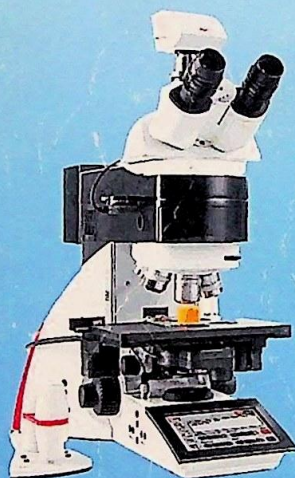


МИКРОБИОЛОГИЯДАН

ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТЛАРИ



Услубий қўлланма

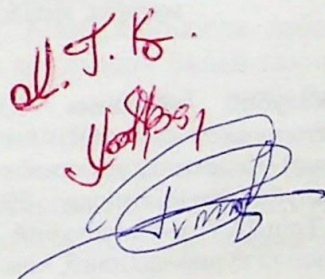
ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ҚИШЛОҚ ВА СУВ
ХЎЖАЛИГИ ВАЗИРЛИГИ

ТОШКЕНТ ДАВЛАТ АГРАР УНИВЕРСИТЕТИ

Зупаров М.А., Хакимов А.А., Рахмонов У.Н.,
Саттарова Р.К., Хакимова Н.Т., Аллаяров А.Н.

МИКРОБИОЛОГИЯДАН ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТЛАРИ

(ўқув қўлланма)

The block contains two handwritten signatures. The first is in red ink and appears to be 'R. K. Sattarova'. The second is in blue ink and is a more stylized signature, possibly 'U. N. Rakhmonov'.

Тошкент – 2014

Ушбу амалий машгулотлар бўйича қўлланма “Микробиология ва кишлоқ хўжалиги биотехнологияси” фани бўйича ўтиладиган амалий машгулотларнинг мавзуси, уни ўтказиш учун дастур, материал ва жиҳозлар, топшириқларнинг қисқача мазмуни, топшириқларни бажариш усули ва тартиби ҳамда олинган натижаларни муҳокама қилиш бўйича тушунча берилган.

Ушбу услубий қўлланма

Билим соҳаси: 400000 – Кишлоқ ва сув хўжалиги

Таълим соҳаси: 410000 – Кишлоқ, ўрмон ва балиқ хўжалиги

Таълим йўналишлари:

5420100-Фермер хўжалигини бошқариш ва юритиш

5411000 - Мева-сабзавотчилик ва узумчилик

5410400 – Кишлоқ хўжалиги экинлари селекцияси ва уруғчилиги

5410200 - Агрономия (деҳқончилик маҳсулотлари бўйича)

5111000 – Касб таълими (5410200 – Агрономия (деҳқончилик маҳсулотлари бўйича))

5410500 - Кишлоқ хўжалик маҳсулотларини сақлаш ва дастлабки қайта ишлаш технологияси мутахассисликлари учун мўлжалланган.

Тузувчилар:

**М.А.Зупаров
А.А.Ҳақимов
У.Н.Раҳмонов
Р.К.Саттарова
Н.Т.Ҳақимова
А.Н.Аллаяров**

Тақризчилар:

Ф.М.Бойжигитов - Ўзбекистон ЎХҚИТИ Кишлоқ хўжалиги экинлари касалликларини ўрганиш лабораторияси катта илмий ходими, кишлоқ хўжалик фанлари номзоди

Э.А.Холмуродов – ТошДАУ Ўсимликларни химоя қилиш кафедраси мудири, кишлоқ хўжалик фанлари доктори, профессор

Услубий қўлланма Кишлоқ хўжалиги биотехнологияси ва фитопатологияси кафедраси йиғилишида (2013 йил 20 декабрдаги 5-сонли баённома), Селекция, уруғчилик ва ўсимликларни химоя қилиш факультети ўқув услубий Кенгашининг 2013 йил 26 декабрдаги 4-сонли йиғилишида ҳамда ТошДАУ ўқув услубий Кенгашининг 2014 йил 5-феврал 2-сонли йиғилишида қўриб чиқилиб, чоп этишга рухсат этилди.

КИРИШ

Микробиология фани жуда кичик ўлчамдаги ва оддий кўз билан кўриш имконияти йўқ тирик организмлар тўғрисидаги фандир. Аслида микробиология юнонча сўз бўлиб, *micro*-кичкина, *bios*-ҳаёт ва *logos*-фан, таълимот деган маънони билдиради. Бу фан микроорганизмларнинг тузилишини, уларнинг фаолиятини, яшаш шароитини, фойдали ва зарarli томонларини ўрганади.

Ҳозиргача тўпланган маълумотлар шуни кўрсатадики, микроорганизмлар дунёси табиатда кенг тарқалган бўлиб, улар турли тумандир. Микроорганизмларни фақат ўлчамлари туфайли битта гуруҳга бирлаштирилган деб тушуниш нотўғри, чунки улар турли систематик гуруҳларга мансуб бўлган организмлардир.

Микроорганизмлар орасида хужайра тузилишига эга бўлмаган вирус ва микоплазмалар каби фақат электрон микроскопи орқали кўриш мумкин бўлганлари ҳамда тузилиши жиҳатидан анча мураккаб бўлган замбуруғлар бор.

Микробиология фанидан лаборатория машғулотларини ўтиш учун тақдим этилаётган ўқув қўлланма бакалавр талабаларини микроорганизмларнинг ташки кўриниши, белгилари, уларнинг келтирадиган фойда ёки зарари билан таништириш, лаборатория машғулотларини қандай қилиб бажаришни тушунтириб беради. Талабалар лаборатория машғулоти давомида микроорганизмларнинг культуралари, препаратлар ва асбоблар билан ишлашни ўрганадилар.

МИКРОБИОЛОГИЯ ЛАБОРАТОРИЯСИ ВА УНДА ИШЛАШ ҚОИДАЛАРИ

Машғулотни ўтиш тартиби: Микробиологик лабораторияларни ташкил этиш ва унда ишлаш қоидалари билан танишадилар. Микробиологик лабораторияларнинг асосий асбоблари ва жиҳозларидан фойдаланиш усулларини ўрганадилар.

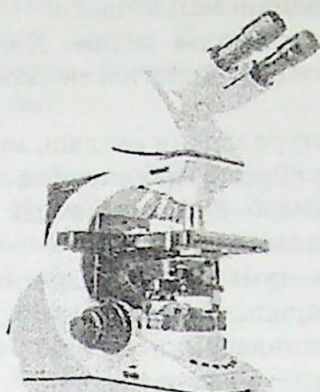
Керакли асбоблар: Микробиология лабораторияларида фойдаланиладиган асосий асбоб-ускуналар: автоклав, термостат, қуритиш шкафи, ламинар бокс, микроскоп ва бошқа асбоблар, идишлар.

Микробиология лабораторияси учун ажратилган хона ёруғ, кенг, унинг табиий ёритилганлиги 110 лк дан кам бўлмаслиги керак. Лаборатория хонасининг тагига осон ювиладиган линолеум тўшалган, столларнинг сирти пластик материаллар билан копланган бўлиши керак. Хона деворларини ердан 170 см баландликгача кафел қоплаш ёки мой бўёқ билан бўяш зарур. Микробиология хонасидаги столлар лаборатория типиди ва у ерда реактив ҳамда идишларни қўйиш учун шкаф ва пештахталар бўлиши керак. Столлар электр ва газ тармоғига уланган манбага эга бўлиши талаб этилади.

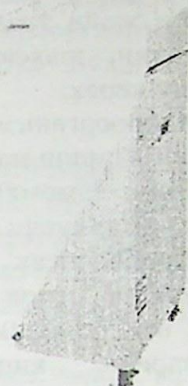
Микробиология лабораторияси асосий хонадан ташқари автоклав ва қуритиш шкафи қўйиладиган стерилизация хонасига, бокс, идиш ювадиган хона, совуткич ва термостат қўйиладиган, микроорганизмларнинг культураларини сақлайдиган хоналарга ва ҳоказоларга эга бўлиши керак. Бокс - микроорганизмларни экадиган унчалик катта бўлмаган хона бўлиб, у иккига ажратилган бўлиши зарур. Боксдаги асосий ишлаш хонасига кичик хона, яъни тамбурдаги суриладиган эшик орқали кирилади. Бу ҳолат эшик очилганда ташқаридаги ҳаво орқали микроорганизмларни тўғридан-тўғри кириб келишини маълум даражада олдини олади. Бокс ичида ишчи ва бактерицид лампа бўлиши керак. Ҳозирги вақтда столга жойлаштириладиган турли катталиқдаги ичида стерил ҳавоси алмашиб турадиган ламинар бокслар ҳам кенг ишлатилмоқда.

Микробиологик лабораторияларида микроорганизмлар билан иш олиб борилади. Қишлоқ хўжалик олий ўқув юртларининг агрономия йўналишларида микробиологик тадқиқотлар асосан ўсимликларни ўсиши ва ривожланиши ҳамда қишлоқ хўжалик маҳсулотларини қайта ишлаш жараёнида иштирок этувчи микроорганизмлар устида олиб борилсада, уларнинг орасида инсонларда касаллик қўзғатувчи турлари ҳам бўлиши мумкин. Шунинг учун лабораторияда ходим ва талабалар ўзларига айрим касалликларни юқтирмасликлари учун ички тартиб қоидаларига қатъий риоя қилишлари зарур. **Улар қуйидагилардир:**

1. Барча ходим ва талабалар оқ халатда ишлашлари керак. Лабораторияга халатсиз кириш мутлақо мумкин эмас. Зарур ҳолларда ходим ва талабалар юзларига докадан тайёрланган ниқобларни тақишлари керак.



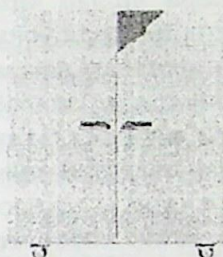
Ўзглич микроскоп



Астоклас



Қуритиш ишакфи



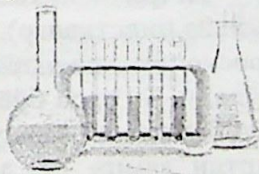
Термостат



Центрифуга



Сув ҳаммоми



Лаборатория ишшиа идишлари

2. Лабораторияда чекиш ва овқатланиш ман этилади.

3. Иш жойи тоза ва намунали сақланиши лозим. Ходим ва талабаларнинг шахсий кийимлари махсус ажратилган жойларда сақланиши керак.

4. Микроорганизмларни соф культураларини сақлаш, кузатиш ва уларни ўлдириш махсус қўлланмага кўра олиб борилиши лозим.

5. Ишни тамомлагач, қўлни яхшилаб ювиш ва керак бўлса дезинфекция қилувчи эритмадан фойдаланиш лозим.

Микробиологик лабораториялар туман ёки вилоятлардаги ўсимликларни химоя қилиш бўлимларида, ўсимликларни химоя қилиш ва қишлоқ хўжалик экинларининг нав синаш станцияларида, қишлоқ хўжалик маҳсулотларини қайта ишлайдиган корхоналар қошида, пиво ва вино ҳамда сут маҳсулотлари ишлаб чиқариладиган заводларда ташкил этилади. Бу лабораторияларда ўсимлик, тупроқ ва экинларнинг уруғларидан олинган намуналар ҳамда қишлоқ хўжалик хом ашёларини қайта ишлаб чиқариш жараёнини бошқариш давомида олинган намуналар микробиологик усуллар билан текширилади.

Бундан ташқари, сув, ҳаво, озиқ-овқат маҳсулотлари ва турли буюмлар ҳам микробиологик текширувдан ўтказилади. Микробиологик лабораторияда микроорганизмларни соф ҳолда ажратиб олиш учун бокс ёки ламинар бўлиши шарт.

Микробиология лабораторияси қуйидаги асбоблар билан таъминланган бўлиши керак: биологик ва люминесцентли микроскоп, термостат, стериллаш учун асбоблар (автоклав, қуритиш шкафи, Кох аппарати), рН-метрлар, дистилланган сув тайёрлайдиган асбоб (дистиллятор), центрифугалар, техник ҳамда аналитик тарозилар, филтрлайдиган асбоб (Зейтц филтри ва бошқалар), сув ҳаммоми, совуткичлар, пахта-докали пробкалар тайёрлайдиган аппарат асбоблар тўплами (бактериологик сиртмоқ, шпателлар, игналар, пинцет ва бошқалар), лаборатория идиши (пробиркалар, колбалар, Петри ликобчалари, флаконлар, ампулалар, белгили ва белгисиз пипеткалар).

Лабораторияда микроскопик препаратларни бўяш учун алоҳида жой ажратилган бўлади. Бу ерда бўёқлар эритмаси, спирт, кислоталар, филтр қоғоз ва бошқалар мавжуд бўлиши керак. Ҳар бир иш жойи газ ёки спиртли лампа ва дезинфекция эритмаси солинган шиша идишлар билан таъминланган бўлиши шарт. Кундалик ишлатиш учун лабораторияда етарли миқдорда озиқа

муҳитлари, кимёвий реактивлар ва бошқа керакли нарсалар бўлиши зарур. Йирик лабораторияда микроорганизмларни кўп миқдорда ўстириш учун термостат хонаси бўлиши мақсадга мувофиқ.

Микробиологик лабораторияларда қўлланиладиган асбоблар:

Термостат. Бу жиҳозда иссиқлик бир хил даражада сақланиб турилади. Кўп микроорганизмларнинг кўпайиши учун қулай ҳарорат 25-27°C ҳисобланади. Термостатлар қуруқ, ҳаволи ва сувли бўлади. Булардан микроорганизмларни ўстириш учун фойдаланилади.

Қуришиш шкафи (Пастер печи). Шиша, чинии ва металдан ясалган лаборатория идишлари ҳамда бошқа материалларни стериллаш учун мўлжалланган.

Автоклав. Бу жиҳоз буғ ва босим билан стериллашга мўлжалланган. Микробиологик лабораторияларда автоклавларнинг турли хиллари (горизонтал, вертикал шаклдаги, кўчириб бўлмайдиган ва кўчириш мумкин бўлган турлари) ишлатилади.

Совуткичлар. Микроорганизмларни, озиқа муҳитларни, зардоб ва бошқа биологик жиҳатдан фаол препаратларни 4°C атрофида сақлаш учун фойдаланилади. Биопрепаратларни 0°C дан паст ҳароратда сақлаш учун паст ҳароратли совуткичлардан фойдаланилади. Буларда ҳарорат -20°C ва ундан ҳам паст бўлиши мумкин.

Центрифугалар. Булар микроорганизмлар хужайраларини чўктириш, бир хил бўлмаган суюқликларни ажратиш учун ишлатилади. Лабораторияда турли тезликда айланадиган центрифугалардан фойдаланилади.

Микроорганизмларнинг колонияларини ҳисобловчи асбоб. Ярим автомат ҳисобловчи асбоб пружина мослама билан игнага уланган. Игна Петри ликобчасидаги колония устига бир оз тегизилади ва ликобча юзасида из қолади. Бундан қўл билан ушланадиган кисми юқорига кўтарилади, натижада занжир беркилади, асбоб ҳисоблай бошлайди.

МИКРОСКОП ВА УНИНГ ТУЗИЛИШИ

Машгулотни ўттиш тартиби: Биологик микроскопнинг тузилиши ва улар билан ишлаш конун қоидаларини ўрганадилар.

Микроскопни йиғилган ҳолда ҳамда унинг алоҳида қисмлари билан танишадилар. Талабалар микробиологик тадқиқотлар олиб боришда микроскопда ишлаш техникасини ўрганади.

Керакли асбоб ва реактивлар: Микроскоп, турли объектив ва окулярлар, микроорганизмларнинг бўялган мазоклари, иммерсион мой, дока салфеткалари, микроорганизмларнинг тасвири кўрсатилган жадваллар.

Микроорганизмларни кузатиш ва текшириш учун микроскопларнинг бир неча тури (биологик, люминесцент, электрон) дан фойдаланилади.

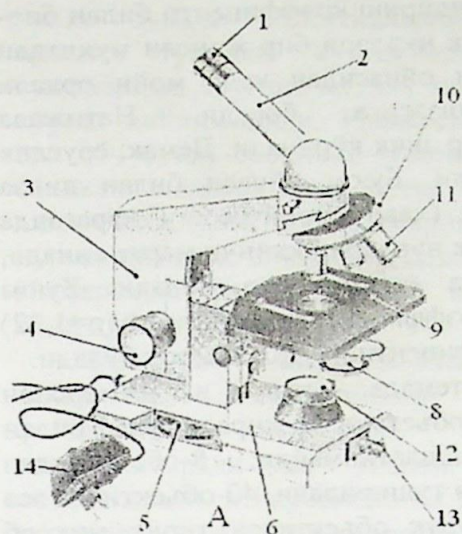
Биологик микроскоп. Микробиологик амалиётда қўлланиладиган ёруғлик микроскоплари микроорганизмларнинг шакли, тузилиши, ўлчами ва бошқа белгиларини аниқлаш ва катталиги 0,2-0,3 мкм дан кичик бўлмаган микроорганизмларни кўриш учун мўлжалланган. Иммерсион объективлар ёрдамида микроскопда 0,2 мкм дан кичик бўлган объектларни кўриш мумкин.

Биологик микроскоп иккита асосий қисмдан иборат: *механик* ва *оптик*.

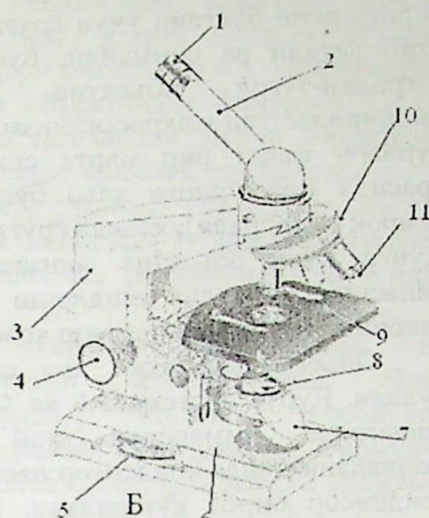
Механик қисмларига - штатив, тубус, револьвер, микровинт, макровинт, буюм столчаси киради.

Оптик қисмларига — окуляр, объектив, ёритгич ёки конденсор, кўзгу киради.

Механик қисми: *Штатив* - микроскопнинг асосий қисми бўлиб, бунга *макровинт* ва *микровинт*, *тубус*, тубуснинг пастки қисмига ўрнатилган *револьвер* ва бошқалардан иборат бўлади. Тубус винтлар ёрдамида ҳаракатланади, макровинт — фокусни тахминан, микровинт — фокусни аниқ тўғрилаш учун ишлатилади. Макровинт бир марта тўла айлантирилганда труба 0,1 мм сурилади. Микровинт эса жуда эҳтиётлик билан айлантирилиши керак, чунки унинг жуда нозик кертиси бор. *Буюм столчаси* - унга препарат қўйилади. Буюм столчаси ҳаракатланадиган ёки ҳаракатланмайдиган бўлиши мумкин. Ҳаракатланувчи столча препаратни турли томонга суриш учун керак, столчанинг ён томонида иккита винт буралади. Препаратларни қўл билан сурилгандан кўра, винт билан аниқ суриш мумкин.



МИКМЕД-1



БИОЛАМ

1-окуляр, 2-тубус, 3-тубус тутқичи, 4-макроевент, 5-микроэвент, 6-таглик, 7-кўзгу, 8-конденсор, ирис диафрагмаси ва светофилтр, 9-буюм столчаси, 10-револьвер усқунаси, 11-объектив, 12-коллектор линза корпуси, 13-лампа, 14- электр токи манбаи.

Оптик қисми: *Окуляр* - иккита линзадан тузилган бўлиб, биринчиси йиғувчи линза объективга қараган, иккинчиси эса асосий линза бўлиб, кўзга қараган бўлади. Окулярнинг неча марта катта қилиб кўрсатиши гардишида ёзиб қўйилган бўлади (7х, 10х, 15х). Бактерияларни текширганда кўпинча 15х белгиси қўйилган окулярдан фойдаланилади.

Объективлар: Объективнинг гардишида ёзилган 8, 40, 90, 120 рақамлари шу объективни неча марта катта қилиб кўрсатишини билдиради. 8- объектив камроқ катта қилиб кўрсатса, 40- объектив ўртача, 90 ва 120 иммерсион объектив жуда катта қилиб кўрсатади. Иммерсион объектив дейилишининг сабаби, бу объективдан фойдаланилганда препаратга бир томчи кедр мойи (иммерсион мой) томизилади ва объектив линзаси шу мой томчисига ботирилади. Объектив иммерсион мойга ботиб турганлигидан унга ёруғлик нурлари кўпроқ тушади. Бунинг сабаби шуки, конденсордан буюм ойнасига келувчи ёруғлик нурлари шу ойнада синади. Ойнада кедр мойи бўлмаса, объектив шу жойга ботиб туради, мойнинг нур синдириш коэффициентини

буюм ойнасининг ёруғлик нур синдириш коэффициенти билан бир-бирига яқин бўлгани учун ёруғлик нурлари бир жинсли муҳитдан ўтиб кетади ва синмайди, буюм ойнасидан кедр мойи орқали тўғридан-тўғри объектив линзасига боради. Натижада текширилаётган микроорганизмлар аниқ кўринади. Демак, ёруғлик нурлари фақат бир марта синади. Буюм ойнаси билан линза орасида мой ўрнига ҳаво бўлса (ҳаво нурни мойга қараганда камроқ синдиради), ҳавода ёруғлик нурлари иккинчи марта синади, шунга кўра объектив линзасига камроқ нур боради. Буюм ойнасининг ёруғлик синдириш коэффициенти қараганда ($n=1,32$) ҳавонинг ёруғлик синдириш коэффициенти ($n=1,0$) камроқ бўлади.

Объективлар икки хил системада - қуруқ ва иммерсион бўлади. Қуруқ системага 8 ва 40 объективлар киради, улар билан ишлаганда иммерсион мой ишлатилмайди. 8-объективдан фойдаланилганда конденсор пастга туширилади, 40-объективда эса конденсор бироз кўтарилади. Қуруқ объективда тирик микроб кўрилса, иммерсион объективда ўлик ёки бўялган микроблар кўрилади.

Микроорганизмларни неча марта катталаштирилганини билиш учун объектив ва окулярнинг кўрсаткичлари бир-бирига кўпайтирилади. Масалан, объектив 90х бўлиб, окуляр 15х га тенг бўлса, уларнинг кўпайтмаси 1350 га тенг, яъни микроблар микроскопда 1350 марта катта қилиб кўрсатилган бўлади.

Кўзгу икки хил бўлади - *ботиқ* ва *ясси*. Ёритгич билан ишлаганда асосан ясси кўзгудан фойдаланилади, чунки бу кўзгу ёруғлик нурларини параллел тутам қилиб беради. Ёруғлик кам бўлгандагина ботиқ кўзгудан фойдаланилади.

Ёритгич ёки Аббе конденсори. Бунга микроскоп столчасининг остидаги ирис диафрагма бириктирилган бўлади. Конденсор линзаларнинг мураккаб системасидан иборат бўлиб, микроскопнинг кўрув майдонини бир текис яхши ёритиш учун керак. Кўзгудан ёритгичга тушадиган нурлар тутами шу ерда йиғилади, ёритгичдан янада равшанроқ параллел нурлар тутами чикиб, объектив линзасига тушади. Шу сабабли кўзгудан ва ёритгичдан фойдаланганда микроскопнинг кўрув майдони кўзгунинг ёлғиз ўзидан фойдаланишга қараганда яхшироқ ёритилади.

Объектларни камроқ ва ўртача катта қилиб кўрсатадиган объективлардан фойдаланганда ёритгични тушириб қўйиш керак,

чунки бундай объективларнинг линзалари каттароқ бўлади, ёритгич тушириб қўйилганда ҳам уларга етарли ёруғлик тушаверади, ёруғлик ҳаддан ташқари равшан бўлса, микробларни кўриш кийинлашади. Иммерсион объективдан фойдаланилганда ёритгич буюм столнинг томонига тегизилади, чунки иммерсион объектив линзаси жуда кичик бўлади, ёритгич шу линзага қанча яқин бўлса, унга шунча кўпроқ нур тушади. Тушадиган ёруғлик нурларини ирис диафрагма ёрдами билан ҳам ўзгартириш мумкин. Иммерсион объектив билан ишлаганда диафрагмани бутунлай очиб қўйиш керак.

Биологик микроскопга қўшимча мосламалар. Бу мосламалар микроскопнинг бутун имкониятидан тўлиқ фойдаланиш имконини беради, ишлаш шароитини энгиллаштиради ва уларни қўллаш доирасини бирмунча кенгайтиради. Микробиологик лабораторияларда асосан куйидаги мосламалардан фойдаланилади:

1. Қоронгилаштирувчи кардиоид ва параболоид - конденсорлар;

2. Фазо-контраст мосламалар;

3. Кўринишни табиий шароитга яқинлаштирувчи жуфт окулярли насадка;

4. Қулай ва турғун ёруғликни таъминловчи ёритгичлар;

5. Микроскопик объектларни ўлчаш учун мўлжалланган окуляр - микрометр ва объект-микрометрлар;

6. Препаратларни расмини чизувчи, расм оладиган асбоб. Бу асбоб ёрдамида бир вақтнинг ўзида объект ва столдаги микроскопга яқин турган қоғоз тасвирини кўриш ва қоғозга контурларини чизиш мумкин.;

7. Ёруғлик манбаи билан микроскоп оралиғига ўрнатиловчи ва микрофотографияларда, микроскопиянинг махсус усулларида қўлланувчи рангли, нейтрал, оптик ёруғлик филтрлари;

8. Микроскопик объектларнинг расмини олиш учун ишлатилувчи микромосламалар;

9. Қисқа (цейтрофер) микрокинога олиш учун фойдаланиладиган жуда кичкина мослама, у фазо-контраст микроскопия билан биргаликда микроорганизмларнинг ривожланиши, кўпайиши, динамикасини, уларга турли омилларнинг таъсири ва бошқа кўп масалаларни ўрганиш учун ишлатилади.

Қоронғи кўрув майдонидаги микроскопия. Қоронғи кўрув майдонида микроскоп остида кўриш, суюкликдаги жуда майда заррачалар аралашмасини ён томондан кучли ёритилиши натижасида ҳосил бўладиган ёруғлик дифракциясига асосланган. Бунга биологик микроскопдаги оддий конденсорни параболоид ёки кардиоид - конденсор билан алмаштириш натижасида эришилади.

Фазо-контраст микроскопия. Шаффоф объектлардан ёруғлик тўлкини ўтаётганда фазо ўзгаришларининг амплитуда ўзгаришларига айланишига асосланган, буни кўз билан сезса бўлади.

Фазо-контраст мослама ёрдамида объектдан ўтувчи ёруғлик тўлкинларнинг фазовий ўзгаришларини амплитудали ва шаффоф объектларга айланиб микроскоп остида кўринадиган бўлади. Бунда улар юқори контрастли тасвирларга эга бўлиб, позитив ёки негатив бўлиши мумкин. Позитив фазо-контраст деб, ёруғ кўриш майдонида объектнинг қора, негатив фазо-контраст деб, қоронғиликда объектнинг ёруғ тасвирига айтилади. Фазо-контраст микроскопда кўриш учун оддий микроскоп ва унга қўшимча мосламадан фойдаланилади.

Люминесцент ёки флюоресцент микроскопда кўриш.

Люминесценция - моддаларга қандайдир энергия манбаи таъсир қилганда уларда ёруғлик тарқалади. Буларга ёруғлик, электрон нурлари, ионлаштирувчилар қиради. Фотолюминесценцияда объектнинг таъсирида люминесценция қилинишидир. Люминесценция қисқа тўлкинли нурлар ёрдамида ҳосил бўлади. Агар люминесценция қилинадиган объектга кўк ёруғлик юборилса, у қизил, тўқ сарик, сарик ёки яшил ранглари тарқатади. Натижада объект рангли кўрилади.

Бирламчи люминесценция объект олдиндан бўялмаса ҳам кузатилади. Иккиламчи люминесценция эса, препаратни махсус люминесцент бўёқлар - флюорохмалар билан бўялганда ҳосил бўлади. Люминесцент микроскопия бошқа усулларга нисбатан бир мунча афзалликларга эга: тирик микроорганизмларни текшириш ва текшириляётган материалларда жуда кам микдорда бўлса ҳам уларни топиш.

Лаборатория амалиётида кўпчилик микроорганизмларни аниқлаш ва ўрганиш учун люминесцент микроскоплардан кенг фойдаланилади.

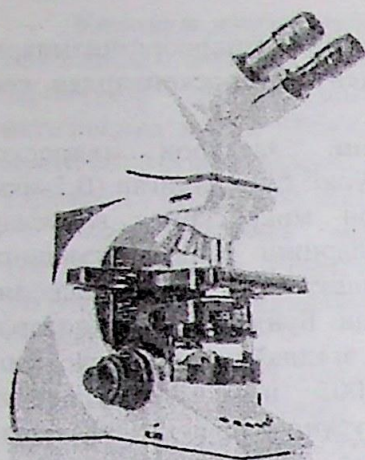
Электрон микроскопда кўриш. Электрон микроскоп ёрдамида ёруғлик микроскопи билан кўриб бўлмайдиган (0,2 мкм) кичик объектлар кўрилади. Электрон микроскоп вируслар, микоплазмалар, турли микроорганизмларнинг нозик тузилиши, макромолекуляр бирикмалари ва бошқа субмикроскопик объектларни ўрганиш учун қўлланилади. Бундай микроскопларда ёруғлик нурларини электрон оқимлари эгаллайди. Ушбу электрон оқимларининг тўлқин узунлиги 0,005 нм бўлиб, деярли кўринадиган ёруғлик тўлқинларининг узунлигидан 100 000 марта калта. Электрон микроскопининг энг кучли кўрсата олиш имконияти амалда 0,1 - 0,2 нм бўлиб, умуман 1000 000 мартагача катта қилиб кўрсатади.

«Нур таркатувчи» электрон асбоблар билан бир қаторда сканирлайдиган электрон микроскоплардан ҳам фойдаланилади. Улар объект рельефини яхши кўрсатади. Аммо бу микроскопнинг катта қилиб кўрсатиш имконияти «нур таркатувчи» электрон микроскопникидан кам.

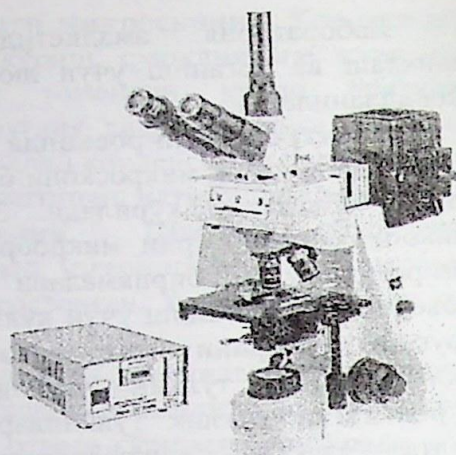
Микроскопни ишлаш учун тайёрлаш: Микроскопни куёш нури тўғридан-тўғри тушадиган жойдан узоқда жойлаштириш зарур. Буюм столини қора рангда бўялиши кўзни камроқ толиқишига сабабчи бўлади.

Микроскопга ўнг кўзни юммаган ҳолда чап кўз билан қараш тавсия этилади. Бинокуляр билан ишлаш вақтида окулярни иккисининг ҳам кўриш майдонини бир текисликка келтириб, ҳар икки кўз учун бир хил кўринишни ҳосил қилиши керак.

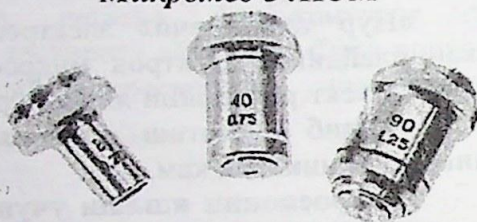
Микроскопни бир жойдан иккинчи жойга иккита қўл ёрдамида кўчирилади, бунда бири билан штатив ушлаб турилса, иккинчиси билан унинг асоси ушланади. Микроскопни бошқа буюмлар билан урилишидан, турли моддаларни таъсиридан (кислота ва ишқорлардан) сақлаш керак. Окулярни трубкадан чиқариб қўйиш мумкин эмас, чунки бу ҳолат объектив ва трубкани чанг босишига сабабчи бўлади.



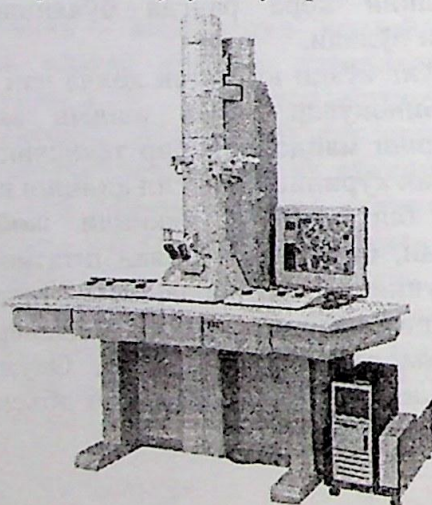
Ёруғлик микроноси
Leica - DM3000



Люминесцент микроскоп
Микромед 3 ЛЮМ



Ёруғлик микроноси учун окуляр ва объективлар



Электрон микроскоп - Hitachi H-7650

Иммерсион объектив билан ишлаш. Микроскопнинг иммерсион объективи ($V=90\times$; $A=1,25$) билан ишлаш вақтида кўзгуни ясси томони қаратилади ва конденсор кўтарилади.

Иммерсион суюқлик (кедр мойи) препарат устига томизилганда, уни буюм ойнасига суртиб юборилмайди. Иммерсион суюқликка фақат иммерсион объективни ботириш мумкин. Иммерсион суюқликка фронтал линзани ботишини ён томонидан кузатилади.

Макровинт фокусга тўғрилаб олингандан сўнг, иш жараёнида асосан фақат микровинт билан ишланади.

Иммерсион суюқлик (кедр мойи) махсус оғзи герметик беркитилган шиша флаконларда сақланиши керак. Шиша флакон қопқоғида унинг тагига етадиган шиша таёқчаси бўлиши керак. Бу таёқча ёрдамида иммерсион мой препарат устига томизилади. Иш тугагандан сўнг объектив ксилол ёки тозаланган бензин билан яхшилаб артилади.

Ёруғликни тўғрилаб олиш. Микроскоп билан ишлашда кундузги табиий ёруғликдан кўра, лампочкалар ёрдамида ҳосил қилинган сунъий ёруғлик билан ишлаш қулай. Айниқса катта объектив ($90\times$) билан ишлашда бу ҳолат жуда муҳимдир. Препаратни Келер бўйича ёритиш ёритгичлар ёрдамида амалга оширилади.

1. Ёритгич (паст вольтли лампочка) микроскопдан 25-30 см узоқликда крестовинага ўрнатилган ҳолда қўйилади. Ёритгичнинг дала диафрагмаси очиқ ҳолатда бўлади. Микроскопнинг $8\times$ катталиқдаги объективи, кўзгунинг ясси томони ишлатилади ва конденсор кўтарилади.

2. Препаратни кўриш учун фокусини олишда ёритгич ва конденсорнинг диафрагмалари очиқ бўлиши керак.

3. Ёритгични дала диафрагмаси беркитилади. Микроскоп кўзгусига бир варақ оқ қоғоз яқинлаштирилади ва қоғозга (кўзгуда) ёритгичнинг спиралини ёрқин акси изланади.

4. Микроскопга қаралади. Секин-аста кўзгу ёрдамида ёруғлик топилади. Препаратга фокус тўғриланади. Препарат аниқ кўринишга эга бўлгунча конденсор пастга туширилади. Диафрагмага кўзгу ёрдамида ёруғлик тўғриланади.

5. Микроскоп орқали кузатиши давомида ёритгичнинг дала диафрагмаси микроскопнинг кузатиладиган майдончасини тўлиқ ва кенгроқ ёритилгунча каттароқ қилиб очилади.

Ёритгични, кўзгуни, микроскоп конденсорининг шу ҳолатини кейинчалик ҳам ўзгартирмаслик керак. Келер бўйича ёруғликни ўрнатиш ёруғлик, фазо контраст ва қоронғу майдончалик микроскопларида амалга ошириш мумкин.

