



ZUPAROV M. A.

MIKROBIOLOGIYA

(LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI)



ZUPAROV M.A.

MIKROBIOLOGIYA

(laboratoriya mashg'ulotlari)



Toshkent
"Fan zargari" nashriyoti
2024

UO'K: 579.6:63(075.8)
KBK: 28.4+4ya73
Z 94

Zuparov M.A. Mikrobiologiya (laboratoriya mashg'ulotlari) –
[Matn] / T.: "Fan zargari" nashriyoti, 2024. 128 bet.

Tuzuvchi:
M.A.Zuparov

Taqrizchilar:

- N.K.Bekmuxamedova** – O'zRFA Mikrobiologiya insituti katta ilmiy xodimi,
biologiya fanlari nomzodi
B.Nasirov – ToshDAU "O'simliklarni himoya qilish" kafedrası
professori

ISBN: 978-9910-9324-8-9

Ushbu laboratoriya mashg'ulotlari bo'yicha o'quv qo'llanmada "Mikrobiologiya" fani bo'yicha o'tiladigan laboratoriya mashg'ulotlarining mavzusi, uni o'tkazish uchun dastur, material va jihozlari, topshiriqlarning qisqacha mazmuni, topshiriqlarni bajarish usuli va tartibi hamda olingan natijalarni muhokama qilish bo'yicha tushuncha berilgan.

Bilim sohasi:	300000	- Ishlab-chiqarish texnik soha
Ta'lim sohasi:	320000	- Ishlab-chiqarish texnologiyalar
Ta'lim yo'nalishi:	5320500	- Biotexnologiy (tarmoqlar bo'yicha)

O'quv qo'llanma "Agrobiotexnologiya" kafedrası yig'ilishida (2021-yil 14-oktyabrdagi 3-sonli bayyonnoma), qishloq xo'jaligi mahsulotlarini saqlash va qayta ishlash fakulteti o'quv-uslubiy komissiyasi 2021-yil 22-oktyabrdagi 3-sonli yig'ilishida hamda ToshDAU o'quv-uslubiy kengashining 2021-yil 3-noyabr 2-sonli yig'ilishida ko'rib chiqilib, chop etishga ruxsat berilgan.

UO'K: 579.6:63(075.8)
KBK: 28.4+4ya73

ISBN:978-9910-9324-8-9

© "Fan zargari" nashriyoti, 2024.

Mikrobiologiya fanidan mazkur o'quv qo'llanma 400000 – qishloq va suv xo'jaligi bilim sohasi, 410000 – qishloq, o'rmon va baliq xo'jaligi ta'lim sohasining, 5320500 – biotexnologiya (tarmoqlar bo'yicha) ta'lim yo'nalishiga mo'ljallangan bo'lib, boshqa agronomik bakalavriant yo'nalishlari uchun ham tavsiya etiladi. O'quv qo'llanma Davlat ta'lim standartlari hamda o'quv dasturlariga mos holda yozilgan. Ushbu o'quv qo'llanma talabalarda mikrobiologiya fanidan nazariy bilimlari va amaliy ko'nikmalarni shakllantirishga imkoniyat yaratadi.

Mikrobiologiya fani bo'yicha laboratoriya mashg'ulotlari uchun o'quv qo'llanmada nazariy ma'lumotlar va laboratoriya ishlarini bajarish usullari keltirilgan.

Mazkur o'quv qo'llanma quyidagi mavzulardagi topshiriqlarni o'z ichiga olgan:

- mikrobiologiya laboratoriyasi va unda ishlash qoidalari;
- mikroskop va uning tuzilishi;
- preparatlarni tayyorlash va bo'yash usullari;
- mikroorganizmlar morfologiyasi;
- sterillash usullari;
- mikroorganizmlarni o'stirish uchun ozuqa muhitlarini tayyorlash usullari;
- mikroorganizmlarni ekish;
- mikroorganizmlarning sof kulturasini ajratish va belgilarini o'rganish hamda ularning turlarini aniqlash;
- suvdagi mikroorganizmlarning miqdorini aniqlash;
- havodagi mikroorganizmlarning miqdorini aniqlash;
- tuproqdagi mikroorganizmlarning miqdorini aniqlash;
- spirtli bijg'ish
- sut kislotali bijg'ish;
- moy kislotali bijg'ish;
- pektinli bijg'ish;
- kletchatkali bijg'ish;
- ammonifikatsiya jarayoni;
- nitrifikatsiya;
- denitrifikatsiya;

- azot to'plash;
- oltingugurt va temir bakteriyalarini aniqlash;
- fosfor bakteriyalarini aniqlash;
- rizofera mikroorganizmlarini aniqlash;
- epifit mikroorganizmlarini aniqlash;
- mikroorganizmlarning antagonistik xususiyatlari.

Har bir topshiriq yoki umumiy mavzuga tegishli topshiriqlar bo'yicha qisqa nazariy ma'lumotlar berilgan, laboratoriya mashg'ulotlarini bajarishda foydalaniladigan usullarni qo'llash yo'llari ko'rsatilgan va mashg'ulotlarni o'tkazish rejalari, ularni bajarishda qilinadigan ishlarning ketma-ketligi hamda talabalarni tekshirishga oid savollar keltirilgan.

Bitta laboratoriya mashg'ulotida (ikki akademik soatda) bitta topshiriq yoki umumiy mavzuga tegishli bo'lgan birgina topshiriq bajarishga mo'ljallangan. Shuningdek, o'quv qo'llanma oxirida adabiyotlar ro'yxati berilgan.

Аннотации

Это учебное пособие по микробиологии предназначен для направления обучения 400 000 – сельское и водное хозяйство, 410 000 – сельское, лесное и рыбное хозяйство, 5320500 – биотехнология (по отраслям) и рекомендуется для обучения по другим направлениям бакалавриата в области агрономии. Учебник написан в соответствии с государственными образовательными стандартами и учебными планами. Этот учебник дает студентам возможность развить теоретические знания и практические навыки по микробиологии.

Учебник для лабораторных занятий по микробиологии дает теоретические сведения и методы лабораторных работ.

Учебник охватывает следующие темы:

- микробиологическая лаборатория и правила работы в ней;
- микроскоп и его структура;
- методы приготовления и окрашивания препаратов;
- морфология микроорганизмов;

- методы стерилизации;
- методы приготовления питательных сред для выращивания микроорганизмов;
- культивирование микроорганизмов;
- получение чистых культур микроорганизмов;
- определение видов;
- выявление микроорганизмов в воде, в воздухе;
- выявление микроорганизмов в воздухе;
- выявление микроорганизмов в почве;
- спиртовое брожение;
- молочно-кислое брожение;
- пектиновое брожение;
- клетчаточное брожение;
- процесс аммонификации;
- нитрификация;
- денитрификация;
- накопление азота;
- определение серных и железобактерий;
- обнаружение фосфорных бактерий;
- выявление ризосферных микроорганизмов;
- обнаружение эпифитных микроорганизмов;
- определение антагонистических свойств микроорганизмов.

Дается краткая теоретическая информация по каждому заданию или заданию по общей теме, даются способы выполнения работы, а также даются планы занятий, последовательность выполняемых работ и вопросы для проверки студентов.

Одно лабораторное занятие (два академических часа) предназначено для выполнения одного задания или задания, относящегося к общей теме. В конце учебника также есть список использованной литературы.

Annotation

This textbook on microbiology is intended for the direction of training 400,000 – agriculture and water management, 410,000 – agriculture, forestry and fisheries, 5320,500 – biotechnology (by industry) and is recommended for training in other areas of bachelor's degree in agronomy. The textbook complies with state educational standards and curriculum. The textbook allows students to develop theoretical knowledge and practical skills on the subject.

The textbook for laboratory classes in microbiology provides theoretical information and methods of laboratory work.

The textbook covers the following topics:

- microbiological laboratory and the rules of work in it;
- microscope and its structure;
- methods of preparation and staining of preparations;
- morphology of microorganisms;
- sterilization methods;
- methods of preparation of culture media for growing microorganisms;
- cultivation of microorganisms;
- obtaining pure cultures of microorganisms;
- identification of species;
- identification microorganisms in water;
- identification microorganisms in the air;
- detection of microorganisms in the soil;
- alcoholic fermentation;
- lactic acid fermentation;
- pectin fermentation;
- clotting fermentation;
- ammonification process;
- nitrification;
- denitrification;
- nitrogen accumulation;
- determination of sulfur and iron bacteria;
- detection of phosphorus bacteria;
- detection epiphytic microorganisms;

- determination of the antagonistic properties of microorganisms.

A brief theoretical information is given on each task or task on a general topic, methods of doing the work are given, as well as lesson plans, the sequence of work performed and questions for students to check.

One laboratory lesson (two academic hours) is designed to complete one assignment or assignment related to a general topic. There is also a list of literature used in the textbook.

MIKROBIOLOGIYA LABORATORIYASI VA UNDA ISHLASH QOIDALARI

Mashg'ulotni o'tish tartibi: mikrobiologik laboratoriyalarni tashkil etish va unda ishlash qoidalarini bilan tanishadilar. Mikrobiologik laboratoriyalarning asosiy asboblari va jihozlaridan foydalanish usullarini o'rganadilar.

Kerakli asboblari: mikrobiologiya laboratoriyalarida foydalaniladigan asosiy asbob-uskunalar: avtoklav, termostat, quritish shkafi, laminar boks, mikroskop va boshqa asboblari, idishlar.

Mikrobiologiya laboratoriyasi uchun ajratilgan xona yorug', keng, uning tabiiy yoritilganligi 110 lk dan kam bo'lmasligi kerak. Laboratoriya xonasining tagiga oson yuviladigan linoleum to'shalgan, stollarning sirti plastik materiallar bilan qoplangan bo'lishi lozim. Xona devorlarini yerdan 170 cm balandlikkacha kafel qoplash yoki moy bo'yoq bilan bo'yash zarur. Mikrobiologiya xonasidagi stollar laboratoriya tipida va u yerda reaktiv hamda idishlarni qo'yish uchun shkaf va peshtaxtalar bo'lishi kerak. Stollar elektr va gaz tarmog'iga ulangan manbaga ega bo'lishi talab etiladi.

Mikrobiologiya laboratoriyasi asosiy xonadan tashqari, avtoklav va quritish shkafi qo'yiladigan sterilizatsiya xonasiga, boks, idish yuvadigan xona, sovutkich va termostat qo'yiladigan, mikroorganizmlarning kulturalarini saqlaydigan xonalarga va hokazolarga ega bo'lishi zarur. Boks – mikroorganizmlarni ekadigan unchalik katta bo'lmagan xona bo'lib, u ikkiga ajratilgan bo'lishi lozim. Boksdagi asosiy ishlash xonasiga kichik xona, ya'ni tamburdagi suriladigan eshik orqali kiriladi. Bu holat ma'lum darajada eshik ochilganda tashqaridagi havo orqali mikroorganizmlarning to'g'ridan-to'g'ri kirib kelishining oldini oladi. Boks ichida ishchi va bakteritsid lampa bo'lishi kerak. Hozirgi vaqtda stolga joylashtiriladigan turli kattalikdagi ichida steril havosi almashib turadigan laminar bokslar ham keng ishlatilmoqda.

Mikrobiologik laboratoriyalarida mikroorganizmlar bilan ish olib boriladi. Qishloq xo'jalik oliy o'quv yurtlarining agronomiya yo'nalishlarida mikrobiologik tadqiqotlar, asosan, o'simliklarning

o'sishi va rivojlanishi hamda qishloq xo'jalik mahsulotlarini qayta ishlash jarayonida ishtirok etuvchi mikroorganizmlar ustida olib borilsa-da, ularning orasida insonlarda kasallik qo'zg'atuvchi turlari ham bo'lishi mumkin. Shuning uchun laboratoriyada xodim va talabalar o'zlariga ayrim kasalliklarni yuqtirmaslik uchun ichki tartib-qoidalariga qat'iy rioya qilishlari zarur. Ular quyidagilardir:

1. Barcha xodim va talabalar oq xalatda ishlashlari kerak. Laboratoriyaga xalatsiz kirish mutlaqo mumkin emas. Zarur hollarda xodim va talabalar yuzlariga dokadan tayyorlangan niqoblarni taqishlari shart.

2. Laboratoriyada chekish va ovqatlanish man etiladi.

3. Ish joyi toza va namunali saqlanishi lozim. Xodim va talabalarning shaxsiy kiyimlari maxsus ajratilgan joylarda saqlanishi kerak.

4. Mikroorganizmlarning sof kulturalarini saqlash, kuzatish va ularni o'ldirish maxsus qo'llanmaga ko'ra olib borilishi lozim.

5. Ishni tamomlagach, qo'lni yaxshilab yuvish va kerak bo'lsa, dezinfeksiya qiluvchi eritmadan foydalanish darkor.

Mikrobiologik laboratoriyalar tuman yoki viloyatlardagi o'simliklarni himoya qilish bo'limlarida, o'simliklarni himoya qilish va qishloq xo'jalik ekinlarining nav sinash stansiyalarida, qishloq xo'jalik mahsulotlarini qayta ishlaydigan korxonalar qoshida, pivo va vino hamda sut mahsulotlari ishlab chiqariladigan zavodlarda tashkil etiladi. Bu laboratoriyalarda o'simlik, tuproq va ekinlarning urug'laridan olingan namunalar hamda qishloq xo'jalik xom ashyolarini qayta ishlab chiqarish jarayonini boshqarish davomida olingan namunalar mikrobiologik usullar bilan tekshiriladi.

Bundan tashqari, suv, havo, oziq-ovqat mahsulotlari va turli buyumlar ham mikrobiologik tekshiruvdan o'tkaziladi. Mikrobiologik laboratoriyada mikroorganizmlarni sof holda ajratib olish uchun boks yoki laminar bo'lishi shart.



Yorug'lik mikroskopi



Avtoklav



Quritish shkafi



Termostat



Sentrifuga



Suv hammomi



Laboratoriya shisha idishlari

Mikrobiologiya laboratoriyasi quyidagi asboblardan ta'minlangan bo'lishi kerak: biologik va lyuminessentli mikroskop, termostat, sterillash uchun asboblardan (avtoklav, quritish shkafi, Kox apparati), pH-metrlar, distillangan suv tayyorlaydigan asbob (distillyator), sentrifugal, texnik hamda analitik tarozilar, filtrlaydigan asbob (Zeyts filtri va boshqalar), suv hammomi, sovutkichlar, paxta-dokali probkalar tayyorlaydigan apparat, asboblardan to'plam (bakteriologik sirtmoq, shpatellar, ignalar, pinset va boshqalar), laboratoriya idishi (probirkalar, kolbalar, Petri likobchalari, flakonlar, ampulalar, belgili va belgisiz pipetkalar).

Laboratoriyada mikroskopik preparatlarni bo'yash uchun alohida joy ajratilgan bo'ladi. Bu yerda bo'yoqlar eritmasi, spirt, kislotalar, filtr qog'oz va boshqalar mavjud bo'lishi kerak. Har bir ish joyi gaz yoki spirtli lampa va dezinfeksiya eritmasi solingan shisha idishlar bilan ta'minlanganishi lozim. Kundalik ishlatish uchun laboratoriyada yetarli miqdorda ozuqa muhitlari, kimyoviy reaktivlar va boshqa kerakli narsalar bo'lishi zarur. Yirik laboratoriyada mikroorganizmlarni ko'p miqdorda o'stirish uchun termostat xonasi bo'lishi maqsadga muvofiq.

Mikrobiologik laboratoriyalarda qo'llaniladigan asboblardan:

Termostat. Bu jihozda issiqlik bir xil darajada saqlanib turadi. Ko'p mikroorganizmlarning ko'payishi uchun qulay harorat 25 – 27°C hisoblanadi. Termostatlar quruq, havoli va suvli bo'ladi. Bulardan mikroorganizmlarni o'stirish uchun foydalaniladi.

Quritish shkafi (Paster pechi). Shisha, chinni va metallardan yasalgan laboratoriya idishlari hamda boshqa materiallarni sterillash uchun mo'ljallangan.

Avtoklav. Bu jihoz bug' va bosim bilan sterillashga mo'ljallangan. Mikrobiologik laboratoriyalarda avtoklavlarning turli xillari (gorizontal, vertikal shakldagi, ko'chirib bo'lmaydigan va ko'chirish mumkin bo'lgan turlari) ishlatiladi.

Sovutkichlar. Mikroorganizmlarni, ozuqa muhitlarni, zardob va boshqa biologik jihatdan faol preparatlarni 4°C atrofida saqlash uchun foydalaniladi. Biopreparatlarni 0°C dan past haroratda saqlash uchun past haroratli sovutkichlardan foydalaniladi. Bularda harorat -20°C va undan ham past bo'lishi mumkin.

Sentrifugalalar. Bular mikroorganizmlar hujayralarini cho'ktirish, bir xil bo'lmagan suyuqliklarni ajratish uchun ishlatiladi. Laboratoriyada turli tezlikda aylanadigan sentrifugalardan foydalaniladi.

Mikroorganizmlarning koloniyalarini hisoblovchi asbob. Yarim avtomat hisoblovchi asbob prujina moslama bilan ignaga ulangan. Igna Petri likobchasidagi koloniya ustiga bir oz tekkaziladi va likobcha yuzasida iz qoladi. Bundan qo'l bilan ushlanadigan qismi yuqoriga ko'tariladi, natijada zanjir berkiladi, asbob hisoblay boshlaydi.

MIKROSKOP VA UNING TUZILISHI

Mashg'ulotni o'tish tartibi: biologik mikroskopning tuzilishi va ular bilan ishlash qonun-qoidalarini o'rganadilar. Mikroskopni yig'ilgan holdagi hamda uning alohida qismlari bilan tanishadilar. Talabalar mikrobiologik tadqiqotlar olib borishda mikroskopda ishlash texnikasini o'rganadilar.

Kerakli asbob va reaktivlar: mikroskop, turli obyektiv va okulyarlar, mikroorganizmlarning bo'yalgan mazoklari, immersion moy, doka salfetkalari, mikroorganizmlarning tasviri ko'rsatilgan javdallar.

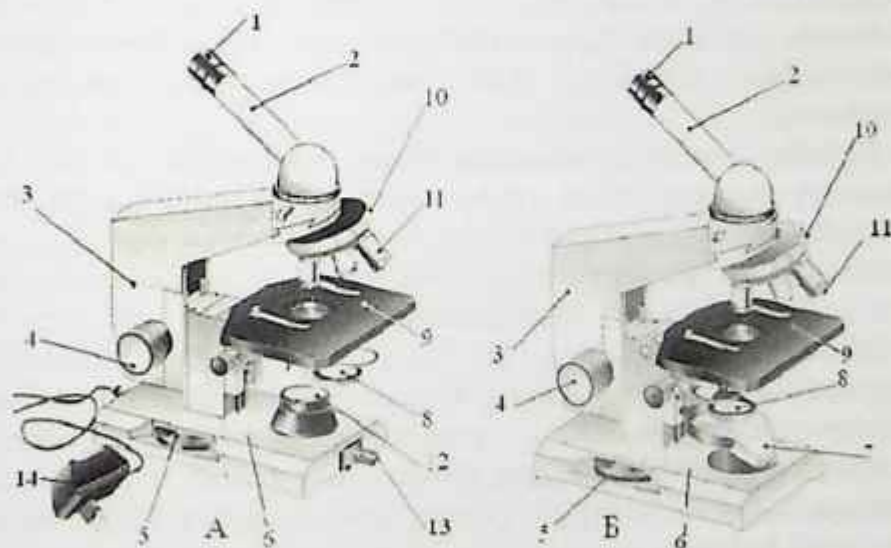
Mikroorganizmlarni kuzatish va tekshirish uchun mikroskoplarning bir necha turi (biologik, lyuminessent, elektron) dan foydalaniladi.

Biologik mikroskop. Mikrobiologik amaliyotda qo'llaniladigan yorug'lik mikroskoplari mikroorganizmlarning shakli, tuzilishi, o'lchami va boshqa belgilarini aniqlash va kattaligi 0,2 – 0,3 mkmdan kichik bo'lmagan mikroorganizmlarni ko'rish uchun mo'ljallangan. Immersion obyektivlar yordamida mikroskopda 0,2 mkmdan kichik bo'lgan obyektlarni ko'rish mumkin.

Biologik mikroskop ikkita asosiy qismdan iborat: mexanik va optik.

Mexanik qismlariga – shtativ, tubus, revolver, mikrovint, makrovint, buyum stolchasi kiradi.

Optik qismiga – okulyar, obyektiv, yoritgich yoki kondensor, ko'zgu kiradi.



MIKMED-1

BIOLAM

1-okulyar, 2-tubus, 3-tubus tutqichi, 4-makrovint, 5-mikrovint, 6-taglik, 7-ko'zgu, 8-kondensor, iris diafragmasi va svetofiltr, 9-buyum stolchasi, 10-revolver uskunasi, 11-obyektiv, 12-kollektor linza korpusi, 13-lampa, 14-elektr toki manbai.

Mexanik qismi: shtativ – mikroskopning asosiy qismi bo'lib, u makrovint va mikrovint, tubus, tubusning pastki qismiga

o'rnatilgan revolver va boshqalardan iboratdir. Tubus vintlar yordamida harakatlanadi, makrovint – fokusni taxminan, mikrovint – fokusni aniq to'g'rilash uchun ishlatiladi. Makrovint bir marta to'la aylantirilganda truba 0,1 mm suriladi. Mikrovint esa juda ehtiyotlik bilan aylantirilishi kerak, chunki uning juda nozik kertigi bor. Buyum stolchasi – unga preparat qo'yiladi. Buyum stolchasi harakatlanadigan yoki harakatlanmaydigan bo'lishi mumkin. Harakatlanuvchi stolcha preparatni turli tomonga surish uchun kerak, stolchani yon tomonida ikkita vint buraladi. Preparatlarni qo'l bilan surilgandan ko'ra, vint bilan aniq surish mumkin.

Optik qismi: okulyar – ikkita linzadan tuzilgan bo'lib, birinchisi yig'uvchi linza obyektivga qaragan, ikkinchisi esa – asosiy linza ko'zga qaragan bo'ladi. Okulyarning necha marta katta qilib ko'rsatishi gardishida yozib qo'yilgan bo'ladi (7x, 10x, 15x). Bakteriyalarni tekshirganda, ko'pincha, 15x belgisi qo'yilgan okulyardan foydalaniladi.

Obyektivlar: obyektivning gardishida yozilgan 8, 40, 90, 120 raqamlari shu obyektivni necha marta katta qilib ko'rsatishini bildiradi. 8-obyektiv kamroq katta qilib ko'rsatsa, 40-obyektiv o'rtacha, 90 va 120 immersion obyektiv juda katta qilib ko'rsatadi. Immersion obyektiv deyilishining sababi, bu obyektivdan foydalanilganda preparatga bir tomchi kedr moyi (immersion moy) tomiziladi va obyektiv linzasi shu moy tomchisiga botiriladi. Obyektiv immersion moyga botib turganligidan unga yorug'lik nurlari ko'proq tushadi. Buning sababi shuki, kondensordan buyum oynasiga keluvchi yorug'lik nurlari shu oynada sinadi. Oynada kedr moyi bo'lmasa, obyektiv shu joyga botib turadi, moyning nur sindirish koeffitsiyenti buyum oynasining yorug'lik nur sindirish koeffitsiyenti bilan bir-biriga yaqin bo'lgani uchun yorug'lik nurlari bir jinsli muhitdan o'tib ketadi va sinmaydi, buyum oynasidan kedr moyi orqali to'g'ridan-to'g'ri obyektiv linzasiga boradi. Natijada tekshirilayotgan mikroorganizmlar aniq ko'rinadi. Demak, yorug'lik nurlari faqat bir marta sinadi. Buyum oynasi bilan linza orasida moy o'rniga havo bo'lsa (havo nurni moyga qaraganda kamroq sindiradi), havoda yorug'lik nurlari ikkinchi marta sinadi, shunga ko'ra obyektiv

linzasiga kamroq nur boradi. Buyum oynasining yorug'lik sindirish koeffitsiyentiga qaraganda ($n=1,32$) havoning yorug'lik sindirish koeffitsiyenti ($n=1,0$) kamroq bo'ladi.

Obyektivlar ikki xil sistemada – quruq va immersion bo'ladi. Quruq sistemaga 8 va 40 obyektivlar kiradi, ular bilan ishlaganda immersion moy ishlatilmaydi. 8-obyektivdan foydalanilganda kondensor pastga tushiriladi, 40-obyektivda esa kondensor biroz ko'tariladi. Quruq obyektivda tirik mikroob ko'rilsa, immersion obyektivda o'lik yoki bo'yalgan mikroblar ko'riladi.

Mikroorganizmlarni necha marta kattalashtirilganini bilish uchun obyektiv va okulyarning ko'rsatkichlari bir-biriga ko'paytiriladi. Masalan, obyektiv 90x bo'lib, okulyar 15x ga teng bo'lsa, ularning ko'paytmasi 1350 ga teng, ya'ni mikroblar mikroskopda 1350 marta katta qilib ko'rsatilgan hisoblanadi.

Ko'zgu ikki xil bo'ladi – botiq va yassi. Yoritgich bilan ishlaganda, asosan, yassi ko'zgudan foydalaniladi, chunki bu ko'zgu yorug'lik nurlarini parallel tutam qilib beradi. Yorug'lik kam bo'lgandagina botiq ko'zgudan foydalaniladi.

Yoritgich yoki Abbe kondensori. Bunga mikroskop stolchasining ostidagi iris diafragma biriktirilgan bo'ladi. Kondensor linzalarning murakkab sistemasidan iborat bo'lib, mikroskopning ko'ruv maydonini bir tekis yaxshi yoritish uchun kerak. Ko'zgudan yoritgichga tushadigan nurlar tutami shu yerda yig'iladi, yoritgichdan yana-da ravshanroq parallel nurlar tutami chiqib, obyektiv linzasiga tushadi. Shu sababli ko'zgudan va yoritgichdan foydalanganda mikroskopning ko'ruv maydoni ko'zguning yolg'iz o'zidan foydalanishga qaraganda yaxshiroq yoritiladi.

Obyektlarni kamroq va o'rtacha katta qilib ko'rsatadigan obyektivlardan foydalanganda yoritgichni tushirib qo'yish kerak, chunki bunday obyektivlarning linzalari kattaroq bo'ladi, yoritgich tushirib qo'yilganda ham ularga yetarli yorug'lik tushaveradi, yorug'lik haddan tashqari ravshan bo'lsa, mikroblarni ko'rish qiyinlashadi. Immersion obyektivdan foydalanilganda yoritgich buyum stolning tomoniga tegiziladi, chunki immersion obyektiv linzasi juda kichik bo'ladi, yoritgich shu linzaga qancha yaqin bo'lsa, unga shuncha

ko'proq nur tushadi. Tushadigan yorug'lik nurlarini iris diafragma yordami bilan ham o'zgartirish mumkin. Immersion obyektiv bilan ishlaganda diafragmani butunlay ochib qo'yish lozim.

Biologik mikroskopga qo'shimcha moslamalar. Bu moslamalar mikroskopning butun imkoniyatidan to'liq foydalanish imkonini beradi, ishlash sharoitini yengillashtiradi va ularni qo'llash doirasini birmuncha kengaytiradi. Mikrobiologik laboratoriyalarda asosan quyidagi moslamalardan foydalaniladi:

- 1) qorong'ilashtiruvchi kardiod va paraboloid - kondensorlar;
- 2) fazo-kontrast moslamalar;
- 3) ko'rinishni tabiiy sharoitga yaqinlashtiruvchi juft okulyarli nasadka);
- 4) qulay va turg'un yorug'likni ta'minlovchi yoritgichlar;
- 5) mikroskopik obyektlarni o'lchash uchun mo'ljallangan okulyar - mikrometr va obyekt - mikrometrlar;
- 6) preparatlarning rasmini chizuvchi, rasm oladigan asbob. Bu asbob yordamida bir vaqtning o'zida obyekt va stoldagi mikroskopga yaqin turgan qog'oz tasvirini ko'rish va qog'ozga konturlarini chizish mumkin;
- 7) yorug'lik manbayi bilan mikroskop oralig'iga o'rnatiluvchi va mikrofotoqrafiyalarda, mikroskopiyaning maxsus usullarida qo'llanuvchi rangli, neytral, optik yorug'lik filtrlari;
- 8) mikroskopik obyektlarning rasmini olish uchun ishlatiluvchi mikromoslamalar;
- 9) qisqa (seytrofer) mikrokinoga olish uchun foydalaniladigan juda kichkina moslama, u fazo-kontrast mikroskopiya bilan birgalikda mikroorganizmlarning rivojlanishi, ko'payishi, dinamikasini, ularga turli omillarning ta'siri va boshqa ko'p masalalarni o'rganish uchun ishlatiladi.

Qorong'i ko'ruv maydonidagi mikroskopiya. Qorong'i ko'ruv maydonida mikroskop ostida ko'rish, suyuqlikdagi juda mayda zarrachalar aralashmasining yon tomondan kuchli yoritilishi natijasida hosil bo'ladigan yorug'lik difraksiyasiga asoslangan. Bunga biologik mikroskopdagi oddiy kondensorni paraboloid yoki kardiod - kondensor bilan almashtirish natijasida erishiladi.

Fazo-kontrast mikroskopiya. Shaffof obyektlardan yorug'lik to'lini o'tayotganda fazo o'zgarishlarining amplituda o'zgarishlariga aylanishiga asoslangan, buni ko'z bilan sezsa bo'ladi.

Fazo-kontrast moslama yordamida obyektдан o'tuvchi yorug'lik to'linlarning fazoviy o'zgarishlarini amplitudali va shaffof obyektlarga aylanib mikroskop ostida ko'rinadigan bo'ladi. Bunda ular yuqori kontrastli tasvirlarga ega bo'lib, pozitiv yoki negativ bo'lishi mumkin. Pozitiv fazo-kontrast deb, yorug' ko'rish maydonida obyektning qora, negativ fazo-kontrast deb, qorong'ilikda obyektning yorug' tasviriga aytiladi. Fazo-kontrast mikroskopda ko'rish uchun oddiy mikroskop va unga qo'shimcha moslamadan foydalaniladi.

Lyuminessent yoki flyuoressent mikroskopda ko'rish. Lyuminessensiya - moddalarga qandaydir energiya manbayi ta'sir qilganda ularda yorug'lik tarqaladi. Bularga yorug'lik, elektron nurlari, ionlashtiruvchilar kiradi. Fotolyuminessensiya - obyektning ta'sirida lyuminessensiya qilinishidir. Lyuminessensiya qisqa to'liqli nurlar yordamida hosil bo'ladi. Agar lyuminessensiya qilinadigan obyektga ko'k yorug'lik yuborilsa, u qizil, to'q sariq, sariq yoki yashil ranglarni tarqatadi. Natijada obyekt rangli ko'rinadi.

Birlamchi lyuminessensiya obyekt oldindan bo'yalmasa ham kuzatiladi. Ikkilamchi lyuminessensiya esa, preparatni maxsus lyuminessent bo'yoqlar - flyuoraxmalar bilan bo'yalganda hosil bo'ladi. Lyuminessent mikroskopiya boshqa usullarga nisbatan bir muncha afzalliklarga ega: tirik mikroorganizmlarni tekshirish va tekshirilayotgan materiallarda juda kam miqdorda bo'lsa ham ularni topish.

Laboratoriya amaliyotida ko'pchilik mikroorganizmlarni aniqlash va o'rganish uchun lyuminessent mikroskoplardan keng foydalaniladi.

Elektron mikroskopda ko'rish. Elektron mikroskop yordamida yorug'lik mikroskopi bilan ko'rib bo'lmaydigan (0,2 mkm) kichik obyektlar ko'riladi. Elektron mikroskop viruslar, mikoplazmalar, turli mikroorganizmlarning nozik tuzilishi, makromolekulyar birikmalari va boshqa submikroskopik obyektlarni o'rganish uchun qo'llaniladi. Bunday mikroskoplarda yorug'lik nurlarini elektron oqimlari egallaydi. Ushbu elektron oqimlarining to'liqli uzunligi 0,005 nm

bo'lib, deyarli ko'rinadigan yorug'lik to'lqinlarining uzunligidan 100 000 marta kalta. Elektron mikroskopining eng kuchli ko'rsata olish imkoniyati amalda 0,1 – 0,2 nm bo'lib, umuman 1000000 martagacha katta qilib ko'rsatadi.

"Nur tarqatuvchi" elektron asboblardan ham foydalaniladi. Ular obyekt relyefini yaxshi ko'rsatadi. Ammo bu mikroskopning katta qilib ko'rsatish imkoniyati "nur tarqatuvchi" elektron mikroskopnikidan kam.

Mikroskopni ishlash uchun tayyorlash: Mikroskopni quyosh nuri to'gridan-to'g'ri tushadigan joydan uzoqda joylashtirish zarur. Buyum stolining qora rangda bo'yalishi ko'zning kamroq toliqishiga sabab bo'ladi.

Mikroskopga o'ng ko'zni yummaganda chap ko'z bilan qarash tavsiya etiladi. Binokulyar bilan ishlash vaqtida okulyar ikkisinin ham ko'rish maydonini bir tekislikka keltirib, har ikki ko'z uchun bir xil ko'rinishni hosil qilishi kerak.



Yorug'lik mikroskopi
Leica - DM3000



Lyuminescent mikroskop
Mikromed 3 LYuM



Yorug'lik mikroskopi uchun okulvar va obyektivlar



Elektron mikroskop - Hitachi H-7650

Mikroskopni bir joydan ikkinchi joyga ikkita qo'l yordamida ko'chiriladi, bunda biri bilan shtativ ushlab turilsa, ikkinchisi bilan uning asosi ushlanadi. Mikroskopni boshqa buyumlar bilan urilishidan, turli moddalar ta'siridan (kislota va ishqorlardan) saqlash kerak. Okulyarni trubkadan chiqarib qo'yish mumkin emas, chunki bu holat obyektiv va trubkaning chang bosishiga olib keladi.

Immersion obyektiv bilan ishlash. Mikroskopning immersion obyektivi ($V=90\times$; $A=1,25$) bilan ishlash vaqtida ko'zguning yassi tomoni qaratiladi va kondensor ko'tariladi.

Immersion suyuqlik (kedr moyi) preparat ustiga tomizilganda, uni buyum oynasiga surtib yuborilmaydi. Immersion suyuqlikka faqat immersion obyektivni botirish mumkin. Immersion suyuqlikka frontal linzaning botishini yon tomonidan kuzatiladi.

Makrovint fokusga to'g'rilab olingandan so'ng, ish jarayonida

asosan faqat mikrovint bilan ishlanadi.

Immersion suyuqlik (kedr moyi) maxsus og'zi germetik berkitilgan shisha flakonlarda saqlanishi kerak. Shisha flakon qopqog'ida uning tagigacha yetadigan shisha tayoqchasi bo'lishi lozim. Bu tayoqcha yordamida immersion moy preparat ustiga tomiziladi. Ish tugagandan so'ng obyektiv ksilol yoki tozalangan benzin bilan yaxshilab artiladi.

Yorug'likni to'g'rilab olish. Mikroskop bilan ishlashda kunduzgi tabiiy yorug'likdan ko'ra, lampochkalar yordamida hosil qilingan sun'iy yorug'lik bilan ishlash qulay. Ayniqsa, katta obyektiv (90x) bilan ishlashda bu holat juda muhimdir. Preparatni Keler bo'yicha yoritish yoritgichlar yordamida amalga oshiriladi.

1. Yoritgich (past voltli lampochka) mikroskopdan 25 - 30 cm uzoqlikda krestovinaga o'rnatilgan holda qo'yiladi. Yoritgichning dala diafragmasi ochiq holatda bo'ladi. Mikroskopning 8x kattalikdagi obyektivi, ko'zguning yassi tomoni ishlatiladi va kondensor ko'tariladi.

2. Preparatni ko'rish uchun fokusini olishda yoritgich va kondensorning diafragmalari ochiq bo'lishi kerak.

3. Yoritgichning dala diafragmasi berkitiladi. Mikroskop ko'zgusiga bir varaq oq qog'oz yaqinlashtiriladi va qog'ozga (ko'zguda) yoritgich spiralining yorqin aksi izlanadi.

4. Mikroskopga qaraladi. Sekin-asta ko'zgu yordamida yorug'lik topiladi. Preparatga fokus to'g'rilanadi. Preparat aniq ko'rinishga ega bo'lguncha kondensor pastga tushiriladi. Diafragmaga ko'zgu yordamida yorug'lik to'g'rilanadi.

