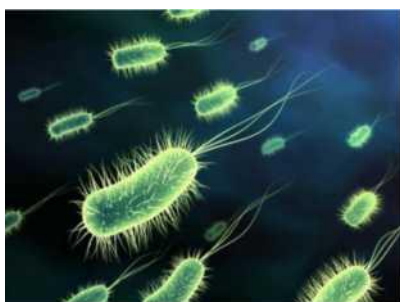


**O'ZBEKISTON OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM
VAZIRLIGI**

**TOSHKENT DAVLAT AGRAR UNIVERSITETI
TERMIZ FILIALI**

**MIKROBIOLOGIYA FANIDAN
LABORATORIYA
MASHG'ULOTLARI**
(o'quv qo'llanma)



TERMIZ – 2019-2020

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

Ushbu o'quv qo'llanma

5410300 - O'simliklar ximoyasi va karantini

5420100 - Qishloq xo'jaligida menejment

5411000 - Meva-sabzavotchilik va uzumchilik

5410400 - Qishloq xo'jaligi ekinlari seleksiyasi va urug'chiligi

5410200 - Agronomiya (dehqonchilik mahsulotlari bo'yicha)

5410500 - Qishloq xo'jaligi mahsulotlarini saqlash va dastlabki qayta ishlash texnologiyasi mutaxassisliklari uchun mo'ljallangan.

TUZUVCHI:

K.Nizamiddinov-O'simliklar himoyasi, agrokimyo va agrotuproqshunoslik kafedrasida assistenti

TAQRIZCHILAR:

N. Abduraximov-Tosh DAU Termiz filiali Agrobiologiya fakulteti dekani q.x.f.n

B.Aliyev - Meva sabzavotchilik uzumchilik va seleksiya kafedrasida katta o'qituvchisi.

KIRISH

Mikrobiologiya fani juda kichik o'lchamdagi va oddiy ko'z bilan ko'rish imkoniyati yo'q tirik organizmlar to'g'risidagi fandır. Aslida mikrobiologiya yunoncha so'z bo'lib, micros-kichkina, bios- hayot va logos-fan, ta'limot degan ma'noni bildiradi. Bu fan mikroorganizmlarning tuzilishini, ularning faoliyatini, yashash sharoitini, foydali va zararli tomonlarini o'rganadi.

Hozirgacha to'plangan ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, mikroorganizmlar dunyosi tabiatda keng tarqalgan bo'lib, ular turli tumandir. Mikroorganizmlarni faqat o'lchamlari tufayli bitta guruhga birlashtirilgan deb tushunish noto'g'ri, chunki ular turli sistematik guruhlarga mansub bo'lgan organizmlardir.

Mikroorganizmlar orasida hujayra tuzilishiga ega bo'lmagan virus va mikoplazmalar kabi faqat elektron mikroskopi orqali ko'rish mumkin bo'lganlari hamda tuzilishi jihatidan ancha murakkab bo'lgan zamburu'lar bor.

Mikrobiologiya fanidan laboratoriya mashg'ulotlarini o'tish uchun taqdim etilayotgan o'quv qo'llanma bakalavr talabalarini mikroorganizmlarning tashqi ko'rinishi, belgilari, ularning keltiradigan foyda yoki zarari bilan tanishtirish, laboratoriya mashg'ulotlarini qanday qilib bajarishni tushuntirib beradi. Talabalar laboratoriya mashg'uloti davomida mikroorganizmlarning kulturalari, preparatlar va asboblari bilan ishlashni o'rganadilar.

MIKROBIOLOGIYA LABORATORIYASI VA UNDA ISHLASH QOIDALARI

Mashg'ulotni o'tish tartibi: Mikrobiologik laboratoriyalarni tashkil etish va unda ishlash qoidalari 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 kerak. Xona devorlarini yerdan 170 sm balandlikgacha 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 sterilizasiya xonasiga, boks, idish yuvadigan xona, sovutkich va termostat qo'yiladigan, mikroorganizmlarning kulturalarini saqlaydigan xonalarga va hokazolarga ega bo'lishi kerak. Boks - mikroorganizmlarni ekadigan unchalik katta bo'lmagan xona bo'lib, u ikkiga ajratilgan bo'lishi zarur. Boksdagi asosiy ishlash xonasiga kichik xona, ya'ni tamburdagi suriladigan eshik orqali kiriladi. Bu holat eshik ochilganda tashqaridagi havo orqali mikroorganizmlarni to'g'ridan-to'g'ri kirib kelishini ma'lum darajada oldini oladi. Boks ichida ishchi va bakterisid 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'simliklarni o'sishi va rivojlanishi hamda qishloq xo'jalik mahsulotlarini qayta ishlash jarayonida ishtirok etuvchi mikroorganizmlar ustida olib borilsada, ularning orasida insonlarda kasallik qo'zg'atuvchi turlari ham bo'lishi mumkin. Shuning uchun laboratoriyada xodim va talabalar o'zlariga ayrim kasalliklarni yuqtirmasliklari 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 kerak.

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. Mikroorganizmlarni 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 lozim



Yorug'lik mikroskopi



Avtoklav



Quritish shkafi



Termostat



Sentrifuga



Suv hammomi



Laboratoriva shisha idishlar

Mikrobiologik laboratoriyalar tuman yoki viloyatlardagi o'simliklarni himoya qilish bo'limlarida, o'simliklarni himoya qilish va qishloq xo'jalik ekinlarining nav smash 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.

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'plami (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'minlangan bo'lishi shart. Kundalik ishlatish uchun laboratoriyada yetarli miqdorda oziqa 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 turiladi. Ko'p mikroorganizmlarning ko'payishi uchun qulay harorat 25-27°S hisoblanadi. Termostatlar quruq, havoli va suvli bo'ladi. Bulardan mikroorganizmlarni o'stirish uchun foydalaniladi.

Quritish shkafi (Paster pechi). Shisha, chinni va metaldan 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, oziqa muhitlarni, zardob va boshqa biologik jihatdan faol preparatlarni 4°S atrofida saqlash uchun foydalaniladi. Biopreparatlarni 0°S dan past haroratda saqlash uchun past haroratli sovutkichlardan foydalaniladi. Bularda harorat -20°S 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 tegiziladi 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 holda hamda uning alohida qismlari bilan tanishadilar. Talabalar mikrobiologik tadqiqotlar olib borishda mikroskopda ishlash texnikasini o'rganadi.

Kerakli asbob va reaktivlar: Mikroskop, turli ob'ektiv va okulyarlar, mikroorganizmlarning bo'yalgan mazoklari, immersion moy, doka salfetkalari, mikroorganizmlarning tasviri ko'rsatilgan jadvallar.

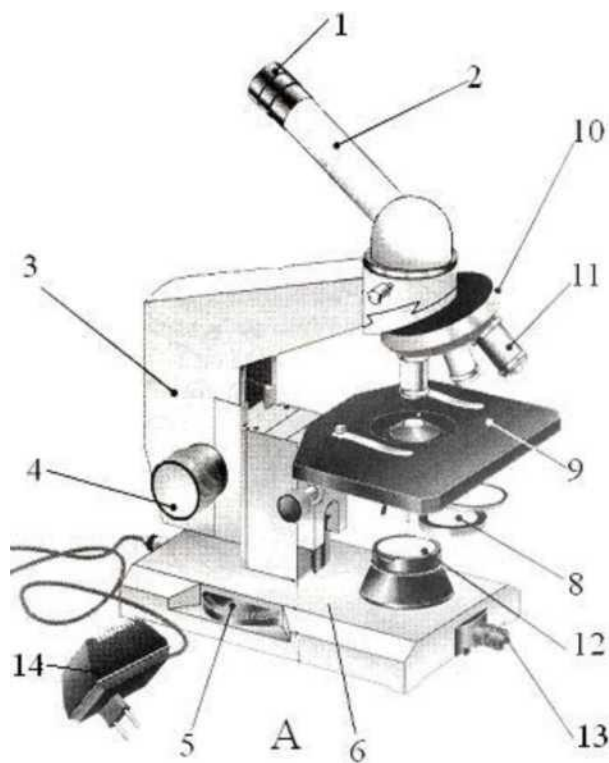
Mikroorganizmlarni kuzatish va tekshirish uchun mikroskoplarning bir necha turi (biologik, lyuminessent, elektron) dan foydalaniladi.