Объектларни ёруғлик микроскоплари ёрдамида ўлчаш

Микробиология амалиётида кўп ҳолларда микроорга- низмларнинг хужайраларини ўлчашга тўғри келади. Буни доимий препаратлар ёрдамида амалга оширилади. Объектларни окуляр микрометр-окуляр линейкалар орқали ўлчанади. Бу микрометр юмалоқ, шишадан, ясси тузилишига эга бўлиб, унинг марказида 5 мм даги шкала 50 ёки 100 га бўлинган. Окулярни линзаси бураб олиниб, унга окуляр микрометр (шкалани бўлинган томонини тепага қилиб) қўйилади. Окуляр микрометр шкаласининг бир бўлагининг ҳақиқий ўлчами объектив микрометр орқали аниқланади. Объектив микрометр шиша ёки темирдан ясалган бўлиб, унинг ўлчами буюм ойнасидек ва марказидаги юмалоқ шишадаги линейка 100 та бўлакка бўлинган. Бу шкаланинг узунлиги 1мм га тенг, яъни бир бўлакнинг ўлчами 10 мкм (0,01 мм). Объектив микрометр микроскопнинг буюм столчасида препарат қўйиладиган ерга жойлаштирилади ва кичик объектив ёрдамида микрометрдаги линейкаси топилиб унинг фокуси тўғриланади. Сўнгра линейка кўриш майдончасининг марказига келтирилади ва шундан кейин ўлчаш учун зарур бўлган объективга алмаштирилади. Буюм столини ҳаракатлантириб ва окулярни айлантирган ҳолда объектив ва окуляр микрометрларнинг линейкаларидаги чизиқчаларни параллел қилиб, бир-бирини устига туширилади. Объектив ва окуляр микрометрлардаги параллел чизиқчаларнинг бир-бири билан туташган чизиқчалари аниқланади ва кейинги туташ чизиқчалар топилади. Сўнгра окуляр микрометрнинг бир бўлак чизиғи объектив микрометрнинг нечта бўлак чизиғи тўғри келиши аниқланади. Масалан, объектив микрометрнинг иккита бўлаги (20 мкм), окуляр микрометрнинг бешта бўлагига тўғри келса, окуляр микрометрнинг битта бўлаги 4 мкм (20:5) бўлади.

Препаратдаги объектни ўлчами унинг хужайраси окуляр микрометрни бўлагига тўғри келишини аниқлаб ва бу сонни

окуляр микрометрнинг бир бўлагини ўлчамига кўпайтириб топилади.

Микроскопда ишлашнинг асосий қондалари

Микроорганизмлардан тайёрланган препаратни микроскопда текшириш учун қуйидаги ишлар бажарилади:

1. Микроскопни иш жойига қулай қилиб ўрнатиб, ёруғлик тўғриланади.

2. Микроскопнинг буюм столчасига тайёр бўялган мазокни кўйиб, тутқичлар билан маҳкамланади.

3. Текширилаётган материални яққол ва яхши кўринадиган жойини топиб, препаратни объективларда (8,40) кўрилади.

4. Микроскопнинг тубуси кўтарилади ва револьвер ёрдамида иммерсион объектив (90, 120) ўрнатилади.

5. Препарат устига таёкчада бир томчи иммерсион мойи томизилади, мойга иммерсион объектив туширилади. Микроскопнинг кўрув майдонида объект (текшириладиган материал) кўрилади. Бундан кейин микровинт билан фокус аниқ тўғриланади, натижада равшан, аниқ тасвир вужудга келади. Объективни макровинтини жуда секин ва авайлаб тушириш керак, акс ҳолда объектив линзаси буюм столчасига тақалиб, бузилиб қолади.

6. Иммерсион объектив ишлатилгандан сўнг уни артиш учун бензинга ҳўлланган пахта латтадан фойдаланилади.

ПРЕПАРАТЛАРНИ ТАЙЁРЛАШ ВА БЎЯШ УСУЛЛАРИ

Машғулотни ўтиш тартиби: Эзилган ва осилган томчи усулларида фойдаланиб препарат тайёрланади. Микроорганизмларнинг ҳаракати аниқланади. Қаттиқ ва суюқ озиқа муҳитларидан куруқ препарат тайёрланади ва препаратларни микроскоп остида кўрилади ва расмлари чизилади.

Оддий ва мураккаб бўяш усуллари ва уларни тайёрлаш техникаси ишлаб чиқилади. Машғулот давомида Грамм усулида спораларни бўяш билан танишилади, кейин мустақил равишда мазоклар тайёрланади, оддий ва мураккаб усулда бўялади, препаратларни микроскоп остида кўрилади ва расмлари чизилади.

Керакли асбоб ва реактивлар: Микроскоп. Буюм ва коплағич ойначалар. Микробиологик сиртмоқ. Микроорганизмларнинг соф культураси экилган пробиркалар ва Петри ликобчалари. Доймий препаратлар. Пастер найчаси. Спирт лампаси. Иммерсион мой. Бўёқ эритмалари (Генциан виолет бўёғи, фуксин, метилен кўки, Люголь). Сув ва колбалар. Штативлар.

Микроорганизмлар препаратларини тайёрлаш учун буюм ойнаси билан коплағич ойналар ишлатилади. Препарат тайёрлашдан олдин буюм ойнасидаги мойни кетказиш учун у спиртга ҳўлланган латта, сўнгра тоза латта билан артиб қурилади. Сув ойна устида томчилар ҳосил қилмасдан ёйилиб кетса, бундай ойна тоза ҳисобланади.

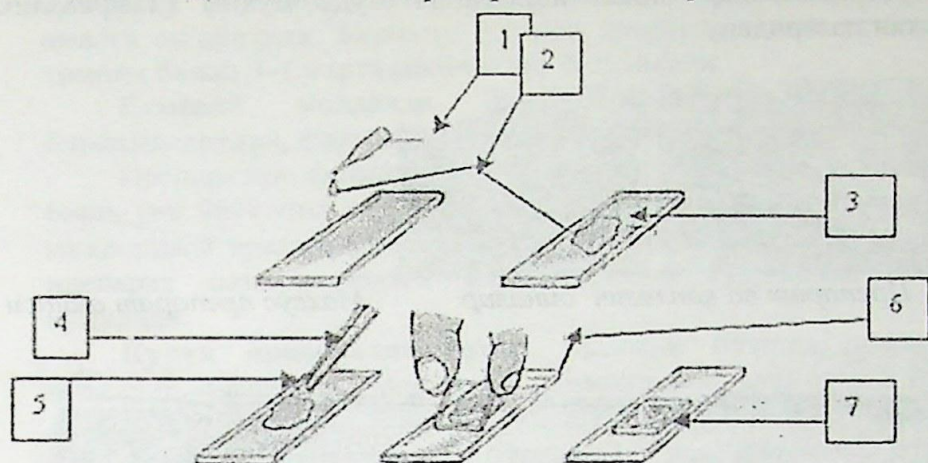
Микроорганизмларни буюм ойнасига суриш учун микробиологик сиртмоқ керак бўлади. Эгилган шиша таёқча (шпатель) туткич ва унга бириктирилган ингичка симдан иборат. Бу сим платинадан ёки қиздирилганда ҳаво кислороди билан оксидланмайдиган ва тез қизиб (чўғ бўлиб) тез совийдиган бошқа бирор металлдан ясалади.

Микроорганизмларни микроскопда тирик ёки ўлик ҳолда кўриш мумкин. Ўлик микроблар бўялган препаратлардагина кўринади. Тирик микробларни эса «эзилган» ва «осилган» томчи препаратларида кўриш мумкин.

Эзилган томчи препаратини тайёрлаш. Тоза буюм ойнасига пипетка билан тоза сувдан бир томчи томизилади. Кейин спирт лампаси алангасида чўғ бўлгунча қиздирилган микробиологик сиртмоқ билан зарур микроорганизмлар олиниб, сув томчисига қўшиб аралаштирилади. Шундан кейин сиртмоқ қиздирилиб, ундан қолган микроорганизмлар йўқ қилинади. Микроорганизмлар аралаштирилган сув томчиси коплағич ойна билан ёпилади, томчи шу тариқа эзилиб, микроскопда ўртача катта қилиб қаралади.

Қоплағич ойнани томчи четига қирраси билан қўйиб, кейин аста-секин бутун томчини ёпиш керак.

Эзилган томчи препарати тайёрлаш



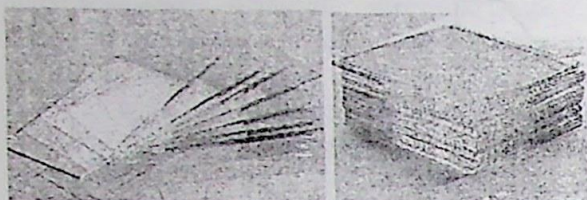
1-пипетка; 2-сув; 3-буюм ойнаси; 4-пинцет; 5-микроорганизм; 6-қоплагич ойна; 7-тайёр микропрепарат.

“Осилган” томчи тайёрлаш. “Осилган” томчи тайёрлаш учун ўртасида думалоқ чуқурчаси бўлган махсус буюм ойналаридан фойдаланилади. Чуқурчанинг ташқи четларига вазелин суртилади, сўнгра тоза қоплагич ойнанинг ўртасига микробиологик сиртмоқ билан юқорида айtilган усулда бактериялар аралашган кичик сув томчиси суртилади. Шундан кейин қоплагич ойна томчили томони билан шундай ағдариб қўйиладики, ундаги томчи буюм ойнасидаги чуқурчанинг ўртаси устидан осилиб туради, қоплагич ойнанинг четлари чуқурча четларига суртилган вазелинга ёпишади. Вазелин суртилганлиги учун чуқурчага ҳаво кирмайди ва томчи куриб қолмайди.

Эзилган ва осилган томчи препаратлари бактерияларнинг ҳаракатини текширишга имкон беради.

Суртма (куруқ препарат) тайёрлаш. Микроорганизмларни иммерсион объектив билан катта қилиб кўриш учун ўлдирилган микроблардан куруқ препарат тайёрланади. Бу препаратлар микробиологик амалиётида кўп қўлланилади. Уларни бўялган ҳолда микроскоп остида кўрилади. Фиксацияланган препаратларнинг моҳияти шундан иборатки, тирик объектнинг ҳаёт фаолияти тўхтатилиб, унинг тузилиши сақлаб қолинади. Фиксацияланиш туфайли хужайра шишага маҳкам ёпишади ва

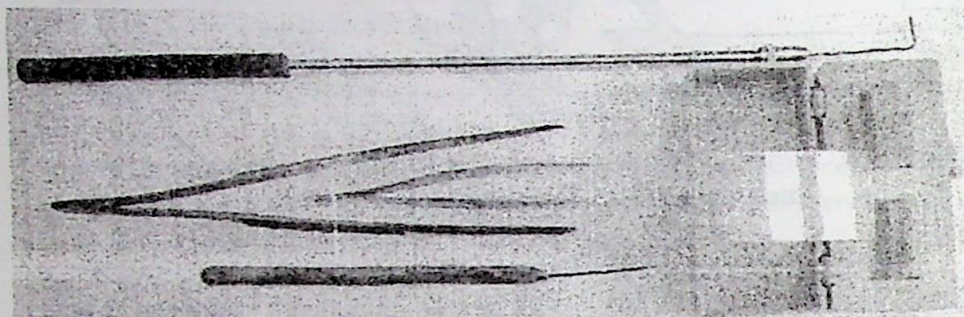
яхши бўялади. Фиксацияланган препаратлар патоген микроорганизмлар билан ишлаганда жуда муҳим (хавфсизлик нуқтаи назаридан).



Препарат ва қоплагич ойналар



Махсус препарат ойнаси



Препарат тайёрлаш учун зарур асосий жиҳозлар

Буюм ойнаси этил спирти ва олтингугурт эфирини (1:1) аралашмасидан иборат суюқлик билан майдон тозалангандан сўнг, унинг сиртига бир томчи водопровод суви томизилади. Куйдирилган бактериал илгак ёрдамида микроорганизм экилган пробиркадан унинг маълум массасини олиб, сув томчисига қўйилади. Илгак ёрдамида томчидаги масса буюм ойнаси сиртига, тахминан 4 см^2 юзага суртилади. Суспензия қуюқ бўлса, сув билан суюлтиради. Бунинг учун стерил илгак ёрдамида озгина суспензиядан олинади ва бошқа буюм ойнасидаги бир томчи сувга қўшилади. Сўнгра юпка қилиб суртилади ва буюм ойнаси уй хароратида ёки спирт лампасининг алангасидан анча юқори қилиб ушланган ҳолда қурилади. Мазокни қуритишда қаттиқ қиздириш мумкин эмас, чунки хужайра оксиллари ивиши натижасида унинг тузилиши ва шакли ўзгариб кетади. Қурилган препарат фиксацияланади. Хужайра шакли ўрганиладиган бўлса мазокни фиксациялаш спирт лампаси алангаси устида, агар хужайрани ички

тузилиши ўрганиладиган бўлса кимёвий бирикмалар ёрдамида амалга оширилади. Биринчи ҳолатда препарат аланга устидан ён томони билан 3-4 марта секинлатиб ўтказилади.

Кимёвий моддалар билан фиксацияланганда хром бирикмаларидан, формалин, ацетондан фойдаланилади.

Препаратни фиксациялашнинг кенг тарқалган усулларида бири, уни 96% этил спирти ва эфирни (Никифоров эритмаси) тенг микдордаги аралашмаси билан ишлов бериш ҳисобланади. Бунда препарат маълум вақтга фиксацияловчи суюқликка ботириб қўйилади.

Қуруқ препаратни бўйаш. Мазокни бўйашда препаратни препарат ушлагичга ўрнатилади. Мазокка бир неча томчи бўёвчи суюқлик томизилади. Бўёвчи суюқлик ва тадқиқотнинг максадига қараб бўйаш муддати турлича бўлади (1-5 дақ. айрим ҳолларда 30 дақ. ва ундан кўп). Препарат бўйалгандан сўнг, уни сув билан ювилади ва филтр коғоз ёрдамида сув қолдиқлари шимдириб олинади, ҳавода қуритилади ва микроскоп остида кузатилади. Бундай қуруқ препарат суртма дейилади. Тайёрланган суртма фиксация қилинади (қотирилади), яъни спирт лампаси алангасига уч марта тутиб олинади. Умуман препаратларни фиксация қилиш учун спирт лампаси алангаси, спирт билан эфир ва кислота билан формалин аралашмалари ишлатилади.

Суртмани бир неча дақиқа давомида эритмага солиб ҳам фиксация қилиш мумкин. Суртма фиксация қилинганда буюм ойнасидаги микроорганизмлар ўлиб, ойнага ёпишади ва яхши бўйялади, бунинг сабаби, бўёқ тирик протоплазмадан кўра, ўлик протоплазмага яхшироқ ўтади.

Препаратларни бўйаш усуллари. Бўйашнинг оддий ва дифференциялашган усуллари мавжуд. Оддий бўйашда бирор бир бўёвчи модда масалан, ишқорли ёки карболлий эритмаси метилен кўки, фуксин, бинафша ранг генциан ишлатилади. Бунда хужайранинг ҳамма қисми бўйялади. Турли бўёқлар билан дифференциялашган бўйашда эса хужайранинг маълум бир тегишли қисми бўйялади. Бунга спораларни Грамм усулида бўйашни келтириш мумкин.

Микробиология техникасида микроорганизмларни бўйаш учун қуйидаги анилин бўёқлари ишлатилади: қизил бўёқлардан - асосан фуксин, эритрозин; кўк бўёқлардан - метилен кўки, тионин;

бинафша бўёқлардан - генциан виолет, метил виолет ва бошқа бўёқлар ишлатилади. Микроблар қуйидаги усулларда бўялади:

1. *Оддий усул*. Бунда фиксация қилинган препаратлар фақат бир хил фуксин, метилин кўки, генциан виолет каби бўёқлар билан бўялади.

2. *Мураккаб усул*. Бунда фиксация қилинган препарат бир неча хил бўёқ билан бўялади. Масалан: бактерияларни Грамм ва бактерия спораларини Циль-Нильсен усулида бўяшларни келтириш мумкин.

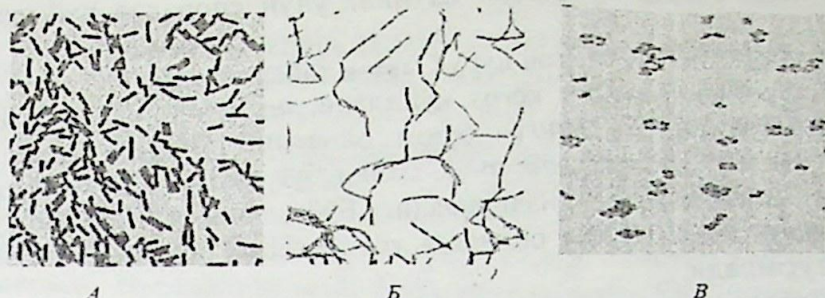
Грамм усулида бўяш. Микроорганизмлар Грамм усулида бўялиш-бўялмаслигига қараб икки гуруҳга бўлинади:

1. Грамм усулида микроорганизмлар бинафша ранг бўялса грамм-мусбат дейилади.

2. Грамм усулида микроорганизмлар қизил рангга бўялса грамм – манфий дейилади.

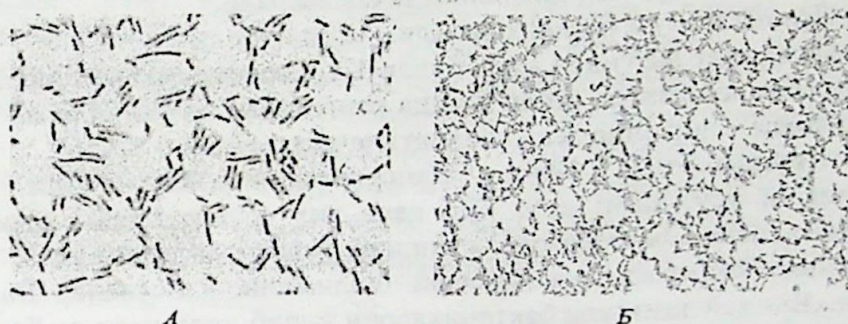
Грамм усулида бўяш микроорганизмларнинг турини аниқлаш учун асосий белги бўлиб, у қуйидагилардан иборат:

Қуритилган ва фиксация қилинган мазокка генциан-виолет бўёғидан қуйилиб, 1-2 дақиқа сақланади. Сўнгра бўёқ сув билан ювиб ташланади ва мазокка Люголь эритмаси (К_ж даги j эритмаси) томизилиб, 1-2 дақиқа қўйилади. Бу эритма ҳам сув билан ювиб ташланиб, мазок спиртга 0,5-1 дақиқа солиб қўйилади. Сўнгра препарат яна сув билан ювилади ва унга фуксин бўёғидан қуйилади, 3-4 дақиқа кейин бўёқ сув билан ювилиб, мазок ҳавода қуритилгач, унга бир томчи иммерсион мой томизилади ва микроскопда иммерсион объектив билан қаралади. *Грамм-мусбат* усулида бўяладиган микроорганизмлар протоплазмасида генциан-виолет билан йод эритмасининг бирикмаси вужудга келади, бу эритма спиртда эримайди; бундай микроорганизмлар спиртга ботирилганда рангини йўқотмай, тўқ бинафшалигича қолаверади. *Грамм-мусбат* усулида бўялмайдиган микроорганизмларнинг протоплазмасида генциан-виолет билан йод бирикмаси ҳосил бўлади, лекин спиртда эриб кетади. Натижада микроорганизмлар рангини йўқотади. Рангсизланган микроорганизмлар фуксин билан бўялганда қизил тусга киради. Грамм-мусбат микроорганизмлар микроскопда тўқ бинафша, грамм-манфий микроорганизмлар эса қизил бўлиб кўринади.



Граммусбат бактериялар

A – *Clostridium perfringens*; Б – *Bacillus subtilis*; В – *Micrococcus luteus*



Грамманфий бактериялар

A – *Escherichia coli*; Б – *Pseudomonas aeruginosa*

Намуна учун препарат тиш губоридан тайёрланади. Бунда грамм-мусбат микроорганизмлар ва грамм-манфий микроорганизмлар ҳам бўлади. Грамм-мусбат микроорганизмлар бўялиш жиҳатидангина эмас, бир қанча биологик хоссалари билан ҳам грамм-манфий бактериялардан фарк қилади. Антибиотиклар грамм-манфий микроорганизмлардан кўра грамм-мусбат микроорганизмларга тезроқ таъсир этади. Микроорганизмларнинг Грамм усулида қандай бўялишига қараб, унга турли антибиотикларнинг қандай таъсир этишини олдиндан билиш мумкин.

Циль-нильсен усулида бўяш. Спораларнинг қобиғи ва протоплазмаси хужайра протоплазмасига нисбатан кийинроқ бўялади, шу сабабли спораларни бўяш учун кучли бўёк эритмаларини ишлатиш ва мазокни киздиришга тўғри келади.

Споралар хужайра протоплазмасига нисбатан рангини секин, кийинчилик билан йўғотади. Шунинг учун споралар куйидагича бўялади:

1. Фиксация қилинган қуруқ мазок тайёрланади.

2. Мазокка фильтр қоғоз қўйилади, шу қоғоз устидан Циль фуксини куйилади. Сўнгра буюм ойнасини пинцет билан бир учидан ушлаб, қайнагунча эмас, балки буг пайдо бўлгунча спирт лампаси алангасида қиздирилади. Бўёқ қиздирилганда қуриб қолмаслиги учун буюм ойнасига тез-тез Циль фуксини томизиб, қўшиб турилади.

3. Фильтр қоғоз пинцет билан авайлаб олинади.

4. Буюм ойнаси 1% ли сульфат кислота эритмасига 2 дақиқа солиб қўйилади. Айни вақтда протоплазма хужайралари рангсизланиб, споралар қизиллигича қолаверади.

5. Препарат сув билан ювилади.

6. Препарат метилен кўки билан 1-2 дақиқа давомида бўялади ва сув билан ювилади. Айни вақтда рангсизланган бациллалар кўк тусга киради, споралар эса қизиллигича қолаверади.

Капсулаларни бўйаш. Капсулаларни Жон, Гисс ва Омелянский усуллари каби бир неча хил усулда бўйаш мумкин, булардан асосан Омелянский усулидан кўпроқ фойдаланилади.

Баъзи бактерия хужайралари шилимшиқ капсулалар билан ўралган. Бундай капсула бактерияларни қуриб қолишдан ва бошқа ноқулай шароитдан сақлайди. Капсулалар ёруғлик нурларини аксини синдиради ва препарат махсус усулда бўялгандагина яхши кўринади. Негатив қилинган капсулалар Омелянский усулида куйидагича бўялади: буюм ойнасига ярмигача сув қўшиб суюлтирилган Циль фуксинидан бир томчи томизиб, текшириладиган бактериялар микробиологик сиртмоқ билан аралаштирилади. 2-3 дақиқадан кейин фуксин томчисига суюқ туш томчиси қўшилади ва ойнага яхшилаб ёйилади. Препарат ҳавода қуритилиб, микроскопда иммерсион объектив билан текширилади. Айни вақтда буюм ойнаси туш билан бўялиб, қора тусда кўринади, бактерияларнинг хужайралари қизил бўлиб кўринади, капсулалар эса рангсиз бўлади.

МИКРООРГАНИЗМЛАР МОРФОЛОГИЯСИ

Машғулоти ўқиш тартиби: Окуляр ва объектив микрометр билан танишилади. Окуляр микрометрнинг бўлинишини ва микроорганизм ҳужайрасининг ўлчами суртмада аниқланади.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Микроскоп. Буюм ва коплагич ойначалар. Микробиологик сиртмоқ. Микроорганизмларнинг соф культураси экилган пробиркалар ва Петри ликобчалари. Доимий препаратлар. Пастер найчаси. Спирт лампаси. Иммерсион мой. Бўёқ эритмалари. Объектив ва окуляр микрометрлар. Сув ва колбалар. Штативлар.

Бактериялар

Бактериялар табиатда кенг тарқалган микроорганизмлар бўлиб, улар ҳақиқий мураккаб тузилган ядрога эга эмас. Бактериялар бир ҳужайрали, ўлчами ва физиологик хусусиятлари билан фарқланувчи турли туман организмлардир. Шаклига кўра бактериялар шарсимон, таёқчасимон ва бурама кўринишда бўлади.

Шарсимон бактериялар. Бу гуруҳ бактериялари - кокклар (юнонча *coccus*- дон, шар дегани) қуйидаги гуруҳларга бўлинади:

1. Монококклар (лотинча “*mono*” битта) битта шарсимон ҳужайрага эга бактериялар. Бунга мисол қилиб *Micrococcus agilis* турини олиш мумкин.

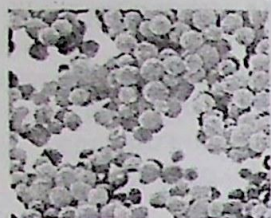
2. Диплококк (лотинча “*depos*” иккита) иккита шарсимон ҳужайрани бирикишидан ҳосил бўлган бактериялар. Буларга *Azotobacter chroococcum* мисол бўлади.

3. Тетракокк (лотинча “*tetra*” тўртта) тўртта шарсимон ҳужайрани бирикишидан ҳосил бўлган бактериялар.

4. Стрептококк (лотинча “*streptos*” занжир) ўзаро занжирсимон кўринишда бириккан шарсимон ҳужайралардан ҳосил бўлган бактериялар. Сут кислотали бижғишни қўзғатувчи *Streptococcus lactis* бунга мисол бўла олади.

5. Сарциналар (лотинча “*sarsina*” боғлам) куб кўринишда ўзаро бириккан 8, 16 ёки 32 та шарсимон ҳужайралардан ҳосил бўлган бактериялар. Бунга мисол қилиб ҳавода учрайдиган *Sarsina latic* бактериясини олиш мумкин.

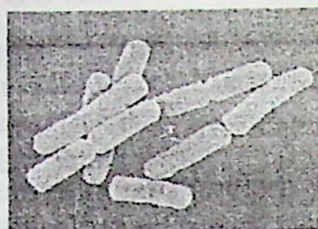
Бактерия хужайраларининг шакллари



A



Б

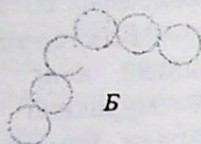


B

A-шарсимон, Б-бурама, B-таёқчасимон



A



Б



B

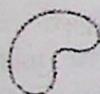


Г



Д

A-диплококк, Б-стрептококк, B-тетракокк, Д-сарцина Г-стафилококк



A



Б



B

A-вибрион, Б-спирилла, B-спирохета

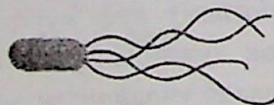
Бактериялар хивчиларининг жойлашсини



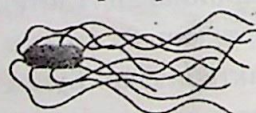
Монотрих



Амфитрих



Лофотрих



Перитрих

6. Стафилококк (лотинча “*staphule*” узум шингили) узум шингили кўринишида ўзаро бириккан шарсимон хужайралардан ҳосил бўлган бактериялар.

Таёқчасимон бактериялар. Улар иккита гуруҳга: бациллалар ва спора ҳосил қилмайдиган бактерияларга бўлинади.

Бациллалар спора ҳосил қилади. Бу гуруҳга *Bacillus subtilus*, *Bacillus mycoides* ва *B. mesentericus* ларни мисол қилиш мумкин. Келтирилган бу бактериялар турларининг хужайралари таёқчасимон бўлиб бир-бири билан занжирсимон туташган бўлади, шунинг учун уларни бошқача қилиб стрептобациллалар ҳам дейилади. Уларни кузатиш учун 2-3 кунлик культуралардан фойдаланиш керак. Вақт ўтиши билан уларнинг хужайралари спораларга айланади.

Таёқчасимон бактериялар фуксин билан бўялган фиксацияланган препарат ҳолатида микроскоп орқали кузатилади.

Бурама бактериялар. Бу гуруҳ бактерияларига вибрионлар, спириллалар ва спирохеталар киради.

1. Вибрионлар (лотинча *vibrio*-тебраниб турувчилар) нинг хужайралари вергулсимон эгилган бўлади.

2. Спириллалар (лотинча *spiro*-штопор (буралган) нинг хужайралари вибрионларга нисбатан узунроқ, йўғон ва буралган бўлади. Спириллаларнинг хужайраси “С” ҳарфидан битта букилган “S” ҳарфидан иккита букилган ёки бўлмаса бир неча марта букилган бўлади.

3. Спирохеталар - узун ва ингичка бўлиб, бурғусимон буралган бўлади. Спирохеталарнинг узунлиги уларнинг йўғонлигидан 5-200 марта катта. Бу бактерияларни одам оғзидаги тишлардан олинган намуналарда яхши кузатиш мумкин.

Актиномицетлар

Актиномицетлар сўзи лотинча *actis* - нур, *myces* - замбуруғ, яъни нурсимон замбуруғлар деган маънони билдиради. Актиномицетлар бактериялар билан замбуруғлар ўртасида турган микроорганизмлар гуруҳидир. Улар бактериялар сингари бир хужайрали ва замбуруғларга ўхшаб мицелийлар ҳосил қилади ва улар сингари споралар ёрдамида кўпая олади.

Актиномицетлар озиқа муҳитларида пўкаксимон, бархитсимон, унсимон, этли, зич, субстрат билан бирлашиб кетган айрим ҳолда ер исини тарқатувчи колонияларни ҳосил қилади. Озиқа муҳитларида ҳосил бўлган актиномицетларнинг

мицелийлари дифференциаллашган бўлиб, бир қисми субстратга ботган (субстрат мицелийлари) бир қисми эса субстрат устида (хавойи мицелийлар) бўлади.

Актиномицетларнинг кўпчилик вакиллари пигментлар ҳосил қилади. Шу сабабли, уларнинг мицелийлари мовий, тўқ мовий, бинафша ранг, пушти, кўнгир, жигар ранг ва қора тусда бўлиши мумкин. Актиномицетларни ҳосил қилган пигментлари ўзи ўсган озиқа муҳитларни ҳам шу рангга бўяйди.

Актиномицетлар колонияларининг ўзига хос хусусиятларини ўрганишда уларни Петри ликобчаларида ёки пробиркаларга ҳосил қилган колонияларини микроскопнинг кичик объективи орқали кузатиш керак. Бу ҳолатда актиномицетнинг мицелийлари гифларини бир қисми озиқа муҳитига кириб борганлигини, бир қисмини озиқа сирти бўйлаб ривожланиб тепага кўтарилганлигини кузатиш мумкин. Озиқа муҳити сиртидан кўтарилган мицелийларнинг учки қисмида спорани ўзида сақлаган спораносларни кўриш мумкин. Споранослар тузилишига кўра тўғри, тўлқинсимон, спиралсимон ва мутовкали бўлади.

Ундан фуксин билан бўялган фиксацияланган препаратлар тайёрланади. Бунинг учун буюм ойнасига актиномицетнинг колониясидан олинган жуда кичкина бўлак (озиқа муҳит билан олинган бу бўлакда субстрат ичида ва унинг устида ривожланаётган мицелий бўлади) қўйилади. Иккинчи буюм ойнасини эса унинг устига қўйиб маҳкам зичлаб, объектни эзилади ва сув билан ёйилади. Кейин қуритилади, фиксацияланади ва бўялади. Фиксацияланган ҳамда бўялган препаратда дифференциалланган мицелий ҳам, споралар ҳам кузатилмайди. Лекин актиномицетнинг бир хужайрали мицелийлари яққол кўзга ташланади.

Замбуруғлар

Микроскопик кўпгина замбуруғлар турлари микробиологик объектлар ҳисобланади. Шу сабабли лаборатория машғулотларида *Zygomycetes*, *Ascomycetes* ва *Deuteromycetes* синфининг айрим вакиллари билан танишилади.

Замбуруғлар хлорофиллсиз эукариот организмлардир. Уларнинг вегетатив танаси ипсимон тузилишдаги гифлардан ташкил топган. Бу гифлар тўплами мицелийлар деб юритилади.

Zygomycetes. Булар тубан замбуруғларга кириб, уларнинг мицелийлари бир хужайрали, шохланган, кўп ядроли бўлади. Улар

вегетатив жинсий ва жинсиз йўл билан кўпаяди. Вегетатив кўпайганда гифларнинг айрим бўлаклари, жинсий кўпайганда эса ота-она гифларини ўзаро қўшилишдан ҳосил бўлган зигоспоралар ёрдамида кўпаяди. Жинсиз кўпайиши споралар ёрдамида амалга ошади.

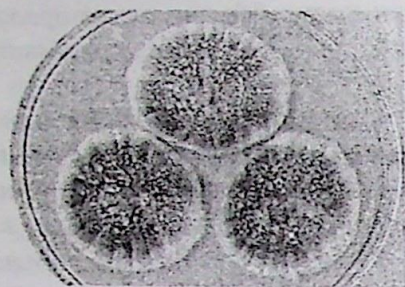
Zygomycetes ларга мисол қилиб *Mucor* ва *Rhizopus* туркумининг вакиллари олиш мумкин. Бу замбуруғлар ўсимлик маҳсулотларида, ўсимликлар билан озикланадиган ҳайвонларнинг гўнгларида, чириндига бой тупроқларда ўсиб, ривожланади ва уларнинг сиртида оқ ёки қўнғир рангдаги пўпанаклар ҳосил қилади.

Mucor ва *Rhizopus* туркумига кирувчи замбуруғ турлари субстрат ичига кириб боради ҳамда бир қисми эса субстрат сиртига тарқалади. Замбуруғ мицелийларида шиш кўринишида спорангибандларида жойлашган спорангийлар ҳосил бўлади. Кейинчалик спорангийлар спорангий бандларидан тўсиқ билан ажралиб улар ичида кўплаб спорангиспоралар юзага келади. Спорангийлар ичига кириб борган спорангий бандларининг бу қисми “колонка” деб юритилади ва уларнинг шакли замбуруғ турига қараб турли-туман бўлади.

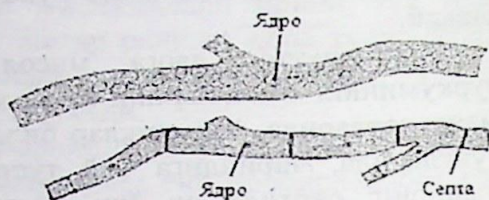
Мукор замбуруғларини микроскоп орқали кузатиш учун препарат нинаси ёрдамида эҳтиётлик билан мицелийнинг бир бўлаги олинади ва бошқа бир препарат нина билан қуруқ буюм ойнаси сиртига туширилади. Препарат сиртига қоплагич ойна ёпмасдан микроскопнинг кичик объективи орқали кузатилади. Бунда спорангий бандлари ва уларда жойлашган қорамтир шарчалар-спорангийлар кўринади. Сўнгра препаратга бир томчи сув томизилади, устига қоплагич ойна ёпилади ва микроскопни аввал кичик сўнгра катта объективлари ёрдамида кузатилади. Спорангийларни қобиғи ёрилиши туфайли ташқарига чиққан споралар яққол кўзга ташланади.

Mucor замбуруғларини ажратиб олиш учун сусло-агарли озукаси солинган Петри ликобчаларга чириндига бой тупроқ ёки янги от гўнгининг бўлақчаларини териб чиқилади ва Петри ликобчаларининг ёнига нам филтр шиша қалпоқча тагига жойлаштирилади ҳамда 3-4 кунга қолдирилади. Сўнгра юзага келган замбуруғ колонияларидан препарат тайёрлаб микроскоп остида кузатиш мумкин.

Замбуруғларнинг морфологияси

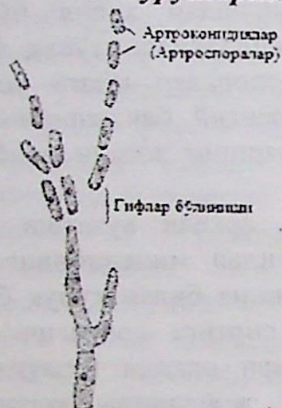


Мицелий

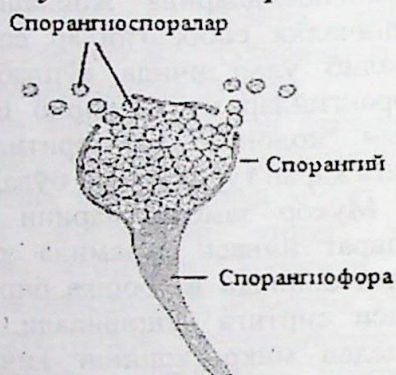


Гифанинг тузилиши

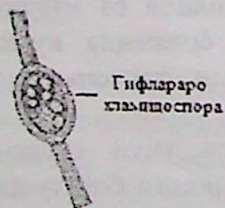
Замбуруғларнинг асоссиз қўнайиш типлари



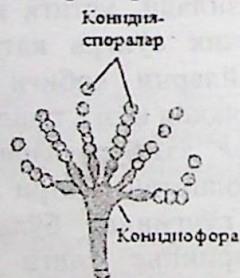
Артроспорулар



Споруангиоспорулар (*Mucor, Rhizopus*)



Хламидоспорулар



Конидиоспорулар (*Aspergillus, Penicillium*)

Ascomycetes. Бу синф вакиллари юксак замбуруғларга кириб, мицелийлари кўп хужайрали, яъни тўсиклар билан бўлинган. Уларнинг жинсий кўпайиши натижасида юзага келган споралари асколар-халтачалар ичида ҳосил бўлади. Микробиологияда ўтиладиган лаборатория дарсларида аскомицетларга мисол қилиб ачитки замбуруғлари олинади.