5. Mikroskop orqali kuzatishi davomida yoritgichning dala diafragmasi mikroskopning kuzatiladigan maydonchasini to'liq va kengroq yoritilguncha kattaroq qilib ochiladi.

Yoritgichni, ko'zguni, mikroskop kondensorining shu holatini keyinchalik ham o'zgartirmaslik kerak. Keler bo'yicha yorug'likni o'rnatish yorug'lik, fazo kontrast va qorong'u maydonchalik mikroskoplarida amalga oshirish mumkin.

Obyektlarni yorug'lik mikroskoplari yordamida o'lchash.

Mikrobiologiya amaliyotida ko'p hollarda mikroorganizmlarning hujayralarini o'lchashga to'g'ri keladi. Buni doimiy preparatlar

yordamida amalga oshiriladi. Obyektlarni okulyar mikrometr-okulyar lineyalar orqali o'lchanadi. Bu mikrometr yumaloq, shishadan, yassi tuzilishiga ega bo'lib, uning markazida 5 mm dagi shkala 50 yoki 100 ga bo'lingan. Okulyarning linzasi burab olinib, unga okulyar mikrometr (shkalaning bo'lingan tomonini tepaga qilib) qo'yiladi. Okulyar mikrometr shkalasining bir bo'lagining haqiqiy o'lchami obyektiv mikrometr orqali aniqlanadi. Obyektiv mikrometr shisha yoki temirdan yasalgan bo'lib, uning o'lchami buyum oynasidek va markazidagi yumaloq shishadagi lineyka 100 ta bo'lakka bo'lingan. Bu shkalaning uzunligi 1 mm ga teng, ya'ni bir bo'lakning o'lchami 10 mkm (0,01 mm). Obyektiv mikrometr mikroskopning buyum stolchasida preparat qo'yiladigan yerga joylashtiriladi va kichik obyektiv yordamida mikrometrda lineykasi topilib, uning fokusi to'g'rilanadi. So'ngra lineyka ko'rish maydonchasining markaziga keltiriladi va shundan keyin o'lchash uchun zarur bo'lgan obyektivga almashtiriladi. Buyum stolini harakatlantirib va okulyarni aylantirgan holda obyektiv va okulyar mikrometrlarning lineykalardagi chiziqchalarni parallel qilib, bir-birining ustiga tushiriladi. Obyektiv va okulyar mikrometrlardagi parallel chiziqchalarning bir-biri bilan tutashgan chiziqchalari aniqlanadi va keyingi tutash chiziqchalar topiladi. So'ngra okulyar mikrometrning bir bo'lak chizig'i – obyektiv mikrometrning nechta bo'lak chizig'i to'g'ri kelishi aniqlanadi. Masalan, obyektiv mikrometrning ikkita bo'lagi (20 mkm), okulyar mikrometrning beshta bo'lagiga to'g'ri kelsa, okulyar mikrometrning bitta bo'lagi 4 mkm (20:5) bo'ladi.

Preparatdagi obyekt o'lchami uning hujayrasi okulyar mikrometrni bo'lagiga to'g'ri kelishini aniqlab va bu sonni okulyar mikrometrning bir bo'lagining o'lchamiga ko'paytirib topiladi.

Mikroskopda ishlashning asosiy qoidalari.

Mikroorganizmlardan tayyorlangan preparatni mikroskopda tekshirish uchun quyidagi ishlar bajariladi:

1. Mikroskopni ish joyiga qulay qilib o'rnatib, yorug'lik to'g'rilanadi.

2. Mikroskopning buyum stolchasiga tayyor bo'yalgan mazokni qo'yib, tutqichlar bilan mahkamlanadi.

3. Tekshirilayotgan materialning yaqqol va yaxshi ko'rinadigan joyini topib, preparatni obyektivlarda (8, 40) ko'riladi.

4. Mikroskopning tubusi ko'tariladi va revolver yordamida immersion obyektiv (90, 120) o'rnatiladi.

5. Preparat ustiga tayoqchada bir tomchi immersion moyi tomiziladi, moyga immersion obyektiv tushiriladi. Mikroskopning ko'ruv maydonida obyekt (tekshiriladigan material) ko'rinadi. Bundan keyin mikrovint bilan fokus aniq to'g'rilanadi, natijada ravshan, aniq tasvir vujudga keladi. Obyektivning makrovintini juda sekin va avaylab tushirish kerak, aks holda, obyektiv linzasi buyum stolchasiga taqalib, buzilib qoladi.

6. Immersion obyektiv ishlatilgandan so'ng uni artish uchun benzinga ho'llangan paxta matodan foydalaniladi.

PREPARATLARNI TAYYORLASH VA BO'YASH USULLARI

Mashg'ulotni o'tish tartibi: ezilgan va osilgan tomchi usullaridan foydalanib preparat tayyorlanadi. Mikroorganizmlarning harakati aniqlanadi. Qattiq va suyuq ozuqa muhitlaridan quruq preparat tayyorlanadi va preparatlarni mikroskop ostida ko'riladi va rasmlari chiziladi.

Oddiy va murakkab bo'yash usullari va ularni tayyorlash texnikasi ishlab chiqiladi. Mashg'ulot davomida Gramm usulida sporalarni bo'yash bilan tanishiladi, keyin mustaqil ravishda mazoklar tayyorlanadi, oddiy va murakkab usulda bo'yaladi, preparatlarni mikroskop ostida ko'riladi va rasmlari chiziladi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop. Buyum va qoplag'ich oynachalar. Mikrobiologik sirtmoq. Mikroorganizmlarning sof kulturasi ekilgan probirkalar va Petri likobchalari. Doimiy preparatlar. Paster naychasi. Spirt lampasi. Immersion moy. Bo'yoq eritmaları (Gensian violet bo'yog'i, fuksin, metilen ko'ki, Lyugol). Suv va kolbalar. Shtativlar.

Mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash uchun buyum oynasi bilan qoplag'ich oynalar ishlatiladi. Preparat tayyorlashdan oldin

buyum oynasidagi moyni ketkazish uchun u spirtga ho'llangan latta, so'ngra toza latta bilan artib quritiladi. Suv oyna ustida tomchilar hosil qilmasdan yoyilib ketsa, bunday oyna toza hisoblanadi.

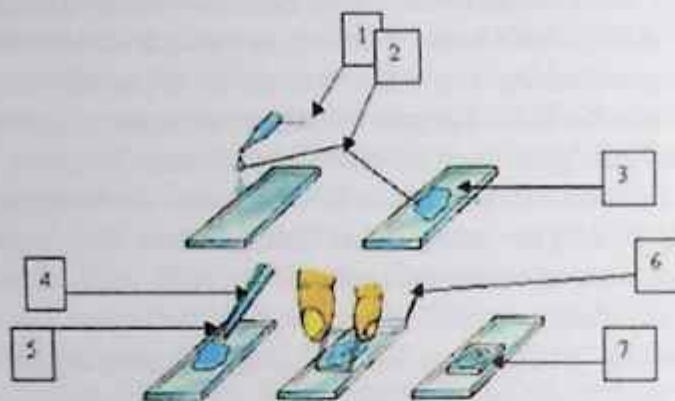
Mikroorganizmlarni buyum oynasiga surish uchun mikrobiologik sirtmoq kerak bo'ladi. Egilgan shisha tayoqcha (shpatel) tutqich va unga biriktirilgan ingichka simdan iborat. Bu sim platinadan yoki qizdirilganda havo kislorodi bilan oksidlanmaydigan va tez qizib (cho'g' bo'lib) tez soviydigan boshqa biror metallardan yasaladi. Mikroorganizmlarni mikroskopda tirik yoki o'lik holda ko'rish mumkin. O'lik mikroblar bo'yalgan preparatlardagina ko'rinadi. Tirik mikroblarni esa "ezilgan" va "osilgan" tomchi preparatlarida ko'rish mumkin.

Ezilgan tomchi preparatini tayyorlash. Toza buyum oynasiga pipetka bilan toza suvdan bir tomchi tomiziladi. Keyin spirt lampasi alangasida cho'g' bo'lguncha qizdirilgan mikrobiologik sirtmoq bilan zarur mikroorganizmlar olinib, suv tomchisiga qo'shib aralashtiriladi. Shundan keyin sirtmoq qizdirilib, undan qolgan mikroorganizmlar yo'q qilinadi. Mikroorganizmlar aralashtirilgan suv tomchisi qoplag'ich oyna bilan yopiladi, tomchi shu tariqa ezilib, mikroskopda o'rtacha katta qilib qaraladi.

Qoplag'ich oynani tomchi chetiga qirrasi bilan qo'yib, keyin asta-sekin butun tomchini yopish kerak.

"Osilgan" tomchi tayyorlash. "Osilgan" tomchi tayyorlash uchun o'rtasida dumaloq chuqurchasi bo'lgan maxsus buyum oynalaridan foydalaniladi. Chuqurchaning tashqi chetlariga vazelin surtiladi, so'ngra toza qoplag'ich oynaning o'rtasiga mikrobiologik sirtmoq bilan yuqorida aytilgan usulda bakteriyalar aralashgan kichik suv tomchisi surtiladi. Shundan keyin qoplag'ich oyna tomchili tomoni bilan shunday ag'darib qo'yiladiki, undagi tomchi buyum oynasidagi chuqurchaning o'rtasi ustidan osilib turadi, qoplag'ich oynaning chetlari chuqurcha chetlariga surtilgan vazelinga yopishadi. Vazelin surtilganligi uchun chuqurchaga havo kirmaydi va tomchi qurib qolmaydi.

Ezilgan tomchi preparatini tayyorlash



1-pipetka; 2-suv; 3-buyum oynasi; 4-pinset; 5-mikroorganizm;
6-qoplag'ich oynasi; 7-tayyor mikropreparat.

Ezilgan va osilgan tomchi preparatlari bakteriyalarning harakatini tekshirishga imkon beradi.

Surtma (quruq preparat) tayyorlash. Mikroorganizmlarni immersion obyektiv bilan katta qilib ko'rish uchun o'ldirilgan mikroblardan quruq preparat tayyorlanadi. Bu preparatlar mikrobiologik amaliyotda ko'p qo'llaniladi. Ularni bo'yalgan holda mikroskop ostida ko'riladi. Fiksatsiyalangan preparatlarning mohiyati shundan iboratki, tirik obyektning hayot faoliyati to'xtatilib, uning tuzilishi saqlab qolinadi. Fiksatsiyalanish tufayli hujayra shishaga mahkam yopishadi va yaxshi bo'yaladi. Fiksatsiyalangan preparatlar patogen mikroorganizmlar bilan ishlaganda juda muhim (xavfsizlik nuqtayi nazaridan).

Buyum oynasi etil spirti va oltingugurt efiri (1:1) aralashmasidan iborat suyuqlik bilan tozalangandan so'ng, uning sirtiga bir tomchi vodoprovod suvi tomiziladi. Kuydirilgan bakterial ilgak yordamida mikroorganizm ekilgan probirkadan uning ma'lum massasini olib, suv tomchisiga qo'yiladi. Ilgak yordamida tomchidagi massa buyum oynasi sirtiga, taxminan 4 cm^2 yuzaga surtiladi. Suspenziya quyuc bo'lsa, suv bilan suyultiradi. Buning uchun steril ilgak yordamida ozgina suspenziyadan olinadi va boshqa buyum oynasidagi bir tomchi

suvga qo'shiladi. So'ngra yupqa qilib surtiladi va buyum oynasi uy haroratida yoki spirt lampasining alangasidan ancha yuqori qilib ushlangan holda quritiladi. Mazokni quritishda qattiq qizdirish mumkin emas, chunki hujayra oqsillari ivishi natijasida uning tuzilishi va shakli o'zgarib ketadi. Quritilgan preparat fiksatsiyalanadi. Hujayra shakli o'rganiladigan bo'lsa, mazokni fiksatsiyalash spirt lampasi alangasi ustida, agar hujayraning ichki tuzilishi o'rganiladigan bo'lsa, kimyoviy birikmalar yordamida amalga oshiriladi. Birinchi holatda preparat alanga ustidan yon tomoni bilan 3 - 4 marta sekinlatib o'tkaziladi.



Preparat va qoplag'ich oynalar



Maxsus preparat oynasi



Preparat tayyorlash uchun zarur asosiy jihozlar

Kimyoviy moddalar bilan fiksatsiyalanganda xrom birikmalaridan, formalin, atsetondan foydalaniladi.

Preparatni fiksatsiyalashning keng tarqalgan usullaridan biri, unga 96% etil spirti va efirning (Nikiforov eritmasi) teng miqdordagi aralashmasi bilan ishlov berish hisoblanadi. Bunda preparat ma'lum vaqtga fiksatsiyalovchi suyuqlikka botirib qo'yiladi.

Quruq preparatni bo'yash. Mazokni bo'yashda preparatni preparat ushlagichga o'rnatiladi. Mazokka bir necha tomchi bo'yovchi suyuqlik tomiziladi. Bo'yovchi suyuqlik va tadqiqotning maqsadiga qarab bo'yash muddati turlicha bo'ladi (1 - 5 daq.; ayrim hollarda 30 daq. va undan ko'p). Preparat bo'yalgandan so'ng, uni suv bilan yuviladi va filtr qog'oz yordamida suv qoldiqlari shimdirib olinadi, havoda quritiladi va mikroskop ostida kuzatiladi. Bunday quruq preparat surtma deyiladi. Tayyorlangan surtma fiksatsiya qilinadi (qotiriladi), ya'ni spirt lampasi alangasiga uch marta tutib olinadi. Umuman preparatlarni fiksatsiya qilish uchun spirt lampasi alangasi, spirt bilan efir va kislota bilan formalin aralashmalari ishlatiladi.

Surtmani bir necha daqiqa davomida eritmaga solib ham fiksatsiya qilish mumkin. Surtma fiksatsiya qilinganda buyum oynasidagi mikroorganizmlar o'lib, oynaga yopishadi va yaxshi bo'yaladi, buning sababi, bo'yoq tirik protoplazmadan ko'ra, o'lik protoplazmaga yaxshiroq o'tadi.

Preparatlarni bo'yash usullari. Bo'yashning oddiy va differensiyalashgan usullari mavjud. Oddiy bo'yashda biror bir bo'yovchi modda, masalan, ishqorli yoki karbolliy eritmasi metilen ko'ki, fuksin, binafsha rang gensian ishlatiladi. Bunda hujayraning hamma qismi bo'yaladi. Turli bo'yoqlar bilan differensiyalashgan bo'yashda esa hujayraning ma'lum bir tegishli qismi bo'yaladi. Bunga sporalarini Gramm usulida bo'yashni keltirish mumkin.

Mikrobiologiya texnikasida mikroorganizmlarni bo'yash uchun quyidagi anilin bo'yoqlari ishlatiladi: qizil bo'yoqlardan - asosan, fuksin, eritrozin; ko'k bo'yoqlardan - metilen ko'ki, tionin; binafsha bo'yoqlardan - gensian violet, metil violet va boshqa bo'yoqlar ishlatiladi. Mikroblar quyidagi usullarda bo'yaladi:

1. *Oddiy usul.* Bunda fiksatsiya qilingan preparatlar faqat bir xil fuksin, metilin ko'ki, gensian violet kabi bo'yoqlar bilan bo'yaladi.

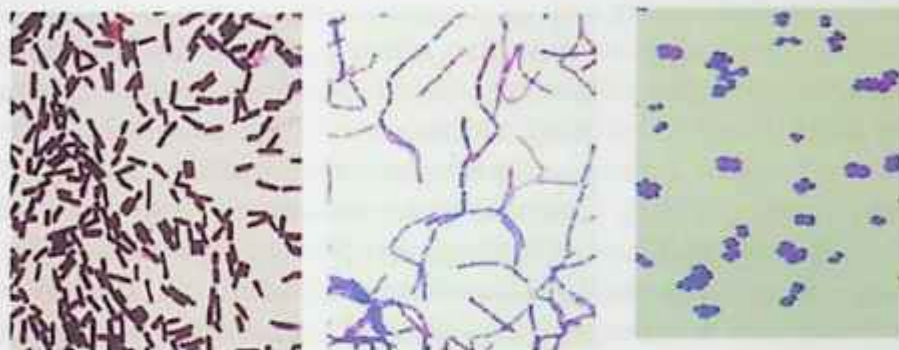
2. *Murakkab usul.* Bunda fiksatsiya qilingan preparat bir necha xil bo'yoq bilan bo'yaladi. Masalan: bakteriyalarni Gramm va bakteriya sporalarini Sil-Nilsen usulida bo'yashlarni keltirish mumkin.

Gramm usulida bo'yash. Mikroorganizmlar Gramm usulida bo'yalish-bo'yalmasligiga qarab ikki guruhga bo'linadi:

1. Gramm usulida mikroorganizmlar binafsha rang bo'yalsa, gramm-musbat deyiladi.

2. Gramm usulida mikroorganizmlar qizil rangga bo'yalsa, gramm - manfiy deyiladi.

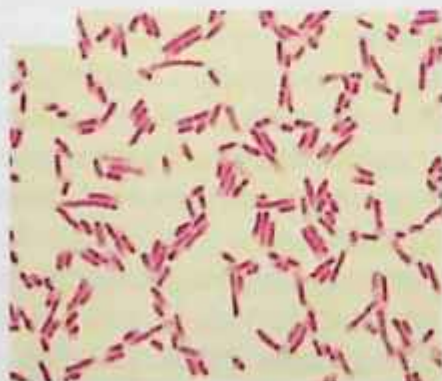
Gramm usulida bo'yash mikroorganizmlarning turini aniqlash uchun asosiy belgi bo'lib, u quyidagilardan iborat:



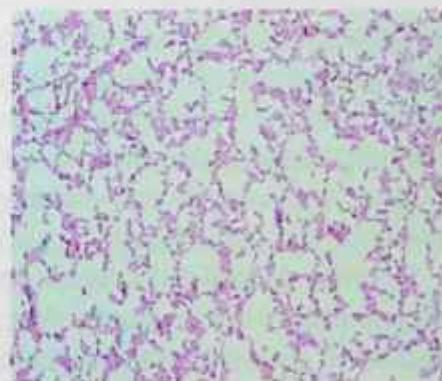
C

Grammusbat bakteriyalar

A - *Clostridium perfringens*, B - *Bacillus subtilis*, C - *Micrococcus luteus*



A



B

Grammanfiy bakteriyalar

A - *Escherichia coli*, B - *Pseudomonas aeruginosa*

quritilgan va fiksatsiya qilingan mazokka gentsian-violet bo'yog'idan quyilib, 1 - 2 daqiqa saqlanadi. So'ngra bo'yoq suv bilan yuvib tashlanadi va mazokka Lyugol eritmasi (Kj dagi j eritmasi) tomizilib, 1 - 2 daqiqa qo'yiladi. Bu eritma ham suv bilan yuvib tashlanib, mazok spirtga 0,5 - 1 daqiqa solib qo'yiladi. So'ngra preparat yana suv bilan yuviladi va unga fuksin bo'yog'idan quyiladi, 3 - 4 daqiqadan keyin bo'yoq suv bilan yuvilib, mazok havoda quritilgach, unga bir tomchi immersion moy tomiziladi va mikroskopda immersion obyektiv bilan qaraladi. Gramm-musbat usulida bo'yaladigan mikroorganizmlar protoplazmasida gentsian-violet bilan yod eritmasining birikmasi vujudga keladi, bu eritma spirtga erimaydi; bunday mikroorganizmlar spirtga botirilganda rangini yo'qotmay, to'q binafshaligicha qolaveradi. Gramm-musbat usulida bo'yalmaydigan mikroorganizmlarning protoplazmasida gentsian-violet bilan yod birikmasi hosil bo'ladi, lekin spirtga erib ketadi. Natijada mikroorganizmlar rangini yo'qotadi. Rangsizlangan mikroorganizmlar fuksin bilan bo'yalganda qizil tusga kiradi. Gramm-musbat mikroorganizmlar mikroskopda to'q binafsha, gramm-manfiy mikroorganizmlar esa qizil bo'lib ko'rinadi.

Namuna uchun preparat tish g'uboridan tayyorlanadi. Bunda gramm-musbat mikroorganizmlar va gramm-manfiy mikroorganizmlar ham bo'ladi. Gramm-musbat mikroorganizmlar bo'yalish jihatidagina emas, bir qancha biologik xossalari bilan ham gramm-manfiy bakteriyalardan farq qiladi. Antibiotiklar gramm-manfiy mikroorganizmlardan ko'ra gramm-musbat mikroorganizmlarga tezroq ta'sir etadi. Mikroorganizmlarning Gramm usulida qanday bo'yalishiga qarab, unga turli antibiotiklarning qanday ta'sir etishini oldindan bilish mumkin.

Sil-nilsen usulida bo'yash. Sporalarining qobig'i va protoplazmasi hujayra protoplazmasiga nisbatan qiyinroq bo'yaladi, shu sababli sporalarini bo'yash uchun kuchli bo'yoq eritmalarini ishlatish va mazokni qizdirishga to'g'ri keladi. Sporalar hujayra protoplazmasiga nisbatan rangini sekin, qiyinchilik bilan yo'qotadi. Shuning uchun sporalar quyidagicha bo'yaladi:

1. Fiksatsiya qilingan quruq mazok tayyorlanadi.

2. Mazokka filtr qog'oz qo'yiladi, shu qog'oz ustidan Sil fuksini quyiladi. So'ngra buyum oynasini pinset bilan bir uchidan ushlab, qaynaguncha emas, balki bug' paydo bo'lguncha spirt lampasi alangasida qizdiriladi. Bo'yoq qizdirilganda qurib qolmasligi uchun buyum oynasiga tez-tez Sil fuksini tomizib, qo'shib turiladi.

3. Filtr qog'oz pinset bilan avaylab olinadi.

4. Buyum oynasi 1% li sulfat kislota eritmasiga 2 daqiqa solib qo'yiladi. Ayni vaqtda protoplazma hujayralari rangsizlanib, sporalar qizilligicha qolaveradi.

5. Preparat suv bilan yuviladi.

6. Preparat metilen ko'ki bilan 1 - 2 daqiqa davomida bo'yaladi va suv bilan yuviladi. Ayni vaqtda rangsizlangan batsillalar ko'k tusga kiradi, sporalar esa qizilligicha qolaveradi.

Kapsulalarni bo'yash. Kapsulalarni Jon, Giss va Omelyanskiy usullari kabi bir necha xil usulda bo'yash mumkin, bulardan, asosan, Omelyanskiy usulidan ko'proq foydalaniladi.

Ba'zi bakteriya hujayralari shilimshiq kapsulalar bilan o'ralgan. Bunday kapsula bakteriyalarni qurib qolishdan va boshqa noqulay sharoitdan saqlaydi. Kapsulalar yorug'lik nurlarining aksini sindiradi va preparat maxsus usulda bo'yalgandagina yaxshi ko'rinadi. Negativ qilingan kapsulalar Omelyanskiy usulida quyidagicha bo'yaladi: buyum oynasiga yarmigacha suv qo'shib suyultirilgan Sil fuksinidan bir tomchi tomizib, tekshiriladigan bakteriyalar mikrobiologik sirtmoq bilan aralashtiriladi. 2 – 3 daqiqadan keyin fuksin tomchisiga suyuq tush tomchisi qo'shiladi va oynaga yaxshilab yoyiladi. Preparat havoda quritilib, mikroskopda immersion obyektiv bilan tekshiriladi. Ayni vaqtda buyum oynasi tush bilan bo'yilib, qora tusda ko'rinadi, bakteriyalarning hujayralari qizil bo'lib ko'rinadi, kapsulalar esa rangsiz bo'ladi.

MIKROORGANIZMLAR MORFOLOGIYASI

Mashg'ulotni o'tish tartibi: okulyar va obyektiv mikrometr bilan tanishiladi. Okulyar mikrometrning bo'linishi va mikroorganizm hujayrasining o'lchami surtmada aniqlanadi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop. Buyum va qoplag'ich oynachalar. Mikrobiologik sirtmoq. Mikroorganizmlarning sof kulturasi ekilgan probirkalar va Petri likobchalari. Doimiy preparatlar. Paster naychasi. Spirt lampasi. Immersion moy. Bo'yoq eritmalari. Obyekt va okulyar mikrometrlar. Suv va kolbalar. Shtativlar.

Bakteriyalar

Bakteriyalar tabiatda keng tarqalgan mikroorganizmlar bo'lib, ular haqiqiy murakkab tuzilgan yadroga ega emas. Bakteriyalar bir hujayrali, o'lchami va fiziologik xususiyatlari bilan farqlanuvchi turli tuman organizmlardir. Shakliga ko'ra, bakteriyalar sharsimon, tayoqchasimon va burama ko'rinishda bo'ladi.

Sharsimon bakteriyalar. Bu guruh bakteriyalari - kokklar (yunoncha "*coccus*" - "don, shar" degani) quyidagi guruhlariga bo'linadi:

1. Monokokklar (lotincha "*mono*" - "bitta") bitta sharsimon hujayraga ega bakteriyalar. Bunga misol qilib *Micrococcus agilis* turini olish mumkin.

2. Diplokokk (lotincha "*depos*" - "ikkita") ikkita sharsimon hujayraning birikishidan hosil bo'lgan bakteriyalar. Bularga *Azotobacter chroococcum* misol bo'ladi.

3. Tetrakokk (lotincha "*tetra*" - "to'rtta") to'rtta sharsimon hujayraning birikishidan hosil bo'lgan bakteriyalar.

4. Streptokokk (lotincha "*streptos*" zanjir) o'zaro zanjirsimon ko'rinishda birikkan sharsimon hujayralardan hosil bo'lgan bakteriyalar. Sut kislotali bijg'ishni qo'zg'atuvchi *Streptococcus lactis* bunga misol bo'la oladi.

5. Sarsinalar (lotincha "*sarsina*" - "bog'lam") kub ko'rinishda o'zaro birikkan 8, 16 yoki 32 ta sharsimon hujayralardan hosil bo'lgan bakteriyalar. Bunga misol qilib havoda uchraydigan *Sarsina flava* bakteriyasini olish mumkin.

6. Stafilokokk (lotincha "*staphule*" - "uzum shingili") uzum shingili ko'rinishida o'zaro birikkan sharsimon hujayralardan hosil bo'lgan bakteriyalar.

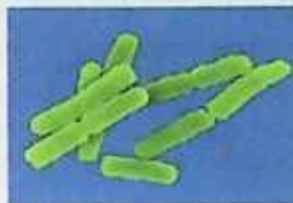
Bakteriya hujayralarining shakllari



A

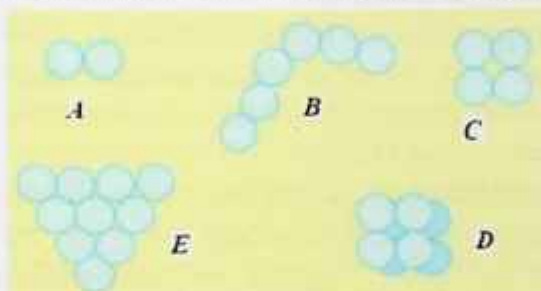


B

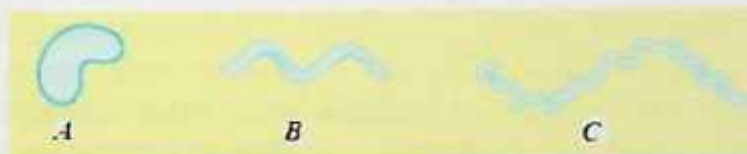


C

A-sharsimon, B-burama, C-tayoqchasimon



A-diplokokk, B-streptokokk, C-tetrakokk, D-sarsina, E-stafilokokk



A-vibrion, B-spirilla, C-spiroxeta

Bakteriyalarda xivchinlarining joylashishi



Monotrix



Amfitrix



Lofotrix



Peritrix

Tayoqchasimon bakteriyalar. Ular ikkita guruhga: batsillalar va spora hosil qilmaydigan bakteriyalarga bo'linadi.

Batsillalar spora hosil qiladi. Bu guruhga *Bacillus subtilus*, *Basillus mycoides* va *B. mesentericus* larni misol qilish mumkin. Keltirilgan bu bakteriyalar turlarining hujayralari tayoqchasimon bo'lib, bir-biri bilan zanjirsimon tutashgan bo'ladi, shuning uchun ularni boshqacha qilib streptobatsillalar ham deyiladi. Ularni kuzatish uchun 2 -3 kunlik kulturalardan foydalanish kerak. Vaqt o'tishi bilan ularning hujayralari sporalarga aylanadi.

Tayoqchasimon bakteriyalar fuksin bilan bo'yalgan fiksatsiyalangan preparat holatida mikroskop orqali kuzatiladi.

Burama bakteriyalar. Bu guruh bakteriyalariga vibrionlar, spirillalar va spiroxetalar kiradi.

1. Vibrionlar(lotincha "*vibrio*" - "tebranib turuvchilar")ning hujayralari vergulsimon egilgan bo'ladi.

2. Spirillalar(lotincha "*spiro*" - "shtopor" (buralgan))ning hujayralari vibrionlarga nisbatan uzunroq, yo'g'on va buralgan bo'ladi. Spirillalarning hujayrasi "S" harfidan bitta bukilgan "S" harfidan ikkita bukilgan yoki bo'lmasa bir necha marta bukilgan bo'ladi.

3. Spiroxetalar - uzun va ingichka bo'lib, burg'usimon buralgan bo'ladi. Spiroxetalarning uzunligi ularning yo'g'onligidan 5 - 200 marta katta. Bu bakteriyalarni odam og'zidagi tishlardan olingan namunalarda yaxshi kuzatish mumkin.

Aktinomitsetlar

Aktinomitsetlar so'zi lotincha "*actis*" - "nur", "*myces*" - "zamburug'", ya'ni "nursimon zamburug'lar" degan ma'noni bildiradi. Aktinomitsetlar bakteriyalar bilan zamburug'lar o'rtasida turgan mikroorganizmlar guruhidir. Ular bakteriyalar singari bir hujayrali va zamburug'larga o'xshab mitseliylar hosil qiladi va ular singari sporalar yordamida ko'payadi.

Aktinomitsetlar ozuqa muhitlarida po'kaksimon, barxitsimon, unsimon, etli, zich, substrat bilan birlashib ketgan ayrim holda yer

isini tarqatuvchi koloniyalarni hosil qiladi. Ozuqa muhitlarida hosil bo'lgan aktinomitsetlarning mitseliylari differensiallashgan bo'lib, bir qismi substratga botgan (substrat mitseliylari), bir qismi esa substrat ustida (havoyi mitseliylar) bo'ladi.

Aktinomitsetlarning ko'pchilik vakillari pigmentlar hosil qiladi. Shu sababli, ularning mitseliylari moviy, to'q moviy, binafsha rang, pushti, qo'ng'ir, jigar rang va qora tusda bo'lishi mumkin. Aktinomitsetlarni hosil qilgan pigmentlari o'zi o'sgan ozuqa muhitlarni ham shu rangga bo'yaydi.

Aktinomitsetlar koloniyalarining o'ziga xos xususiyatlarini o'rganishda ularni Petri likobchalarida yoki probirkalarga hosil qilgan koloniyalarini mikroskopning kichik obyektivi orqali kuzatish kerak. Bu holatda aktinomitsetning mitseliylari giflarining bir qismi ozuqa muhitiga kirib borganligini, bir qismining ozuqa sirti bo'ylab rivojlanib tepaga ko'tarilganligini kuzatish mumkin. Ozuqa muhiti sirtidan ko'tarilgan mitseliylarning uchki qismida sporani o'zida saqlagan sporanoslarni ko'rish mumkin. Sporanoslarni tuzilishiga ko'ra to'g'ri, to'liqinsimon, spiralsimon va mutovkali bo'ladi.

Undan fuksin bilan bo'yalgan fiksatsiyalangan preparatlar tayyorlanadi. Buning uchun buyum oynasiga aktinomitsetning koloniyasidan olingan juda kichkina bo'lak (ozuqa muhit bilan olingan bu bo'lakda substrat ichida va uning ustida rivojlanayotgan mitseliy bo'ladi) qo'yiladi. Ikkinchi buyum oynasini esa uning ustiga qo'yib mahkam zichlab, obyektni eziladi va suv bilan yoyiladi. Keyin quritiladi, fiksatsiyalanadi va bo'yaladi. Fiksatsiyalangan hamda bo'yalgan preparatda differensiallangan mitseliy ham, sporalar ham kuzatilmaydi. Lekin aktinomitsetning bir hujayrali mitseliylari yaqqol ko'zga tashlanadi.

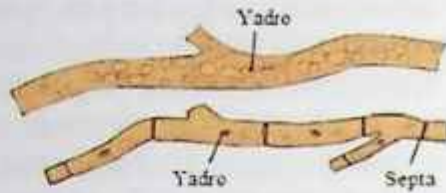
Zamburug'lar

Mikroskopik ko'pgina zamburug'lar turlari mikrobiologik obyektlar hisoblanadi. Shu sababli laboratoriya mashg'ulotlarida *Zygomycetes*, *Ascomycetes* va *Deuteromycetes* sinfining ayrim vakillari bilan tanishiladi.

Zamburug'larning morfologiyasi



Mitseliy



Giflarning tuzilishi

Zamburug'larning jinsiy ko'pavish tiplari



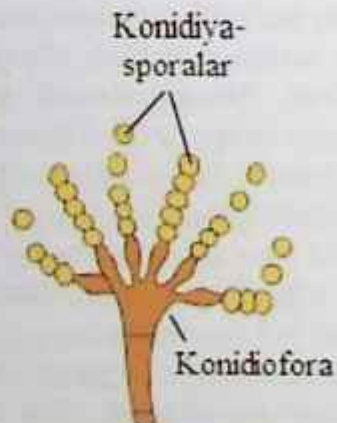
Artrospolar



Sporangiosporalar (*Mucor*, *Rhizopus*)



Xlamidosporalar



Konidiyasporalar
(*Aspergillus*, *Penicillium*)

Zamburug'lar xlorofillsiz eukariot organizimlardir. Ularning vegetativ tanasi ipsimon tuzilishdagi giflardan tashkil topgan. Bu giflar to'plami mitseliylar deb yuritiladi.

Zygomycetes. Bular tuban zamburug'larga kirib, ularning mitseliylari bir hujayrali, shoxlangan, ko'p yadroli bo'ladi. Ular vegetativ jinsiy va jinssiz yo'l bilan ko'payadi. Vegetativ ko'payganda giflarning ayrim bo'laklari, jinsiy ko'payganda esa ota-ona giflarining o'zaro qo'shilishdan hosil bo'lgan zigosporalar yordamida ko'payadi. Jinssiz ko'payishi sporalar yordamida amalga oshadi.

*Zygomycetes*larga misol qilib *Mucor* va *Rhizopus* turkumining vakillarini olish mumkin. Bu zamburug'lar o'simlik mahsulotlarida, o'simliklar bilan oziqlanadigan hayvonlarning go'nglarida, chirindiga boy tuproqlarda o'sib, rivojlanadi va ularning sirtida oq yoki qo'ng'ir rangdagi po'panaklar hosil qiladi.

Mucor va *Rhizopus* turkumiga kiruvchi zamburug' turlari substrat ichiga kirib boradi hamda bir qismi esa substrat sirtiga tarqaladi. Zamburug' mitseliylarida shish ko'rinishida sporangibandlarida joylashgan sporangiylar hosil bo'ladi. Keyinchalik sporangiylar sporangiy bandlaridan to'siq bilan ajralib, ular ichida ko'plab sporangisporalar yuzaga keladi. Sporangiyalar ichiga kirib borgan sporangiy bandlarining bu qismi "kolonka" deb yuritiladi va ularning shakli zamburug' turiga qarab turli-tuman bo'ladi.

Mukor zamburug'larini mikroskop orqali kuzatish uchun preparat ninasi yordamida ehtiyotlik bilan mitseliyning bir bo'lagi olinadi va boshqa bir preparat nina bilan quruq buyum oynasi sirtiga tushiriladi. Preparat sirtiga qoplag'ich oyna yopmasdan mikroskopning kichik obyektivi orqali kuzatiladi. Bunda sporangiy bandlari va ularda joylashgan qoramtir sharchalar-sporangiylar ko'rinadi. So'ngra preparatga bir tomchi suv tomiziladi, ustiga qoplag'ich oyna yopiladi va mikroskopni avval kichik, so'ngra katta obyektivlari yordamida kuzatiladi. Sporangiyalarning qobig'i yorilishi tufayli tashqariga chiqqan sporalar yaqqol ko'zga tashlanadi. *Mucor* zamburug'larini ajratib olish uchun suslo-agarli ozuqasi solingan Petri likobchalarga chirindiga boy tuproq yoki yangi ot go'ngining bo'lakchalarini terib chiqiladi va Petri likobchalarining yoniga nam filtr shisha qalpoqcha

tagiga joylashtiriladi hamda 3 - 4 kunga qoldiriladi. So'ngra yuzaga kelgan zamburug' koloniyalaridan preparat tayyorlab mikroskop ostida kuzatish mumkin.