Biologik mikroskop. Mikrobiologik amaliyotda qo'llaniladigan yorug'lik mikroskoplari mikroorganizmlarning shakli, tuzilishi, o'lchami va boshqa belgilarini aniqlash va kattaligi 0,2-0,3 mkm dan kichik bo'lmagan mikroorganizmlarni ko'rish uchun mo'ljallangan. Immersion ob'ektivlar yordamida mikroskopda 0,2 mkm dan kichik bo'lgan ob'ektlarni ko'rish mumkin.

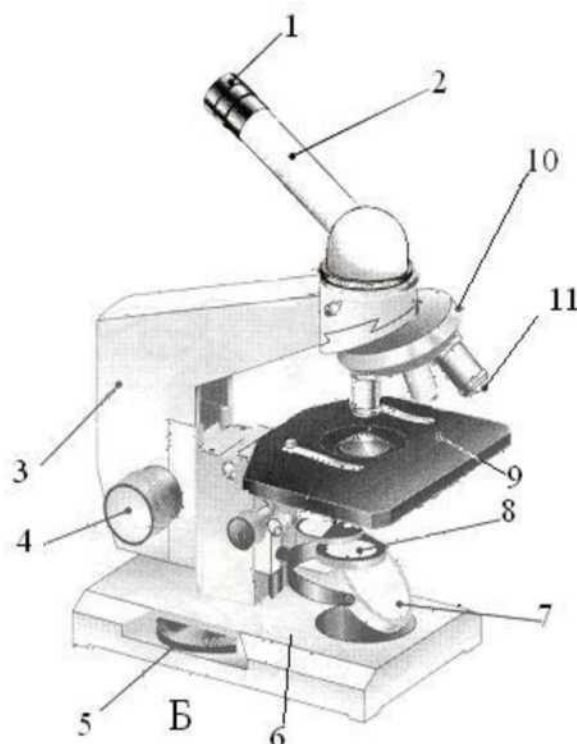
Biologik mikroskop ikkita asosiy qismdan iborat: mexanik va optik.

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

Optik qismiga - okulyar, ob'ektiv, 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-kondensator, iris diafragmasi va svetofiltr, 9-buyum stolchasi, 10- revolver uskunasini, 11-ob'ektiv, 12-kollektor linza korpusi, 13-lampa, 14- elektr toki manbai.

Mexanik qismi: *Shtativ* - mikroskopning asosiy qismi bo'lib, bunga *makrovint* va *mikrovint*, *tubus*, tubusning pastki qismiga o'rnatilgan *revolver* va boshqalardan iborat bo'ladi. 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 ob'ektivga qaragan, ikkinchisi esa asosiy linza bo'lib, ko'zga qaragan bo'ladi. Okulyarning necha marta katta qilib ko'rsatishi gardishida yozib qo'yilgan bo'ladi (7x, 10x, 15x). Bakteriyalar tekshirganda ko'pincha 15x belgisi qo'yilgan okulyardan foydalaniladi.

Ob'ektivlar: Ob'ektivning gardishida yozilgan 8, 40, 90, 120 raqamlari shu ob'ektivni necha marta katta qilib ko'rsatishini bildiradi. 8- ob'ektiv kamroq

katta qilib ko'rsatsa, 40- ob'ektiv o'rtacha, 90 va 120 immersion ob'ektiv juda katta qilib ko'rsatadi. Immersion ob'ektiv deyilishining sababi, bu ob'ektivdan foydalanilganda preparatga bir tomchi kedr moyi (immersion moy) tomiziladi va ob'ektiv linzasi shu moy tomchisiga botiriladi. Ob'ektiv 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, ob'ektiv shu joyga botib turadi, moyning nur sindirish koeffisienti buyum oynasining yorug'lik nur sindirish koeffisienti 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 ob'ektiv 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 ob'ektiv linzasiga kamroq nur boradi. Buyum oynasining yorug'lik sindirish koeffisientiga qaraganda ($n=1,32$) havoning yorug'lik sindirish koeffisienti ($n=1,0$) kamroq bo'ladi.

Ob'ektivlar ikki xil sistemada - quruq va immersion bo'ladi. Quruq sistemaga 8 va 40 ob'ektivlar kiradi, ular bilan ishlaganda immersion moy ishlatilmaydi. 8-ob'ektivdan foydalanilganda kondensator pastga tushiriladi, 40-ob'ektivda esa kondensator biroz ko'tariladi. Quruq ob'ektivda tirik mikroob ko'rilsa, immersion ob'ektivda o'lik yoki bo'yalgan mikroblar ko'riladi.

Mikroorganizmlarni necha marta kattalashtirilganini bilish uchun ob'ektiv va okulyarning ko'rsatkichlari bir-biriga ko'paytiriladi. Masalan, ob'ektiv 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 bo'ladi.

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. Kondensator linzalarninmurakkab 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 yanada ravshanroq parallel nurlar tutami chiqib, ob'ektiv linzasiga tushadi. Shu sababli ko'zgudan va yoritgichdan foydalanganda mikroskopning ko'ruv maydoni ko'zguning yolg'iz o'zidan foydalanishga qaraganda yaxshiroq yoritiladi.

Ob'ektlarni kamroq va o'rtacha katta qilib ko'rsatadigan ob'ektivlardan

foydalanganda yoritgichni tushirib qo'yish kerak, chunki bunday ob'ektivlarning 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 ob'ektivdan foydalanilganda yoritgich buyum stolning tomoniga tegiziladi, chunki immersion ob'ektiv 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 ob'ektiv bilan ishlaganda diafragmani butunlay ochib qo'yish kerak.

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 ob'ektlarni o'lchash uchun mo'ljallangan okulyar - mikrometr va ob'ekt-mikrometrlar;
6. Preparatlarni rasmini chizuvchi, rasm oladigan asbob. Bu asbob yordamida bir vaqtning o'zida ob'ekt va stoldagi mikroskopga yaqin turgan qog'oz tasvirini ko'rish va qog'ozga konturlarini chizish mumkin;
7. Yorug'lik manbai bilan mikroskop oraliq'iga o'rnatiluvchi va mikrofotografiyalarda, mikroskopiyaning maxsus usullarida qo'llanuvchi rangli, neytral, optik yorug'lik filtrlari;
8. Mikroskopik ob'ektlarning 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 aralashmasini 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 ob'ektlardan yorug'lik to'liqini o'tayotganda fazo o'zgarishlarining amplituda o'zgarishlariga aylanishiga asoslangan, buni ko'z bilan sezsa bo'ladi.

Fazo-kontrast moslama yordamida ob'ektdan o'tuvchi yorug'lik to'liqlarning fazoviy o'zgarishlarini amplitudali va shaffof ob'ektlarga 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 ob'ektning qora, negativ fazo-kontrast deb, qorong'ilikda ob'ektning 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 manbai ta'sir qilganda ularda yorug'lik tarqaladi. Bularga yorug'lik, elektron nurlari, ionlashtiruvchilar kiradi. Fotolyuminessenssiyada ob'ektning ta'sirida lyuminessensiya qilinishidir. Lyuminessensiya qisqa to'liqli nurlar yordamida hosil bo'ladi. Agar lyuminessensiya qilinadigan ob'ektga ko'k yorug'lik yuborilsa, u qizil, to'q sariq, sariq yoki yashil ranglarni tarqatadi. Natijada ob'ekt rangli ko'rinadi.

Birlamchi lyuminessensiya ob'ekt 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 ob'ektlar ko'riladi. Elektron mikroskop viruslar, mikoplazmalar, turli mikroorganizmlarning nozik tuzilishi, makromolekulyar birikmalari va boshqa submikroskopik ob'ektlarni o'rganish uchun qo'llaniladi. Bunday mikroskoplarda yorug'lik nurlarini elektron oqimlari egallaydi. Ushbu elektron oqimlarining to'liq uzunligi 0,005 nm bo'lib, deyarli ko'rinadigan yorug'lik to'liqlarining 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 asboblari bilan bir qatorda skanirlaydigan elektron mikroskoplardan ham foydalaniladi. Ular ob'ekt relifini 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 stolini qora rangda bo'yalishi ko'zni kamroq toliqishiga sababchi bo'ladi.

