

23-laboratoriya mashg 'uloti : Viruslarning harorat ta'sirida innaktivatsiya nuqtasini aniqlash

Kerakli materiallar: virusli namuna (tamaki mozaikasi virusining tamatdagi shtammi bilan kasallantirilgan mozaika simptomli tomat barglari), korund, 0,1 M fosfat buferi, 20 ml li yupqa devorli shisha probirkalar (12-14 dona), 1-10 ml li pipetkalar (6-8 ta), 50 ml kolba (2 dona), voronka (5 dona), doka 1 m²eksikatorlar (2 dona), vazelin, ip (№ YU), etiketkalar (15-16 dona), distnllangan suv (0,5 l), xloroform (5 ml), sentrifuga (minutiga 6000 ayl/tez), pH - metr, torozilar, chinni hovoncha, suv hammomi, termometr (0-100°S)

Ishning borishi: Tamaki mozaikasi virusining (TMV) tomatdagi shtammini harorat ta'sirida faolligini yo'qotishi nuqtasini aniqlash uchun tomatning tomat bilan kasallantirilgan barglari (50-60 g) 0,1 M fosfat buferi bilan havonchada yaxshilab maydalanadi (virusli material va fosfat buferining nisbati - 1:1), so'ngra 4 qavat dokadan o'tkaziladi. Dokadan o'tkazilgan suyuqlikni 10 daqiqa davomida minutiga 6000 marta aylanish tezligidagi sentrifugada aylantiriladi. Cho'kma usti syuqligini yupqa devorli shisha probirkalarga (12 dona) 5 ml dan qilib qo'yiladi. Birinchi probirkadagi virusli o'simlik shirasi nazorat variant qilib olinadi va qizdirilmaydi. Qolgan ikkita probirkadagi virusli namunalar har xil haroratda (50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100°S) suv hammomida 10 daqiqa davomida qizdiriladi, ya'ni probirkadagi virusli o'simlik shirasi termometr bilan bir xil chuqurlikda suv hammomiga joylashtiriladi. Termometr 50°S ni ko'rsatishi bilan suv xammomidagi issiqlik 10 minut davomida 50°S da saqlanadi. So'ngra u suv hammomidan olinib, vodoprovod tagida sovutiladi. Sovutilgan virusli o'simlik shirasini Nicotina glutinosa aniqlagich o'simligining korund bilan changlatilgan bargini o'ng tomoniga pipetka yordamida 4-5 tomchisi tomiziladi. So'ngra sterillangan shisha tayyoqcha yoki shisha kurakcha yordamida yoki sterillangan paxta bilan yoki sovunlab yuvib artilmay quritilgan barmoqlar bilan ohistalik bilan surtiladi (ishqalanadi). Bargning chap tomoniga esa qizdirilmagan nazorat o'simlik shirasi tomiziladi va u ham ohistalik bilan surtiladi. So'ngra ikki tomoniga virusli o'simlik shirasi surtilgan bargga etiketka bog'lanadi va nam kamera vazifasini bajaruvchi eksikatoridagi ipga osib qo'yiladi. Xuddi shu usulda ikkinchi probirka -55 °S da, uchunchisi - 60°S, to'rtinchisi - 65°S, beshinchisi - 70°S, oltinchisi -90°S, o'ninchi- 95°S va o'n birinchisi - 100°S da alohida-alohida suv hammomida 10 daqiqa davomida isitilib, sovutilib tayyorlangan shira aniqlagich o'simliklar bargini o'ng tomoniga yuqtiriladi va ular ham eksikatorga etiketkalar bilan osib qo'yiladi. Har bir variant 4-6 ta bargga yuqtiriladi. Etiketkalariga virus yuqtirilgan vaqt, qizdirilgan harorat, virusning nomi, chap tomoniga qizdirilmagan nazorat virusli shira yuqtirilgan bo'lib, u ham belgilanib qo'yiladi. Eksikator qopqog'iga vazelin surtilib zich qilib yopiladi va 48 soatga (aniqlagich o'simlik qilib N. glutinoza ishlatilganda) yoki 72 soat (N.sylvertris ishlatilganda) havo haroratida qoldiriladi. Ko'rsatilgan muddat o'tgandan so'ng, paydo bo'lgan kasallik simptomlari hisobga olinadi va jadvalga qayd etiladi. Natijalari grafik ravishda tasvirlash uchun absissa o'qiga nekrozlarni soni ordinata o'qiga esa harorat sonlari qo'yiladi. Olingan natijalar nuqtalari birlashtiriladi. Nazariy ravishda qaralganda haroratning oshishi bilan egri chiziq nolga intiladi. Qaysi bir qizdirish haroratida virus aktivligi 0 gacha pasaysa (nekrozlar kuzatilmasa) shu harorat virusning harorat ta'sirida faolligini yo'qotish (XTFY) nuqtasi deb belgilanadi.

Odatda tamaki mozaikasi virusini tamakidagi shtammining XTFY nuqtasi -95°S- 97°S TMV ning Qovoq shtamminiki 80°S-82°S TMV ning tomatdagi shtamminiki-96°S-98 S ga teng. Jo'xorining pakana mozaikasi virusiniki 50°S-52°S, sholg'om mozaikasi virusiniki 60°S-62°S va hokazo. Bu ko'rsatkichlar virus yoki uning shtammini identifikatsiya qilishda ishlatiladi.