Ачитки замбуруғларининг хужайраси 8-15 мкм гача бўлади. Уларнинг шакли турли-туман: эллипсимон, ноксимон, юмалоқ ва цилиндирсимон бўлади.

Ачитки замбуруғлари вегетатив ва жинсий йўл билан кўпаяди. Вегетатив кўпайиш хужайрасини куртакланиш ва бўлиниш йўли билан, жинсий кўпайиш эса халта ичида спораларни ҳосил қилиши билан амалга ошади. Хужайраси куртакланувчи ачитки замбуруғларга *Saccharomyces* туркумига кирувчи турлар, хужайраси бўлинадиганлари *Schizosaccharomyces* туркумига кирувчи турлар мисол бўла олади. Жинсий кўпайишда оналик ва оталик хужайраларни ўзаро қўшилишидан халта ичида споралар ҳосил бўлади ёки аввал споралар юзага келиб, сўнгра улар ўзаро қўшилиб кетади. Ҳар бир халта ичида (аскода) 2-8 тагача айрим ҳолларда 12 тагача споралар ҳосил бўлади.

Лаборатория машғулотлари учун уй шароитида ишлатиладиган ачитки замбуруғлардан фойдаланиш мумкин. Бунинг учун дарс бошланишидан бир неча соат аввал бир бўлак ачитки замбуруғини шакар солинган илиқ сувга солиб, илиқ жойга қўйилади. Бу ҳолатда оқиш сутсимон суюқлик ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган суюқликдан бир томчисини буюм ойнасига томизилади ва устидан қоплагич ойнаси ёпилиб, иммерсион мойи томизилади, сўнгра микроскопнинг объективида препарат кузатилади. Микроскопнинг кичик объективидан ҳам хужайралар яхши кўринади. Нонвойчиликда ишлатиладиган ачитки замбуруғларининг икки хил ирқи кузатилади. Бирининг хужайралари юмалоқ-эллипссимон бўлиб, куртакланган хужайралар тез ажралиб кетади. Иккинчисининг хужайралари чўзиқ цилиндирсимон бўлиб, куртакланганда шохланган сохта мицелийлар (псевдомицелийлар) ҳосил қилади. Ачитки замбуруғларнинг хужайраларида кўп ҳолларда марказий қисмини эгаллаган, донатор ҳолатдаги вакуолалар яққол кўзга ташланади.

Deuteromycetes. Бу замбуруғлар синфи такомиллашмаган замбуруғлар деб ҳам номланади. Уларнинг мицелийлари яхши

ривожланган, кўп хужайрали бўлиб, жинсий кўпайиш кузатилмаган. *Deuteromycetes* синфига кирувчи турлар вегетатив жинсиз йўл билан кўпаяди. Вегетатив кўпайиш гифларни бўлақларга ажралиши билан амалга ошади. Жинсиз кўпайишда конидийлар ҳам ҳосил қиладилар. Табиатда кўп тарқалганларига *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* ва *Alternaria* туркумини турларини келтириш мумкин. Улар ўсимлик қолдиқларида, мева, уруғ ва тупроқда кенг тарқалган.

Penicillium туркумининг турлари конидийларни мутовкали шохланган, кўл панжаси кўринишдаги конидийбандларида ҳосил қилади.

Препарат тайёрлаш учун *Penicillium glaucum* ҳосил қилган оқ хошияли яшил колониянинг оқ ва яшил жой оралиғидаги препарат нинаси билан олинган бир бўлақ мицелийдан фойдаланилади. Лаборатория дарси учун Петри ликобчасидаги ўстирилган замбуруғ ишлатилади. Бунинг учун иккита препарат нина ёрдамида озиқадан бир бўлақ мицелий сиртига бир томчи сув томизилган буюм ойнасига кўчириб қўйилади. Унинг устида қоплагич ойна ёпилади. Агар препарат учун олинган мицелий қалинлик қилса, томизилган сув етмаган жойига пипетка ёрдамида қоплагич ойна тагига сув берилади. Сўнгра препарат нинасининг орқа томони билан секин-аста қоплагич ойна устига ўралади, ортикча сув филтр қоғоз ёрдамида шимдириб олинади. Препарат аввал микроскоп объективининг кичик ўлчамида (8х) кейин эса катта ўлчами (40х) ёрдамида кузатилади. Микроскоп объективининг кичик ўлчамида (8х) кузатилганда конденсор пастга туширилади, катта ўлчамида (40х) эса ёруғлик мувозонати конденсорни юқорига кўтариш йўли билан бошқарилади.

Aspergillus туркумига кирувчи замбуруғ турлари одатда бир хужайрали конидий бандларга (учки қисми юмалоқ, чўзиқ ёки ноксимон шишган) эга. Улар стеригмалар параллел жойлашган бўлиб, ҳар биридан радиаль ҳолатда кетган конидийлар занжири юзага келади. Айрим аспергил турлари икки қатор кетган стеригмалар ҳосил қилиш мумкин.

Бу замбуруғлардан препарат тайёрлашда *Aspergillus niger* ни Петри ликобчасидаги озиқа муҳитида ўстирилган колонияларидан фойдаланилади. Бунинг учун колониянинг қора ва оқис қисми оралиғидаги бир бўлақ мицелий иккита препарат нинаси ёрдамида

сиртида бир томчи суви бор буюм ойнасига кўчириб қўйилади ва унинг устига эса қоплагич ойна ёпилади.

Пенциллиндан тайёрланган препарат қандай кузатилган бўлса, *Aspergillus niger* дан ва ундан кейинги замбуруғ турларидан тайёрланган препаратлар ҳам шундай кузатилади.

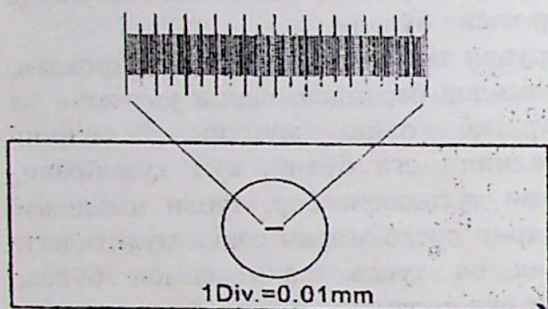
Trichoderma туркумига кирувчи замбуруғлар сусло-агарли озиқа муҳитларига экилган тупрок намуналаридан ажратиб олиш мумкин. 23-25°C ҳароратда 2-3 кундан сўнг озиқа муҳити сиртида замбуруғ мицелийсидан иборат оқибат губорлар ҳосил бўлади, кейинчалик конидийларни юзага келиши билан улар оч яшил, сўнгра тўқ яшил тусга киради. Микроскопнинг катта объективида тик ўсган, кўп марта шохланган, мицелийдан кўтарилиб конидийбандларини кузатиш мумкин. Конидийбандларининг учиди ўзида 10-20 та дан бир хужайрали, рангсиз конидийларни сақловчи шарсимон бошчалар ҳосил бўлади.

Alternaria туркумига кирувчи замбуруғ турларини тупрокдан, зарарланган картошка ёки помидор баргидан, қарам уруғидан ва бошқа ўсимликлардан ажратиб олиш мумкин. Уларнинг конидийлари ўзига хос тузилишга эга бўлиб, кўп хужайрали, кўндаланг ва узунасига кетган тўсиқлари бор, турли шаклдаги кўринишга эга. Бу замбуруғларни сусло-агарли озиқа муҳитидаги колонияларини ранги аввал оч тусда, пахмоксимон бўлса, кейинчалик улар яшил-қулранг ёки қорамтир-кўнғир, бахмалсимон ёки тақир бўлади. Баъзи ҳолларда колониялари бошидан қорамтир тусга кирган бўлади. Кўп ҳолларда қора ранг колониялар рангида устунлик қилади. Микробиология дарсларида лаборатория машғулоти учун фойдаланиладиган микроорганизмлар коллекциясидаги культуралар ҳар 2-3 ойда янги озиқа муҳитларига қайта экиб турилади. Бактерия ва актиномицетлар учун гўшт-пептонли агар, ачитки ва бошқа замбуруғлар учун сусло-агарли озиқа муҳитлари ишлатилади.

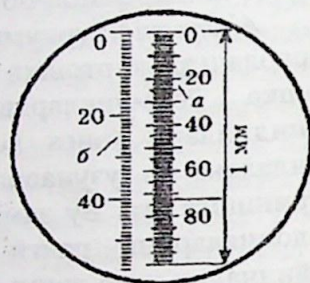
Микроорганизмлар нанометр (нм) ва микрометрлар (мкм) билан ўлчанади: $1\text{ мкм} = 10^{-3}\text{ мм}$; $1\text{ нм} = 10^{-6}\text{ мм}$; $1\text{ мкм} = 1000\text{ нм}$.

Микроорганизм хужайраларини окуляр ва объектив микрометрларда ўлчанади. Окуляр микрометр думалоқ шаклда бўлиб, шиша пластинкадан иборат. 5 мм узунликдаги шкала бўлиб, 50 та бўлимга бўлинган. Окуляр микрометрни окуляр линзалари ўртасига шкаласини пастга қаратиб ўрнатилади.

Объектив микрометр буюм ойнасидан иборат бўлиб, унинг марказида 100 бўлимга бўлинган 1мл ли чизғич чизилган (бир бўлакчаси 10 мкм. га тенг). Объектив микрометр окуляр микрометрнинг бир бўлакчаси катталигини аниқлаш учун хизмат қилади. Окуляр микрометрни окулярга ўрнатиб, объектив микрометр нинг бир бўлакчасига окуляр микрометрни қанча микдордаги бўлакчалари тўғри келиши топилади. Объектив микрометр бўлакчаларининг катталиги маълум бўлгач, окуляр микрометр бўлакчалари катталигини осон аниқлаш мумкин. Окуляр микрометр бўлакчаларининг микдори аниқлангач, объектив микрометр олинади ва ўрнига микроскоп столчасига препарат қўйилади. Хужайранинг ўртача катталигини аниқлаш учун 50-100 тача микроорганизм ўлчанади.



Объект-микрометр



Окуляр-микрометр

Микроорганизмлар катталиги окуляр-микрометр билан ўлчанади. У окуляр диафрагмасига, бўлинган белгилари пастга қаратилган ҳолда жойлаштирилади. Бўлинмалар катталиги эса объект-микрометр билан аниқланади. Бу пластинка бўлиб, ўртасидаги 1 мм узунликда чизик ўтказилган. Ўз навбатида бу чизик 100 га бўлинган бўлиб, ҳар бири 10 мкм га тенг. Объектив - микрометр микроскоп столчасига шундай жойлаштириладики, унинг бўлинмаларидан бири, окуляр- микрометрнинг қандайдир бир бўлинмасига тўғри келиши керак.

Иккала микрометрнинг чизиғи бир-бирига параллел жойлашиши лозим. Сўнгра окуляр-микрометр бўлинмалар сонига тўғри келган объект микрометрнинг бўлинмаларнинг сони белгиланади. Объект микрометр бўлинмаларининг катталигини (10 мкм) билган ҳолда окуляр микрометрнинг бўлинмалар катталиги

аникланди. Шундан сўнг объект микрометр текширилаётган препарат билан алмаштирилади ва микроорганизм хужайрасининг ўлчами окуляр микрометр чизиғи билан, унинг бўлинмаси ўлчанган даражадаги катталиқда аникланади.

СТЕРИЛЛАШ УСУЛЛАРИ

Машғулот ўтиш тартиби: Микробиологик сиртмоқни спирт лампаси алангасида стерилланади. Стерилизаторда шприц, пинцет ва ниналарни қайнатилади. Петри ликобчаларни, пробирка ва Пастер найчаларини ўраб сўнгра қуритиш шкафига қўйилади. Автоклавни ишга тайёрланади. Пробиркаларга 9 мл дан сув солиб, тайёр озика муҳитларни автоклавга стерилизация қилиш учун қўйилади. Зейтц фильтри билан суюкликлар филтрланади.

Талабалар автоклав, қуритиш шкафлари, Пастер печи билан таништирилади.

Керакли асбоб ва реактивлар: Автоклав, қуритиш шкафи, Кох аппарати, колбалар, сув ҳаммоми, электр плита, воронкалар, пробиркалар ва Петри ликобчалари, Пастер найчаси, микробиологик сиртмоқ, идишларни ўраш учун коғоз, пахта, озика муҳитлар, шприц ва ниналар.

Стериллаш микробиология амалиётида энг муҳим жараён ҳисобланади. Стериллаш латинча "*sterilis*" сўзидан олинган бўлиб, "пуштсизлантириш" деган маънони билдиради. Амалиётда стериллаш, бу олинган объектни устидаги ва ичидаги барча тирик организмлардан халос этиш дегани. "*Стериллаш*" сўзи абсолют стерилланган ёки стерилланмаган деган маънони билдиради, бунда "қисман" ёки "тўлиқ стерилланмаган", "стерилланганга яқин", "деярли стерилланган" деган маъноларни билдирмайди.

Стериллашнинг термик ва совуқ усуллари бор. Микробиологияда термик стериллашнинг қуйидаги усуллари қўлланилади: алангада куйдириш ва қиздириш, қуруқ (иссиқ ҳаво билан) стериллаш, босим ёрдамида буг ёрдамида стериллаш (автоклавлаш), погонали стериллаш (тиндаллаш), қайнатиш. Совуқ стериллашдан филтрлаш, газ ҳосил қилувчи моддалар билан стериллаш, ультрабинафша нуруни таъсир эттириш ва бошқалардан фойдаланилади.

Стериллаш усуллари танлашда олинган объектнинг физик-кимёвий хусусияти ва тадқиқотнинг олдига қўйган мақсади эътиборга олинади.

Стериллаш - микроорганизмлар ва уларнинг турли материаллардаги спораларининг тўлиқ йўқ қилишдир. Стериллаш бир неча усуллар ёрдамида: физик (юқори ҳарорат, ультрабинафша нури билан), механик (микроорганизм хужайраларини филтлда ушлаб қолиш) ва кимёвий усуллар билан амалга оширилади.

Физик усуллар билан стериллаш

Спирт лампаси ёки газ алангасида қуйдириш. Бу усулда асосан микробиологик илгак, препарат нинаси, пинцетларни стериллаш учун фойдаланилади. Бу усул бевосита иш бошлаганда амалга оширилади, асосан бактериал илгакнинг илгак қисми, металл буюмлар (пинцет, қайчи, ланцет пичок), шиша таёкча, буюм ва қоплагич ойна ва бошқалар стерилланади.

Қайнатиш йўли билан стериллаш. Бу усул билан микробиологик лабораторияда ишлатиладиган шиша ва темир буюмлар стерилланади. Улар стерилизаторларга солинади ва устидан сув қуйилади. Сувни юмшатиш ва қайнаш температурасини ошириш учун биокарбонат натрийнинг 1-2% ли эритмаси қўшилади. Сўнг 30 дақиқа давомида қайнатилади. Аммо бу усул тўлиқ стериллаш имконини бермайди, чунки айрим вируслар ва бактерияларнинг споралари яшаш қобилиятларини сақлаб қолиши мумкин.

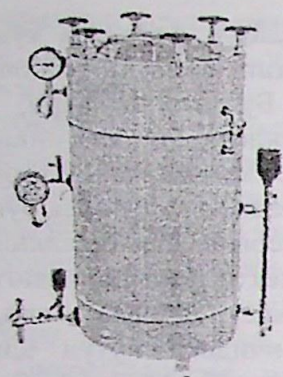
Қуруқ иссиқда стериллаш. Қуруқ иссиқ билан стериллаш учун қуриштиш шкафидан фойдаланилади, бу шкафда нарсалар 160-170°C ҳароратда икки соат сақланади. Асосан шиша идишлар (Петри ликобчалар, пипеткалар) қоғозга ўраб қуруқ иссиқ билан стерилланади, шундай қилинса уларнинг сиртига ҳаводан микроорганизмлар юкмайди. Барча микроорганизмларни қуруқ иссиқ билан ўлдириш учун ҳарорат нам стерилизацияга қараганда юқорироқ бўлиши ва узокроқ сақланиши керак. Сабаби, қуруқ иссиқ билан стерилланганда микроорганизм хужайраларидаги сув аста-секин буғланиб чиқади. Микроорганизм хужайрасида сув қанча кам бўлса, уни нобуд қилиш учун шунча юқори ҳарорат керак бўлади.

Нам стериллаш. Нам стериллаш, яъни буғ ёрдами билан стериллаш учун Кох аппарати ёки автоклав ишлатилади. Кох аппарати 70-100°C да стериллайди. Автоклав 100-154°C ҳароратда

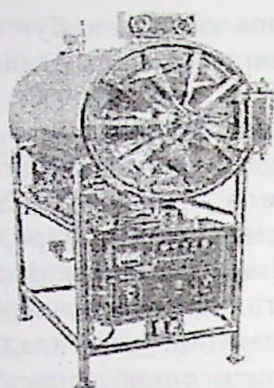
босим остидаги буғ билан стериллайди. Автоклав кўш деворли қозондан иборат бўлиб, винт билан жипс ёпиладиган қопқоғи, ҳаво ва буғ чиқарадиган жўмраги бор. Бундан ташқари, қозонга манометр ўрнатилган, у автоклав ичидаги буғ босимини кўрсатиб беради. Автоклавнинг эҳтиёт клапани ҳам бўлади. Автоклавга сув қуйилади, сувнинг устида таглик туради, бу тагликда буғ ўтадиган тешиклар бор. Стерилланадиган материал ўша тагликнинг устига жойланади. Автоклавда ҳам сув - электр ёки газ алангаси билан иситилади. Автоклав қопқоғи жипс ёпилади, ичидаги сув қайнагунча иситилади. Автоклав ичидаги бутун ҳавони сув буғлари сиқиб чиқаргунча жўмраги очиб қўйилади. Ҳаво чиқиб бўлгандан кейин жўмрак ёпилади, автоклав ичида тўпланган буғ эса босимни оширади, натижада сувнинг қайнаш ҳарорати кўтарилади. Босим бир атмосферага етгач (манометрдан билинади), сувнинг қайнаш ҳарорати 120°C га тенг бўлади. Босим остида 25-30 дақиқагача шу даражада тутилади, сўнгра сувни иситиш тўхтатилади. Автоклав манометрининг кўрсатган босими билан қозон ичидаги иссиқликнинг тўғри эканлигини назорат қилиб туриш лозим.

Автоклавда буғ босими билан стериллаш тамом бўлгандан сўнг унинг қопқоғини бирдан очиш хатарлидир. Автоклав совиб, манометр стрелкаси нолга тушгач, қолган буғни чиқариб юбориш учун жўмрак очилади. Шундан кейингина автоклав қопқоғи очилиб, ичидаги стерилланган материал олинади.

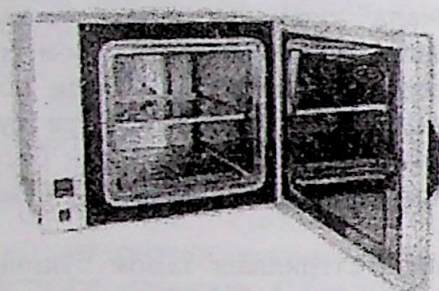
Тиндаллаш. Тиндаллаш усулида материалларни Кох аппаратида ва автоклавда стерилланади. Қаторасига уч кун, кунига бир марта 30 дақиқадан Кох аппаратида 70-100°C ҳароратда қиздириш мумкин. Биринчи марта 100°C гача қиздирилгандан кейин ўлмай тирик қолган споралар кейинги 24 соат ичида униб, таёқчаларга айланади, таёқчалар эса шу даврда яна спора ҳосил қилиб улгурмайди. Шунинг учун, биринчи қиздиришдан 24 соат ўтгач, иккинчи марта 100°C гача қиздирилса споралардан ҳосил бўлган таёқчалар ўлади. Дастлабки қиздириш билан иккинчи марта қиздириш орасида ўтадиган вақт ичида қандай бўлмасин спора таёқчага айланиб улгурган бўлиши эҳтимол деб учинчи марта 100°C гача қиздирилади.



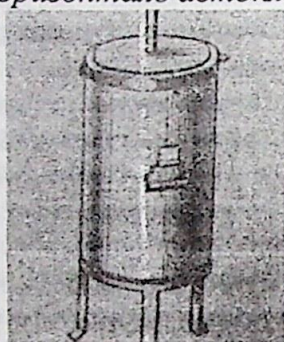
Вертикаль автоклав



Горизонталь автоклав



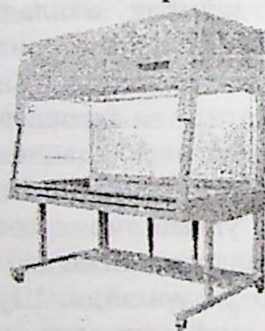
Куришни шкафи



Кох апарати



Бактерицид лампа



Ламинар бокс

Автоклавда 120-130°C ҳароратда босим билан 30 дақиқа давомида стерилланади. Бу ҳароратда микробларнинг ҳаммаси яъни спорали ва спорасиз микроблар ҳам нобуд бўлади.

Пастеризациялаш. Пастеризациялаш материални бир марта 70-100°C иссиқ ҳароратда 10-30 дақиқа қиздириб олишдир. Бунда спорасиз микроорганизмлар ўлади, спорали микроорганизмлар эса тирик қолаверади. Пастеризациялаш учун Кох аппаратидан фойдаланилади.

Ультрабинафша нурлар билан стериллаш. Бу усул 260-300 мкм тўлқин узунлигидаги ультрабинафша нурларининг (УБ) микроорганизмларни ўлдириш хусусиятига асосланган. Бокслардаги, микроорганизмларнинг ўстиришга мўлжалланган хоналардаги ҳавони стериллаш учун турли қувватдаги махсус микроорганизмларни ўлдирувчи (бактерицид) лампалар қўлланилади.

Механик усуллар билан стериллаш

Фильтрлаш. Фильтрлаб стериллаш усули асосан қиздириб ёки захар воситасида стериллаш мумкин бўлмаган суюқликлар учун қўлланилади. Фильтрлаб стериллаш учун ғовак чинни, асбест фильтрлар ёки коллодий фильтрлар ишлатилади. Бу фильтрларнинг тешиги жуда майда бўлгани учун бактерия хужайраларини ўтказмайди. Аммо бу фильтрлар ультрамикробларни (вирус, бактериофагларни) ўтказиб юборади.

Бу фильтрлар Зейтц воронкасининг цилиндр бўлимидаги ажраладиган қисмига ўрнатилади. Сўнгра иккала қисм болтлар билан бирлаштирилади. Воронканинг трубкали томони резина пробкадан ўтказилади ва пробка Бунзен колбасига мустаҳкам ўрнатилади. Фильтрлашдан олдин асбест фильтр ўрнатилган система автоклавда стерилланади. Мембранали фильтрлар алоҳида қайнатиш усули билан стерилланади, сўнгра стерилланган Зейтц воронкасига жойлаштирилади. Вакуум-насос Бунзен колбасига бирлаштирилади ва унинг ёрдамида суюқлик фильтрланади. Фильтр ичида босим кам бўлганлиги учун унинг устидаги суюқлик фильтрдан ўтиб, йиғиладиган идишга тушади. Унинг ичидаги бактерия ва бошқа организмлар фильтр устида қолади.

Фильтрлаш усулидан суюқ, қиздиришга чидамсиз моддаларни (антибиотиклар) стериллашда фойдаланилади. Бундан ташқари, бу усул ёрдамида микроорганизмларни токсинлари ва уларни ҳаёт фаолиятида ажралиб чиқадиган турли хил бошқа маҳсулотлари ҳам

стерилланади. Бу усулнинг нокулайлиги шундаки, суюқлик секин филтрдан ўтади ва тез-тез филтрни тозалашга тўғри келади.

Кимёвий стериллаш

Кимёвий стериллаш асосан захарли кимёвий моддалар билан микроорганизмларни йўқ қилишдир. Қиздириб стериллаш мумкин бўлмаган материаллар (ўсимлик уруғлари, бинолар дориланганда) дезинфекция қилинади, яъни дориланади. Дезинфекция қилиш учун кимёвий моддалар сулема 1:1000, 1:10000 эритмаси, карбол кислота 2-5%, оҳак 4-10% ва бошқа кимёвий моддалар ишлатилади.

МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЎСТИРИШ УЧУН ОЗИҚА МУҲИТЛАРИ ТАЙЁРЛАШ УСУЛЛАРИ

Машғулот ўтиш тартиби: Микроорганизмларни ўстириш учун тайёрланадиган озиқа муҳитларининг таркиби ва тайёрлаш технологиялари билан танишилади (гўшт-пептон бульони, картошкали озиқа ва Чапека озиқаси). рН ни 7,4-7,6 га тенг қилиб, озиқа муҳитларни пробирка ва колбаларга солиб автоклавда стерилизация қиладилар. Автоклавдан олинган пробиркадаги агарли озиқалар қия қилиб кўйилади, колбадагилар эса Петри ликобчаларга солиб қотирилади.

Керакли асбоб ва реактивлар: Қийма. Дистилланган ёки водопровод суви. 200 мл ли колбалар. Сув ҳаммоми ёки кастрюлка. Электр плита. Пептон. Курук агар. Ош тузи. Тарози ва тошлари. Қошиқчалар. Озиқа муҳитни қуйиш учун воронкалар. рН ни аниқлаш учун компаратор. Стерилланган пробиркалар ва Петри ликобчалари. Пастер найчаси - 2-5-10 мл. Картошка, нўхат, ловия, сомон, тупрок. Сахароза. Ноорганик тузлар.

Микроорганизмлар хужайраси таркибини органик моддалар таркибига кирувчи: С, О, Н, N минерал моддалар таркибига кирувчи: Р, S, К, Mg, Са, Fe ва микроэлементлардан: Zn, Mn, В, Cu, Мо, Со ва бошқалар ташкил қилади.

Микроорганизмлар хужайрасининг курук таркибини: С-50%, N-10-13%, H-8%, O-20%, P_2O_5 -4%, K_2O -3%, SO_3 -1%, MgO -0,8%,

CaO-1%, Fe₂O₃-0,08% ва жуда оз миқдорда микроэлементлардан иборат.

Микробиологияда турли мураккаб ёки оддий бирикмалардан ташкил топган, микроорганизмларни лаборатория ва ишлаб чиқариш шароитида кўпайтириш учун қўлланиладиган муҳитга озиқа муҳити деб аталади.

Ҳар бир озиқа муҳити куйидаги талабларга жавоб бериши керак: маълум микроорганизмларнинг кўпайиши учун барча керакли моддалар осон ўзлаштириладиган шаклда, қулай намликда, ёпишқоқликда, рН да, тиник бўлиши керак.

Ҳар бир муҳит таркибига кўра маълум усул билан стерилланади.

Бир қатор озиқа муҳитлар, тўғридан-тўғри микробиологик лабораторияларда ҳайвон, ўсимлик маҳсулотлари (мол гўшти, сут, ачитки, сабзавотлар) ёки улар сунъий равишда юқоридаги моддалардан олинган маҳсулотлардан (пептон, аминокислота, ачитки ва жўхори экстрактлари) тайёрланади.

Озиқа муҳитида ўстирувчи омилларнинг борлиги катта аҳамиятга эга. Улар метаболик жараёнларда катализатор вазифасини бажаради, асосан В гуруҳи витаминлари, никотин кислота ва бошқалар шулар қаторига киради.

Лаборатория шароитида микроорганизмларни ўстириш учун ҳар бир микроорганизмнинг физиологик гуруҳларига кўра махсус озиқа муҳитлари тайёрланади. Шу сабабли ҳар бир микроорганизмни ажратиш ва хусусиятини ўрганишда озиқани таркиби, консистенцияси, келиб чиқиши ва ишлатилиши ҳар хил бўлган озиқа муҳитлари керак бўлади. Озиқа муҳитлари табиий ёки сунъий бўлади.

Табиий - озиқа муҳитларига (сут, тухум, гўшт, мева-сабзавотлар ва бошқалар киради.

Сунъий - озиқа муҳитлари алоҳида (рецептлар асосида, ўсимлик ва ҳайвон маҳсулотларининг қайнатмаларига ноорганик тузлар ҳамда углеводлар қўшилиб тайёрланади.

Синтетик - озиқа муҳитлари асосан кимёвий тоза моддаларнинг (тузлар, углевод, аминокислота ва витаминлар ва бошқалар) аниқ нисбатларида олинган ҳолда тайёрланади.

Озиқа муҳитлари консистенциясига кўра (суёқ, ярим суёқ ва каттик) бўлади. Суёқ озиқа муҳитлари асосан сувдан ва унда

суюлтирилган моддалардан иборатдир (гўшт суви, гўшт-пептон қайнатмаси, картошка суви).

Каттик озиқа муҳити суюқ озиқага желатин (10-15%) ёки агар-агар (1-2%) қўшиб тайёрланади. Яримсуюқ озиқа муҳитини тайёрлашда желатин ёки агар-агардан кам миқдорда солинади.

Озиқа муҳитлари белгиларига қараб оддий, махсус, электив ва дифференциал-диагностик шаклда тайёрланади.

Оддий озиқа - кўпгина микроорганизмларни ўстириш учун ишлатилади. Буларга дуккакли пептон қайнатмаси, гўшт-пептон қайнатмаси ва гўшт - пептон ағари киради.

Махсус озиқа - алоҳида гуруҳ ёки алоҳида тур микроорганизмни ажратиш учун тайёрланади. Масалан, Омелянский озиқа муҳити анаэроб микроблар учун, Чапека озиқа муҳити эса замбуруғлар учун тайёрланади.

Электив озиқа - битта турга мансуб микроорганизм учун тайёрланади, бошқа микроорганизмлар бундай озиқа муҳитида ўсмайди ёки ривожланиши жуда секинлашиб кетади. Бундай озиқа муҳитига С.Н.Виноградскийнинг йиғма озиқа муҳити мисол бўлади ва бу озиқа кўпгина тупроқ микроорганизмлар учундир.

Дифференциал - диагностик озиқа - микроорганизмларнинг биокимёвий хусусиятларини ўрганишда ва баъзи микроорганизмларнинг соф культурасини ажратишда қўлланилади. Дифференциал - диагностик озиқа муҳити микроорганизмлар томонидан ажратиладиган оксил ва углеводларни парчаланишини ва оксидланиш-қайтарилиш реакцияларини юзага келтирувчи ферментларни аниқлашда қўлланилади.

Бунга суюқ, углеводли Гисс озиқаси ва Эндо, Левин индикаторли каттик озиқа муҳити мисол бўлади.

Ҳозирги вақтда озиқа муҳитларни тайёр рецептлар билан фабрикаларда куруқ порошок ёки суюқ концентрация ҳолида чиқарилмоқда.

Ҳар бир микроорганизмларни ўстириш учун тайёрланган озиқа муҳити қуйидаги талабларга жавоб бериши лозим:

1. Микроорганизмлар учун керакли озиқа моддалар, азот, углевод, кислород ва сув, ноорганик тузлар бўлиши керак.

2. Микроорганизмлар эриган ҳолда озиқа моддаларни қабул қилгани учун улар нам бўлиши керак.

3. Ёт микроорганизмлардан ҳоли қилиш учун стерилланган бўлиши шарт.

4. Озиқа мухити тиник бўлиши керак, сабаби у микроорганизмларни ўсишини кузатиш учун қулайдир.

5. Озиқа мухити рН реакциясига тўғри келиши керак.

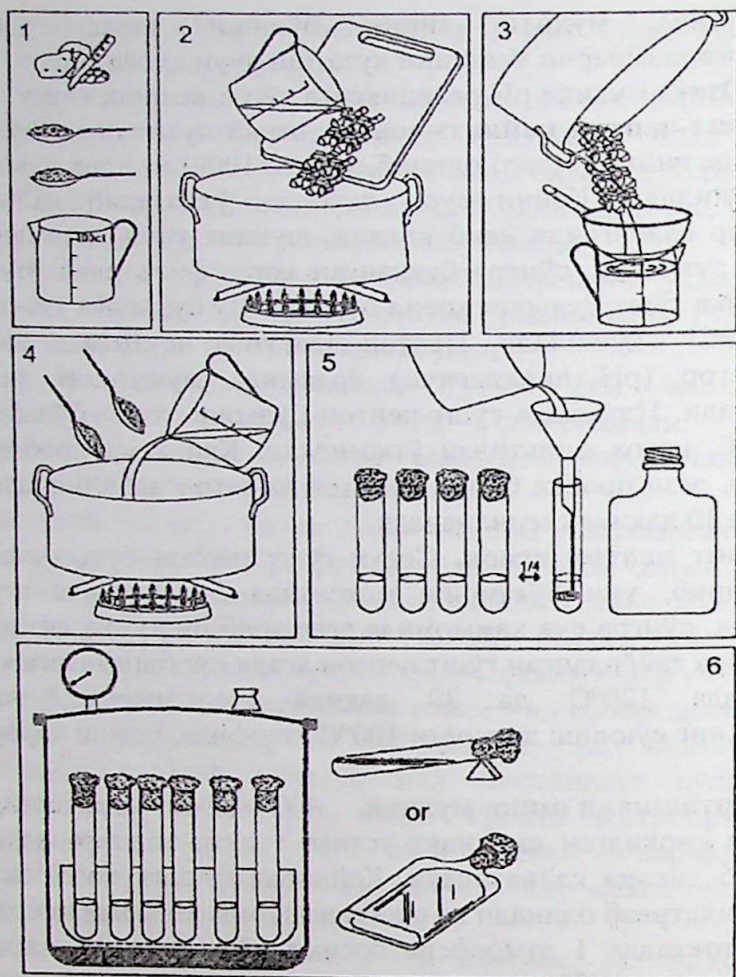
Гўшт-пептон қайнатмаси. Бу озиқа мухитни тайёрлаш учун 500 грамм қийма (ёғсиз) олиниб, устига 1000 мл илик сув қуйиб 12 соат қўйилади. Кейин сурп латтадан ўтказилиб қайнатилади. Оксиллар қайнаганда ивиб қолади, шунинг учун улар аввал сурп латтада сузилади, сўнгра букланган қоғоз филтрдан ўтказилади. Шу тариқа гўшт бульони ҳосил бўлади. Шу бульонга 1% пептон ва 0,5% NaCl қўйилади. Пептон эригунча иситилади ва махсус компаратор (рН аниқлагичи) ёрдамида мухитнинг реакцияси аниқланади. Натижада гўшт-пептон бульони ҳосил бўлади ва уни қайнатиб, қоғоз филтрдан ўтказилади. Қайнатма пробиркаларга қуйилиб, оғзи пробка билан ёпилади ва автоклавда бир атмосфера босимда 30 дақиқа стерилланади.

Гўшт пептон ағари. Совуқ гўшт пептон бульонига 1,5-2% агар қўшиб, уни бўктириш мақсадида 5-10 дақиқа шу ҳолда қўйилади, сўнгра сув ҳаммомида агар эриб бўлгунча қиздирилади. Шу тариқа тайёрланган гўшт пептон ағари пробиркаларга қуйилиб, автоклавда 120°C да 30 дақиқа стерилланади. Агар-агар мухитининг суюлиш ҳарорати 100°C атрофида, қотиш ҳарорати эса 40-45°C.

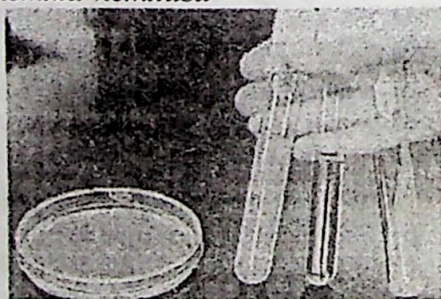
Картошкали озиқа мухити. 400 грамм тозаланиб, кубик шаклида қирқилган картошка устига 1 литр водопровод сувидан солиб 15 дақиқа қайнатилади. Қайнатма филтр қоғоз ёки пахта билан филтрлаб олинади ва пробирка ҳамда колбаларга солинади.

Автоклавда 1 атмосфера босимда 30 дақиқа стерилланади. Картошка сувига 20 грамм сахароза ёки глюкоза ва 20 грамм агар қўшиб зич озиқа мухит тайёрланади. Озиқани қайнатиб, рН и аниқланиб, белгиланади. Автоклавда 1 атм. босимда 30 дақиқа стерилланади.

Дуккакли қайнатма. Дуккакли қайнатма туганак бактериялар, моғор замбуруғлар учун яхши озиқли субстратдир. Бунини тайёрлаш учун дуккаклар (нўхат, ловия) уруғи устидан 4 баробар сув солиб, 1 соат қайнатилади ёки автоклавда 0,5 атм. босимда 20 дақиқа иситилади. рН аниқланиб белгиланади ҳамда 1% шакар қўшиб, пробирка ва колбаларга солиб, автоклавда 1 атмосфера босимда 30 дақиқа стерилланади.



