերծված ֆիզիոլոգիական լուծույթ կամ ծորակային ջուր, Էնդոյի, Կեսլերի և ԿՌԴԱ սննդամիջավայրեր, ՄՊԱ, գլյուկոզով կիսահեղուկ սննդամիջավայր, երկմեթիլ-*n*-ֆենիլէներկամինի թարմ պատրաստված լուծույթ, թարմ պատրաստված KOH-ի 3% լուծույթ, նատրիումի հիպոսուլֆիտ, ըստ Գրամի ներկման անհրաժեշտ ներկանյութեր, ֆուքսին, 70% էթանոլ:

Աշխատանքի ընթացքը: Ծորակային և արտեզյան ջրհորների ջրերի ֆիլտրման համար նմուշահանել 333 մլ ծավալով ջուր, բաց ջրամբարների մաքուր ջրի ֆիլտրման համար՝ 100, 10, 1 և 0.1 մլ, ավելի աղտոտված ջրերի դեպքում՝ 0.1, 0.01 և 0.001 մլ:

Ջրի ֆիլտրման համար օգտագործել, օրինակ՝ թաղանթային ֆիլտրեր «Վլադիպոր» № 3: Նախապես մանրէագերծել Ձեյցի ֆիլտրն էթանոլով: Ֆիլտրը տեղադրել վակուումային պոմպին միացված սարքի ձագարում: Հետազոտությունը սկսել ջրի մեծ նոսրացումներից: Եթե ֆիլտրվող ջրի քանակությունը 1 մլ կամ պակաս է, ապա նոսրացնել մանրէագերծված ծորակային ջրով մինչև 10 մլ և ֆիլտրել: Ֆիլտրումն ավարտելուց հետո ֆիլտրերը տեղադրել Էն-

դոյի սննդամիջավայր պարունակող Պետրիի թասերի մեջ ֆիլտրող մակերեսով վեր: Մեկ Պետրիի թասի վրա կարելի է տեղադրել 3-4 ֆիլտր: Թասերը ֆիլտրերով ինկուբացնել 18-24 ժամ 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Հաշվարկի համար ընտրել այն ֆիլտրերը, որոնց վրա առկա են 10-ից ոչ պակաս և 50-ից ոչ շատ գաղութներ: Հաշվարկել բոլոր մետաղական փայլ ունեցող և չունեցող կարմիր գաղութները (նկար 118): Աղիքային ցուպիկի խմբի բակտերիաների պատկանելիությունը որոշել նախորդ առաջադրանքում նկարագրված գծապատկերով:



Նկար 118. Էնդոյի սննդամիջավայրի վրա ջրի ֆիլտրատի անցումից հետո առաջացած գաղութները:

Թեմա 7

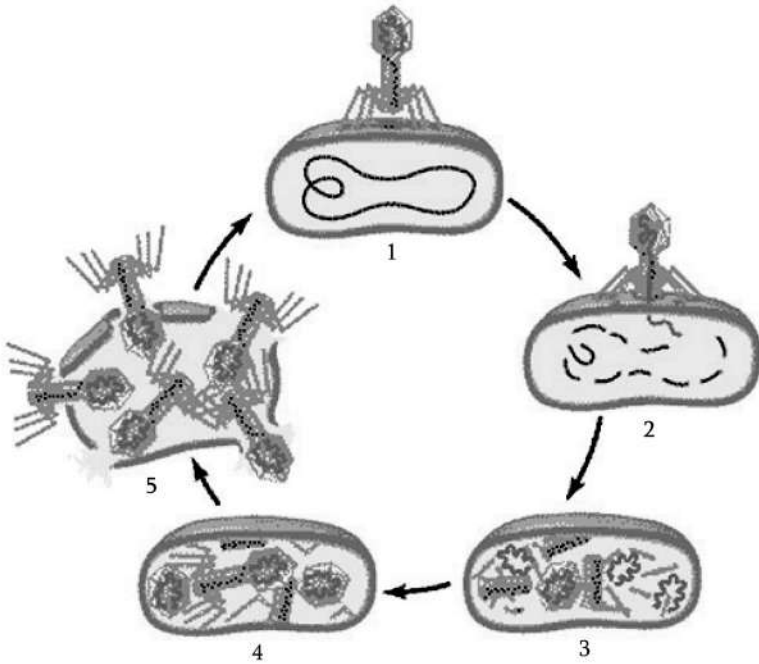
Բակտերիաֆագերի աճեցման և քանակական վերլուծության մեթոդներ

Աշխատանք 1

Դ-գույգ բակտերիաֆագերի աճեցումը

Բովանդակություն: Հեղուկ սննդամիջավայրում ակտիվ բազմա-ցող բակտերիական կուլտուրայում որոշակի քանակությամբ համա-պատասխան ֆագի ներմուծման դեպքում վերջիններս մակակլան-վում են բակտերիական բջիջների մակերեսին և գաղտնի (լատենտ) շրջանից հետո լիզիսի ենթարկում դրանք: Դուստր բակտերիաֆա-գերը վարակում են առողջ բջիջները՝ առաջացնելով վարակի երկ-րորդ փուլը: Այսպես հաջորդաբար վարակվում են կախույթի բոլոր բջիջները, և գործընթացը շարունակվում է ընդհուպ բոլոր զգայուն բջիջների լիզիսը: Տեսականորեն ֆագի ելքը համապատասխանում է բակտերիաների պոպուլյացիայի թվաքանակին՝ բազմապատկած ելքի՝ մեկ բջջի լիզիսի արդյունքում առաջացած բակտերիաֆագերի միջին թվին: Իրական ելքը հաճախ ավելի պակաս է, քանի որ որոշ բակտերիաֆագեր կրկնակի մակակլանվում են վարակված, բայց դեռևս լիզիսի չենթարկված բջիջների կամ լիզիսի ենթարկված բակ-տերիաների մնացորդների վրա:

Ժամանակահատվածը, որն անհրաժեշտ է բջջի լիզիսի համար, կախված է հիմնականում գաղտնի (լատենտ) շրջանի տևողությունից և ներմուծված ֆագային մասնիկների քանակությունից: Ֆագալիզի-սի գործընթացի վրա ազդում են նաև ջերմաստիճանը, օդավորումը, սննդամիջավայրի կազմը, pH-ը և բակտերիաների ֆիզիոլոգիական վիճակը: Այսպես, օրինակ՝ ստացիոնար փուլում բակտերիական կուլտուրայի վարակումը չի բերում ֆագային սերնդի առաջացմանը: Լոգարիթմական փուլի վերջում բջիջների խտությունը սննդամիջա-վայրի 1 մլ-ում հասնում է մինչև 1×10^9 : Հավանականությունը, որ այդ փուլում կուլտուրան 1×10^9 թվով ֆագային մասնիկներով վարակելիս բոլոր բակտերիաները կվարակվեն և 1-2 ժամ հետո ամբողջությամբ լիզիսի կենթարկվեն: Ֆագային մասնիկների թիվը 1 մլ-ում կարող է հասնել մինչև 10^{11} , քանի որ յուրաքանչյուր բակտերիական բջջի լի-զիսի հետևանքով ձևավորվում են 100-200 ֆագային մասնիկներ:



Նկար 119. T4 ֆագի կենսացիկլը *E. coli*-ի բջիջներում:

1. Ֆագի մակակլանում *E. coli*-ի բջիջների մակերեսին, 2. Ֆագային ԴՆԹ-ի ներարկում տեր բջջի մեջ և տեր բջջի ԴՆԹ-ի քայքայում, 3. Ֆագային գեոմի և սպիրակոցների սինթեզ, 4. Ֆագային մասնիկների շնամորում, 5. Տեր բջջի լիզիս:

Առաջադրանք 1

T4 ֆագի կախույթի ստացումը *E. coli* տեր բջիջների կիրառմամբ:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

E. coli-ի մեկօրյա կուլտուրա, T4 ֆագի կախույթ, մասպեպտոնային արգանակ, ագար-ագար, 250 մլ տարողությամբ անոթ, սրվակներ, մանրէազերծված պիպետներ, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, ֆիլտրի թուղթ, մանրէազերծող լուծույթ, ջերմապահարան, թափահարիչ, ջրային բաղնիք:

Աշխատանքի ընթացքը: 250 մլ ծավալով մանրէազերծված անոթի մեջ ավելացնել 30 մլ մասպեպտոնային արգանակ և 3 մլ *E. coli*-ի մեկօրյա կուլտուրա: Խառնուրդը տեղադրել թափահարիչի վրա 37°C և ինկուբացնել 1.5 ժամ: Պղտորաչափական եղանակով որոշել 3 մլ նմուշում պղտորության աստիճանը: Օպտիկական խտությունը ($\lambda=595$ նմ) պետք է տատանվի 0.3-0.4 տիրույթում: Բակտերիական կախույթը վարակել՝ ներմուծելով հայտնի տիտրով ֆագի կախույթը 0.1 վարակային բազմապատիկով (ֆագային մասնիկների հարաբերությունը բակտերիական բջիջների թվին): Ֆագով վարակված բջիջների կախույթը տեղադրել ջերմապահարանում թափահարման պայմաններում 30 րոպե: Այնուհետև լիզիսի չենթարկված բջիջների ոչնչացման նպատակով ավելացնել մի քանի կաթիլ քլորոֆորմ և շաքունակել թափահարումը ևս 15 րոպե: Բջիջների քայքայված մասնիկները և ֆագակայուն բջիջները հեռացնելու նպատակով ստացված լիզատը կենտրոնախուսել 4000 g-ի պայմաններում 20 րոպե: Ստացված ֆագային կախույթը պահել սառնարանում հետագա աշխատանքի համար:

Առաջադրանք 2

Ֆազի որակական վերլուծությունը կաթիլային եղանակով:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները: *E. coli*-ի մեկօրյա կուլտուրա, T4 ֆազի կախույթ, ՄՊԱ, մանրեազերծված պիպետներ, մածկաթիակ, Պետրիի թաս, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, ֆիլտրի թուղթ, մանրեազերծող լուծույթ, ջերմապահարան:

Աշխատանքի ընթացքը: Նախապես մանրեազերծված ՄՊԱ-ն լցնել Պետրիի թասերի մեջ: Սննդամիջավայրի մակերեսը չորացնել և պիպետով տեղադրել 1 մլ *E. coli*-ի մեկօրյա կուլտուրա: Մածկաթիակով վերջինս հավասարաչափ տարածել թասի ամբողջ մակերեսով: Այնուհետև մանրեազերծված պիպետով թասի եզրին մոտ կաթեցնել T4 ֆազի կախույթը, ապա Պետրիի թասը թեքել այնպես, որպեսզի կախույթի կաթիլը ծորա թասի տրամագծով: Թասը ինկուբացնել ջերմապահարանում 37°C պայմաններում 1 օր: Կախված ֆազի քանակությունից ֆիլտրատում կաթիլի ծորման ուղիով առաջանում է աճի բացակայության բիծ (նեգատիվ գաղութ) (նկար 120):



Նկար 120. Նեգատիվ գաղութի առաջացումը կաթիլային եղանակով ֆազի որակական վերլուծության դեպքում:

Առաջադրանք 3

Բակտերիաֆագի տիտրումը ազարային շերտերի մեթոդով:

Բովանդակություն: Բակտերիաֆագերի ակտիվությունը որոշում են ըստ բակտերիական կուլտուրան լիզիսի ենթարկելու դրանց ունակությամբ և քանակապես արտահայտում են առավելագույն նոսրացման այն աստիճանով, որում ֆագը արտահայտել է իր լիտիկ ազդեցությունը: Բակտերիաֆագի ակտիվությունը որոշվում է միավոր ծավալում վարակային ակտիվ միավորների քանակությամբ, այսինքն՝ բակտերիաֆագի տիտրով:

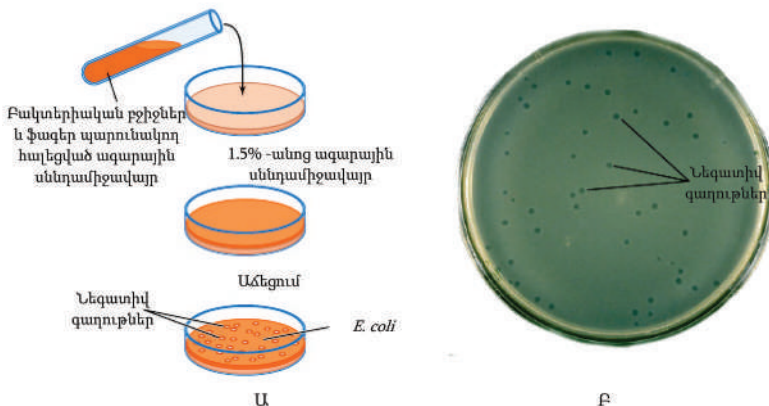
Բակտերիաֆագի տիտրը որոշվում է ազարային շերտերի մեթոդով: Մեթոդի էությունը կիսահեղուկ ազարում (0.8%) 48°C պայմաններում զգայուն բակտերիական կուլտուրայի համապատասխան նոսրացմամբ բակտերիաֆագով վարակելն է: Այս խառնուրդը լցնում են 1.5% ազար-ազար պարունակող սննդային ազարի վրա, թողնում մինչև պնդանալը և ինկուբացնում ջերմապահարանում: 6-12 ժամ հետո բակտերիաները բազմանում են կիսահեղուկ շերտում՝ առաջացնելով բազմաթիվ գաղութներ: Վերին ազարային շերտի քիչ մածուցիկության շնորհիվ ֆագային մասնիկները լավ դիֆուզվում են սննդամիջավայրում՝ վարակելով և լիզիսի ենթարկելով մոտակա բակտերիական բջիջները: Արդյունքում առաջանում են դուստր կամ երկրորդ սերնդի ֆագային մասնիկներ, որոնք իրենց հերթին ունակ են վարակելու մոտակա նոր բակտերիաների: Ի վերջո, աճող բակտերիական գաղտնի վրա առաջանում են աճի բացակայության բծեր կամ նեգատիվ գաղութներ, որոնցից յուրաքանչյուրի առաջացումը, հավանական է, հարուցվել է մեկ բակտերիաֆագով: Ուստի, նեգատիվ գաղութների քանակությունը կարող է հետազոտվող լուծույթում ֆագային մասնիկների քանակության պայմանական ցուցանիշ ծանայել:

Փորձի ընթացքի համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

E. coli-ի մեկօրյա կուլտուրա, T4 ֆագի կախույթ, Լուրիա-Բերտրամի (ԼԲ) սննդամիջավայր, ազար-ազար, 250 մլ տարողությամբ անոթ, սրվակներ, մանրէազերծված պլակետներ, Պետրիի թասեր, սպիրտայրոց, բամբակյա անձեռոցիկ, ֆիլտրի թուղթ, մանրէազերծող լուծույթ, ջերմապահարան, թափահարիչ, ջրային բաղնիք:

Աշխատանքի ընթացքը: Ֆագային կախույթը նոսրացնել 10^8 անգամ ԼԲ սննդամիջավայրում: Յուրաքանչյուր նոսրացումից 1-ական

մլ ֆագային կախույթ տեղափոխել նոր սրվակների մեջ: Յուրաքանչյուր սրվակին ավելացնել 0.1 մլ զգայուն բջիջների՝ *E. coli* C-T4 մեկօրյա կուլտուրա, որի օպտիկական խտությունը պոտորաչափական եղանակով չափամբ չի գերազանցում 0.5-0.6 ($\lambda=595$ մմ): Պահել սենյակային ջերմաստիճանում 15 րոպե: Խառնուրդին ավելացնել 6 մլ 0.7-0.8% ագար-ագար պարունակող ԼԲ սննդամիջավայր: Այդ սննդամիջավայրը նախապես հալեցնել և պաղեցնել ջրային բաղնիքում մինչև 48°C: Սրվակները զգուշությամբ և լավ խառնել, սրվակի պարունակությունը լցնել 1.5% ագար-ագարով ԼԲ սննդամիջավայր պարունակող Պետրիի թասի մեջ՝ համաչափ բաշխելով ագարի մակերեսով (նկար 121 Ա): Սննդամիջավայրի վերին շերտի պնդանալուց հետո (10-15 րոպե) թասերը շրջել հատակով վեր և ինկուբացնել ջերմապահարանում 37°C պայմաններում 1 օր: Հաջորդ օրը հաշվել մեզատիվ գաղութների քանակությունը (նկար 121 Բ) յուրաքանչյուր թասի վրա և որոշել ֆագի տիտրը սկզբնական մմուշում՝ հաշվի առնելով նոսրացման աստիճանը և ներմուծվող մմուշի ծավալը: Օրինակ՝ եթե թասերի վրա ավելացվել է $1 \cdot 10^7$ նոսրացումով 0.1 մլ ֆագային կախույթ և այդ թասի վրա առաջացել է 150 մեզատիվ գաղութ, ապա ֆագալիզատի տիտրը հավասար կլինի $(150 \times 10) \times 10^7 = 1.5 \times 10^{10}$ մասնիկ 1 մլ-ում:



Նկար 121. Ագարային շերտերի մեթոդով ֆագերի տիտրման ընթացքի հաջորդականությունը (Ա) և աճեցումից հետո մեզատիվ գաղութների առաջացումը (Բ):

ԹԵՍՏԵՐ ԵՎ ԱՌԱՋԱԴՐԱՆՔՆԵՐ

1. Պրոկարիոտ բջիջների օրինակներ են՝

- Ա) վիրուսները և բակտերիաները,
- Բ) ցիանաբակտերիաները և պրիոնները,
- Գ) արքեաները և ցիանաբակտերիաները,
- Դ) լեյկոցիտները և վիրոիդները:

2. Արքեաները՝

- Ա) վիրուսներ են,
- Բ) բակտերիաներ են,
- Գ) պրոկարիոտներ են,
- Դ) էուկարիոտներ են:

3. Գտնել համապատասխանությունները՝

- | | |
|-----------------------------|------------------|
| Ա) պրոկարիոտներ | 1. քարթչավորներ |
| Բ) ոչ բջջային ձևեր | 2. սնկեր |
| Գ) շաքարասնկեր | 3. դիատոմայիններ |
| Դ) էուկարիոտ նախակենդանիներ | 4. վիրուսներ |
| Ե) միաբջիջ ջրիմուռներ | 5. բակտերիաներ: |

4. Բակտերիական բջջի բազմացման եղանակ է՝

- Ա) միտոզը և մեյոզը,
- Բ) միտոզը և երկակի կիսումը,
- Գ) բազմակի և երկակի կիսումը,
- Դ) բողբոջումը և մեյոզը:

5. Թվարկել պրոկարիոտներին բնորոշ առնվազն երեք հատկանիշ:

6. Վիրուսները պարունակում են՝

- Ա) կորիզ,
- Բ) ԴՆԹ կամ ՌՆԹ,
- Գ) ԴՆԹ և ՌՆԹ,
- Դ) նուկլեոիդ:

7. Նուկլեոիդը դա

- Ա) քրոմոսոմների հավաքն է, որը սահմանազատված է ցիտոպլազմից

կորիզաթաղանթով,

Բ) ժառանգակիր նյութն է, որը համապատասխանում է մեկ քրոմոսոմին և ցիտոպլազմից սահմանազատված է կորիզաթաղանթով,

Գ) օղակաձև ԴՆԹ-ի մոլեկուլ է,

Դ) օղակաձև ԴՆԹ-ի մոլեկուլ է, որը ցիտոպլազմից սահմանազատված է կորիզաթաղանթով:

8. Էուկարիոտ մանրէներ են

Ա) սնկերը, բակտերիաները և վիրուսները,

Բ) ջրիմուռները, սնկերը և արքեաները,

Գ) ջրիմուռները, սնկերը և նախակենդանիները,

Դ) սնկերը, նախակենդանիները և ցիանաբակտերիաները

9. Նշել պրոկարիոտների կառուցվածքային առանձնահատկությունները:

10. Բակտերիաների միջին չափսերը տատանվում են _____ սահմաններում:

11. Մանրէների մաքուր կուլտուրան դա՝

Ա) մեկ կամ մի քանի տեսակի մանրէների պոպուլյացիան է,

Բ) մեկից ավելի տեսակի մանրէների պոպուլյացիան է,

Գ) մեկ տեսակի մանրէների պոպուլյացիան է,

Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

12. Աշխատանքից առաջ լամինար բոքսերը՝

Ա) լվանում են ախտահանիչ նյութերով

Բ) մանրէազերծում են ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով,

Գ) մանրէազերծում են ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով և լվանում ախտահանիչ նյութերով,

Դ) ճիշտ պատասխանը բացակայում է:

13. Մանրէների աճեցման համար նախատեսվող աշխատանքային տարածքը պետք է մանրէազերծել՝

Ա) քլորամինով կամ 70% էթանոլով,

Բ) ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով,

- Գ) ավտոկլավացմամբ և իզոպրոպիլ սպիրտով,
- Դ) ճիշտ են Ա) և Բ) պատասխանները:

14. Սպիրտայրոցի կամ գազայրոցի բոցի առավելագույն ջերմաստիճանը դրա՝

- Ա) ստորին և կենտրոնական հատվածներում է,
- Բ) կողմնային և կենտրոնական հատվածներում է,
- Գ) վերին և ստորին հատվածներում է,
- Դ) վերին և կողմնային հատվածներում է:

15. Քեմոօրգանահետերոտրոֆ մանրէների համար ածխածնի և էներգիայի աղբյուր են՝

- Ա) օրգանական միացությունները,
- Բ) CO_2 -ը կամ միաձխածնային այլ միացությունները,
- Գ) ածխածնի թե՛ օրգանական, թե՛ անօրգանական միացությունները,
- Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

16. Ֆոտոլիթոտրոֆ մանրէների համար էլեկտրոնների դոնոր են՝

- Ա) օրգանական միացությունները,
- Բ) ջուրը կամ անօրգանական վերականգնված միացությունները,
- Գ) նիտրատները և սուլֆատները,
- Դ) ճիշտ պատասխանը բացակայում է:

17. Քեմոլիթոտրոֆ մանրէների համար էներգիայի աղբյուր են՝

- Ա) բարդ օրգանական միացությունները,
- Բ) որոշ վերականգնված անօրգանական միացությունները,
- Գ) լույսը,
- Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

18. Ավտոտրոֆ մանրէների համար որպես ածխածնի աղբյուր են՝

- Ա) մի- և երկաձխածնային միացությունները,
- Բ) բարդ օրգանական միացությունները,
- Գ) CO_2 -ը և այլ միաձխածնային միացությունները,
- Դ) բացակայում է ճիշտ պատասխանը:

19. Դիագոտրոֆ մանրէների համար ազոտի աղբյուր են՝

- Ա) ամինաթթուները,
- Բ) նիտրատները,

- Գ) միզանյութը,
- Դ) մոլեկուլային ազոտը:

20. Մանրէների աճի ընթացքում սննդամիջավայրի pH-ը կայուն պահպանելու համար սննդամիջավայրին ավելացնում են՝

- Ա) կալիւմ,
- Բ) ֆոսֆատային բուֆեր,
- Գ) NaHCO_3 -ի 10%-ոց ջրային լուծույթ,
- Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

21. Ընտրել նշված մանրէների ֆիզիոլոգիական խմբերի աճեցման համար համապատասխան սարքավորումը (հնարավոր են մեկից ավելի տարբերակներ)՝