Ascomycetes. Bu sinf vakillari yuksak zamburug'larga kirib, mitseliylari ko'p hujayrali, ya'ni to'siqlar bilan bo'lingan. Ularning jinsiy ko'payishi natijasida yuzaga kelgan sporalari askolar-xaltachalar ichida hosil bo'ladi. Mikrobiologiyada o'tiladigan laboratoriya darslarida askomitsetlarga misol qilib achitqi zamburug'lari olinadi.

Achitqi zamburug'larining hujayrasi 8 - 15 mkm gacha bo'ladi. Ularning shakli turli-tuman: ellipssimon, noksimon, yumaloq va silindirsimon bo'ladi.

Achitqi zamburug'lari vegetativ va jinsiy yo'l bilan ko'payadi. Vegetativ ko'payish hujayrasining kurtaklanish va bo'linish yo'li bilan, jinsiy ko'payish esa xalta ichida sporalarni hosil qilishi bilan amalga oshadi. Hujayrasi kurtaklanuvchi achitqi zamburug'larga *Saccharomyces* turkumiga kiruvchi turlar, hujayrasi bo'linadiganlari *Schizosaccharomyces* turkumiga kiruvchi turlar misol bo'la oladi. Jinsiy ko'payishda onalik va otalik hujayralarning o'zaro qo'shilishidan xalta ichida sporalar hosil bo'ladi yoki avval sporalar yuzaga kelib, so'ngra ular o'zaro qo'shilib ketadi. Har bir xalta ichida (askoda) 2 - 8 tagacha, ayrim hollarda 12 tagacha sporalar hosil bo'ladi.

Laboratoriya mashg'ulotlari uchun uy sharoitida ishlatiladigan achitqi zamburug'lardan foydalanish mumkin. Buning uchun dars boshlanishidan bir necha soat avval bir bo'lak achitqi zamburug'ini shakarli iliq suvga solib, iliq joyga qo'yiladi. Bu holatda oqish sutsimon suyuqlik hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan suyuqlikdan bir tomchisini buyum oynasiga tomiziladi va ustidan qoplag'ich oynasi yopilib, immersion moyi tomiziladi, so'ngra mikroskopning obyektivida preparat kuzatiladi. Mikroskopning kichik obyektividan ham hujayralar yaxshi ko'rinadi. Nonvoychilikda ishlatiladigan achitqi zamburug'larining ikki xil irqi kuzatiladi. Birining hujayralari yumaloq-ellipssimon bo'lib, kurtaklangan hujayralar tez ajralib ketadi. Ikkinchisining hujayralari cho'ziq silindirsimon bo'lib, kurtaklanganda shoxlangan soxta mitseliylar (pseudomitseliylar) hosil qiladi. Achitqi zamburug'larning hujayralarida ko'p hollarda markaziy qismini egallagan, donador holatdagi vakuolalar yaqqol ko'zga tashlanadi.

Deuteromycetes. Bu zamburug'lar sinfi takomillashmagan zamburug'lar deb ham nomlanadi. Ularning mitseliylari yaxshi rivojlangan, ko'p hujayrali bo'lib, jinsiy ko'payish kuzatilmagan.

Deuteromycetes sinfiga kiruvchi turlar vegetativ jinssiz yo'l bilan ko'payadi. Vegetativ ko'payish giflarning bo'laklarga ajralishi bilan amalga oshadi. Jinssiz ko'payishda konidiylar ham hosil qiladilar. Tabiatda ko'p tarqalganlariga *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* va *Alternaria* turkumi turlarini keltirish mumkin. Ular o'simlik qoldiqlarida, meva, urug' va tuproqda keng tarqalgan.

Penicillium turkumining turlari konidiylar mutovkali shoxlangan, qo'l panjasi ko'rinishdagi konidiybandlarida hosil qiladi.

Preparat tayyorlash uchun *Penicillium glaucum* hosil qilgan oq hoshiyali yashil koloniyaning oq va yashil joy oralig'idagi preparat ninasi bilan olingan bir bo'lak mitseliydan foydalaniladi. Laboratoriya darsi uchun Petri likobchasida o'stirilgan zamburug' ishlatiladi. Buning uchun ikkita preparat nina yordamida ozuqadan bir bo'lak mitseliy sirtiga bir tomchi suv tomizilgan buyum oynasiga ko'chirib qo'yiladi. Uning ustida qoplag'ich oyna yopiladi. Agar preparat uchun olingan mitseliy qalinlik qilsa, tomizilgan suv yetmagan joyiga pipetka yordamida qoplag'ich oyna tagiga suv beriladi. So'ngra preparat ninasining orqa tomoni bilan sekin-asta qoplag'ich oyna ustiga o'raladi, ortiqcha suv filtr qog'oz yordamida shimdirib olinadi. Preparat avval mikroskop obyektivining kichik o'lchamida (8x), keyin esa katta o'lchami (40x) yordamida kuzatiladi. Mikroskop obyektivining kichik o'lchamida (8x) kuzatilganda kondensor pastga tushiriladi, katta o'lchamida (40x) esa yorug'lik muvozanati kondensorni yuqoriga ko'tarish yo'li bilan boshqariladi.

Aspergillus turkumiga kiruvchi zamburug' turlari odatda bir hujayrali konidiy bandlarga (uchki qismi yumaloq, cho'ziq yoki noksimon shishgan) ega. Ularda sterigmalar parallel joylashgan bo'lib, har biridan radial holatda ketgan konidiylar zanjiri yuzaga keladi. Ayrim aspergil turlari ikki qator ketgan sterigmalar hosil qilish mumkin.

Bu zamburug'lardan preparat tayyorlashda *Aspergillus niger* ning Petri likobchasidagi ozuqa muhitida o'stirilgan koloniyalaridan

foydalaniladi. Buning uchun koloniyaning qora va oqish qismi oralig'idagi bir bo'lak mitseliy ikkita preparat ninasi yordamida sirtida bir tomchi suvi bor buyum oynasiga ko'chirib qo'yiladi va uning ustiga esa qoplag'ich oyna yopiladi.

Pensillindan tayyorlangan preparat qanday kuzatilgan bo'lsa, *Aspergillus niger* dan va undan keyingi zamburug' turlaridan tayyorlangan preparatlar ham shunday kuzatiladi.

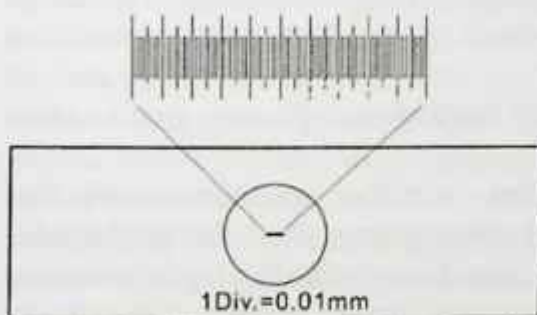
Trichoderma turkumiga kiruvchi zamburug'larni suslo-agarli ozuqa muhitlariga ekilgan tuproq namunalaridan ajratib olish mumkin. 23 - 25°C haroratda 2 - 3 kundan so'ng ozuqa muhiti sirtida zamburug' mitseliysidan iborat oqish g'uborlar hosil bo'ladi, keyinchalik konidiylarning yuzaga kelishi bilan ular och yashil, so'ngra to'q yashil tusga kiradi. Mikroskopning katta obyektivida tik o'sgan, ko'p marta shoxlangan, mitseliydan ko'tariluvchi konidiybandlarini kuzatish mumkin. Konidiybandlarining uchida o'zida 10- 20 ta dan bir hujayrali, rangsiz konidiylarni saqlovchi sharsimon boshchalar hosil bo'ladi.

Alternaria turkumiga kiruvchi zamburug' turlarini tuproqdan, zararlangan kartoshka yoki pomidor bargidan, karam urug'idan va boshqa o'simliklardan ajratib olish mumkin. Ularning konidiylari o'ziga xos tuzilishga ega bo'lib, ko'p hujayrali, ko'ndalang va uzunasiga ketgan to'siqlari bor, turli shakldagi ko'rinishga ega. Bu zamburug'larning suslo-agarli ozuqa muhitidagi koloniyalarini rangi avval och tusda, paxmoqsimon bo'lsa, keyinchalik ular yashil-kulrang yoki qoramtir-qo'ng'ir, baxmalsimon yoki taqir bo'ladi. Ba'zi hollarda koloniyalari boshidan qoramtir tusga kirgan bo'ladi. Ko'p hollarda qora rang koloniyalar rangida ustunlik qiladi. Mikrobiologiya darslarida laboratoriya mashg'ulotlari uchun foydalaniladigan mikroorganizmlar kolleksiyasidagi kulturalar har 2 - 3 oyda yangi ozuqa muhitlariga qayta ekib turiladi. Bakteriya va aktinomitsetlar uchun go'sht-peptonli agar, achitqi va boshqa zamburug'lar uchun suslo-agarli ozuqa muhitlari ishlatiladi.

Mikroorganizmlar nanometr (nm) va mikrometrlar (mkm) bilan o'lchanadi: 1mkm - 10 - 3mm; 1nm - 10 - 6mm; 1mkm - 1000 nm.

Mikroorganizm hujayralarini okulyar va obyektiv mikrometrlarda o'lchanadi. Okulyar mikrometr dumaloq shaklda, shisha plastinkadan iborat. 5 mm uzunlikdagi shkala bo'lib, 50 ta bo'limga bo'lingan. Okulyar mikrometrni okulyar linzalari o'rtasiga shkalasini pastga qaratib o'rnatiladi.

Obyekt-mikrometr buyum oynasidan iborat bo'lib, uning markazida 100 bo'limga bo'lingan 1ml li chizg'ich chizilgan (bir bo'lakchasi 10 mkm. ga teng). Obyekt-mikrometr okulyar mikrometrning bir bo'lakchasi kattaligini aniqlash uchun xizmat qiladi. Okulyar mikrometrni okulyarga o'rnatib, obyektiv mikrometr ning bir bo'lakchasiga okulyar mikrometrning qancha miqdordagi bo'lakchalari to'g'ri kelishi topiladi. Obyekt-mikrometr bo'lakchalarining kattaligi ma'lum bo'lgach, okulyar mikrometr bo'lakchalari kattaligini oson aniqlash mumkin. Okulyar mikrometr bo'lakchalarining miqdori aniqlangach, obyektiv mikrometr olinadi va o'rniga mikroskop stolchasiga preparat qo'yiladi. Hujayraning o'rtacha kattaligini aniqlash uchun 50 - 100 tacha mikroorganizm o'lchanadi.



Obyekt-mikrometr



Okulyar-mikrometr

Mikroorganizmlar kattaligi okulyar-mikrometr bilan o'lchanadi. U okulyar diafragmasiga, bo'lingan belgilari pastga qaratilgan holda joylashtiriladi. Bo'linmalar kattaligi esa obyekt-mikrometr bilan aniqlanadi. Bu plastinka bo'lib, o'rtasidagi 1 mm uzunlikda chiziq

o'tkazilgan. O'z navbatida bu chiziq 100 ga bo'lingan bo'lib, har biri 10 mkm ga teng. Obyekt - mikrometr mikroskop stolchasiga shunday joylashtiriladiki, uning bo'linmalaridan biri, okulyar-mikrometrning qandaydir bir bo'linmasiga to'g'ri kelishi kerak.

Ikkala mikrometrning chizig'i bir-biriga parallel joylashishi lozim. So'ngra okulyar-mikrometr bo'linmalar soniga to'g'ri kelgan obyekt mikrometr bo'linmalarining soni belgilanadi. Obyekt-mikrometr bo'linmalarining kattaligini (10 mkm) bilgan holda okulyar mikrometrning bo'linmalar kattaligi aniqlandi. Shundan so'ng obyekt mikrometr tekshirilayotgan preparat bilan almashtiriladi va mikroorganizm hujayrasining o'lchami okulyar mikrometr chizig'i bilan, uning bo'linmasi o'lchangan darajadagi kattalikda aniqlanadi.

STERILLASH USULLARI

Mashg'ulot o'tish tartibi: mikrobiologik sirtmoqni spirt lampasi alangasida sterillanadi. Sterilizatorda shprits, pinset va ninalar qaynatiladi. Petri likobchalarni, probirka va Paster naychalarini o'rab, so'ngra quritish shkafiga qo'yiladi. Avtoklavni ishga tayyorlanadi. Probirkalarga 9 ml dan suv solib, tayyor ozuqa muhitlarni avtoklavga sterilizatsiya qilish uchun qo'yiladi. Zeyts filtri bilan suyuqliklar filtrlanadi.

Talabalar avtoklav, quritish shkaflari, Paster pechi bilan tanishtiriladi.

Kerakli asbob va reaktivlar: avtoklav, quritish shkafi, Kox apparati, kolbalar, suv hammomi, elektr plita, voronkalar, probirkalar va Petri likobchalari, Paster naychasi, mikrobiologik sirtmoq, idishlarni o'rash uchun qog'oz, paxta, ozuqa muhitlar, shprits va ninalar.

Sterillash mikrobiologiya amaliyotida eng muhim jarayon hisoblanadi. Sterillash lotincha "*sterilis*" so'zidan olingan bo'lib, "pushtsizlantirish" degan ma'noni bildiradi. Amaliyotda sterillash – olingan obyektни ustidagi va ichidagi barcha tirik organizmlardan xalos etish degani. "Sterillash" so'zi absolyut sterillangan yoki sterillanmagan degan ma'noni bildiradi, bunda "qisman" yoki "to'liq

sterillanmagan", "sterillanganga yaqin", "deyarli sterillangan" degan ma'nolarni bildirmaydi.

Sterillashning termik va sovuq usullari bor. Mikrobiologiyada termik sterillashning quyidagi usullari qo'llaniladi: alangada kuydirish va qizdirish, quruq (issiq havo bilan) sterillash, bosim yordamida bug' yordamida sterillash (avtoklavlash), pog'onali sterillash (tindallash), qaynatish. Sovuq sterillashdan filtrlash, gaz hosil qiluvchi moddalar bilan sterillash, ultrabinafsha nurini ta'sir ettirish va boshqalardan foydalaniladi.

Sterillash usullarini tanlashda olingan obyektning fizik-kimyoviy xususiyati va tadqiqotning oldiga qo'ygan maqsadi e'tiborga olinadi.

Sterillash – mikroorganizmlar va ularning turli materiallardagi sporalari to'liq yo'q qilishdir. Sterillash bir necha usullar yordamida: fizik (yuqori harorat, ultrabinafsha nuri bilan), mexanik (mikroorganizm hujayralarini filtrda ushlab qolish) va kimyoviy usullar bilan amalga oshiriladi.

Fizik usullar bilan sterillash.

Spirt lampasi yoki gaz alangasida kuydirish. Bu usulda, asosan, mikrobiologik ilgak, preparat ninasi, pinsetlarni sterillash uchun foydalaniladi. Bu usul bevosita ish boshlaganda amalga oshiriladi, asosan, bakterial ilgakning ilgak qismi, metall buyumlar (pinset, qaychi, lanset pichoq), shisha tayoqcha, buyum va qoplag'ich oyna va boshqalar sterillanadi.

Qaynatish yo'li bilan sterillash. Bu usul bilan mikrobiologik laboratoriyada ishlatiladigan shisha va temir buyumlar sterillanadi. Ular sterilizatorlarga solinadi va ustidan suv quyiladi. Suvni yumshatish va qaynash temperaturasini oshirish uchun biokarbonat natriyning 1 - 2% li eritmasi qo'shiladi. So'ng 30 daqiqa davomida qaynatiladi. Ammo bu usul to'liq sterillash imkonini bermaydi, chunki ayrim viruslar va bakteriyalarning sporalari yashash qobiliyatlarini saqlab qolishi mumkin.

Quruq issiqda sterillash. Quruq issiq bilan sterillash uchun quritish shkafidan foydalaniladi, bu shkafda narsalar 160 - 170°C

haroratda ikki soat saqlanadi. Asosan, shisha idishlar (Petri likobchalar, pipetkalar) qog'ozga o'rab quruq issiq bilan sterillanadi, shunday qilinsa, ularning sirtiga havodan mikroorganizmlar yuqmaydi. Barcha mikroorganizmlarni quruq issiq bilan o'ldirish uchun harorat nam sterilizasiyaga qaraganda yuqoriroq bo'lishi va uzoqroq saqlanishi kerak. Sababi, quruq issiq bilan sterillanganda mikroorganizm hujayralaridagi suv asta-sekin bug'lanib chiqadi. Mikroorganizm hujayrasida suv qancha kam bo'lsa, uni nobud qilish uchun shuncha yuqori harorat kerak bo'ladi.

Nam sterillash. Nam sterillash, ya'ni bug' yordami bilan sterillash uchun Kox apparati yoki avtoklav ishlatiladi. Kox apparati 70 - 100°C da sterillaydi. Avtoklav 100 - 154°C haroratda bosim ostidagi bug' bilan sterillaydi. Avtoklav qo'sh devorli qozondan iborat bo'lib, vint bilan jips yopiladigan qopqog'i, havo va bug' chiqaradigan jo'mragi bor. Bundan tashqari, qozonga manometr o'rnatilgan, u avtoklav ichidagi bug' bosimini ko'rsatib beradi. Avtoklavning ehtiyot klapani ham bo'ladi. Avtoklavga suv quyiladi, suvning ustida taglik turadi, bu taglikda bug' o'tadigan teshiklar bor. Sterillanadigan material o'sha taglikning ustiga joylanadi. Avtoklavda ham suv - elektr yoki gaz alangasi bilan isitiladi. Avtoklav qopqog'i jips yopiladi, ichidagi suv qaynaguncha isitiladi. Avtoklav ichidagi butun havoni suv bug'lari siqib chiqarguncha jo'mragi ochib qo'yiladi. Havo chiqib bo'lgandan keyin jo'mrak yopiladi, avtoklav ichida to'plangan bug' esa bosimni oshiradi, natijada suvning qaynash harorati ko'tariladi. Bosim bir atmosferaga yetgach (manometrdan bilinadi), suvning qaynash harorati 120°C ga teng bo'ladi. Bosim ostida 25 - 30 daqiqagacha shu darajada tutiladi, so'ngra suvni isitish to'xtatiladi. Avtoklav manometrining ko'rsatgan bosimi bilan qozon ichidagi issiqlikning to'g'ri ekanligini nazorat qilib turish lozim. Avtoklavda bug' bosimi bilan sterillash tamom bo'lgandan so'ng uning qopqog'ini birdan ochish xatarlidir. Avtoklav sovib, manometr strelkasi nolga tushgach, qolgan bug'ni chiqarib yuborish uchun jo'mrak ochiladi. Shundan keyingina avtoklav qopqog'i ochilib, ichidagi sterillangan material olinadi.



Vertikal avtoklav



Gorizontaal avtoklav



Quritish shkafi



Kox apparati



Bakteritsid lampa



Laminar boks

Tindallash. Tindallash usulida materiallarni Kox apparatida va avtoklavda sterillanadi. Qatorasiga uch kun, kuniga bir marta 30 daqiqadan Kox apparatida 70 - 100°C haroratda qizdirish mumkin. Birinchi marta 100°C gacha qizdirilgandan keyin o'lmay tirik qolgan sporalar keyingi 24 soat ichida unib, tayoqchalarga aylanadi, tayoqchalar esa shu davrda yana spora hosil qilib ulgurmaydi. Shuning uchun, birinchi qizdirishdan 24 soat o'tgach, ikkinchi marta 100°C gacha qizdirilsa, sporalardan hosil bo'lgan tayoqchalar o'ladi. Dastlabki qizdirish bilan ikkinchi marta qizdirish orasida o'tadigan vaqt ichida qanday bo'lmasin spora tayoqchaga aylanib ulgurgan bo'lishi ehtimol deb uchinchi marta 100°C gacha qizdiriladi.

Avtoklavda 120 - 130°C haroratda bosim bilan 30 daqiqa davomida sterillanadi. Bu haroratda mikroblarning hammasi, ya'ni sporali va sporasiz mikroblar ham nobud bo'ladi.

Pasterizatsiyalash. Pasterizatsiyalash materialni bir marta 70 - 100°C issiq haroratda 10 - 30 daqiqa qizdirib olishdir. Bunda sporasiz mikroorganizmlar o'ladi, sporali mikroorganizmlar esa tirik qolaveradi. Pasterizatsiyalash uchun Kox apparatidan foydalaniladi.

Ultrabinafsha nurlar bilan sterillash. Bu usul 260 - 300 mkm to'lqin uzunligidagi ultrabinafsha nurlarining (UB) mikroorganizmlarni o'ldirish xususiyatiga asoslangan. Bokslardagi, mikroorganizmlarning o'stirishga mo'ljallangan xonalardagi havoni sterillash uchun turli quvvatdagi maxsus mikroorganizmlarni o'ldiruvchi (bakterisid) lampalar qo'llaniladi.

Mexanik usullar bilan sterillash

Filtrlash. Filtrlab sterillash usuli, asosan, qizdirib yoki zahar vositasida sterillash mumkin bo'lmagan suyuqliklar uchun qo'llaniladi. Filtrlab sterillash uchun g'ovak chinni, asbest filtrlar yoki kollodiy filtrlar ishlatiladi. Bu filtrlarning teshigi juda mayda bo'lgani uchun bakteriya hujayralarini o'tkazmaydi. Ammo bu filtrlar ultramikroblarni (virus, bakteriofaglarni) o'tkazib yuboradi.

Bu filtrlar Zeyts voronkasining silindr bo'limidagi ajraladigan qismiga o'rnatiladi. So'ngra ikkala qism boltlar bilan birlashtiriladi.

Voronkaning trubkali tomoni rezina probkadan o'tkaziladi va probka Bunzen kolbasiga mustahkam o'rnatiladi. Filtrlashdan oldin asbest filtr o'rnatilgan sistema avtoklavda sterillanadi. Membranali filtrlar alohida qaynatish usuli bilan sterillanadi, so'ngra sterillangan Zeyts voronkasiga joylashtiriladi. Vakuum-nasos Bunzen kolbasiga birlashtiriladi va uning yordamida suyuqlik filtrlanadi. Filtr ichida bosim kam bo'lganligi uchun uning ustidagi suyuqlik filtrdan o'tib, yig'iladigan idishga tushadi. Uning ichidagi bakteriya va boshqa organizmlar filtr ustida qoladi.

Filtrlash usulidan suyuq, qizdirishga chidamsiz moddalarni (antibiotiklar) sterillashda foydalaniladi. Bundan tashqari, bu usul yordamida mikroorganizmlarning toksinlari va ularning hayot faoliyatida ajralib chiqadigan turli xil boshqa mahsulotlari ham sterillanadi. Bu usulning noqulayligi shundaki, suyuqlik sekin filtrdan o'tadi va tez-tez filtrni tozalashga to'g'ri keladi.

Kimyoviy sterillash

Kimyoviy sterillash, asosan, zaharli kimyoviy moddalar bilan mikroorganizmlarni yo'q qilishdir. Qizdirib sterillash mumkin bo'lmagan materiallar (o'simlik urug'lari, binolar dorilanganda) dezinfeksiya qilinadi, ya'ni dorilanadi. Dezinfeksiya qilish uchun kimyoviy moddalar sulema 1:1000, 1:10000 eritmasi, karbol kislota 2-5%, ohak 4-10% va boshqa kimyoviy moddalar ishlatiladi.

MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISH UCHUN OZUQA MUHITLARI TAYYORLASH USULLARI

Mashg'ulot o'tish tartibi: mikroorganizmlarni o'stirish uchun tayyorlanadigan ozuqa muhitlarining tarkibi va tayyorlash texnologiyalari bilan tanishiladi (go'sht-pepton buloni, kartoshkali ozuqa va Chapeka ozuqasi). pH ni 7,4-7,6 ga teng qilib, ozuqa muhitlarni probirka va kolbalarga solib avtoklavda sterilizatsiya qiladilar. Avtoklavdan olingan probirkadagi agarli ozuqalar qiya qilib qo'yiladi, kolbadagilar esa Petri likobchalarga solib qotiriladi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: qiyma. Distillangan yoki vodoprovod suvi. 200 ml li kolbalar. Suv hammomi yoki kastyulka.

Elektr plita. Pepton. Quruq agar. Osh tuzi. Tarozi va toshlari. Qoshiqchalar. Ozuqa muhitni quyish uchun voronkalar. pH ni aniqlash uchun komparator. Sterillangan probirkalar va Petri likobchalari. Paster naychasi - 2-5-10 ml. Kartoshka, no'xat, loviya, somon, tuproq. Saxaroza. Noorganik tuzlar.

Mikroorganizmlar hujayrasi tarkibini organik moddalar tarkibiga kiruvchi: C, O, H, N mineral moddalar tarkibiga kiruvchi: P, S, K, Mg, Ca, Fe va mikroelementlardan: Zn, Mn, B, Cu, Mo, Co va boshqalar tashkil qiladi.

Mikroorganizmlar hujayrasining quruq tarkibi: C - 50%, N - 10 - 13%, H - 8%, O - 20%, P_2O_5 - 4%, K_2O - 3%, SO_3 - 1%, MgO - 0,8%, CaO - 1%, Fe_2O_3 - 0,08% va juda oz miqdorda mikroelementlardan iborat.

Mikrobiologiyada turli murakkab yoki oddiy birikmalardan tashkil topgan, mikroorganizmlarni laboratoriya va ishlab chiqarish sharoitida ko'paytirish uchun qo'llaniladigan muhitga ozuqa muhiti deb ataladi.

Har bir ozuqa muhiti quyidagi talablarga javob berishi kerak: ma'lum mikroorganizmlarning ko'payishi uchun barcha kerakli moddalar oson o'zlashtiriladigan shaklda, qulay namlikda, yopishqoqlikda, rN da, tiniq bo'lishi zarur.

Har bir muhit tarkibiga ko'ra ma'lum usul bilan sterillanadi.

Bir qator ozuqa muhitlar, to'g'ridan-to'g'ri mikrobiologik laboratoriyalarda hayvon, o'simlik mahsulotlari (mol go'shti, sut, achitqi, sabzavotlar) yoki ular sun'iy ravishda yuqoridagi moddalardan olingan mahsulotlardan (pepton, aminopeptid, achitqi va jo'xori ekstraktlari) tayyorlanadi.

Ozuqa muhitida o'stiruvchi omillarning borligi katta ahamiyatga ega. Ular metabolik jarayonlarda katalizator vazifasini bajaradi, asosan, V guruhi vitaminlari, nikotin kislota va boshqalar shular qatoriga kiradi.

Laboratoriya sharoitida mikroorganizmlarni o'stirish uchun har bir mikroorganizmning fiziologik guruhlariga ko'ra maxsus ozuqa muhitlari tayyorlanadi. Shu sababli har bir mikroorganizmni ajratish va xususiyatini o'rganishda ozuqaning tarkibi, konsistensiyasi, kelib

chiqishi va ishlatilishi har xil bo'lgan ozuqa muhitlari kerak bo'ladi. Ozuqa muhitlari tabiiy yoki sun'iy bo'ladi.

Tabiiy - ozuqa muhitlariga sut, tuxum, go'sht, meva-sabzavotlar va boshqalar kiradi.

Sun'iy - ozuqa muhitlari alohida retseptlar asosida, o'simlik va hayvon mahsulotlarining qaynatmalariga noorganik tuzlar hamda uglevodlar qo'shib tayyorlanadi.

Sintetik - ozuqa muhitlari, asosan, kimyoviy toza moddalarning (tuzlar, uglevod, aminokislota va vitaminlar va boshqalar) aniq nisbatlarida olingan holda tayyorlanadi.

Ozuqa muhitlari konsistensiyasiga ko'ra suyuq, yarim suyuq va qattiq bo'ladi. Suyuq ozuqa muhitlari, asosan, suvdan va unda suyultirilgan moddalardan iboratdir (go'sht suvi, go'sht-pepton qaynatmasi, kartoshka suvi).

Qattiq ozuqa muhiti suyuq ozuqaga jelatin (10 - 15%) yoki agar-agar (1 - 2%) qo'shib tayyorlanadi. Yarimsuyuq ozuqa muhiti tayyorlashda jelatin yoki agar-agardan kam miqdorda solinadi.

Ozuqa muhitlari belgilariga qarab oddiy, maxsus, elektiv va differensial-diagnostik shaklda tayyorlanadi.

Oddiy ozuqa - ko'pgina mikroorganizmlarni o'stirish uchun ishlatiladi. Bularga dukkakli pepton qaynatmasi, go'sht-pepton qaynatmasi va go'sht - pepton agari kiradi.

Maxsus ozuqa - alohida guruh yoki alohida tur mikroorganizmni ajratish uchun tayyorlanadi. Masalan, Omelyanskiy ozuqa muhiti anaerob mikroblar uchun, Chapeka ozuqa muhiti esa zamburug'lar uchun tayyorlanadi.

Elektiv ozuqa - bitta turga mansub mikroorganizm uchun tayyorlanadi, boshqa mikroorganizmlar bunday ozuqa muhitida o'smaydi yoki rivojlanishi juda sekinlashib ketadi. Bunday ozuqa muhitiga S.N.Vinogradskiyning yig'ma ozuqa muhiti misol bo'ladi va bu ozuqa ko'pgina tuproq mikroorganizmlar uchundir.

Differensial - diagnostik ozuqa - mikroorganizmlarning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganishdava ba'zi mikroorganizmlarning sof kulturasini ajratishda qo'llaniladi. Differensial - diagnostik ozuqa muhiti mikroorganizmlar tomonidan ajratiladigan oqsil va

uglevodlarni parchalanishini va oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini yuzaga keltiruvchi fermentlarni aniqlashda qo'llaniladi. Bunga suyuq, uglevodli Giss ozuqasi va Endo, Levin indikatorli qattiq ozuqa muhiti misol bo'ladi.

Hozirgi vaqtda ozuqa muhitlarni tayyor retseptlar bilan fabrikalarda quruq poroshok yoki suyuq konsentratsiya holda chiqarilmoqda.

Har bir mikroorganizmlarni o'stirish uchun tayyorlangan ozuqa muhiti quyidagi talablarga javob berishi lozim:

1. Mikroorganizmlar uchun kerakli ozuqa moddalar, azot, uglerod, kislorod va suv, noorganik tuzlar bo'lishi kerak.

2. Mikroorganizmlar erigan holda ozuqa moddalarni qabul qilgani uchun ular nam bo'lishi kerak.

3. Yot mikroorganizmlardan xoli qilish uchun sterillangan bo'lishi shart.

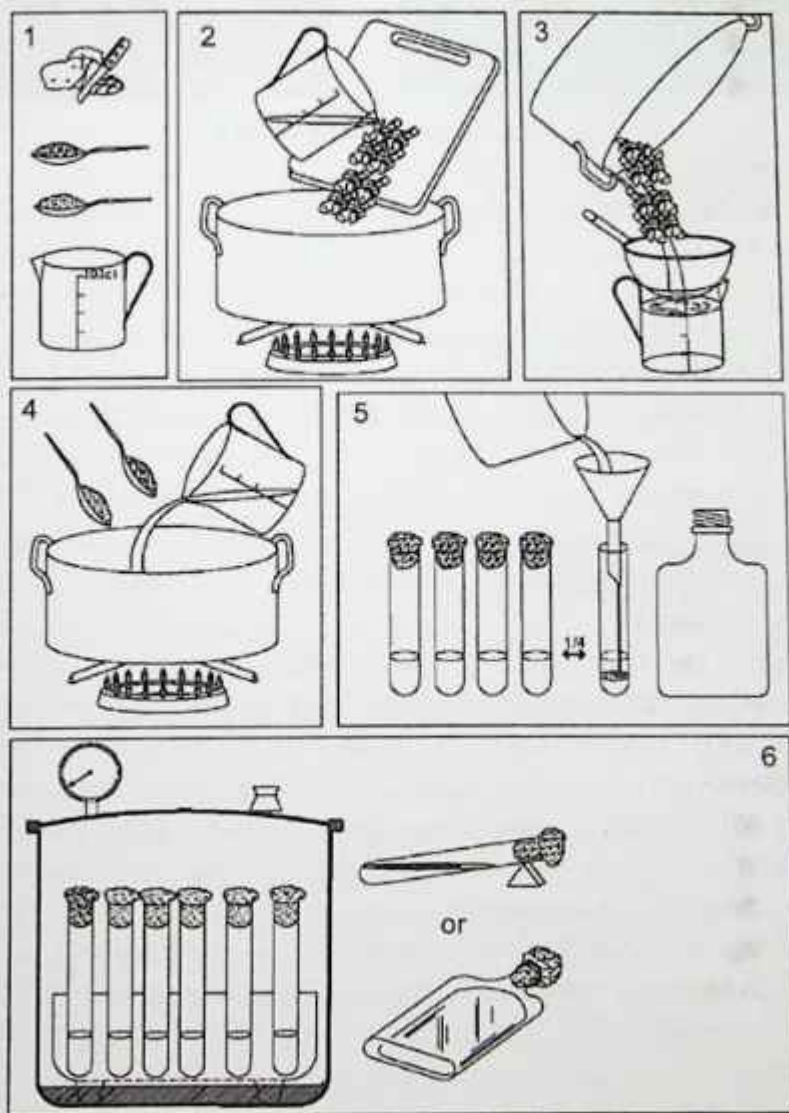
4. Ozuqa muhiti tiniq bo'lishi kerak, sababi u mikroorganizmlarni o'sishini kuzatish uchun qulaydir.

5. Ozuqa muhiti pH reaksiyasiga to'g'ri kelishi kerak.

Go'sht-pepton qaynatmasi. Bu ozuqa muhitni tayyorlash uchun 500 gramm qiyma (yog'siz) olinib, ustiga 1000 ml iliq suv quyib 12 soat qo'yiladi. Keyin surp matodan o'tkazilib qaynatiladi. Oqsillar qaynaganda ivib qoladi, shuning uchun ular avval surp matoda suziladi, so'ngra buklangan qog'oz filtdan o'tkaziladi. Shu tariqa go'sht buloni hosil bo'ladi. Shu bulonga 1% pepton va 0,5% NaCl qo'shiladi. Pepton eriguncha isitiladi va maxsus komparator (pH aniqlagichi) yordamida muhitning reaksiyasi aniqlanadi. Natijada go'sht-pepton qaynatma hosil bo'ladi va uni qaynatib, qog'oz filtdan o'tkaziladi. Qaynatma probirkalarga quyilib, og'zi probka bilan yopiladi va avtoklavda bir atmosfera bosimda 30 daqiqa sterillanadi.

Go'sht pepton agari. Sovuq go'sht pepton buloniga 1,5 - 2% agar qo'shib, uni bo'ktirish maqsadida 5 - 10 daqiqa shu holda qo'yiladi, so'ngra suv hammomida agar erib bo'lguncha qizdiriladi. Shu tariqa tayyorlangan go'sht pepton agari probirkalarga quyilib, avtoklavda 120°C da 30 daqiqa sterillanadi. Agar-agar muhitining suyulish harorati 100°C atrofida, qotish harorati esa 40 - 45°C.

Kartoshkali ozuqa muhiti. 400 gramm tozalanib, kubik shaklida qirqilgan kartoshka ustiga 1 litr vodoprovod suvidan solib, 15 daqiqa qaynatiladi. Qaynatma filtr qog'oz yoki paxta bilan filtrlab olinadi va probirka hamda kolbalarga solinadi.



Kartoshka, o'simlik mahsulotlari va a'zolaridan ozuqa muhiti tayyorlash ketma-ketligi



Tayyor ozuqa muhitlari

Avtoklavda 1 atmosfera bosimda 30 daqiqa sterillanadi. Kartoshka suviga 20 gramm saxaroza yoki glyukoza va 20 gramm agar qo'shib zich ozuqa muhit tayyorlanadi. Ozuqani qaynatib, pH i aniqlanib, belgilanadi. Avtoklavda 1 atm. bosimda 30 daqiqa sterillanadi.

Dukkakli qaynatma. Dukkakli qaynatma tuganak bakteriyalar, mog'or zamburug'lar uchun yaxshi oziqli substratdir. Buni tayyorlash uchun dukkaklilar (no'xat, loviya) urug'i ustidan 4 barobar suv solib, 1 soat qaynatiladi yoki avtoklavda 0,5 atm. bosimda 20 daqiqa isitiladi. pH i aniqlanib belgilanadi hamda 1% shakar qo'shib, probirka va kolbalarga solib, avtoklavda 1 atmossfera bosimda 30 daqiqa sterillanadi.