Картошка, ўсимлик маҳсулотлари ва аъзоларидан озиқа муҳити тайёрлаш кетма-кетлиги



Тайёр озиқа муҳитлар

Сомонли қайнатма. 10 грамм сомонга 1 литр водопровод суви солиб 30 дақиқа қайнатилади. Ҳосил бўлган қайнатма филтрланиб, керакли тузлар (K_2HPO_4) ва шакар (1%) солинади. рН и аниқланиб белгиланади ва автоклавда 0,5 атмосфера босимда 30 дақиқа стерилланади.

Тупроқли агар. Куруқ тупроқни ўсимлик қолдиқлари, тош ва кумлардан яхшилаб тозаланади. Тупроқни ҳовончада майдалаб, элакдан ўтказилади. Тупроқни колбага солиб устидан дистилланган сувни 1:5 нисбатда қилиб солинади. Тайёр суспензия 5-10 дақиқа чайқатилади, кейин 1,5-2% агар қўшилади. Озиқани автоклавда 120°C ҳароратда 1 соат давомида стерилланади. Стериллаш 1 суткадан сўнг яна қайтарилади.

Чапека озиқа муҳити

1	$NaNO_3$	2 г	5	$FeSO_4$	0,001 г
2	KH_2PO_4	1 г	6	Сахароза	20 г
3	$MgSO_4$	0,5 г	7	Агар	20 г
4	KCl	0,5 г	8	Водопровод суви	1 литр

Юқорида кўрсатилган тузларни солиб яхшилаб аралаштирилади ва агар солинади. Кейин агарни суюлтириш учун сув ҳаммомига қўйилади. Тайёр бўлган озиқани пробирка ва колбаларга солиб автоклавда 1 атмосфера босимда 30 дақиқа стерилланади.

Омелянский озиқа муҳити

1	$NH_4H_2PO_4$	1,0г	5	$CaCO_3$	20 г
2	$K_2P_2O_4$	1,0 г	6	Филтр қоғоз	2-3 та
3	$MgSO_4$	0,5 г	7	Дистилланган сув	1000 мл
4	NaCl	0,5 г			

Юқорида келтирилган тузларни тарозида тартиб олинади ва 1 литр сувга солиб аралаштирилади. Тайёр бўлган озиқа автоклавда 120°C да 30 дақиқа стерилланади.

Микроорганизмларни ривожланишида айрим элементларнинг аҳамиятини билиш учун *Aspergillus niger* замбуруғи билан тажриба қўйиш мумкин.

Бунинг учун турли вариантда озиқа муҳити тайёрланади ва бу озиқа муҳитининг бири микроэлементларсиз бўлса, бошқалари таркибига бирор бир элемент қўшилмаган ҳолда тайёрланиши керак.

Замбуруғнинг бундай озиқа муҳитларида ўсиши ва ривожланишига қараб қўшилмаган элементнинг аҳамиятини билиш мумкин.

МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЭКИШ

Маиғулолни ўтиш тартиби: Микроорганизмларни озиқа муҳитига экиш усуллари ва техникаси билан танишадилар. Ҳар бир талаба микробиологик сиртмоқ билан гўшт-пептон қайнатмаси, гўшт-пептон ағари, картошка, Чапека ағари солинган пробиркаларга ва Петри ликобчаларига микроорганизмларни экиб соф культура ажратишни ўрганадилар. Микроорганизмларни ўстириш учун қўйиладиган термостат билан танишадилар.

Керакли асбоб ва реактивлар: Микроорганизмлар экилган пробиркалар (*Bacillus subtilis*, *Bacterium coli*, *Sarcina flava*). Гўшт-пептон қайнатмаси, гўшт-пептон ағари, картошкали агар, Чапека озиқаси солинган пробиркалар ва Петри ликобчалар. Микробиологик сиртмоқ. Стерилланган Пастер найчалари. Спирт лампаси, гугурт. Термостат.

Микроорганизмларни ўстириш учун стерилланган озиқа муҳитлари тайёрланади. Таркибида микроорганизмлар бўлган материални (тупроқ, сув, озиқ-овқат) стерилланган озиқа муҳити юзасига тушириш экиш дейилади. Ўстирилган микроорганизмларни озиқа муҳити солинган бир пробирка, колба ёки Петри ликобчасига экиш қайта экиш дейилади. Микробиологик сиртмоқ микроорганизмларни экиш учун энг қулай асбоб ҳисобланади. Бундан ташқари, санчиб экиш учун махсус микробиологик нина, Петри ликобчасига экиш учун - металлдан ёки шишадан тайёрланган шпателлар қўлланилади. Суюқ озиқа муҳитларга экиш учун сиртмоқлар билан бир қаторда турли хил пипеткалар ишлатилади. Пипеткаларнинг иккинчи, яъни кенг томони пахта билан беркитилади, сўнгра улар махсус идишга жойлаштирилади ёки қоғоз билан ўралиб стерилланади. Микроорганизмларни озиқа муҳитига экканда ҳаводан ёки теваарак-атрофдаги нарсалардан ёт микробларнинг тушишига йўл қўймаслик учун қуйидаги ишлар амалга оширилади:

- Спирт лампаси ёқилади;

- Чап қўлга иккита - биринчиси, униб чиққан ва қайта экиладиган микроорганизмлар, иккинчиси, стерилланган озиқа муҳити солинган пробиркалар олинади. Микроорганизмлар униб чиққан пробиркадан иккинчи пробиркага микроорганизмлар олиб экилади. Пробиркалар горизонтал ушланади.

- Микробиологик сиртмоқ тикка ушланиб, спирт лампасининг алангасида қизаргунча қиздирилади. Сўнг сиртмоқ аланга устидан ётиқ ҳолда ўтказилади, сиртмоқнинг симигина эмас, дастасини ҳам микроорганизмлар нобуд бўлиши учун алангадан ўтказиш керак.

- Иккала пахта пробка ўнг қўлнинг кичик бармоғи билан кафти орасида ушланиб, пробиркалар очилади.

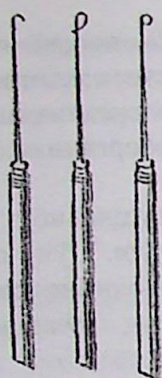
- Иккала пробирканинг четлари спирт лампасининг алангасига тутиб қиздирилади.

- Сиртмоқ микроорганизмли пробиркага тиқилиб, аввал микроорганизмсиз жойига тегизилади, бундан мақсад, сиртмоқнинг ҳаддан ташқари қизиб кетмаганлигини текшириб кўришдир, сўнгра сиртмоқ билан микроорганизмлар ёки микроорганизмлар аралашган суюқликдан бир оз олинади, бунда сиртмоқни пробирканинг деворларига теккизмасдан янги стерилланган озиқ муҳити устига суркалади ёки озиқа муҳити суяқ бўлса, суяқликка ботириб олинади.

- Пахта пробкаларнинг пастки учлари ва пробиркаларнинг четлари алангага тутиб қуйдирилади ва иккала пробирканинг оғзи ёпилади.

- Сиртмоқнинг спирт лампасининг алангасига тутиб қизаргунча қиздирилади.

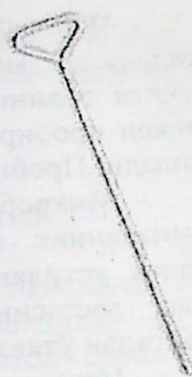
Анаэроб микроорганизмларни экиш учун улар зич озиқа муҳитининг (ГПА, ГПЖ) орасига киритилади, бунда у санчиб экилади. Бунинг учун микробиологик нина ишлатилади. Бундай нина симининг учи сиртмоққа ўхшаб қайрилган эмас, балки ўткирлангандир. Юқорида келтирилган қоидаларга амал қилиб, бундай нина билан бир оз микроорганизм олиниб, қаттиқ озиқа муҳити устунча шаклида қотган пробирканинг тагигача санчилади.



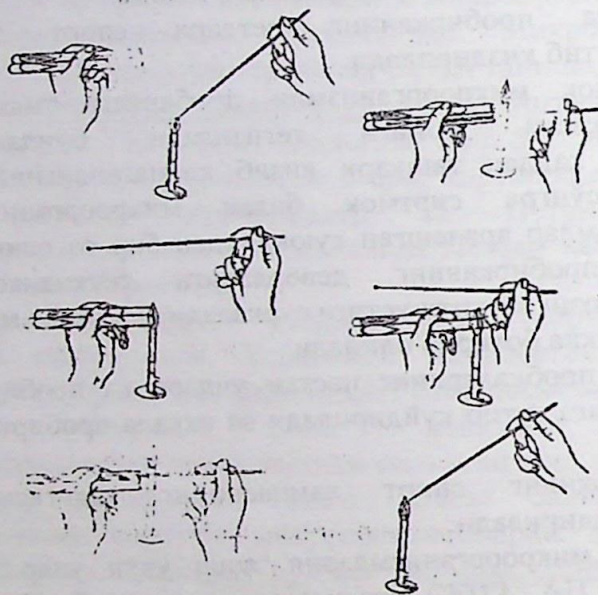
Бактериологик илгаклар



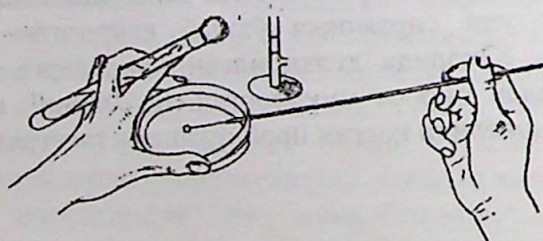
Скапель



Шпатель



Пробиркадан пробиркага микроорганизмларни қайта экиш



Петри ликобчасидаги қаттиқ озиқа муҳитига экиш

Пипетка билан ишлаш вақтида аввало уни коғоздан ажратиб олинади. Тезликда лампа алангаси устидан ўтказилади ва пробиркага киритилади. Сўнгра унинг ички томони совитилади. Шундан сўнг пипетка оғзи орқали, юқорида ёзилган қоидага амал қилган ҳолда экиладиган материал сўриб олиниб пробирка ёки бошқа лаборатория идишига пуфланади. Ишлатилган пипетка дезинфекция қилувчи эритмаси бўлган банкага солиб қўйилади.

Петри ликобчасидаги агарли озиқа муҳити юзасига шпатель ёрдамида газон экилади. Бунинг учун қопқоқ бироз очилади, сиртмоқ ёки пипетка билан экиладиган материаллардан озиқали агар юзасига томизилади. Сўнгра шпатель лампа алангасидан ўтказилади, қопқоқнинг ички томонида совитилади ва материал муҳитнинг бутун юзасига суртилади. Бунда чап қўл билан қопқоқ ушлаб турилади ва бир вақтнинг ўзида ликобча столдан ажратилган ҳолда айлантириб турилади. Инкубациядан сўнг микроорганизмлар бир текис униб чиқади.

Озиқа муҳитига экилган микроорганизмлар термостатга жойлаштирилади.

Микроорганизмларни озиқа муҳитида ўстириш термостатларда оптимал ҳароратда ўтказилади. Термостат икки эшикли бўлиб, ички-ойнали, ташқи-икки қаватли бўлиб, ички қисми иссиқ ўтказмайдиган материал билан тўлдирилган. Термостатнинг ички қисмида олинадиган патнослар ўрнатилган бўлади.

МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ СОФ КУЛЬТУРАСИНИ АЖРАТИШ ВА БЕЛГИЛАРИНИ ЎРГАНИШ ҲАМДА УЛАРНИНГ ТУРЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Манигулотиш ўтиш тартиби: Микроорганизмлардан соф культуралар ажратиш усуллари билан танишилади: а) қаттиқ озиқа муҳитидан; б) электив озиқа муҳитидан, в) касалланган ўсимлик аъзоларидан (барг, поя, илдиз, мева) соф культуралар ажратилади. Микроорганизмларнинг соф культураларини қия агарда ўсиши ва Грамм усулида бўялишини текширилади (*Xanthomonas malvacearum*)

Керакли асбоблар ва реактивлар: Микроорганизмлар экилган Петри ликобчалари ва пробиркалар, микробиологик

сиртмоқ, бўёқлар, пинцет. Буюм ва қоплагич ойначалар. Микроорганизм колонияларининг шакли туширилган жадваллар. Гисс озиқа муҳити солинган штативлар тўплами билан, гўшт пептон қайнатмаси (ГПК), оддий лакмус сут билан, озиқа муҳити солинган (картошкали, глюкоза-пектинли, гўшт-пептонли агарли озиқалари) Петри ликобчалари. Агар озиқаси қийшиқ қотирилган пробиркалар, Пастер найчалари, шпател, турли кислоталарга шимдирилган филтр коғоз бўлакчалари. Қизил лакмус коғозлари (аммиак учун). Микроскоп, бўёқлар, *Pseudomonas fluorescens*, *Xanthomonas malvacearum* бактерияларининг соф культуралари. Тупроқ, ўсимликни зарарланган аъзолари.

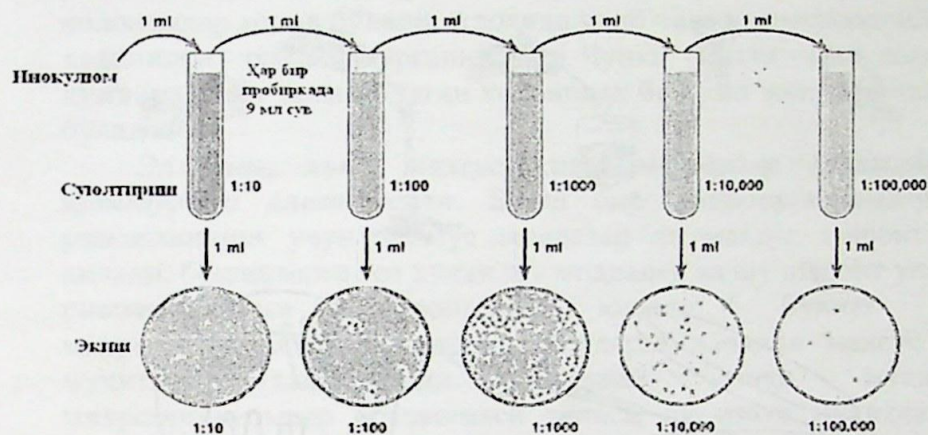
Текшириладиган материалларда микроорганизмларнинг бир тури эмас, балки бир неча тури бўлиши мумкин. Бу кўп тур микроорганизмлар бўлган материалдан битта турини қуйидаги усуллар билан ажратиш оқсо бўлади: 1. Суюлтириш. 2. Ёйиш ёки тарқатиш. 3. Электив озиқа муҳитларида ўстириш. 4. Бациллаларни ажратиш. Кўп қўлланиладигани бу қаттиқ озиқа муҳитидан ажратишдир.

Суюлтириш усули. Текшириладиган материал стерилланган суюқ озиқа муҳитида ёки физиологик эритмада суюлтирилади.

Текшириладиган материалнинг турига ва унинг таркибидаги микроорганизмларнинг сонига қараб озиқа муҳити 1:100, 1:1000, 1:10000 нисбатда суюлтирилади. Муҳит суюлтирилганда унинг таркибидаги микроорганизмларнинг сони камаёди ва сийраклашади. Мисол: 1 мл текшириладиган материалда 1 млн микроорганизмлар бўлса, 1:1000 нисбатда суюлтирилганда бу суюлтирилган суюқликнинг 1 мл да 1 млн, 1:10 000 нисбатда суюлтирилган бўлса 100 минг ва ҳоказо микроорганизмлар бўлади. Шундай қилиб, текшириладиган материал қанча кўп суюлтирилса, ундаги микроорганизмлар сони шунча камаёди. Бу эса микроорганизмларни алоҳида - алоҳида сунъий озиқа муҳитида униб чиқишига имкон беради ва соф культурани, яъни бир турли микроорганизмлар колониясини ундиришга шароит яратади.

Текшириладиган материал суюқ бўлса, микроорганизмларнинг сони тахминан аниқланади ва уларнинг сони кўп бўлса 0,1 мл, агарда кам бўлса 1 мл олиниб, суюлтирилади. Суюлтиришдан аввал бир неча пробиркаларда 9 мл стерилланган суюқ озиқа муҳити ёки стерилланган физиологик эритма тайёрланади ва пробиркаларга қуйилади. Агарда текшириладиган

материалда микроорганизмлар кўп бўлса, биринчи пробиркага 9 мл эмас, балки 9,9 мл қуйилади. Текширилаётган материалдан кам бўлса 1 мл олиниб, тайёр пробиркага қуйилади ва яхшилаб аралаштирилади. Суюлтириш 1:1 нисбатда бўлади. Агарда материалда микроорганизмлар кўп бўлса, пробиркага материалдан 9,9 мл эмас, балки 0,1 мл олинади, бунда суюлтириш 1:100 нисбатда бўлади. Бу суюкликдан 1 мл олиб, учинчи 9 мл ли суюкликка қуйиб аралаштирмасдан 1:1000 нисбатда суюлтирилади.



Ҳисоблаш: Ликобчалардаги колониялар сон $\times$ Эришманинг нисбати = 1 мл даги бактериялар сон

Масала: $32 \times 10000 = 320000/\text{мл}$

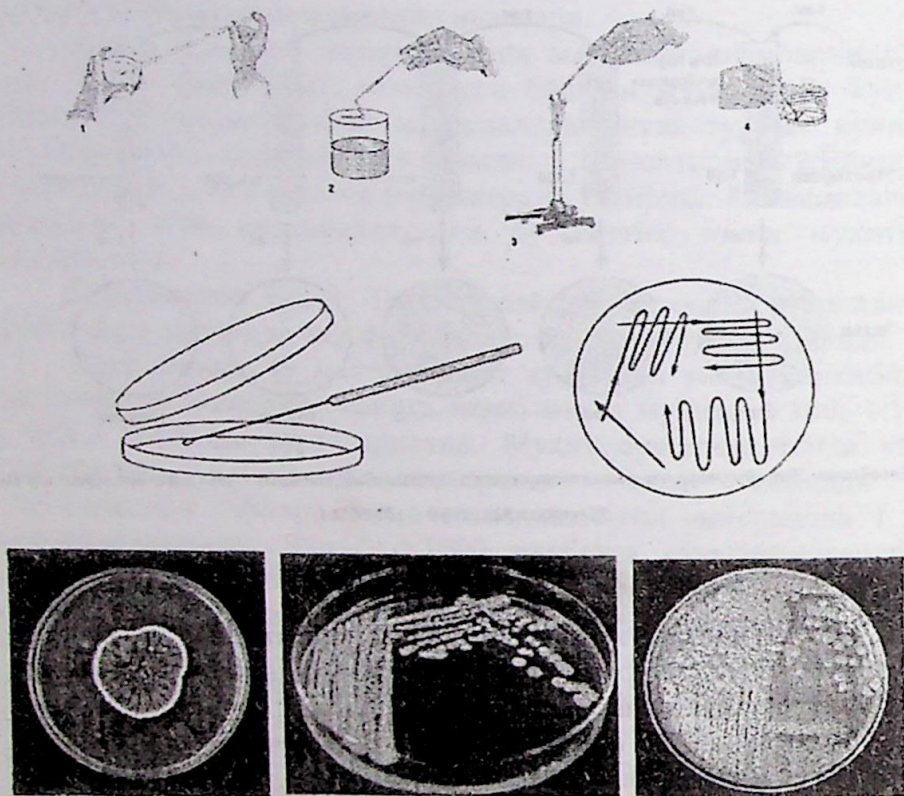
Суюлтириш усули ёрдамида микроорганизмларни соф ҳолда ажратиш олиш

Шундай қилиб, керакли даражада суюлтириш ва керакли суюлтирилган микроорганизмлар аралашмасидан олиб текшириш мумкин. Бу усулда текширилаётган кўп суюлтирилган культурадан Петри ликобчага зич озиқа муҳитдан бир неча томчи томизиб, шпатель ёрдамида ёйилади. Материал яхши ёйилгандан сўнг Петри ликобчага ағдарилиб, термостатга қуйиб микроорганизмлар ундирилади.

Суюлтирилган суюкликдан текширилаётган материал, яъни ундирилган микроорганизмларнинг белгиларидан бошқа колонияларни олиб бошқа сунъий озиқа муҳитига экиб, соф культура олинади.

Ўйини ёки тарқатиши усули. Соф ҳолда ажратишнинг бу усулида зич озиқа муҳитларидан, кўпинча гўшт-пептон агар (ГПА), Чапека, сусло-агар озиқа муҳити ишлатилади. Текшириладиган материалнинг бир томчиси, агарда текшириладиган материал қуюқ бўлса, уни аввал стерил физиологик эритмада суюлтириб, зич озиқа муҳитнинг сиртига томизилади ва стерил шпатель билан босмасдан суртилади.

Ўйини ёки тарқатиши усули



Сўнгра шпательни ағдармасдан иккинчи сиртига тегизиб, суртилади. Ўша шпатель билан кейинги Петри ликобчаларига кетма кет сурилади. Биринчи ликобчадаги озиқа муҳитининг сиртига кўп микроорганизмлар тушган бўлса, иккинчисиде камрок бўлади, чунки иккинчи ликобчадаги озиқа муҳитнинг сиртига фақат биринчи ликобчадан қолган микробларнинг бир қисми,

учинчисига иккинчи ликобчадан қолган микроорганизмларнинг бир қисми суртилади. Шундан қилиб, материалдаги микроорганизмларнинг сонига қараб Петри ликобчаларнинг миқдори аниқланади. Охирги ликобчанинг зич озиқа муҳитининг сиртига бир неча микроорганизмлар шпательдан ўтади ва шу микроорганизмлардан ҳосил бўлган колониялар яққол кўринади. Униб чиққан колониялардан олиб текширилади.

Бу усулда шпатель орқали микроорганизмларни сийраклатиб ёйишдан сўнг Петри ликобча термостатга қўйилади. Термостатдан униб чиққан микроорганизмларнинг ҳар бир хужайрасидан колониялар ҳосил бўлади. Алоҳида униб чиққан микроорганизмлар колонияси олиб ўрганилади. Чунки битта микроорганизм хужайрасидан ҳосил бўлган колонияда бир хил микроорганизмлар бўлади.

Электив, яъни махсус озиқа муҳитлар ёрдамида соф культурани олиш усули. Баъзи бир микроорганизмлар ўсиб ривожланиши учун махсус моддалар ва махсус шароит талаб қилади, бошқаларга эса худди шу моддалар ва шу шароит уларнинг ривожланишига тўсқинлик қилади. Бунинг учун микроорганизмларни ундиришда уларга алоҳида махсус озиқа муҳитлар тайёрланади. Шундай озиқа муҳитларга микроорганизмлар аралашмаси экилса, бу озиқа муҳитда баъзи микроорганизмлар ўсади, ривожланади, бошқалари эса ўсмайди ва ривожланмайди. Униб чиққан микроорганизмларда суртма тайёрлаб, микроорганизмларни ўрганиш мумкин.

Бациллаларни ажратиш усули. Бациллалар — ноқулай шароитдан ҳимояланиш учун спора ҳосил қилади. Текшириладиган материалларда спора ҳосил қиладиган ва спора ҳосил қилмайдиган микроблар бўлиши мумкин.

Буларни бир биридан ажратиш учун текшириладиган материални 70-80°C да 10-15 дақиқа сақлаш керак. Сўнг материал озиқа муҳитига экилиб, термостатда ундирилади. Иситишда спора ҳосил қиладиган микроорганизмлар тирик қолади. Спора ҳосил қилмайдиган микроорганизмлар нобуд бўлади. Шундай қилиб, бациллаларни ва уларнинг спораларини микроорганизмларнинг аралашмасидан ажратиш мумкин.

Микроорганизмларни культурал белгиларини аниқлашда уларни озиқа муҳитларига экиб ўрганилади. Ҳар бир микроорганизмларни ўрганишда алоҳида озиқа муҳитлари

мавжуддир. Қаттиқ озиқа муҳитларида макроскопик усулда уларнинг колониялари, шакллари, ранги, тиниқлиги, устки қисмларини кўринишлари эътиборга олинади.

Колонияларни ҳажмига кўра аниқ диаметри 1 мм дан ошмаган, кичик 1-2 мм, ўртача 2-4 мм, йирик 4-6 мм ва ундан ортиқ бўлади.

Колониялар шаклига кўра думалоқ, овал, четлари тўғри ёки қийшиқ, озиқа муҳитининг устки қисмида силлиқ, текис, дўмбоқ, ёйилган, дон шаклида, ранг бўйича – оқ, сарик, қизил, сиёҳ ранг, қора ва бошқалар, консистенцияси бўйича – шилимшиқсимон, қаттиқ, курук, тиниқ ва лойқа кўринишда бўлади.

Колонияларни тўлиқ ўрганиш учун уларни лупалар ёки микроскоп орқали ўрганилади.

Суюқ озиқа муҳитида уларни белгилари парда шаклида, лойқа, чўкма ва озиқа муҳитни рангини ўзгартириши шаклида кўринади.

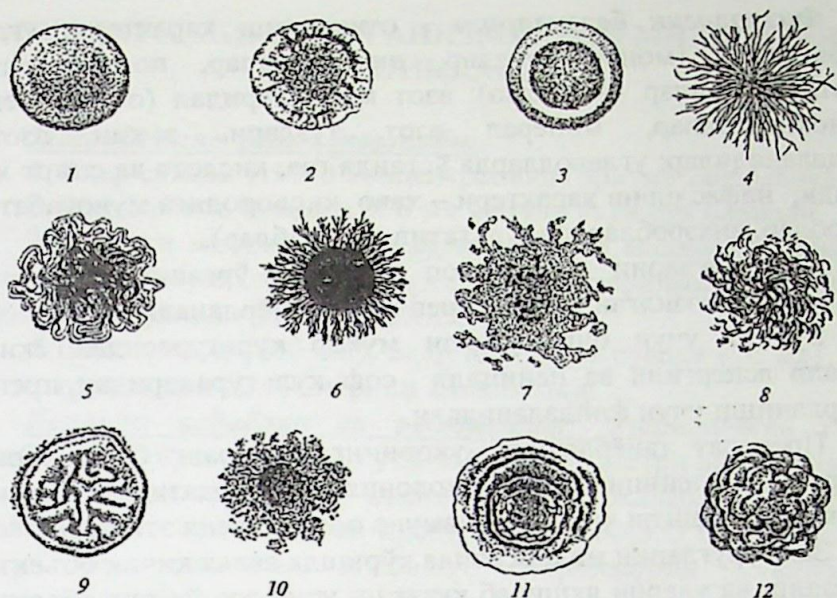
Гўшт пептон желатинига инъекция усулида экилган микроорганизмлар ён томонидан арча кўринишида колониялар ҳосил қилади. Баъзан ГПЖ суюлиши натижасида текис қаватли колониялар ҳосил қилади.

Колонияларни ўрганиш давомида улардан препарат тайёрлаб, бўялади ва микроскоп орқали кузатилади.

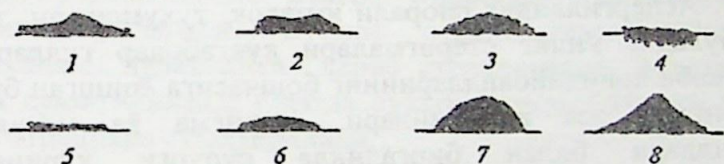
Бактерияларни оладиган бўлсак, уларни тури, **морфологик, физиологик ва культурал (ўсиш)** хоссаларига қараб аниқланади.

Морфологик белгиларига - бактерияларнинг вегетатив танасини, шакли (кокklar, таёқчалар ва бошқалар), уларнинг катта-кичиклиги, спора ҳосил қилиши, ҳаракатчанлиги, Грамм усулида бўйлиши киради.

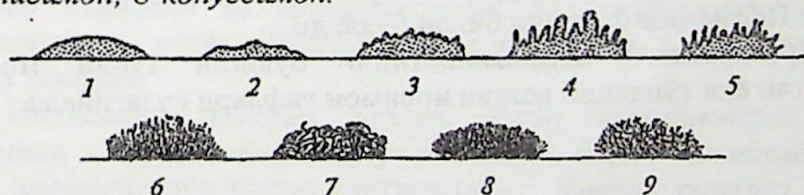
Культурал белгилари - бактерияларнинг ҳар хил озиқа муҳитларида ўсиш хусусиятлари демакдир. Озиқа муҳитида микроорганизмларни ўсиш хусусиятлари - парда ҳосил қилиши (силлиқ, буришган), лойқа ҳосил қилиши, чўкма ҳосил қилиши кузатилади. Озиқа муҳитларида колонияларнинг ранги, ҳажми, устки қисми, консистенцияси кузатилади. Уларнинг ҳажми уларнинг диаметри орқали аниқланади. Йирик диаметри - 4 мм; ўртача-2-4 мм; майда- 1-2 мм бўлади.



Колонияларнинг формаси: 1- доирасимон; 2-четлари нотекис доирасимон; 3- четлари бўртиқ доирасимон; 4, 5-ризоидсимон; 6-четлари ризоид кўринишида; 7-амёбасимон; 8-ипсимон; 9-бурмали; 10-нотўғри шохланиш; 11-концентрик; 12-мураккаб.



Колониянинг ён томондан кўриниши: 1-эгри; 2-кратерсимон; 3-гадир-будир; 4-субстрат ичига ўсувчи; 5-текис; 6-қавариқ; 7-томчисимон; 8-конуссимон.



Колониянинг чеккалари: 1-силлиқ; 2-тўлқинсимон; 3-тишли; 4-парракли (куракли); 5-нотўғри учланган; 6-майда тукли; 7-ипсимон; 8-тук билан қопланган; 9-сершохли.

Физиологик белгиларига - озиқланиш характери: углевод манбаларида (моносахаридлар, дисахаридлар, полисахаридлар, спиртлар, мойлар ва хоказо): азот манбаларидан (оксил, пептон, аминокислоталар, минерал азот тузлари, эркин азотдан) фойдаланадилар; углеводларда ўсганда газ, кислота ва спирт ҳосил қилади; нафас олиш характери – ҳаво кислородига муносабатидир (аэроблар, анаэроблар, факультатив анаэроблар).

Замбуруғларни микроскоп орқали ўрганиш учун соф культурадан «эзилган томчи» препарати тайёрланади.

Бунинг учун бир суткалик мукор культурасидан ёки 2-3 суткалик аспергилл ва пеницилл соф культураларидан препарат тайёрланиши учун фойдаланилади.

Препарат тайёрлашда мукорнинг кул ранг бошчаларидан, аспергилл ва пеницилнинг эса колониялари марказидаги қорамтир, сарик, яшил рангли қисмидан намуна олиш тавсия этилади.

Замбуруғларни микроскопда кўришда аввал кичик объективда (8) топиш ва уларни яхшилаб кузатиш учун эса ўртача объективда (40) кузатиш керак. Препаратда мукор замбуруғининг спорангиспоралари шарсимон, эллипссимон, тухумсимон шаклда, шу спораларни ўзида сақлаган спорангийлар эса ноксимон, шарсимон, тухумсимон, цилиндрсимон шаклда бўлиши кузатилади. Аспергиллнинг спорали юмалоқ, тухумсимон, эллипс шаклида бўлади. Унинг стеригмалари кунгабоқар гулларининг япроқлари каби конидийбандларининг бошчасига ёпишган бўлади. Пенициллиннинг эса конидийлари, стеригма ва метулалари конидийбандлари билан биргаликда супурги кўринишида кузатилади.

Актиномицетларни микроскопда кузатишда улар ўстирилган суюқ озиқа муҳитидан суртма тайёрланади. Фиксация қилинган суртма Пфейффер фуксини билан бўялади.

Препаратда актиномицетнинг бўялган турли томонга тарқалган ёки тўпланиб қолган ипсимон гифлари кузатилади.

СУВДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ

Маиғулоти ўтиш тартиби:

1. Оқар сувдан 1:1000 концентрацияда эритма тайёрланади.
2. Водопровод сувидан 500 мл намуна учун сув олинади.
3. Сувдаги микроорганизмларни умумий миқдорини аниқлаш учун 1 мл суюлтирилган ҳамда суюлтирилмаган ҳолидаги водопровод сувидан озика муҳитига экилади.
4. Водопровод (300 мл), оқар ва турғун сувдан (10 мл) 1:100 концентрациядаги коли-титрини аниқланади.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Стерилланган Петри ликобчалари, Қаттиқ озика муҳити солинган Петри ликобчалари, 9 мл дан стерилланган сув солинган пробиркалар, 15 мл дан суюлтирилган сув солинган пробиркалар, 100-500 мл дан оқар ва турғун сув солинган колбалар, стерилланган колбалар. Микроскоп. Пинцетлар, стерилланган мембранали филтрлар, Зейтц филтри.

Сувдаги микроорганизмларнинг умумий миқдорини аниқлаш учун 1 мл сувни Петри ликобчасига экилиб, ҳамда қаттиқ озика муҳити устида ҳосил бўлган микроорганизмларнинг миқдори орқали аниқланади. Бунинг учун текширилаётган сувни ифлосланиш даражасига қараб стерилланган водопровод суви билан суюлтирилади. Одатда суюлтирилиш 1:10 дан 1:1000 гача концентрацияда суюлтирилади.

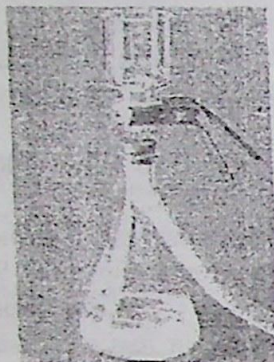
Текширилаётган сувнинг 1 мл ни (юқори концентрациялигидан бошлаб) стерилланган Петри ликобчаларига (2 та) солиб, унинг устидан эритилган, 45°C га совитилган қаттиқ озика муҳити қуйилади ва аралаштирилиб, 37°C ҳароратда 24 соат тўнтарилган ҳолда қўйилади. Тоза сувни эса суюлтирилмаган ҳолда экилади.

Инкубация даврини ўтагач, ўсган колонияларни лупа ёрдамида саналади ва ҳар бир колонияни Петри ликобчасининг орқа қисмига сиёҳ билан белгиланади. Бундан ташқари ҳисоб камерасидан ҳам фойдаланиш мумкин.

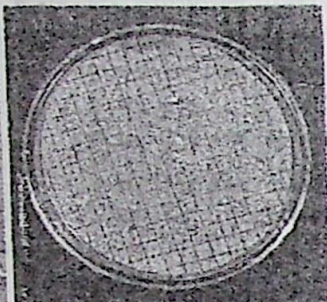
Ўсган колониялар миқдори маълум концентрацияда экилган сувдаги микроорганизмлар миқдorigа боглик. Ҳар бир Петри ликобчасида ўсган колонияларнинг ўртача миқдорини аниқлаш учун колониялар сони саналиб, уларга тегишли бўлган

концентрация сонига кўпайтириш керак. Петри ликобчаларини алоҳида саналиб кўшилади, сўнгра иккига бўлинади.

Экилган сувнинг ичак таёқчаси топилган энг кам микдори сувнинг коли-титри деб ҳисобланади.



Сувнинг коли-титрини аниқлаш



Ичак таёқчаси

Фильтрловчи мембраналар ёрдамида ҳам сувнинг коли-титри аниқланади: фильтрловчи мембраналар майда тешикли, юпка питрацеллюлозадан тайёрланган ва оқ қоғозга ўхшайди. Кўпинча амалий ишда 3-номерли филтрдан фойдаланилади. Бу филтрлар Зейтц аппаратида жойлаштирилиб стерилланади. Сўнгра текшириладиган сувнинг маълум микдори (300 мл) филтрланиб, кейин филтрланувчи мембраналар Зейтц аппаратидан олиниб, тепага қаратиб қаттиқ озиқа мухитли Петри ликобчаларига ёйиб қўйилади ва термостатга қўйилади. Агар филтрланган сувда ичак таёқчаси бўлса, эртасига уларга хос қизил колониялар кўринади. Бундай колониялар саналиб, Эйкман озиқасига экиб 43°C иссиқликда ўстирилади. Унда ҳам ичак таёқчаси борлиги аниқланса, олинган натижага кўра сувнинг коли-титри аниқланган бўлади.

Масалан, 300 мл сувни филтрланганда фильтрловчи мембранада ичак таёқчасига хос 3 та қизил колония ўсиб чиқса, демак 100 мл сувда битта ичак таёқчаси борлиги, яъни сувнинг коли-титри 100 мл эканлиги маълум бўлади. Сувнинг коли-титри қанча кичик бўлса, у сув шунча кўп ифлосланган, коли-титри қанчалик катта бўлса, сув шунча тоза ҳисобланади.

Сувдан олинган намуналар Петри ликобчасидаги агарли озиқа мухитига экилади. Бунинг учун сув 10^{-2} , 10^{-1} марта суюлтирилган

ва стерилланган намуналар ишлатилади. Петри ликобчасидаги униб чиққан микроорганизм колонияларининг ҳисоби олиниб, сўнгра бу олинган сон сувни суюлтирилганлигини даражасига кўпайтирилади ҳамда ўртача миқдори ҳисоблаб топилади. Сувнинг сифати 1 мл сувдаги микроорганизмлар миқдорига қараб аниқланади:

100 гача бўлса - тоза сув,

100 дан 500 гача бўлса - ўртача ифлосланган,

500 дан ортиқ бўлса - ифлос сув.

ҲАВОДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ

Маишулотни ўтиши тартиби: Ҳавони микроорганизмлар билан ифлосланганлигини аниқлайдилар. Бригада усулида 3-4 киши услубий кўрсатмага асосан ҳаво микрофлорасини аниқлашни ўрганадилар. Тадқиқот натижаларини дафтарларига ёзиб борадилар. Петри ликобчаларида ўсган микроорганизмлардан препарат тайёрланиб, микроскопда кўрадилар.

Керакли асбоблар ва реактивлар : ГПА ва картошкали агар солинган Петри ликобчалари. Термостат. Микроскоп, буюм ва қоплагич ойначалар Иммерсион мой, микробиологик сиртмоқ.

Ҳаводаги микроорганизмлар миқдори бир нечта усулларда аниқланади. Энг оддий усул бу - Кох усулидир. Бу усул билан ҳаводаги микроорганизмларнинг сони ва турларини тахминан аниқлаш учун стерилланган Петри ликобчасига сув ҳаммомида иситилиб суюлтирилган озиқа муҳити қуйилиб, спирт лампаси алангаси ёнига қўйилади; озиқа муҳит ликобчада қотгандан сўнг ҳаво текшириладиган жойга олиб бориб, маълум вақтгача (5-10 дақиқа) қопқоғи очиб қўйилади. Шу вақтда ҳаводаги микроорганизмлар ликобчадаги қопқоғини ёпиб, тагига ҳаво экилган куни, неча дақиқа очик қолдирилганлигини, талабанинг исми шарифи ёзилиб, тўнтарилган ҳолида термостатга қўйилади. Шунинг учун ҳам бу усулни ҳавони чўктириб экиш усули дейилади.

Ликобча маълум вақтдан кейин термостатдан олиниб, муҳит юзасида униб чиққан микроорганизм колониялари санаш тахтаси

ёрдамида саналиб, 1 м^3 ҳаводаги микроорганизмларнинг умумий сони аниқланади.

– ликобчадаги муҳитнинг сатҳи πr^2 ($\pi=3,14$; r – ликобчанинг радиуси) формуласи билан аниқланади.

- 1 дм^2 сатҳдаги колониялар сони аниқланади;

- 1 м^3 ҳаводаги микроорганизмларнинг сони ҳисоб қилинади.

Масалан: Петри ликобчасининг диаметри 9 см бўлиб, унда 28 микроорганизм колонияси униб чиққан.

1) Петри ликобчасининг сатҳи аниқланади ($3,14 \times 4,5^2 \times 2 \times 2,5 = 63,6\text{ см}^2$).

2) 1 дм^2 1 сатҳдаги колониялар сони аниқланади ($1\text{ дм}^2 = 100\text{ см}^2$ ёки 10 л ҳавога тенгдир), бунда қуйидаги тенглама тузилади:

28 тўплам - $63,6\text{ см}^2$

X тўплам - 100 см^2

$$X = \frac{28 \times 100}{63,6} = 44 \text{ тўплам}$$

3) 1 м^3 ($1\text{ м}^3 = 1000\text{ л}$ га тенг) ҳаводаги микроорганизмлар сонини билиш учун қуйидаги тенглама тузилади:

$44 - 10\text{ л}$

$X - 1000\text{ л}$

$$X = \frac{44 \times 1000}{10} = 4400$$

Демак, 1 м^3 ҳавода 4400 микроорганизм борлиги аниқланиб, қуйидаги жадвалга ёзилади.

Текширилган жой	Униб чиққан колониялар сони	Ликобчанинг сатҳи	Микроорганизмлар сони	
			10 л ҳавода	1 м^3 ҳавода
Аудитория №421	28	63,6	44	4400

Ҳаводаги микроорганизмларни текширишда яна қуйидаги усуллардан ҳам фойдаланилади:

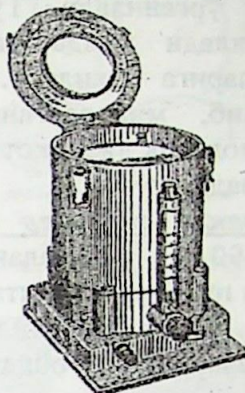
Седиментацион усули. Иккита агарли озиқа қуйилган Петри ликобчаси очик ҳолда 60 дақиқа давомида стол устига қўйилади. Сўнг $24-26^\circ\text{C}$ да термостатга жойлаштирилади. Иккала

ликобчалардан ўсиб чиққан колониялар сонига қараб натижа чиқарилади. 250 дан кам колония ўсиб чиқса, ҳаво тоза ҳисобланади.

Колониялар сони 250-500 та бўлса, ҳаво ўртача ифлосланган, агар 500 дан ортиқ бўлса ниҳоятда ифлосланган бўлади.



*Ҳаводан седиментацион
усулда ГПА озиқа муҳитига
экилган бактерия колониялари*



Кротов аппарати

Аспирация ёки филтрлаш усули. Бу ҳаводаги микроблар сонини аниқлашда жуда ҳам аниқ усул ҳисобланади. Ҳаво аппарат ёрдамида экилади.

Кротов аппарати шундай тузилганки, ҳаво маълум тезликда агарли озиқа ликобчаси ёпиб турган пластинканинг тор ёригидан сўрилиб, урилади. Бунда микроорганизмларга эга бўлган аэрозол заррачалари бир текис агар юзасига жойлашади, чунки ликобча ёрикнинг тагида доимий айланиб туради.

Термостатга қўйилгандан сўнг формула бўйича микроорганизм сони ҳисобланади.

$$X = \frac{a \times 1000}{V}$$

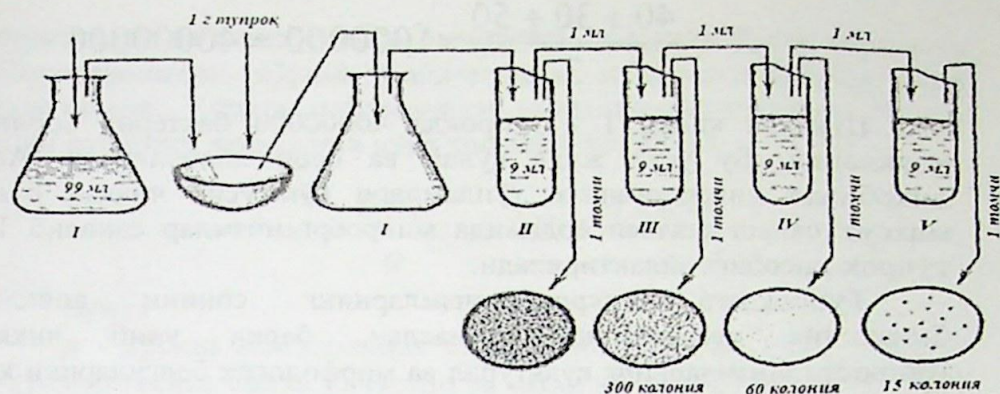
a — ликобчадаги колониялар сони;
 V — аппарат орқали сўриб ўтказилган ҳавонинг ҳажми, л;
1000 — текширилувчи ҳавонинг ҳажми, л;

ТУПРОҚДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ

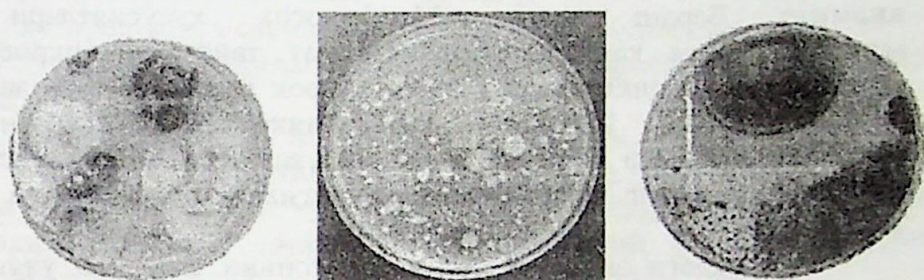
Машигулот ўтиши тартиби: Тупроқ микрофлорасини лаборатория шароитида аниқлаш учун 3-4 кишидан гуруҳларга бўлиниб ўрганилади. Тупроқни тарозида тортиб олинади ва суюлтирилади ҳамда қаттиқ озика муҳити солинган Петри ликобчаларига экилади. Ўсган колониялардан препаратлар тайёрланиб, микроорганизмларнинг морфологияси ёзилади. Микробиологик тадқиқот натижаларини талабалар дафтарларига ёзиб борадилар.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Тарози ва тошлари, тупроқ, 90 мл стерилланган сув солинган колбалар, 9 мл сув солинган пробиркалар штатив билан Петри ликобчалари ва Пастер найчаси. 20 мл эритилган қаттиқ озика муҳитлари солинган пробиркалар, буюм ойначаси, бўёқлар, микробиологик сиртмоқ, микроскоп.

Тупроқдаги микроорганизмлар сони ҳар хил усул билан аниқланади. Шулардан тупроқдан эритма тайёрлаб, қаттиқ озика муҳитига экиб, микроорганизмларнинг сонини аниқлаш энг қулай усул ҳисобланади. Тупроқнинг микрофлорасини аниқлашда асосан ГПА ёки ДПА, Чапека, сусло-агарли озика муҳитларидан фойдаланилади. Тупроқ микрофлорасини аниқлаш учун 10-20 см чуқурликдан намуна олиб, 1 г тупроқ тарозида тортиб оlinиб, эритманинг охириги даражаси 1:1 000 000 бўлгунча стерилланган сувга аралаштирилади. Бунинг учун ажратиб олинган 1 г тупроқ стерилланган колбага солиниб, устига 99 мл стерилланган сув қуйилади. Сўнгра 3дақиқа давомида чайқатиб аралаштирилади. Ҳосил бўлган аралашмадан стерилланган пипетка билан 1 мл олиб, 9 мл стерилланган сув солинган биринчи пробиркага қуйилади. У яхшилаб аралаштирилгандан сўнг 1 дақиқа давомида биринчи пробиркадан пипетка билан 1 мл аралашмани олиб, 9 мл стерилланган сув қуйилган иккинчи пробиркага солинади. Худди шу тартибда иккинчи пробиркадан 1 мл олиб учинчи пробиркага солинади, учинчи пробиркадан 1 мл олиб тўртинчи пробиркага солинади, тўртинчи пробиркадан 1 мл олиб бешинчи пробиркага солинади. Натижада охириги эритманинг концентрацияси 1:1000000 бўлади.



Тупроқни суюлтириш орқали микроорганизмларни ажратиш



Микроорганизмларни экиш. Ҳосил бўлган охирги эритмадан стерилланган пипетка билан 1 мл дан учта Петри ликобчасига солинади, сўнгра ликобчаларга эритилган ва 40–45°C гача ДПА (дуккакли ўсимликлардан тайёрланган агар) ёки ГПА, Чапека, сусло - агар озиқа муҳитларига қўйилади ва уни секин чайқаб эритма муҳитга аралаштирилади. Ликобчадаги муҳит қотгандан сўнг 3 кун давомида 25°C да термостатга қўйилади.

Микроорганизмлар миқдорини аниқлаш. Учта ликобчадаги униб чиққан микроорганизмлар колонияларининг ўртача сони аниқланади. Микроорганизм колониялари саналганда ликобчанинг қопқоғи очилмаслиги керак. Масалан, биринчи ликобчада 40 та, иккинчисиди 30 та, учинчисиди эса 50 та микроорганизм колонияси борлиги аниқланди, бунда чиққан сонларнинг ҳаммасини қўшиб, 3 га бўлиниб, эритма даражасига кўпайтирилади:

$$X = \frac{40 + 30 + 50}{3} \times 1000000 = 40000000$$

Шундай қилиб 1 г тупрокда 40000000 бактерия борлиги аниқланди. Бу усул жуда қулай ва осон ҳисобланади. Агар ликобчада микроорганизм тўплamlари кўп ўсиб чиққан бўлса махсус санаш тахтаси ёрдамида микроорганизмлар саналиб 1 г тупрок ҳисобига айлантрилади.

Тупрокдаги микроорганизмларнинг сонини аниқлаш билангина чегараланиб қолмасдан, балки униб чиққан микроорганизмларнинг культурал ва морфологик белгиларини ҳам ўрганиш керак. Бу қишлоқ хўжалик микробиологиясида катта аҳамиятга эгадир. Микроорганизмларнинг култураль белгилари ўрганилганда колониянинг ранги, катта-кичиклиги ва шаклига аҳамият бериш лозим. Морфологик хусусиятлари эса микроорганизм колониясидан препарат тайёрлаб микроскопда кўриш билан аниқланади. Талаба, тупрок микроорганизмларнинг хусусиятларини ўрганиши учун ликобчада ўсиб чиққан микроорганизмлар колониясидан 3-4 тасини олиб, микроскопда кўриши ва унинг кўзга кўринган белгиларини дафтарига ёзиш керак.

Тупрокдаги замбуруғларнинг сонини аниқлаш учун ҳам олдин тайёрланган эритмадан бактерияни экиш усули каби, Чапека ёки суслó - агарли учта ликобчага 1 мл дан экилади, сўнгра ликобчалар 5 кун давомида 25°C иссиқ термостатда сақланади. Униб чиққан замбуруғлар ҳам 1 г тупрокдаги бактериялар саналгани каби ҳисоб қилинган усулда санаб чиқилади.

Униб чиққан замбуруғлар сони маълум бўлгандан сўнг уларнинг турлари ва оиласи аниқланади.

Тупрокдаги замбуруғлар сонини С.Н.Виноградский ва О.Г.Шульгина усулида ҳам аниқлаш мумкин. Бунинг учун тупрокдан 5 г намуна олиб колбада 50 мл стерилланган сув билан 5 дақиқа давомида аралаштирилиб эмульсия тайёрланади, кейин 1-2 секунд давомида тиндирилгандан сўнг ундан стерилланган пипетка билан 0,01 мл олиб 4 см² буюм ойнасига текис ёйиб қуритилгандан кейин алангада қиздирилади ва карбол эритрозин билан 30 дақиқа бўялади. Эритрозин препарати фақат микроорганизм хужайраларини бўййди, тупрок заррачалари бўялмасдан ажралиб қолади. Бўялган препарат сув билан ювилиб

қуритилади ва микроскопда иммерсион объектив билан қаралади. Микроскопнинг кўриш майдонидаги микроорганизмлар сони аниқланади. Кўриш майдонидаги микроорганизмларнинг ўртача сони қуйидаги формулага кўра ҳисоблаб топилади:

$$e = \frac{b \times v}{a}; \quad X = \frac{b \times v \times e}{z};$$

Бунда

a - кўриш майдонининг сатҳи. Уни аниқлаш учун радиуси окуляр линейка билан ўлчанади ва сатҳи πr^2 формуласига мувофиқ ҳисоблаб топилади;

b - кўриш майдонидаги микроорганизмларнинг ўртача сони;

v - препарат сатҳи ($4 \text{ см}^2 - 400 \text{ мм}^2$);

z - препаратга сурилган тупроқ микдори ($0,001 \text{ г}$);

e - 4 см^2 сатҳидаги, яъни 0.001 г тупроқдаги бактериялар сони.

X - 1 г тупроқдаги микроорганизмлар сони.

1 г тупроқдаги микроорганизмлар бу усулда аниқланганда жуда катта сон чиқади, чунки ҳисобга ўлик микроорганизмлар ҳам киради. Ўлик ва тирик микроорганизмларни фарқ қилмасдан ҳисобга олиш бу усулнинг камчилиги ҳисобланади.

СПИРТЛИ БИЖҒИШ

Маиғулотни ўтиш тартиби: Бижғиш қўзғатувчиларини морфологик хусусиятларини ўрганиш учун ҳар бир талаба мустақил равишда микробиологик препарат (мазок) тайёрлаб, метилен кўки билан бўйайди. Ачитки хужайраларида гликогенни топиш учун эзилган томчи препаратини Люголь билан тайёрлайди. Қандни бижғиш фоизини бригада усулида аниқланади. Тадқиқот натижаларини талабалар дафтарларига ёзиб борадилар.

Керакли асбоблар ва реактивлар: микроскоп, буюм ва коплағич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, шиша таёқчалар, бўёқлар (фуксин, метилен кўки) Люгол эритмаси, глюкозанинг 10% ли эритмаси, ачиткилар, колбалар, резина пробкалар билан, тарози ва тошлари, термостат.

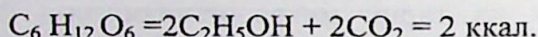
Микроорганизмлар ўсиши ва ривожланиши асосан ўзига азот сақламаган органик бирикмаларни парчаланишидан ажралган энергия ҳисобига амалга ошади. Фақат айрим бактерияларгина энергия манбаи сифатида куёш ёки минерал моддаларни оксидланишидан ҳосил бўлган энергиядан фойдаланадилар.

Микроорганизмлар энергияни бижғиш ва нафас олиш жараёнлари туфайли оладилар. Нафас олиш аэроб шароитида содир бўлиб, унда энергия тўлиқ ажралиб чиқади ва охириги маҳсулот CO_2 ва H_2O ҳосил бўлади.

Бижғиш натижасида энергетик маҳсулотдан энергия тўлиқ ажралмайди унда спирт, сут кислота, мой кислота ва бошқа моддалар ҳосил бўлади.

Спиртли бижғишда қанд парчаланиб, этил спирти ва CO_2 вужудга келади. Спиртли бижғишни ачитқи замбуруғлари, айрим бактериялар (*Sarcina ventriculi* ва бошқалар) ва мукор замбуруғлари келтириб чиқарадилар. Лекин амалий аҳамиятга эга бўлгани ачитқи замбуруғлари ҳисобланади.

Спиртли бижғиш - ачитқиларнинг анаэроб нафас олиши демакдир. Спиртли бижғиш формуласи шундай:



Ачитқилар - факультатив анаэроблар. Улар аэроб шароитда ҳам, анаэроб шароитда ҳам яшайверади. Ачитқилар чин ачитқи ва сохта ачитқилар деган оиллага бўлинади.

Чин ачитқилар оиласи икки гуруҳга бўлинади: маданий ачитқилар ва ёввойи ачитқилар. *Маданий ачитқилар* нон ёпиш, вино тайёрлаш корхоналарида ишлатиладиган ачитқилардан иборат бўлиб, *Saccharomyces* туркумига киради. Улар йирик, юмалоқ ёки чўзинчоқ бўлиб, куртакланиш йўли билан кўпаяди. Хужайраларда запас озиқ модда – гликоген (хайвон крахмали) бор. Ачитқи хужайраларидаги гликогенни аниқлаш учун “эзилган” томчи препарати куйидагича тайёрланади: буюм ойнасига сув ўрнига Люголь эритмасидан бир томчи томизилади, унга ачитқиларни аралаштириб, қоплагич ойна ёпилади. Ачитқи хужайраларидаги гликоген доналари қизғиш-қўнғир тусга киради. Пиво ёки хамир ачитқилари билан танишиш учун қуруқ мазок тайёрланади. Препарат метилен кўки билан бўялади.

Ёввойи ачитқилар табиатда кенг тарқалган, кўпинча корхона зараркунандалари ҳисобланади. Ёввойи ачитқилар чўзиқ бўлиб, куртакланиш ёки бўлиниш йўли билан кўпаяди.

Бойитилмаган муҳитларда ҳаво кислороди бўлганда ҳамма чин ачитқилар спорали халтачалар ҳосил қилади.

Сохта ачитқилар оиласи спорали халтачалар ҳосил қилмайди, фақат куртакланиш йўли билан кўпаяди, қандни салгина ачитади ёки бутунлай ачитмайди. Сохта ачитқилар оиласи икки туркумга бўлинади.

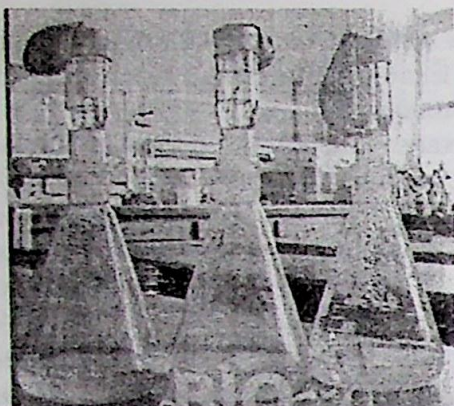
1. *Torula* - туркуми - юмалоқ ачитқилар бўлиб, қандни бижғитади, натижада бир озгина спирт ҳосил қилади. Улар табиатда кенг тарқалган сабзавотларда доимо бўлади.

2. *Micoderma* туркуми - чўзиқ хужайрали парда ҳосил қилувчи ачитқилардир. Улар қандни бижғитмай, CO_2 ва H_2O га қадар оксидлайди. Аэроблар суюқлик юзасида парда ҳосил қилади. Кўпинча озиқ овқат корхоналарининг (масалан, сирка тайёрлаганда, сабзавот тузланганда ва ҳоказо) зараркунандалари ҳисобланади.

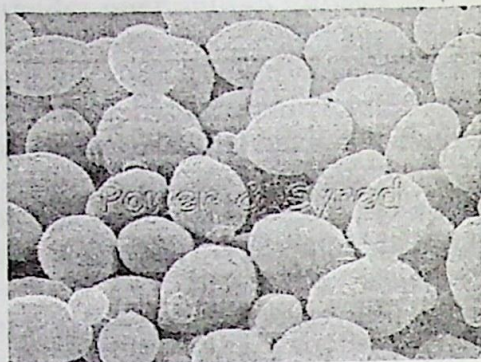
Спиртли бижғишда ачитқилар қандни парчалайди, амалда 50% CO_2 ва 50% этил спирти ҳосил бўлади.

Ачитки бир дақиқада қанча кўп қандни парчалаб, спирт ва CO_2 ҳосил қилса, уларнинг бижғитиш энергияси ўшанча кўпроқ бўлади. Бижғитиш энергиясини аниқлаш учун глюкозанинг 10% ли эритмасидан 50 мл олиб колбага қуйилади ва унга прессланган ачитқилардан 1-2 г дан солинади. Бижғиш жараёнини тезлаштириш учун колба 30-35°C сув ҳаммомига 1 соат қўйилади, сўнгра колбанинг оғзи эгри шиша най ўрнатилган каучук пробка билан маҳкам беркитилади, найнинг иккинчи учига сув тўлатилиб, сувли шиша идишга тўнтарилган пробирка ичига киритилади. 30-40 дақиқа ўтгандан сўнг, колбада ажралаётган карбонат ангидрид эгри шиша най орқали тўнтарилган пробиркага боради, пробиркада ҳаво пуфакчалари ҳосил бўлганини кўрамиз. Колбадаги бижғиётган суюқликда спирт ҳосил бўлади. Спиртли бижғиш жараёнини кузатишда махсус асбобдан фойдаланилади.

Қанд бижғиганда 50% CO_2 ва 50% спирт ҳосил бўлганлигидан, эритмадаги спиртнинг оғирлиги ҳавога учиб кетувчи CO_2 нинг оғирлигига тенгдир, яъни $g = e$. Бижғиган қанд оғирлиги CO_2 +спирт оғирлигига тенг, яъни $d = e + e$. Бинобарин, бижғиган қанд фоизини билмоқ учун қуйидагича ҳисоб қиламиз:



Спиртли бижғиш жараёнини
текшириш



Saccharomyces cerevisiae
ачитқиси

$$e = a - b; \quad z = e; \quad d = z + e;$$

$$X = \frac{d \times 100}{e};$$

Бунда,

a - қанд бижғигунча колбанинг оғирлигини;

b - қанд бижғигач колбанинг оғирлигини;

e - колбадаги қанднинг дастлабки оғирлигини;

e - ҳавога учиб кетган CO_2 нинг оғирлигини;

z - эритмадаги спиртнинг оғирлигини;

d - бижғиган қанд оғирлигини;

X - бижғиган қанд фоизини ифодалайди.

СУТ КИСЛОТАЛИ БИЖҒИШ

Маиғулоти ўтиш тартиби: Тузланган қарам сувидан, сут зардобидан ва сут маҳсулотларидан мазок тайёрлаб, сут кислотали бактерияларнинг морфологиясини ўрганиш ҳамда сут кислотали реакция сифати аниқланилади. Ҳар бир талаба сут кислота бактерияларини морфологик белгиларини кўриш учун мазок тайёрлайдилар. Сут кислота реакция сифатини аниқлаш учун бригада усулидан фойдаланадилар. Натижаларни дафтарларга ёзиб борилади.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Микроскоп, буюм ва коплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, шиша таёқчалар. Бўёқлар (фуксин ва метилен кўки) 1% ли фенол эритмаси, 0,2% мис купороси, эфир, FeCl_2 эритмаси.

Сут кислотали бижғишга сут кислотали бактериялари сабаб бўлади. Сут кислота бактериялари – факультатив анаэроблар, аммо улар анаэроб шароитни яхши кўради, шундай бўлгач, сут кислота ҳосил қилиб бижғиш - уларнинг анаэроб нафас олиши демакдир. Сут шу бактерияларнинг озикланиши учун қулай муҳитдир, чунки сутда шу бактерияларнинг ҳаёт фаолияти учун зарур қанд ва бошқа моддалар бор. Сут кислота бактериялари сутни бижғитар экан, бир талай сут кислотани ҳосил қилади. Шу сабабли қатикда сут кислотали бактериялари ва бир озгина ачитқилар бўлади. Булар учун ҳам муҳитнинг кислотали реакцияси қулайдир. Хом сут 30-35°C ҳароратда сақланса, сут кислота бактериялари сут кислотани ҳосил қилиши туфайли 10-12 соатдан кейин ачийди.

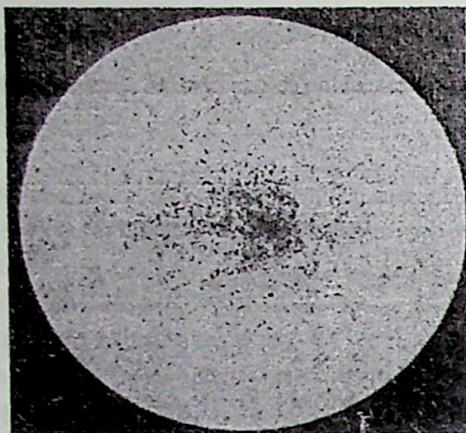
Сут кислота бактериялари икки гуруҳга бўлинади:

Типик сут кислота бактериялари - спорасиз, ҳаракатсиз, грамм-мусбат, факультатив анаэроб кокклар ва таёқчалардан иборат бўлиб, бир талай сут кислота ҳосил қилади. Сут маҳсулотларида ва ачитилган сабзавотларда кўп бўлади. Асосий вакиллари:

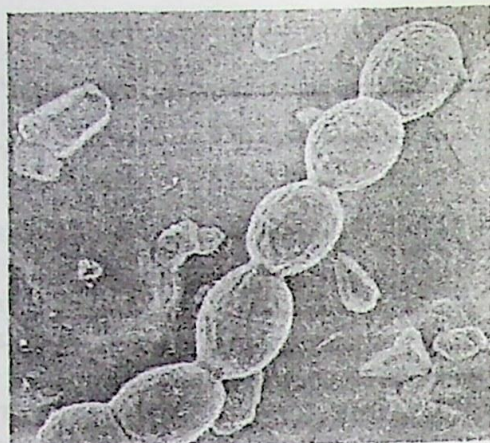
Сут кислота стрептококки - *Streptococcus lactis* сутда бўлади; **йирик сут кислота таёқчалари** - *Bact. bulgaricum* (булғор таёқчаси) булар ҳам сутда учрайди; сут кислотанинг майда таёқчалари - *Bact. cucumeris fermentati* - бодрингни ачитади ва *Bact. brassicae* - карамни бижғитади.

Бу бактериялар билан танишмоқ учун қатик ва сутдан ҳамда музлаган сабзавотлар сувидан препарат тайёрлаб қуритилиб спирт алангасида ёки Никофоров аралашмасида қотирилиб, метилен кўки ёки карбол фуксини билан бўялиб, микроскоп остида иммерсион объектив билан кўрилади. Спирт ва эфир микробларни ўлдиради, уларни ойнага ёпиштиради ва препаратни бўяшга ҳалал берадиган сут мойни эритиб юборади. Микроскопда кўрилган сут кислота бактерияларининг расми дафтарга чизилади. Муҳитда сут кислота борлигини аниқлашда асосан қуйидаги усуллардан фойдаланилади.





Streptococcus lactis нинг озиқа
муҳитдаги колонияси



Streptococcus lactis ни
микроскопдаги кўриниши



Сут кислотали бижғиш асосида олинadиган сут маҳсулотлари

1) қатикда сут кислота борлигини билмоқ учун Уффельман реакцияси ўтказилади. Бунинг учун бир фоизли фенол эритмасидан 5 мл олиб, кучсиз FeCl_2 эритмасидан бир неча томчи кўшилса, сут кислотанинг темирли тузи ҳосил бўлиши туфайли эритма сарғаяди.

2) сабзавотни ачитадиған сут кислота бактерияларини аниклаш учун тузланган бодринг ёки карам сувидан 1-2 мл олиб, филтрлаб ҳосил бўлган филтратга 5 мл сульфат кислота ва 10

томчи тўйинтирилган мис купороси эритмасидан кўшиб яхшилаб аралаштирилиб, 100°C иссиқ сув хаммомида 5 дақиқа сақлаб, сўнгра совитилади ва 1-2 томчи 0,2% тиофеннинг спиртдаги эритмасидан кўшилади. Агар филтратда сут кислота бўлса, филтрат тўқ кизил ранг ҳосил қилади.

Типик бўлмаган сут кислота бактериялари – спорасиз, ҳаракатчан грамм-манфий таёқчалардир. Улар қандни бижғитганда бир озгина сут кислота, сирка кислота CO_2 , H_2 ва бошқа моддалар ҳосил бўлади. Энг кўп учрайдиган вакили - ичак таёқчаси табиатда кенг тарқалган бўлиб сув, тупроқ, гўнгда, ҳайвон ва одам ичагида ва бошқа субстратларда учрайди.

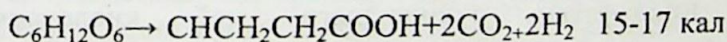
Типик бўлмаган сут кислота бактерияларининг бошқа хиллари ҳам кўп. Уларнинг баъзи хиллари жавдар унидан нон пиширганда ишлатилади.

МОЙ КИСЛОТАЛИ БИЖҒИШ

Маиғулотни ўтиш тартиби: Мой кислотали бактерияларнинг морфологияси ўрганилади ҳамда мой кислотали реакция сифати аниқланилади. Ҳар бир талаба мой кислота бактерияларини морфологик белгиларини кўриш учун препарат тайёрлайдилар ва бўяб микроскопда кўрадилар. Натижаларни дафтарларига ёзиб борадилар.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Микроскоп, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар, шиша таёқчалар. Бўёқлар (фуксин ва метилен кўки, Люголь), бўр кукуни, 5% ли FeCl_2 эритмаси.

Мой кислотали бижғиш - қанднинг анаэроб шароитда парчаланишидан мой кислота, CO_2 ва H_2 ҳосил бўлиши демакдир:



Мой кислотали бижғиш - мой кислота бактерияларининг анаэроб нафас олиши демакдир. Мой кислота бактерияларнинг ҳаммаси қатъий анаэроблар бўлиб, ҳаракатчан, спорали таёқчалардир.

Мой кислота бактерияларнинг электив культурасини олишда бир неча хил муҳитдан фойдаланилади. 1) хом картошка тўғраб

пробиркага солинади. Пробиркада анаэроб шароит яратиш учун устидан анчагина сув куйилади, ишкорий реакция ҳосил килиш учун бир оз бўр қўшилади, пробирканинг оғзи ёпилиб, спорасиз барча бактерияларни ўлдириш учун сув ҳаммомида 80-100°C да 10 дақиқа қизитилади. Сўнгра пробиркалар термостатга қўйилади. 2) 100 мл нўхат бульонига 2 г сахароза ёки крахмал, 0,5 г пептон, 0,5 г ош тузи, 2 г бўр қўшиб муҳит тайёрлаб, мой кислота бактерияларнинг электив культураси олинади. Бунинг учун 150-200 мл ли стерилланган колбага ярим чой қошиқда тупрок солинади. Тупрок устига 40-50 мл юқоридаги озикли муҳитдан солиб, колбани электроплитага 1-2 дақиқа қўйиб, спорасиз бактерияларни ўлдириш учун қайнатилади, сўнгра колбадаги муҳит 100 мл гача етказилади. Колбанинг оғзи эгри най ўтказилган каучук пробка билан беркитилади, сўнгра колбага ёрлик ёпиштириб 6-7 кун давомида 27-30°C термостатга қўйилади.

Мой кислота бактерияларининг электив культурасини текшириш. Термостатдаги картошка тўғраб солинган пробиркада ва колбадаги нўхат бульонида мой кислота ҳосил бўлади. Мой кислота ҳосил бўлганини газ ажралиб чиққанида биламиз. Пробиркадаги ва колбадаги бижғиган суюқликдан “эзилган” томчи усули билан тайёрланган препаратда дуг ёки “кlostридий” шаклидаги ҳамда барабан таёқчаси ёки “плектиридий” шаклидаги йирик ҳаракатчан спорали таёқчалар кўринади. Булар мой кислота бактериялардир. Уларда запас озик модда гранулёза бор. Бу модда крахмалга ўхшайди.

Гранулёзани аниқламоқ учун бижғиётган суюқликдан буюм ойнасига бир томчи томизиб, Люголь эритмасидан бир томчи қўшилади ва қолагич ойна ёпилади. Мой кислота бактериялари хужайраларининг протоплазмасидаги гранулёза йод таъсирида тўқ кўк тусга киради ва бутун таёқча кўк бўлиб кўринади, спораси эса таёқчанинг ўртасида ёки бир учида рангсиз бўлиб туради.

Бижғиётган суюқликдаги мой кислотани аниқлаш. Пробиркага бижғиётган суюқликдан 5 мл ва 5 фоизли темир III хлориддан 2 мл куйилади. Суюқлик қизитилганда мой кислотанинг темирли тузи ҳосил бўлиши туфайли жигар ранг тусга киради.

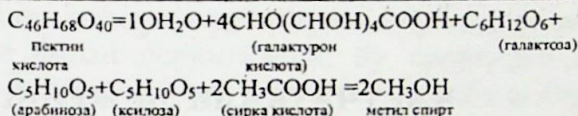
ПЕКТИНЛИ БИЖҒИШ

Маиғулолтии ўтиши тартиби: Пектин парчаловчи бактерияларнинг электив культураларини олиш учун талабалар бригада усулидан фойдаланадилар. Пектинли бижғиш кўзгатувчиларининг морфологиясини ўрганиш учун ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўрадилар. Натижаларни дафтарларга ёзиб борадилар.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Микроскоп, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, сомон таёқчалари, сув хаммоми, пинцетлар. Бўёқлар. Люголь эритмаси, катта пробиркалар, ип, қайчи.

Пектинли бижғиш - ўсимлик хужайраларини бир-бирига ёпиштирадиган модда (пектин) нинг гидролизланиб қанд ва бошқа моддаларни ҳосил қилиши, сўнгра шу қанднинг бижғиб, мой кислота CO_2 ва H_2 га парчаланишдан иборат. Бу жараён қуйидаги схемага мувофиқ боради.

ПЕКТИН КИСЛОТА ГИДРОЛИЗИ



Пектинли бижғиш табиатда учраб туради ва зиғир ёки каноп каби ўсимликларни ивитиш учун шу жараёндан фойдаланилади. Пектинни парчалайдиган бактерияларнинг электив культурасини олиш учун каноп поялари кичик боғ қилиб сувли пробиркага солинади, унда анаэроб шароит туғдириш учун устига кўпроқ сув қуйилади. Шундан кейин пробиркалар термостатда $25-30^\circ\text{C}$ ҳароратда 5-6 кун сақланади. Каноп пояларининг сиртида пектинни парчалайдиган бактериялар бор, улар сувда кўпайиб, поя хужайраларини ёпиштирадиган пектинни парчалайди, яъни канопни иватади.

Пектинни парчалайдиган бактерияларнинг электив культурасини текшириш. Ивитиладиган каноп парчасидан тайёрланган препаратда пектинли бижғиш сабабчилари - барабан таёқчасига ўхшайдиган йирик таёқчалар кўринади. Бошқа мой кислота таёқчалари каби, улар ҳам йод таъсирида қўқ тусга киради.

Пектин бижғишга сабаб бўладиган бактериялардан асосийлари *Clostridium pectinovorum* ва *Clostridium felsineum* бўлиб, улар кўпроқ учрайди.