- | | |
|---------------------------|---------------------------|
| Ա) օբլիգատ անաերոբներ | 1. թափահարիչ |
| Բ) օբլիգատ աերոբներ | 2. անաերոստատ |
| Գ) ֆակուլտատիվ անաերոբներ | 3. վակուումային էքսիկատոր |
| Դ) սերոտոլերանտներ | 4. ֆերմենտյոր |

22. Որոշակի ծավալով անոթում մանրէային կուլտուրայի աճեցման 72-րդ ժամում կուլտուրան զբաղեցնում է անոթի կեսը: Կուլտիվացման n° ժամում կուլտուրան կզբաղեցնի ամբողջ տարան, եթե այդ կուլտուրայում մանրէների բջիջների կիսումների միջև ընկած ժամանակը 1 ժամ է:

23. Որոշել մանրէի կիսումների միջև ընկած ժամանակը, եթե 5 ժամում բջիջների թիվը կախությամբ աճում է 10^2 -ից մինչև 10^4 :

24. Բջիջների բաժանման հաստատուն առավելագույն արագությունը մանրէների աճի ընթացքում դիտվում է՝

- Ա) էքսպոնենցիալ (log) փուլում,
- Բ) մահացման փուլում,
- Գ) ստացիոնար փուլում,
- Դ) սկզբնական (lag) փուլում:

25. Թվարկել պարբերական կուլտուրայի և անընդհատ կուլտուրայի միջև եղած սկզբունքային տարբերությունները:

26. Ընտրել նշված նյութերի և պարագաների մանրէազերծման ճիշտ պայմանակարգը՝

- | | |
|---|---|
| Ա) կաթ և հյութեր, | 1. ավտոկլավացում 1 ամճ պայմաններում 20 թույլի ընթացքում, |
| Բ) գլիցերին և վազելինային նյութեր, | 2. ֆիլտրում քաղանքային ֆիլտրերով, |
| Գ) մսապեպտոնային արգանակ և ՄՊԱ, | 3. ավտոկլավացում 0.5 ամճ պայմաններում 15-30 թույլի ընթացքում, |
| Դ) վիտամիններ և ամինաթթուներ պարունակող սինթետիկ սննդամիջավայրեր, | 4. չոր մանրէազերծում $<180^{\circ}\text{C}$ ջերմաստիճանային պայմաններում 1-3 ժամ, |
| Ե) ապակյա ամանեղեն, | 5. չոր մանրէազերծում ջեռոցներում 160°C պայմաններում 2 ժամ: |

27. Մանրէազերծումը դա՝

- Ա) մանրէների բնական աղբյուրներից մեկուսացումն է,
- Բ) ախտածին մանրէների ոչնչացումն է,
- Գ) բոլոր կենդանական ձևերի ոչնչացումն է,
- Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

28. Մանրէազերծման մեթոդ է՝

- Ա) ծորակային ջրով լվացումը,
- Բ) թորած ջրով լվացումը,
- Գ) ինֆրակարմիր ճառագայթներով մշակումը,
- Դ) ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով մշակումը:

29. Պաստերացումն իրականացնում են՝

- Ա) $40-60^{\circ}\text{C}$ 10-30 թույլի ընթացքում,
- Բ) $60-80^{\circ}\text{C}$ 10-30 թույլի ընթացքում,
- Գ) $100-120^{\circ}\text{C}$ 10-30 թույլի ընթացքում,
- Դ) $140-180^{\circ}\text{C}$ 10-30 թույլի ընթացքում:

30. Մանրէազերծման համար օգտագործվում են՝

- Ա) ծակոտու 10-20 մկմ տրամագիծ ունեցող ֆիլտրեր,
- Բ) ծակոտու 5-10 մկմ տրամագիծ ունեցող ֆիլտրեր,
- Գ) ծակոտու 1.8-5 մկմ տրամագիծ ունեցող ֆիլտրեր,
- Դ) ծակոտու 0.2-1.8 մկմ տրամագիծ ունեցող ֆիլտրեր:

31. Չոր ջերմամշակմամբ մանրէագերծման պայմաններից են՝

- Ա) 140°C ջերմաստիճանում, 60 րոպե տևողությամբ,
- Բ) 170°C ջերմաստիճանում, 180 րոպե տևողությամբ,
- Գ) 160°C ջերմաստիճանում, 150 րոպե տևողությամբ,
- Դ) 150°C ջերմաստիճանում, 150 րոպե տևողությամբ:

32. Ձեռոցում կարելի է մանրէագերծել՝

- Ա) վազելինային յուղ և գլիցերին,
- Բ) մածկաթիակներ, անոթներ և սրվակներ,
- Գ) քիմիական բաժակներ, կենտրոնախուսակային ապակյա սրվակներ և Բուրիի խողովակներ,
- Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

33. Գտնել համապատասխանությունները՝

- | | |
|---|---|
| Ա) էլեկտրոնների փունջն անցնում է օբյեկտի շատ բարակ շերտով, | 1. ՍԷՄ |
| Բ) տեսանելի լույսն անցնում է օբյեկտով, | 2. ԿԼՍՄ, |
| Գ) օբյեկտների միջով անցնելիս լույսի ճառագայթների փուլային տարբերությունները փոխակերպվում են ամպլիտուդայինի, | 3. փուլացայտերանգային մանրադիտակ, |
| Դ) տեսանելի լույսի ճառագայթները ցրվում են օբյեկտի վրա ընկնելիս և օբյեկտը դառնում է տեսանելի մութ դաշտում, | 4. ՏԷՄ, |
| Ե) մանրադիտակ, որում օգտագործվում է ուլտրամանուշակագույն լուսարձակումը, | 5. լուսարձակող մանրադիտակ, |
| Զ) օբյեկտի մակերեսը հաջորդաբար էլեկտրոնների փնջով ռմբահարմամբ սքանավորված պատկեր է ձևավորվում, | 6. մանրադիտակային հետազոտումը մութ դաշտում, |
| Է) լազերային ալիքը ճեղքող տատանվող հայելու միջոցով անընդհատ և հաջորդաբար, գիծ առ գիծ սքանավորում է հետազոտվող օբյեկտի մակերեսը, | 7. լուսային մանրադիտակ: |

34. Իմերսիոն յուղի բեկման ցուցիչը մոտ է՝

- Ա) ապակու բեկման ցուցիչին,

- Բ) ջրի բեկման ցուցչին,
- Գ) ձիթայուղի բեկման ցուցչին,
- Դ) օղի բեկման ցուցչին:

35. Մանրէային բջիջների մեծությունը սովորաբար արտահայտվում է՝
Ա) միկրոմետրերով,
Բ) մանոմետրերով,
Գ) անգստրենմետրով,
Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները

36. Լուսային մանրադիտակի լուծող ունակությունը՝
Ա) հակադարձ համեմատական է երկու կետերի միջև եղած նվազագույն հեռավորությանը, երբ այդ կետերն ընկալվում են առանձին,
Բ) ուղիղ համեմատական է երկու կետերի միջև եղած նվազագույն հեռավորությանը, երբ այդ կետերն ընկալվում են առանձին,
Գ) ուղիղ համեմատական է երկու կետերի միջև եղած նվազագույն հեռավորությանը, երբ այդ կետերն ընկալվում են միասին,
Դ) հակադարձ համեմատական է երկու կետերի միջև եղած նվազագույն հեռավորությանը, երբ այդ կետերն ընկալվում են միասին:

37. Լուսային մանրադիտակի լուծող ունակությունն այնքան ավելի բարձր կլինի՝
Ա) որքան երկար է օգտագործվող լույսի ալիքի երկարությունը և մեծ է միջավայրի բեկման ցուցիչը,
Բ) որքան կարճ է օգտագործվող լույսի ալիքի երկարությունը և մեծ է միջավայրի բեկման ցուցիչը,
Գ) որքան կարճ է օգտագործվող լույսի ալիքի երկարությունը և փոքր է միջավայրի բեկման ցուցիչը,
Դ) բացակայում է ճիշտ պատասխանը:

38. Մութ դաշտում մանրադիտակի հետազոտման համար նախատեսված կոնդենստրի միջով պատրաստուկի հարթության վրա ընկնում են՝
Ա) միայն լույսի կենտրոնական ճառագայթները,
Բ) միայն լույսի կողքային ճառագայթները,
Գ) լույսի զուգահեռ ճառագայթները,
Դ) լույսի կենտրոնական և կողքային ճառագայթները:

39. Ընտրել նշված մանրէների կուտակիչ կուլտուրաների ստացման համար համապատասխան էլեկտիվ պայմանները՝

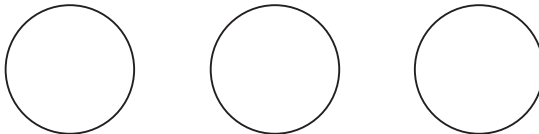
- | | |
|---------------------------------|---|
| Ա) դենիտրիֆիկացնող բակտերիաներ, | 1. օրգանական սուբստրատներ, լույսի բացակայություն, անաերոբ պայմաններ, ջրածին և CO_2 , |
| Բ) ցիանաբակտերիաներ, | 2. անաերոբ պայմաններ, օրգանական սուբստրատներ, NO_3^- , |
| Գ) <i>Nitrobacter</i> , | 3. լույսը, CO_2 , N_2 , աերոբ պայմաններ, սուլֆիդների բացակայություն, |
| Դ) մեթանածին արքեաներ, | 4. սննդամիջավայրում բացակայում են ազոտի օրգանական միացությունները, աերոբ պայմաններ, NO_2^- : |

40. Քենոլիթոավտոտրոֆ մանրէներ են՝

- Ա) *Clostridium*-ը և *Enterobacter*-ը,
 Բ) *Thiobacillus*-ը և *Nitrobacter*-ը,
 Գ) *Bacillus*-ը և *Azotobacter*-ը,
 Դ) ցիանաբակտերիաները և ջրիմուռները:

41. Նշել Կոխի մեթոդով մաքուր կուլտուրայի ստացման համար անհրաժեշտ նյութերը և պարագաները:

42. Օղակներում գծապատկերել կուտակիչ կուլտուրայից մաքուր կուլտուրայի ստացման համար պինդ սննդամիջավայրի մակերեսին գծային ցանքի հաջորդականությունների տարբերակները:



43. Եթե ածխածնի աղբյուրն օրգանական նյութ է, էլեկտրոնների դոնորը՝ H_2S -ը, իսկ էներգիայի աղբյուրը՝ լույսը, ապա նյութափոխանակային տիպը՝

- Ա) ֆոտոօրգանահետերոտրոֆային է,
 Բ) ֆոտոլիթոհետերոտրոֆային է,

- Գ) քեմոլիթոավտոտրոֆային է,
- Դ) քեմոօրգանահետերոտրոֆային է:

44. Եթե ածխածնի աղբյուրը CO_2 -ն է, էլեկտրոնների դոնորը՝ H_2O -ը, իսկ էներգիայի աղբյուրը՝ լույսը, ապա նյութափոխանակային տիպը՝

- Ա) ֆոտոօրգանաավտոտրոֆային է,
- Բ) ֆոտոլիթոավտոտրոֆային է,
- Գ) քեմոլիթոավտոտրոֆային է,
- Դ) ֆոտոլիթոհետերոտրոֆային է:

45. Բարդ սպիտակուցների ճեղքման գործընթացում մասնակցում են մանրէների ֆերմենտներից՝

- Ա) պրոտեազները,
- Բ) ցելյուլազները,
- Գ) պեքսիդազները,
- Դ) լիպազները:

46. Ըստ էլեկտրոնների դոնորի բակտերիաները բաժանվում են՝

- Ա) ավտո- և հետերոտրոֆների,
- Բ) ֆոտո- և քեմոտրոֆների,
- Գ) լիթո- և օրգանատրոֆների,
- Դ) ճիշտ պատասխանը բացակայում է:

47. Ազոտային ավտոտրոֆները որպես ազոտի աղբյուր օգտագործում են՝

- Ա) մթնոլորտային մոլեկուլային ազոտը,
- Բ) ամոնիումային ազոտը,
- Գ) նիտրատները և նիտրիտները,
- Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

48. Էշբիի էլեկտիվ սննդամիջավայրում որպես ազոտի միակ աղբյուր ավելացնում են՝

- Ա) ամոնիումային ազոտ,
- Բ) նիտրիտներ և նիտրատներ,
- Գ) ամինաթթուներ կամ ազոտ պարունակող այլ օրգանական միացություններ,
- Դ) բացակայում է ճիշտ պատասխանը:

49. Այն մանրէները, որոնք գլյուկոզից և ամոնիակային աղերից ունակ են սինթեզելու աճի համար անհրաժեշտ նյութերը, կոչվում են՝

- Ա) ատքստորոֆներ,
- Բ) պրոտոտրոֆներ,
- Գ) ավտոտրոֆներ,
- Դ) դիագոտրոֆներ:

50. Օրլիգատ աերոբ մանրէների շնչառական շղթայում էլեկտրոնների վերջնական ակցեպտորն է՝

- Ա) թթվածինը,
- Բ) օրգանական թթուները,
- Գ) սուլֆատները,
- Դ) նիտրատները:

51. Օրլիգատ անաերոբ մանրէների շնչառական շղթայում էլեկտրոնների վերջնական ակցեպտոր կարող է ծառայել՝

- Ա) թթվածինը,
- Բ) ջրածինը,
- Գ) սուլֆատը կամ նիտրատը,
- Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

52. Դենիտրիֆիկացման վերջնական արգասիքն է՝

- Ա) ամոնիակը,
- Բ) նիտրիտը,
- Գ) N_2 ,
- Դ) բոլոր վերը նշվածները:

53. Մանրէների պահպանման մեթոդներից է՝

- Ա) մանրէների պահպանումը սննդամիջավայրում մայրիի յուղի տակ,
- Բ) մանրէների աճեցումը թափահարիչում,
- Գ) լիոֆիլացումը,
- Դ) մանրէների սառեցումը սննդամիջավայրում:

54. Անաերոբ մանրէների պահպանման մեթոդներից է՝

- Ա) փոխացանքը շեղակների մակերեսին,
- Բ) փոխացանքը 0.2-0.3% ազար-ազար պարունակող կիսահեղուկ սննդամիջավայրերում,

Գ) փոխացանքը հեղուկ սննդամիջավայրեր պարունակող Ռ. Հանգեյ-
քի անոթում,

- Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

55. Լիոֆիլացումը դա՝

Ա) մանրէագերծում է տաք գոլորշիով,

Բ) սառեցված բջիջների չորացման գործընթացն է վակուումում,

Գ) մանրէների աճեցումն է ֆերմենտյորում,

Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

56. Նշել լիոֆիլիացման գործընթացի փուլերը և օգտագործվող սննդամիջավայրերի կազմը:

57. Մանրէների երկարատև պահպանման համար ո՞ր մեթոդն է նախընտրելի և ինչու՞:

58. Սառեցման եղանակով մանրէների պահպանման համար որպես կրիոպաշտպանիչ օգտագործվում է՝

Ա) մայրիի յուղը,

Բ) 10% NaCl-ի լուծույթը,

Գ) թորած ջուրը,

Դ) 10-20% գլիցերինի լուծույթը:

59. Սպոր առաջացնող անաերոբ բակտերիաների պահպանման համար կիրառվում է՝

Ա) լիոֆիլիացումը,

Բ) մանրէների չորացումը մակակլանիչների վրա,

Գ) սառեցումը սննդամիջավայրի և գլիցերոլի լուծույթում,

Դ) ճիշտ են բոլոր պատասխանները:

60. Լիոֆիլացված բջիջների վերաակտիվացման համար ավելացնում են

Ա) 1-2% NaCl-ի լուծույթ,

Բ) թորած կամ ծորակային ջուր,

Գ) գլիցերինային լուծույթ,

Դ) 7-10% դիմեթիլսուլֆօքսիդի լուծույթ:

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 1 **Սննդամիջավայրեր**

1. Մսապեպտոնային ազար (ՄՊԱ)

Արգանակ 1000 մլ, պեպտոն 1%, NaCl 0.5%, ազար-ազար 0.8-3%: Մանրէագերծել ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 20-30 րոպեի ընթացքում:

Արգանակը պատրաստելու համար միսը մաքրել ոսկորներից, ճարպերից և ջլերից, մանր կտրատել կամ աղալ մսադաջով: 500 գ ստացված մսային խճողակին ավելացնել 1 լ ծորակային ջուր և թողնել սենյակային ջերմաստիճանային պայմաններում 12 ժամ կամ 30°C 6 ժամ: Այնուհետև մսաջուրը քամել թանգիվով, իսկ ստացված լուծամզվածքը եռացնել 30 րոպե: Ստացված զանգվածը ֆիլտրել բամբակյա ֆիլտրով, ծավալը հասցնել սկզբնականին՝ ավելացնելով ջուր:

2. Ածիկային քաղցու ազար

Ածիկային քաղցու 1000 մլ, ազար-ազար 0.8-3%: Մանրէագերծել ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 20-30 րոպեի ընթացքում:

Ածիկային քաղցուն պատրաստելու համար գարու հատիկները քրջել սառը ջրով և ծլեցնել 35°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Երբ ծիլերը հասնեն հատիկի կրկնակի երկարության, դրանց պետք է չորացնել ածիկ ստանալու համար:

Քաղցուն պատրաստել հետևյալ կերպ. 250 գ աղացած ածիկը ծածկել 1 լ ծորակային ջրով, տաքացնել մինչև 48-50°C և թողնել 30 րոպե՝ անընդհատ խառնելով կախույթը: Այնուհետև ջերմաստիճանը տաքացնել մինչև 55-58°C և պահպանել այն մինչև օսլայի ամբողջական շաքարացումը: Օսլայի ամբողջական շաքարացումը ստուգել յոդի հետ փոխազդեցության ռեակցիայով: Ստացված լուծամզվածքը ֆիլտրել բամբակով կամ թղթե ֆիլտրով: Ֆիլտրատում որոշել շաքարների քանակությունը՝ օգտվելով Բալիմգի խտաչափով (°Բ): Անհրաժեշտ շաքարի խտությամբ քաղցուի ծավալը հասցնել ծորակային ջրով:

Որոշ սնկերի աճեցման համար պետք է օգտագործել 3-4°C, խմորասնկերի համար՝ 6-8°C, քացախաթթվային բակտերիաների համար՝ 4-6°C, իսկ կաթնաթթվային բակտերիաների համար՝ 8-12°C քաղցու:

3. Անքաշ կաթ

Թարմ կաթը տաքացնել մինչև եռալը, լցնել գլանների մեջ և պա-

հել սառնարանում 10-20 ժամ: Այնուհետև սերը հեռացնել և մասամբ յուղագրկված կաթը լցնել անոթների մեջ և մանրէազերծել ավտոկլավում 0.5 ամն պայմաններում 30 րոպեի ընթացքում:

4. Յուղագրկված կաթ

Անքաշ կաթը զատիչով ամբողջովին յուղագրկել, այնուհետև սերը հեռացնել և ստացված կաթը լցնել անոթների մեջ: Յուղագրկված կաթը կարելի է ստանալ նաև կենտրոնախուսմամբ (15 րոպե 650-1500 g), կամ եռացնելով, ապա թողնել սառնարանում 2 օր: Մանրէազերծել ավտոկլավում 0.5 ամն պայմաններում 30 րոպեի ընթացքում:

5. Կազեինի հիդրոլիզատ

20 գ կազեինը լուծել 200 մլ ջրում, ավելացնել 10 մլ խիտ H_2SO_4 և հիդրոլիզել ավտոկլավում 1.5 ամն պայմաններում 4 ժամվա ընթացքում:

6. Շաքարասնկային ավտոլիզատ

40 գրամ թարմ մամլված շաքարասնկերը (կամ 10 գ չոր շաքարասնկերը) լուծել 100 մլ ջրի մեջ, ավելացնել թիմոլի մի քանի բյուրեղ կամ 1-2 մլ բրորոֆորմ: Ստացված խառնուրդը տեղադրել 50-55°C ջերմապահարանում երեք օր: Ջերմության հավասարաչափ բաշխման նպատակով խառնուրդը թափահարել օրական 1-2 անգամ: Ստացված դարչնագույն ավտոլիզատը լավ խառնել և եռացնել 20 րոպե: Այնուհետև լուծույթը ֆիլտրել թղթե ֆիլտրով: Ավտոլիզատը մանրէազերծել ավտոկլավում 0.5 ամն պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում:

7. ՄՈՇ սննդամիջավայր (Մեն, Ռոգոզա և Շարպի սննդամիջավայր)

Կազեինի հիդրոլիզատ 10 գ, փոշիացված մսապեպտոնային արգանակ 10 գ, շաքարասնկային լուծամզվածք 5 գ, գլյուկոզ 20 գ, CH_3COONa 5 գ, ամոնիումի կիտրոնաթթվային աղ (երկտեղակաված) 2 գ, տվին 80 1 մլ, K_2HPO_4 2 գ, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 գ, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.05 գ, թորած ջուր 1000 մլ, pH 6.2-6.5: Սննդամիջավայրը մանրէազերծել ավտոկլավում 0.5 ամն պայմաններում 20-30 րոպեի ընթացքում:

8. Էշբիի սննդամիջավայր

Սախարոզ կամ մաննիտ 20 գ, K_2HPO_4 0.2 գ, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 գ, $NaCl$ 0.2 գ, K_2SO_4 0.1 գ, $CaCO_3$ 5 գ, միկրոտարրերի խառնուրդ 1 մլ, թորած ջուր 1000 մլ: Մանրէազերծել ավտոկլավում 1 ամն պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

Միկրոտարրերի լուծույթ (ըստ Ֆյոդորովի). H_3BO_3 5 գ, $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5 գ, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 գ, KI 0.5 գ, NaBr 0.5 գ, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ 0.3 գ, թորած ջուր 1000 մլ:

9. ԼԲ (Լուրիա-Բերտրանիի) սննդամիջավայր

Տրիպտոն 10 գ, շաքարասնկային լուծամզվածք 5 գ, NaCl 5 գ, թորած ջուր 1000 մլ: Մանրէագերծել ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 20-30 րոպեի ընթացքում:

10. ԿՈԴԱ սննդամիջավայր

Թողարկվում է չոր փոշու ձևով: Բաղկացած է պեպտոնից, ձկան հիդրոլիզատից, նատրիումի դոդեցիլսուլֆատից, NaCl-ից, լակտոզից, բրոմֆինոկապուտից: Սննդամիջավայրը պատրաստում են ըստ պիտակի վրա առկա ցուցումների:

11. Էնդոյի սննդամիջավայր

Ձկան ալյուրի պանկրեատինային հիդրոլիզատ 12 գ, շաքարասնկային լուծամզվածք 1 գ, NaCl 3.4 գ, Na_2SO_3 0.8 գ, Na_2HPO_4 0.5 գ, D-լակտոզ 10 գ, հիմնային ֆուքսին 0.2 գ, ագար-ագար 15 գ, թորած ջուր 1000 մլ: Բոլոր բաղադրիչները բացառությամբ լակտոզի, լուծել 900 մլ ջրում, իսկ լակտոզը լուծել 100 մլ ջրում և մանրէագերծել առանձին եռացնելով 15 րոպե կամ ավտոկլավով 0.5 ամճ պայմաններում 30 րոպեի ընթացքում: Հայտանյութը պատրաստման համար Na_2SO_3 լուծել 5 մլ թորած ջրում, որին ավելացնել հիմնային ֆուքսինի սպիրտային լուծույթ այնքան, մինչև լուծույթը կարմիրից դառնա թույլ վարդագույն: Ներկանյութը ամբողջովին ավելացնել մանրէագերծված սննդամիջավայրին: Սննդամիջավայրի pH 7.4-7.6:

12. Չիստովիչի դեղնուցադային ագար

10 գ NaCl պարունակող 100 մլ մանրէագերծված ՄՊԱ-ին ավելացնել 10-20 մլ ձվի դեղնուցակիթ, pH 6.9-7: Դեղնուցակիթ պատրաստել մանրէագերծ պայմաններում ձվի դեղնուցը՝ ավելացնելով 200 մլ ֆիզիոլոգիական լուծույթին և լավ խառնել:

13. Ցենտրիմիդային ագար

Ժելատինի պանկրեատինային հիդրոլիզատ 20 գ, MgCl 1.4 գ, K_2SO_4 10 գ, ցենտրիմիդ 0.3 գ, ագար-ագար 15 գ, թորած ջուր 1000 մլ, pH 7.2 ± 0.2 : Սննդամիջավայրերի բաղադրամասերը լուծել թորած ջրում, ավելացնել 10 մլ գլիցերին: Սննդամիջավայրը եռացնել բաղադրամասերի լավ լուծվելու նպատակով, մանրէագերծել ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում:

14. Շոկոլադային ագար

Պեպտոն 20 գ, գլյուկոզ 0.5 գ, NaCl 5 գ, Na_2HPO_4 5 գ, ագար-ագար

15 գ, թորած ջուր 1000 մլ, pH 7.3±0.2: Մանրէագերծել ավտոկլավում 1 ամն պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Մանրէագերծ պայմաններում 90 մլ մանրէագերծված սննդամիջավայրին ավելացնել 10 մլ արյուն: Ջրային բաղնիքում 80°C պայմաններում տաքացնել 10 րոպե մինչև սննդամիջավայրի գույնը փոխվի դարչնագույնի:

15. Կազամինային սննդամիջավայր

Կազամինային թթու 5 գ, շաքարասնկային լուծամզվածք 1 գ, Na-գլյուտամատ 1 գ, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 20 գ, NaCl 200 գ, KCl 2 գ, Na-ցիտրատ 3 գ, $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 36 մգ, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.36 մգ, ագար-ագար 20 գ, թորած ջուր 1000 մլ, pH 7-7.2: Մանրէագերծել ավտոկլավում 1 ամն պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում:

16. Լուլենշտեյն-Չենսենի սննդամիջավայր

L-ասպարազին 3.6 գ, KH_2PO_4 2.4 գ, $MgSO_4$ 0.24 գ, մագնեզիումի ցիտրատ 0.6 գ, կարտոֆիլային օսլա 30 գ, մալաքիտ կանաչ 0.4 գ, 12 մլ գլիցերին, 600 մլ թորած ջուր: Բաղադրամասերը լուծել ջրում (բաղադրամասերը լավ լուծելու նպատակով եռացնել 15 րոպե) և մանրէագերծել ավտոկլավում 1 ամն պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում: Մանրէագերծ պայմաններում պատրաստել ձվի դեղնուցակիթ (370 մլ ֆիզիոլոգիական լուծույթին ավելացնել մեկ ձվի դեղնուցակիթ և լավ խառնել): Ստացված ձվի դեղնուցակիթը ավելացնել մանրէագերծված հիմնական սննդամիջավայրին:

17. Գաուգեի սննդամիջավայր

KNO_3 1 գ, K_2HPO_4 0.5 գ, $MgSO_4$ 0.5 գ, NaCl 0.5 գ, $FeSO_4$ 0.5 գ, կարտոֆիլային օսլա 20 գ, ագար-ագար 20 գ, ծորակային ջուր 1000 մլ, pH 7-7.4: Մանրէագերծել ավտոկլավում 1 ամն պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

18. Սննդամիջավայր *Thermus* ցեղի ներկայացուցիչների աճեցման համար

Պեպտոն 1 գ, հիդրոլիզացված կազեին 1 գ, միտրիլոքացալխաթթու 100 մկգ, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 60 մկգ, $MgSO_4$ 100 մկգ, NaCl 8 մկգ, KNO_3 103 մկգ, $NaNO_3$ 689 մկգ, Na_2HPO_4 111 մկգ, $FeCl_3$ 2.8 մգ, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 22 մկգ, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 5 մկգ, H_3BO_3 5 մկգ, $CuSO_4$ 160 մգ, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 250 մգ, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 460 մգ, ագար-ագար 20-30 գ, թորած ջուր 1000 մլ, pH 8.2: Մանրէագերծել ավտոկլավում 1 ամն պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

19. Օրմերոուի սննդամիջավայր

KH_2PO_4 0.6 գ, K_2HPO_4 0.9 գ, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5-1.25 գ, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 գ, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.075 գ, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.012 գ, խնձորաթթու 6 գ, ԷԴՏՔ

0.02 գ, միկրոտարրերի լուծույթ 1 մլ, բիոտին 15 մգ, թորած ջուր 1000 մլ, pH 6.8: Պինդ սննդամիջավայր ստանալու համար ավելացնել ազար-ազար 20 գ: Սննդամիջավայրը պատրաստել առանց բիոտինի և մանրէազերծել ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում: Բիոտինը մանրէազերծել ֆիլտրմամբ և մանրէազերծ պայմաններում ավելացնել հիմնական սննդամիջավայրին:

Միկրոտարրերի լուծույթ. H_3BO_3 280 մգ, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 210 մգ, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 24 մգ, $Ca(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ 4 մգ, թորած ջուր 100 մլ:

20. Մաննինգի և Ջոնսոնի սննդամիջավայր

Սննդամիջավայրը կազմված է երեք բաղադրամասերից.

Ա) 300 մլ թորած ջրում լուծել $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 33.4 գ և 10 մ H_2SO_4 -ով թթվեցնել մինչև pH 2: Մանրէազերծել ավտոկլավում 0.5 ամճ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

Բ) $(NH_4)_2SO_4$ 6 գ, KCl 0.2 գ, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 գ, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 0.02 գ, թորած ջուր 550 մլ, pH 3: Մանրէազերծել ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 15 րոպեի ընթացքում:

Գ) ազարոզ 7 գ, 150 մլ թորած ջուր: Մանրէազերծել ավտոկլավում 1 ամճ պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

Բ և Գ լուծույթները պաղեցնել մինչև սենյակային ջերմաստիճան և մանրէազերծ պայմաններում խառնել, ապա ավելացնել Ա լուծույթը:

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 2

Ներկանյութերի և ռեակտիվների բաղադրատոմսեր

1. Ֆուքսին հիմնային (հազեցած սպիրտային լուծույթ)

Ֆուքսին հիմնային 10 գ, 96% էթանոլ 100 մլ:

2. Ֆուքսին հիմնային կարբոլային (Յիլի ֆուքսին)

Թարմ թորած ֆենոլի 5% ջրային լուծույթ 100 մլ, ֆուքսին հիմնային հազեցած սպիրտային լուծույթ 10 մլ: Պատրաստի խառնուրդը 48 ժ հետո ֆիլտրել: Ներկանյութն աչքի է ընկնում կայունությամբ:

3. Ֆուքսին հիմնային, ջրային լուծույթ

Յիլի կարբոլային ֆուքսին 1 մլ, թորած ջուր 9 մլ: Ջրային ֆուքսինը կայուն չէ, հետևաբար պետք է պատրաստել օգտագործումից անմիջապես առաջ:

4. Մեթիլեն կապույտի հազեցած լուծույթ

Մեթիլեն կապույտ 3 գ, 96% էթանոլ 100 մլ: Լուծույթը թողնել 2-3 օր, խառնել, ապա ֆիլտրել:

5. Մեթիլեն կապույտ 1:40

Մեթիլեն կապույտի հազեցած սպիրտային լուծույթ 1 մլ, թորած ջուր 40 մլ:

6. Մեթիլեն կապույտ (ըստ Լյոֆլերի)

Մեթիլեն կապույտի հազեցած սպիրտային լուծույթ 30 մլ, թորած ջուր 100 մլ, 1% KOH-ի ջրային լուծույթ 1 մլ:

7. Գենցիանային մանուշակագույն կարբոլային

Լուծույթ 1. գենցիանային մանուշակագույն 1 գ, 96% էթանոլ 10 մլ:

Լուծույթ 2. թարմ թորած 5% ֆենոլի ջրային լուծույթ 100 մլ:

Գենցիանային մանուշակագույնը լուծելուց հետո լուծույթները խառնել:

8. Բյուրեղային վիոլետի ջրային լուծույթ

Բյուրեղային վիոլետ 20 մգ, թորած ջուր 100 մլ:

9. Սաֆրանին, ջրային լուծույթ

2.5% սաֆրանինի լուծույթը 96% էթանոլում 10 մլ, թորած ջուր 100 մլ:

10. Ռեակտիվներ մտրակների ներկման համար.

Թուրմ: 12 գ տանինը տաքացնելով լուծել 48 մլ թորած ջրում, լուծույթին ավելացնել 30 մլ FeSO_4 -ի հազեցած ջրային լուծույթ և 6 մլ ֆուքսինի հազեցած սպիրտային լուծույթ: Լուծույթը ֆիլտրել և պահել հղկված խցանով ամրոքում: Թուրմը պետք է օգտագործել պատրաստումից մի քանի օր հետո միայն և կարող է պահպանվել մի քանի ամիս:

Ներկանյութ: Յիլի կարբոլային ֆուքսին և թորած ջուր 1:1 հարաբերությամբ:

Թուրմը և Յիլի կարբոլային ֆուքսինը պատրաստել նախապես: Նոս-րացված ֆուքսինը հարկավոր է պատրաստել օգտագործումից ոչ շատ առաջ: Աշխատանքից անմիջապես առաջ թուրմը և նոսրացված ֆուքսինը ֆիլտրել թղթե ֆիլտրով:

11. Ներկանյութեր լիպիդների հայտնաբերման համար

1. Սուդան III 0.5 գ, խիտ կաթնաթթու 100 մլ:

2. Սուդան սև B 0.3 գ, 70% տաք էթիլ սպիրտ 100 մլ:

Լուծույթները պահում են խցանված շշում 60°C-ում մի քանի ժամ, այ-նուհետև սառեցնել և ֆիլտրել:

12. Գրամի մշակմամբ Լյուգոլի լուծույթ

Բյուրեղային յոդ 1 գ, KI 2 գ, թորած ջուր 300 մլ: 30-50 մլ ծավալով հա-վանգի մեջ տեղադրել յոդի և KI-ի ճիշտ կշռված քանակությունները, խառ-նուրդը տրորել, ավելացնել 1 մլ թորած ջուր և, շարունակելով տրորել բյու-րեղները, ավելացնել ևս 5 մլ ջուր: Յոդը լուծվում է KI-ի լուծույթում: Լուծույ-թը ամբողջությամբ տեղափոխել անոթի մեջ և ծավալը հասցնել 300 մլ-ի: Լուծույթը պահպանել մուգ տարայի մեջ, այն պիտանի է մինչև 30 օր:

13. Լյուգոլի լուծույթ գլիկոգենի և գրանուլյոզի հայտնաբերման համար

I₂ 1 գ, KI 3 գ: թորած ջուր 300 մլ: Լուծույթը պատրաստել ինչպես նա-խորդը:

14. Թուրք՝ ներծծված քացախաթթվային կապարի լուծույթով

Կտրատել ֆիլտրի թղթի կտորներ (0.2-0.4×5-6 սմ), ընկղմել դրանք 5% Pb(CH₃COO)₂-ի ջրային լուծույթի մեջ, չորացնել օդում, տեղադրել Պետրիի քասում և մանրէագերծել ավտոկլավում 0.5 ամս պայմաններում 20 րոպեի ընթացքում:

15. Նեալերի ռեակտիվ

Լուծույթ 1. 70 գ KI-ի և 100 գ HgI₂-ի մմուշները լուծել 400 մլ թորած ջրում:

Լուծույթ 2. 100 գ KOH-ի մմուշը լուծել 500 մլ թորած ջրում:

1 և 2 լուծույթները խառնել և ընդհանուր ծավալը հասցնել 1 լ-ի: Նըստ-վածքի առաջացման դեպքում վերին թափանցիկ շերտը հեռացնել: Լուծույ-թը պահպանել մուգ ապակյա տարայի մեջ:

16. Գրիսի ռեակտիվ

Լուծույթ 1. 0.5 գ սուլֆանիլաթթուն լուծել 30 մլ սառցաքացախաթթվի մեջ: Ավելացնել 100 մլ թորած ջուր և ֆիլտրել: Սուլֆանիլաթթվի լուծույթը կայուն է մինչև մեկ ամիս:

Լուծույթ 2. 0.1 գ α-նավթիլամինը լուծել 100 մլ եռացրած թորած ջրում: Պաղեցնել և ավելացնել 30 մլ սառցաքացախաթթու: α-նավթիլամինի լու-ծույթը ֆիլտրել և պահել մեկ շաբաթից ոչ ավել: Օգտագործումից անմիջա-պես առաջ այս լուծույթները խառնել հավասար ծավալներով:

17. Էրլիխի ռեակտիվ

Պարա-երկմեթիլամինոբենզալդեհիդ 1 գ, 96% էթանոլ 95 մլ, խիտ HCl 20 մլ: Էթանոլի փոխարեն կարելի է օգտագործել մաս ի գումանիլ կամ ամիլ սպիրտ:

18. Օսլա-յողային ռեակցիայում նիտրիտների հայտնաբերման համար ռեակտիվներ

Լուծույթ 1. Օսլա 0.4 գ, $ZnCl_2$ 2 գ, թորած ջուր 100 մլ: $ZnCl_2$ լուծել 10 մլ ջրում, եռացնել և ավելացնել օսլան: Ծավալը հասցնել 100 մլ և թողնել սենյակային ջերմաստիճանում մեկ շաբաթ: Այնուհետև ֆիլտրել և ավելացնել 100 մլ 0.2% KI-ի լուծույթ:

Լուծույթ 2. Խիտ HCl 16 մլ, թորած ջուր 84 մլ:

19. Քրոմային խառնուրդներ լաբորատոր պարագաների լվացման համար.

- Խիտ ծծմբական թթվին ավելացնել 5% փոշիացված բյուրեղային $K_2Cr_2O_7$ և ջրային բաղնիքում զգուշությամբ տաքացնել ճենապակյա թասի մեջ մինչև լուծվելը:

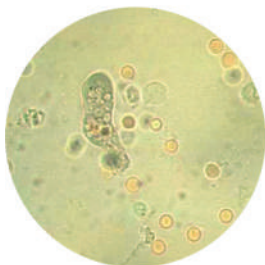
- 6 գ $K_2Cr_2O_7$ լուծել 100 մլ ջրում, այնուհետև լուծույթին զգուշությամբ ավելացնել 100 մլ ծծմբական թթու (խտությունը՝ 1.84):

Բազմակի օգտագործումից հետո քրոմային խառնուրդի մուգ նարնջագույն երանգը փոխվում է մինչև մուգ կանաչ: Այդպիսի խառնուրդն այլևս օժտված չէ լվացող հատկությամբ: Քրոմային խառնուրդով խորհուրդ չի տրվում լվանալ պարաֆինով, կերոսինով, հանքային յուղերով և նավթի թորման այլ արգասիքներով աղտոտված պարագաները:

Ուշադրություն: Քրոմային խառնուրդը քայքայում է բուսական և կենդանական ծագման հյուսվածքները, հետևաբար դրա հետ պետք է աշխատել շատ զգույշ: Եթե այն թափվել է ձեռքերի կամ հագուստի վրա, ապա վնասված հատվածը հարկավոր է անմիջապես լվանալ մեծ քանակությամբ ջրով, այնուհետև ամոնիակի կամ սոդայի նոսրացված լուծույթով և կրկին ջրով:

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 3

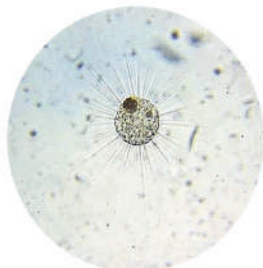
Էուկարիոտ մանրէներ



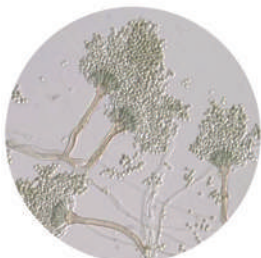
Entamoeba histolytica (400x)



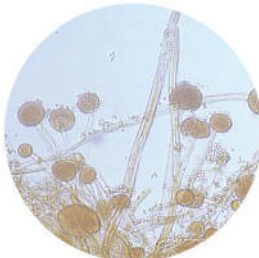
Paramicula caudatum (1000x)



Actinosphaerium sp. (1000x)



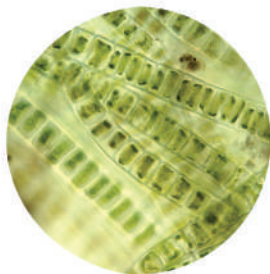
Aspergillus flavus (400x)



Mucor sp. (400x)



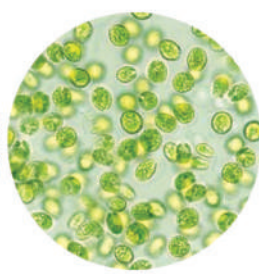
Candida albicans (400x)



Ulothrix zonata (400x)

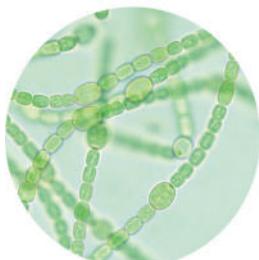


Volvox sp. (400x)

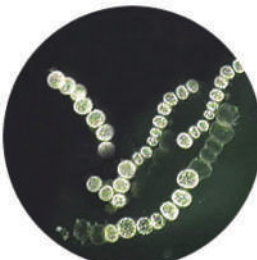


Chlorella sp. (400x)

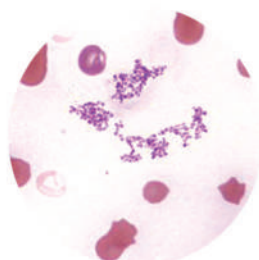
Քակտերիաներ



Nostoc azollae (1000x)



Thiomargarita namibiensis (100x)



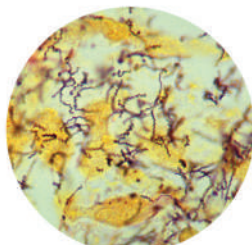
Mycoplasma haemofelis (1000x)



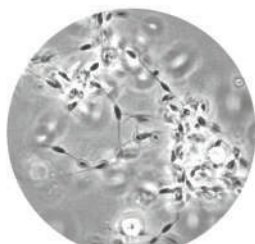
Corynebacterium diphtheriae (1000x)



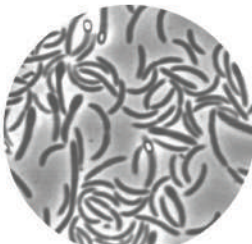
Vibrio cholera (1000x)



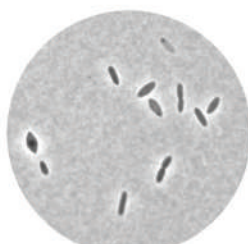
Treponema pallidum (1000x)



Rhodomicrobium vannielii (1000x)

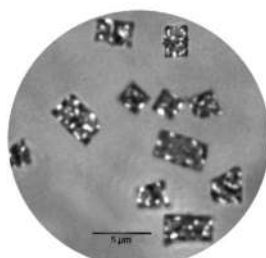


Desulfosporosinus auripigmentum
(1000x)

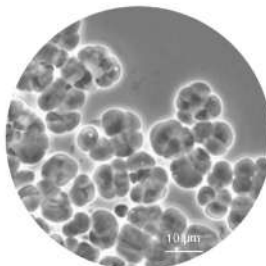


Desulfotomaculum arcticum (1000x)

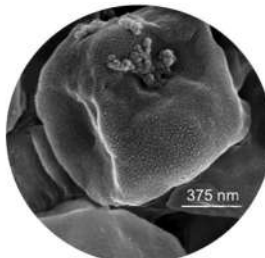
Արքեաներ



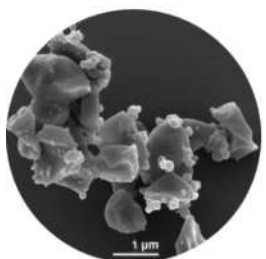
Haloquadra walsbyi



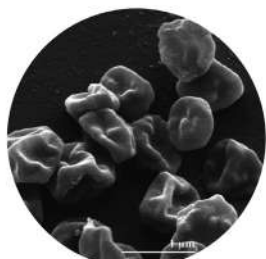
Methanosarcina acetivorans



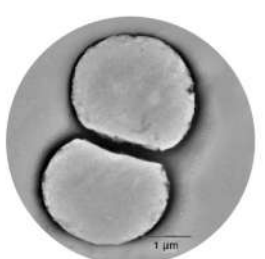
Sulfolobus solfataricus



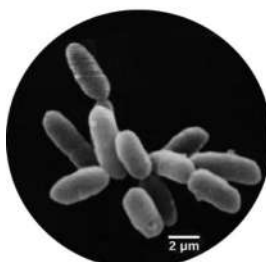
Archaeoglobus profundus



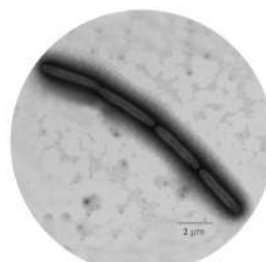
Ignisphaera aggregans



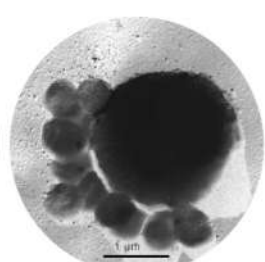
Picrophilus torridus



Halobacterium sp.



Methanopyrus kandleri

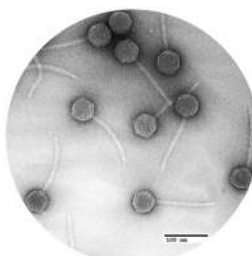


Ignicoccus sp.