Somonli qaynatma. 10 gramm somonga 1 litr vodoprovod suvi solib 30 daqiqa qaynatiladi. Hosil bo'lgan qaynatma filtrlanib, kerakli tuzlar (K_2HPO_4) va shakar (1%) solinadi. pH i aniqlanib belgilanadi va avtoklavda 0,5 atmosfera bosimda 30 daqiqa sterillanadi.

Tuproqli agar. Quruq tuproqni o'simlik qoldiqlari, tosh va qumlardan yaxshilab tozalanadi. Tuproqni hovonchada maydalab, elakdan o'tkaziladi. Tuproqni kolbaga solib ustidan distillangan suvni 1:5 nisbatda solinadi. Tayyor suspenziya 5 - 10 daqiqa chayqatiladi, keyin 1,5 - 2% agar qo'shiladi. Ozuqani avtoklavda 120°S haroratda 1 soat davomida sterillanadi. Sterillash 1 sutkadan so'ng yana qaytariladi.

Chapeka ozuqa muhiti

1	NaNO ₃	2 g	5	FeSO ₄	0,001 g
2	KH ₂ PO ₄	1 g	6	Saxaroza	20 g
3	MgSO ₄	0,5 g	7	Agar-agar	20 g
4	KCl	0,5 g	8	Vodoprovod suvi	1 litr

Yuqorida ko'rsatilgan tuzlarni solib yaxshilab aralashtiriladi va agar solinadi. Keyin agarni suyultirish uchun suv hammomiga qo'yiladi. Tayyor bo'lgan ozuqani probirka va kolbalarga solib avtoklavda 1 atmosfera bosimda 30 daqiqa sterillanadi.

Omelyanskiy ozuqa muhiti

1	NH ₄ H ₂ PO ₄	1,0 g	5	CaCO ₃	20 g
2	K ₂ P ₂ O ₄	1,0 g	6	Filtr qog'oz	2-3 ta
3	MgSO ₄	0,5 g	7	Distillangan suv	1000 ml
4	NaCl	0,5 g			

Yuqorida keltirilgan tuzlarni tarozida tortib olinadi va 1 litr suvga solib aralashtiriladi. Tayyor bo'lgan ozuqa avtoklavda 120°S da 30 daqiqa sterillanadi.

Mikroorganizmlarning rivojlanishida ayrim elementlarning ahamiyatini bilish uchun *Aspergillus niger* zamburug'i bilan tajriba qo'yish mumkin.

Buning uchun turli variantda ozuqa muhiti tayyorlanadi va bu ozuqa muhitining biri mikroelementlarsiz bo'lsa, boshqalari tarkibiga biror bir element qo'shilmagan holda tayyorlanishi kerak.

Zamburug'ning bunday ozuqa muhitlarida o'sishi va rivojlanishiga qarab qo'shilmagan elementning ahamiyatini bilish mumkin.

MIKROORGANIZMLARNI EKISH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: mikroorganizmlarni ozuqa muhitiga ekish usullari va texnikasi bilan tanishadilar. Har bir talaba mikrobiologik sirtmoq bilan go'sht-pepton qaynatmasi, go'sht-pepton agari, kartoshka, Chapeka agari solingan probirkalarga va

Petri likobchalariga mikroorganizmlarni ekib sof kultura ajratishni o'rganadilar. Mikroorganizmlarni o'stirish uchun qo'yiladigan termostat bilan tanishadilar.

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

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

Mikroorganizmlarni ozuqa muhitiga ekkanda havodan yoki tevarak-atrofdagi narsalardan yot mikroblarning tushishiga yo'l qo'ymaslik uchun quyidagi ishlar amalga oshiriladi:

- spirt lampasi yoqiladi;

- chap qo'lga ikkita - birinchisi, unib chiqqan va qayta ekiladigan mikroorganizmlar, ikkinchisi, sterillangan ozuqa muhiti solingan probirkalar olinadi. Mikroorganizmlar unib chiqqan probirkadan ikkinchi probirkaga mikroorganizmlar olib ekiladi. Probirkalar gorizontaal ushlanadi;

- mikrobiologik sirtmoq tikka ushlanib, spirt lampasining alangasida qizarguncha qizdiriladi. So'ng sirtmoq alanga ustidan yotiq holda o'tkaziladi, sirtmoqning simigina emas, dastasini ham mikroorganizmlar nobud bo'lishi uchun alangadan o'tkazish kerak;

- ikkala paxta probka o'ng qo'lning kichik barmog'i bilan kafti orasida ushlanib, probirkalar ochiladi;

- ikkala probirkaning chetlari spirt lampasining alangasiga tutib qizdiriladi;

- sirtmoq mikroorganizmli probirkaga tiqilib, avval mikroorganizmsiz joyiga tegiziladi, bundan maqsad, sirtmoqning haddan tashqari qizib ketmaganligini tekshirib ko'rishdir, so'ngra sirtmoq bilan mikroorganizmlar yoki mikroorganizmlar aralashgan suyuqlikdan bir oz olinadi, bunda sirtmoqni probirkaning devorlariga tekizmasdan yangi sterillangan oziq muhiti ustiga surkaladi yoki ozuqa muhiti suyuq bo'lsa, suyuqlikka botirib olinadi;

- paxta probkalarining pastki uchlari va probirkalarining chetlari alangaga tutib kuydiriladi va ikkala probirkaning og'zi yopiladi;

- sirtmoqni spirt lampasining alangasiga tutib qizarguncha qizdiriladi.

Anaerob mikroorganizmlarni ekish uchun ular zich ozuqa muhitining (GPA, GPJ) orasiga kiritiladi, bunda u sanchib ekiladi. Buning uchun mikrobiologik nina ishlatiladi. Bunday nina simining uchi sirtmoqqa o'xshab qayrilgan emas, balki o'tkirlangandir. Yuqorida keltirilgan qoidalarga amal qilib, bunday nina bilan bir oz mikroorganizm olinib, qattiq ozuqa muhiti ustuncha shaklida qotgan probirkaning tagigacha sanchiladi.



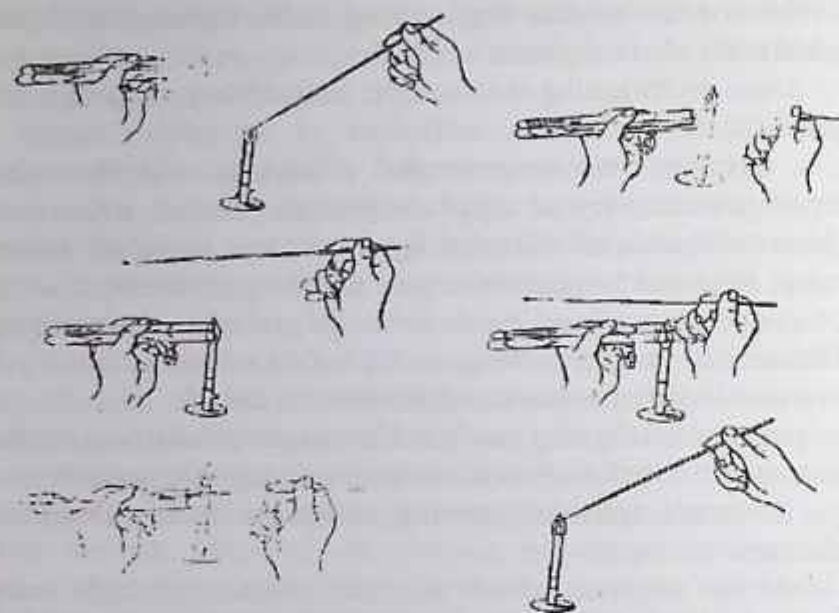
Bakteriologik ilgaklar



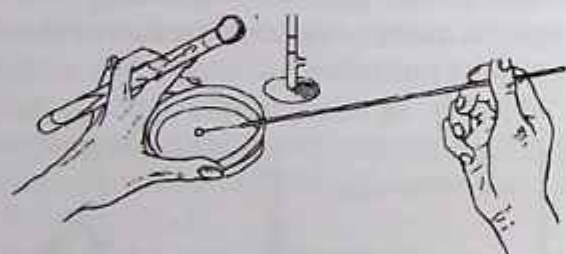
Skalpel



Shpatel



Probirkadan probirkaga mikroorganizmlarni qayta ekish



Petri likobchasidagi qattiq ozuqa muhitiga ekish

Pipetka bilan ishlash vaqtida, avvalo, uni qog'ozdan ajratib olinadi. Tezlikda lampa alangasi ustidan o'tkaziladi va probirkaga kiritiladi. So'ngra uning ichki tomoni sovutiladi. Shundan so'ng pipetka og'zi orqali, yuqorida yozilgan qoidaga amal qilgan holda ekiladigan material so'rib olinib, probirka yoki boshqa laboratoriya idishiga puflanadi. Ishlatilgan pipetka dezinfeksiya qiluvchi eritmasi bo'lgan bankaga solib qo'yiladi.

Petri likobchasidagi agarli ozuqa muhiti yuzasiga shpatel yordamida gazon ekiladi. Buning uchun qopqoq biroz ochiladi, sirtmoq yoki pipetka bilan ekiladigan materiallardan ozuqali agar yuzasiga tomiziladi. So'ngra shpatel lampa alangasidan o'tkaziladi, qopqoqning ichki tomonida sovutiladi va material muhitning butun yuzasiga surtiladi. Bunda chap qo'l bilan qopqoq ushlab turiladi va bir vaqtning o'zida likobcha stoldan ajratilgan holda aylantirib turiladi. Inkubatsiyadan so'ng mikroorganizmlar bir tekis unib chiqadi.

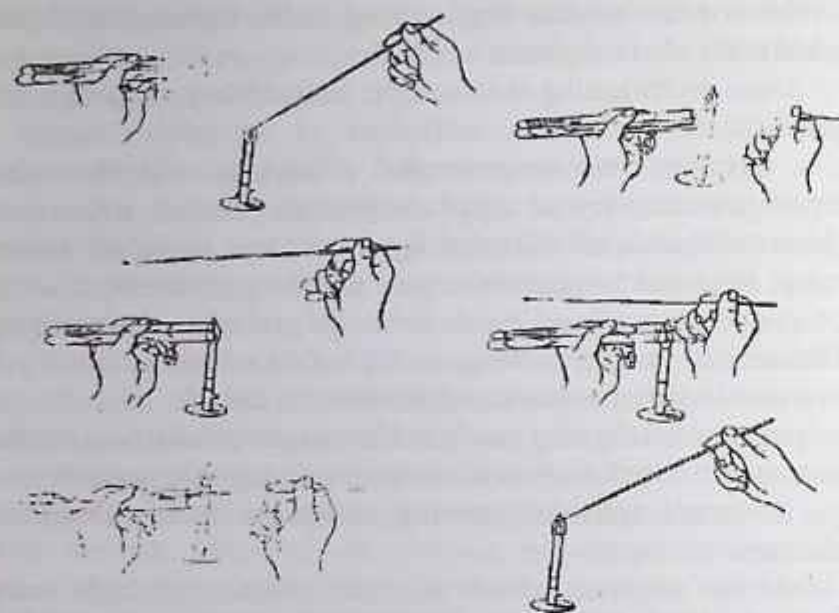
Ozuqa muhitiga ekilgan mikroorganizmlar termostatga joylashtiriladi.

Mikroorganizmlarni ozuqa muhitida o'stirish termostatlarda optimal haroratda o'tkaziladi. Termostat ikki eshikli bo'lib, ichki-oynali, tashqi - ikki qavatli bo'lib, ichki qismi issiq o'tkazmaydigan material bilan to'ldirilgan. Termostatning ichki qismida olinadigan patnoslar o'rnatilgan bo'ladi.

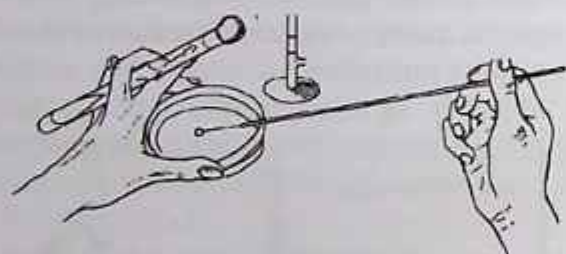
MIKROORGANIZMLARNING SOF KULTURASINI AJRATISH VA BELGILARINI O'RGANISH HAMDA ULARNING TURLARINI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: mikroorganizmlardan sof kulturalar ajratish usullari bilan tanishiladi: a) qattiq ozuqa muhitidan; b) elektiv ozuqa muhitidan, v) kasallangan o'simlik a'zolaridan (barg, poya, ildiz, meva) sof kulturalar ajratiladi. Mikroorganizmlarning sof kulturalarining qiya agarda o'sishi va Gramm usulida bo'yalishini tekshiriladi (*Xanthomonas malvacearum*)

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroorganizmlar ekilgan Petri likobchalari va probirkalar, mikrobiologik sirtmoq, bo'yoqlar, pinset. Buyum va qoplag'ich oynachalar. Mikroorganizm koloniyalarining shakli tushirilgan jadvallar. Giss ozuqa muhiti solingan shtativlar to'plami bilan, go'sht pepton qaynatmasi (GPQ), oddiy lakmus sut bilan, ozuqa muhiti solingan (kartoshkali, glyukoza-pektinli, go'sht-peptonli agarli ozuqalari) Petri likobchalari. Agar ozuqasi qiyshiq qotirilgan probirkalar, Paster naychalari, shpatel, turli kislotalarga shimdirilgan filtr qog'oz bo'lakchalari. Qizil lakmus qog'ozlari



Probirkadan probirkaga mikroorganizmlarni qayta ekish



Petri likobchasidagi qattiq ozuqa muhitiga ekish

Pipetka bilan ishlash vaqtida, avvalo, uni qog'ozdan ajratib olinadi. Tezlikda lampa alangasi ustidan o'tkaziladi va probirkaga kiritiladi. So'ngra uning ichki tomoni sovutiladi. Shundan so'ng pipetka og'zi orqali, yuqorida yozilgan qoidaga amal qilgan holda ekiladigan material so'rib olinib, probirka yoki boshqa laboratoriya idishiga puflanadi. Ishlatilgan pipetka dezinfeksiya qiluvchi eritmasi bo'lgan bankaga solib qo'yiladi.

Petri likobchasidagi agarli ozuqa muhiti yuzasiga shpatel yordamida gazon ekiladi. Buning uchun qopqoq biroz ochiladi, sirtmoq yoki pipetka bilan ekiladigan materiallardan ozuqali agar yuzasiga tomiziladi. So'ngra shpatel lampa alangasidan o'tkaziladi, qopqoqning ichki tomonida sovutiladi va material muhitning butun yuzasiga surtiladi. Bunda chap qo'l bilan qopqoq ushlab turiladi va bir vaqtning o'zida likobcha stoldan ajratilgan holda aylantirib turiladi. Inkubatsiyadan so'ng mikroorganizmlar bir tekis unib chiqadi.

Ozuqa muhitiga ekilgan mikroorganizmlar termostatga joylashtiriladi.

Mikroorganizmlarni ozuqa muhitida o'stirish termostatlarda optimal haroratda o'tkaziladi. Termostat ikki eshikli bo'lib, ichki-oynali, tashqi - ikki qavatli bo'lib, ichki qismi issiq o'tkazmaydigan material bilan to'ldirilgan. Termostatning ichki qismida olinadigan patnoslar o'rnatilgan bo'ladi.

MIKROORGANIZMLARNING SOF KULTURASINI AJRATISH VA BELGILARINI O'RGANISH HAMDA ULARNING TURLARINI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: mikroorganizmlardan sof kulturalar ajratish usullari bilan tanishiladi: a) qattiq ozuqa muhitidan; b) elektiv ozuqa muhitidan, v) kasallangan o'simlik a'zolaridan (barg, poya, ildiz, meva) sof kulturalar ajratiladi. Mikroorganizmlarning sof kulturalarining qiya agarda o'sishi va Gramm usulida bo'yalishini tekshiriladi (*Xanthomonas malvacearum*)

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroorganizmlar ekilgan Petri likobchalari va probirkalar, mikrobiologik sirtmoq, bo'yoqlar, pinset. Buyum va qoplag'ich oynachalar. Mikroorganizm koloniyalarining shakli tushirilgan jadvallar. Giss ozuqa muhiti solingan shtativlar to'plami bilan, go'sht pepton qaynatmasi (GPQ), oddiy lakmus sut bilan, ozuqa muhiti solingan (kartoshkali, glyukoza-pektinli, go'sht-peptonli agarli ozuqalari) Petri likobchalari. Agar ozuqasi qiyshiq qotirilgan probirkalar, Paster naychalari, shpatel, turli kislotalarga shimdirilgan filtr qog'oz bo'lakchalari. Qizil lakmus qog'ozlari

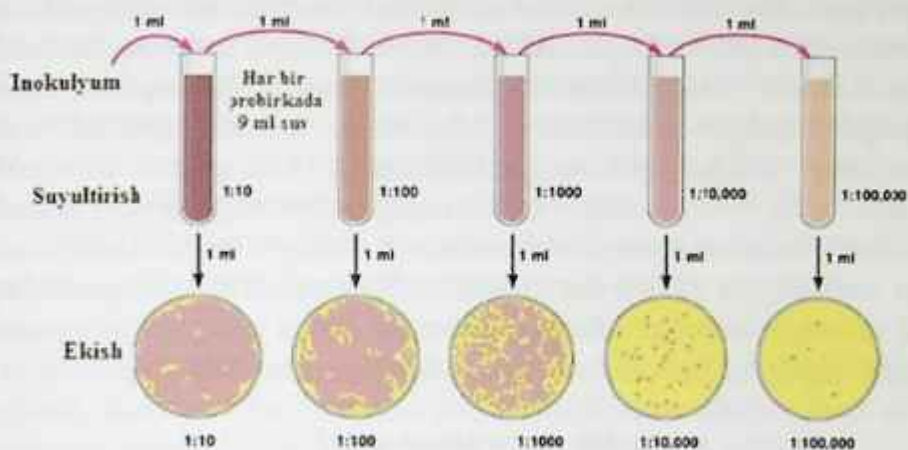
(ammiak uchun). Mikroskop, bo'yoqlar, *Pseudomonas fluorescens*, *Xanthomonas malvacearum* bakteriyalarining sof kulturalari. Tuproq, o'simlikning zararlangan a'zolari.

Tekshirilayotgan materiallarda mikroorganizmlarning bir turi emas, balki bir necha turi bo'lishi mumkin. Bu ko'p tur mikroorganizmlar bo'lgan materialdan bitta turini quyidagi usullar bilan ajratib olsa bo'ladi: 1. Suyultirish. 2. Yoyish yoki tarqatish. 3. Elektiv ozuqa muhitlarida o'stirish. 4. Batsillalarni ajratish. Ko'p qo'llaniladigani bu qattiq ozuqa muhitidan ajratishdir.

Suyultirish usuli. Tekshirilayotgan material sterillangan suyuq ozuqa muhitida yoki fiziologik eritmada suyultiriladi.

Tekshirilayotgan materialning turiga va uning tarkibidagi mikroorganizmlarning soniga qarab ozuqa muhiti 1:100, 1:1000, 1:10000 nisbatda suyultiriladi. Muhit suyultirilganda uning tarkibidagi mikroorganizmlarning soni kamayadi va siyraklashadi. Misol: 1 ml tekshirilayotgan materialda 1 mln mikroorganizmlar bo'lsa, 1:1000 nisbatda suyultirilganda bu suyultirilgan suyuqlikning 1 ml da 1 mln, 1:10000 nisbatda suyultirilgan bo'lsa, 100 ming va hokazo mikroorganizmlar bo'ladi. Shunday qilib, tekshirilayotgan material qancha ko'p suyultirilsa, undagi mikroorganizmlar soni shuncha kamayadi. Bu esa mikroorganizmlarni alohida-alohida sun'iy ozuqa muhitida unib chiqishiga imkon beradi va sof kulturani, ya'ni bir turli mikroorganizmlar koloniyasini undirishga sharoit yaratadi.

Tekshirilayotgan material suyuq bo'lsa, mikroorganizmlarning soni taxminan aniqlanadi va ularning soni ko'p bo'lsa, 0,1 ml, agarda kam bo'lsa 1 ml olinib, suyultiriladi. Suyultirishdan avval bir necha probirkalarda 9 ml sterillangan suyuq ozuqa muhiti yoki sterillangan fiziologik eritma tayyorlanadi va probirkalarga quyiladi. Agarda tekshirilayotgan materialda mikroorganizmlar ko'p bo'lsa, birinchi probirkaga 9 ml emas, balki 9,9 ml quyiladi. Tekshirilayotgan materialdan kam bo'lsa 1 ml olinib, tayyor probirkaga quyiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Suyultirish 1:1 nisbatda bo'ladi. Agarda materialda mikroorganizmlar ko'p bo'lsa, probirkaga materialdan 9,9 ml emas, balki 0,1 ml olinadi, bunda suyultirish 1:100 nisbatda bo'ladi. Bu suyuqlikdan 1 ml olib, uchinchi 9 ml li suyuqlikka quyib aralashtirmasdan 1:1000 nisbatda suyultiriladi.



Hisoblash: Likobchalardagi koloniyalar soni $\times$ Eritmaning nisbati = 1 ml dagi bakteriyalar soni
 Masalan: $32 \times 10000 = 320000/\text{ml}$

Suyultirish usuli yordamida mikroorganizmlarni sof holda ajratib olish

Shunday qilib, kerakli darajada suyultirish va kerakli suyultirilgan mikroorganizmlar aralashmasidan olib tekshirish mumkin.

Bu usulda tekshirilayotgan ko'p suyultirilgan kulturadan Petri likobchaga zich ozuqa muhitdan bir necha tomchi tomizib, shpatel yordamida yoyiladi. Material yaxshi yoyilgandan so'ng Petri likobchaga ag'darilib, termostatga quyib mikroorganizmlar undiriladi.

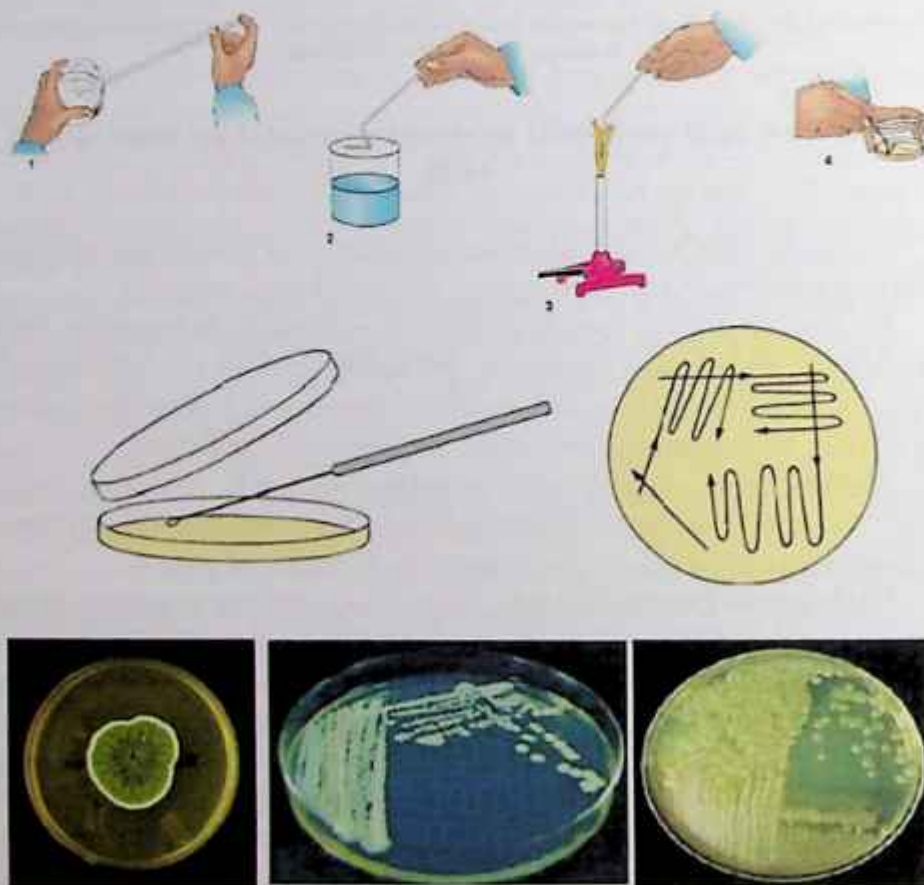
Suyultirilgan suyuqlikdan tekshirilayotgan material, ya'ni undirilgan mikroorganizmlarning belgilaridan boshqa koloniyalarni olib boshqa sun'iy ozuqa muhitiga ekib, sof kultura olinadi.

Yoyish yoki tarqatish usuli. Sof holda ajratishning bu usulida zich ozuqa muhitlaridan, ko'pincha go'sht-pepton agar (GPA), Chapeka, suslo-agar ozuqa muhiti ishlatiladi. Tekshirilayotgan materialning bir tomchisi, agarda tekshirilayotgan material quyuk bo'lsa, uni avval steril fiziologik eritmada suyultirib, zich ozuqa muhitning sirtiga tomiziladi va steril shpatel bilan bosmasdan surtiladi.

So'ngra shpatelni ag'darmasdan ikkinchi sirtiga tegizib, surtiladi. O'sha shpatel bilan keyingi Petri likobchalariga ketma-

ket suriladi. Birinchi likobchadagi ozuqa muhitining sirtiga ko'p mikroorganizmlar tushgan bo'lsa, ikkinchisida kamroq bo'ladi, chunki ikkinchi likobchadagi ozuqa muhitning sirtiga faqat birinchi likobchadan qolgan mikroblarning bir qismi, uchinchisiga ikkinchi likobchadan qolgan mikroorganizmlarning bir qismi surtiladi. Shundan qilib, materialdagi mikroorganizmlarning soniga qarab Petri likobchalarning miqdori aniqlanadi. Oxirgi likobchaning zich ozuqa muhitining sirtiga bir necha mikroorganizmlar shpateldan o'tadi va shu mikroorganizmlardan hosil bo'lgan koloniyalar yaqqol ko'rinadi. Unib chiqqan koloniyalardan olib tekshiriladi.

Yoyish va tarqatish usuli



Bu usulda shpatel orqali mikroorganizmlarni siyraklatib yoyishdan so'ng Petri likobcha termostatga qo'yiladi. Termostatdan unib chiqqan mikroorganizmlarning har bir hujayrasidan koloniyalar hosil bo'ladi. Alohida unib chiqqan mikroorganizmlar koloniyasi olib o'rganiladi. Chunki bitta mikroorganizm hujayrasidan hosil bo'lgan koloniyada bir xil mikroorganizmlar bo'ladi.

Elektiv, ya'ni maxsus ozuqa muhitlar yordamida sof kulturani olish usuli. Ba'zi bir mikroorganizmlar o'sib rivojlanishi uchun maxsus moddalar va maxsus sharoit talab qiladi, boshqalarga esa xuddi shu moddalar va shu sharoit ularning rivojlanishiga to'sqinlik qiladi. Buning uchun mikroorganizmlarni undirishda ularga alohida maxsus ozuqa muhitlar tayyorlanadi. Shunday ozuqa muhitlarga mikroorganizmlar aralashmasi ekilsa, bu ozuqa muhitda ba'zi mikroorganizmlar o'sadi, rivojlanadi, boshqalari esa o'smaydi va rivojlanmaydi. Unib chiqqan mikroorganizmlarda surtma tayyorlab, mikroorganizmlarni o'rganish mumkin.

Batsillalarni ajratish usuli. Batsillalar - noqulay sharoitdan himoyalaniş uchun spora hosil qiladi. Tekshirilayotgan materiallarda spora hosil qiladigan va spora hosil qilmaydigan mikroblar bo'lishi mumkin.

Bularni bir-biridan ajratish uchun tekshirilayotgan materialni 70 - 80°C da 10 - 15 daqiqa saqlash kerak. So'ng material ozuqa muhitiga ekilib, termostatda undiriladi. Isitishda spora hosil qiladigan mikroorganizmlar tirik qoladi. Spora hosil qilmaydigan mikroorganizmlar nobud bo'ladi. Shunday qilib, batsillalarni va ularning sporalarini mikroorganizmlarning aralashmasidan ajratish mumkin.

Mikroorganizmlarning kultural belgilarini aniqlashda ularni ozuqa muhitlariga ekib o'rganiladi. Har bir mikroorganizmlarni o'rganishda alohida ozuqa muhitlari mavjuddir. Qattiq ozuqa muhitlarida makroskopik usulda ularning koloniyalari, shakllari, rangi, tiniqligi, ustki qismlarining ko'rinishlari e'tiborga olinadi.

Koloniyalar hajmiga ko'ra aniq diametri 1 mm dan oshmagan, kichik 1 - 2 mm, o'rtacha 2 - 4 mm, yirik 4 - 6 mm va undan ortiq bo'ladi.

Koloniylar shakliga ko'ra dumaloq, oval, chetlari to'g'ri yoki qiyshiq, ozuqa muhitining ustki qismida silliq, tekis, do'mboq, yoyilgan, don shaklida, rang bo'yicha - oq, sariq, qizil, siyoh rang, qora va boshqalar, konsistensiyasi bo'yicha - shilimshiqsimon, qattiq, quruq, tiniq va loyqa ko'rinishda bo'ladi.

Koloniylarni to'liq o'rganish uchun ularni lupalar yoki mikroskop orqali o'rganiladi.

Suyuq ozuqa muhitida ularning belgilari parda shaklida, loyqa, cho'kma va ozuqa muhitning rangini o'zgartirishi shaklida ko'rinadi.

Go'sht pepton jelatiniga inyeksiya usulida ekilgan mikroorganizmlar yon tomonidan archa ko'rinishida koloniylar hosil qiladi. Ba'zan GPJ suyulishi natijasida tekis qavatli koloniylar hosil qiladi.

Koloniylarni o'rganish davomida ulardan preparat tayyorlab, bo'yaladi va mikroskop orqali kuzatiladi.

Bakteriyalarni oladigan bo'lsak, ularni turi, **morfologik, fiziologik va kultural** (o'sish) xossalari qarang aniqatlanadi.

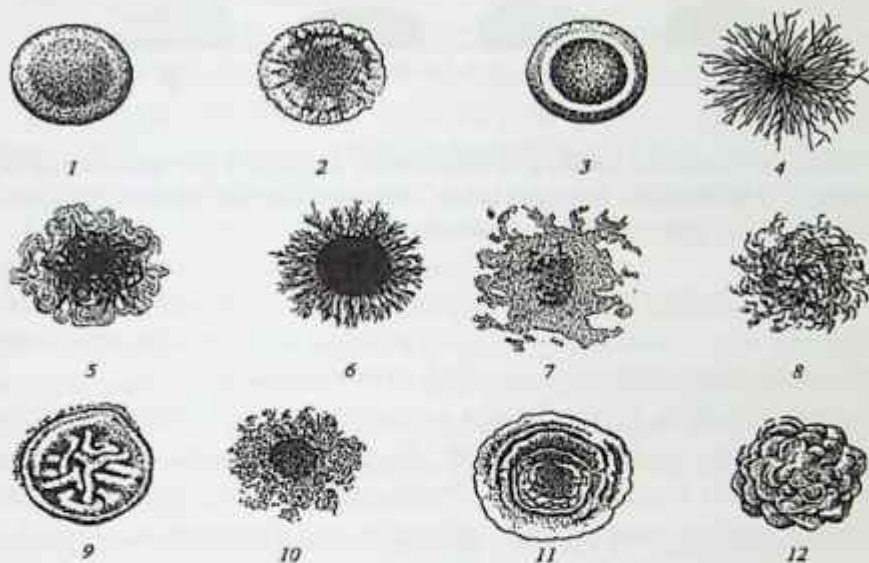
Morfologik belgilariga - bakteriyalarning vegetativ tanasining shakli (kokklar, tayoqchalar va boshqalar), ularning katta-kichikligi, spora hosil qilishi, harakatchanligi, Gramm usulida bo'yalishi kiradi.

Kultural belgilari - bakteriyalarning har xil ozuqa muhitlarida o'sish xususiyatlari, demakdir. Ozuqa muhitida mikroorganizmlarning o'sish xususiyatlari - parda hosil qilishi (silliq, burishgan), loyqa hosil qilishi, cho'kma hosil qilishi kuzatiladi. Ozuqa muhitlarida koloniylarning rangi, hajmi, ustki qismi, konsistensiyasi kuzatiladi. Ularning hajmi ularning diametri orqali aniqlanadi. Yirik diametri - 4 mm; o'rtacha - 2 - 4 mm; mayda - 1 - 2 mm bo'ladi.

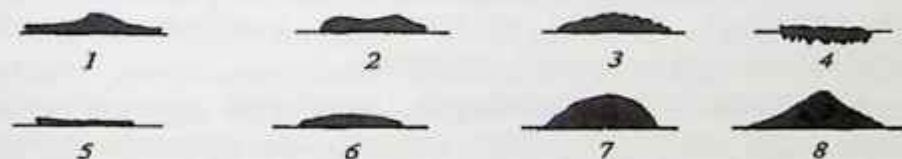
Fiziologik belgilariga - oziqlanish xarakteri: uglevod manbalarida (monosaxaridlar, disaxaridlar, polisaxaridlar, spirtlar, moylar va hokazo): azot manbalaridan (oqsil, pepton, aminokislotalar, mineral azot tuzlari, erkin azotdan) foydalanadilar; uglevodlarda o'sganda gaz, kislota va spirt hosil qiladi; nafas olish xarakteri - havo kislorodiga munosabatidir (aeroblar, anaeroblar, fakultativ anaeroblar).

Zamburug'larni mikroskop orqali o'rganish uchun sof kulturadan "ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi.

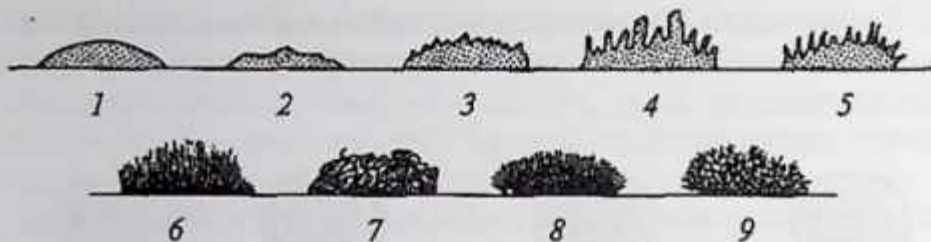
Buning uchun bir sutkali mukor kulturasidan yoki 2 - 3 sutkali aspergill va penisill sof kulturalaridan preparat tayyorlanishi uchun foydalaniladi.



Koloniylarning formasi: 1- doirasimon; 2-chetlari notekis doirasimon; 3-chetlari bo'rtiq doirasimon; 4-, 5-rizoidsimon; 6-chetlari rizoid ko'rinishida; 7-amyobasimon; 8-ipsimon; 9-burmali; 10-noto'g'ri shoxlanish; 11-konsentrik; 12-murakkab.



Koloniylarning yon tomondan ko'rinishi: 1-egri; 2-kratersimon; 3-g'adir-budir; 4-substrat ichiga o'suvchi; 5-tekis; 6-qavariq; 7-tomchisimon; 8-konussimon.



Koloniya chekkalari: 1-silliqli; 2-to'liqinsimon; 3-tishli; 4-parrakli (kurakli); 5-noto'g'ri uchlangan; 6-mayda tukli; 7-ipsimon; 8-tuk bilan qoplangan; 9-sershox.

Preparat tayyorlashda mukorning kul rang boshchalaridan, aspergill va penisilning esa koloniyalari markazidagi qoramtir, sariq, yashil rangli qismidan namuna olish tavsiya etiladi.

Zamburug'larni mikroskopda ko'rishda avval kichik obyektivda (8) topish va ularni yaxshilab kuzatish uchun esa o'rtacha obyektivda (40) kuzatish kerak. Preparatda mukor zamburug'ining sporangisporalari sharsimon, ellipssimon, tuxumsimon shaklda, shu sporalarni o'zida saqlagan sporangiylar esa noksimon, sharsimon, tuxumsimon, silindrsimon shaklda bo'lishi kuzatiladi. Aspergillning sporali yumaloq, tuxumsimon, ellips shaklida bo'ladi. Uning sterigmatalari kungaboqar gullarining yaproqlari kabi konidiybandlarining boshchasiga yopishgan bo'ladi. Penisilinning esa konidiylari, sterigma va metulalari konidiybandlari bilan birgalikda supurgi ko'rinishida kuzatiladi.