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

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 moddalarni ta'siridan (kislota va ishqorlardan) saqlash kerak. Okulyarni trubkadan chiqarib qo'yish mumkin emas, chunki bu holat ob'ektiv va trubkani chang bosishiga sababchi bo'ladi.

Immersion ob'ektiv bilan ishlash. Mikroskopning immersion ob'ektivi ($V=90x$; $A=1,25$) bilan ishlash vaqtida ko'zguni yassi tomoni qaratiladi va kondensator ko'tariladi.

Immersion suyuqlik (kedr moyi) preparat ustiga tomizilganda, uni buyum oynasiga surtib yuborilmaydi. Immersion suyuqlikka faqat immersion ob'ektivni botirish mumkin. Immersion suyuqlikka frontal linzani 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 kerak. Bu tayoqcha yordamida immersion moy preparat ustiga tomiziladi. Ish tugagandan so'ng ob'ektiv ksilol yoki tozalangan benzin bilan yaxshilab artiladi.



Yorug'lik mikroskopi
Leica - DM3000



Lyuminessent mikroskop
Mikromed 3 LYuM



Yorug'lik mikroskopi uchun okulyar va ob'ektivlar



Elektron mikroskop - Hitachi H-7650

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 ob'ektiv (90x) bilan ishlashda bu holat juda muhimdir. Preparatni Keler bo'yicha yoritish yoritgichlar yordamida amalga oshiriladi.

1. Yoritgich (past voltli lampochka) mikroskopdan 25-30 sm uzoqlikda krestovinaga o'rnatilgan holda qo'yiladi. Yoritgichning dala diafragmasi ochiq holatda bo'ladi. Mikroskopning 8x kattalikdagi ob'ektivi, 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. Yoritgichni dala diafragmasi berkitiladi. Mikroskop ko'zguniga bir varaq oq qog'oz yaqinlashtiriladi va qog'ozga (ko'zguda) yoritgichning spiralini yorqin aksi izlanadi.

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

Ob'ektlarni 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. Ob'ektlarni okulyar mikrometr-okulyar lineyklar orqali o'lchanadi. Bu mikrometr yumaloq, shishadan, yassi tuzilishiga ega bo'lib, uning markazida 5 mm dagi shkala 50 yoki 100 ga bo'lingan. Okulyarni linzasi burab olinib, unga okulyar mikrometr (shkalani bo'lingan tomonini tepaga qilib) qo'yiladi. Okulyar mikrometr shkalasining bir bo'lagining haqiqiy o'lchami ob'ektiv mikrometr orqali aniqlanadi. Ob'ektiv 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). Ob'ektiv mikrometr mikroskopning buyum stolchasida preparat

qo'yiladigan yerga joylashtiriladi va kichik ob'ektiv yordamida mikrometrdagi lineykasi topilib uning fokusi to'g'rilanadi. So'ngra lineyka ko'rish maydonchasining markaziga keltiriladi va shundan keyin o'lchash uchun zarur bo'lgan ob'ektivga almashtiriladi. Buyum stolini harakatlantirib va okulyarni aylantirgan holda ob'ektiv va okulyar mikrometrlarning lineyklaridagi chiziqchalarni parallel qilib, bir-birini ustiga tushiriladi. Ob'ektiv 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 ob'ektiv mikrometrning nechta bo'lak chizig'i to'g'ri kelishi aniqlanadi. Masalan, ob'ektiv 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 ob'ektni o'lchami uning hujayrasi okulyar mikrometrni bo'lagiga to'g'ri kelishini aniqlab va bu sonni okulyar mikrometrning bir bo'lagini 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 materialni yaqqol va yaxshi ko'rinadigan joyini topib, preparatni ob'ektivlarda (8, 40) ko'riladi.
4. Mikroskopning tubusi ko'tariladi va revolver yordamida immersion ob'ektiv (90, 120) o'rnatiladi.
5. Preparat ustiga tayoqchada bir tomchi immersion moyi tomiziladi, moyga immersion ob'ektiv tushiriladi. Mikroskopning ko'ruv maydonida ob'ekt (tekshiriladigan material) ko'rinadi. Bundan keyin mikrovint bilan fokus aniq to'g'rilanadi, natijada ravshan, aniq tasvir vujudga keladi. Ob'ektivni makrovintini juda sekin va avaylab tushirish kerak, aks holda ob'ektiv linzasi buyum stolchasiga taqalib, buzilib qoladi.
6. Immersion ob'ektiv ishlatilgandan so'ng uni artish uchun benzina ho'llangan paxta lattadan foydalaniladi.

PREPARATLARNI TAYYORLASH VA BO'YASH USULLARI

Mashg'ulotni o'tish tartibi: Ezilgan va osilgan tomchi usullaridan foydalanib preparat tayyorlanadi. Mikroorganizmlarning harakati aniqlanadi. Qattia va suyua oziya 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 eritmalari (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.

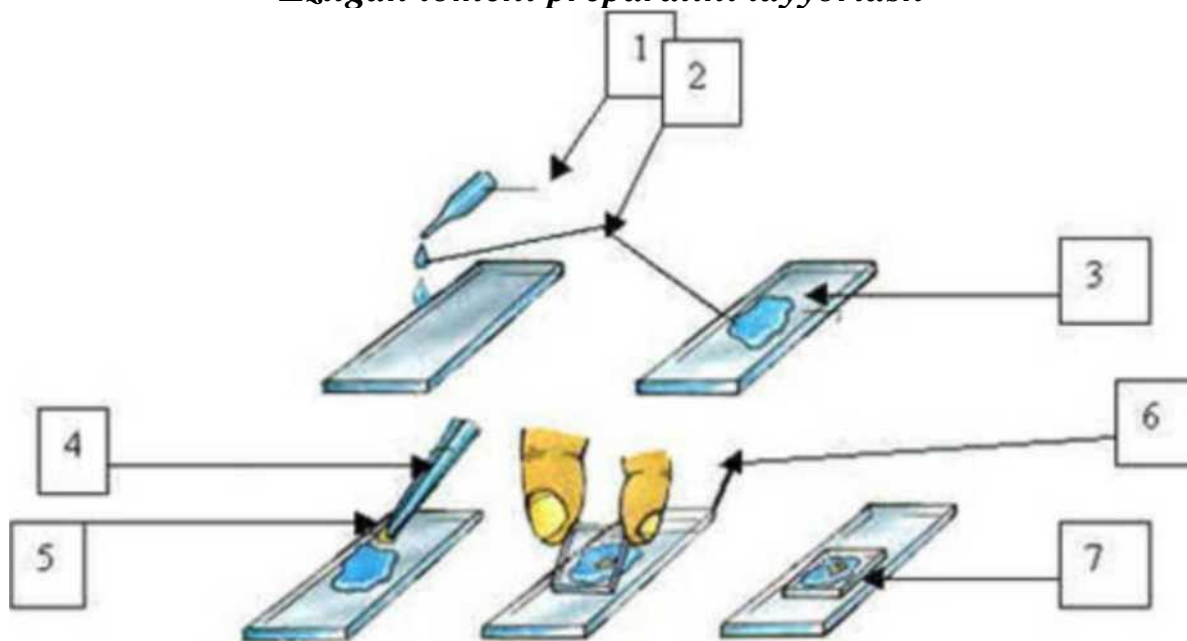
Mikroorganizmlarni buyum oynasiga surish uchun mikrobiologik sirtmoq kerak bo'ladi. Egilgan shisha tayoqcha (shpatel) tutqich va unga birlashtirilgan ingichka simdan iborat. Bu sim platinadan yoki qizdirilganda havo kislorodi bilan oksidlanmaydigan va tez qizib (cho'g' bo'lib) tez soviydigan boshqa biror 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 oyna; 7-tayyor mikropreparat.

Ezilgan va osilgan tomchi preparatlari bakteriyalarning harakatini tekshirishga imkon beradi.