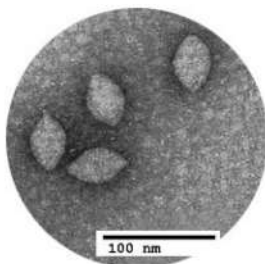
Վիրուսներ



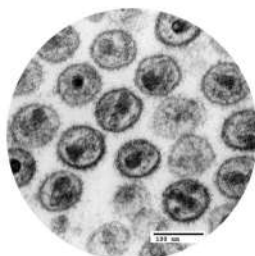
Բակտերիաֆագ T4



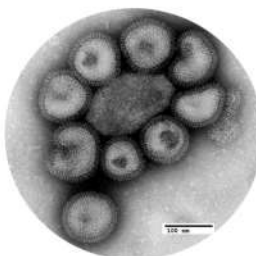
Բակտերիաֆագ λ



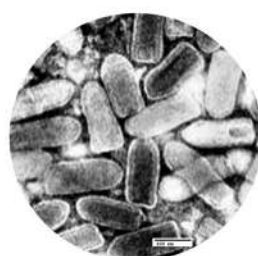
Sulfolobus tengcongensis-ի ֆագ
(Fuselloviridae)



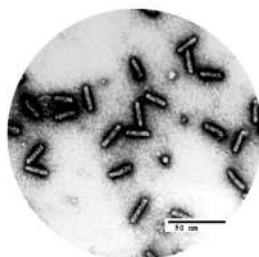
ՄՌԱՎ



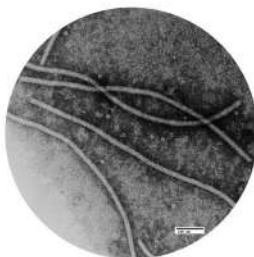
Գրիպի վիրուս



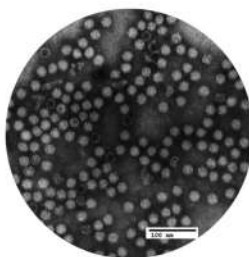
Կատաղության վիրուս



Նխախտի խճակարային վիրուս



Կարտոֆիլի վիրուս (Potyviridae)



Սոյայի վիրուս (Comoviridae)

ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ

1. Դանիելյան Է. Ե., Բաբայան Կ. Ռ., Խաչոյան Վ. Ի., Դանիելյան Ա. Է. Մաշկային և սեռափոխանցվող հիվանդությունների լաբորատոր ախտորոշումը: Երևան, Լույս, 1997, 248 էջ:
2. Հակոբյան Ա. Ն., Մանրեակենսաբանության առարկայի լաբորատոր աշխատանքների կատարման ուսումնական ձեռնարկ: Երևան, Լիմուշ, 2008, 70 էջ:
3. Շեկոյան Վ., Մանուկյան Կ., Բժշկական մանրէաբանություն, վիրուսաբանություն և իմունաբանություն: Երևան, ԵՊԲՀ հրատարակչություն, 2009, 478 էջ:
4. Градова Н. Б., Бабусенко Е. С., Горнова И. Б. Лабораторный практикум по общей микробиологии. Москва, ДеЛи принт, 2004, 144 с.
5. Егоров Н. С., Основы учения об антибиотиках. Москва, Издательство МГУ Наука, 2004, 525 с.
6. Еремина И. А., Кригер О. В., Лабораторный практикум по микробиологии. Кемерово, Издательство КТИПП, 2005, 112 с.
7. Избранные задачи большого практикума по микробиологии. Под ред. Егорова Н. С., Москва, Издательство МГУ, 1985, 72 с.
8. Калганова Т. Н., Практикум по микробиологии и биотехнологии, Южно-Сахалинск, СахГУ, 2011, 56 с.
9. Ленгелер Й., Древис Г, Шлегел Г., Современная микробиология: Прокариоты. Изд. Мир. В 2 т., 2005.
10. Методы общей бактериологии. В 3-х томах. Под ред. Ф. Герхарда и др., Москва, Мир, 1983.
11. Пименова М. Н., Гречушкина Н. И., Азова А. Г., Семенова Е. В., Мыльникова С. И., Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Под. ред. Егорова Н. С., Москва, Издательство МГУ, 1983, 224 с.
12. Пиневич А. В., Микробиология. Биология прокариотов: Учебник. В 3 т., СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2007.
13. Поздеев О. К., Медицинская микробиология, Москва, Геотар-Мед, 2001, 765 с.
14. Практикум по микробиологии. Под ред. Нетрусова А. И., Москва, Академия, 2005, 606 с.
15. Прунтова О. В., Сахно О. Н., Лабораторный практикум по общей микробиологии, Владимир, Изд-во ВлГУ, 2005, 77 с.
16. Сиротин А. А., Практикум по микробиологии. Белгород: Изд-во

БелГУ, 2007, 80 с.

17. Теппер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И., Практикум по микробиологии. Москва, Дрофа, 2004, 256 с.
18. Хоулот Дж, Криг Н., Снит П, Стейли Дж, Уильямс С., Определитель бактерий Берджи. В 2т., 1997.
19. Alexander S. K., Strete D., Niles M. J. ,Laboratory Exercises in Organismal and Molecular Microbiology. New York, The McGraw-Hill Companies, 2003, 384 p.
20. Benson H. J., Microbiological Applications: Lab. Manual. Plainview NY, The McGraw-Hill Companies, 8th Edition, 2001, 455p.
21. Black J. G., Black L. J., Microbiology principles and explorations. 8th ed. John Wiley & Sons, 2012, 851 p.
22. Brock Biology of Microorganisms. Madigan M. T., Martinko J. M., Dunlap P. V., Clark D. P., 13th ed., Pearson, 2012, 1152 p.
23. Carter J. and Saunders V. Virology: Principles and Applications. John Wiley & Sons Ltd, 2007, 358 p.
24. Harley J. P., Prescott L. M., Laboratory Exercises in Microbiology. 5th edition. New York, The McGraw-Hill Companies. 2002, 466 p.
25. Kayser F. H., Bienz K. A., Eckert J., Zinkernagel R. M., Color Atlas Medical Microbiology, Thieme Stuttgart, New York, 2005, 724 p.
26. Madigan M. T. Martinko J. M., Stahl D. A., Clark D.P. Brock Biology of Microorganisms. 13th ed. San Francisco: Pearson/Benjamin Cummings, 2012, 1043 p.
27. Practical handbook of microbiology. Eds, Goldman E. and Green L. H. 2nd ed. CRC Press. Taylor & Francis Group, 2009, 854 p.
28. Prescott H. K., Lansing M. P., John P. H., Donald A. K., Microbiology. Sixth edition. New York, McGraw-Hill Companies, 2005, 992 p.
29. Steve K. A. Dennis S. Mary J. N., Laboratory Exercises in Organismal and Molecular Microbiology. Spiral Bound/Comb. 2004, 384 p.
30. Tortora G. J., Funke B. R., Case Ch. L., Microbiology: An introduction. 11th ed., Pearson/Benjamin Cummings, 2013, 811 p.

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՄԱՍ ԱՌԱՋԻՆ

ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՀԱՄԱՌՈՏ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ ԵՎ ՄԱՆՐԷԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

ԳԼՈՒԽ 1

ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՀԱՄԱՌՈՏ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ.....3

ԳԼՈՒԽ 2

ՄԱՆՐԷԱԲԱՆԱԿԱՆ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐԻԱՅԻ ԿԱՀԱՎՈՐՈՒՄԸ ԵՎ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐԻԱՅՈՒՄ ԱՇԽԱՏԵԼՈՒ ԿԱՆՈՆՆԵՐԸ10

Մանրէաբանական լաբորատորիայի նախապատրաստումը	
աշխատանքի.....	12
Մանրէների կուլտուրաների հետ աշխատանքի կանոնները	14
Փորձնական արդյունքների գրանցումներ	20

ԳԼՈՒԽ 3

ՄԱՆԳԱՄԻՋԱՎԱՅՐԵՐ ԵՎ ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ԱՃԵՑՈՒՄԸ21

Մանրէների աճեցման համար կիրառվող սննդամիջավայրեր	21
Մանրէների աճեցման պայմանները.....	30
Մանրէների աճեցման օրինաչափությունները: Աճի կոր.....	41
Մանրէների աճեցման եղանակները.....	45

ԳԼՈՒԽ 4

ՄԱՆՐԷԱԶԵՐԾՄԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ48

Սննդամիջավայրերի մանրէազերծում	48
Ապակյա ամանեղենի մանրէազերծումը.....	59
Լաբորատոր գործիքների և պարագաների մանրէազերծումը.....	60

ԳԼՈՒԽ 5

ՄԱՆՐԱԳԻՏԱԿՆԵՐ, ՄԱՆՐԱԳԻՏԱԿՄԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐ.....65

HumanScope Light մակնիշի երկփողյա լուսային	
մանրադիտակի կառուցվածքը	65
Մանրադիտակի հետ աշխատանքի կանոնները	69
Մանրադիտակային հետազոտումը մութ տեսադաշտում.....	71
Մանրադիտակում փուլացայտերանգային	
հարմարանքի օգնությամբ	72
Լուսարձակային մանրադիտակում	77
Կոնֆոկալ լազերային սքանավորող մանրադիտակում	79
Մանրէների ուսումնասիրությունը լուսային մանրադիտակմամբ.....	81
Մանրէների կենդանի պատրաստուկներ	82
Մանրէների ֆիքսված պատրաստուկներ.....	86
Մանրէների չափսերի որոշումը	88
Էլեկտրոնային տրանսմիսիոն, սքանավորող և	
սքանավորող զոնդային մանրադիտակում	92

ԳԼՈՒԽ 6

ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՄԱՔՈՒՐ ԿՈՒՆՏՈՒՐԱՆԵՐԻ ՄԵԿՈՒՍԱՅՈՒՄԸ.....95

Կուտակիչ կուլտուրայի ստացում	95
Մաքուր կուլտուրայի մեկուսացումը	99
Մաքուր կուլտուրայի անջատումը միայնակ գաղութից	99
Մաքուր կուլտուրայի մեկուսացումը մեկ բջջից	104
Մեկուսացված կուլտուրայի մաքրության որոշումը	105
Մանրէների թվաքանակի որոշման մեթոդները.....	107
Մանրէային բջիջների թվաքանակի որոշումը մանրադիտակով	107
Բջիջների թվաքանակի հաշվարկումը հաշվիչ	
խցիկների կիրառմամբ	108
Մանրէների ուղղակի հաշվարկման մազանոթային մեթոդ	109
Բջիջների հաշվարկը մշտական (ներկված) պատրաստուկում	
(Վինոգրադսկու-Բրիդի մեթոդ)	111
Թաղանթային ֆիլտրերի օգնությամբ բջիջների հաշվարկում.....	112
Մանրէների թվաքանակի որոշումը սննդամիջավայրերում	
ցանքի մեթոդով.....	114
Մանրէների թվաքանակի որոշումը պինդ սննդամիջավայրերի	
վրա ցանքի մեթոդով (Կոխի մեթոդով)	115
Բջիջների թվաքանակի որոշումը հեղուկ սննդամիջավայրերում	
ցանքի մեթոդով (սահմանային նոսրացումների մեթոդ)	119
Կենսազանգվածի որոշումը կշռելով	122
Բջիջների թվաքանակի և կենսազանգվածի որոշումը	
պլոտորաչափական մեթոդով	125
Հոսքային բջջաչափման մեթոդ	127

ԳԼՈՒԽ 7

ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ԿՈՒՆՏՈՒՐԱՅԻՆ, ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԵՎ

ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ.....129

Կուլտուրային հատկությունները	129
Աճը պինդ սննդամիջավայրերի վրա	129
Աճը հեղուկ սննդամիջավայրում	133
Ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունները	134
Ածխածնի միացությունների յուրացումը.....	134
Ազոտի միացությունների յուրացումը	139
Ազոտ պարունակող օրգանական նյութերի յուրացումը	139
Ազոտի հանքային միացությունների յուրացումը	143
Մոլեկուլային ազոտի յուրացումը.....	144
Մոլեկուլային թթվածնի նկատմամբ մանրէների վերաբերմունքը և	
աճը անաերոբ պայմաններում	145
Դեմիտրիֆիկացման ունակությունը	147
Խմորման ունակության որոշումը.....	149

Արտաբջջային ֆերմենտներ սինթեզելու որոշումը.....	150
Հակաբիոտիկների առաջացումը	154
Մանրէների հակաբիոտիկային ակտիվության որոշումը	154
Հակաբիոտիկային նյութերի նկատմամբ մանրէների զգայունության որոշումը	158