Aktinomitsetlarni mikroskopda kuzatishda ular o'stirilgan suyuq ozuqa muhitidan surtma tayyorlanadi. Fiksatsiya qilingan surtma Pfeyffer fuksini bilan bo'yaladi. Preparatda aktinomitsetning bo'yalgan turli tomonga tarqalgan yoki to'planib qolgan ipsimon giflari kuzatiladi.

SUVDAGI MIKROORGANIZMLARNING MIQDORINI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi:

1. Oqar suvdan 1:1000 konsentratsiyada eritma tayyorlanadi.
2. Vodoprovod suvidan 500 ml namuna uchun suv olinadi.
3. Suvdagi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash uchun 1 ml suyultirilgan hamda suyultirilmagan holdagi vodoprovod suvidan ozuqa muhitiga ekiladi.
4. Vodoprovod (300 ml), oqar va turg'un suvdan (10 ml) 1:100 konsentratsiyadagi koli-titrini aniqlanadi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: sterillangan Petri likobchalari, qattiq ozuqa muhiti solingan Petri likobchalari, 9 ml dan sterillangan suv solingan probirkalar, 15 ml dan suyultirilgan suv solingan probirkalar, 100 - 500 ml dan oqar va turg'un suv solingan kolbalar, sterillangan kolbalar. Mikroskop. Pinsetlar, sterillangan membranali filtrlar, Zeyts filtri.

Suvdagi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash uchun 1 ml suvni Petri likobchasiga ekilib, hamda qattiq ozuqa muhiti ustida hosil bo'lgan mikroorganizmlarning miqdori orqali aniqlanadi. Buning uchun tekshirilayotgan suvni ifloslanish darajasiga qarab sterillangan vodoprovod suvi bilan suyultiriladi. Odatda suyultirish 1:10 dan 1:1000 gacha konsentratsiyada amalga oshiriladi.

Tekshirilayotgan suvning 1 ml ni (yuqori konsentratsiyaligidan boshlab) sterillangan Petri likobchalariga (2 ta) solib, uning ustidan eritilgan, 45°C ga sovutilgan qattiq ozuqa muhiti quyiladi va aralashtirilib, 37°C haroratda 24 soat to'ntarilgan holda qo'yiladi. Toza suvni esa suyultirilmagan holda ekiladi.

Inkubatsiya davrini o'tagach, o'sgan koloniyalarni lupa yordamida sanaladi va har bir koloniyani Petri likobchasining orqa qismiga siyoh bilan belgilanadi. Bundan tashqari, hisob kamerasidan ham foydalanish mumkin.

O'sgan koloniyalar miqdori ma'lum konsentratsiyada ekilgan suvdagi mikroorganizmlar miqdoriga bog'liq. Har bir Petri likobchasida o'sgan koloniyalarning o'rtacha miqdorini aniqlash

uchun koloniyalar soni sanalib, ularga tegishli bo'lgan konsentratsiya soniga ko'paytirish kerak. Petri likobchalarini alohida sanalib qo'shiladi, so'ngra ikkiga bo'linadi.

Ekilgan suvning ichak tayoqchasi topilgan eng kam miqdori suvning koli-titri deb hisoblanadi.



Suvning koli - titrini aniqlash

Ichak tayoqchasi

Filtrlovchi membranalar yordamida ham suvning koli-titri aniqlanadi: filtrlovchi membranalar mayda teshikli, yupqa pitratsellyulozadan tayyorlangan va oq qog'ozga o'xshaydi. Ko'pincha amaliy ishda 3-nomerli filtrdan foydalaniladi. Bu filtrlar Zeyts apparatiga joylashtirilib sterillanadi. So'ngra tekshiriladigan suvning ma'lum miqdori (300 ml) filtrlanib, keyin filtrlanuvchi membranalar Zeyts apparatidan olinib, tepaga qaratib qattiq ozuqa muhitli Petri likobchalariga yoyib qo'yiladi va termostatga qo'yiladi. Agar filtrlangan suvda ichak tayoqchasi bo'lsa, ertasiga ularga xos qizil koloniyalar ko'rinadi. Bunday koloniyalar sanalib, Eykman ozuqasiga ekib 43°C issiqlikda o'stiriladi. Unda ham ichak tayoqchasi borligi aniqlansa, olingan natijaga ko'ra suvning koli-titri aniqlangan bo'ladi.

Masalan, 300 ml suv filtrlanganda filtrlovchi membranada ichak tayoqchasiga xos 3 ta qizil koloniya o'sib chiqsa, demak, 100 ml suvda bitta ichak tayoqchasi borligi, ya'ni suvning koli-titri 100 ml ekanligi ma'lum bo'ladi. Suvning koli-titri qancha kichik bo'lsa, u suv shuncha

ko'p ifloslangan, koli-titri qanchalik katta bo'lsa, suv shuncha toza hisoblanadi.

Suvdan olingan namunalar Petri likobchasidagi agarli ozuqa muhitiga ekiladi. Buning uchun suvning 10^{-2} , 10^{-1} marta suyultirilgan va sterillangan namunalari ishlatiladi. Petri likobchasidagi unib chiqqan mikroorganizm koloniyalarining hisobi olinib, so'ngra bu olingan son suvning suyultirilganligi darajasiga ko'paytiriladi hamda o'rtacha miqdori hisoblab topiladi. Suvning sifati 1 ml suvdagi mikroorganizmlar miqdoriga qarab aniqlanadi:

100 gacha bo'lsa - toza suv,

100 dan 500 gacha bo'lsa - o'rtacha ifloslangan,

500 dan ortiq bo'lsa - iflos suv.

HAVODAGI MIKROORGANIZMLARNING MIQDORINI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: havoning mikroorganizmlar bilan ifloslanganligini aniqlaydilar. Brigada usulida 3 - 4 kishi uslubiy ko'rsatmaga asosan, havo mikroflorasini aniqlashni o'rganadilar. Tadqiqot natijalarini daftarlariga yozib boradilar. Petri likobchalarida o'sgan mikroorganizmlardan preparat tayyorlanib, mikroskopda ko'radilar.

Kerakli asboblari va reaktivlar: GPA va kartoshkali agar solingan Petri likobchalari. Termostat. Mikroskop, buyum va qoplag'ich oynachalar, Immersion moy, mikrobiologik sirtmoq.

Havodagi mikroorganizmlar miqdori bir nechta usullarda aniqlanadi. Eng oddiy usul - Kox usulidir. Bu usul bilan havodagi mikroorganizmlarning soni va turlarini taxminan aniqlash uchun sterillangan Petri likobchasiga suv hammomida isitilib suyultirilgan ozuqa muhiti quyilib, spirt lampasi alangasi yoniga qo'yiladi; ozuqa muhit likobchada qotgandan so'ng havo tekshiriladigan joyga olib borib, ma'lum vaqtgacha (5 - 10 daqiqa) qopqog'i ochib qo'yiladi. Shu vaqtda havodagi mikroorganizmlar likobchadagi qopqog'ini yopib, tagiga havo ekilgan kuni, necha daqiqa ochiq qoldirilganligini, talabaniq ismi-sharifi yozilib, to'ntarilgan hoida termostatga

qo'yiladi. Shuning uchun ham bu usulni "havoni cho'ktirib ekish usuli" deyiladi.

Likobcha ma'lum vaqtdan keyin termostatdan olinib, muhit yuzasida unib chiqqan mikroorganizm koloniyalari sanash taxtasi yordamida sanalib, 1 m^3 havodagi mikroorganizmlarning umumiy soni aniqlanadi.

- likobchadagi muhitning sathi πr^2 ($\pi=3,14$; r - likobchanning radiusi) formulasi bilan aniqlanadi'

- 1 dm^2 sathdagi koloniyalar soni aniqlanadi;

- 1 m^3 havodagi mikroorganizmlarning soni hisob qilinadi.

Masalan: Petri likobchasining diametri 9 cm bo'lib, unda 28 mikroorganizm koloniyasi unib chiqqan.

1) Petri likobchasining sathi aniqlanadi ($3,14 \times 4,52$ yoki $3,14 \times 20,25=63,6\text{ cm}^2$).

2) 1 dm^2 1 sathdagi koloniyalar soni aniqlanadi ($1\text{ dm}^2=100\text{ cm}^2$ yoki 10 litr havoga tengdir), bunda quyidagi tenglama tuziladi:

28 to'plam - $63,6\text{ cm}^2$

X to'plam - 100 cm^2

$$X = \frac{28 \times 100}{63,6} = 44 \text{ to'plam}$$

3) 1 m^3 ($1\text{ m}^3=1000$ litr ga teng) havodagi mikroorganizmlar sonini bilish uchun quyidagi tenglama tuziladi:

44 - 10 litr

X - 1000 litr

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

Demak, 1 m^3 havodagi 4400 mikroorganizm borligi aniqlanib, quyidagi jadvalga yoziladi.

Tekshirilgan joy	Unib chiqqan koloniyalar soni	Likobchanning sathi	Mikroorganizmlar soni	
			10 l havoda	1 m^3 havoda
Auditoriya №409	28	63,6	44	4400

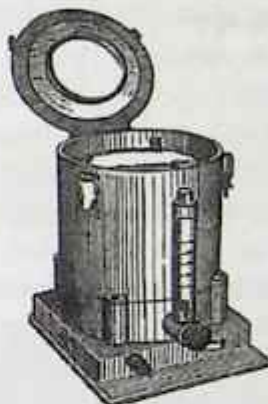
Havodagi mikroorganizmlarni tekshirishda yana quyidagi usullardan ham foydalaniladi:

Sedimentatsion usuli. Ikkita agarli ozuqa quyilgan Petri likobchasi ochiq holda 60 daqiqa davomida stol ustiga qo'yiladi. So'ng $24 - 26^{\circ}\text{C}$ da termostatga joylashtiriladi. Ikkala likobchalardan o'sib chiqqan koloniyalar soniga qarab natija chiqariladi. 250 dan kam koloniya o'sib chiqsa, havo toza hisoblanadi.

Koloniyalar soni 250 - 500 ta bo'lsa, havo o'rtacha ifloslangan, agar 500 dan ortiq bo'lsa nihoyatda ifloslangan bo'ladi.



Havodan sedimentatsion usulda
GPA ozuqa muhitiga ekilgan
bakteriya koloniyalari



Krotov apparati

Aspiratsiya yoki filtrlash usuli. Bu havodagi mikroblar sonini aniqlashda juda ham aniq usul hisoblanadi. Havo apparat yordamida ekiladi.

Krotov apparati shunday tuzilganki, havo ma'lum tezlikda agarli ozuqa likobchasi yopib turgan plastinkaning tor yorig'idan so'rilib, uriladi. Bunda mikroorganizmlarga ega bo'lgan aerosol zarrachalari bir tekis agar yuzasiga joylashadi, chunki likobcha yoriqning tagida doimiy aylanib turadi.

Termostatga qo'yilgandan so'ng formula bo'yicha mikroorganizm soni hisoblanadi.

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

a - likobchadagi koloniyalar soni;

V - apparat orqali so'rib o'tkazilgan havoning hajmi, litr;

1000 - tekshiriluvchi havoning hajmi, litr.

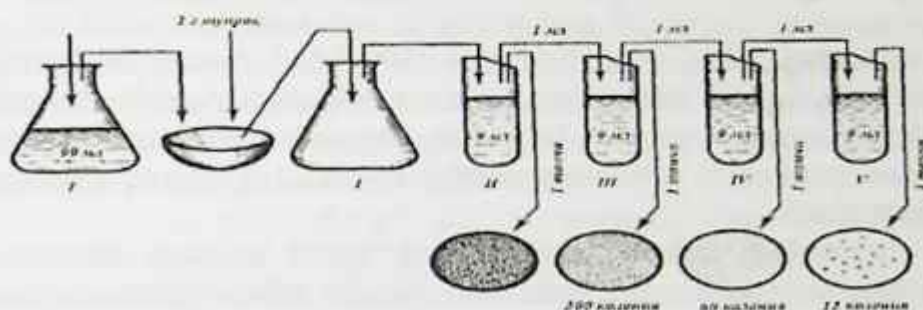
TUPROQDAGI MIKROORGANIZMLARNING MIQDORINI ANIQLASH

Mashg'ulot o'tish tartibi: tuproq mikroflorasini laboratoriya sharoitida aniqlash uchun 3 - 4 kishidan guruhlariga bo'linib o'rganiladi. Tuproqni tarozida tortib olinadi va suyultiriladi hamda qattiq ozuqa muhiti solingan Petri likobchalariga ekiladi. O'sgan koloniyalardan preparatlar tayyorlanib, mikroorganizmlarning morfologiyasi yoziladi. Mikrobiologik tadqiqot natijalarini talabalar daftarlariga yozib boradilar.

Kerakli asboblari va reaktivlar: tarozi va toshlari, tuproq, 90 ml sterillangan suv solingan kolbalar, 9 ml suv solingan probirkalar shtativ bilan Petri likobchalari va Paster naychasi, 20 ml eritilgan qattiq ozuqa muhitlari solingan probirkalar, buyum oynachasi, bo'yoqlar, mikrobiologik sirtmoq, mikroskop.

Tuproqdagi mikroorganizmlar soni har xil usul bilan aniqlanadi. Shulardan tuproqdan eritma tayyorlab, qattiq ozuqa muhitiga ekib, mikroorganizmlarning sonini aniqlash eng qulay usul hisoblanadi. Tuproqning mikroflorasini aniqlashda asosan GPA yoki DPA, Chapeka, suslo-agarli ozuqa muhitlaridan foydalaniladi. Tuproq mikroflorasini aniqlash uchun 10 - 20 cm chuqurlikdan namuna olib, 1 g tuproq tarozida tortib olinib, eritmaning oxirgi darajasi 1:1000000 bo'lguncha sterillangan suvga aralashtiriladi. Buning uchun ajratib olingan 1 g tuproq sterillangan kolbaga solinib, ustiga 99 ml sterillangan suv quyiladi. So'ngra 3 daqiqa davomida chayqatib aralashtiriladi. Hosil bo'lgan aralashmadan sterillangan pipetka bilan 1 ml olib, 9 ml sterillangan suv solingan birinchi probirkaga quyiladi.

U yaxshilab aralashtirilgandan so'ng 1 daqiqa davomida birinchi probirkadan pipetka bilan 1 ml aralashmani olib, 9 ml sterillangan suv quyilgan ikkinchi probirkaga solinadi. Xuddi shu tartibda ikkinchi probirkadan 1 ml olib uchinchi probirkaga solinadi, uchinchi probirkadan 1 ml olib to'rtinchi probirkaga solinadi, to'rtinchi probirkadan 1 ml olib beshinchi probirkaga solinadi. Natijada oxirgi eritmaning konsentratsiyasi 1:1000000 bo'ladi.



Tuproqni suyultirish orqali mikroorganizmlarni ajratish



Mikroorganizmlarni ekish. Hosil bo'lgan oxirgi eritmadan sterillangan pipetka bilan 1 ml dan uchta Petri likobchasiga solinadi, so'ngra likobchalarga eritilgan va 40 – 45°C gacha DPA (dukkakli o'simliklardan tayyorlangan agar) yoki GPA, Chapeka, suslo-agar ozuqa muhitlariga quyiladi va uni sekin chayqaberitma muhitga aralashtiriladi. Likobchadagi muhit qotgandan so'ng 3 kun davomida 25°C da termostatga qo'yiladi.

Mikroorganizmlar miqdorini aniqlash. Uchta likobchadagi unib chiqqan mikroorganizmlar koloniyalarining o'rtacha soni

aniqlanadi. Mikroorganizm koloniyalari sanalganda likobchanning qopqog'i ochilmasligi kerak. Masalan, birinchi likobchada 40 ta, ikkinchisida 30 ta, uchinchisida esa 50 ta mikroorganizm koloniyasi borligi aniqlandi, bunda chiqqan sonlarning hammasini qo'shib, 3 ga bo'linib, eritma darajasiga ko'paytiriladi:

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

Shunday qilib 1 g tuproqda 40000000 bakteriya borligi aniqlandi. Bu usul juda qulay va oson hisoblanadi. Agar likobchada mikroorganizm to'plamlari ko'p o'sib chiqqan bo'lsa, maxsus sanash taxtasi yordamida mikroorganizmlar sanalib 1 g tuproq hisobiga aylantiriladi.

Tuproqdagi mikroorganizmlarning sonini aniqlash bilangina chegaralanib qolmasdan, balki unib chiqqan mikroorganizmlarning kultural va morfologik belgilarini ham o'rganish kerak. Bu qishloq xo'jalik mikrobiologiyasida katta ahamiyatga egadir. Mikroorganizmlarning kultural belgilari o'rganilganda koloniyaning rangi, katta-kichikligi va shakliga ahamiyat berish lozim. Morfologik xususiyatlari esa mikroorganizm koloniyasidan preparat tayyorlab mikroskopda ko'rish bilan aniqlanadi. Talaba tuproq mikroorganizmlarning xususiyatlarini o'rganishi uchun likobchada o'sib chiqqan mikroorganizmlar koloniyasidan 3 - 4 tasini olib, mikroskopda ko'rishi va uning ko'zga ko'ringan belgilarini daftariga yozish kerak.

Tuproqdagi zamburug'larning sonini aniqlash uchun ham oldin tayyorlangan eritmadan bakteriyani ekish usuli kabi, Chapeka yoki suslo-agarli uchta likobchaga 1 ml dan ekiladi, so'ngra likobchalar 5 kun davomida 25°C issiq termostatda saqlanadi. Unib chiqqan zamburug'lar ham 1 g tuproqdagi bakteriyalar sanalgani kabi hisob qilingan usulda sanab chiqiladi.

Unib chiqqan zamburug'lar soni ma'lum bo'lgandan so'ng ularning turlari va oilasi aniqlanadi.

Tuproqdagi zamburug'lar sonini S.N.Vinogradskiy va O.G.Shulgina usulida ham aniqlash mumkin. Buning uchun tuproqdan 5 g namuna olib kolbada 50 ml sterillangan suv bilan 5 daqiqa davomida aralashtirilib emulsiya tayyorlanadi, keyin 1 - 2 sekund davomida tindirilgandan so'ng undan sterillangan pipetka bilan 0,01 ml olib 4 cm² buyum oynasiga tekis yoyib quritilgandan keyin alangada qizdiriladi va karbol eritrozin bilan 30 daqiqa bo'yaladi. Eritrozin preparati faqat mikroorganizm hujayralarini bo'yaydi, tuproq zarrachalari bo'yalmasdan ajralib qoladi. Bo'yalgan preparat suv bilan yuvilib quritiladi va mikroskopda immersion obyektiv bilan qaraladi. Mikroskopning ko'rish maydonidagi mikroorganizmlar soni aniqlanadi. Ko'rish maydonidagi mikroorganizmlarning o'rtacha soni quyidagi formulaga ko'ra hisoblab topiladi:

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

Bunda:

a - ko'rish maydonining sathi. Uni aniqlash uchun radiusi okulyar lineyka bilan o'lchanadi va sathi πr^2 formulasiga muvofiq hisoblab topiladi;

δ - ko'rish maydonidagi mikroorganizmlarning o'rtacha soni;

e - preparat sathi (4 cm² - 400 mm²);

z - preparatga surilgan tuproq miqdori (0,001 g);

e - 4 cm² sathidagi, ya'ni 0,001 g tuproqdagi bakteriyalar soni.

X - 1 g tuproqdagi mikroorganizmlar soni.

1 g tuproqdagi mikroorganizmlar bu usulda aniqlanganda juda katta son chiqadi, chunki hisobga o'lik mikroorganizmlar ham kiradi. O'lik va tirik mikroorganizmlarni farq qilmasdan hisobga olish bu usulning kamchiligi hisoblanadi.

SPIRTLII BIJG'ISH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: bijg'ish qo'zg'atuvchilarining morfologik xususiyatlarini o'rganish uchun har bir talaba mustaqil ravishda mikrobiologik preparat (mazok) tayyorlab, metilen ko'ki

bilan bo'yaydi. Achitqi hujayralarida glikogenni topish uchun ezilgan tomchi preparatini Lyugol bilan tayyorlaydi. Qandning bijg'ish foizini brigada usulida aniqlanadi. Tadqiqot natijalarini talabalar daftarlari yozib boradilar.

Kerakli asboblari va reaktivlari: mikroskop, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, shisha tayoqchalar, bo'yoqlar (fuksin, metilen ko'ki) Lyugol eritmasi, glyukozaning 10% li eritmasi, achitqilar, kolbalar, rezina probkalar bilan, tarozi va toshlari, termostat.

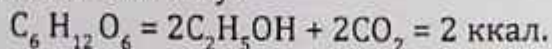
Mikroorganizmlar o'sishi va rivojlanishi, asosan, o'ziga azot saqlamagan organik birikmalarni parchalanishidan ajralgan energiya hisobiga amalga oshadi. Faqat ayrim bakteriyalargina energiya manbai sifatida quyosh yoki mineral moddalarning oksidlanishidan hosil bo'lgan energiyadan foydalanadilar.

Mikroorganizmlar energiyani bijg'ish va nafas olish jarayonlari tufayli oladilar. Nafas olish aerob sharoitida sodir bo'lib, unda energiya to'liq ajralib chiqadi va oxirgi mahsulot CO_2 va H_2O hosil bo'ladi.

Bijg'ish natijasida energetik mahsulotdan energiya to'liq ajralmaydi unda spirt, sut kislota, moy kislota va boshqa moddalar hosil bo'ladi.

Spirtli bijg'ishda qand parchalanib, etil spirti va CO_2 vujudga keladi. Spirtli bijg'ishni achitqi zamburug'lari, ayrim bakteriyalar (*Sarcina ventriculi* va boshqalar) va mukor zamburug'lari keltirib chiqaradilar. Lekin amaliy ahamiyatga ega bo'lgani achitqi zamburug'lari hisoblanadi.

Spirtli bijg'ish - achitqilarning anaerob nafas olishi, demakdir. Spirtli bijg'ish formulasi shunday:



Achitqilar - fakultativ anaeroblar. Ular aerob sharoitda ham, anaerob sharoitda ham yashayveradi. Achitqilar chin achitqi va soxta achitqilar degan oilaga bo'linadi.

Chin achitqilar oilasi ikki guruhga bo'linadi: madaniy achitqilar va yovvoyi achitqilar. *Madaniy achitqilar* non yopish, vino tayyorlash korxonalarida ishlatiladigan achitqilardan iborat bo'lib, *Saccharomyces* turkumiga kiradi. Ular yirik, yumaloq yoki cho'zinchoq

bo'lib, kurtaklanish yo'li bilan ko'payadi. Hujayralarda zahira oziq modda - glikogen (hayvon kraxmali) bor. Achitqi hujayralaridagi glikogenni aniqlash uchun "ezilgan" tomchi preparati quyidagicha tayyorlanadi: buyum oynasiga suv o'rniga Lyugol eritmasidan bir tomchi tomiziladi, unga achitqilarni aralashtirib, qoplag'ich oyna yopiladi. Achitqi hujayralaridagi glikogen donalari qizg'ish-qo'ng'ir tusga kiradi. Pivo yoki xamir achitqilari bilan tanishish uchun quruq mazok tayyorlanadi. Preparat metilen ko'ki bilan bo'yaladi.

Yovvoyi achitqilar tabiatda keng tarqalgan, ko'pincha, korxona zararkunandalari hisoblanadi. Yovvoyi achitqilar cho'ziq bo'lib, kurtaklanish yoki bo'linish yo'li bilan ko'payadi.

Boyitilmagan muhitlarda havo kislorodi bo'lganda hamma chin achitqilar sporali xaltachalar hosil qiladi.

Soxta achitqilar oilasi sporali xaltachalar hosil qilmaydi, faqat kurtaklanish yo'li bilan ko'payadi, qandni salgina achitadi yoki butunlay achitmaydi. Soxta achitqilar oilasi ikki turkumga bo'linadi.

1. *Torula* turkumi - yumaloq achitqilar bo'lib, qandni bijg'itadi, natijada bir ozgina spirt hosil qiladi. Ular tabiatda keng tarqalgan sabzavotlarda doimo bo'ladi.

2. *Micoderma* turkumi - cho'ziq hujayrali parda hosil qiluvchi achitqilardir. Ular qandni bijg'itmay, CO_2 va N_2O ga qadar oksidlaydi. Aeroblar suyuqlik yuzasida parda hosil qiladi. Ko'pincha oziq-ovqat korxonalarining (masalan, sirka tayyorlaganda, sabzavot tuzlanganda va hokazo) zararkunandalari hisoblanadi.

Spirtli bijg'ishda achitqilar qandni parchalaydi, amalda 50% CO_2 va 50% etil spirti hosil bo'ladi.

Achitqi bir daqiqada qancha ko'p qandni parchalab, spirt va SO_2 hosil qilsa, ularning bijg'itish energiyasi o'shancha ko'proq bo'ladi. Bijg'itish energiyasini aniqlash uchun glyukozaning 10% li eritmasidan 50 ml olib kolbaga quyiladi va unga presslangan achitqilardan 1 - 2 g dan solinadi. Bijg'ish jarayonini tezlashtirish uchun kolba 30 - 35°C suv hammomiga 1 soat qo'yiladi, so'ngra kolbaning og'zi egri shisha nay o'rnatilgan kauchuk probka bilan mahkam berkitiladi, nayning ikkinchi uchiga suv to'latilib, suvli shisha idishga to'ntarilgan probirka ichiga kiritiladi. 30 - 40 daqiqa o'tgandan so'ng, kolbada ajralayotgan

karbonat angidrid egri shisha nay orqali to'ntarilgan probirkaga boradi, probirkada havo pufakchalari hosil bo'lganini ko'ramiz. Kolbadagi bijg'iyotgan suyuqlikda spirt hosil bo'ladi. Spirtli bijg'ish jarayonini kuzatishda maxsus asbobdan foydalaniladi.



Sirtli bijg'ish jarayonini
tekshirish



Saccharomyces cerevisiae achitqisi

Qand bijg'iganda 50% CO_2 va 50% spirt hosil bo'lganligidan, eritmadagi spirtning og'irligi havoga uchib ketuvchi CO_2 ning og'irligiga tengdir, ya'ni $r = e$. Bijg'igan qand og'irligi CO_2 + spirt og'irligiga teng, ya'ni $\partial = z + e$. Binobarin, bijg'igan qand foizini bilish uchun quyidagicha hisob qilamiz:

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

$$X = \frac{\partial \times 100}{a};$$

Bunda:

- a – qand bijg'iguncha kolbaning og'irligi;
- b – qand bijg'igach kolbaning og'irligi;
- θ – kolbadagi qandning dastlabki og'irligi;
- e – havodagi uchib ketgan CO_2 ning og'irligi;
- z – eritmadagi spirtning og'irligi;
- ∂ – bijg'igan qand og'irligi;
- X – bijg'igan qand foizi.

SUT KISLOTALI BIJG'ISH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: tuzlangan karam suvidan, sut zardobidan va sut mahsulotlaridan mazok tayyorlab, sut kislotali bakteriyalarning morfologiyasini o'rganish hamda sut kislotali reaksiya sifati aniqlaniladi. Har bir talaba sut kislota bakteriyalarining morfologik belgilarini ko'rish uchun mazok tayyorlaydi. Sut kislota reaksiya sifatini aniqlash uchun brigada usulidan foydalanadilar. Natijalarni daftarlarga yozib boriladi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, shisha tayoqchalar. Bo'yoqlar (fuksin va metilen ko'ki) 1% li fenol eritmasi, 0,2% mis kuporosi, efir, FeCl_2 eritmasi.

Sut kislotali bijg'ishga sut kislotali bakteriyalar sabab bo'ladi. Sut kislota bakteriyalari - fakultativ anaeroblar, ammo ular anaerob sharoitni yaxshi ko'radi, shunday bo'lgach, sut kislota hosil qilib bijg'ish - ularning anaerob nafas olishi, demakdir. Sut shu bakteriyalarning oziqlanishi uchun qulay muhitdir, chunki sutda shu bakteriyalarning hayot faoliyati uchun zarur qand va boshqa moddalar bor. Sut kislota bakteriyalari sutni bijg'itar ekan, bir talay sut kislotani hosil qiladi. Shu sababli qatqda sut kislotali bakteriyalari va bir ozgina achitqilar bo'ladi. Bular uchun ham muhitning kislotali reaksiyasi qulaydir. Xom sut 30 - 35°C haroratda saqlansa, sut kislota bakteriyalari sut kislotani hosil qilishi tufayli 10 - 12 soatdan keyin achiydi.

Sut kislota bakteriyalari ikki guruhga bo'linadi:

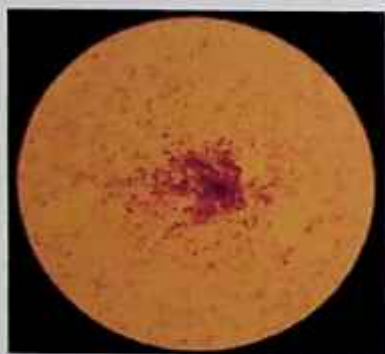
Tipik sut kislota bakteriyalari - sporasiz, harakatsiz, grammusbat, fakultativ anaerob kokklar va tayoqchalardan iborat bo'lib, bir talay sut kislota hosil qiladi. Sut mahsulotlarida va achitilgan sabzavotlarda ko'p bo'ladi. Asosiy vakillari:

Sut kislota streptokokki - *Streptococcus lactis* sutda bo'ladi; yirik sut kislota tayoqchalari - *Bact. bulgaricum* (bulg'or tayoqchasi) bular ham sutda uchraydi; sut kislotaning mayda tayoqchalari - *Bact. cucumeris fermentati* - bodringni achitadi va *Bact. brassicae* - karamni bijg'itadi.

Bu bakteriyalar bilan tanishmoq uchun qatq va sutdan hamda muzlagan sabzavotlar suvidan preparat tayyorlab, quritilib spirt

alangasida yoki Nikoforov aralashmasida qotirilib, metilen ko'ki yoki karbol fuksini bilan bo'yalib, mikroskop ostida immersion obyektiv bilan ko'riladi. Spirt va efir mikroblarni o'ldiradi, ularni oynaga yopishtiradi va preparatni bo'yashga halal beradigan sut moyni eritib yuboradi. Mikroskopda ko'rilgan sut kislota bakteriyalarining rasmi daftarga chiziladi. Muhitda sut kislota borligini aniqlashda, asosan, quyidagi usullardan foydalaniladi:

1) qatiqda sut kislota borligini bilmoq uchun Uffelman reaksiyasi o'tkaziladi. Buning uchun bir foizli fenol eritmasidan 5 ml olib, kuchsiz FeCl_2 eritmasidan bir necha tomchi qo'shilsa, sut kislota temirli tuzi hosil bo'lishi tufayli eritma sarg'ayadi;



Streptococcus lactis ning ozuqa muhitdagi koloniyasi



Streptococcus lactis ning mikroskopdagi ko'rinishi



Sut kislotali biyg'ish asosida olinadigan sut mahsulotlari

2) sabzavotni achitadigan sut kislota bakteriyalarini aniqlash uchun tuzlangan bodring yoki karam suvidan 1 - 2 ml olib, filtrlab hosil bo'lgan filtratga 5 ml sulfat kislota va 10 tomchi to'yintirilgan mis kuporosi eritmasidan qo'shib yaxshilab aralashtirilib, 100°C issiq suv hammomida 5 daqiqa saqlab, so'ngra sovutiladi va 1 - 2 tomchi 0,2% tiofenning spirtidagi eritmasidan qo'shiladi. Agar filtratda sut kislota bo'lsa, filtrat to'q qizil rang hosil qiladi.

Tipik bo'lmagan sut kislota bakteriyalari - sporasiz, harakatchan gramm-manfiy tayoqchalardir. Ular qandni bijg'itganda bir ozgina sut kislota, sirka kislota CO_2 , H_2 va boshqa moddalar hosil bo'ladi. Eng ko'p uchraydigan vakili - ichak tayoqchasi tabiatda keng tarqalgan bo'lib suv, tuproq, go'ngda, hayvon va odam ichagida va boshqa substratlarda uchraydi.

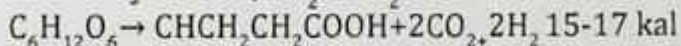
Tipik bo'lmagan sut kislota bakteriyalarining boshqa xillari ham ko'p. Ularning ba'zi xillari javdar unidan non pishirganda ishlatiladi.

MOY KISLOTALI BIJG'ISH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: moy kislotali bakteriyalarning morfologiyasi o'rganiladi hamda moy kislotali reaksiya sifati aniqlaniladi. Har bir talaba moy kislota bakteriyalarining morfologik belgilarini ko'rish uchun preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'radi. Natijalarni daftarlariga yozib boradilar.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar, shisha tayoqchalar. Bo'yoqlar (fuksin va metilen ko'ki, Lyugol), bo'r kukuni, 5% li FeCl_2 eritmasi.

Moy kislotali bijg'ish - qandning anaerob sharoitda parchalanishidan moy kislota, CO_2 va H_2 hosil bo'lishi, demakdir:



Moy kislotali bijg'ish - moy kislota bakteriyalarining anaerob nafas olishi, demakdir. Moy kislota bakteriyalarning hammasi qat'iy anaeroblar bo'lib, harakatchan, sporalari tayoqchalardir.

Moy kislota bakteriyalarning elektiv kulturasini olishda bir necha xil muhitdan foydalaniladi.

1) xom kartoshka to'g'rab probirkaga solinadi. Probirkada anaerob sharoit yaratish uchun ustidan anchagina suv quyiladi, ishqoriy reaksiya hosil qilish uchun bir oz bo'r qo'shiladi, probirkaning og'zi yopilib, sporasiz barcha bakteriyalarni o'ldirish uchun suv hammomida 80 - 100°C da 10 daqiqa qizitiladi. So'ngra probirkalar termostatga qo'yiladi;

2) 100 ml no'xat qaynatmasiga 2 g saxaroza yoki kraxmal, 0,5 g pepton, 0,5 g osh tuzi, 2 g bo'r qo'shib muhit tayyorlab, moy kislota bakteriyalarning elektiv kulturasini olinadi. Buning uchun 150 - 200 ml li sterillangan kolbaga yarim choy qoshiqda tuproq solinadi. Tuproq ustiga 40 - 50 ml yuqoridagi oziqli muhitdan solib, kolbani elektroplitaga 1 - 2 daqiqa qo'yib, sporasiz bakteriyalarni o'ldirish uchun qaynatiladi, so'ngra kolbadagi muhit 100 ml gacha yetkaziladi. Kolbaning og'zi egri nay o'tkazilgan kauchuk probka bilan berkitiladi, so'ngra kolbaga yorliq yopishtirib 6 - 7 kun davomida 27 - 30°C termostatga qo'yiladi.

Moy kislota bakteriyalarining elektiv kulturasini tekshirish.

Termostatdagi kartoshka to'g'rab solingan probirkada va kolbadagi no'xat bulonida moy kislota hosil bo'ladi. Moy kislota hosil bo'lganini gaz ajralib chiqqanida bilamiz. Probirkadagi va kolbadagi biyg'igan suyuqlikdan "ezilgan" tomchi usuli bilan tayyorlangan preparatda dug yoki "klostridiy" shaklidagi hamda baraban tayoqchasi yoki "plektiridiy" shaklidagi yirik harakatchan sporali tayoqchalar ko'rinadi. Bular moy kislota bakteriyalardir. Ularda zahira oziq modda - granulyoza bor. Bu modda kraxmalga o'xshaydi.

Granulyozani aniqlamoq uchun biyg'iyotgan suyuqlikdan buyum oynasiga bir tomchi tomizib, Lyugol eritmasidan bir tomchi qo'shiladi va qoplag'ich oyna yopiladi. Moy kislota bakteriyalari hujayralarining protoplazmasidagi granulyoza yod ta'sirida to'q ko'k tusga kiradi va butun tayoqcha ko'k bo'lib ko'rinadi, sporasi esa tayoqchaning o'rtasida yoki bir uchida rangsiz bo'lib turadi.

Biyg'iyotgan suyuqlikdagi moy kislotani aniqlash. Probirkaga biyg'iyotgan suyuqlikdan 5 ml va 5 foizli temir III xloriddan 2 ml quyiladi. Suyuqlik qizitilganda moy kislotaning temirli tuzi hosil bo'lishi tufayli jigarrang tusga kiradi.