Гранулёзани аниқлаш учун ивителиётган каноп поядан “эзилган” томчи тайёрлаб, унга худди мой кислота бактерияларини аниқлашдаги каби Люголь эритмаси қўшилади. Бу бактерияларни мукамалроқ текшириш учун курук мазок тайёрлаб, фуксин билан бўялади. Аэроб шароитда пектин моддасини бактериялардан *Bacillus mesentericus* ва замбуруғлардан *Mucor stolonifer* бижғитади. Анаэроб шароитда эса юқорида номлари кўрсатилган типик пектин парчаловчи бактериялар бижғитади. Пектинли бижғишни кўзгатувчи бактериялар морфологик хусусиятларга караб, бир-биридан фарқ қилади: *Clostridium pectinovorum* - катталиги 10-12 микрон бўлиб, спора ҳосил қилганда барабан таёқчасига ўхшайди. Танасида гранулёза узук узук бўлиб жойлашган. Бу микроорганизмни С.Н.Виноградский 1885 йилда топган. *Clostridium felsineum* катталиги 3 - 6 микрон бўлиб, таёқча шаклини эслатади, спораси танасининг охирига жойлашган бўлиб ва уни 1916 йилда Карбоне топган.

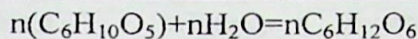
КЛЕТЧАТКАЛИ БИЖҒИШ

Машигулотни ўтиши тартиби: Клетчаткали бижғишни кўзгатувчиларининг электив культураларини олиш учун талабалар гуруҳларга бўлиниб ўрганадилар. Клетчаткали бижғишни кўзгатувчиларининг морфологиясини ўрганиш учун ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўради. Натижаларни дафтарларга чизиб боради.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Микроскоп, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, шиша найчалар, пипетка, тупроқ, балчик ёки гўнг, фильтр қоғоз.

Клетчатканинг бижғиши шундан иборатки, клетчатка қандларга парчаланади. Сўнгра шу қандлар бижғишидан мой кислота, сирка кислота, CO_2 , H_2 ва CH_4 ҳосил бўлади. Барабан таёқчасига ўхшайдиган, спорали анаэроб ҳаракатчан таёқчалар шунга сабаб бўлади. Бу жараён қуйидаги схемага мувофиқ боради:

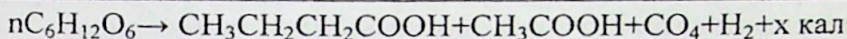
Клетчатка гидролизи



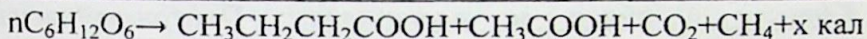
водород ҳосил қилиб



метан ҳосил қилиб бижғиш



Реакция *Bact. cellulosaе hydrogenicus* иштирокида боради.



Реакция *Bact. cellulosaе methanicus* иштирокида боради.

Клетчаткани бижғитадиган бактерияларнинг электив културасини олиш. Целлюлозани бижғитадиган анаэроб бактерияларнинг электив културасини олиш учун колба тубига фильтр қоғозни қўйиб, аэроб шароит яратиш мақсадида бўғзигача Имшенецкийнинг махсус озикли муҳити қўйилади, колбанинг оғзи резина пробка билан беркитилади; бу пробкадан газлар чиқиб туриши учун шиша найча ўтказилган. Колбага бир оз тупрок, балчиқ ёки гўнг солинади ва термостатга қўйилади. 1-3 ҳафтадан кейин қоғоз шилимшиқ билан қопланиб, парчаланиб кетади, яъни тупроқнинг клетчаткани бижғитадиган анаэроб бактериялари қоғозни эритиб юборади. Муҳитнинг электив эканлиги шундан иборатки, унда анаэроб шароит бор, унда клетчатка бирдан бир карбонат ангидрид манбаи ҳисобланади.

Клетчатка сувда эримади ва фақат целлюлоза бактериялари таъсир этгандагина парчаланadi.

Клетчаткани бижғитадиган бактерияларнинг электив културасининг текшириш. Препарат тайёрлаш учун колба тубидан пипетка билан суюқлик олинади ёки клетчаткадан бир парча олиб, ойнанинг устида эзилади, шундан кейин препарат оддий усул билан фиксация қилиб бўялади. Шундай препаратда клетчаткани бижғитувчи бактериялар барабан таёқчасига ўхшаб кўринади.

АММОНИФИКАЦИЯ ЖАРАЁНИ

Маишгулотни ўтиши тартиби: Талабалар гуруҳларга бўлиниб, аммонификация жараёнини юзага келтирувчи аэроб ва анаэроб сифатли тажриба қўядилар. Улар аэроб *Bacillus mycoides* ва анаэроб *Bacillus putrificus* гуруҳига кирувчи аммонификатор микроорганизмларнинг морфологияси билан танишадилар.

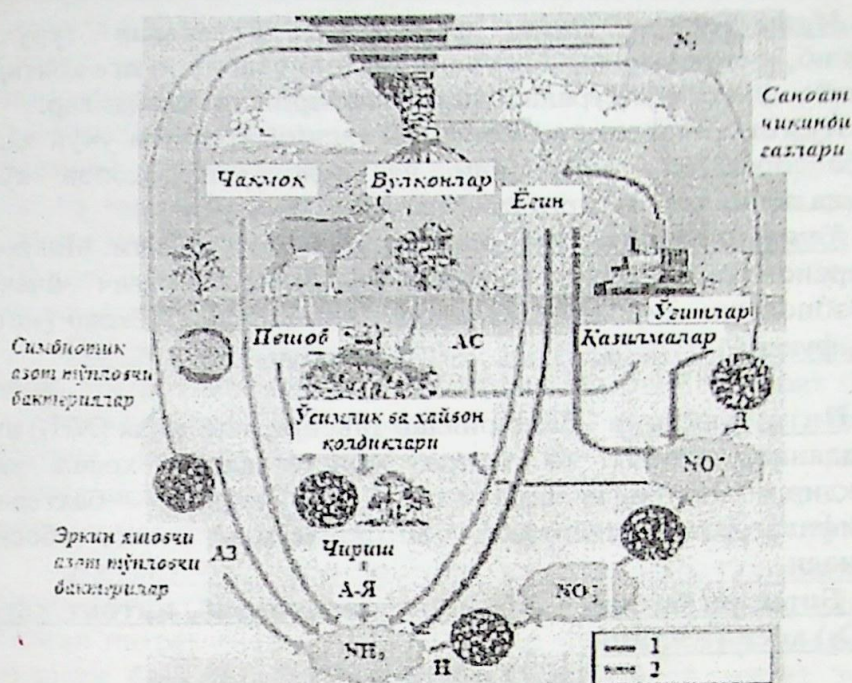
Қўзгатувчиларнинг морфологиясини ўрганиш учун ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўради. Натижаларни дафтарларга ёзиб борадилар.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Пептон-қайнатмаси. Микроскоп, иммерсион мой, фильтр қоғозлар, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин), қизил лакмус қоғози, тупрок.

Аммонификация – оксиллар ва азотнинг бошқа органик бирикмаларининг аммиак (NH_3) гача парчаланиши демакдир. Баъзи аммонификаторлар оксилларни парчалаганда NH_3 дан ташқари, H_2S билан индол ҳам ҳосил бўлади. Оксилларнинг аммонификация қилиниши аммонификаторлар ёки чиритувчи бактериялар ёрдамида боради. Аммонификаторларнинг кўпчилиги аэроб бўлади. Аэроб аммонификаторларнинг спорали ва спорасиз турлари бор. Анаэроб аммонификаторларнинг аксариси спорали таёқчалардир. Аммонификаторлар табиатда кенг тарқалган. Улар ҳавода, сувда, ҳар хил озиқ-овқатда ва органик қолдиқларда учрайди; улар тупроқда айниқса кўп, аэроб турлари ҳам бўлади.

Аммонификаторларнинг электив културасини олиш. Аммонификаторларнинг электив културасини олиш учун 100 мл сиғимли колбаларда 3% ли пептон эритмаси 50 мл дан қўйилади. Пептон эрийдиган оксилдир. Колбага аэроб ва анаэроб аммофикаторлар бўлган тупроқдан 0,5 г солиб, оғзи пахта билан беркитилади, шу пробканинг тагига 3 та маҳсус қоғозча осиб қўйилади. NH_3 ва H_2S чиқаётганлиги шу қоғозчада билинади. NH_3 чиқаётганлигини билиш учун қизил лакмус қоғози осилади. Бу қоғоз NH_3 тасирида кўкаради. H_2S чиқаётганлигини билиш учун кўрғошин ацетат эритмасига ҳўлланган фильтр қоғоз осиб қўйилади. Бу қоғоз H_2S таъсирида қораяди.

Азотни табиатда айланиш схемаси



АЯ-аммонификация; АС-ўсимлик ва микроорганизмлар ассимиляцияси; АЗ-азотфиксация; Д-денитрификация; Н-нитрификация

Аммонификаторларнинг электив културасини текшириш. Пробка тагига осиб қўйилган қоғозчалар кўздан кечирилиб, NH₃ ва H₂S чиққан ёки чиқмаганлигини билинади. Сўнгра идишнинг юқори қисмидаги ва тубидаги суяқликдан бўялган мазок тайёрланади. Идишнинг юқори қисмидаги суяқликдан тайёрланган мазокларда асосан аэроб аммонификаторлар, спорали ва турли узунликдаги спорасиз ингичка таёқчалар учрайди.

Идиш тубидаги суяқликдан тайёрланган мазокларда кўпинча барабан таёқчаси шаклидаги анаэроб аммонификаторларнинг спорали таёқчалари *Bact. putrificus* учрайди.

НИТРИФИКАЦИЯ

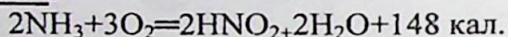
Машигулони ўтиши тартиби: Талабалар гуруҳларга бўлиниб, нитрификатор йиғувчи бактерияларни юзага келтирувчи тажриба қўйиб, културалардан нитратларни аниқлайдилар.

Қўзғатувчиларининг морфологиясини ўрганиш учун ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўради. Натижаларни дафтарларга ёзиб ва чизиб борадилар.

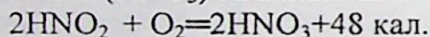
Керакли асбоблар ва реактивлар: Озика муҳити. Микроскоп, иммерсион мой, фильтр қоғозлар, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин), тупрок.

Нитрификация - бактериялар таъсирида аммиак (NH_3) нинг оксидланиб, нитрит ва нитрат кислоталарни ҳосил қилиш демакдир. Нитрификация сабаб бўладиган бактериялар нитрификаторлар дейилади. Нитрификация икки босқичга бўлинади:

Биринчи босқич - NH_3 нинг оксидланиб, нитрит кислота (HNO_2) ҳосил қилиш:



Бу жараён нитроз бактериялар ёрдамида боради. Нитрификациянинг иккинчи босқичи - нитрит кислотанинг оксидланиб, нитрат кислота (HNO_3) га айланиши:



Иккинчи босқичда нитрат бактериялар иштирок этади.

Нитроз бактерияларнинг вакили - чўзинчоқ, спорасиз ва ҳаракатчан микробдир. Нитрат бактерияларнинг вакили - калта, спорасиз ҳаракатчан таёқчадир. Нитроз бактериялар катъий аэроб ва катъий прототроф микроблардир, чунки улар фақат минерал моддалар билан озиқланади. Улар углеродни CO_2 дан олади ва хемосинтез ёрдамида озиқланади, яъни озиқланиш учун зарур энергияни аорганик моддалар - аммиак ёки нитрит кислотани оксидлаш йўли билан олади. Нитрификаторларнинг электив культураларни олиш учун зарур минерал тузлардан синтетик озиқли муҳит тайёрланади. Нитроз бактерияларнинг электив культурасини олиш учун Виноградский ва Омелянский муҳитига аммоний сульфат қўшилади. Аммоний сульфат - азот билан озиқланиш ва кислород билан нафас олиш манбаидир. Нитрат

бактерияларнинг селектив културасини олиш учун минерал озиқли муҳитга аммоний сульфат ўрнига натрий нитрит қўйилади. Натрий нитрит азот билан озиқланиш ва кислород билан нафас олиш манбаидир. Аэроб шароит яратиш учун иккала муҳит айрим-айрим Эрленмейер колбаларига юпқа қатлам қилиб 30 мл дан қўйилади, ишқорий реакцияни вужудга келтириш учун бир оз бўр қўйилади, сўнгра нитрификаторлар бўлган тупроқ бўлакчалари ташланади. Нитроз бактериялар билан нитрат бактериялар углеродни ҳаводаги CO_2 дан олади. Селектив муҳитлар қўйилган ва тупроқ бўлакчалари ташланган колбалар термостатга қўйилади.

✓ **Нитроз бактерияларнинг селектив културасини текшириш.** Нитроз бактериялар таъсирида аммоний сульфат $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ дан ҳосил бўлган нитрат кислота (HNO_3) бор йўқлиги аниқланади. Нитрит кислота озиқли муҳит томчисига шу реактивдан қўшилганда пушти тусга киради. Озиқли муҳитдан тайёрлаб бўйланган мазокда чўзинчоқ *Nitrosomonas* хужайралари кўринади.

✓ **Нитрат бактерияларнинг селектив културасини текшириш.** Нитрат бактериялар таъсирида нитрит кислотадан ҳосил бўлган нитрат кислота (HNO_3) бор йўқлиги аниқланади. Нитрат кислота бор йўқлигини билиш учун озиқли муҳит томчисига H_2SO_4 +дифениламин томчиси қўйилади. Нитрат кислота (HNO_3) бўлса, суюқлик кўк тусга киради. Озиқли муҳитдан тайёрланган препаратда кичкина *Nitrobacter* таёкчалари кўринади.

ДЕНИТРИФИКАЦИЯ

Машигулотни ўтиш тартиби: Талабалар гуруҳларга бўлиниб, денитрификатор йиғувчи бактерияларни юзага келтирувчи тажрибалар қўйиб, културалардан нитратларни аниқлайдилар. Қўзғатувчиларининг морфологиясини ўрганиш учун ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўради. Натижаларни дафтарларга ёзиб ва чизиб борадилар.

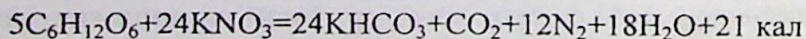
Керакли асбоблар ва реактивлар: Озиқа муҳити. Микроскоп, иммерсион мой, фильтр қоғозлар, буюм ва қопағич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин), тупроқ. Тарози тошлари билан. Дифениламин. Колбалар.

Денитрификация - нитрат кислота (HNO_3) нинг қайтарилиб, нитрит кислота (HNO_2) ва эркин азот (N_2) ҳосил қилиши демакдир. Бу жараён фақат анаэроб шароитда юзага чиқади. Улар анаэроб шароитда ҳаводаги кислород ўрнига нитрат кислотадаги кислороддан нафас олади, айти вақтда шу кислород билан қанд ва органик кислоталарни оксидлайди. Бу бактериялар денитрификаторлар дейилади.

Денитрификаторларнинг электив културасини текшириш. Денитрификацияда нитрат кислота қайтарилиб, нитрит кислота ва эркин азот (N_2) ҳосил бўлади. Шу сабабли денитрификацияда эритмадан нитрат кислота йўқолиб, нитрит кислота вужудга келади ва газ ҳосил бўлади. Бу куйидаги реакциялардан маълум бўлади: колбадан олинган суюқлик томчисига H_2SO_4 билан дифениламин аралашмасидан иборат реактив қўшилади. Нитрат кислота (HNO_3) бўлса, суюқлик кўк тусга киради, бўлмаса суюқлик ранги ўзгармайди.

Нитрат кислота (HNO_3) ўрнига нитрит кислота (HNO_2) пайдо бўлганлиги Грисс реактивидан бир томчи қўшилганида пушти тусга киради.

Препарат тайёрлаш учун колба тагидаги суюқликдан пипетка билан бир томчи олинади. Денитрификаторлар културасидан тайёрланган препаратда денитрификация бактерияларни майда ингичка таёқчалар шаклида кўриш мумкин. Табиатда учрайдиган денитрификация бактериялари бир неча хил бўлиб, улар тупрокда, айниқса нам, органик парчаланмаган қолдиқларга бой бўлган тупрокда ва балчикда кўп учрайди. Буларга *Bact. denitrificans* спора ҳосил қилмайдиган факультатив анаэроб ҳаракатчан, катталиги 0,3 микронгача бўлган майда таёқчалар киради. *Achromobacter stutzeri* ҳамда майда таёқча бўлиб, препаратда занжирга ўхшаб тузилган ҳолатда кўринади. Тупрокда учрайдиган денитрификация бактерияларининг нитратни қайтариб эркин азот ҳосил қилиш жараёни куйидагича боради:



АЗОТ ТЎПЛАШ

Мангудонни ўтиши тартиби: Эркин ҳолда яшовчи азотфиксаторларнинг (*Azotobacter*, *Clostridium*) морфологиясини ўрганилади. Турли дуккакли ўсимликларнинг *Rhizobium* туганак бактерияларидан мазок тайёрлаб, микроскопда кўрилади.

Қўзғатувчиларнинг морфологиясини ўрганиш учун ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўришади. Натижаларни дафтарларга ёзиб ва чизиб борилади.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Дуккакли ўсимлик илдизи, Озиқа муҳити. Микроскоп, иммерсион мой, филтр қоғозлар, буюм ва коплағич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар, Бўёқлар (метилен кўки, фуксин), тупроқ, тарози, колбалар.

Тупроқдаги азотнинг умумий балансида микроорганизмлар томонидан ассимиляция қилиниши муҳим аҳамиятга эга. Азотни тупроқда фиксацияланиб қолишида бактерияларни аҳамияти алоҳида ҳисобланади. Чунки улар ҳаво таркибидаги молекуляр азотни ўзлаштириб, тупроқни боғлаган азот билан бойитади.

Ҳаводаги молекуляр азотнинг биологик усулда тупроққа йиғилиши қишлоқ хўжалигида катта аҳамиятга эга. Атмосфера ҳавосининг 70% и эркин азотдан иборат. Атмосферадаги азот захирасидан ўсимлик тўла фойдалана олмайди. Ҳаводаги азотни ўзлаштириб, уни ўсимлик озиклана оладиган ҳолга келтирадиган алоҳида микроорганизмлар бор. Азотнинг микроорганизмлар томонидан йиғилиши табиатдаги азотнинг айланишида ҳал қилувчи бўгин ҳисобланади. Бундай микроорганизмлар азотфиксаторлар дейилади.

Профессор Е.Н.Мишустиннинг маълумотларига кўра, азотфиксаторлар йил давомида ер қуррасидаги экин экиладиган ерларда, барча мамлакатлардаги кимё заводларининг етказиб берадиган азотидан 7 баробар кўп азот тўплайди. Агар экин экиладиган ерларига ҳисоб қилганда азотфиксаторлар бир йил мобайнида 1-1,5 млн тоннага яқин азот тўплайди. Демак, қишлоқ хўжалиги мутахассислари микроорганизмларнинг физиологик хусусиятлари ва ривожланиш қонуниятларини синчиклаб ўрганишлари деҳқончиликда ҳосилдорликни оширишдаги омиллардан бири ҳисобланади.

Симбиотик азотфиксаторлар. Булар тугунак бактериялар бўлиб, дуккакли ўсимликлар билан симбиоз ҳолатда яшайди ва ҳаводаги азотнинг тупроққа йиғилишига ёрдам беради. Тугунак бактериялар дуккакли ўсимликларнинг илдизидида яшашга ва ривожланишга мослашган. Ҳозирги вақтда олимлар тугунак бактерияларнинг 16 тур хиллари аниқланган. Булар бир-бирларидан морфологик, физиологик ва культурал хусусиятларига қараб фарқланади. Ҳар қайси тугунак бактерия дуккакли ўсимликлар илдизидида яшашга мослашган. Нўхат, мош, беда, ловия, себарга, нут, люпина ва бошқа дуккакли ўсимликлар билан симбиоз ҳолатда яшаб, азот тўплайди.

Тугунак бактериялари ўзининг фаоллиги ва тупроқдаги азот тўплаш қобилиятига қараб ҳам бир неча хилга бўлинади. Тугунак бактерияларнинг фаол формаси дуккакли ўсимликлар илдизидида ҳосил қилган тугунаклари одатда катта, усти текис, пушти рангли бўлади. Тугунак бактерияларнинг ривожланиш жараёни жуда мураккаб бўлади. Ривожланишнинг бошланғич даврида улар ҳаракатчан, майда таёқча шаклида бўлиб, сўнгра ўзларининг шакллариини ўзгартириб, белбоғли йирик таёқча бактериоидларга айланади, яъни ўзларининг таналарида шохчалар ҳосил бўлади.

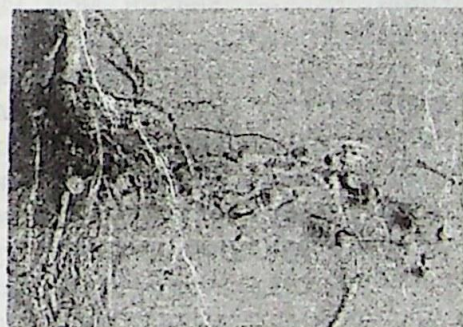
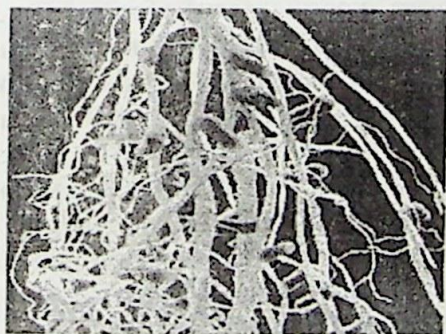
Тугунак бактериялар хужайрасининг катталиги 1 микрондан 4-5 микронгача, оптимал яшаш ҳарорати 25-28°C бўлиб, 60-70°C да ўлади, 15-19 °C совуқда ривожланишда тўхтамайди. Муҳитнинг реакцияси бетараф бўлса, тугунак бактериялар яхши ривожланади. Ўсимликлар гуллаганда дуккакли ўсимлик илдизидидаги тугунакларнинг фаоллиги ошади. Тугунак бактериялар тупроқдан дуккакли ўсимликлар илдизига илдиз тукчалари орқали ўтиб илдизда тугунаклар ҳосил бўлади.

Тугунак бактерияларни аниқлаш. Бунинг учун бир неча хил усулдан фойдаланилади,

1. Тугунак бактерияларнинг морфологиясини аниқлаш учун дуккакли ўсимликлар илдизидан тугунак олиб, у стерилланган сувда ювилиб, буюм ойнаси устида эзилади, ҳосил бўлган ширадан препарат тайёрлаб фуксин ёки метилен кўки билан бўяб микроскоп остида кўрилади. Агарда тугунак бактерияларининг ҳаракатини аниқлаш керак бўлса, буюм ойнаси устига бир томчи стерилланган сув томизилиб, тугунак эзилади, ҳосил бўлган шира устига қоплағич ойна ёпилиб, микроскоп орқали қаралса, ҳаракатчан майда таёқчалар борлиги аниқланади.

2. Тугунак бактерияларининг тоза культурасини ажратиб олиш учун куйидаги озикли мухитдан фойдаланилади. Тугунак бактерияларини ундириш учун нўхат ёки ловиядан тайёрланган қайнатма озик мухити сифатида олинади. Қайнатма куйидаги усулда тайёрланади: 100 мл сувга 10 г нўхат ёки ловия солиниб, дуккаклари ёрилгунча (30-40 дақиқа) қайнатилади ва стерилланган колбага филтрдан ўтказиб қўйилади. Филтрланган суюқликнинг ҳажми камайган бўлса, яна 100 мл гача етгунча стерилланган сув қўшилади, сўнгра реакцияси аникланади. Одатда реакцияси нейтрал бўлиши керак. Ҳосил бўлган нўхат қайнатмасига шакар ва 2 г агар-агар қўшилиб эритилади. Тайёрланган мухит Петри ликобчаларига куйилиб қотирилади. Сўнгра дуккакли ўсимликлар тугунакларидан сиқиб олинган шира экилади. Ликобчалар бир неча кун давомида 25-30°C термостатда сақланади. Сўнгра озик мухит юзасидаги униб чиққан колониялардан препарат тайёрлаб синька, фуксин ёки Грамм усулида бўялиб, микроскопда кўрилади. Мухит устида униб чиққан тўпламлар оқиш майда шилимшиқ бўлади.

Эркин ҳолда яшайдиган азотфиксаторлар. Эркин ҳолда яшайдиган азотфиксаторларга *Azotobacter chroococcum* - азотфиксатор ва анаэроб азотфиксатор *Clostridium pasteurianum* киради. Азотобактериялар тупроқда эркин яшаб, ҳар гектар ерга 15-30 кг азот тўплашдан ташқари, яна бошқа хусусиятлари бор. Масалан, ўсимликлар ўсиши учун ауксин типидagi ўсиш факторини ҳосил қилиб, ризосфера микробларининг яхши ривожланишига ёрдам беради.



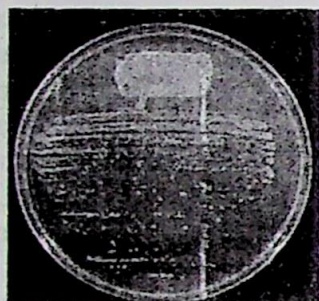
Дуккакдош ўсимликлар илдизидagi тугунаклар



Rhizobium leguminosarum



Azotobacter chroococcum



Rhizobium колониялари



Туганак бактериялар
асосида олинган
Нитрагин препарати



Эркин ҳолда яшовчи
азотфиксаторлардан
олинган Азотобактерин

Иккала азотфиксатор азот тўплаш учун энергияга мухтож бўлади. Улар қандни оксидлаб ёки бижғитиб шундай энергия олади. *Azotobacter* - аэроб бўлади, шунинг учун у қандни ҳаво кислороди билан оксидлайди. Пастер клостридийи - анаэробдир, шунинг учун у қандни мой кислота ҳосил қилиб бижғитади. *Azotobacter* нинг тупроқдаги электив културасини олиш учун тупроққа 2% ли маннит қўшиб аралаштирилади, лой қуюқ хамир холига келгунча сув қўшиб қорилади, шу лой Петри ликобчасига солиниб, ҳўл шпатель билан ёйилади ва термостатга қўйилади. Маннит энергия манбаидир. Маннит борлиги туфайли азотобактер ялтироқ, тиниқ шилимшиқ колониялар шаклида ўсиб чиқади. Пастер клостридийининг электив културасини олиш учун тупроққа 1% ли глюкоза ва сув қўшиб, атала қилинади. Шу тупроқ аталаси Петри ликобчасига солиниб, термостатга қўйилади.

Clostridium pasterianum учун тупроққа азотобактердагига нисбатан кўпроқ сув қўшамиз, чунки тупроқда сув қанча кўп бўлса ҳаво шунча кам бўлади, яъни анаэроб шароит вужудга келади.

Пастер клостридийи анаэроб бўлиб, тупрок ичида ўсади. У қандни бијғитиб газ ҳосил қилади, шу сабабли унинг ривожланаётганлиги газ пуфакчалари пайдо бўлганлигидан билинади, газ пуфаклари тупрокни кўтариб, дўмбоқчалар пайдо қилади.

Эркин ҳолда яшайдиган азотфиксаторларнинг тупрокдаги электив культураларини текшириш. Маннитли тупрок пластинкаларида азотобактернинг тиниқ шилимшиқ капсуласи билан ўралган йирик диплококлар ва тетракоклар кўринади.

Глюкозали тупрок пластинкалари каппайиб чиқади. Пластинканинг қаварган жойидаги тупрокнинг юза қаватини микробиологик сиртмоқ билан кўтариб, ости бўш бўлиб қолганини аниқлаймиз. Глюкозанинг ачишидан ҳосил бўлган газлар шундай бўшлиқни вужудга келтиради. Шу жойдан сиртмоқ билан тупрок донасини олиб, куруқ мазок препарат тайёрлаймиз. Препаратни эритрозин билан бўяймиз. Пластинкаларнинг қаварган жойидан тайёрланган препаратда Пастер клостридийининг лимонга ўхшаш йирик спорали ҳужайралари кўринади.

Туганак бактериялари билан танишиш

Rhizobium туркумига кирувчи бактерия турлари 1300 турга мансуб дуккакдошларга кирувчи ўсимликларда туганакларни ҳосил қилади. Ўсимлик илдиз тўқимасига тушган туганак бактериялари инфекцион ипчалар ҳосил қилиб меристема тўқимасига етиб борганидан сўнг жадал бўлина бошлайди ва бу ерда туганакларни ҳосил қилади. Натижада ўсимлик ва бактерия ўртасида модда алмашилиши содир бўлади. Ўсимлик бактерияни углевод ва минерал моддалар билан таъминласа, бактерия ўз навбатида ўсимликни 70% гача ассимиляцияланадиган азот билан таъминлайди. Турли дуккакли ўсимликларнинг илдизида бу туганаклар турли шакл ва ўлчамда бўлади. Уларнинг ўлчами асосан тарик катталигидан ёнғоқ мевасининг катталигича бўлиши мумкин.

Туганак бактерияларни соф культурасини олиш учун дуккакдошларга мансуб экин турини биронтасини (мош, ловия, нўхат ва бошқалар) олиб, унинг илдизи водопровод сувида яхшилаб ювилади ва бир нечта йирик туганаклар қирқиб олинади. Бу туганаклар 3-4 марта стерил сувда чайилади ҳамда уларни 0,1% ли сулема эритмаси солинган Петри ликобчасига ботириб, 5 дақиқа давомида чайқатилади. Сўнгга бу туганаклар Петри ликобчасидаги стерил сувга солинади ва унда ҳам 5 дақиқа ушлаб турилади ҳамда

спирт солинган Петри ликобчасига 1 дақиқа давомида солиб қўйилади. Туганаклардаги спирт алангада ёндириб йўқотилади. Кейин стерил пинцет ёрдамида туганаклар стерил Петри ликобчасига кўчирилади ва стерил скапель пичоғи ёрдамида бўлақларга ажратилади. Бактериологик илгак ёрдамида туганакнинг бир бўлақчасини Петри ликобчасидаги озиқа муҳит сиртидаги бир томчи сувга қўшилади ва шпатель ёрдамида озиқа муҳити юзасига бир текис қилиб суртилади. Туганак бактерияларини соф культурасини олишда қуйидаги озиқа муҳитларидан фойдаланилади:

Фреда озиқаси

Маннит (сахароза ёки глюкоза)	10 г
KH_2PO_4	0,5 г
MgSO_4	0,2 г
NaCl	0,1 г
CaCO_3	3 г
Ачитқили сув (pH 6,8)	100 мл
Агар-агар	15 г
Дистилланган сув	0,9 л

Дуккакли агар

Дуккакли дон қайнатмаси	1000 мл
KH_2PO_4	1 г
MgSO_4	0,3 г
Агар-агар	15 г

Дуккакли дон қайнатмасини тайёрлаш учун 50 г (мош, ловия, нўхат, оқ фасол) дон солинган идишга 1 л водопровод сувидан солинади ва сиртидаги пўстлоғи шишиб ёрилгунча қайнатилади, лекин дон шишиб кетмаслиги керак. Қайнатма пахта ёки дока орқали ўтказиб филтрланади ва унга водопровод сувидан 1 л бўлгунча қўшилади, сўнгра унга озиқа муҳити таркибига кирувчи қолган компонентлар қўшилади.

Юқоридаги озиқа муҳитларини pH ини 7 гача сода қўшиш йўли билан келтирилади. 0,5 атм босим, 120°C ҳароратда 30 дақиқа стерилланади. Бу озиқа муҳитида туганак бактериялари стеарин томчисига ўхшаш оқиш, хира, шилимшиқ колониялар ҳосил қилади.

Петри ликобчасида юзага келган колониялардан соф культуралар ажратиб олинади. Бу культуралар Фред ёки дуккакли агар озиқа мухити солинган қия агарли пробиркаларга экилади.

Таркиби юкорида келтирилган озиқа мухитларидан ташқари туганак бактериялари куйидаги озиқа мухитларида ҳам яхши ўсади:

Лазарева озиқаси

KH_2PO_4	0,5 г
MgSO_4	0,2 г
NaCl	0,2 г
MnSO_4	0,005 г
NH_4MoO_4	0,002 г
Маннит ёки сахароза	10 г
Ачитқили сув	100 л
Агар-агар	1,5 %
Сув	0,9 л

Норрис озиқаси

K_2HPO_4	0,5 г
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,8 г
NaCl	0,2 г
FeCl_3	0,01 г
Маннит	10 г
Янги тайёрланган ачитқи (дрожжа) экстракти	100 мл
сув	0,9 л
pH	7,2

Секин ўсувчи туганак бактериялар (соя, люпин) учун куйидаги озиқа мухити тавсия қилинади:

Маннит ёки сахароза	10 г
K_2HPO_4	0,5 г
MgSO_4	0,2 г
NaCl	0,1 г
Глюконат кальций	1,5 г
FeCl_3	0,01 г
Ачитқи экстракти	2 г
Сув	1 л
Агар-агар	20 г

ОЛТИНГУГУРТ ВА ТЕМИР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Маишулотни ўтиш тартиби: Олтингургурт ва темир бактерияларнинг морфологиясини ўрганадилар. Олтингургурт бактерияларини соф культурасини ажратилади. Темир бактерияларнинг морфологиясини ўрганиш учун Виноградекий ва Лиск озиқа муҳитларидан фойдаланилади. Ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўрилади. Натижаларни дафтарларга ёзиб ва чизиб борилади.

Керакли асбоб ва реактивлар: Микроскоп, иммерсион мой, фильтр қоғозлар, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Озиқа муҳит. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин), тупроқ. Тарози ва тошлари. Колбалар.

Олтингургурт бактериялари табиатда жуда кўп тарқалган бўлиб, уларни тупроқда, ботқоқлик жойларда, кўл сувларида учратиш мумкин. Улар тупроққа ўсимлик ва ҳайвонларнинг турли хил қолдиқлари билан тушади. Бу қолдиқларнинг тупроқда парчаланиши натижасида H_2S ажралиб чиқади. H_2S нинг ажралиб чиқиши тупроқдаги оксилнинг парчаланишига боғлиқ. Бунинг сабаби оксил таркибида ҳар турли аминокислоталар бўлади. Тупроқдаги оксилларни чиритувчи бактериялар парчалаб водород сульфид ҳосил қилади. Ҳосил бўлган H_2S олтингургурт бактериялари таъсирида оксидланиб, пировардида олтингургурт, сульфат кислота ва сув ҳосил бўлади. Табиатда олтингургурт бактерияларининг аҳамияти катта. Масалан, олтингургурт бактериялари сувда тўпланган заҳарли водород сульфидни оксидлаб сувни ва атроф муҳитни тозалайди ва шунингдек, қишлоқ хўжалигида тупроқдаги ўсимлик ўзлаштира олмайдиган олтингургуртни оксидлаб, ўсимлик ўзлаштира оладиган ҳолга келтирилади. Олтингургурт бактериялари асосан икки гуруҳга бўлинади. 1) рангсиз, 2) рангли олтингургурт бактериялари.

Рангсиз олтингургурт бактерияларининг диаметри 50 микронгача бўлади, улар бир ва кўп хужайрали бўлиб тион бактериялари дейилади. Улар ипсимон бўлиб, махсус шилимшиқ ёстиқчалар ёрдамида сув остидаги ҳар хил нарсаларга ёпишиб ётади. Рангли олтингургурт бактериялари пигмент ҳосил қилувчи олтингургурт бактериялари дейилади. Уларнинг хужайраларида

махсус пигментлар бўлади, шунинг учун ҳам улар бактериопурпурин номини олган. Пурпур бактериялари водород сульфидни сульфат кислотасигача оксидлайди. Қизил пигментли олтингугурт бактериялари икки усулда органик моддаларни синтез қилади. Хемосинтез ва фотосинтез. Олтингугурт бактерияларининг шакли бошқа бактериялардан бир оз фарқ қилади. Улар су ўтларининг шаклини эслатади. Олтингугурт бактериялар катталигига қараб ҳам бир-биридан фарқ қилади. Рангси олтингугурт бактериялар рангли олтингугурт бактерияларига нисбатан бир неча баробар катта бўлади. Олтингугурт бактерияларининг шакллари ҳам ҳар турли бўлиб, улар орасида майда таёқчасимон, вибрионга ўхшаш ва спиралсимон бактериялар кўп учрайди. Бактериялар танасида олтингугурт бошқа бактериялардан фарқ қиладиган белгиси ҳисобланади. Олтингугурт бактериялари қуйидаги усуллар билан аниқланади.

С.Н.Виноградский усули билан аниқланганда шилина цилиндрга сув ўти илдизи ёки беда солиниб, устига бир озгина балчиқ қўшилади ва цилиндр сув билан тўлдирилади. Сўнг цилиндр 25-30 кун давомида термостатда сақланади. Шу вақтнинг ичида цилиндрдаги сувнинг устки қисмида олтингугурт бактериялари йиғилиб, парда ҳосил қилади. Ҳосил бўлган пардадан препарат тайёрлаб микроскоп остида кўрилади.

Олтингугурт бактерияларининг соф культурасини озиқли муҳитда ундириб ҳам аниқлаш мумкин. Бунинг учун асосан қуйидаги озиқли муҳитлардан кўп фойдаланилади.