ԳԼՈՒԽ 8

ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՊԸՀՊԱՆՈՒՄԸ

Մանրէների պահպանումը սննդամիջավայրում պարբերական փոխացանքերով	161
Մանրէների պահպանումը հանքային յուղում	163
Մանրէների պահպանումը լիոֆիլացմամբ	164
Մանրէների պահպանումը ցածր և գերցածր ջերմաստիճաններում	166
Մանրէների պահպանումը գլիցերոլում	167
Մանրէների պահպանումը թորած ջրում կամ նատրիումի քլորիդի 1% լուծույթում	168
Մանրէների պահպանումը մակակլանիչների վրա	168
Մանրէների կենսունակության գնահատումը երկարատև պահպանումից հետո	169

ՄԱՍ ԵՐԿՐՈՐԴ

ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐ

Թեմա 1

Մանրէների ուսումնասիրության մանրադիտակային մեթոդներ

Աշխատանք 1

Մանրադիտակներ, լուսային մանրադիտակի կառուցվածքը: Մանրէների կենդանի պատրաստուկներ	170
---	-----

Առաջադրանք 1

Ծանոթացում լուսային մանրադիտակի կառուցվածքին: Տիդմի կենդանի պատրաստուկի պատրաստում ճզմված կաթիլի մեթոդով.....	170
---	-----

Առաջադրանք 2

<i>Spirulina platensis</i> մանրէի կենդանի պատրաստուկի պատրաստում ճզմված կաթիլի մեթոդով.....	172
--	-----

Առաջադրանք 3

<i>Azotobacter chroococcum</i> մանրէի ճզմված կաթիլի մեթոդով պատրաստված պատրաստուկի մանրադիտակումը լուսային մանրադիտակով փուլացայտերանգային հարմարանքի օգնությամբ	174
---	-----

Առաջադրանք 4

<i>Rhodospirillum rubrum</i> մանրէի ճզմված կաթիլի մեթոդով պատրաստված պատրաստուկի մանրադիտակումը լուսային մանրադիտակով փուլացայտերանգային հարմարանքի օգնությամբ	176
---	-----

Աշխատանք 2

Մանրէների կենդանի պատրաստուկների պատրաստում
մատնահետքերի մեթոդով և պատրաստուկների մանրադիտակում 178

Առաջադրանք 1

Streptomyces roseosporus մանրէի մատնահետքերի մեթոդով
պատրաստված պատրաստուկի մանրադիտակումը լուսային
մանրադիտակով 178

Աշխատանք 3

Մանրէների ֆիքսված (կամ մշտական) պատրաստուկներ:
Մանրէների ձևաբանության ուսումնասիրությունը 181

Առաջադրանք 1

Enterococcus faecium մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 183

Առաջադրանք 2

Neisseria gonorrhoeae մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
մանրադիտակում 185

Առաջադրանք 3

Streptococcus thermophilus մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 187

Առաջադրանք 4

Micrococcus luteus մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 189

Առաջադրանք 5

Staphylococcus aureus մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 191

Առաջադրանք 6

Escherichia coli մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 193

Առաջադրանք 7

Salmonella typhimurium մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 195

Առաջադրանք 8

Pseudomonas aeruginosa մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 197

Առաջադրանք 9

Bacillus subtilis մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի պատրաստում
պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 199

Առաջադրանք 10

Clostridium botulinum մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում 201

Առաջադրանք 11

Mycobacterium tuberculosis մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
մանրադիտակում 203

Առաջադրանք 12

Thermus scotoductus մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում205

Առաջադրանք 13

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* մանրէի ֆիքսված
պատրաստուկի պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և
մանրադիտակում207

Առաջադրանք 14

Bifidobacterium bifidum մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում209

Առաջադրանք 15

Leptospirillum sp. մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում211

Առաջադրանք 16

Methanospirillum hungatei մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում213

Առաջադրանք 17

Haloarcula japonica մանրէի ֆիքսված պատրաստուկի
պատրաստում պարզ ներկման մեթոդով և մանրադիտակում215

Աշխատանք 4

Մանրէների համակեցությունների կազմի ուսումնասիրությունը
մանրադիտակային մեթոդներով217

Առաջադրանք 1

Մածնի միկրոբիոտայի ուսումնասիրությունը217

Առաջադրանք 2

Բերանի միկրոբիոտայի ուսումնասիրությունը219

Աշխատանք 5

Տարբերակիչ ներկմամբ ֆիքսված պատրաստուկների
պատրաստման մեթոդներ221

Առաջադրանք 1

Բակտերիաների ներկումն ըստ Գ-րամի221

Առաջադրանք 2

B. subtilis-ի էնդոսպորների ներկումը Պեշկովի մեթոդով225

Առաջադրանք 3

A. chroococcum-ի պատիճի ներկումը Հինսի մեթոդով228

Առաջադրանք 4

B. subtilis-ի մտրակների ներկումը Պեշկովի մշակմամբ
Լյոֆլերի մեթոդով230

Աշխատանք 6

Բջջային ներառուկների ուսումնասիրության մանրադիտակային
մեթոդներ233

Առաջադրանք 1

Գլիկոգենային ներառուկների հայտնաբերումը *S. cerevisiae*-ի
բջիջներում234

Առաջադրանք 2

Լիպիդային ներառուկների հայտնաբերումը *B. megaterium*-ի
բջիջներում236

Առաջադրանք 3

Պոլիֆոսֆատների հայտնաբերումը *L. delbrueckii subsp.*
bulgaricus-ի բջիջներում.....238

Առաջադրանք 4

Հարսպորային ներառուկների հայտնաբերումը *B. thuringiensis* -ի
բջիջներում240

Թեմա 2

Մանրէների աճեցման և մաքուր կուլտուրայի մեկուսացման մեթոդներ

Աշխատանք 1

Սննդամիջավայրերի պատրաստում և մանրէազերծում241

Առաջադրանք 1

Սննդամիջավայրերի և անհրաժեշտ պարագաների
մանրէազերծում.....241

Աշխատանք 2

Էլեկտիվ սննդամիջավայրերի պատրաստում: Մանրէների
կուտակիչ կուլտուրայի ստացում243

Առաջադրանք 1

Աերոբ էնդոսպոր առաջացնող մանրէների կուտակիչ
կուլտուրայի ստացումը243

Առաջադրանք 2

Աերոբ դիագոտորֆ կամ ազոտ ֆիքսող մանրէների կուտակիչ
կուլտուրայի ստացումը244

Աշխատանք 3

Մանրէների մաքուր կուլտուրաների մեկուսացում245

Առաջադրանք 1

Աշխատանք 2-ում ստացված կուտակիչ կուլտուրաների
մանրադիտակային հետազոտությունը և մաքուր կուլտուրայի
ստացումը Ռ. Կոխի և ճոսրացող գծերի մեթոդով245

Աշխատանք 4

Օդային ավազանի միկրոբիոտայի ուսումնասիրություն247

Առաջադրանք 1

Փակ տարածքների օդի մանրէաբանական կազմի որոշումը նստեցման
(սեդիմենտացիայի) մեթոդով248

Աշխատանք 5

Զրային էկոհամակարգերի միկրոբիոտայի ուսումնասիրություն249

Առաջադրանք 1

Գետի ջրի մանրէաբանական կազմի որոշումը Կոխի մեթոդով.....249

Աշխատանք 6

Մանրէների կուլտուրային և ձևաբանական հատկանիշների
բնութագրում251

Առաջադրանք 1

Գաղութների նկարագրություն և մանրադիտակային հետազոտում.....251

Թեմա 3

Մանրէների քանակական հաշվարկման մեթոդներ

Աշխատանք 1

Մանրէների թվաքանակի որոշում Կոխի մեթոդով.....253

Առաջադրանք 1

S. cerevisiae-ի կախույթում բջիջների թվի որոշումը
Կոխի մեթոդով (տե՛ս գլուխ 6)253

Աշխատանք 2

Մանրէների թվաքանակի որոշում պլտորաչափական մեթոդով.....255

Առաջադրանք 1

S. cerevisiae-ի կախույթում բջիջների թվի որոշումը
սպեկտրալուսաչափական եղանակով255

Աշխատանք 3

Մանրէների թվաքանակի որոշում Գորյասկի-Տոմի
խցիկի կիրառմամբ256

Առաջադրանք 1

S. cerevisia-ի կախույթում բջիջների թվի որոշումը Գորյասկի-Տոմի
խցիկի կիրառմամբ256

Թեմա 4

Մանրէների կենսաքիմիական հատկությունների

ուսումնասիրության մեթոդներ

Աշխատանք 1

Մանրէների հիդրոլազային ֆերմենտների ուսումնասիրությունը.....257

Առաջադրանք 1

Լիպազային ակտիվության որոշումը258

Առաջադրանք 2

Ամիլազային ակտիվության որոշումը.....260

Առաջադրանք 3

Կազեինալիտիկ և Ժելատինազային ակտիվության որոշումը262

Թեմա 5

Մանրէների փոխհարաբերության ձևերի և հակաբիոտիկների

նկատմամբ զգայունության ուսումնասիրության մեթոդներ

Աշխատանք 1

Մանրէների փոխհարաբերության ձևերի ուսումնասիրությունը265

Առաջադրանք 1

Մանրէների միջև հակագոնիզմի ուսումնասիրությունը
փոխտողահայաց գծային ցանքի մեթոդով266

Աշխատանք 2

Հակաբիոտիկների նկատմամբ մանրէների զգայունության
որոշումը267

Առաջադրանք 1

Մանրէների զգայունության որոշումը տարբեր
հակաբիոտիկների նկատմամբ.....267

Թեմա 6

Սանիտարամանրէաբանական հետազոտության մեթոդներ

Աշխատանք 1

Ջրի սանիտարամանրէաբանական հետազոտության մեթոդներ269

Առաջադրանք 1

Ջրում մանրէների ընդհանուր թվի որոշումը, ջրի կոլի-տիտրի և
կոլի-ինդեքսի որոշումը երկփուլ խմորման մեթոդով270

Առաջադրանք 2

Ջրի կոլի-տիտրի և կոլի-ինդեքսի որոշումը թաղանթային ֆիլտրերի
մեթոդով274

Թեմա 7

Բակտերիաֆագերի աճեցման և քանկական վերլուծության մեթոդներ

Աշխատանք 1

T-զույգ բակտերիաֆագերի աճեցումը.....276

Առաջադրանք 1

T4 ֆագի կախույթի ստացումը *E. coli* տեր բջիջների կիրառմամբ.....278

Առաջադրանք 2

Ֆագի որակական վերլուծությունը կաթիլային եղանակով279

Առաջադրանք 3

Բակտերիաֆագի տիտրումը ագարային շերտերի մեթոդով280

ԹԵՄՏԵՐ ԵՎ ԱՌԱՋԱԳՐԱՆՔՆԵՐ282

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 1

Սննդամիջավայրեր293

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 2

Ներկանյութերի և ռեակտիվների բաղադրատոմսեր298

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 3301

ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ305

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԹՈՂՈՒՆՅԱՆ Ա. Հ., ՓԱՆՈՍՅԱՆ Հ. Հ., ԲԱԶՈՒԿՅԱՆ Ի. Լ.,
ՄԱՐԳԱՐՅԱՆ Ա. Ա., ՊՈՊՈՎ ՅՈՒ. Գ.

**ՄԱՆՐԷԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ
ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ
ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐ**

ՈՒՍՈՒՄՆԱՄԵԹՈՂԱԿԱՆ ՁԵՌՆԱՐԿ

Համակարգչային ձևավորող՝ Կ. Չալաբյան
Կազմի ձևավորող՝ Ա. Պատվականյան
Տեխ. խմբագիր՝ Լ. Հովհաննիսյան
Սրբագրիչ՝ Վ. Դերձյան

Չափսը՝ 60x84 $\frac{1}{16}$: Տպ. մամուլը՝ 19.75:
Տպաքանակը՝ 100 օրինակ:

ԵՊՀ հրատարակչություն
ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1