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

Buyum oynasi etil spirti va oltingugurt efirini (1:1) aralashmasidan iborat suyuqlik bilan maydon 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 sm 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 fiksasiyalanadi. Hujayra shakli o'rganiladigan bo'lsa mazokni fiksasiyalash spirt lampasi alangasi ustida, agar hujayrani 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 fiksasiyalanganda xrom birikmalaridan, formalin, asetondan foydalaniladi.

Preparatni fiksasiyalashning keng tarqalgan usullaridan biri, uni 96% etil spirti va efirni (Nikiforov eritmasi) teng miqdordagi aralashmasi bilan ishlov berish hisoblanadi. Bunda preparat ma'lum vaqtga fiksasiyalovchi 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 fiksasiya qilinadi (qotiriladi), ya'ni spirt lampasi alangasiga uch marta tutib olinadi. Umuman preparatlarni fiksasiya qilish uchun spirt lampasi alangasi, spirt bilan efir va kislota bilan formalin aralashmalari ishlatiladi.

Surtmani bir necha daqiqa davomida eritmaga solib ham fiksasiya qilish mumkin. Surtma fiksasiya 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 karbolli 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 sporalarni 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 fiksasiya qilingan preparatlar faqat bir xil fuksin, metilin ko'ki, gensian violet kabi bo'yoqlar bilan bo'yaladi.

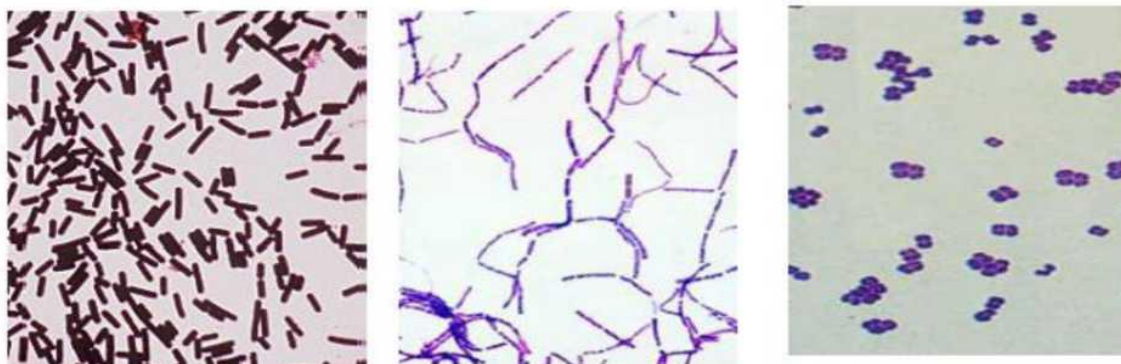
2. *Murakkab usul.* Bunda fiksasiya qilingan preparat bir necha xil bo'yoq bilan bo'yaladi. Masalan: bakteriyalarni Gramm va bakteriya sporalarni Sil-Nilsen usulida bo'yashlarni keltirish mumkin.

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.

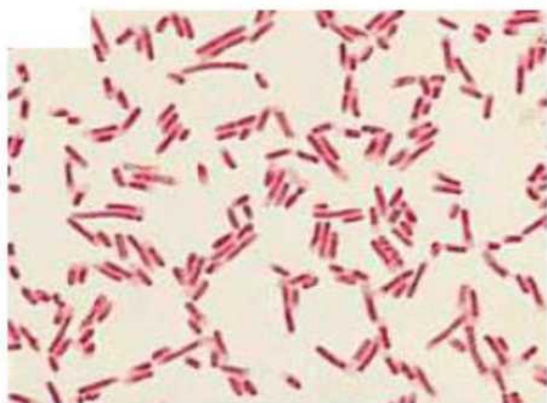
Gramm usulida bo'yash mikroorganizmlarning turini aniqlash uchun asosiy belgi bo'lib, u quyidagilardan iborat: Qurtilgan va fiksasiya qilingan mazokka gensian-violet bo'yog'idan quyilib, 1-2 daqiqa saqlanadi. So'ngra bo'yoq suv bilan yuvib tashlanadi va mazokka Lyugol eritmasi (Kj dagi j eritmasi) tomizilib, 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 ob'ektiv bilan qaraladi. Gramm-musbat usulida bo'yaladigan mikroorganizmlar protoplazmasida gensian-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 gensian-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.



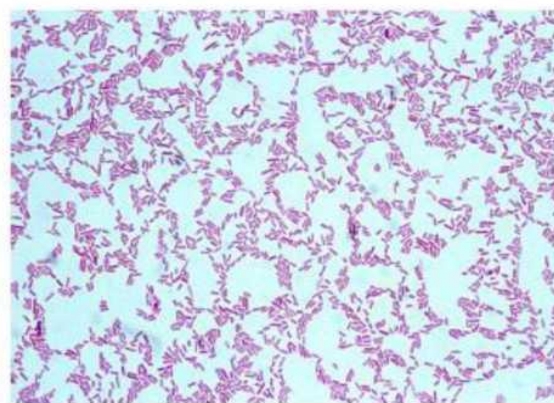
C

Grammusbat bakteriyalar

A – *Clostridium perfringens*; B - *Bacillus subtilis*; C - *Micrococcus luteus*



A



B

Grammanfiy bakteriyalar

A – *Escherichia coli*; B - *Pseudomonas aeruginosa*

Namuna uchun preparat tish g'uboridan tayyorlanadi. Bunda grammusbat 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. Sporalarning qobig'i va protoplazmasi hujayra protoplazmasiga nisbatan qiyinroq bo'yaladi, shu sababli sporalarni 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. Fiksasiya 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 kislotasi 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 basillalar 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 nurlarini 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 ob'ektiv 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 HUJAYRALARINING SHAKLLARI

Mikroorganizmlarga bakteriyalar, zamburug'lar, aktinomitsetlar, spiroxetalar, viruslar kiradi, shakliga qarab bir necha guruhlariga: sharsimon, tayoqchasimon, spiralsimonlarga bo'linadi.

Mikroblar orasida bakteriyalar tabiatda ko'p tarqalgan bo'ladi. Bakteriyalar xujayrasining tuzulishiga qarab bir necha xil shaklda bo'ladi. Bakteriyalar

xujayrasining kattaligi 0,2 mikrondan 70 - 100 mikrongacha bo'ladi. Tanasining eni esa 0,1 mikrondan 1 mikrongacha bo'ladi.

Sharsimon bakteriyalar yoki kokklar. Mikrokokklar - yakka-yakka bo'lib turadi; diplokokklar - ikkitadan bo'lib turadi; tetrakokklar - to'rttadan bo'lib turadi; streptokokklar - munchoqqa o'xshab tizilib turadi; sartsinalar -

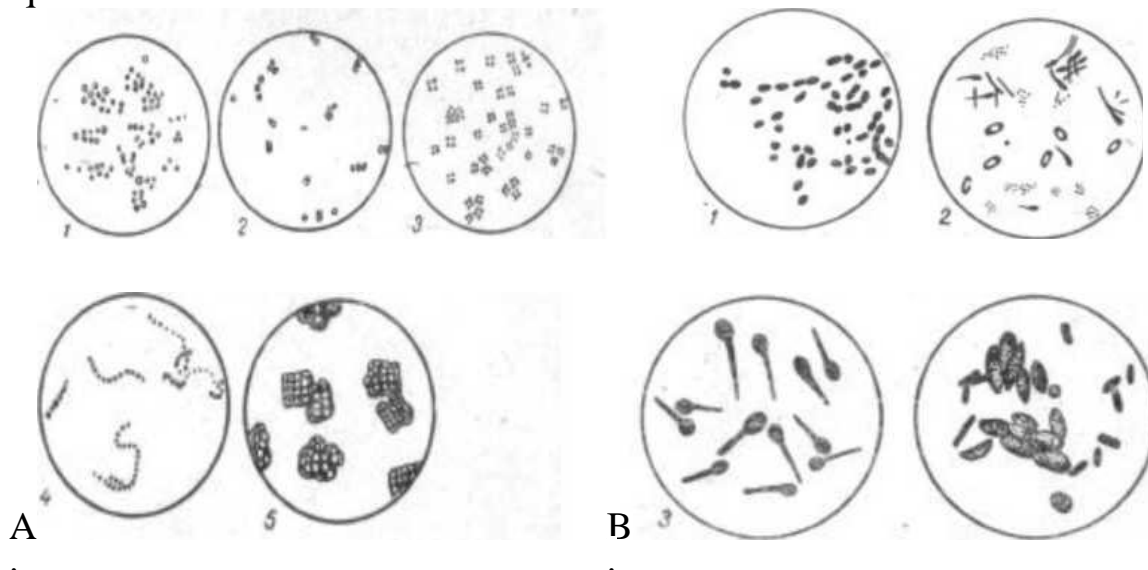
to'p-to'p bo'lib kub shaklida joylashgan bo'ladi.