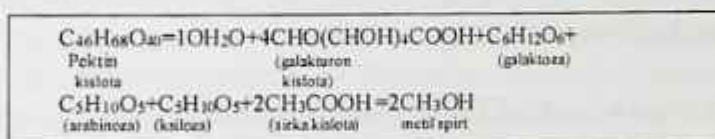
PEKTINLI BIJG'ISH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: pektin parchalovchi bakteriyalarning elektiv kulturalarini olish uchun talabalar brigada usulidan foydalanadilar. Pektinli bijg'ish qo'zg'atuvchilarining morfologiyasini o'rganish uchun har bir talaba preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'radi. Natijalarni daftarlarga yozib boradilar.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, somon tayoqchalari, suv hammomi, pinsetlar. Bo'yoqlar. Lyugol eritmasi, katta probirkalar, ip, qaychi.

Pektinli bijg'ish - o'simlik hujayralarini bir-biriga yopishtiradigan modda(pektin)ning gidrolizlanib qand va boshqa moddalarni hosil qilishi, so'ngra shu qandning bijg'ib, moy kislotasi CO_2 va H_2 ga parchalanishdan iborat. Bu jarayon quyidagi sxemaga muvofiq boradi.

PEKTIN KISLOTA GIDROLIZI



Pektinli bijg'ish tabiatda uchrab turadi va zig'ir yoki kanop kabi o'simliklarni ivitish uchun shu jarayondan foydalaniladi. Pektinni parchalaydigan bakteriyalarning elektiv kulturasini olish uchun kanop poyalari kichik bog' qilib suvli probirkaga solinadi, unda anaerob sharoit tug'dirish uchun ustiga ko'proq suv quyiladi. Shundan keyin probirkalar termostatda $25 - 30^\circ\text{C}$ haroratda 5 - 6 kun saqlanadi. Kanop poyalarining sirtida pektinni parchalaydigan bakteriyalar bor, ular suvda ko'payib, poya hujayralarini yopishtiradigan pektinni parchalaydi, ya'ni kanopni ivitadi.

Pektinni parchalaydigan bakteriyalarning elektiv kulturasini tekshirish. Ivitilayotgan kanop parchasidan tayyorlangan preparatda pektinli bijg'ish sababchilari - baraban tayoqchasiga o'xshaydigan

yirik tayoqchalar ko'rinadi. Boshqa moy kislota tayoqchalari kabi ular ham yod ta'sirida ko'k tusga kiradi.

Pektin bijg'ishga sabab bo'ladigan bakteriyalardan asosiylari *Clostridium pectinovarum* va *Clostridium felsineum* bo'lib, ular ko'proq uchraydi.

Granulyozani aniqlash uchun ivitilayotgan kanop poyadan "ezilgan" tomchi tayyorlab, unga xuddi moy kislota bakteriyalarini aniqlashdagi kabi Lyugol eritmasi qo'shiladi. Bu bakteriyalarni mukammalroq tekshirish uchun quruq mazok tayyorlab, fuksin bilan bo'yaladi. Aerob sharoitda pektin moddasini bakteriyalardan *Bacillus mesentericus* va zamburug'lardan *Mucor stolonifer* bijg'itadi. Anaerob sharoitda esa yuqorida nomlari ko'rsatilgan tipik pektin parchalovchi bakteriyalar bijg'itadi. Pektinli bijg'ishni qo'zg'atuvchi bakteriyalar morfologik xususiyatlarga qarab, bir-biridan farq qiladi: *Clostridium pectinovorum* - kattaligi 10 - 12 mikron bo'lib, spora hosil qilganda baraban tayoqchasiga o'xshaydi. Tanasida granulyoza uzuq-uzuq bo'lib joylashgan. Bu mikroorganizmni S.N.Vinogradskiy 1885-yilda topgan. *Clostridium felsineum* kattaligi 3 - 6 mikron bo'lib, tayoqcha shaklini eslatadi, sporasi tanasining oxiriga joylashgan bo'lib, uni 1916-yilda Karbone aniqlagan.

KLETCHATKALI BIJG'ISH

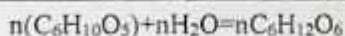
Mashg'ulotni o'tish tartibi: kletchatkali bijg'ishni qo'zg'atuvchilarining elektiv kulturalarini olish uchun talabalar guruhlariga bo'linib o'rganadilar. Kletchatkali bijg'ishni qo'zg'atuvchilarining morfologiyasini o'rganish uchun har bir talaba preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'radi. Natijalarni daftarlarga chizib boradi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, shisha naychalar, pipetka, tuproq, balchiq yoki go'ng, filtr qog'oz.

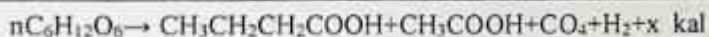
Kletchatkaning bijg'ishi shundan iboratki, kletchatka qandlarga parchalanadi. So'ngra shu qandlar bijg'ishidan moy kislota, sirka kislota, CO_2 , H_2 va CH_4 hosil bo'ladi. Baraban tayoqchasiga

o'xshaydigan, sporalı anaerob harakatchan tayoqchalar shunga sabab bo'ladi. Bu jarayon quyidagi sxemaga muvofiq boradi:

Kletchatka gidrolizi



vodorod va metan hosil qilib biyg'ish



Reaksiya *Bact. cellulosaе hydroqenicus* ishtirokida boradi.



Reaksiya *Bact. cellulosaе methanicus* ishtirokida boradi.

Reaksiya *Bact. cellulosaе methanicus* ishtirokida boradi.

Kletchatkani biyg'itadigan bakteriyalarning elektiv kulturasini olish. Sellyulozani biyg'itadigan anaerob bakteriyalarning elektiv kulturasini olish uchun kolba tubiga filtr qog'ozni qo'yib, aerob sharoit yaratish maqsadida bo'g'zigacha Imsheneskiyning maxsus oziqli muhiti qo'yiladi, kolbaning og'zi rezina probka bilan berkitiladi; bu probkadan gazlar chiqib turishi uchun shisha naycha o'tkazilgan. Kolbaga bir oz tuproq, balchiq yoki go'ng solinadi va termostatga qo'yiladi. 1 - 3 haftadan keyin qog'oz shilimshiq bilan qoplanib, parchalanib ketadi, ya'ni tuproqning kletchatkani biyg'itadigan anaerob bakteriyalari qog'ozni eritib yuboradi. Muhitning elektiv ekanligi shundan iboratki, unda anaerob sharoit bor, unda kletchatka birdan bir karbonat angidrid manbayi hisoblanadi.

Kletchatka suvda erimaydi va faqat selluloza bakteriyalari ta'sir etgandagina parchalanadi.

Kletchatkani biyg'itadigan bakteriyalarning elektiv kulturasini tekshirish. Preparat tayyorlash uchun kolba tubidan pipetka bilan suyuqlik olinadi yoki kletchatkadan bir parcha olib, oynaning ustida eziladi, shundan keyin preparat oddiy usul bilan

fiksatsiya qilib bo'yaladi. Shunday preparatda kletchatkani bijg'ituvchi bakteriyalar baraban tayoqchasiga o'xshab ko'rinadi.

AMMONIFIKATSIYA JARAYONI

Mashg'ulotni o'tish tartibi: talabalar guruhlariga bo'linib, ammonifikatsiya jarayonini yuzaga keltiruvchi aerob va anaerob sifatli tajriba qo'yadilar. Ular aerob *Bacillus mycoides* va anaerob *Bacillus putrificus* guruhiga kiruvchi ammonifikator mikroorganizmlarning morfologiyasi bilan tanishadilar.

Qo'zg'atuvchilarning morfologiyasini o'rganish uchun har bir talaba preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'radi. Natijalarni daftarlarga yozib boradilar.

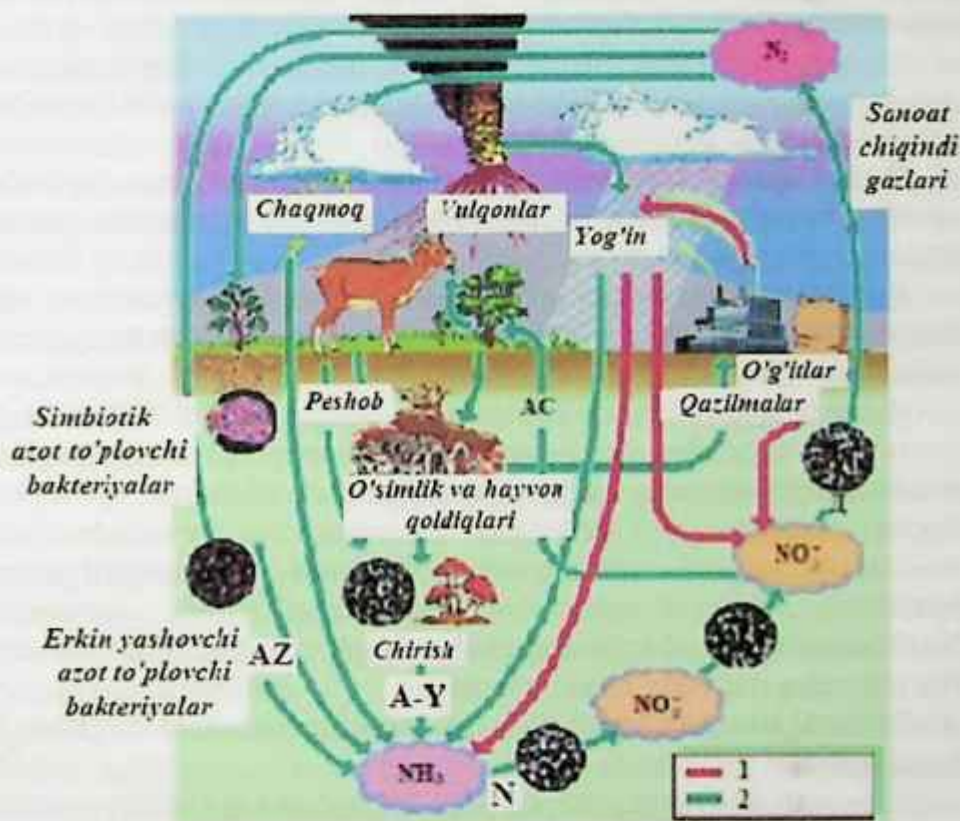
Kerakli asboblari va reaktivlar: pepton-qaynatmasi. Mikroskop, immersion moy, filtr qog'ozlar, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin), qizil lakmus qog'ozi, tuproq.

Ammonifikatsiya - oqsillar va azotning boshqa organik birikmalarining ammiak(NH_3)gacha parchalanishi, demakdir. Ba'zi ammonifikatorlar oqsillarni parchalaganda NH_3 dan tashqari, H_2S bilan indol ham hosil bo'ladi. Oqsillarning ammonifikatsiya qilinishi ammonifikatorlar yoki chirituvchi bakteriyalar yordamida boradi. Ammonifikatorlarning ko'pchiligi aerob bo'ladi. Aerob ammonifikatorlarning sporali va sporasiz turlari bor. Anaerob ammonifikatorlarning aksarisi sporali tayoqchalardir. Ammonifikatorlar tabiatda keng tarqalgan. Ular havoda, suvda, har xil oziq-ovqatda va organik qoldiqlarda uchraydi; ular tuproqda, ayniqsa, ko'p; aerob turlari ham bo'ladi.

Ammonifikatorlarning elektiv kulturasini olish. Ammonifikatorlarning elektiv kulturasini olish uchun 100 ml sig'imli kolbalarda 3% li pepton eritmasi 50 ml dan quyiladi. Pepton eriydigan oqsildir. Kolbaga aerob va anaerob ammonifikatorlar bo'lgan tuproqdan 0,5 g solib, og'zi paxta bilan berkitiladi, shu probkaning tagiga 3 ta maxsus qog'ozcha osib qo'yiladi. NH_3 va H_2S chiqayotganligi shu qog'ozchada bilinadi. NH_3 chiqayotganligini bilish uchun qizil lakmus

qog'oz osiladi. Bu qog'oz NH_3 ta'sirida ko'karadi. H_2S chiqayotganligini bilish uchun qo'rg'oshin atsetat eritmasiga ho'llangan filtr qog'oz osib qo'yiladi. Bu qog'oz H_2S ta'sirida qorayadi.

Azotning tabiatda aylanish sxemasi



1-insoniyat faoliyati; 2-tabiat faoliyati

A-Y-ammonifikatsiya; AS-o'simlik va mikroorganizmlar assimilyatsiyasi; AZ-azotfiksatsiya; D-denitrifikatsiya; N-nitrifikatsiya

Ammonifikatorlarning elektiv kulturasini tekshirish. Probka tagiga osib qo'yilgan qog'ozchalar ko'zdan kechirilib, NH_3 va H_2S chiqqan yoki chiqmaganligini bilinadi. So'ngra idishning yuqori

qismidagi va tubidagi suyuqlikdan bo'yalgan mazok tayyorlanadi. Idishning yuqori qismidagi suyuqlikdan tayyorlangan mazoklarda, asosan, aerob ammonifikatorlar, sporali va turli uzunlikdagi sporasiz ingichka tayoqchalar uchraydi.

Idish tubidagi suyuqlikdan tayyorlangan mazoklarda, ko'pincha, baraban tayoqchasi shaklidagi anaerob ammonifikatorlarning sporali tayoqchalari *Bact. putrificus* uchraydi.

NITRIFIKATSIYA

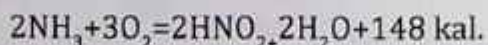
Mashg'ulotni o'tish tartibi: talabalar guruhlariga bo'linib, nitrifikator yig'uvchi bakteriyalarni yuzaga keltiruvchi tajriba qo'yib, kulturalardan nitratlarni aniqlaydilar.

Qo'zg'atuvchilarining morfologiyasini o'rganish uchun har bir talaba preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'radi. Natijalarni daftarlarga yozib va chizib boradilar.

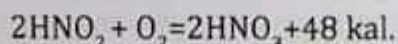
Kerakli asboblari va reaktivlar: ozuqa muhiti. Mikroskop, immersion moy, filtr qog'ozlar, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin), tuproq.

Nitrifikatsiya - bakteriyalar ta'sirida ammiak(NH_3)ning oksidlanib, nitrit va nitrat kislotalarni hosil qilishi, demakdir. Nitrifikatsiyaga sabab bo'ladigan bakteriyalar nitrifikatorlar deyiladi. Nitrifikatsiya ikki bosqichga bo'linadi:

Birinchi bosqich - NH_3 ning oksidlanib, nitrit kislota (HNO_2) hosil qilishi:



Bujarayon nitroz bakteriyalar yordamida boradi. Nitrifikatsiyaning ikkinchi bosqichi - nitrit kislotaning oksidlanib, nitrat kislota (HNO_3) ga aylanishi:



Ikkinchi bosqichda nitrat bakteriyalar ishtirok etadi.

Nitroz bakteriyalarning vakili - cho'zinchoq, sporasiz va harakatchan mikrobdur. Nitrat bakteriyalarning vakili - kalta, sporasiz harakatchan tayoqchadir. Nitroz bakteriyalar qat'iy aerob va qat'iy

prototrof mikroblardir, chunki ular faqat mineral moddalar bilan oziqlanadi. Ular uglerodni CO_2 dan oladi va xemosintez yordamida oziqlanadi, ya'ni oziqlanish uchun zarur energiyani anorganik moddalar - ammiak yoki nitrit kislotani oksidlash yo'li bilan oladi. Nitrifikatorlarning elektiv kulturalarini olish uchun zarur mineral tuzlardan sintetik oziqli muhit tayyorlanadi. Nitroz bakteriyalarning elektiv kulturasini olish uchun Vinogradskiy va Omelyanskiy muhitiga ammoniy sulfat qo'shiladi. Ammoniy sulfat - azot bilan oziqlanish va kislorod bilan nafas olish manbayidir. Nitrat bakteriyalarning elektiv kulturasini olish uchun mineral oziqli muhitga ammoniy sulfat o'rniga natriy nitrit qo'shiladi. Natriy nitrit azot bilan oziqlanish va kislorod bilan nafas olish manbayidir. Aerob sharoit yaratish uchun ikkala muhit ayrim-ayrim Erlenmeyer kolbalariga yupqa qatlam qilib 30 ml dan qo'yiladi, ishqoriy reaksiyani vujudga keltirish uchun bir oz bo'r qo'shiladi, so'ngra nitrifikatorlar bo'lgan tuproq bo'lakchalari tashlanadi. Nitroz bakteriyalar bilan nitrat bakteriyalar uglerodni havodagi CO_2 dan oladi. Elektiv muhitlar quyilgan va tuproq bo'lakchalari tashlangan kolbalar termostatga qo'yiladi.

Nitroz bakteriyalarning elektiv kulturasini tekshirish. Nitroz bakteriyalar ta'sirida ammoniy sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan hosil bo'lgan nitrat kislota (HNO_3) bor-yo'qligi aniqlanadi. Nitrit kislota oziqli muhit tomchisiga shu reaktivdan qo'shilganda pushti tusga kiradi. Oziqli muhitdan tayyorlab bo'yalgan mazokda cho'zinchoq *Nitrosomonas* hujayralari ko'rinadi.

Nitrat bakteriyalarning elektiv kulturasini tekshirish. Nitrat bakteriyalar ta'sirida nitrit kislotadan hosil bo'lgan nitrat kislota (HNO_3) bor-yo'qligi aniqlanadi. Nitrat kislota bor-yo'qligini bilish uchun oziqli muhit tomchisiga H_2SO_4 + difenilamin tomchisi qo'shiladi. Nitrat kislota (HNO_3) bo'lsa, suyuqlik ko'k tusga kiradi. Oziqli muhitdan tayyorlangan preparatda kichkina *Nitrobacter* tayoqchalari ko'rinadi.

DENITRIFIKATSIYA

Mashg'ulotni o'tish tartibi: talabalar guruhlarga bo'linib, denitrifikator yig'uvchi bakteriyalarni yuzaga keltiruvchi tajribalar qo'yib, kulturalardan nitratlarni aniqlaydilar. Qo'zg'atuvchilarining morfologiyasini o'rganish uchun har bir talaba preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'radi. Natijalarni daftarlarga yozib va chizib boradilar.

Kerakli asboblari va reaktivlar: ozuqa muhiti. Mikroskop, immersion moy, filtr qog'ozlar, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin), tuproq. Tarozi toshlari bilan. Difenilamin. Kolbalar.

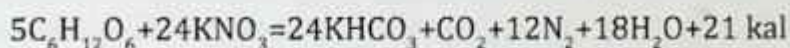
Denitrifikatsiya - nitrat kislota (HNO_3) ning qaytarilib, nitrit kislota (HNO_2) va erkin azot (N_2) hosil qilishi, demakdir. Bu jarayon faqat anaerob sharoitda yuzaga chiqadi. Ular anaerob sharoitda havodagi kislorod o'rniga nitrat kislotalaridagi kisloroddan nafas oladi, ayni vaqtda shu kislorod bilan qand va organik kislotalarni oksidlaydi. Bu bakteriyalar denitrifikatorlar deyiladi.

Denitrifikatorlarning elektiv kulturasini tekshirish. Denitrifikatsiyada nitrat kislota qaytarilib, nitrit kislota va erkin azot (N_2) hosil bo'ladi. Shu sababli denitrifikatsiyada eritmadan nitrat kislota yo'qolib, nitrit kislota vujudga keladi va gaz hosil bo'ladi. Bu quyidagi reaksiyalardan ma'lum bo'ladi: kolbadan olingan suyuqlik tomchisiga H_2SO_4 bilan difenilamin aralashmasidan iborat reaktiv qo'shiladi. Nitrat kislota (HNO_3) bo'lsa, suyuqlik ko'k tusga kiradi, bo'lmasa, suyuqlik rangi o'zgarmaydi.

Nitrat kislota (HNO_3) o'rniga nitrit kislota (HNO_2) paydo bo'lganligi Griss reaktividan bir tomchi qo'shilganida pushti tusga kiradi.

Preparat tayyorlash uchun kolba tagidagi suyuqlikdan pipetka bilan bir tomchi olinadi. Denitrifikatorlar kulturasidan tayyorlangan preparatda denitrifikatsiya bakteriyalarni mayda ingichka tayoqchalar shaklida ko'rish mumkin. Tabiatda uchraydigan denitrifikatsiya bakteriyalari bir necha xil bo'lib, ular tuproqda, ayniqsa, nam, organik parchalanmagan qoldiqlarga boy bo'lgan tuproqda va balchiqda ko'p uchraydi. Bularga *Bact. denitrificans*

spora hosil qilmaydigan fakultativ anaerob harakatchan, kattaligi 0,3 mikrongacha bo'lgan mayda tayoqchalar kiradi. *Achromobacter stutzeri* hamda mayda tayoqcha bo'lib, preparatda zanjirga o'xshab tuzilgan holatda ko'rinadi. Tuproqda uchraydigan denitrifikatsiya bakteriyalarining nitratni qaytarib erkin azot hosil qilish jarayoni quyidagicha boradi:



AZOT TO'PLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: erkin holda yashovchi azotfiksatorlarning (*Azotobacter*, *Clostridium*) morfologiyasi o'rganiladi. Turli dukkakli o'simliklarning tuganak bakteriyalaridan (*Rhizobium*) mazok tayyorlab, mikroskopda ko'riladi.

Qo'zg'atuvchilarning morfologiyasini o'rganish uchun har bir talaba preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'radi. Natijalarni daftarlarga yozib va chizib boriladi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: dukkakli o'simlik ildizi, ozuqa muhiti. Mikroskop, immersion moy, filtr qog'ozlar, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar, Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin), tuproq, tarozi, kolbalar.

Tuproqdagi azotning umumiy balansida mikroorganizmlar tomonidan assimilyatsiya qilinishi muhim ahamiyatga ega. Azotning tuproqda fiksatsiyalanib qolishida bakteriyalarning ahamiyati alohida hisoblanadi. Chunki ular havo tarkibidagi molyakulyar azotni o'zlashtirib, tuproqni bog'lagan azot bilan boyitadi.

Havodagi molekulalar azotning biologik usulda tuproqqa yig'ilishi qishloq xo'jaligida katta ahamiyatga ega. Atmosfera havosining 70% i erkin azotdan iborat. Atmosferadagi azot zahirasidan o'simlik to'la foydalana olmaydi. Havodagi azotni o'zlashtirib, uni o'simlik oziqlana oladigan holga keltiradigan alohida mikroorganizmlar bor. Azotning mikroorganizmlar tomonidan yig'ilishi tabiatdagi azotning aylanishida hal qiluvchi bo'g'in hisoblanadi. Bunday mikroorganizmlar *azotfiksatorlar* deyiladi.

Professor Y.N.Mishustinning ma'lumotlariga ko'ra, azotfiksatorlar yil davomida yer kurrasidagi ekin ekiladigan yerlarda, barcha mamlakatlardagi kimyo zavodlarining yetkazib beradigan azotidan 7 barobar ko'p azot to'playdi. Agar ekin ekiladigan yerlariga hisob qilganda azotfiksatorlar bir yil mobaynida 1 - 1,5 mln tonnaga yaqin azot to'playdi. Demak, qishloq xo'jaligi mutaxassislari mikroorganizmlarning fiziologik xususiyatlari va rivojlanish qonuniyatlarini sinchiklab o'rganishlari dehqonchilikda hosildorlikni oshirishdagi omillardan biri hisoblanadi.

Simbiotik azotfiksatorlar. Bular tugunak bakteriyalar bo'lib, dukkakli o'simliklar bilan simbioz holatda yashaydi va havodagi azotning tuproqqa yig'ilishiga yordam beradi. Tugunak bakteriyalar dukkakli o'simliklarning ildizida yashashga va rivojlanishga moslashgan. Hozirgi vaqtda olimlar tugunak bakteriyalarning 16 turini aniqlashgan. Bular bir-birlaridan morfologik, fiziologik va kultural xususiyatlariga qarab farqlanadi. Har qaysi tugunak bakteriya dukkakli o'simliklar ildizida yashashga moslashgan. No'xat, mosh, beda, loviya, sebarga, nut, lyupina va boshqa dukkakli o'simliklar bilan simbioz holatda yashab, azot to'playdi.

Tugunak bakteriyalari o'zining faolligi va tuproqdagi azot to'plash qobiliyatiga qarab ham bir necha xilga bo'linadi. Tugunak bakteriyalarning faol formasi dukkakli o'simliklar ildizida hosil qilgan tugunaklari, odatda, katta, usti tekis, pushti rangli bo'ladi. Tugunak bakteriyalarning rivojlanish jarayoni juda murakkab. Rivojlanishning boshlang'ich davrida ular harakatchan, mayda tayoqcha shaklida bo'lib, so'ngra o'zlarining shakllarini o'zgartirib, belbog'li yirik tayoqcha bakterioidlarga aylanadi, ya'ni o'zlarining tanalarida shoxchalar hosil qiladilar.

Tugunak bakteriyalar hujayrasining kattaligi 1 mikrondan 4 - 5 mikrongacha, optimal yashash harorati 25 - 28°C bo'lib, 60 - 70°C da o'ladi, 15 - 19°C sovuqda rivojlanishda to'xtamaydi. Muhitning reaksiyasi betaraf bo'lsa, tugunak bakteriyalar yaxshi rivojlanadi. O'simliklar gullaganda dukkakli o'simlik ildizidagi tugunaklarning faolligi oshadi. Tugunak bakteriyalar tuproqdan dukkakli o'simliklar ildiziga ildiz tukchalari orqali o'tib ildizda tugunaklar hosil bo'ladi.

Tugunak bakteriyalarni aniqlash. Buning uchun bir necha xil usuldan foydalaniladi.

1. Tugunak bakteriyalarning morfologiyasini aniqlash uchun dukkakli o'simliklar ildizidan tugunak olib, u sterillangan suvda yuvilib, buyum oynasi ustida eziladi, hosil bo'lgan shiradan preparat tayyorlab, fuksin yoki metilen ko'ki bilan bo'yab mikroskop ostida ko'riladi. Agarda tugunak bakteriyalarining harakatini aniqlash kerak bo'lsa, buyum oynasi ustiga bir tomchi sterillangan suv tomizilib, tugunak eziladi, hosil bo'lgan shira ustiga qoplag'ich oyna yopilib, mikroskop orqali qaralsa, harakatchan mayda tayoqchalar borligi aniqlanadi.

2. Tugunak bakteriyalarining toza kulturasini ajratib olish uchun quyidagi oziqli muhitdan foydalaniladi. Tugunak bakteriyalarini undirish uchun no'xat yoki loviyadan tayyorlangan qaynatma oziq muhiti sifatida olinadi. Qaynatma quyidagi usulda tayyorlanadi: 100 ml suvga 10 g no'xat yoki loviya solinib, dukkaklari yorilguncha (30 - 40 daqiqa) qaynatiladi va sterillangan kolbaga filtrdan o'tkazib qo'yiladi. Filtrlangan suyuqlikning hajmi kamaygan bo'lsa, yana 100 ml ga yetguncha sterillangan suv qo'shiladi, so'ngra reaksiyasi aniqlanadi. Odatda, reaksiyasi neytral bo'lishi kerak. Hosil bo'lgan no'xat qaynatmasiga shakar va 2 g agar-agar qo'shilib eritiladi. Tayyorlangan muhit Petri likobchalariga quyilib qotiriladi. So'ngra dukkakli o'simliklar tugunaklaridan siqib olingan shira ekiladi. Likobchalar bir necha kun davomida 25 - 30°C termostatda saqlanadi. So'ngra oziq muhit yuzasidagi unib chiqqan koloniyalardan preparat tayyorlab sinka, fuksin yoki Gramm usulida bo'yalib, mikroskopda ko'riladi. Muhit ustida unib chiqqan to'plamlar oqish mayda shilimshiq bo'ladi.

Erkin holda yashaydigan azotfiksatorlar. Erkin holda yashaydigan azotfiksatorlarga *Azotobacter chroococcum* - azotfiksator va anaerob azotfiksator *Clostridium pasterianum* kiradi. Azotobakteriyalar tuproqda erkin yashab, har gektar yerga 15 - 30 kg azot to'plashdan tashqari, yana boshqa xususiyatlari bor. Masalan, o'simliklar o'sishi uchun auksin tipidagi o'sish faktorini hosil qilib, rizofera mikroblarining yaxshi rivojlanishiga yordam beradi.



Dukkakdosh o'simliklar ildizidagi tugunaklar



Rhizobium leguminosarum



Azotobacter chroococcum



Rhizobium koloniyalari



Tugunak
bakteriyalar
asosida olingan
nitragin preparati



Erkin holda yashovchi
azotfiksatorlardan
olingan azotobakterin
preparati

Ikkala azotfiksator azot to'plash uchun energiyaga muhtoj bo'ladi. Ular qandni oksidlab yoki bijg'itib shunday energiya oladi. *Azotobacter* - aerob bo'ladi, shuning uchun u qandni havo kislorodi bilan oksidlaydi. Paster klostridiyi - anaerobdir, shuning uchun u qandni moy kislota hosil qilib bijg'itadi. *Azotobacter* ning tuproqdagi elektiv kulturasini olish uchun tuproqqa 2% li mannit qo'shib aralashtiriladi, loy quyuq xamir holiga kelguncha suv qo'shib qoriladi, shu loy Petri likobchasiga solinib, ho'l shpatel bilan yoyiladi va termostatga qo'yiladi. Mannit energiya manbayidir. Mannit borligi tufayli azotobakter yaltiroq, tiniq shilimshiq koloniyalar shaklida o'sib chiqadi. Paster klostriyining elektiv kulturasini olish uchun tuproqqa 1% li glyukoza va suv qo'shib, atala qilinadi. Shu tuproq atalasi Petri likobchasiga solinib, termostatga quyiladi.

Clostridium pasterianum uchun tuproqqa azotbakterdagiga nisbatan ko'proq suv qo'shamiz, chunki tuproqda suv qancha ko'p bo'lsa, havo shuncha kam bo'ladi, ya'ni anaerob sharoit vujudga keladi. Paster klostridiyi anaerob bo'lib, tuproq ichida o'sadi. U qandni bijg'itib gaz hosil qiladi, shu sababli uning rivojlanayotganligi gaz pufakchalari paydo bo'lganligidan bilinadi, gaz pufaklari tuproqni ko'tarib, do'mboqchalar paydo qiladi.

Erkin holda yashaydigan azotfiksatorlarning tuproqdagi elektiv kulturalarini tekshirish. Mannitli tuproq plastinkalarida azotobakterning tiniq shilimshiq kapsulasi bilan o'ralgan yirik diplokokklar va tetrakkokklar ko'rinadi.

Glyukozali tuproq plastinkalari qappayib chiqadi. Plastinkaning qavargan joyidagi tuproqning yuza qavatini mikrobiologik sirtmoq bilan ko'tarib, osti bo'sh bo'lib qolganini aniqlaymiz. Glyukozaning achishidan hosil bo'lgan gazlar shunday bo'shliqni vujudga keltiradi. Shu joydan sirtmoq bilan tuproq donasini olib, quruq mazok preparat tayyorlaymiz. Preparatni eritrozin bilan bo'yaymiz. Plastinkalarning qavargan joyidan tayyorlangan preparatda Paster klostridiyining limonga o'xshash yirik sporali hujayralari ko'rinadi.

Tuganak bakteriyalari bilan tanishish

Rhizobium turkumiga kiruvchi bakteriyaturlari 1300 turgamansub dukkakdoshlarga kiruvchi o'simliklarda tuganaklarni hosil qiladi. O'simlik ildiz to'qimasiga tushgan tuganak bakteriyalari infeksiyon ipchalar hosil qilib, meristema to'qimasiga yetib borganidan so'ng jadal bo'lina boshlaydi va bu yerda tuganaklarni hosil qiladi. Natijada o'simlik va bakteriya o'rtasida modda almashinishi sodir bo'ladi. O'simlik bakteriyani uglevod va mineral moddalar bilan ta'minlasa, bakteriya o'z navbatida o'simlikni 70% gacha assimilyatsiyalanadigan azot bilan ta'minlaydi. Turli dukkakli o'simliklarning ildizida bu tuganaklar turli shakl va o'lchamda bo'ladi. Ularning o'lchami, asosan, tariq kattaligidan yong'oq mevasining kattaligicha bo'lishi mumkin.

Tuganak bakteriyalarning sof kulturasini olish uchun dukkakdoshlarga mansub ekin turidan birontasini (mosh, loviya, no'xat va boshqalar) olib, uning ildizi vodoprovod suvida yaxshilab yuviladi va bir nechta yirik tuganaklar qirqib olinadi. Bu tuganaklar 3 - 4 marta steril suvda chayiladi hamda ularni 0,1% li sulema eritmasi solingan Petri likobchasiga botirib, 5 daqiqa davomida chayqatiladi. So'ngra bu tuganaklar Petri likobchasidagi steril suvga solinadi va unda ham 5 daqiqa ushlab turiladi hamda spirt solingan Petri likobchasiga 1 daqiqa davomida solib qo'yiladi. Tuganaklardagi spirt alangada yondirib yo'qotiladi. Keyin steril pinset yordamida tuganaklar steril Petri likobchasiga ko'chiriladi va steril skalpel pichog'i yordamida bo'laklarga ajratiladi. Bakteriologik ilgak yordamida tuganakning bir bo'lakchasini Petri likobchasidagi ozuqa muhit sirtidagi bir tomchi suvga qo'shiladi va shpatel yordamida ozuqa muhiti yuzasiga bir tekis qilib surtiladi. Tuganak bakteriyalarining sof kulturasini olishda quyidagi ozuqa muhitlaridan foydalaniladi:

Freda ozuqasi

Mannit (Saxaroza yoki glyukoza)	10 g
KH_2PO_4	0,5 g
MgSO_4	0,2 g
NaCl	0,1 g

CaCO ₃	3 g
Achitqili suv (pH 6,8)	100 ml
Agar-agar	15 g
Distillangan suv	0,9 l

Dukkakli agar

Dukkakli don qaynatmasi	1000 ml
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄	0,3 g
Agar-agar	15 g

Dukkakli don qaynatmasini tayyorlash uchun 50 g (mosh, loviya, no'xat, oq fasol) don solingan idishga 1 l vodoprovod suvidan solinadi va sirtidagi po'stlog'i shishib yorilguncha qaynatiladi, lekin don shishib ketmasligi kerak. Qaynatma paxta yoki doka orqali o'tkazib filtrlanadi va unga vodoprovod suvidan 1 l bo'lguncha qo'shiladi, so'ngra unga ozuqa muhiti tarkibiga kiruvchi qolgan komponentlar qo'shiladi.

Yuqoridagi ozuqa muhitlarini pH ini 7 gacha soda qo'shish yo'li bilan keltiriladi. 0,5 atm bosim, 120°C haroratda 30 daqiqa sterilanadi. Bu ozuqa muhitida tuganak bakteriyalari stearin tomchisiga o'xshash oqish, xira, shilimshiq koloniyalar hosil qiladi.

Petri likobchasida yuzaga kelgan koloniyalardan sof kulturalar ajratib olinadi. Bu kulturalar Fred yoki dukkakli agar ozuqa muhiti solingan qiya agarli probirkalarga ekiladi.

Lazarev ozuqasi

KH ₂ PO ₄	0,5 g
MgSO ₄	0,2 g
NaCl	0,2 g
MnSO ₄	0,005g
NH ₄ MoO ₄	0,002 g
Mannit yoki saxaroza	10 g
Achitqili suv	100 l

Agar-agar	1,5 %
Suv	0,9 l

Norris ozuqasi

K_2HPO_4	0,5 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,8 g
NaCl	0,2 g
$FeCl_3$	0,01 g
Mannit	10 g
Yangi tayyorlangan achitqi ekstrakti	100 ml
Suv	0,9 l
pH i	7,2

Sekin o'suvchi bakteriyalar (soya, lyupin) uchun quyidagi ozuqa muhiti tavsiya etiladi:

Mannit yoki saxaroza	10 g
K_2HPO_4	0,5 g
$MgSO_4$	0,2 g
NaCl	0,1 g
Glyukonat Kalsiy	1,5 g
$FeCl_3$	0,01 g
Achitqi ekstrakti	2 g
Suv	1 l
Agar-agar	20 g

OLTINGUGURT VA TEMIR BAKTERIYALARINI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: oltingugurt va temir bakteriyalarning morfologiyasini o'rganadilar. Oltingugurt bakteriyalarining sof kulturasi ajratiladi. Temir bakteriyalarning morfologiyasini o'rganish uchun Vinogradskiy va Lisk ozuqa muhitlaridan foydalaniladi. Har bir talaba preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'riladi. Natijalarni daftarlarga yozib va chizib boriladi.

Kerakli asbob va reaktivlar: mikroskop, immersion moy, filtr qog'ozlar, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Ozuqa muhit. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin), tuproq. Tarozi va toshlari. Kolbalar.