Масалан:

Сут кислотанинг натрийли тузи ёки қахрабо тузидан	0,5 г
Аспарагин	0,2 г
Магний сульфат	0,1-0,2 г
Калий гидрофосфат	0,1 г
Темир сульфат	жуда оз миқдорда
Водопровод суви	100 мл

Ҳосил бўлган муҳит колбага солиниб, устига тупрок ёки балчиқ қўшилади. Колбанинг оғзи пробка билан беркитилиб 8-10 кун давомида 25-30°C да термостатда сақланади. Муҳитда олтингугурт бактерияларининг унганини ҳосил бўлган ҳид ва муҳит ичига кучсиз темир хлорид эритмаси билан аниқ

эритмасида намланган кичкинагина тошча боғлаб туширилган ипнинг тез вақтда қорайишидан билиш мумкин. Колбанинг пастки қисмида ҳосил бўлган темир сульфиднинг таъсири натижасида ип қораяди. Колбанинг юқори қисмидаги ипнинг ранги ўзгармайди. Бунга колбанинг юзасида водород сульфидни оксидловчи олтингугурт бактериялари сабаб бўлади.

Темир бактерияларини аниқлаш. Темир бактериялар асосан сув ҳавзаларида, ботқоқ ерларда, қисман тупроқда учрайди. Темир бактериялари табиатда учрайдиган икки валентли темир ва марганец тузларини оксидлаб, уни уч валентли бирикмаларга айлантиришда иштирок этади. Шунинг учун ҳам қишлоқ хўжалигида темир бактериялари муҳим аҳамиятга эгадир. Тупроқда темир ва марганец моддаси етишмаса ўсимликнинг ривожланиши ва ҳосилдорлигига салбий таъсир қилади. Темир бактериялари узунчоқ, шилимшиқ қин билан ўралган ипсимон шаклда бўлади. Уларнинг шилимшиқ қинларида темир гидроксиди тўпланган бўлади. Темир бактериялари ўзларининг катталиги, таналарида доначаларнинг мавжудлиги ва шохланиш хусусиятлари, спиралга ўхшаб буралган лента ҳосил қилишига қараб бошқа бактериялардан фарқ қилади. Одатда уларнинг узунлиги 1 см гача бўлиб, йўғонлиги 2-3 микрон келади.

Сув ҳавзасидаги темир бактериялар қуйидаги усул билан аниқланади. Темир таёқчалар арқонга боғланиб, текшириладиган сувга туширилади, арқоннинг сув юзасидаги учига эса пўкак боғланади. Пўкакнинг турган жойи белгилаб қўйилади. Бир неча ойдан кейин сув ичидаги темир таёқчаларга темир бактериялар ёпишиб, тугунчалар ҳосил қилади. Ҳосил бўлган тугунчалар ичида темир оксиди бўлади. Темир таёқча устида ҳосил бўлган тугунчалардан препарат тайёрланиб у 10% ли HCl ва спирт билан фиксация қилинади ва генциан виолет бўёғи билан бўялади. Юқорида айтиб ўтилган усуллардан ташқари, темир бактерияларни аниқлашда С.Н.Виноградский ва Лиске усулларида ҳам фойдаланилади. С.Н.Виноградский усулида аниқланганда шиша цилиндрга қайнатиб олинган беда чўпи солинади, унга бир озгина янги чўктирилган темир гидроксидидан қўшилади ва цилиндр сув ҳавзасидан олинган текшириладиган сув билан тўлдирилади. Цилиндрдаги органик қолдиқларнинг анаэроб усулда парчаланиши натижасида қуйидаги моддалар (H_2 , H_2S ва бошқалар) ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган бу моддалар сув таркибидаги уч валентли

темир оксидини икки валентли темир оксидига айлантиради. Сувда эриган икки валентли темир карбонат (FeCO_3) сув юзасига чикиб, темир бактериялари томонидан оксидланади. Натижада сув юзасида темир бактериялар йиғилиб, маълум вақт ўтгандан сўнг темир бактериялар йиғиндисини оддий кўз билан ҳам кўриш мумкин. Лиске усулида аниқлаганда колбага 0,05% ли беда эритмаси ёки тўкилган барглarning эритилган экстракти солиниб, устига бир оз темир қириндиси қўшилади ва уларга яна балчик ёки сув қуйилади.

Юқорида айтиб ўтилган усуллардан ташқари, темир бактерияларини аниқлашда темир бактерияларнинг ўзига хос синтетик озиқа муҳитларидан ҳам фойдаланиш мумкин.

С. Н. Виноградский озиқа муҳити:

NH_4NO_3	0,5 г
NaNO_3	0,5 г
K_2HPO_4	0,5 г
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 г
CaCl_2	0,2 г
лимон кислотанинг темир аммиак тузи	10 г
Сув	1000 мл

Лиске озиқа муҳити

1. Агар-агар
2. Сирка кислотанинг магнийли тузи
3. 100 мл сув

С. Молиш темир бактерияларни қидиришда қуйидаги муҳитдан фойдаланган. Бу муҳит 0,25% ли марганец-пептонга 10% ли желатин эритмаси қўшиб тайёрланган.

ФОСФОР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Машигулотни ўтиш тартиби: Фосфор бактерияларнинг морфологиясини ўрганиш учун ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўради. Фосфор бактерияларини микдорини аниқлаш усуллари билан танишади. Тупроқ намуналаридан фосфор кислоталарни аниқлаш учун А.Г. Кирсанов

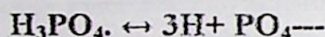
узулидан фойдаланилади. Натижаларни дафтарларга ёзиб ва чизиб борадилар.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Микроскоп, стерилланган Петри ликобчалари, иммерсион мой, 9 мл сув солинган пробиркалар, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Озиқа мухит. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин), тупроқ. Тарози ва тошлари. Колбалар.

Қишлоқ хўжалик экинларининг ҳосилдорлигини оширишда фосфор бирикмалари катта аҳамиятга эга. Фосфор олтингугурт каби тупроқда ҳар хил органик ва минерал бирикмалар ҳолида учрайди. Тупроқдаги қийин эрийдиган фосфор бирикмалари физик-кимёвий ва биологик омиллар таъсирида сувда яхши эрийдиган бўлиб қолади, яъни фосфат кислота ҳосил бўлади, шундагина фосфорни ўсимликлар осон ўзлаштиради. Умуман тупроқда 0,05% дан 0,2% гача фосфор бўлади.

Ўсимликнинг танаси ва илдизида ҳар хил фосфор бирикмалар бўлганлиги учун тупроққа ўсимлик қолдиқлари билан тушади ва тупроқ микроорганизмлари томонидан парчаланиб, фосфат кислота ҳолига ўтади.

Ўсимликлар фосфорни асосан фосфор кислота аниони шаклида ўзлаштиради.



Тупроқдаги фосфор бирикмаларини эритишда фосфор бактерияларидан ташқари, кислота ҳосил қилувчи спорали ва спорасиз микроорганизмлар катта аҳамиятга эга.

Р.А.Менкинанинг маълумотиға қараганда, фосфор бактериялари 50% фосфорни лецитиндан ва 86% фосфорни нуклеин кислотадан қуйидаги схема бўйича ажратиб, тупроқни фосфор билан бойитади.

1) нуклеопротеид → нуклеин → нуклеин кислота → нуклеотидлар → H_3PO_4 ;

2) лецитин → глицерофосфор эфирлар → H_3PO_4 .

Типик спора ҳосил қиладиган фосфор бактерияларга мисол қилиб *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* олинади, бу микроб таёқчасимон, чети қайрилган катталиги 3 микрондан 6 микронгача спора ҳосил қилувчи Грамм манфий аэроб бўлиб, ҳар хил қанд

эритмаларида (глюкоза, сахароза, маннит, галактоза) газ ҳосил қилмасдан кислота ҳосил қилади.

Картошкадан ва фосфорнинг органик бирикмалари қўшилиб тайёрланган муҳит юзасида шилимшиқ қўнғир рангли колониялар атрофида ялтирок доира ҳосил бўлади. Колониялардан препарат тайёрлаб микроскопда қўрилганда уларнинг жуфт бўлиб жойлашганини кўрамиз.

Спора ҳосил қилмайдиган фосфор бактериялари майда таёқчасимон катталиги 1,5-2 микрон, грамм манфий ва факультатив анаэробдир. Зич озикли муҳит юзасида пушти ранг колония ҳосил қилади, колония атрофида ялтирок доира бўлмайди. Бу микроб сутда ишқор ҳосил қилибгина қолмасдан, қисман чүклеин кислотани ҳам парчалайди.

Картошқадаги фосфор бактерияларни аниқлаш усули.
Бунинг учун тупроқ намунасидаан аналитик тарозида 1 г ўлчаб олиб уни стерилланган сув билан аралаштириб, эритма тайёрланади ва унинг охириги даражаси 1:100 000 га етказилади, сўнгра эритмадан стерилланган пипетка билан олиб, учта Петри ликобчасига солинади, устига суюлтирилган 40-45°C даражага ча совитилган муҳит қуйилади. Эритма билан муҳитни аралаштириш учун ликобча аста секин чанқоқ билан қўйилади. Ликобчадаги муҳит қотгандан сўнг, ликобчага ёрлик ёпиштирилади. Ёрлик давомида термостатга қўйилади. Ёрликка эритманинг даражаси 1:100 000 га етказилади, гуруҳи ва ишни бажарган куни ёзилади.

Фосфор бактерияларни ундириб ва уларни ўрганиш учун бир неча хил озика муҳитларидан фойдаланилади. Масалан, Р.И.Пиковская муҳитининг таркиби қуйидагича бўлади:

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (кальций фосфат)	5,0 гр
NaCl (Ош тузи)	0,2 гр
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (магний сульфат)	0,1 гр
Mn SO_4 (марганец сульфат)	жуда оз микдорда
FeSO_4 (темир сульфат)	жуда оз микдорда
Глюкоза	20,0 гр
Агар-агар	20,0 гр
Сув	1000 мл.

Р.И.Пиковская муҳитидан ташқари, фосфор бактерияларни ундириб ўрганиш учун Р.А.Менкинанинг муҳитидан ва картошқа-

хамиртуруш агаридан ҳам фойдаланилади. Униб чиққан фосфор бактерияларининг сонини аниқлаш учун учта ликобчадаги микроб колонияларини санаб, уларнинг ўртача сони аниқланади. Масалан: биринчи ликобчада 10 та, иккинчи ликобчада 8 та, учинчи ликобчада 6 та микроорганизм колонияси бўлса, буларнинг йиғиндиси учга бўлинади, чиққан сон эритма даражасига кўпайтирилади, яъни $8 \times 100\,000 = 800\,000$.

1 г тупроқдаги фосфор бактерияларнинг сони аниқлангандан сўнг муҳит юзасидаги колониялардан препарат тайёрлаб микроскопда кўрилади, шундан кейин кўзга кўринган микроорганизмларнинг расми дафтарга чизиб олинади.

Тупроқдаги фосфат кислотани аниқлаш. Тупроқ микроорганизмлари учун фосфорни аҳамияти катта, тупроқдаги фосфат кислотанинг миқдори тупроқ микроорганизмларини ҳаёт фаолияти билан чамбарчас боғлангандир. Кўпгина олимларнинг маълумотларига кўра, микроорганизмлар хужайрасининг маълум қисмини фосфат кислота ташкил қилади. Масалан, *Azotobacter chroococcum* куруқ моддадан 52% гача, *Bac. mycoides* 4,07% гача, ачиткиларнинг кулида эса 60% гача бўлади. Шунинг учун ҳам тупроқ таркибидаги фосфат кислотани аниқлаш қишлоқ хўжалигида амалий ва назарий аҳамиятга эгадир.

Тупроқдаги фосфат кислота бир неча усул билан аниқланади, булардан А.Г.Кирсанов усулига Я.П.Пейве ўзгартириш киритиб, таклиф қилган усули энг қулай ҳисобланади. Бу усул аниқланаётган эритманинг рангини ўз таркибида фосфорномолибден комплексини ($\text{MoO}_2 \cdot 4\text{MoO}_3 \rightarrow \leftarrow \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) сақлайдиган стандарт эритмалар билан солиштиришга асослангандир. Бунинг учун текшириляётган тупроқ намунасидан 5 гр аналитик тарозида тортиб олиниб колбага солинади, устига 25 мл 0,2 н. HCl қуйиб бир дақиқа чайқатилади, сўнггра эритма тиндирилиб филтрланади. Ҳосил бўлган филтратдан 5 мл дан олиб иккита пробиркага солинади, устига 5 мл 5 марта сувда суюлтирилган молибден реактиви қўйилади.

Тажриба ўтказилган пробиркаларни стандарт пробиркаларга солиштириш туфайли 1 г тупроқ, сўнггра 100 гр тупроқ таркибидаги P_2O_5 миқдори аниқланади.

РИЗОСФЕРА МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Машигулони ўтиш тартиби:

Илдизларни етита колбага солиб чайилади (Теппер усулида).

Илдизларни 6 ва 7 чайиндисини ГПА, Чапека ва сусл-агар озиқаси солинган Петри ликобчаларига экилади. Ризосфера микроорганизмларни ўрганиш давомида мазокни Грамм усулида бўяб микроскопда кўрилади. Талабалар препарат тайёрлайди ва Грамм усулида бўяб микроскопда кўришади. Натижаларни дафтарларга ёзиб ва чизиб борилади.

Керакли асбоблар ва реактивларлар: Микроскоп, Ўсимлик илдизлари, стерилланган Петри ликобчалари, иммерсион мой, 99 мл ва 9 мл сув солинган пробиркалар, стерилланган кварц куми, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Озиқа муҳит. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин, генциан-виолет), Тарози ва тошлари.

Ўсимликларнинг илдизларига яқин жойлашиб ривожланадиган микроорганизмлар ризосфера микроорганизмлари дейилади. (*rhizo* – илдиз, *sphaera* – шар).

Илдиз атрофида ва илдизда ривожланган ризосфера микроорганизмларининг миқдори тупроқ микроорганизмларига нисбатан бир неча марта кўп бўлади. Илдиздан ҳар хил органик моддалар ажралиб чиққани учун унда ризосфера микроорганизмлари жуда кўпаяди.

Текширувчиларнинг аниқлашича, ўсимлик микроорганизмлар истеъмол қиладиган қанд ва органик моддаларни ўзининг вегетация даврида 4-5% миқдорида ажратиб чиқаради. Ризосфера микроорганизмлари фақат ўсимликлар ажратадиган органик моддалар ҳисобига яшамасдан чириётган илдиз эпидермиси ва илдиз тукларидан ҳам озиқ сифатида фойдаланади. Текширишлардан маълум бўлишича, ҳар қайси ўсимликларнинг ўзига хос ризосфера микрофлораси бўлади. Масалан, Е.Ф.Берёзова денитрификаторлар бўлишини; маккажўхори илдизидан анаэроб азот тўловчилар; картошка илдизидан микобактерия, актиномицет ва бошқалар бўлишини аниқлаган. Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар ажратадиган турли органик моддалар ҳисобига яшаши

билан бирга ўз навбатида ўсимликларни ўсиши учун зарур бўлган турли элементлар (азот, фосфор, витамин ва бошқалар) билан таъминлайди. Ризосфера микроорганизмлари спора ҳосил қилмайдиган микроорганизмлар туркумига кирсалар ҳам, асосан тупроқ микрофлорасига яқин туради. Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар илдизида, илдиз атрофида жойлашишларига қараб бир неча гуруҳга бўлинади. Е.Ф.Берёзова илдизга ёпишган микрофлора ўсимлик учун катта аҳамиятга эга эканлигини, чунки бу микрофлора ўсимлик учун керакли физиологик моддаларни синтез қилиб беришдан ташқари, ўсимликлар илдизини зарарли микроорганизмлар таъсиридан сақлашини аниқлаган. Илдиз атрофида яқин жойлашган микроорганизмлар тупроқдаги ўсимлик ўзлаштира олмайдиган моддаларни енгил ўзлаштира оладиган ҳолатга айлантиради; бундан ташқари, ўсимлик илдизидан чиқадиган баъзи бир зарарли моддаларни парчалайди. Шунинг учун бундай микроорганизмлар ўсимликларнинг ўсишида катта аҳамиятга эга.

Ризосфера микроорганизмларини Н.А.Красилников усулида аниқланганда аввало, стерилланган пинцет билан илдизга ёпишган тупроқ эҳтиётлик билан олиниб, стерилланган Петри ликобчасига солинади. Сўнгра тупроқдан 1 г тортиб олиб стерилланган колбага солиб, устига 99 мл стерилланган сув қуйиб, бир икки дақиқа давомида яхшилаб чайқатилади, кейин стерилланган пипетка ёрдамида стерилланган сувга қўшиб колбада навбатдаги эритмалар ҳосил қилинади. Масалан, 1: 100000 ёки 1 : 1000000, ундан юқори 1 : 100000000 нисбатда эритма тайёрланади. Тўртинчи-бешинчи ёки бешинчи-олтинчи эритмадан 1 мл дан олиб иккита Петри ликобчасига ДПА га экилади. Экиланган ликобчалар 23-25°C термостатга икки-уч кунга қўйилади. Кейин ликобчада ўсиб чиққан колонияларнинг морфологик, физиологик хусусиятлари ўрганилиб, микроорганизмлар тўпламининг сони 1 г тупроққа ҳисоб қилиниб, умумий сони аниқланади.

Ризосфера микроорганизмлари Е.С.Теппер усулида аниқланганда ўсимликлар илдизини кесак бўлакчаларидан тозалаб тахминан 1 г илдиз тортиб олиб, 50 мл стерилланган сув солинган колбада 2 дақиқа ювилади. Сўнгра илдизлар стерилланган пинцет ёрдамида колбадан суви силқитиб олиниб, 50 мл сув солинган бошқа колбада яна ювилади. Шундай қилиб, 7 марта ювилади. 6 ва

7-марта ювилаётганда колбага 3-5 г стерилланган кварц куми солиниб ювилади.

Биринчи, иккинчи ювилганда ювиндида тупрок микрофлораси қолади; тўртинчи, бешинчи, олтинчи ва еттинчи марта ювилганда илдизга ёпишган ризосфера микроорганизмлари қолади. Бу ювиндилар керакли даражагача стерилланган сувда эритилиб, ГПА ёки ДПА, Чапека, сусло-агар озиқа мухитлари юзасига шпатель ёрдамида экилади. Петри ликобчасидаги ГПА ёки ДПА, Чапека, сусло-агар озиқа мухити юзасига стерилланган пипетка ёрдамида 0,05 мл (1 томчи) эритма кўйилади ва шпатель билан мухитнинг юзасига қуригунича суртилади, сўнгра икки-уч кун давомида 25°C ҳароратда термостатга қўйилади, сўнгра ликобча юзасида ўсиб чиққан микроорганизмлар тўпламининг сони 1 мл эритмага ҳисоб қилиниб, 1 гр илдизда қанча ризосфера микроорганизми борлиги аниқланади. Масалан,

0,05-500

1 - X

$$X = \frac{1 \times 500}{0,05} = 10000;$$

ЭПИФИТ МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Машигулотни ўтиши тартиби: ГПА, Чапека, сусло-агар озиқа мухити солинган Петри ликобчаларида унган микроорганизм колонияларини миқдорини санаб ва 1 грамм донда қанча микроорганизм борлигини аниқланади.

Керакли асбоблар ва реактивлар: Микроскоп, Ўсимлик уруғлари, стерилланган Петри ликобчалари, иммерсион мой, 99 мл ва 9 мл сув солинган пробиркалар, стерилланган кварц куми, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Озиқа мухит. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин, генциан-виолет), Тарози ва тошлари.

Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар ўсиш даврида илдизидан танасига ҳам кўтарилади ва ўсимлик танасига ташқи мухитдан чанг, ҳашаротлар орқали ҳар хил микроорганизмлар юқади. Ўсимлик танасида учрайдиган микроорганизмлар эпифит

микроорганизмлар дейилади. Эпифит микроорганизмлар асосан сапрофитлар туркумига кириб, улар ўсимлик тўқималаридан ажралиб чиқадиган ҳар хил чиқиндилар ва ўсимлик танасидаги турли органик моддалардан озик сифатида фойдаланади.

Эпифит микроорганизмлар фақат ўсимлик танасида, баргида ва гулида эмас, балки дони, турли меваларида, шунингдек сабзавотларнинг ер устки қисмида кўплаб учраши мумкин. Текширувчиларнинг маълумотларига кўра, 1 г сифатли донда бир неча миллион эпифит микроорганизмларни учратиш мумкин.

Е.И.Квасников, М.Г.Сумневич ва Ю.М. Возняковскаяларнинг маълумотларига кўра, эпифит микроорганизмлар туркумига *Pseudomonas* гуруҳига кирувчи микроорганизмлардан ташқари, ҳар хил шарсимон, таёқчасимон ва сут кислота ҳосил қилувчи бактериялар ҳам киради. Ўсимлик танасида учрайдиган микроорганизмлар ўсимликнинг ўсишига зарар етказмайди, эпифитлар гуруҳига кирувчи баъзи бир зарарли замбуруғлар эса ўсимлик танасидан илдизига ўтиб ўсимликнинг ҳосилдорлигига таъсир қилиши мумкин.

Ўсимлик танасида учрайдиган эпифит микроорганизмларни аниқлаш учун стерилланган пинцет билан бошқдан олинган дондан 10 г тарозида тортиб олиниб, 90 мл стерилланган сув қуйилган колбаларга солинади ва 5 г стериллаган қум қўшиб, 10 минут давомида яхшилаб чайқатилади. Ҳосил бўлган ювиндидан 1 мл олиб, 1:10000 гача эритма ҳосил қилиниб, 1 мл олиб иккита Петри ликобчасига экилади. Бактерия аниқланиши керак бўлса, эритма ДПА га экилади, агар эритмадан замбуруғларни аниқлаш керак бўлса Чапека ёки сусло-агарга экилади.

Сабзавотлар уруғидаги эпифит микроорганизмларни аниқлаш учун уруғдан 1 г олиб, 9 мл стерилланган сув қуйилган колбаларга солиб, устидан 1 г стериллаган қум қўшиб, 10 дақиқа давомида яхшилаб чайқатилади, ҳосил бўлган ювиндидан 1:10; 1:100 ва 1:1000 нисбатда эритма тайёрланиб сусло-агарга экилади. Экилган ликобчалар икки-уч кун давомида 23-25°C ҳароратда термостатда сакланади, сўнгра озик муҳити юзасида униб чиққан микроорганизм тўпламларининг хусусиятлари ўрганилади.

МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ АНТАГОНИСТИК ХУСУСИЯТЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Мангулотини ўтиши тартиби: Фитопатоген микроорганизмларга қарши текшириш учун олинган микроорганизмларни антибиотик ҳосил қилиш хусусиятлари агарли озиқа муҳитларига экиш орқали аниқланади. Бунинг учун фитопатоген микроорганизмлар тест сифатида фойдаланилади ва улар агарли озиқа қуйилган Петри ликобчаларига экилади. 7-10 сутка давомида суяқ озиқа муҳитларида ўстирилган текширилаётган микроорганизмларнинг культурал суяқлигига ботирилган қоғозли фильтр дисклари агарли озиқа муҳити сиртига терилади ва экилган Петри ликобчалари 24-26°C ҳароратли термостатларга қўйилади, ҳамда натижалар дафтарга ёзиб борилади.

Керакли асбоблар ва реактивлар: микроскоп, буюм ва қоплагич ойналар, микробиологик сиртмоқ, спирт лампаси, фитопатоген ва текшириш учун олинган микроорганизмларни пробиркалардаги соф культураси, агарли озиқа қуйилган Петри ликобчаси, қоғозли фильтр дисклар, пинцет, термостат.

Табиатда тарқалган микроорганизмлар якка-якка ривожланмай, балки бир-бири билан аралашиб яшайди. Шунинг учун ҳам уларнинг ўртасида антагонистик ва ҳамкорлик муносабатлар пайдо бўлади. Организмлар ўртасидаги ҳамкорлик муносабат *симбиоз* дейилади, бунда бир хил микроорганизмлар иккинчи хил микроорганизмларга уларнинг яшаши ва ривожланиши учун қулай шароит яратади. Микроорганизмлар яшаш ва ривожланиш жараёнида муҳитга мосланиш натижасида бир-бирига нисбатан қарама-қарши муносабатда бўлади, бундай муносабат микроорганизмлар *антагонизми* дейилади. Пастер биринчи бўлиб қўйдирги касалининг микроорганизми билан кўк йиринг ҳосил қилувчи бактериялар ўртасидаги муносабатларни кузатиб микроорганизмлар ўртасидаги антагонистик хусусиятларини аниқлаган бўлса, Мечников сут кислота ҳосил қиладиган бактерияларнинг чиритувчи бактерияларга нисбатан бўлган антагонистик муносабатларини аниқлаган. Шунинг учун ҳам Пастер билан Мечниковлар антагонизм назариясининг асосчилари ҳисобланади.

Антагонистик муносабат фақат бактериялар орасида эмас, балки замбуруғлар ва актиномицетлар орасида ҳам учрайди. Олимларнинг аниқлашича, тупроқ микроорганизмлари орасида,

айниқса, гўнг солиниб ўғитланган тупрокда патоген ва фитопатоген микроорганизмларига нисбатан антагонистлар кўп учрайди. Бир тур микроорганизм иккинчи тур микроорганизмга нисбатан антагонист бўлса, у ҳосил қилган маҳсулотни билан иккинчи микроорганизмни ривожланишдан тўхтатади, яъни уни ўлдиради. Антагонист микроорганизмларнинг ҳосил қилган маҳсулотлари **антибиотик** дейилади. Антибиотикларни асосан тупрокда учрайдиган замбуруғлар, актиномицетлар ва ҳар турли спорали, спорасиз бактериялар ҳосил қилади. Антибиотикларни фақат микроорганизмларгина эмас, ўсимлик ва ҳайвонлар ҳам ҳосил қиладилар.

Микроорганизмларни антибиотиклари ёки уларнинг тирик культуралари кишлоқ хўжалик экинларининг касалликларига қарши биологик кураш чораси сифатида ишлатилади. Антибиотиклар келиб чиқиши, кимёвий тузилиши, микроорганизмларга қарши таъсир механизми ва уларни таъсир доирасига кўра қатор гуруҳларга бўлинади. Тор таъсир доирасига эга бўлган антибиотиклар билан бир қаторда кенг таъсир кучига эга бўлган антибиотиклар ҳам қўлланилади.

Микроорганизмларни антибиотик ҳосил қилиш хусусиятини аниқлашнинг энг оддий усули филтёр дисклардан фойдаланган ҳолда аниқлаш усулидир.

Тест сифатида олинган фитопатоген микроорганизмлар агарли озиқа қуйилган Петри ликобчасига экилади, сўнггра пинцет билан маълум микдорда текширилади. Микроорганизмлар ўстирилган культурал суяқлиги шимдирилган филтёр қоғозли дисклар бир хил ораликда агар юзасига жойлаштирилади. Экилган Петри ликобчалари 24-26°C да бир сутка давомида термостатда сақланади. Диск атрофидаги фитопатоген микроорганизм культурасининг ўсиши тўхтаган зона диаметрига кўра, унинг маълум фитопатоген микроорганизмга нисбатан антибиотик ҳосил қилиши белгиланади. Агар ўсишни тўхташ зонасининг диаметри 10 мм бўлса, культура кам таъсирга эга. 10 мм дан кўп бўлса - юқори даражада таъсир қилиш хусусиятига эга ҳисобланади. Дисклар биокультурал суяқликнинг ҳар хил концентрацияси билан шимдирилган бўлса, у ҳолда текшириладиган микроорганизм культурасининг энг кичкина дозасини концентрацияси танлаб олинади.

Тупрокдаги антагонист микроорганизмларни аниқлаш учун Петри ликобчасига ГПА, Чапека, сусло-агар озиқа мухити суюлтириб қўйилади, ликобчадаги мухит қотгандан кейин унинг юзасига бактерия ёки замбуруғларнинг соф культураси шпатель билан экилиб, 25-30°C термостатга 1-2 сутка давомида қўйилади. Сўнгра ликобчадаги мухит юзасида униб чиққан бактерия ёки замбуруғ колонияларининг устига бир неча жойига янги тупрок бўлакчаларидан стерилланган пинцет билан қўйилади ва яна бир неча кун термостатда сақланади. Агар тупрок бўлакчалари таркибида антагонист микроблар бўлса, тупрок заррачаси атрофида оқ доира ҳосил бўлади, чунки тупрокдаги антагонист микроблар мухит юзасидаги микробларнинг ривожланишига йўл қўймайди, яъни уларни ўлдиради. Антибиотикларнинг фаоллигини аниқлашда асосан А.Флеминг ва диффузия усулларидадан фойдаланилади.

Агарли блок усули. Бунинг учун тест-микроби Петри ликобчасидаги зич озиқа мухитга экилади. Синалиши керак бўлган антибиотик металл ёки шишадан ясалган ҳар хил ҳажмдаги цилиндрчаларга солинади, сўнг уларни бошқа стерилланган Петри ликобчадаги озиқа мухит устига 5-6 та агарли блок қўйилади. Сўнгра Петри ликобчалари термостатга 20-24 соатга қўйилади. Антибиотик цилиндрчалар атрофидаги озиқ мухитга диффузияланиб микробни ўстирмай қўяди ва у қанча кучли бўлса, цилиндрчалар атрофида микроб ўсмаган доира шунча кенг бўлади.

Қоғозли диск усули. Қоғозли дисклар билан антибиотикнинг фаоллиги аниқланади. Бунинг учун антибиотик эритмасига филтрловчи қоғоз ботирилиб, кейин у қуритилади ва 0,5 см диаметрли доира (диск) шаклида кесилади. Қоғоз дискдаги антибиотик бир сутка ичида озиқ мухитга диффузия қилиниб, диск теварагида микробнинг ўсишига йўл бермайди. Қоғоз диск теварагида ўса олмаган доиранинг диаметри ўлчаниб, антибиотикнинг микробга кучли ёки кучсиз таъсир этганлиги аниқланади. Агар қоғоз дискдан 15 мм наригача микроб ўсиб чиқмаса антибиотикнинг микробга кучсиз таъсир этганлиги маълум бўлади. Агар дискнинг диаметри 15-25 мм гача бўлса, антибиотик микробга таъсир этган, 25 мм дан ортиқ диаметрли доира ўсмаган бўлса, антибиотик кучли таъсир этган деб ҳисобланади.

айниқса, гўнг солиниб ўғитланган тупроқда патоген ва фитопатоген микроорганизмларига нисбатан антагонистлар кўп учрайди. Бир тур микроорганизм иккинчи тур микроорганизмга нисбатан антагонист бўлса, у ҳосил қилган маҳсулоти билан иккинчи микроорганизмни ривожланишдан тўхтатади, яъни уни ўлдиради. Антагонист микроорганизмларнинг ҳосил қилган маҳсулотлари **антибиотик** дейилади. Антибиотикларни асосан тупроқда учрайдиган замбуруғлар, актиномицетлар ва ҳар турли спорали, спорасиз бактериялар ҳосил қилади. Антибиотикларни фақат микроорганизмларгина эмас, ўсимлик ва ҳайвонлар ҳам ҳосил қиладилар.

Микроорганизмларни антибиотиклари ёки уларнинг тирик культуралари қишлоқ хўжалик экинларининг касалликларига қарши биологик кураш чораси сифатида ишлатилади. Антибиотиклар келиб чиқиши, кимёвий тузилиши, микроорганизмларга қарши таъсир механизми ва уларни таъсир доирасига кўра қатор гуруҳларга бўлинади. Тор таъсир доирасига эга бўлган антибиотиклар билан бир қаторда кенг таъсир кучига эга бўлган антибиотиклар ҳам қўлланилади.

Микроорганизмларни антибиотик ҳосил қилиш хусусиятини аниқлашнинг энг оддий усули филтёр дисклардан фойдаланган ҳолда аниқлаш усулидир.

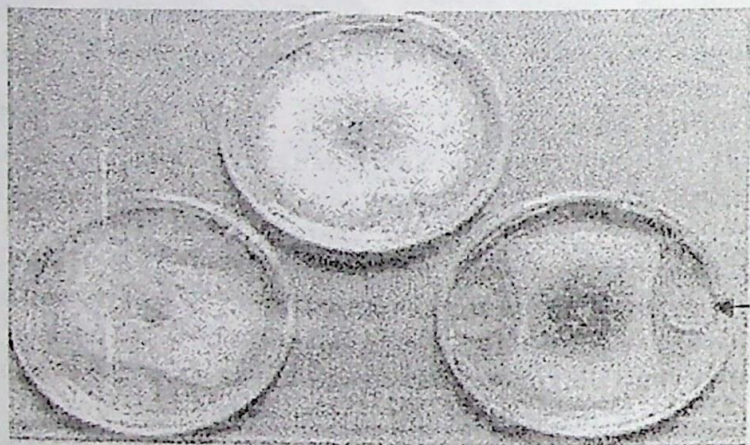
Тест сифатида олинган фитопатоген микроорганизмлар агарли озиқа қуйилган Петри ликобчасига экилади, сўнгра пинцет билан маълум миқдорда текширилади. Микроорганизмлар ўстирилган культурал суяқлиги шимдирилган филтёр қоғозли дисклар бир хил ораликда агар юзасига жойлаштирилади. Экилган Петри ликобчалари 24-26°C да бир сутка давомида термостатда сақланади. Диск атрофидаги фитопатоген микроорганизм культурасининг ўсиши тўхтаган зона диаметрига кўра, унинг маълум фитопатоген микроорганизмга нисбатан антибиотик ҳосил қилиши белгиланади. Агар ўсишни тўхташ зонасининг диаметри 10 мм бўлса, культура кам таъсирга эга. 10 мм дан кўп бўлса - юқори даражада таъсир қилиш хусусиятига эга ҳисобланади. Дисклар биокультурал суяқликнинг ҳар хил концентрацияси билан шимдирилган бўлса, у ҳолда текшириладиган микроорганизм культурасининг энг кичкина дозасини концентрацияси танлаб олинади.

Тупрокдаги антагонист микроорганизмларни аниқлаш учун Петри ликобчасига ГПА, Чапека, сусло-агар озика мухити суюлтириб қўйилади, ликобчадаги мухит қотгандан кейин унинг юзасига бактерия ёки замбуруғларнинг соф культураси шпатель билан экилиб, 25-30°C термостатга 1-2 сутка давомида қўйилади. Сўнгра ликобчадаги мухит юзасида униб чиққан бактерия ёки замбуруғ колонияларининг устига бир неча жойига янги тупрок бўлакчаларидан стерилланган пинцет билан қўйилади ва яна бир неча кун термостатда сақланади. Агар тупрок бўлакчалари таркибида антагонист микроблар бўлса, тупрок заррачаси атрофида оқ доира ҳосил бўлади, чунки тупрокдаги антагонист микроблар мухит юзасидаги микробларнинг ривожланишига йўл қўймайди, яъни уларни ўлдиради. Антибиотикларнинг фаоллигини аниқлашда асосан А.Флеминг ва диффузия усуллари билан фойдаланилади.

Агарли блок усули. Бунинг учун тест-микроби Петри ликобчасидаги зич озика мухитга экилади. Синалиши керак бўлган антибиотик металл ёки шишадан ясалган ҳар хил ҳажмдаги цилиндрчаларга солинади, сўнг уларни бошқа стерилланган Петри ликобчадаги озика мухит устига 5-6 та агарли блок қўйилади. Сўнгра Петри ликобчалари термостатга 20-24 соатга қўйилади. Антибиотик цилиндрчалар атрофидаги озиқ мухитга диффузияланиб микробни ўстирмай қўяди ва у қанча кучли бўлса, цилиндрчалар атрофида микроб ўсмаган доира шунча кенг бўлади.

Қоғозли диск усули. Қоғозли дисклар билан антибиотикнинг фаоллиги аниқланади. Бунинг учун антибиотик эритмасига филтрловчи қоғоз ботирилиб, кейин у қуритилади ва 0,5 см диаметрли доира (диск) шаклида кесилади. Қоғоз дискдаги антибиотик бир сутка ичида озиқ мухитга диффузия қилиниб, диск теварагида микробнинг ўсишига йўл бермайди. Қоғоз диск теварагида ўса олмаган доиранинг диаметри ўлчаниб, антибиотикнинг микробга кучли ёки кучсиз таъсир этганлиги аниқланади. Агар қоғоз дискдан 15 мм наригача микроб ўсиб чиқмаса антибиотикнинг микробга кучсиз таъсир этганлиги маълум бўлади. Агар дискнинг диаметри 15-25 мм гача бўлса, антибиотик микробга таъсир этган, 25 мм дан ортиқ диаметрли доира ўсмаган бўлса, антибиотик кучли таъсир этган деб ҳисобланади.