Tayoqchasimon bakteriyalar: bakteriyalar - spora xosil qilmaydigan tayoqchalar; batsillalar - spora xosil qilmadigan tayoqchalar. Xar bir batsilla xujayrasida faqat bitta spora xosil bo'ladi. Aksari batsillalar spora xosil qilish paytida shaklini o'zgartirmaydi.

Bazi batsillalar spora xosil qilganda tayoqcha shakli o'zgaradi, chunki tayoqchanning spora xosil bo'lgan joi kengayadi. Agar spora tayoqchanning o'rtasida xosil bo'lsa, tayoqchanning o'rta qismi kengayib, limon yoki urchiq shakliga kiradi. Batsillalarning bunday shakli klostiridiy deyiladi.

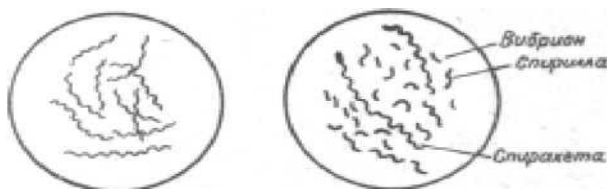
Spora tayoqchanning bir uchida xosil bo'lsa, tayoqcha faqat shu uchidan kengayib, baraban tayoqchasining shaklini oladi. Batsillaning bunday shakli plentridiy deb ataladi.

Buramali bakteriyalar: vibrionlar - vergulga o'xshash bir buramali tayoqchalar; spirillalar - lotincha S xarfiga o'xshaydigan, ikki-uch buramali tayoqchalar; spiroxetalar - spiral yoki shtoporga o'xshaydigan serburamali tayoqchalar

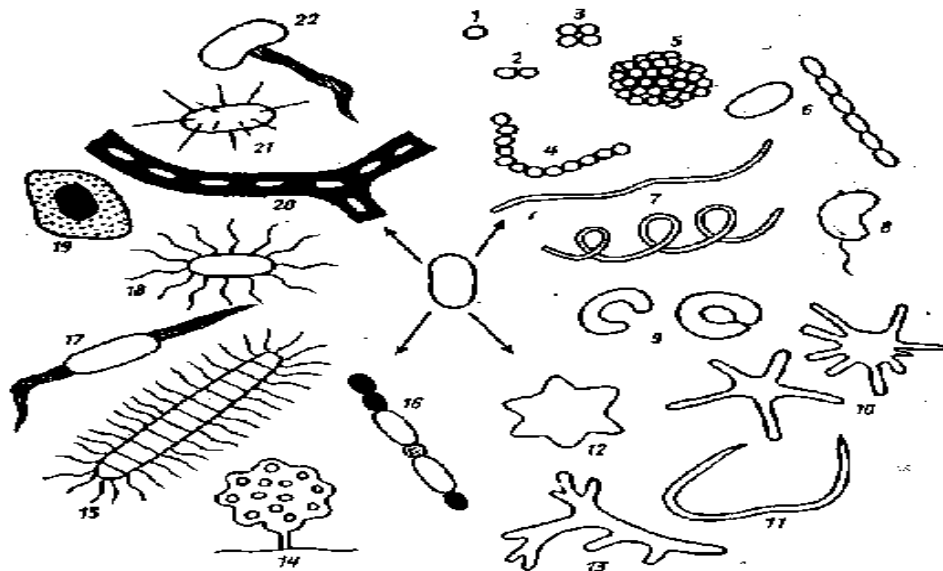


A. Sharsimon bakteriyalar (kokklar) 1. mikrokokklar 2. diplokokklar 3. tetrakokklar 4. streptokokklar 5. sarsinalar

B. Batsillalar 1,2. har birining markazida sporasi bor tayoqchalar, shakli o'zgarmagan 3. plentridiyalar (baraban tayoqchalari) 4. klostridiylar (urchuqsimon tayoqchalar)



Buramali bakteriyalar

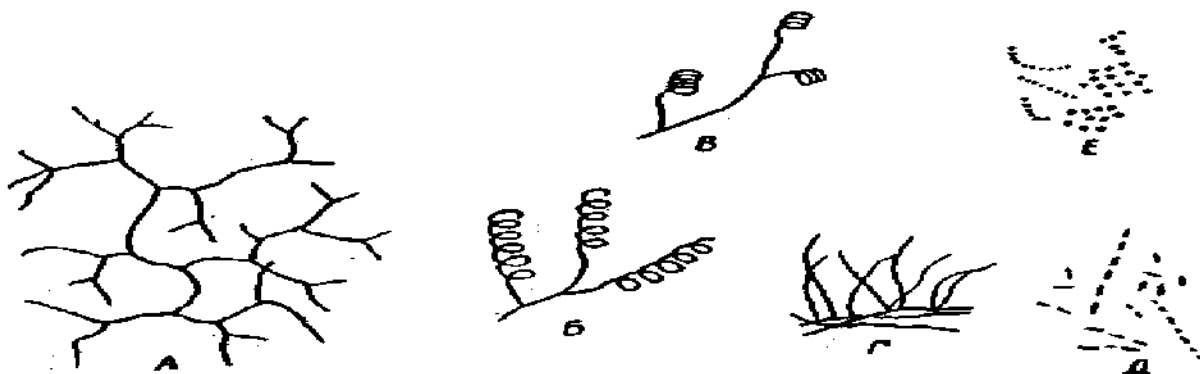


Prokariotlarning turli shaklli vakillari:

1 - kokk; 2 - diplokokk; 3 - sartsina; 4 - streptokokk; 5 - sferasimon bakteriyalarning koloniyasi; 6 - tayoqchasimon bakteriyalar (yakka hujayra, hujayralar zanjiri); 7 - spirillalar; 8 - vibriyon; 9 - yopiq va ochiq xalqa shaklidagi bakteriyalar; 10 - o'simta hosil qiluvchi bakteriyalar (prostekalar); 11-chuvalchangsimon bakteriyalar; 12 - oltiburchakli yulduz ko'rinishidagi bakteriyalar; 13 - aktinomitsitlar vakillari; 14- miksobakteriyalarning meva tanalari; 15 - lateral joylashgan xivchinli Caryophanon avlodining ipsimon shaklli bakteriyasi; 16 - Spora (akinetlar) geterotsistalar hosil qiluvchi ipsimon tsianobakteriyalar; 8, 15, 17, 18 - har xil tipda hivchin hosil qiluvchi bakteriyalar; 19 - kapsula hosil qiluvchi temir gidrat oksididan tuzilgan qobiqqa o'ralgan ipsimon Sphaerotilus guruxi; 21 - tikonlar hosil qiluvchi bakteriya; 22 - Gallionella sp

AKTINOMETSITLAR

Aktinometsidlarda juda ingichka ipsimon bir xujayrali mitseliy bor. Ularda chinakam yadro yo'q. Mitseliyning bir qismi substradga botib tursa, bir qismi substrat ustida joylashib, xavoli mitselliyni xosil qiladi. Aktinometsitlar xavoli mitseliy iplarining erkin uchlarida spora yoki konidiy xosil qilish yo'li bilan ko'payadi. Aktinometsitlar mitseliysi tuzulish jixatidan sodda mog'orlarga va ba'zi bir xususiyatlariga ko'ra bakteriyalarga xam o'xshaydi.



Aktinomitsitlar:

A — mitseliy; B, B - spiral sporabandlar; , Г. — to'g'ri cporabandlar
E — sharsimon sporalar; D. — silindrsimonlar sporalar

ZAMBURUG'LAR

Zamburug' va achitqilar tana tuzulishiga ko'ra bakteriyalardanfarq qiladi. Ular uch xil usulda ko'payadi. Vegetativ, jinsiy va jinssiz.