Oltingugurt bakteriyalari tabiatda juda ko'p tarqalgan bo'lib, ularni tuproqda, botqoqlik joylarda, ko'l suvlarida uchratish mumkin. Ular tuproqqa o'simlik va hayvonlarning turli xil qoldiqlari bilan tushadi. Bu qoldiqlarning tuproqda parchalanishi natijasida H_2S ajralib chiqadi. H_2S ning ajralib chiqishi tuproqdagi oqsilning parchalanishiga bog'liq. Buning sababi – oqsil tarkibida har turli aminokislotalar bo'ladi. Tuproqdagi oqsillarni chirituvchi bakteriyalar parchalab vodorod sulfid hosil qiladi. Hosil bo'lgan H_2S oltingugurt bakteriyalari ta'sirida oksidlanib, pirovardida oltingugurt, sulfat kislota va suv hosil bo'ladi. Tabiatda oltingugurt bakteriyalarining ahamiyati katta. Masalan, oltingugurt bakteriyalari suvda to'plangan zaharli vodorod sulfidni oksidlab suvni va atrof-muhitni tozalaydi, shuningdek, qishloq xo'jaligida tuproqdagi o'simlik o'zlashtira olmaydigan oltingugurt oksidlab, o'simlik o'zlashtira oladigan holga keltiriladi. Oltingugurt bakteriyalari ikki guruhga bo'linadi. 1) rangsiz, 2) rangli oltingugurt bakteriyalari.

Rangsiz oltingugurt bakteriyalarining diametri 50 mikrongacha bo'ladi, ular bir va ko'p hujayrali bo'lib, tion bakteriyalari deyiladi. Ular ipsimon shaklda, maxsus shilimshiq yostiqlar yordamida suv ostidagi har xil narsalarga yopishib yotadi. Rangli oltingugurt bakteriyalari pigment hosil qiluvchi oltingugurt bakteriyalari deyiladi. Ularning hujayralarida maxsus pigmentlar bo'ladi, shuning uchun ham ular bakteriopurpurin nomini olgan. Purpur bakteriyalari vodorod sulfidni sulfat kislotasigacha oksidlaydi. Qizil pigmentli oltingugurt bakteriyalari ikki usulda organik moddalarni sintez qiladi. Xemosintez va fotosintez. Oltingugurt bakteriyalarining shakli boshqa bakteriyalardan bir oz farq qiladi. Ular suv o'tlarining shaklini eslatadi. Oltingugurt bakteriyalari kattaligiga qarab ham bir-biridan farq qiladi. Rangsiz oltingugurt bakteriyalar rangli oltingugurt bakteriyalariga nisbatan bir necha barobar katta bo'ladi. Oltingugurt bakteriyalarining shakllari ham har turli bo'lib, ular orasida mayda

tayoqchasimon, vibrionga o'xshash va spiralsimon bakteriyalar ko'p uchraydi. Bakteriyalar tanasida oltingugurt boshqa bakteriyalardan farq qiladigan belgisi hisoblanadi. Oltingugurt bakteriyalari quyidagi usullar bilan aniqlanadi.

S.N.Vinogradskiy usuli bilan aniqlanganda shisha silindrga suv o'ti ildizi yoki beda solinib, ustiga bir ozgina balchiq qo'shiladi va silindr suv bilan to'ldiriladi. So'ngra silindr 25 - 30 kun davomida termostatda saqlanadi. Shu vaqtning ichida silindrdagi suvning ustki qismida oltingugurt bakteriyalari yig'ilib, parda hosil qiladi. Hosil bo'lgan pardadan preparat tayyorlab mikroskop ostida ko'riladi.

Oltingugurt bakteriyalarining sof kulturasini oziqli muhitda undirib ham aniqlash mumkin. Buning uchun quyidagi oziqli muhitlardan ko'p foydalaniladi.

Masalan:

Sut kislotaning natriyli tuzi yoki qahrabo tuzidan	0,5 g
Asparagin	0,2 g
Magniy sulfat	0,1 - 0,2 g
Kaliy gidrofosfat	0,1 g
Temir sulfat	juda oz miqdorda
Vodoprovod suvi	100 ml

Hosil bo'lgan muhit kolbaga solinib, ustiga tuproq yoki balchiq qo'shiladi. Kolbaning og'zi probka bilan berkitilib, 8 - 10 kun davomida 25 - 30°C da termostatda saqlanadi. Muhitda oltingugurt bakteriyalarining unganini hosil bo'lgan hiddan va muhit ichiga kuchsiz temir xlorid eritmasi bilan ammiak eritmasida namlangan kichkinagina toshcha bog'lab tushirilgan ipning tez vaqtda qorayishidan bilish mumkin. Kolbaning pastki qismida hosil bo'lgan temir sulfidning ta'siri natijasida ip qorayadi. Kolbaning yuqori qismidagi ipning rangi o'zgarmaydi. Bunga kolbaning yuzasida vodorod sulfidni oksidlovchi oltingugurt bakteriyalari sabab bo'ladi.

Temir bakteriyalarini aniqlash. Temir bakteriyalar, asosan, suv havzalarida, botqoq yerlarda, qisman tuproqda uchraydi. Temir bakteriyalari tabiatda uchraydigan ikki valentli temir va marganets tuzlarini oksidlab, uni uch valentli birikmalarga aylantirishda ishtirok

etadi. Shuning uchun ham qishloq xo'jaligida temir bakteriyalari muhim ahamiyatga egadir. Tuproqda temir va marganets moddasi yetishmasa, o'simlikning rivojlanishi va hosildorligiga salbiy ta'sir qiladi. Temir bakteriyalari uzunchoq, shilimshiq qin bilan o'ralgan ipsimon shaklda bo'ladi. Ularning shilimshiq qinlarida temir gidroksidi to'planganadi. Temir bakteriyalari o'zlarining kattaligi, tanalarida donachalarning mavjudligi va shoxlanish xususiyatlari, spiralga o'xshab buralgan lenta hosil qilishiga qarab boshqa bakteriyalardan farq qiladi. Odatda, ularning uzunligi 1 cm gacha bo'lib, yo'g'onligi 2 - 3 mikron keladi.

Suv havzasidagi temir bakteriyalar quyidagi usul bilan aniqlanadi: temir tayoqchalar arqonga bog'lanib, tekshiriladigan suvga tushiriladi, arqonning suv yuzasidagi uchiga esa po'kak bog'lanadi. Po'kakning turgan joyi belgilab qo'yiladi. Bir necha oydan keyin suv ichidagi temir tayoqchalarga temir bakteriyalar yopishib, tugunchalar hosil qiladi. Hosil bo'lgan tugunchalar ichida temir oksidi bo'ladi. Temir tayoqcha ustida hosil bo'lgan tugunchalardan preparat tayyorlanib, u 10% li HCl va spirt bilan fiksatsiya qilinadi va gentsian violet bo'yog'i bilan bo'yaladi. Yuqorida aytib o'tilgan usullardan tashqari, temir bakteriyalarni aniqlashda S.N.Vinogradskiy va Liske usullaridan ham foydalaniladi. S.N.Vinogradskiy usulida aniqlanganda shisha silindrga qaynatib olingan beda cho'pi solinadi, unga bir ozgina yangi cho'ktirilgan temir gidroksididan qo'shiladi va silindr suv havzasidan olingan, tekshiriladigan suv bilan to'ldiriladi. Silindrdagi organik qoldiqlarning anaerob usulda parchalanishi natijasida quyidagi moddalar (H_2 , H_2S va boshqalar) hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan bu moddalar suv tarkibidagi uch valentli temir oksidini ikki valentli temir oksidiga aylantiradi. Suvda erigan ikki valentli temir karbonat ($FeCO_3$) suv yuzasiga chiqib, temir bakteriyalari tomonidan oksidlanadi. Natijada suv yuzasida temir bakteriyalar yig'ilib, ma'lum vaqt o'tgandan so'ng temir bakteriyalar yig'indisini oddiy ko'z bilan ham ko'rish mumkin. Liske usulida aniqlaganda kolbaga 0,05% li beda eritmasi yoki to'kilgan barglarning eritilgan ekstrakti solinib, ustiga bir oz temir qirindisi qo'shiladi va ularga yana balchiq yoki suv quyiladi.

Yuqorida aytib o'tilgan usullardan tashqari, temir bakteriyalarini aniqlashda temir bakteriyalarning o'ziga xos sintetik ozuqa muhitlaridan ham foydalanish mumkin.

S.N.Vinogradskiy ozuqa muhiti

NH_4NO_3	0,5 g
NaNO_3	0,5 g
K_2HPO_4	0,5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
CaCl_2	0,2 g
Limon kislotaning temir ammiakli tuzi	10 g
Suv	1000 ml

Liske ozuqa muhiti

1. Agar-agar
2. Sirka kislotaning magniyli tuzi
3. 100 ml suv

S.Molish temir bakteriyalarni qidirishda quyidagi muhitdan foydalangan: bu muhit 0,25% li manganets-peptonga 10% li jelatin eritmasi qo'shib tayyorlangan.

FOSFOR BAKTERIYALARINI ANIQLASH

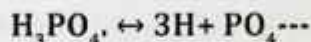
Mashg'ulotni o'tish tartibi: fosfor bakteriyalarning morfologiyasini o'rganish uchun har bir talaba preparat tayyorlaydi va bo'yab mikroskopda ko'radi. Fosfor bakteriyalarining miqdorini aniqlash usullari bilan tanishadi. Tuproq namunalardan fosfor kislotalarni aniqlash uchun A.G.Kirsanov usulidan foydalaniladi. Natijalarni daftarlarga yozib va chizib boradilar.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop, sterillangan Petri likobchalari, immersion moy, 9 ml suv solingan probirkalar, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Ozuqa muhiti. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin), tuproq. Tarozi va toshlari. Kolbalar.

Qishloq xo'jalik ekinlarining hosildorligini oshirishda fosfor birikmalari katta ahamiyatga ega. Fosfor oltingugurt kabi tuproqda har xil organik va mineral birikmalar holida uchraydi. Tuproqdagi qiyin eriydigan fosfor birikmalari fizik-kimyoviy va biologik omillar ta'sirida suvda yaxshi eriydigan bo'lib qoladi, ya'ni fosfat kislota hosil bo'ladi, shundagina fosforni o'simliklar oson o'zlashtiradi. Umuman tuproqda 0,05% dan 0,2% gacha fosfor bo'ladi.

O'simlikning tanasi va ildizida har xil fosfor birikmalar bo'lganligi uchun tuproqqa o'simlik qoldiqlari bilan tushadi va tuproq mikroorganizmlari tomonidan parchalanib, fosfat kislota holiga o'tadi.

O'simliklar fosforni, asosan, fosfor kislota anioni shaklida o'zlashtiradi.



Tuproqdagi fosfor birikmalarini eritishda fosfor bakteriyalaridan tashqari, kislota hosil qiluvchi sporal va sporasiz mikroorganizmlar katta ahamiyatga ega.

R.A.Menkinaning ma'lumotiga qaraganda, fosfor bakteriyalari 50% fosforni lesitindan va 86% fosforni nuklein kislotalardan quyidagi sxema bo'yicha ajratib, tuproqni fosfor bilan boyitadi:

1) nukleoproteid → nuklein → nuklein kislota → nukleotidlar → H_3PO_4 .

2) lesitin → gliserofosfor efirlar → H_3PO_4 .

Tipik spora hosil qiladigan fosfor bakteriyalarga misol qilib *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* olinadi. Bu mikroorganizm tayoqchasi, cheti qayrilgan, kattaligi 3 mikrondan 6 mikrongacha kattalikdagi, spora hosil qiluvchi Grammanfiy aerob bo'lib, har xil qand eritmalarida (glyukoza, saxaroza, mannit, galaktoza) gaz hosil qilmasdan kislota hosil qiladi.

Kartoshkadan va fosforning organik birikmalari qo'shib tayyorlangan muhit yuzasida shilimshiq qo'ng'ir rangli koloniyalar atrofida yaltiroq doira hosil bo'ladi. Koloniyalardan preparat tayyorlab mikroskopda ko'rilganda ularning juft bo'lib joylashganini kuzatamiz.

Spora hosil qilmaydigan fosfor bakteriyalari mayda tayoqchasimon, kattaligi 1,5-2 mikron, gramm manfiy va fakultativ anaerobdir. Zich oziqli muhit yuzasida pushti rang koloniya hosil qiladi, koloniya atrofida yaltiroq doira bo'lmaydi. Bu mikroorganizm sutda ishqor hosil qilibgina qolmasdan, qisman nuklein kislotani ham parchalaydi.

Tuproqdagi fosfor bakteriyalarni aniqlash usuli. Buning uchun tuproq namunasidan analitik tarozida 1 g o'lchab olib, uni sterillangan suv bilan aralashtirib, eritma tayyorlanadi va uning oxirgi darajasi 1:100 000 ga yetkaziladi, so'ngra eritmadan sterillangan pipetka bilan olib, uchta Petri likobchasiga solinadi, ustiga suyultirilgan 40 - 45°C darajagacha sovitilgan muhit quyiladi. Eritma bilan muhitni aralashtirish uchun likobcha asta-sekin chayqatiladi. Likobchadagi muhit qotgandan so'ng, likobchaga yorliq yopishtirib 6 - 7 kun davomida termostatga qo'yiladi. Yorliqqa eritmaning darajasi, talabaning familiyasi, guruhi va ishni bajargan kuni yoziladi.

Fosfor bakteriyalarni undirib va ularni o'rganish uchun bir necha xil ozuqa muhitlaridan foydalaniladi.

Masalan, R.I.Pikovskaya muhitining tarkibi quyidagicha bo'ladi:

Ca ₃ (PO ₄) ₂ (kalsiy fosfat)	5,0 g
NaCl (osh tuzi)	0,2 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O (magniy sulfat)	0,1 g
Mn SO ₄ (manganetsulfat)	juda oz miqdorda
FeSO ₄ (temir sulfat)	juda oz miqdorda
Glyukoza	20,0 g
Agar-agar	20,0 g
Suv	1000 ml.

R.I.Pikovskaya muhitidan tashqari, fosfor bakteriyalarini undirib o'rganish uchun R.A.Menkinaning muhitidan va kartoshkaxamirturush agaridan ham foydalaniladi. Unib chiqqan fosfor bakteriyalarining sonini aniqlash uchun uchta likobchadagi mikroorganizmlar koloniyalarini sanab, ularning o'rtacha soni aniqlanadi. Masalan: birinchi likobchada 10 ta, ikkinchi likobchada 8 ta, uchinchi likobchada 6 ta mikroorganizm koloniyasi bo'lsa, ularning yig'indisi

uchga bo'linadi, chiqqan son eritma darajasiga ko'paytiriladi, ya'ni $8 \times 100\,000 = 800\,000$.

1 g tuproqdagi fosfor bakteriyalarning soni aniqlangandan so'ng muhit yuzasidagi koloniyalardan preparat tayyorlab mikroskopda ko'riladi, shundan keyin ko'zga ko'ringan mikroorganizmlarning rasmi daftarga chizib olinadi.

Tuproqdagi fosfat kislotani aniqlash. Tuproq mikroorganizmlari uchun fosforning ahamiyati katta, tuproqdagi fosfat kislotaning miqdori tuproq mikroorganizmlarining hayot faoliyati bilan chambarchas bog'langandir. Ko'pgina olimlarning ma'lumotlariga ko'ra, mikroorganizmlar hujayrasining ma'lum qismini fosfat kislota tashkil qiladi. Masalan, *Azotobacter chroocoscum* quruq moddadan 52% gacha, *Bac. mycoides* 4,07% gacha, achitqilarning kulida esa 60% gacha bo'ladi. Shuning uchun ham tuproq tarkibidagi fosfat kislotani aniqlash qishloq xo'jaligida amaliy va nazariy ahamiyatga egadir.

Tuproqdagi fosfat kislota bir necha usul bilan aniqlanadi, bulardan A.G.Kirsanov usuliga Y.P.Peyve o'zgartirish kiritib, taklif qilgan usuli eng qulay hisoblanadi. Bu usul aniqlanayotgan eritmaning rangini o'z tarkibida fosfornomolibden kompleksini ($\text{MoO}_4 \cdot x\text{MoO}_3 = \leftrightarrow \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) saqlaydigan standart eritmalar bilan solishtirishga asoslangandir. Buning uchun tekshirilayotgan tuproq namunasidan 5 gr analitik tarozida tortib olinib kolbaga solinadi, ustiga 25 ml 0,2 n. HCl quyib bir daqiqa chayqatiladi, so'ngra eritma tindirilib filtrlanadi. Hosil bo'lgan filtratdan 5 ml dan olib ikkita probirkaga solinadi, ustiga 5 ml 5 marta suvda suyultirilgan molibden reaktivi qo'yiladi. Tajriba o'tkazilgan probirkalarni standart probirkalarga solishtirish tufayli 1 g tuproq, so'ngra 100 gr tuproq tarkibidagi P_2O_5 miqdori aniqlanadi.

RIZOSFERA MIKROORGANIZMLARINI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: ildizlarni yettita kolbaga solib chayiladi (Tepper usulida). Ildizlarning 6- va 7- chayindisini GPA, Chapeka va suslo-agar ozuqasi solingan Petri likobchalariga ekiladi. Rizosfera mikroorganizmlarni o'rganish davomida mazokni Gramm usulida bo'yab mikroskopda ko'riladi. Talabalar preparat tayyorlaydi

va Gramm usulida bo'yab mikroskopda ko'rishadi. Natijalarni daftarlarga yozib va chizib boriladi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop, o'simlik ildizlari, sterillangan Petri likobchalari, immersion moy, 99 ml va 9 ml suv solingan probirkalar, sterillangan kvars qumi, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Ozuqa muhiti. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin, gentsian-violet), Tarozi va toshlari.

O'simliklarning ildizlariga yaqin joylashib rivojlanadigan mikroorganizmlar rizosfera mikroorganizmlari deyiladi. ("*rhizo*" - "ildiz", "*sphaera*" - "shar").

Ildiz atrofida va ildizda rivojlangan rizosfera mikroorganizmlarining miqdori tuproq mikroorganizmlariga nisbatan bir necha marta ko'p bo'ladi. Ildizdan har xil organik moddalar ajralib chiqqani uchun unda rizosfera mikroorganizmlari juda ko'payadi.

Tekshiruvchilarning aniqlashicha, o'simlik mikroorganizmlar iste'mol qiladigan qand va organik moddalarni o'zining vegetatsiya davrida 4 - 5% miqdorida ajratib chiqaradi. Rizosfera mikroorganizmlari faqat o'simliklar ajratadigan organik moddalar hisobiga yashamasdan, chiriyotgan ildiz epidermisi va ildiz tuklaridan ham oziq sifatida foydalanadi. Tekshirishlardan ma'lum bo'lishicha, har qaysi o'simliklarning o'ziga xos rizosfera mikroflorasi bo'ladi. Masalan, Y.F.Beryozova boshqoli o'simliklar ildizida ko'pincha ammonifikatorlar, denitrifikatorlar bo'lishini; makkajo'xori ildizida anaerob azot to'plovchilar; kartoshka ildizida mikobakteriya, aktinomitsitset va boshqalar bo'lishini aniqlagan. Rizosfera mikroorganizmlari o'simliklar ajratadigan turli organik moddalar hisobiga yashashi bilan birga o'z navbatida o'simliklarning o'sishi uchun zarur bo'lgan turli elementlar (azot, fosfor, vitamin va boshqalar) bilan ta'minlaydi. Rizosfera mikroorganizmlari spora hosil qilmaydigan mikroorganizmlar turkumiga kirsalar ham, asosan, tuproq mikroflorasiga yaqin turadi. Rizosfera mikroorganizmlari o'simliklar ildizida, ildiz atrofida joylashishlariga qarab bir necha guruhga bo'linadi. Y.F.Beryozova ildizga yopishgan mikroflora o'simlik uchun katta ahamiyatga ega ekanligini, chunki bu mikroflora o'simlik

uchun kerakli fiziologik moddalarni sintez qilib berishdan tashqari, o'simliklar ildizini zararli mikroorganizmlar ta'siridan saqlashini aniqlagan. Ildiz atrofiga yaqin joylashgan mikroorganizmlar tuproqdagi o'simlik o'zlashtira olmaydigan moddalarni yengil o'zlashtira oladigan holatga aylantiradi; bundan tashqari, o'simlik ildizidan chiqadigan ba'zi bir zararli moddalarni parchalaydi. Shuning uchun bunday mikroorganizmlar o'simliklarning o'sishida katta ahamiyatga ega.

Rizosfera mikroorganizmlarini N.A.Krasilnikov usulida aniqlanganda, avvalo, sterillangan pinset bilan ildizga yopishgan tuproq ehtiyotlik bilan olinib, sterillangan Petri likobchasiga solinadi. So'ngra tuproqdan 1 g tortib olib sterillangan kolbaga solib, ustiga 99 ml sterillangan suv quyib, bir - ikki daqiqa davomida yaxshilab chayqatiladi, keyin sterillangan pipetka yordamida sterillangan suvga qo'shib kolbada navbatdagi eritmalar hosil qilinadi. Masalan, 1: 100000 yoki 1 : 1000000, undan yuqori 1 : 100000000 nisbatda eritma tayyorlanadi. To'rtinchi-beshinchi yoki beshinchi-oltinchi eritmadan 1 ml dan olib, ikkita Petri likobchasiga DPA ga ekiladi. Ekilgan likobchalar 23 - 25°C termostatga ikki-uch kunga qo'yiladi. Keyin likobchada o'sib chiqqan koloniyalarning morfologik, fiziologik xususiyatlari o'rganilib, mikroorganizmlar to'plamining soni 1 g tuproqqa hisob qilinib, umumiy soni aniqlanadi.

Rizosfera mikroorganizmlari Y.S.Tepper usulida aniqlanganda o'simliklar ildizini kesak bo'lakchalaridan tozalab taxminan 1 g ildiz tortib olib, 50 ml sterillangan suv solingan kolbada 2 daqiqa yuviladi. So'ngra ildizlar sterillangan pinset yordamida kolbadan suvi silqitib olinib, 50 ml suv solingan boshqa kolbada yana yuviladi. Shunday qilib, 7 marta yuviladi. 6- va 7-marta yuvilayotganda kolbaga 3 - 5 g sterillangan kvars qumi solinadi.

Birinchi, ikkinchi yuvilganda yuvindida tuproq mikroflorasi qoladi; to'rtinchi, beshinchi, oltinchi va yettinchi marta yuvilganda ildizga yopishgan rizosfera mikroorganizmlari qoladi. Bu yuvindilar kerakli darajagacha sterillangan suvda eritilib, GPA yoki DPA, Chapeka, suslo-agar ozuqa muhitlari yuzasiga shpatel yordamida ekiladi. Petri likobchasidagi GPA yoki DPA, Chapeka, suslo-agar ozuqa

muhiiti yuzasiga sterillangan pipetka yordamida 0,05 ml (1 tomchi) eritma quyiladi va shpatel bilan muhitning yuzasiga qurigunicha surtiladi, so'ngra ikki-uch kun davomida 25°C haroratda termostatga qo'yiladi, so'ngra likobcha yuzasida o'sib chiqqan mikroorganizmlar to'plamining soni 1 ml eritmaga hisob qilinib, 1 gr ildizda qancha rizofera mikroorganizmi borligi aniqlanadi. Masalan,

$$\frac{0,05-500}{1-X}$$

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

EPIFIT MIKROORGANIZMLARNI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: GPA, Chapeka, suslo-agar ozuqa muhiiti solingan Petri likobchalarida ungan mikroorganizm koloniyalarining miqdorini sanash va 1 gramm donda qancha mikroorganizm borligini aniqlanadi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop, o'simlik urug'lari, sterillangan Petri likobchalari, immersion moy, 99 ml va 9 ml suv solingan probirkalar, sterillangan kvars qumi, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Ozuqa muhiiti. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin, gentsian-violet), tarozi va toshlari.

Rizosfera mikroorganizmlari o'simliklar o'sish davrida ildizidan tanasiga ham ko'tariladi va o'simlik tanasiga tashqi muhitdan chang, hasharotlar orqali har xil mikroorganizmlar yuqadi.

O'simlik tanasida uchraydigan mikroorganizmlar **epifit mikroorganizmlar** deyiladi. Epifit mikroorganizmlar, asosan, saprofitlar turkumiga kirib, ular o'simlik to'qimalaridan ajralib chiqadigan har xil chiqindilar va o'simlik tanasidagi turli organik moddalardan oziq sifatida foydalanadi.

Epifit mikroorganizmlar faqat o'simlik tanasida, bargida va gulida emas, balki doni, turli mevalarida, shuningdek, sabzavotlarning yer ustki qismida ko'plab uchrashi mumkin. Tekshiruvchilarning

ma'lumotlariga ko'ra, 1 g sifatli donda bir necha million epifit mikroorganizmlarni uchratish mumkin.

Y.I.Kvasnikov, M.G.Sumnevich va Y.M. Voznyakovskayalarning ma'lumotlariga ko'ra, epifit mikroorganizmlar turkumiga *Pseudomonas* guruhiga kiruvchi mikroorganizmlardan tashqari, har xil sharsimon, tayoqchasimon va sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalar ham kiradi. O'simlik tanasida uchraydigan mikroorganizmlar o'simlikning o'sishiga zarar yetkazmaydi, epifitlar guruhiga kiruvchi ba'zi bir zararli zamburug'lar esa o'simlik tanasidan ildiziga o'tib o'simlikning hosildorligiga ta'sir qilishi mumkin.

O'simlik tanasida uchraydigan epifit mikroorganizmlarni aniqlash uchun sterillangan pinset bilan boshhoqdan olingan dondan 10 g tarozida tortib olinib, 90 ml sterillangan suv quyilgan kolbalarga solinadi va 5 g sterillagan qum qo'shib, 10 minut davomida yaxshilab chayqatiladi. Hosil bo'lgan yuvindidan 1 ml olib, 1:10000 gacha eritma hosil qilinib, 1 ml olib ikkita Petri likobchasiga ekiladi. Bakteriya aniqlanishi kerak bo'lsa, eritma DPA ga ekiladi, agar eritmadan zamburug'larni aniqlash kerak bo'lsa, Chapeka yoki suslo-agarga ekiladi.

Sabzavotlar urug'idagi epifit mikroorganizmlarni aniqlash uchun urug'dan 1 g olib, 9 ml sterillangan suv quyilgan kolbalarga solib, ustidan 1 g sterillagan qum qo'shib, 10 daqiqa davomida yaxshilab chayqatiladi, hosil bo'lgan yuvindidan 1:10; 1:100 va 1:1000 nisbatda eritma tayyorlanib suslo-agarga ekiladi. Ekilgan likobchalar ikki-uch kun davomida 23 - 25°C haroratda termostatda saqlanadi, so'ngra oziq muhiti yuzasida unib chiqqan mikroorganizm to'plamlarining xususiyatlari o'rganiladi.

MIKROORGANIZMLARNING ANTAGONISTIK XUSUSIYATLARINI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: fitopatogen mikroorganizmlarga qarshi tekshirish uchun olingan mikroorganizmlarning antibiotik hosil qilish xususiyatlari agarli ozuqa muhitlariga ekish orqali aniqlanadi. Buning uchun fitopatogen mikroorganizmlar test sifatida

foydalaniladi va ular agarli ozuqa quyilgan Petri likobchalariga ekiladi. 7 - 10 sutka davomida suyuq ozuqa muhitlarida o'stirilgan tekshirilayotgan mikroorganizmlarning kultural suyuqligiga botirilgan qog'ozli filtr diskleri agarli ozuqa muhiti sirtiga teriladi va ekilgan Petri likobchalari 24 - 26°C haroratli termostatlarga qo'yiladi, hamda natijalar daftarga yozib boriladi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: mikroskop, buyum va qoplag'ich oynalar, mikrobiologik sirtmoq, spirt lampasi, fitopatogen va tekshirish uchun olingan mikroorganizmlarni probirkalardagi sof kulturasi, agarli ozuqa quyilgan Petri likobchasi, qog'ozli filtr diskler, pinset, termostat.

Tabiatda tarqalgan mikroorganizmlar yakka-yakka rivojlanmay, balki bir-biri bilan aralashib yashaydi. Shuning uchun ham ularning o'rtasida antagonistik va hamkorlik munosabatlar paydo bo'ladi. Organizmlar o'rtasidagi hamkorlik munosabat *simbioz* deyiladi, bunda bir xil mikroorganizmlar ikkinchi xil mikroorganizmlarga ularning yashashi va rivojlanishi uchun qulay sharoit yaratadi. Mikroorganizmlar yashash va rivojlanish jarayonida muhitga moslanish natijasida bir-biriga nisbatan qarama-qarshi munosabatda bo'ladi, bunday munosabat mikroorganizmlar *antagonizmi* deyiladi. Paster birinchi bo'lib kuydirgi kasalining mikroorganizmi bilan ko'k yiring hosil qiluvchi bakteriyalar o'rtasidagi munosabatlarni kuzatib mikroorganizmlar o'rtasidagi antagonistik xususiyatlarini aniqlagan bo'lsa, Mechnikov sut kislotasi hosil qiladigan bakteriyalarning chirituvchi bakteriyalarga nisbatan bo'lgan antagonistik munosabatlarini aniqlagan. Shuning uchun ham Paster bilan Mechnikovlar antagonizm nazariyasining asoschilari hisoblanadi.

Antagonistik munosabat faqat bakteriyalar orasida emas, balki zamburug'lar va aktinomitsetlar orasida ham uchraydi. Olimlarning aniqlashicha, tuproq mikroorganizmlari orasida, ayniqsa, go'ngsolinib o'g'itlangan tuproqda patogen va fitopatogen mikroorganizmlariga nisbatan antagonistlar ko'p uchraydi. Bir tur mikroorganizm ikkinchi tur mikroorganizmga nisbatan antagonist bo'lsa, u hosil qilgan mahsulotni bilan ikkinchi mikroorganizmni rivojlanishdan to'xtatadi, ya'ni uni o'ldiradi. Antagonist mikroorganizmlarning

hosil qilgan mahsulotlari antibiotik deyiladi. Antibiotiklarni, asosan, tuproqda uchraydigan zamburug'lar, aktinomitsetlar va har turli sporali, sporasiz bakteriyalar hosil qiladi. Antibiotiklarni faqat mikroorganizmlargina emas, o'simlik va hayvonlar ham hosil qiladilar.

Mikroorganizmlarning antibiotiklari yoki ularning tirik kulturalari qishloq xo'jalik ekinlarining kasalliklariga qarshi biologik kurash chorasi sifatida ishlatiladi. Antibiotiklar kelib chiqishi, kimyoviy tuzilishi, mikroorganizmlarga qarshi ta'sir mexanizmi va ularni ta'sir doirasiga ko'ra qator guruhlariga bo'linadi. Tor ta'sir doirasiga ega bo'lgan antibiotiklar bilan bir qatorda keng ta'sir kuchiga ega bo'lgan antibiotiklar ham qo'llaniladi.

Mikroorganizmlarning antibiotik hosil qilish xususiyatini aniqlashning eng oddiy usuli filtr disklardan foydalanishdir.

Test sifatida olingan fitopatogen mikroorganizmlar agarli ozuqa quyilgan Petri likobchasiga ekiladi, so'ngra pinset bilan ma'lum miqdorda tekshiriladi. Mikroorganizmlar o'stirilgan kultural suyuqligi shimdirilgan filtr qog'ozli disklar bir xil oraliqda agar yuzasiga joylashtiriladi. Ekilgan Petri likobchalari 24 - 26°C da bir sutka davomida termostatda saqlanadi. Disk atrofidagi fitopatogen mikroorganizm kulturasining o'sishi to'xtagan zona diametriga ko'ra, uning ma'lum fitopatogen mikroorganizmga nisbatan antibiotik hosil qilishi belgilanadi. Agar o'sishni to'xtash zonasining diametri 10 mm bo'lsa, kultura kam ta'sirga ega. 10 mm dan ko'p bo'lsa - yuqori darajada ta'sir qilish xususiyatiga ega hisoblanadi. Disklar biokultural suyuqlikning har xil konsentratsiyasi bilan shimdirilgan bo'lsa, u holda tekshirilayotgan mikroorganizm kulturasining eng kichkina dozasi konsentratsiyasi tanlab olinadi.

Tuproqdagi antagonist mikroorganizmlarni aniqlash uchun Petri likobchasiga GPA, Chapeka, suslo-agar ozuqa muhiti suyultirib quyiladi, likobchadagi muhit qotgandan keyin uning yuzasiga bakteriya yoki zamburug'larning sof kulturasini shpatel bilan ekilib, 25 - 30°C termostatga 1 - 2 sutka davomida qo'yiladi. So'ngra likobchadagi muhit yuzasida unib chiqqan bakteriya yoki zamburug' koloniyalarining ustiga bir necha joyiga yangi tuproq bo'lakchalaridan

sterillangan pinset bilan qo'yiladi va yana bir necha kun termostatda saqlanadi. Agar tuproq bo'lakchalari tarkibida antagonist mikroblar bo'lsa, tuproq zarrachasi atrofida oq doira hosil bo'ladi, chunki tuproqdagi antagonist mikroblar muhit yuzasidagi mikroblarning rivojlanishiga yo'l qo'ymaydi, ya'ni ularni o'ldiradi. Antibiotiklarning faolligini aniqlashda, asosan, A.Fleming va diffuziya usullaridan foydalaniladi.

Agarli blok usuli. Buning uchun test-mikrobi Petri likobchasidagi zich ozuqa muhitga ekiladi. Sinalishi kerak bo'lgan antibiotik metall yoki shishadan yasalgan har xil hajmdagi silindrchalarga solinadi, so'ng ularni boshqa sterillangan Petri likobchadagi ozuqa muhit ustiga 5 - 6 ta agarli blok qo'yiladi. So'ngra Petri likobchalari termostatga 20 - 24 soatga qo'yiladi. Antibiotik silindrchalar atrofidagi oziq muhitda diffuziyalanib mikrobnı o'stirmay qo'yadi va u qancha kuchli bo'lsa, silindrchalar atrofida mikrobo'smagan doira shuncha keng bo'ladi.

Qog'ozli disk usuli. Qog'ozli disklar bilan antibiotikning faolligi aniqlanadi. Buning uchun antibiotik eritmasiga filtrlovchi qog'oz botirilib, keyin u quritiladi va 0,5 cm diametrli doira (disk) shaklida kesiladi. Qog'oz diskdagi antibiotik bir sutka ichida oziq muhitga diffuziya qilinib, disk tevaragida mikrobnıng o'sishiga yo'l bermaydi. Qog'oz disk tevaragida o'sa olmagan doiraning diametri o'lchanib, antibiotikning mikrobgı kuchli yoki kuchsiz ta'sir etganligi aniqlanadi. Agar qog'oz diskdan 15 mm narigacha mikrobo'sib chiqmasa, antibiotikning mikrobgı kuchsiz ta'sir etganligi ma'lum bo'ladi. Agar diskning diametri 15 - 25 mm gacha bo'lsa, antibiotik mikrobgı ta'sir etgan, 25 mm dan ortiq diametrli doira o'smagan bo'lsa, antibiotik kuchli ta'sir etgan deb hisoblanadi.

Markaziy-agarli blok usuli. Antibiotik produsentlari rivojlanishi uchun yaroqli bo'lgan sterillangan agarli ozuqa muhiti qatlamlaridan diametri 20 - 25 ml bo'lgan doirachalar o'yib olinadi. O'yib olish uchun sterillangan shisha naychalardan foydalaniladi. O'yib olingan doirachalar boshqa sterillangan Petri likopchalariga qo'yiladi. Har bir Petri likopchasiga bittadan doiracha joylashtiriladi. Doirachalar joylashtirilgan Petri likopchalarga test mikrobo'sishi uchun yaroqli bo'lgan suyultirilgan agarli ozuqa quyiladi. Ozuqa

muhitini quyilganda uning sathi doirachadan 1 - 1,5 ml. past bo'lishi kerak. Petri likopchasidagi ozuqa muhit sirtidagi ortiqcha namlikni yo'qotish uchun likopchani to'ntarib, sterillangan termostatda 30 - 45 daqiqa qo'yiladi.



Antagonistik faollikni aniqlashning qog'oz disk usuli

Agarli doirachalarga bakteriologik sirtmoq bilan o'rganilayotgan antagonist ekiladi. Petri likopcha antagonist uchun qulay bo'lgan haroratda termostatga 1 - 2 kun saqlanadi. Mikrobyaxshi rivojlangandan keyin agarli qatlam radiuslari bo'ylab shtrix usulida test mikroby ekiladi. Petri likobchalarini yana termostatga 24 - 48 soatga qo'yiladi. Antibiotik ta'sir qilmagan o'rganilayotgan antagonist test mikroby doirachadan boshlab butun ekilgan chiziqlar bo'ylab rivojlanadi. Test mikrobyning antagonistli doirachada rivojlanmaganligi esa o'rganilayotgan mikrobyning ajratgan antibiotik moddasi ta'sir etish xususiyatiga ega. Test mikrobyning sterillangan shtrixli maydoni kattalashgan sari uning ajratilayotgan antibiotikka ta'siri sezilarli boladi.