Марказий-агарли блок усули. Антибиотик продуцентлари ривожланиши учун яроқли бўлган стерилланган агарли озиқа мухити катламларидан диаметри 20-25 мл бўлган доирачалар ўйиб олинади. Ўйиб олиш учун стерилланган шиша найчалардан фойдаланилади. Ўйиб олинган доирачалар бошқа стерилланган Петри лycopчаларига қўйилади. Ҳар бир Петри лycopчасига биттадан доирача жойлаштирилади. Доирачалар жойлаштирилган Петри лycopчаларга тест микроб ўсиши учун яроқли бўлган суюлтирилган агарли озиқа қўйилади. Озиқа мухитини қўйилганда унинг сатҳи доирачадан 1-1,5мл. паст бўлиши керак. Петри лycopчасидаги озиқа мухит сиртидаги ортиқча намликни йўқотиш учун лycopчани тўнтариб, стерилланган термостатда 30-45 дақиқа қўйилади.



Антагонистик фаолликни аниқлашни қозғоз диск усули

Агарли доирачаларга бактериологик сиртмоқ билан ўрганилаётган антагонист экилади. Петри лycopча антагонист учун қулай бўлган ҳароратда термостатга 1-2 кун сақланади. Микроб яхши ривожлангандан кейин агарли катлам радиуслари бўйлаб штрих усулида тест микроб экилади. Петри лycopчаларини яна термостатга 24-48 соатга қўйилади. Антибиотик таъсир қилмаган ўрганилаётган антагонист тест микроб доирачадан бошлаб бутун экилган чизиқлар бўйлаб ривожланади. Тест микробнинг антагонистли доирачада ривожланмаганлиги эса ўрганилаётган микробнинг ажратган антибиотик моддаси таъсир этиш хусусиятига эга. Тест микробнинг стерилланган штрихли майдони катталашган сари, унинг ажратилаётган антибиотикка таъсири сезиларли бўлади.

ГЛОССАРИЙ

Астоклав - микробиология лабораториясида асбоблар ва материалларни юкори хароратда босим остида сув буғи билан стериллашга мўлжалланган аппарат.

Автотроф озикланиши - куёш энергиясидан фойдаланиб, хлорофил доначасига эга организмларни атмосферадаги CO_2 гази ва сувни фотосинтез ёрдамида ўзлаштириб, органик модда ҳосил қилишдир.

Агар-агар - денгиз сув ўтларидан олинадиган микроорганзмларни ўстириш учун қаттиқ озика мухит тайёрлашда ишлатилади. Мураккаб таркибли полисахаридлар аралашмаси.

Азотобактерин - эркин ҳолда яшовчи азотобактериялар (*Azotobacter chroococcum*) асосида олинадиган биоўғитлар.

Азотофиксация - ҳаводаги молекуляр азотни микроорганизмлар томонидан ўзлаштирилиши.

Актиномицетлар - прокариот микроорганизмларга кирувчи “нурсимон” замбуруғлар деб номланган микроорганизмларнинг катта гуруҳи.

Аммонификация - оксиллар ва азотли органик бирикмаларни микроорганзмлар томонидан NH_3 гача парчаланиши. Бунда NH_3 дан ташқари H_2S ва индол ҳам ҳосил бўлади.

Амфитрихлар – танасининг икки учида бир тутамдан хивчинларга эга бактериялар.

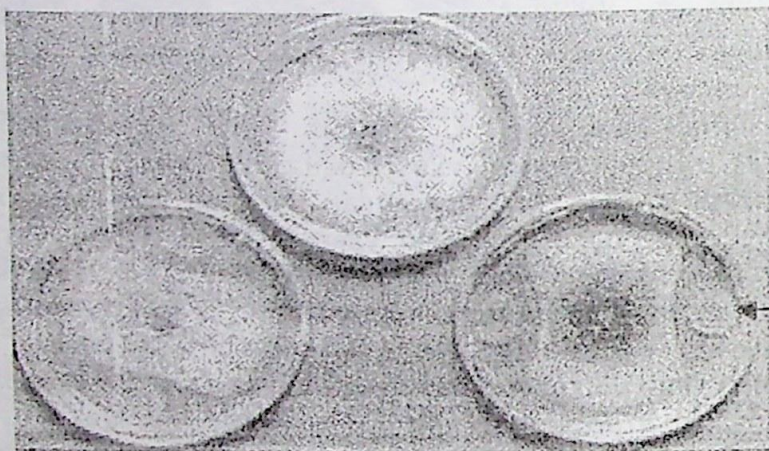
Анаэроблар - кислородсиз мухитда яшовчи микроорганизмлар. Аанаэроблар ўзи учун кислородни органик моддаларни парчалаш орқали олади.

Антибиотик - микроорганизмлар томонидан ажратиладиган, микроорганизмларга танлаб таъсир этувчи ўзига хос кимёвий-моддалар.

Антагонист - табиатда ёки лаборатория шароитида бир микроорганизм иккинчисини ўсишини бутунлай тўхтатади. Бу ходиса ўсимлик касалликларига қарши биологик кураш чорасини ишлаб чиқишда фойдаланилади.

Аскомицетлар - ҳалтали замбуруғлар синфи бўлиб, эукариот организмлар ҳисобланади. Улар замбуруғларнинг 45% дан ортиқ турларини ўзига бириктиради. Аскомицетларнинг споралари аскоспоралар деб номланиб, махсус ҳалталар ичида ҳосил бўлади.

Марказий-агарли блок усули. Антибиотик продуцентлари ривожланиши учун яроқли бўлган стерилланган агарли озиқа муҳити қатламларидан диаметри 20-25 мл бўлган доирачалар ўйиб олинади. Ўйиб олиш учун стерилланган шиша найчалардан фойдаланилади. Ўйиб олинган доирачалар бошқа стерилланган Петри лycopчаларига қўйилади. Ҳар бир Петри лycopчасига биттадан доирача жойлаштирилади. Доирачалар жойлаштирилган Петри лycopчаларга тест микроб ўсиши учун яроқли бўлган суялтирилган агарли озиқа қўйилади. Озиқа муҳитини қўйилганда унинг сатҳи доирачадан 1-1,5мл. паст бўлиши керак. Петри лycopчасидаги озиқа муҳит сиртидаги ортиқча намликни йўқотиш учун лycopчани тўнтариб, стерилланган термостатда 30-45 дақиқа қўйилади.



Антагонистик фаолликни аниқлашни қоғоз диск усули

Агарли доирачаларга бактериологик сиртмоқ билан ўрганилаётган антагонист экилади. Петри лycopча антагонист учун қулай бўлган ҳароратда термостатга 1-2 кун сақланади. Микроб яхши ривожлангандан кейин агарли қатлам радиуслари бўйлаб штрих усулида тест микроб экилади. Петри лycopчаларини яна термостатга 24-48 соатга қўйилади. Антибиотик таъсир қилмаган ўрганилаётган антагонист тест микроб доирачадан бошлаб бутун экилган чизиклар бўйлаб ривожланади. Тест микробнинг антагонистлиги доирачада ривожланмаганлиги эса ўрганилаётган микробнинг ажратган антибиотик моддаси таъсир этиш хусусиятига эга. Тест микробнинг стерилланган штрихли майдони катталашган сари, унинг ажратилаётган антибиотикка таъсири сезиларли бўлади.

ГЛОССАРИЙ

Астоклав - микробиология лабораториясида асбоблар ва материалларни юкори хароратда босим остида сув буғи билан стериллашга мўлжалланган аппарат.

Автотроф озиқланиши - куёш энергиясидан фойдаланиб, хлорофил доначасига эга организмларни атмосферадаги CO_2 гази ва сувни фотосинтез ёрдамида ўзлаштириб, органик модда ҳосил қилишдир.

Агар-агар - денгиз сув ўтларидан олинадиган микроорганзмларни ўстириш учун каттик озиқа муҳит тайёрлашда ишлатилади. Мураккаб таркибли полисахаридлар аралашмаси.

Азотобактерин - эркин ҳолда яшовчи азотобактериялар (*Azotobacter chroococcum*) асосида олинадиган биоўғитлар.

Азотофиксация - ҳаводаги молекуляр азотни микроорганизмлар томонидан ўзлаштирилиши.

Актиномицетлар - прокариот микроорганизмларга кирувчи “нурсимон” замбуруғлар деб номланган микроорганизмларнинг катта гуруҳи.

Аммонификация - оксиллар ва азотли органик бирикмаларни микроорганзмлар томонидан NH_3 гача парчаланиши. Бунда NH_3 дан ташқари H_2S ва индол ҳам ҳосил бўлади.

Амфитрихлар — танасининг икки учида бир тутамдан хивчинларга эга бактериялар.

Анаэроблар - кислородсиз муҳитда яшовчи микроорганизмлар. Анаэроблар ўзи учун кислородни органик моддаларни парчалаш орқали олади.

Антибиотик - микроорганизмлар томонидан ажратиладиган, микроорганизмларга танлаб таъсир этувчи ўзига хос кимёвий-моддалар.

Антагонист - табиатда ёки лаборатория шароитида бир микроорганизм иккинчисини ўсишини бутунлай тўхтатади. Бу ходиса ўсимлик касалликларига қарши биологик кураш чорасини ишлаб чиқишда фойдаланилади.

Аскомицетлар - ҳалтали замбуруғлар синфи бўлиб, эукариот организмлар ҳисобланади. Улар замбуруғларнинг 45% дан ортиқ турларини ўзига бириктиради. Аскомицетларнинг споралари аскоспоралар деб номланиб, махсус ҳалталар ичида ҳосил бўлади.

Ўсимликларда ун шудринг касалликларини келтириб чиқарувчи замбуруғлар типик мисол бўла олади.

Аспиргеллар - такомиллашмаган замбуруғларнинг катта бир туркуми. Улар асосан сапрофит ҳолда ҳаёт кечиради, кам ҳолларда паразит ҳисобланади.

Ачитқи замбуруғлар - Аскомицетлар синфига кирувчи ачитқи замбуруғлари (*Saccharomyces carlsbergi*, *S. cerevisiae*).

Аэроблар - ҳаво кислородга муҳтож бўлган микроорганизмлар.

Базидиомицетлар - замбуруғлар синфига мансуб микроорганизмлар гуруҳи. Булар ўсимликларда қоракуя, занг касалликларини ҳамда истеъмол қил адиган (шампиньон, вешенка, шитаке) замбуруғларни ўз ичига олган синф.

Бактериаль ўғит - таркибида органик бирикмаларни парчалаб ўсимлик ўзлаштира оладиган даражада минерал моддаларни ҳосил қилувчи микроорганизмлардан иборат бўлган тупроққа солинадиган препарат.

Бактериаль фильтр - "совук" стерилизацияда қўлланилиб, суюқликлар (озика муҳитлар) ва бошқа юқори ҳароратга чидамсиз маҳсулотларни микроорганизмлардан тозалашда ишлатилади. Фильтрловчи сифатида керамика, асбест пластинка ёки махсус мебраналардан фойдаланилади. Бу фильтрлардан фақат вируслар ўтиб кетади.

Бактериофаглар - бактерия хужайрасида паразитлик қилувчи вируслар.

Бактерицид лампа - ультрабинафша нурлар таркатиб, микроорганизмларни йўқ қилиш хусусиятига эга бўлган лампа. Бу лампа инерт газ билан тўлдирилиб симоб ёки кадмий билан тўлдирилган бўлади.

Бациллалар - шакли таёқчасимон спора ҳосил қилувчи бактериялар.

Биёғити - анаэроб метаболит жараён бўлиб, органик бирикма, яъни углеводларни микроорганизмлар томонидан кичик молекулали органик бирикмаларга (спирт, сут кислота, сирка кислота, ацетон ва бошқалар) парчаланиши.

Биореактор - микроорганизмларни суюқ озика муҳитларида ўстиришда фойдаланиладиган, хужайралар биомассасини олишда ишлатиладиган микроиқлими бошқарилувчи аппарат.

Биота - ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар яшайдиган муҳит. Биоценоздан фарқ қилиб, турларни ўзаро бир-бири билан экологик боғлиқликлари кузатилмайд.

Биотехнология - тирик организмлар ҳужайраларида кечаётган ҳаётий жараёнлардан фойдаланиб, инсон эҳтиёжи учун саноат миқёсида маҳсулотлар олиш технологиялар мажмуаси.

Бифидобактериялар - углеводларни гетероферментлар ёрдамида парчалаб сут кислотали бижғиш юзага келтирувчи бактериялар. Бу бактериялар чақалоқлар ва сут эмизувчилар болаларининг ошқозон-ичак тизимидаги касаллик кўзгатувчи микроорганизмларни йўқотади.

Ботулизм - *Clostridium botulinum* бактериясини анаэроб шароитда озиқ-овқат маҳсулотларида ривожланиб, ҳосил қилган токсинлари таъсирида инсонларни заҳарланиши.

Вакцина - одам ва ҳайвонни иммунитетини ошириш учун қўлланиладиган микроорганизмлардан олинадиган препарат.

Вибрионлар - шакли вергулсимон бўлган бактериялар.

Вигт - ўсимликни ўтказувчи тўқима найларини зарарланиб, сўлишни юзага келиши. Бунга мисол қилиб, гўзанинг вертицеллёз сўлиш касаллигини мисол қилиш мумкин.

Вирус - ҳужайрасиз организмлар бўлиб, ДНК ёки РНК дан ташкил топган бўлади. Улар фақат тирик ҳужайрада кўпаяди ва ривожланади.

Гетеротрофлар - ўзи мустақил равишда органик модда ҳосил қилмай тайёр органик моддалар билан озиқланувчи микроорганизмлар гуруҳи.

Гифлар - замбуруғ ва актиномицетларнинг ипсимон тузилишдаги вегетатив танаси. Гифлар тўплами мицелий деб аталади.

ГПҚ - гўшт-пептон қайнатмаси, микроорганизмлар ўстириш учун қўлланиладиган озиқа муҳити, таркибида 0,5 % NaCl ва 1% пептон сақлайди.

Грамм усулида бўйаш - қуритилган ва фиксация қилинган мазокка генцион-виолет бўёғидан қуйилиб, 1-2 дақиқа сақланади. Сўнгра бўёқ сув билан ювиб ташланади ва мазокка Люголь эритмаси томизилади, кейин бирпас ўтгандан сўнг ювиб ташланади ва унга фуксин томизилади. 3-4 дақиқадан сўнг фуксин ювиб ташланади ва қуритилгач, устига бир томчи иммерсион мой томизилиб микроскопда кўрилади. Грамм усулида бўйаш

бактерияларнинг турини аниқлаш учун асосий белги бўлиб ҳисобланади. Бактериялар Грамм усулида бўялиш бўялмаслигига қараб икки гуруҳга бўлинади: 1) Грамм усулида мусбат бўялувчи (грамм-мусбат) ва 2) Грамм усулида манфий бўялувчи (грамм-манфий) бактериялар.

Дальтон (Да) - вирус ва ҳужайра структурасини (рибосома, хромосома, митохондрия ва бошқалар) атом массасини ўлчов бирлиги. У углеродни атом массасини 12 дан 1 қисмига тенг.

Дезинфекция - ўсимлик, ҳайвон ва одамларда касаллик кўзгатувчи микроорганизмларни кимёвий моддалар воситасида йўқ қилиш.

Денатурат - денатурат спирти. Таркибида бўёвчи ва ёқимсиз хид тарқатувчи моддалар бўлган озиқ-оқат маҳсулотини сифатида ишлатиб бўлмайдиган этил спирти. Бу спирт лак ишлаб чиқаришда ва ёқилғи сифатида ишлатилади.

Дениитрификация - микроорганизмлар воситасида нитрат кислотани қайтарилиб нитрит кислота ва эркин азот ҳосил бўлиши демакдир.

Дератизация - қишлоқ хўжалигида зарар етказадиган иссиққонли сичқонсимон кемирувчиларга қарши кураш.

Дезинсекция - зараркунанда ҳашаротларни (бургалар, сувараклар, қандалалар) пестицидлар ёрдамида йўқотиш.

Диплококк - иккитадан бўлиб турадиган шарсимон бактериялар.

ДНК - дезоксирибонуклеин кислотаси. Таркибида углевод компонентини сақлаган дезоксирибоза ва азотли асосга эга нуклеин кислоталар.

Желатина - коллаген оксилларни денатурацияси маҳсулотини. Микробиологияда қаттиқ озиқа тайёрлашда, 10-15% микдорда солиниб озиқа қотирилади. Бундай озиқа муҳитлар 23°C да қотади 25-30°C да эрийди.

Замбуруғлар - ўзига 250 000 дан ортиқ турни ўзига бириктирган эукариотларнинг катта гуруҳи. Улар дунё (*Kingdom*) сифатида ажратилиб (*Fungi, Mycota*), қуйидаги синфларга бўлинади: Хитридиомитетлар, Оомитетлар, Зигомитетлар, Аскомитетлар, Базидиомитетлар ва такомиллашган замбуруғлар ёки Дейтеромицетлар.

Зигогамия - айрим замбуруғлар (Зигомитетлар) ва сувўтларнинг жинсий кўпайишидир. Морфологик бир хил, жинсий

жиҳатдан турлича бўлган мицелийларнинг қўшилишидан зигоспора пайдо бўлади.

Зигомицетлар - замбуруғларнинг синфи бўлиб, бир хужайрали кўп ядроли мицелийга эга, кенг тарқалган туркумларига *Mucor*, *Rhizopus* лар киради.

Идентификация - микроорганизмларни морфологик, культурал, биокимёвий ва бошқа хусусиятларига қараб, таксономик ўрнини ёки тур таркибини аниклаш.

Иммерсион мой - ёруғлик синдириши шишага яқин ($n=1,5$) бўлган кедр мойи. Микроскопда микроорганизмларни кўришда ишлатиладиган мой.

Иммунитет - касалликка чалинмаслик, организмни бир бутунлигини ҳимоя қилиш хусусияти.

Инкубация - маълум вақт оралиғида микроорганизмлар культурасини махсус муҳитда (харорат, кислород ва бошқалар таъсирида) ўсиши.

Инокулят - экиш материали. Янги микрроорганизм культураларини олиш учун озиқа муҳитига экишда фойдаланиладиган суспензия.

Инокуляция - маълум бир микроорганизм билан ўсимлик ёки ҳайвонни зарарлаш.

Ичак таёқчаси - *Escherichia coli* - энтеробактериялар оиласига кирувчи, грамманфий бактерия. Булар асосан сут эмизувчилар ичагида тарқалган бўлиб, глюкоза, лактоза ва бошқа углеводларни бижғитади, меъридан ошса касаллик қўзғатади. Биотехнологияда интерферон, инсулин ва бошқа ферментлар олишда фойдаланилади.

Канцид - вирусни оқсил қобиғи.

Клон - жинсиз кўпайтириш орқали битта хужайрадан олинган, ирсий жиҳатдан бир хил микроорганизм культураси.

Кокк - хужайраси шарсимон бактериялар.

Колистр, коли-индекс - ичак таёқчасини литр сувдаги ёки қаттиқ субстратдаги хужайраларининг миқдори. Сувни ёки оқава сувларни ифлосланиш даражасини белгиловчи кўрсаткич. Биздаги ичимлик сувини коли-индекси 3 дан, колититри - 300 дан юқори бўлмаслиги керак.

Лактобациллалар - сут кислотали бактериялар туркуми, таёқчасимон, граммусбат, спора ҳосил қилмайдиган, ҳаракатсиз. Гомо ёки гетероферментатив сут кислотали бижғишни юзага келтиради.

Ламинар бокс - микробдан ҳоли муҳитни ҳосил қиладиган қурилма. Стерил шароитда биологик объектлар билан ишлашда фойдаланилади.

Лизис - ҳужайраларни емирилиши ёки эриб йўқ бўлиши, микроорганизмлар фермент ёки бошқа моддалар таъсирида шу ҳолатга келади.

Лиофилизация - таркибида намлиги бўлган маҳсулотларни ёки микроорганизмлар культураларини вакуум остида паст ҳароратда қуритиш.

Лофотирихлар - ҳужайрасини бир учидан бир қанча хивчинларга эга бактериялар.

Люголя эритмаси - 300 мл дистилланган сувда бир грамм йод ва 2-5 гр калий йоди бўлган бўёвчи модда. Бактерияларни Грамм усулида бўяшда, микроорганизм ҳужайраларидаги захира моддаларни (крахмал, гликоген) аниқлашда фойдаланилади.

Мезофилл микроорганизмлар - 25-30°C ҳароратда яхши ривожланидиган микроорганизмлар, улар учун минималъ ҳарорат 0-10°C, оптималъ ҳарорат 25-30°C, максималъ ҳарорат - 40-45°C бўлиб, буларга кўпгина тупроқ ва сув микроорганизмлари киради.

Метабиоз - микроорганизмларнинг бир-бирига муносабати бўлиб, бунда бир микроорганизм иккинчиси учун маҳсулот тайёрлаб беради. Масалан, нитрификаторлар.

Микоплазмалар - прокариот организмлар бўлиб, ҳужайра қобиғига эга бўлмаган таркибида ДНК ҳамда РНК сақлайдиган микроорганизмлардир. Вируслардан фарқ қилиб микоплазмалар сунъий озика муҳитларда ўса олади.

Микориза - юксак ўсимлик илдизи билан замбуруғ ўртасидаги симбиоз. Микоризаларни кўпгина Зигомицетлар, Аскомицетлар ва Базидиомицетлар ҳосил қиладди.

Микробиология - Микроорганизмлар тўғрисидаги фан. Биринчи бўлиб микроорганизмларга А.Левенгук (1683 йил) таъриф берган, фан сифатида эса микробиология XIX асрнинг иккинчи ярмида Л.Пастер ташаббуси билан вужудга келди.

Микробиота (микрофлора) - маълум бир биоценозда тарқалган турли микроорганизмларнинг мажмуи.

Микрококлар - шарсимон шаклга эга, граммусбат бактериялар.

Микроскоп - оддий кўз билан кўриб бўлмайдиган объектларни катталаштириб берувчи оптик прибор. Микробиологияда ёруғлик ва электрон микроскоплар кенг ишлатилади.

Мицелий - замбуруғлар ва актиномицетларнинг вегетатив танаси бўлиб, гифлардан ташкил топган.

Мой кислотали бижғиш - *Clostridium* туркумига мансуб бўлган бактериялар таъсирида углеводларни (крахмал, декстрин, пектин ва бошқаларни) парчаланиб, мой кислотаси, ацетон, бутанол ва бошқа кичик молекулали органик бирикмалар ҳосил бўлиши.

Монотрих - танасида битта хивчини бўлган бактерия.

Мутация - геномнинг бирорта белгисини ўзгаришига ва уларни авлодларда сақланишига олиб келувчи спонтан ёки индуцирланган ўзгариш.

Мутагенлар - организмлар мутациясига олиб келувчи кимёвий моддалар ёки нурлар (УБ, рентген, гамма нур).

Нанометр - узунлик ўлчов бирлиги, 1 нанометр (нм) = 10 ангстрем (А), 1000 нм = 1 микрометр (микрон, мкм), 1000 мкм = 1 мм.

Нитрагин - тугунак бактерияларни (*Rhizobium*) тирик хужайраларидан иборат биоўғит-препарат. Дуккакдош ўсимликлар уруғларига экишдан олдин ишлов бериб қўлланилади. Биоўғитни таъсири азотфиксацияга асосланган, яъни улар дуккакдош ўсимликлар билан симбиоз ҳолда яшаб ҳаводаги эркин азотни фиксация қилади.

Нитрификация - тупроқ, гўнг, сувда органик моддалар парчаланишидан ҳосил бўлган аммиакни оксидланиб Аэроб шаронтда нитрит ва кейин нитратларга айланиш жараёнидир. Нитрификация икки босқичдан иборат бўлиб, 1 босқичда *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, 2-босқичда эса *Nitrobacter*, *Nitrospira* лар туркуми турлари иштирок этади.

Оомицетлар - *Oomycota* бўлимига кирувчи замбуруғлар гуруҳи бўлиб, жинсиз кўпайиши иккита хивчинли, ҳаракатчан зооспоралар ёрдамида боради. Жинсий кўпайиши – оогамия, бунда оналик (оогоний) ва оталик (антеридий) гаметангийларининг таркиби қўшилади ва ооспора деб аталадиган тиним даври зиготаси ҳосил бўлади.

Пассаж - микроорганизм культурасини янги озика муҳитига қайта экиш.

Пастеризация - суюқ мухитлар, озиқа маҳсулотларини 70-100°C оралиғидаги ҳароратда 15-30 дақиқа стериллаш. Сут, пиво, вино маҳсулотларига ишлов беришда қўлланилади.

Пенициллин - замбуруғлардан олинадиган антибиотик 1929 йилда А.Флеминг томонидан аниқланган. Молекуласи - 6-аминопенициллан кислотаси. Граммусбат бактерияларга нисбатан юқори антимиқроб таъсирга эга. Кам заҳарли антибиотиклардан бўлиб, ҳозиргача тиббиёт амалиётида қўлланилади.

Пептон - оксиллар чала гидролизи маҳсулоти бўлиб, таркибига аминокислоталар, дипептидлар ҳам сувда эрувчан полипептидлар киради. Микробиология амалиётида микроорганизмларни ўстириш учун озиқа мухитлари тайёрлашда ишлатилади.

Перитрихлар - ҳужайраси юзасида кўплаб хивчинлари бўлган бактериялар.

Психрофил микроорганизмлар - совуксевар микроорганизмлар бўлиб, +25°C дан юқори ҳароратда ривожланишдан тўхтади, лекин 0°C ва ундан паст ҳароратда ҳам ривожлана олади. Ривожланиши учун минималъ ҳарорат -0 °C, оптималъ -+10°C ҳисобланади.

Ризосфера микроорганизмлари - ўсимлик илдизига яқин жойлашиб ривожланадиган микроорганизмлар. Илдиз атрофида ва илдизда ривожланган ризосфера микроорганизмларининг миқдори тупроқ микроорганизмларига нисбатан бир неча марта кўп бўлади. Ризосфера микробиотаси тупроқ, турига ўсимлик тури ва ёшига боғлиқ бўлади.

Риккетсиялар - вируслар ва бактериялар оралиғидаги микроорганизмлар гуруҳи бўлиб, америкалик микробиолог Х.Т.Риккетс шарафига номланган. Ҳужайралари плеоморф шарсимон ёки таёқчасимон (0,2-0,6 x 0,4-2,0 мкм), ҳаракатсиз, грамманфий, спора ҳосил қилмайди, бинар бўлиниши ҳисобига кўпаяди. Бўғимоёқлилар ва сут эмизувчиларнинг ҳужайрасини облигат паразити ҳисобланади.

Сапрофитлар - ўлик органик бирикмаларни минерал моддаларга айлантириб озиқланувчи микроорганизмлар. Улар табиатда моддаларни айланишида асосий занжир ҳисобланади.

Сапрофитлар - ўсимлик ва ҳайвон колдиклари билан озиқланувчи, ноорганик моддалар ҳосил қилувчи организмлар.

Сарциналар - тўп-тўп бўлиб куб шаклида жойлашган шарсимон бактериялар (одатда 8 ёки ундан ортиқ шарлардан иборат бўлади.).

Сахаромицетлар (*Saccharomyces*) - Аскомицетлар синфига мансуб ачиткилар туркуми. Эукариот, овал ёки шар шаклида, 10 мкм узунликгача, мицелий ҳосил қилмайди. Куртакланиш йўли билан ва аскоспоралар ёрдамида кўпаяди. 20 дан ортиқ тури маълум. Маданий штаммларидан *S.cerevisiae* нон, пиво пиширишда ва бошқаларда кенг қўлланилади.

Симбиоз - организмларни бир-бири билан ҳамкорликда яшаш. Бу атама биринчи марта 1879 йилда Де Бари томонидан тавсия этилган. Симбиоз муносабатни комменсализм, паразитизм ва мутуализм турлари бор.

Синергизм - икки ёки ундан ортиқ моддаларни биргаликдаги таъсири бўлиб, ҳар бирининг самарасини оширади. Масалан, фармацевтика препаратлари.

Соф культура - фақат бир турга мансуб микроорганизм хужайраларидан иборат бўлган культура.

Спирилла - грамманфий бактериялар бўлиб, лотинча S ҳарфига шаклига ўхшаш 2-3 бурамали таёқчалар.

Спирохеталар - спираль ёки штопорга ўхшаш сербурамали таёқчалар.

Спиртли бизгити - бу жараён анаэроб шароитда ачитки замбуруғлар ва бактериялар томонидан углеводларни парчалаб этил спирти ҳосил бўлишидир.

Спорангий - замбуруғлар ва ўсимликлар споралари юзага келадиган орган.

Стрептококклар - мунчоққа ўхшаб тизилиб жойлашган шарсимон хужайралардан иборат бактериялар.

Сув ўтлари - эукариот организмларнинг махсус гуруҳи бўлиб, бир хужайралилари микробиологияда махсус гуруҳ сифатида ўрганилади. Буларга хлорелла, хламидомонада ва бошқалар киради.

Сулема - симоб хлориди, ($HgCl_2$) кучли захар. Сулеманинг 1% ли спиртдаги эритмаси антимикроб бирикма сифатида уруғларни дорилашда, кийим-кечак ва чойшабларни дезинфекция қилишда ишлатилади.

Сут кислотали бизгити - сут таркибидаги кандни (лактозани) бактериялар ёрдамида бижгитиб сут кислота ҳосил қилиш. Бу

бактерияларга *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus sp.* ва бошқалар киради.

Таксономия - организмлар классификацияси ва систематикасининг назарияси.

Термостат - иссиқликни бир хил ҳолатда ушлаб турадиган ускуна. Микробиология амалиётида микроорганизм культураларини ўстиришда оптимал шароит яратиш учун фойдаланилади.

Термофилл микроорганизмлар - юқори ҳароратли шароитларда ривожланадиган микроорганизмлар. Бу табиатдаги иссиқ булоқлар, нам сомон, гўнг, тупроқнинг устки қатламларида яшайди. Термофиллар 4 гуруҳга бўлинади. Термотолерант турлари 10 °-60 °C гача ривожланиб улар учун оптимал ҳарорат 35-40 °C факультатив турлари 20 °C да ҳам яшай олади, оптимал ҳарорат 50-65 °C, облигат термофиллар 70 °C да ривожланади ва 40 °C дан паст ҳароратда яшай олмайди, экстремаль термофиллар учун 80-105 °C оптимал ҳарорат бўлиб, 60 °C дан паст ҳароратда ривожлана олмайди. 90°C дан ортиқ ҳароратдаги қайноқ булоқларда ҳам қайд этилган.

Тиндализация - қаторасига 3 кун, кунига бир марта 30 дақиқадан Кох аппаратида 70-100°C ҳароратда қиздириш. Тиндализацияда спорали микроорганизмлар ҳам қирилиб кетади. Тиндализация инглиз физиги Ж.Тиндал томонидан яратилган.

Тион бактериялар - олтингургурт бактериялари бўлиб, улар ўзининг ривожланиши учун олтингургуртни оксидлаб, сульфат кислота ҳосил бўлгунча содир бўладиган жараёнлардан ҳосил бўлган энергияни олади.

Тузунак бактериялар - *Rhizobium*, *Brydarhizobium* каби туркумларни ўзига бириктирган, дуккакдош ўсимликлар илдизида симбиоз ҳолда яшовчи бактериялар гуруҳи. Улар молекуляр азотни ўзлаштириб тупроқни азотга бойитади.

Тур - генотипик бир хил бўлган, фенотип ўхшашлиги яққол кўзга ташланадиган асосий таксономик бирлик.

Фаглар - бактерияларни зарарловчи вируслар.

Формалин - формальдегиднинг сувдаги эритмаси (одатда 37-40%) таркибида 6-15 % метанол сақлайди. Дезинфекцияловчи модда.

Фосфобактерин - таркибида *Bacillus megaterium var. phoshaticum* бактериялари культурасини сақланган биоўғит.

Фосфобактерин фосфорли бирикмаларни парчалаб, ўсимлик томонидан ўзлашти-рилишига ёрдам беради.

Фузариум (*Fusarium*) - анаморф микроскопик замбуруғлар туркуми. Маданий ўсимликларда касалликлар келтириб чикаради.

Фунгицидлар - қишлоқ хўжалик экинларида касаллик келтириб чиқарувчи замбуруғларга қарши қўлланиладиган кимёвий моддалар ёки биологик агентлар.

Хемосинтез - бактериялар метаболизми бўлиб, CO_2 ни ўзлаштиришга асосланган. 1887 йилда С.Н.Виноградский томонидан кашф этилган. Масалан, нитрификаторлар, тион бактериялари ва бошқалар хемосинтезни аэроб шароитда амалга оширади. Хемосинтезни амалга оширувчи прокариотлар O_2 ўрнига олтингугурт бирикмаларини ишлатиши мумкин.

Хемотроф озиқланиш - ривожланиш учун (бактериялар) зарур бўлган энергияни экзотермик кимёвий реакция натижасида чиққан иссиқликдан фойдаланиб ўзи учун органик модда ҳосил қилишдир.

Хивчин - прокариот организмларни (бактериялар, сув ўтлари ва содда хайвонлар) ҳаракатлантирувчи органеллалари.

Цианобактериялар ёки кўк-яшил сув ўтлар - фототроф прокариот организмлар гуруҳи. Бир ва кўп хужайрали, хужайралари типик прокариотларникидек, ядроси алоҳида девор билан ўралмаган. Цианобактериялар 5 та тартибга: *Chlorococcales* ва *Pleurocapsales* лар бир хужайрали, *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigonematales* лар кўп хужайрали.

Штамм - микроорганизмларнинг соф культураси, бир турга мансуб бўлиб айрим хусусиятлари билан фаркланадиган микроорганизмлар тури.

Эндоспора - бациллалар, клостридийлар вегетатив хужайралари ичида пайдо бўладиган споралар. Стресс ташқи таъсир (юқори ҳарорат, қурғоқчилик ва бошқа) ларга чидамли бўлади. Эндоспорларни ҳосил бўлиши спора ҳосил қилувчи бактерияларни табиатда яшаб қолиши учун асосий омил ҳисобланади.

Эукариотлар - ядроси алоҳида қобик билан ўралган организмлар. Эукариотларга ҳамма юксак ўсимликлар, хайвонлар, сувўтлари ва замбуруғлар киради. Эукариот организмлар *Eucaryota* кенжа дунёсига киради.

Кайдлар учун:

МУНДАРИЖА

КИРИШ.....	4
МИКРОБИОЛОГИЯ ЛАБОРАТОРИЯСИ ВА УНДА ИШЛАШ КОИДАЛАРИ	4
МИКРОСКОП ВА УНИНГ ТУЗИЛИШИ.....	9
ПРЕПАРАТЛАРНИ ТАЙЁРЛАШ ВА БЎЯШ УСУЛЛАРИ.....	18
МИКРООРГАНИЗМЛАР МОРФОЛОГИЯСИ.....	26
СТЕРИЛЛАШ УСУЛЛАРИ.....	36
МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЎСТИРИШ УЧУН ОЗИҚА МУҲИТЛАРИНИ ТАЙЁРЛАШ УСУЛЛАРИ.....	41
МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЭКИШ.....	47
МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ СОФ КУЛЬТУРАСИНИ АЖРАТИШ ВА БЕЛГИЛАРИНИ ЎРГАНИШ ҲАМДА УЛАРНИНГ ТУРЛАРИНИ АНИҚЛАШ	50
СУВДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ.....	58
ҲАВОДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ.....	60
ТУПРОҚДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ.....	63
СПИРТЛИ БИЖҒИШ.....	66
СУТ КИСЛОТАЛИ БИЖҒИШ.....	69
МОЙ КИСЛОТАЛИ БИЖҒИШ.....	72
ПЕКТИНЛИ БИЖҒИШ.....	74
КЛЕТЧАТКАЛИ БИЖҒИШ.....	75
АММОНИФИКАЦИЯ ЖАРАЁНИ.....	77
НИТРИФИКАЦИЯ.....	79
ДЕНИТРИФИКАЦИЯ.....	81
АЗОТ ТЎПЛАШ.....	82
ОЛТИНГУГУРТ ВА ТЕМИР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ	89
ФОСФОР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ.....	93
РИЗОСФЕРА МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ.....	96
ЭПИФИТ МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ.....	99
МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ АНТАГОНИСТИК ХУСУСИЯТЛАРИНИ АНИҚЛАШ.....	100
ГЛОССАРИЙ.....	105

7
x
Д
Зупаров М.А., Хакимов А.А., Рахмонов У.Н., Саттарова
Р.К., Хакимова Н.Т., Аллаяров А.Н.

МИКРОБИОЛОГИЯДАН ЛАБОРАТОРИЯ
МАШҒУЛОТЛАРИ
(ўқув қўлланма)

Тошкент – 2014

237x

Босишга рухсат берилди 06.11.2014. Бичими (60x84) 1/16. Шартли босма табағи 7,25.
Нашриёт босма табағи 7,25. Адади 100 нусха.

Ўзбекистон Республикаси Давлат матбуот қўмитасининг 21-2254 сонли гувоҳномаси
асосида ТошДАУ Таҳририят-нашриёт бўлимининг РИЗОГРАФ аппаратида чоп этилди.