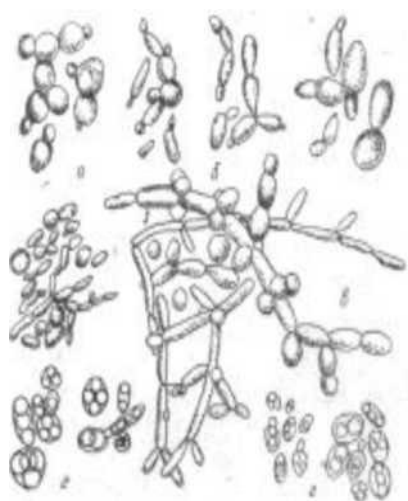
Bir xujayrali zamburug'lar. Achitqi zamburug'lari. Achitqilar xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Achitqi xujayralari dumaloq yoki cho'zinchoq, ba'zan cho'ziq bo'ladi. Achitqi xujayralarida xayvon kraxmali - glikogen to'planadi. Achitqi xujayralari bakteriyalardan yirikroq bo'lib, kurtaklanish yo'li bilan ko'payadi. O'zi uchun noqulay sharoitlarda sporali xaltalar xosil qiladi.

Bu sporali xaltalar qulay sharoit bo'lishi bilan unib, achitqi xujayralariga aylanadi va yana kurtaklanish yo'li bilan ko'paya boshlaydi.

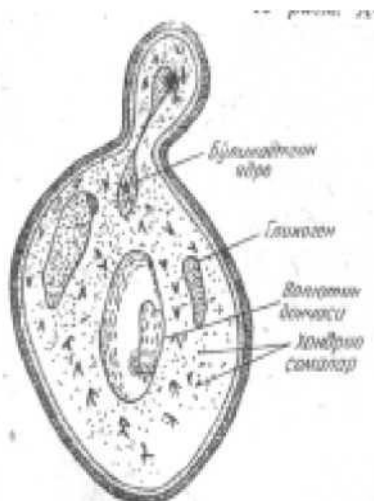
Mog'or zamburug'lari. Fikometsitlar sinfiga kiradi. Mog'or zamburug'larida yo'g'on bir xujayrali mitseliy bor. Ular jinsiy yo'l bilan ko'payganda zigosporalar xosil qiladi. Jinssiz ko'payganda endosporalar xosil qiladi. Sporangiy mitselliyning maxsus shoxchalarida vujudga keladi.

Ko'p xujayrali zamburug'lar. Ko'p xujayrali zamburug'larga aspergilsimonlar oilasi kiradi, bularda ko'p xujayrali mitseliy bor. Aspergilsimonlar oilasi xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi, jinsiy yo'l bilan ko'payganda sporali xaltalar xosil qiladi. Bu oila ikki avlodga bo'linadi: aspergil avlodiyoki leykasimonmog'or. Jinssiz ko'payganda sporalaryoki konidiylar xosil qiladi. Bular konidiyli shoxchalarda vujudga kelib, leyka shaklida joylashadi.

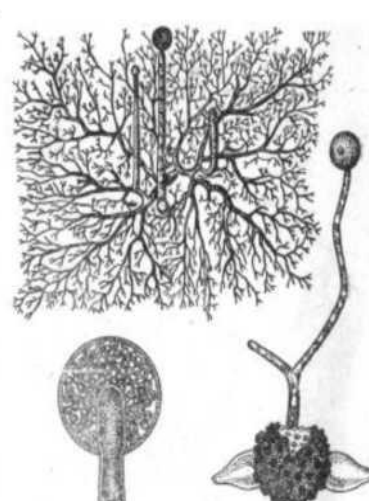
Penitsilla avlodi yoki shingilsimon mog'or. Jinssiz ko'payganda sporalari yoki konidiylar xosil qiladi, bular konidiyli shoxchalarda vujudga keladi va shingilga o'xshab joylashadi.



Achitqilar



Achitqi xujayrasining tuzilish



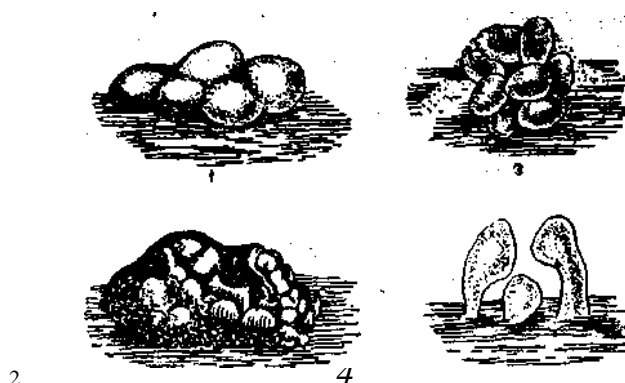
Mukor

MIKSOBAKTERIYALAR

Miksobakteriyalar tashqi ko'rinishidan bakteriya xujayralariga o'xshash bo'lib, tanasining uchi o'tkir va qayrilgandir. Miksobakteriyalar asosan tuproqda, go'ngda va o'simlik qoldiqlarida ko'p uchraydi. Miksobakteriyalar neytral muxitda yaxshi rivojlanadi. Ular 25° dan 30° issiq temperaturada yaxshi o'sadi. Miksobakteriyalarning kattaligi 1-2 mikrondan 10 mikrongacha bo'ladi. Miksobakteriyalar zamburug' va bakteriyalarga qaraganda kamroq tarqalgan bo'lsa xam ularga nisbatan antoginistik xususiyatga egadir.

Miksobakteriyalar o'simlik va xayvonot qoldiqlarini aktiv ravishda parchalaydi. Shuningdek, kletchatkani va xitin moddalarni xam parchalab, o'simliklar uchun oziq moddalarga aylantiradi.

Miksobakteriyalami A. A. Imshenetskiy mukammal tekshirgan



*Miksobakteriyalarning shilimshiq tanasi:
1 - poliantium; 2 - xandromitses; 3 - poliangium
fizkum; 4 - mikokkus*

MIKROORGANIZMLARNI EKISH USULLARI

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

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

Mikroorganizmlarni o'stirish uchun sterillangan oziqa muhitlari tayyorlanadi. Tarkibida mikroorganizmlar bo'lgan materialni (tuproq, suv, oziq-ovqat) sterillangan oziqa muhiti yuzasiga tushirish *ekish* deyiladi. O'stirilgan mikroorganizmlarni oziqa muhiti solingan bir probirka, kolba yoki Petri likobchasiga ekish *qayta ekish* deyiladi. Mikrobiologik sirtmoq

mikroorganizmlarni ekish uchun eng qulay asbob hisoblanadi. Bundan tashqari, sanchib ekish uchun maxsus mikrobiologik nina, Petri likobchasiga ekish uchun - metallardan yoki shishadan tayyorlangan shpatellar qo'llaniladi. Suyuq oziqa muhitlarga ekish uchun sirtmoqlar bilan bir qatorda turli xil pipetkalar ishlatiladi. Pipetkalarining ikkinchi, ya'ni keng tomoni paxta bilan berkitiladi, so'ngra ular maxsus idishga joylashtiriladi yoki qog'oz bilan o'ralib sterillanadi.

Mikroorganizmlarni oziqa muhitiga ekkanda havodan yoki tevarakatrofdagi narsalardan yot mikroblarning tushishiga yo'l qo'ymaslik uchun quyidagi ishlar amalga oshiriladi:

- Spirt lampasi yoqiladi;
- Chap qo'lga ikkita - birinchisi, unib chiqqan va qayta ekiladigan mikroorganizmlar, ikkinchisi, sterillangan oziqa muhiti solingan probirkalar olinadi. Mikroorganizmlar unib chiqqan probirkadan ikkinchi probirkaga mikroorganizmlar olib ekiladi. Probirkalar gorizontol ushlanadi.

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

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

- Ikkala probirkaning chetlari spirt lampasining alangasiga tutib qizdiriladi.