ATAMALAR VA ULARNING IZOHLARI

Avtoklav - mikrobiologiya laboratoriyasida asboblarni va materiallarni yuqori haroratda bosim ostida suv bug'i bilan sterillashga mo'ljallangan apparat.

Avtotrof oziqlanish - quyosh energiyasidan foydalanib, xlorofil donachasiga ega organizmlarni atmosferadagi CO_2 gazi va suvni fotosintez yordamida o'zlashtirib, organik modda hosil qilishdir.

Agar-agar - dengiz suv o'tlaridan olinadigan mikroorganizmlarni o'stirish uchun qattiq ozuqa muhit tayyorlashda ishlatiladi. Murakkab tarkibli polisaxaridlar aralashmasi.

Azotobakterin - erkin holda yashovchi azotobakteriyalar (*Azotobacter chroococcum*) asosida olinadigan bioo'g'itlar.

Azotofiksatsiya - havodagi molekulyar azotning mikroorganizmlar tomonidan o'zlashtirilishi.

Aktinomitsetlar - prokariot mikroorganizmlarga kiruvchi "nursimon" zamburug'lar deb nomlangan mikroorganizmlarning katta guruhi.

Ammonifikatsiya - oqsillar va azotli organik birikmalarni mikroorganizmlar tomonidan NH_3 gacha parchalanishi. Bunda NH_3 dan tashqari H_2S va indol ham hosil bo'ladi.

Amfitrixlar - tanasining ikki uchida bir tutamdan xivchinlarga ega bakteriyalar.

Anaeroblar - kislorodsiz muhitda yashovchi mikroorganizmlar. Anaeroblar o'zi uchun kislorodni organik moddalarni parchalash orqali oladi.

Antibiotik - mikroorganizmlar tomonidan ajratiladigan, mikroorganizmlarga tanlab ta'sir etuvchi o'ziga xos kimyoviy moddalar.

Antagonist - tabiatda yoki laboratoriya sharoitida bir mikroorganizm ikkinchisining o'sishini butunlay to'xtatadi. Bu hodisadan o'simlik kasalliklariga qarshi biologik kurash chorasini ishlab chiqishda foydalaniladi.

Askomitsetlar - xaltali zamburug'lar sinfi bo'lib, eukariot organizmlar hisoblanadi. Ular zamburug'larning 45% dan ortiq

turlarini o'ziga biriktiradi. Askomitsetlarning sporalari askosporalar deb nomlanib, maxsus xaltalar ichida hosil bo'ladi. O'simliklarda un, shudring kasalliklarini keltirib chiqaruvchi zamburug'lar tipik misol bo'la oladi.

Aspiggellar - takomillashmagan zamburug'larning katta bir turkumi. Ular, asosan, saprofit holda hayot kechiradi, kam hollarda parazit hisoblanadi.

Achitqi zamburug'lar - askomitsetlar sinfiga kiruvchi achitqi zamburug'lari (*Saccharomyces carlsbergi*, *S. cerevisiae*).

Aeroblar - havodagi molekulyar azotga muhtoj bo'lgan mikroorganizmlar.

Bazidiomitsetlar - zamburug'lar sinfiga mansub mikroorganizmlar guruhi. Bular o'simliklarda qorakuya, zang kasalliklarini hamda iste'mol qilinadigan (shampinon, veshenka, shitake) zamburug'larni o'z ichiga olgan sinf.

Bakterial o'g'it - tarkibida organik birikmalarni parchalab, o'simlik o'zlashtira oladigan darajada mineral moddalarni hosil qiluvchi mikroorganizmlardan iborat bo'lgan tuproqqa solinadigan preparat.

Bakterial filtr - "sovuq" sterilizatsiyada qo'llanilib, suyuqliklar (ozuqa muhitlar) va boshqa yuqori haroratga chidamsiz mahsulotlarni mikroorganizmlardan tozalashda ishlatiladi. Filtrlovchi sifatida keramika, asbest plastinka yoki maxsus membranalaridan foydalaniladi. Bu filtrlardan faqat viruslar o'tib ketadi.

Bakteriofaglar - bakteriya hujayrasida parazitlik qiluvchi viruslar.

Bakteritsid lampa - ultrabinafsha nurlar tarqatib, mikroorganizmlarni yo'q qilish xususiyatiga ega bo'lgan lampa. Bu lampa inert gaz, simob yoki kadmiy bilan to'ldirilgan bo'ladi.

Batsillalar - shakli tayoqchasimon spora hosil qiluvchi bakteriyalar.

Bijg'ish - anaerob metabolit jarayon bo'lib, organik birikma, ya'ni uglevodlarning mikroorganizmlar tomonidan kichik molekulali organik birikmalarga (spirt, sut kislota, sirka kislota, atseton va boshqalar) parchalanishi.

Bioreaktor - mikroorganizmlarni suyuq ozuqa muhitlarida o'stirishda foydalaniladigan, hujayralar biomassasini olishda ishlatiladigan mikroiklimi boshqariluvchi apparat.

Biota - o'simlik, hayvon va mikroorganizmlar yashaydigan muhit. Biotsenozdan farq qilib, turlarni o'zaro bir-biri bilan ekologik bog'liqliqligi kuzatilmaydi.

Biotexnologiya - tirik organizmlar hujayralarida kechayotgan hayotiy jarayonlardan foydalanib, inson ehtiyoji uchun sanoat miqyosida mahsulotlar olish texnologiyalari majmuasi.

Bifidobakteriyalar - uglevodlarni geterofermentlar yordamida parchalab sut kislotali bijg'ish yuzaga keltiruvchi bakteriyalar. Bu bakteriyalar chaqaloqlar va sut emizuvchilar bolalarining oshqozon-ichak tizimidagi kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlarni yo'qotadi.

Botulizm - *Clostridium botulinum* bakteriyasining anaerob sharoitda oziq-ovqat mahsulotlarida rivojlanib, hosil qilgan toksinlari ta'sirida insonlarning zaharlanishi.

Vaksina - odam va hayvonning immunitetini oshirish uchun qo'llaniladigan mikroorganizmlardan olinadigan preparat.

Vibrionlar - shakli vergulsimon bo'lgan bakteriyalar.

Vilt - o'simlikni o'tkazuvchi to'qima naylarining zararlanib, so'lishning yuzaga kelishi. Bunga g'o'zaning vertitsellyoz so'lish kasalligini misol qilish mumkin.

Virus - hujayrasiz organizmlar bo'lib, DNK yoki RNK dan tashkil topgan bo'ladi. Ular faqat tirik hujayrada ko'payadi va rivojlanadi.

Geterotroflar - o'zi mustaqil ravishda organik modda hosil qilmay, tayyor organik moddalar bilan oziqlanuvchi mikroorganizmlar guruhi.

Giflar - zamburug' va aktinomitsetlarning ipsimon tuzilishdagi vegetativ tanasi. Giflar to'plami mitseliy deb ataladi.

GPQ - go'sht-pepton qaynatmasi, mikroorganizmlarni o'stirish uchun qo'llaniladigan ozuqa muhiti, tarkibida 0,5% NaCl va 1% pepton saqlaydi.

Gramm usulida bo'yash - quritilgan va fiksatsiya qilingan mazokka gension-violet bo'yog'idan quyilib, 1 - 2 daqiqa saqlanadi. So'ngra bo'yoq suv bilan yuvib tashlanadi va mazokka Lyugol eritmasi

tomiziladi, keyin birpas o'tgandan so'ng yuvib tashlanadi va unga fuksin tomiziladi. 3 - 4 daqiqadan so'ng fuksin yuvib tashlanadi va quritilgach, ustiga bir tomchi immersion moy tomizilib mikroskopda ko'riladi. Gramm usulida bo'yash bakteriyalarning turini aniqlash uchun asosiy belgi bo'lib hisoblanadi. Bakteriyalar Gramm usulida bo'yalish-bo'yalmasligiga qarab ikki guruhga bo'linadi: 1) Gramm usulida musbat bo'yaluvchi (gramm-musbat) va 2) Gramm usulida manfiy bo'yaluvchi (gramm-manfiy) bakteriyalar.

Dalton (Da) - virus va hujayra strukturasining (ribosoma, xromosoma, mitoxondriya va boshqalar) atom massasini o'lchov birligi. U uglerod atom massasining 12 dan 1 qismiga teng.

Dezinfeksiya - o'simlik, hayvon va odamlarda kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlarni kimyoviy moddalar vositasida yo'q qilish.

Denaturat - denaturat spirti. Tarkibida bo'yovchi va yoqimsiz hid tarqatuvchi moddalar bo'lgan oziq-oqat mahsuloti sifatida ishlatib bo'lmaydigan etil spirti. Bu spirt lak ishlab chiqarishda va yoqilg'i sifatida ishlatiladi.

Denitrifikatsiya - mikroorganizmlar vositasida nitrat kislotaning qaytarilib, nitrit kislota va erkin azot hosil bo'lishi, demakdir.

Deratizatsiya - qishloq xo'jaligida zarar yetkazadigan issiqqonli sichqonsimon kemiruvchilarga qarshi kurash.

Dezinseksiya - zararkunanda hasharotlarni (burgalar, suvaraklar, qandalalar) pestitsidlar yordamida yo'qotish.

Diplokokk - ikkitadan bo'lib turadigan sharsimon bakteriyalar.

DNK - dezoksiribonuklein kislota. Tarkibida uglevod komponentini saqlagan dezoksiriboza va azotli asosga ega nuklein kislotalar.

Jelatin - kollagen oqsillar denaturatsiyasi mahsuloti. Mikrobiologiyada qattiq ozuqa tayyorlashda, 10 - 15% miqdorda solinib ozuqa qotiriladi. Bunday ozuqa muhitlar 23°C da qotadi 25 - 30°C da eriydi.

Zamburug'lar - o'ziga 250000 dan ortiq turni o'ziga biriktirgan eukariotlarning katta guruhi. Ular dunyo (Kingdom) sifatida ajratilib (Fungi, Mycota), quyidagi sinflarga bo'linadi: xitridiomitsetlar,

oomitsetlar, zigomitsetlar, askomitsetlar, bazidiomitsetlar va takomillashgan zamburug'lar yoki deysteromitsetlar.

Zigogamiya - ayrim zamburug'lar (Zigomisetlar) va suvo'tlarning jinsiy ko'payishidir. Morfologik bir xil, jinsiy jihatdan turlicha bo'lgan mitseliylarning qo'shilishidan zigospora paydo bo'ladi.

Zigomitsetlar - zamburug'larning sinfi bo'lib, bir hujayrali ko'p yadroli mitseliyga ega, keng tarqalgan turkumlariga Mucor, Rhizopus lar kiradi.

Identifikasiya - mikroorganizmlarning morfologik, kultural, biokimyoviy va boshqa xususiyatlariga qarab, taksonomik o'rnini yoki tur tarkibini aniqlash.

Immersion moy - yorug'lik sindirishi shishaga yaqin ($n=1,5$) bo'lgan kedr moyi. Mikroskopda mikroorganizmlarni ko'rishda ishlatiladi.

Immunitet - kasallikka chalinmaslik, organizmning bir butunligini himoya qilish xususiyati.

Inkubatsiya - ma'lum vaqt oralig'ida mikroorganizmlar kulturasining maxsus muhitda (harorat, kislorod va boshqalar ta'sirida) o'sishi.

Inokulyat - ekish materiali. Yangi mikroorganizm kulturalarini olish uchun ozuqa muhitiga ekishda foydalaniladigan suspenziya.

Inokulyatsiya - ma'lum bir mikroorganizm bilan o'simlik yoki hayvonni zararlash.

Ichak tayoqchasi - Escherichia coli - enterobakteriyalar oilasiga kiruvchi, grammanfiy bakteriya. Bular, asosan, sut emizuvchilar ichagida tarqalgan bo'lib, glyukoza, laktoza va boshqa uglevodlarni bijg'itadi, me'yoridan oshsa kasallik qo'zg'atadi. Biotexnologiyada interferon, insulin va boshqa fermentlar olishda foydalaniladi.

Kapsid - virusning oqsil qobig'i.

Klon - jinssiz ko'paytirish orqali bitta hujayradan olingan, irsiy jihatdan bir xil mikroorganizm kulturasini.

Kokk - hujayrasi sharsimon bakteriyalar.

Kolitr, koli-indeks - ichak tayoqchasining litr suvdagi yoki qattiq substratdagi hujayralarining miqdori. Suv yoki oqava suvlarning ifloslanish darajasini belgilovchi ko'rsatkich. Bizdagi ichimlik suvining koli-indeksi 3 dan, koli titri - 300 dan yuqori bo'lmasligi kerak.

Laktobatsillalar - sut kislotali bakteriyalar turkumi, tayoqchasimon, grammusbat, spora hosil qilmaydigan, harakatsiz. Gomo yoki geterofermentativ sut kislotali bijg'ishni yuzaga keltiradi.

Laminar boks - mikrobdan xoli muhitni hosil qiladigan qurilma. Steril sharoitda biologik obyektlar bilan ishlashda foydalaniladi.

Lizis - hujayralarning yemirilishi yoki erib yo'q bo'lishi, mikroorganizmlar ferment yoki boshqa moddalar ta'sirida shu holatga keladi.

Liofilizatsiya - tarkibida namligi bo'lgan mahsulotlarni yoki mikroorganizmlar kulturalarini vakuum ostida past haroratda quritish.

Lofotirixlar - hujayrasining bir uchida bir qancha xivchinlarga ega bakteriyalar.

Lyugolya eritmasi - 300 ml distillangan suvda bir gramm yod va 2 - 5 gr kaliy yodi bo'lgan bo'yovchi modda. Bakteriyalarni Gramm usulida bo'yashda, mikroorganizm hujayralaridagi zaxira moddalarni (kraxmal, glikogen) aniqlashda foydalaniladi.

Mezofill mikroorganizmlar - 25 - 30°C haroratda yaxshi rivojlanadigan mikroorganizmlar, ular uchun minimal harorat 0 - 10°C, optimal harorat 25 - 30°C, maksimal harorat - 40 - 45°C bo'lib, bularga ko'pgina tuproq va suv mikroorganizmlari kiradi.

Metabioz - mikroorganizmlarning bir-biriga munosobati bo'lib, bunda bir mikroorganizm ikkinchisi uchun mahsulot tayyorlab beradi. Masalan, nitrifikatorlar.

Mikoplazmalar - prokariot organizmlar bo'lib, hujayra qobig'iga ega bo'lmagan tarkibida DNK hamda RNK saqlaydigan mikroorganizmlardir. Viruslardan farq qilib mikoplazmalar sun'iy ozuqa muhitlarda o'sa oladi.

Mikoriza - yuksak o'simlik ildizi bilan zamburug' o'rtasidagi simbioz. Mikorizalarni ko'pgina Zigomisetlar, Askomisetlar va Bazidiomisetlar hosil qiladi.

Mikrobiologiya - mikroorganizmlar to'g'risidagi fan. Birinchi bo'lib mikroorganizmlarga A.Levenjuk (1683-yil) ta'rif bergan, fan sifatida esa mikrobiologiya XIX asrning ikkinchi yarmida L.Paster tashabbusi bilan vujudga keldi.

Mikrobiota (mikroflora) - ma'lum bir biotsenozda tarqalgan turli mikroorganizmlarning majmui.

Mikrokokklar - sharsimon shaklga ega, grammusbat bakteriyalar.

Mikroskop - oddiy ko'z bilan ko'rib bo'lmaydigan obyektlarni kattalashtirib beruvchi optik pribor. Mikrobiologiyada yorug'lik va elektron mikroskoplar keng ishlatiladi.

Mitseliy - zamburug'lar va aktinomitsetlarning vegetativ tanasi bo'lib, giflardan tashkil topgan.

Moy kislotali bijg'ish - *Clostridium* turkumiga mansub bo'lgan bakteriyalar ta'sirida uglevodlarning (kraxmal, dekstrin, pektin va boshqalarni) parchalanib, moy kislotasi, atseton, butanol va boshqa kichik molekulali organik birikmalar hosil bo'lishi.

Monotrix - tanasida bitta xivchini bo'lgan bakteriya.

Mutatsiya - genomning birorta belgisining o'zgarishiga va ularning avlodlarda saqlanishiga olib keluvchi spontan yoki indusirlangan o'zgarish.

Mutagenlar - organizmlar mutatsiyasiga olib keluvchi kimyoviy moddalar yoki nurlar (UB, rentgen, gamma nur).

Nanometr - uzunlik o'lchov birligi, 1 nanometr (nm) = 10 angstrom (A), 1000 nm = 1 mikrometr (mikron, mkm), 1000 mkm = 1 mm.

Nitragin - tugunak bakteriyalarni (*Rhizobium*) tirik hujayralaridan iborat bioo'g'it-preparat. Dukkakdosh o'simliklar urug'lariga ekishdan oldin ishlov berib qo'llaniladi. Bioo'g'itning ta'siri azotfiksatsiyaga asoslangan, ya'ni ular dukkakdosh o'simliklar bilan simbioz holda yashab havodagi erkin azotni fiksatsiya qiladi.

Nitrifikatsiya - tuproq, go'ng, suvda organik moddalar parchalanishidan hosil bo'lgan ammiakning oksidlanib, aerob sharoitda nitrit va keyin nitratlarga aylanish jarayonidir. Nitrifikatsiya ikki bosqichdan iborat bo'lib, 1 bosqichda Nitrosomonas, Nitrosospira, 2-bosqichda esa Nitrobacter, Nitrospira lar turkumi turlari ishtirok etadi.

Oomitsetlar - *Oomycota* bo'limiga kiruvchi zamburug'lar guruhi bo'lib, jinssiz ko'payishi ikkita xivchinli, harakatchan zoosporalar yordamida boradi. Jinsiy ko'payishi - oogamiya, bunda onalik

(oogoniy) va otalik (anteridiy) gametangiylarining tarkibi qo'shiladi va oospora deb ataladigan tinim davri zigotasi hosil bo'ladi.

Passaj - mikroorganizm kulturasini yangi ozuqa muhitiga qayta ekish.

Pasterizatsiya - suyuq muhitlar, ozuqa mahsulotlarini 70 - 100°C oralig'idagi haroratda 15 - 30 daqiqa sterillash. Sut, pivo, vino mahsulotlariga ishlov berishda qo'llaniladi.

Penitsillin - zamburug'lardan olinadigan antibiotik 1929-yilda A.Fleming tomonidan aniqlangan. Molekulasi - 6-aminopenisillan kislotasi. Grammusbat bakteriyalarga nisbatan yuqori antimikrob ta'sirga ega. Kam zaharli antibiotiklardan bo'lib, hozirgacha tibbiyot amaliyotida qo'llaniladi.

Pepton - oqsillar chala gidrolizi mahsuloti bo'lib, tarkibiga aminokislotalar, dipeptidlar ham suvda eruvchan polipeptidlar kiradi. Mikrobiologiya amaliyotida mikroorganizmlarni o'stirish uchun ozuqa muhitlari tayyorlashda ishlatiladi.

Peritrixlar - hujayrasi yuzasida ko'plab xivchinlari bo'lgan bakteriyalar.

Psixrofill mikroorganizmlar - sovuqsevar mikroorganizmlar bo'lib, +25°C dan yuqori haroratda rivojlanishdan to'xtaydi, lekin 0°C va undan past haroratda ham rivojlana oladi. Rivojlanishi uchun minimal harorat - 0°C, optimal - +10°C hisoblanadi.

Rizosfera mikroorganizmlari - o'simlik ildiziga yaqin joylashib rivojlanadigan mikroorganizmlar. Ildiz atrofiga va ildizda rivojlangan rizosfera mikroorganizmlarining miqdori tuproq mikroorganizmlariga nisbatan bir necha marta ko'p bo'ladi. Rizosfera mikrobiotasi tuproq, turiga o'simlik turi va yoshiga bog'liq bo'ladi.

Rikketsiyalar - viruslar va bakteriyalar oralig'idagi mikroorganizmlar guruhi bo'lib, amerikalik mikrobiolog X.T.Rikkets sharafiga nomlangan. Hujayralari pleomorf sharsimon yoki tayoqchasimon (0,2 - 0,6 x 0,4 - 2,0 mkm), harakatsiz, grammanfiy, spora hosil qilmaydi, binar bo'linishi hisobiga ko'payadi. Bo'g'imoyoqlilar va sut emizuvchilarning hujayrasini obligat paraziti hisoblanadi.

Saprotroflar - o'lik organik birikmalarni mineral moddalarga aylantirib oziqlanuvchi mikroorganizmlar. Ular tabiatda moddalarning aylanishida asosiy zanjir hisoblanadi.

Saprofitlar - o'simlik va hayvon qoldiqlari bilan oziqlanuvchi, noorganik moddalar hosil qiluvchi organizmlar.

Sarsinalar - to'p-to'p bo'lib kub shaklida joylashgan sharsimon bakteriyalar (odatda 8 yoki undan ortiq sharlardan iborat bo'ladi.).

Saxaromitsetlar (*Saccharomyces*) - askomisetlar sinfiga mansub achitqilar turkumi. Eukariot, oval yoki shar shaklida, 10 mkm uzunligacha, mitseliy hosil qilmaydi. Kurtaklanish yo'li bilan va askosporalar yordamida ko'payadi. 20 dan ortiq turi ma'lum. Madaniy shtammlaridan *S.cerevisiae* non, pivo pishirishda va boshqalarda keng qo'llaniladi.

Simbioz - organizmlarning bir-biri bilan hamkorlikda yashashi. Bu atama birinchi marta 1879-yilda De Bari tomonidan tavsiya etilgan. Simbioz munosabatni kommensalizm, parazitizm va mutualizm turlari bor.

Sinergizm - ikki va undan ortiq turdagi mikroorganizmlarning bir-biriga yordamlashuvi.

Sof kultura - faqat bir turga mansub mikroorganizm hujayralaridan iborat bo'lgan kultura.

Spirilla - grammanfiy bakteriyalar bo'lib, lotincha S harfi shakliga o'xshash 2 - 3 buramali tayoqchalar.

Spirosetalar - spiral yoki shtoporga o'xshash serburamali tayoqchalar.

Sirtli bijg'ish - bu jarayon anaerob sharoitda achitqi zamburug'lar va bakteriyalar tomonidan uglevodlarni parchalab etil spirti hosil bo'lishidir.

Sporangiy - zamburug'lar va o'simliklar sporalari yuzaga keladigan organ.

Streptokokklar - munchoqqa o'xshab tizilib joylashgan sharsimon hujayralardan iborat bakteriyalar.

Suv o'tlari - eukariot organizmlarning maxsus guruhi bo'lib, bir hujayralilari mikrobiologiyada maxsus guruh sifatida o'rganiladi. Bularga xlorella, xlamidomonada va boshqalar kiradi.

Sulema - simob xloridi, (HgCl_2) kuchli zahar. Sulemaning 1% li spirtidagi eritmasi antimikrob birikma sifatida urug'larni dorilashda, kiyim-kechak va choyshablarni dezinfeksiya qilishda ishlatiladi.

Sut kislotali bijg'ish - sut tarkibidagi qandni (laktozani) bakteriyalar yordamida bijg'itib sut kislota hosil qilish. Bu bakteriyalarga *Streptococcus lactis*, *Lactobasillus* sp. va boshqalar kiradi.

Taksonomiya - organizmlar klassifikatsiyasi va sistematikasining nazariyasi.

Termostat - issiqlikni bir xil holatda ushlab turadigan uskuna. Mikrobiologiya amaliyotida mikroorganizm kulturalarini o'stirishda optimal sharoit yaratish uchun foydalaniladi.

Termofill mikroorganizmlar - yuqori haroratli sharoitlarda rivojlanadigan mikroorganizmlar. Bu tabiatdagi issiq buloqlar, nam somon, go'ng, tuproqning ustki qatlamlarida yashaydi. Termofillar 4 guruhga bo'linadi. Termotolerant turlari 10 - 60°C gacha rivojlanib ular uchun optimal harorat 35 - 40°C, fakultativ turlari 20°C da ham yashay oladi, optimal harorat 50 - 65°C, obligat termofillar 70°C da rivojlanadi va 40°C dan past haroratda yashay olmaydi, ekstremal termofillar uchun 80 - 105°C optimal harorat bo'lib, 60°C dan past haroratda rivojlana olmaydi. 90°C dan ortiq haroratdagi qaynoq buloqlarda ham qayd etilgan.

Tindalizatsiya - qatorasiga 3 kun, kuniga bir marta 30 daqiqadan Kox apparatida 70 - 100°C haroratda qizdirish. Tindalizatsiyada sporalı mikroorganizmlar ham qirilib ketadi. Tindalizatsiya ingliz fizigi J.Tindal tomonidan yaratilgan.

Tion bakteriyalar - oltingugurt bakteriyalari bo'lib, ular o'zining rivojlanishi uchun oltingugurtni oksidlab, sulfat kislota hosil bo'lguncha sodir bo'ladigan jarayonlardan yaraladigan energiyani oladi.

Tugunak bakteriyalar - *Rhizobium*, *Brydarhizobium* kabi turkumlarni o'ziga biriktirgan, dukkakdosh o'simliklar ildizida simbioz holda yashovchi bakteriyalar guruhi. Ular molekulyar azotni o'zlashtirib, tuproqni azotga boyitadi.

Tur - genotipik bir xil bo'lgan, fenotip o'xshashligi yaqqol ko'zga tashlanadigan asosiy taksonomik birlik.

Faglar - bakteriyalarni zararlovchi viruslar.

Formalin - formaldegidning suvdagi eritmasi (odatda 37 - 40%) tarkibida 6 - 15 % metanol saqlaydi. Dezinfeksiyalovchi modda.

Fosfobakterin - tarkibida *Bacillus megaterium* var. *rhoshaticum* bakteriyalari kulturasini saqlangan bioo'g'it. Fosfobakterin fosforli birikmalarni parchalab, o'simlik tomonidan o'zlashtirilishiga yordam beradi.

Fuzarium (*Fusarium*) - anamorf mikroskopik zamburug'lar turkumi. Madaniy o'simliklarda kasalliklar keltirib chiqaradi.

Fungitsidlar - qishloq xo'jalik ekinlarida kasallik keltirib chiqaruvchi zamburug'larga qarshi qo'llaniladigan kimyoviy moddalar yoki biologik agentlar.

Xemosintez - bakteriyalar metabolizmi bo'lib, CO_2 ni o'zlashtirishga asoslangan. 1887-yilda S.N.Vinogradskiy tomonidan kashf etilgan. Masalan, nitrifikatorlar, tion bakteriyalari va boshqalar xemosintezni aerob sharoitda amalga oshiradi. Xemosintezni amalga oshiruvchi prokariotlar O_2 o'rniga oltingugurt birikmalarini ishlatishi mumkin.

Xemotrof oziqlanish - rivojlanish uchun (bakteriyalar) zarur bo'lgan energiyani ekzotermik kimyoviy reaksiya natijasida chiqqan issiqlikdan foydalanib o'zi uchun organik modda hosil qilishdir.

Xivchin - prokariot organizmlarni (bakteriyalar, suv o'tlari va sodd hayvonlar) harakatlantiruvchi organellalari.

Sianobakteriyalar yoki ko'k-yashil suv o'tlar - fototrof prokariot organizmlar guruhi. Bir va ko'p hujayrali, hujayralari tipik prokariotlarnikidek, yadrosi alohida devor bilan o'ralmagan. Sianobakteriyalar 5 ta tartibga: *Chlorococcales* va *Pleurocapsales* lar bir hujayrali, *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigonematales* lar ko'p hujayrali.

Shtamm - mikroorganizmlarning sof kulturas, bir turga mansub bo'lib, ayrim xususiyatlari bilan farqlanadigan mikroorganizmlar turi.

Endospora - batsillalar, klostridiylar vegetativ hujayralari ichida paydo bo'ladigan sporalar. Stress, tashqi ta'sir (yuqori harorat, qurg'oqchilik va boshqa)larga chidamli bo'ladi. Endosporlarning

hosil bo'lishi spora hosil qiluvchi bakteriyalarning tabiatda yashab qolishi uchun asosiy omil hisoblanadi.

Eukariotlar - yadrosi alohida qobiq bilan o'ralgan organizmlar. Eukariotlarga hamma yuksak o'simliklar, hayvonlar, suvo'tlari va zamburug'lar kiradi. Eukariot organizmlar Eucaryota kenja dunyosiga mansub.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Бељасова Н.А. Микробиология. -Минск: Выш. шк., 2012. -443 с.
2. Бурханова Х.К., Иногамова М. Микробиология ва вирусология асослари. Ўқув қўлланма. -Тошкент: 1983. -122 б.
3. Гариев Б.Г. Микробиология. Ўқув қўлланма. -Тошкент: Меҳнат, 1990. -212 б.
4. Давронов Қ., Хўжамшукуров Н. Умумий ва техник микробиология. Ўқув қўлланма. -Тошкент: 2005. -256 б.
5. Емцев В.Т. Мишустин Е.Н. Микробиология. Учебник для вузов. -Москва: Издательство Дрофа, 2005. -445 с.
6. Емцев В.Т. Мишустин Е.Н. Сельскохозяйственная микробиология. Прак. пособие. -Москва: Издательство Юрайт, 2019. -205 с.
7. Лысак В.В. Микробиология: учеб. пособие / В.В.Лысак. -Минск: БГУ, 2007. -345 с.
8. Прунтова О.В., Сахно О.Н. Лабораторный практикум по общей микробиологии. Владим. гос. ун-т. -Владимир: Издво ВлГУ, 2005. - 76 с.
9. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. -Изд. 2-е, -Москва: Колос, 1979. -216 с.
10. Тимощенко Л.В., Чубик М. В. Т417 Основы микробиологии и биотехнологии: учебное пособие / -Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2009. -194 с.
11. Uma Shankar Singh, Kiran Kapoor. Introductory microbiology. Oxford book company. Jaipur, India. Edition 2010. Printed at: Mehra offset press, Delhi. -P.316

MUNDARIJA

Mikrobiologiya laboratoriyasi va unda ishlash qoidalari	8
Mikroskop va uning tuzilishi.....	12
Preparatlarni tayyorlash va bo'yash usullari	23
mikroorganizmlar morfologiyasi	29
Sterillash usullari	40
Mikroorganizmlarni o'stirish uchun ozuqa muhitlari tayyorlash usullari.....	45
Mikroorganizmlarni ekish.....	51
Mikroorganizmlarning sof kulturasini ajratish va belgilarini o'rganish hamda ularning turlarini aniqlash	55
Suvdagi mikroorganizmlarning miqdorini	63
Havodagi mikroorganizmlarning miqdorini aniqlash	65
Tuproqdagi mikroorganizmlarning	68
Spirтли bijg'ish.....	71
Sut kislotali bijg'ish	75
Moy kislotali bijg'ish.....	77
Pektinli bijg'ish.....	79
Kletchatkali bijg'ish.....	80
Ammonifikatsiya jarayoni	82
Azotning tabiatda aylanish sxemasi.....	83
Nitrifikatsiya	84
Denitrifikatsiya	86
Azot to'plash.....	87
Tuganak bakteriyalari bilan tanishish	92
Lazarev ozuqasi	93

Oltingugurt va temir bakteriyalarini aniqlash.....	94
Liske ozuqa muhiti	98
Fosfor bakteriyalarini aniqlash.....	98
Rizosfera mikroorganizmlarini aniqlash	101
Epifit mikroorganizmlarni aniqlash	104
Mikroorganizmlarning antagonistik xususiyatlarini aniqlash	105
Atamalar va ularning izohlari.....	110
Foydalanilgan adabiyotlar.....	121

Zuparov M.A.

MIKROBIOLOGIYA

(laboratoriya mashg'ulotlari)

Toshkent

"Fan zargari" nashriyoti

2024

Muharrir

Tex. muharrir

Musahhih

Sahifalovchi

Mustafoev Sardor

Mamatvaliyev Muhammad

Valijon Pirmonov

Sirojiddinov Shahboz

Nashriyot litsenziyasi AI № 060006

00.00.2024-yilda bosishga ruxsat etildi.

Qog'oz bichimi 60x84 $\frac{1}{16}$, "Cambria" garnituras.

Shartli bosma tabog'i 5,03 Nashr bosma tabog'i 6,04.

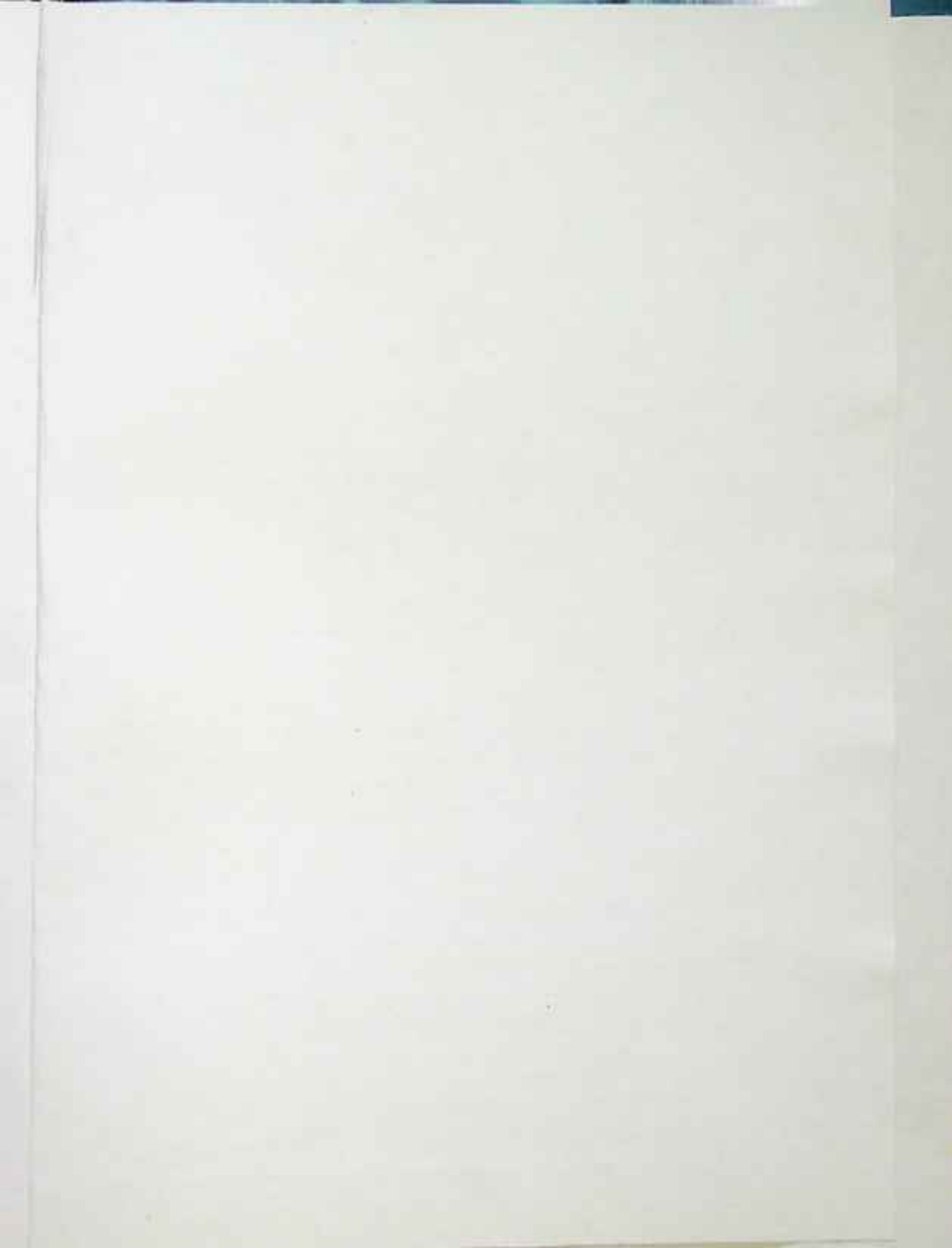
Adadi 50 nusxa.

Buyurtma raqami № 000. Bahosi shartnoma asosida.

100047, Bog'imaydon MFY, Yalang'och mavzesi 82-uy.

Tel: +998971467227

e-mail: Shohjahonyuldashboyev@gmail.com





ISBN 978-9910-9324-8-9



9 789910 932489