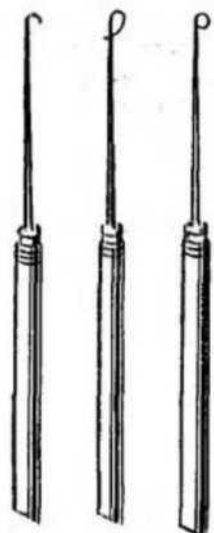
- Sirtmoq mikroorganizmli probirkaga tiqilib, avval mikroorganizmsiz joyiga tegiziladi, bundan maqsad, sirtmoqning haddan tashqari qizib ketmaganligini tekshirib ko'rishdir, so'ngra sirtmoq bilan mikroorganizmlar yoki mikroorganizmlar aralashgan suyuqlikdan bir oz olinadi, bunda sirtmoqni probirkaning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

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

- Sirtmoqning spirt lampasining alangasiga tutib qizarguncha qizdiriladi.

Anaerob mikroorganizmlarni ekish uchun ular zich oziqa 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 oziqa muhiti ustuncha shaklida qotgan probirkaning tagigacha sanchiladi.

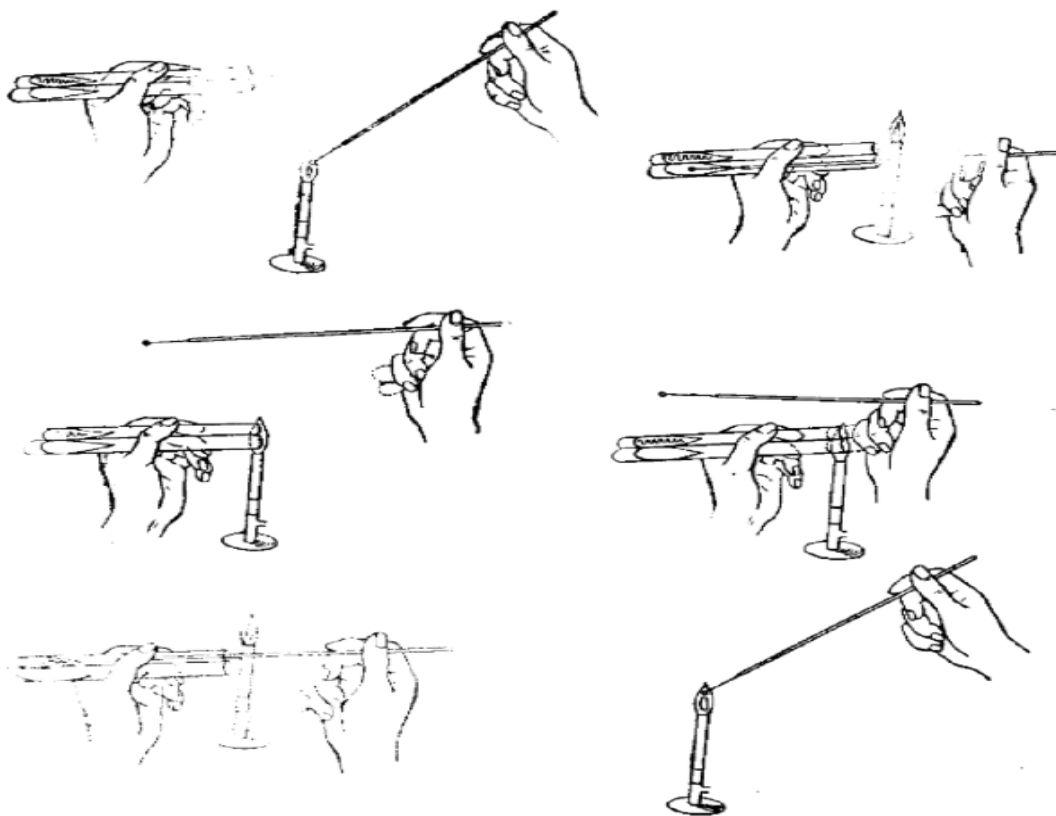
Bakteriologik ilgaklar



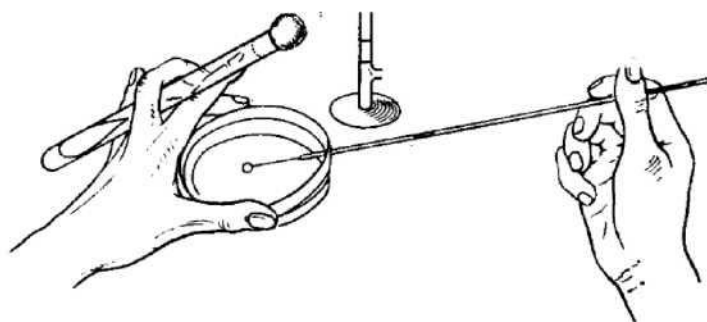
Skalpel



Shpatel



Probirkadanprobirkaga mikroorganizmlarni qayta ekish



Petri likobchasidagi qattiq oziqa 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 oziqa muhiti yuzasiga shpatel yordamida gazon ekiladi. Buning uchun qopqoq biroz ochiladi, sirtmoq yoki pipetka bilan ekiladigan materiallardan oziqali 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. Inkubasiyadan so'ng mikroorganizmlar bir tekis unib chiqadi.

Oziqa muhitiga ekilgan mikroorganizmlar termostatga joylashtiriladi. Mikroorganizmlarni oziqa 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

STERILLASH USULLARI

Mashg'ulot o'tish tartibi: Mikrobiologik sirtmoqni spirt lampasi alangasida sterillanadi. Sterilizatorida shpris, pinset va ninalarni qaynatiladi. Petri likobchalarni, probirka va Pasteri naychalarini o'rab so'ngra quritish shkafiga qo'yiladi. Avtoklavni ishga tayyorlanadi. Probirkalarga 9 ml dan suv solib, tayyor oziqa muhitlarni avtoklavga sterilizasiya 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, oziqa muhitlar, shpris va ninalar.

Sterillash mikrobiologiya amaliyotida eng muhim jarayon hisoblanadi. Sterillash lotincha "*sterilis*" so'zidan olingan bo'lib, "pushtsizlantirish" degan ma'noni bildiradi. Amaliyotda sterillash, bu olingan ob'ektni 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 ob'ektning fizik-kimyoviy xususiyati va tadqiqotning oldiga qo'ygan maqsadi e'tiborga olinadi.

Sterillash - mikroorganizmlar va ularning turli materiallardagi sporalarning 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.

Spirit 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°S 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°S da sterillaydi. Avtoklav 100-154°S 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°S 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

Tindallash. Tindallash usulida materiallarni Kox apparatida va avtoklavda sterillanadi. Qatorasiga uch kun, kuniga bir marta 30 daqiqadan Kox apparatida 70-100°S haroratda qizdirish mumkin. Birinchi marta 100°S 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°S 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°S gacha qizdiriladi

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



Vertikal avtoklav



Gorizontal avtoklav



Quritish shkafi



Bakterisid lampa



Laminar boks

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

Ultrabinafsha nurlari 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, bakteriofaglarini) 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. Vakuumnasos 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 mikroorganizmlarni toksinlari va ularni 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 kislotasi 25%, ohak 4-10% va boshqa kimyoviy moddalar ishlatiladi.

OZIQA MUHITLARI TAYYORLASH USULLARI

Mashg'ulot o'tish tartibi: Mikroorganizmlarni o'stirish uchun tayyorlanadigan oziqa muhitlarining tarkibi va tayyorlash texnologiyalari bilan tanishiladi (go'sht-pepton buloni, kartoshkali oziqa va Chapeka oziqasi). pH ni 7,4-7,6 ga teng qilib, oziqa muhitlarni probirka va kolbalarga solib avtoklavda sterilizasiya qiladilar. Avtoklavdan olingan probirkadagi agarli oziqalar 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. Oziqa 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 tarkibini: C-50%, N-10-13%, H-8%, O-20%, P₂O₅-4%, K₂O-3%, SO₃-1%, MgO-0,8%, CaO-1%, Fe₂O₃-0,08% 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 oziqa muhiti deb ataladi.

Har bir oziqa 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 kerak.

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

Bir qator oziqa 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.

Oziqa 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 oziqa muhitlari tayyorlanadi. Shu sababli har bir mikroorganizmni ajratish va xususiyatini o'rganishda oziqani tarkibi, konsistensiyasi, kelib chiqishi va ishlatilishi har xil bo'lgan oziqa muhitlari kerak bo'ladi. Oziqa muhitlari tabiiy yoki sun'iy bo'ladi.

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

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

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

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

Qattiq oziqa muhiti suyuq oziqaga jelatin (10-15%) yoki agar- agar (1-2%) qo'shib tayyorlanadi. Yarimsuyuq oziqa muhitini tayyorlashda jelatin yoki agar-agaridan kam miqdorda solinadi.

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

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

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

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

Differensial - diagnostik oziqa - mikroorganizmlarning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganishda va ba'zi mikroorganizmlarning sof kulturasini ajratishda qo'llaniladi. Differensial - diagnostik oziqa muhiti mikroorganizmlar tomonidan ajratiladigan oqsil va uglevodlarni parchalanishini va oksidlanish- qaytarilish reaksiyalarini yuzaga keltiruvchi

fermentlarni aniqlashda qo'llaniladi. Bunga suyuq, uglevodli Giss oziqasi va Endo, Levin indikatorli qattiq oziqa muhiti misol bo'ladi.

Hozirgi vaqtda oziqa muhitlarni tayyor reseptlar bilan fabrikalarda quruq poroshok yoki suyuq konsentrasiya holda chiqarilmoqda.

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

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

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

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

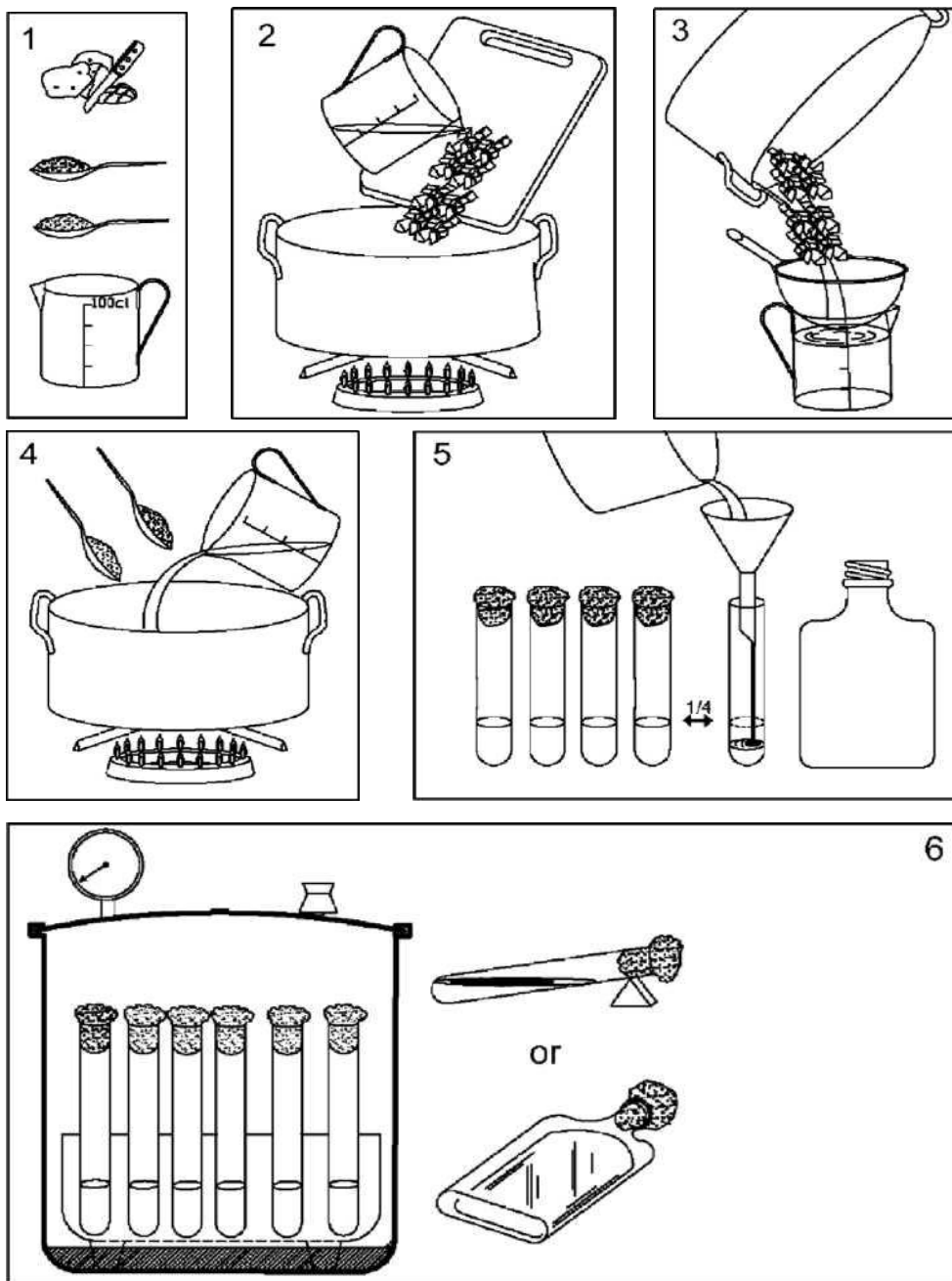
4. Oziqa muhiti tiniq bo'lishi kerak, sababi u mikroorganizmlarni o'sishini kuzatish uchun qulaydir.

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

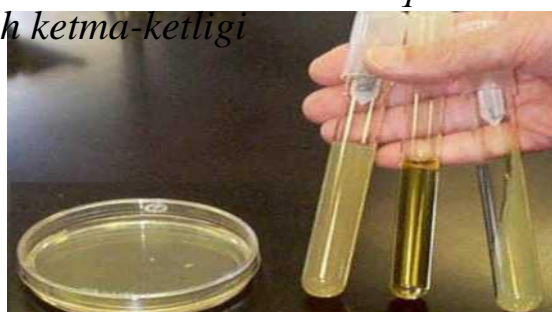
Go'sht-pepton qaynatmasi. Bu oziqa muhitni tayyorlash uchun 500 gramm qiyma (yog'siz) olinib, ustiga 1000 ml iliq suv quyib 12 soat qo'yiladi. Keyin surp lattadan o'tkazilib qaynatiladi. Oqsillar qaynaganda ivib qoladi, shuning uchun ular avval surp lattada suziladi, so'ngra buklangan qog'oz filtdan o'tkaziladi. Shu tariqa go'sht buloni hosil bo'ladi. Shu bul'onga 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°S da 30 daqiqa sterillanadi. Agar-agar muhitining suyulish harorati 100°S atrofida, qotish harorati esa 40-45°S.

Kartoshkali oziqa 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 'simlikmahsulotlari va a'zolaridan oziqa muhiti tayyorlash ketma-ketligi



Tayyor oziqa muhitlar

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

Dukkakli qaynatma. Dukkakli qaynatma tunganak 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 atmoosfera 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 qilib solinadi. Tayyor suspenziya 5-10 daqiqa chayqatiladi, keyin 1,5-2% agar qo'shiladi. Oziqani avtoklavda 120°S haroratda 1 soat davomida sterillanadi. Sterillash 1 sutkadan so'ng yana qaytariladi.

Chapeka oziqa 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 oziqani probirka va kolbalarga solib avtoklavda 1 atmosfera bosimda 30 daqiqa sterillanadi.

Omielyanskiy oziqa muhiti

1	NH ₄ H ₂ PO ₄	1,0 g	5	CaCO ₃	20 g
2	K ₂ P ₂ PO 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 oziqa avtoklavda 120°S da 30 daqiqa sterillanadi.

Mikroorganizmlarni rivojlanishida ayrim elementlarning ahamiyatini

bilish uchun *Aspergillus niger* zamburug'i bilan tajriba qo'yish mumkin.

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

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

SPIRTLII BIJG'ISH

Mashg'ulotni o'tish. tartibi: Bijg'ish qo'zg'atuvchilarini 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. Qandni bijg'ish foizini brigada usulida aniqlanadi. Tadqiqot natijalarini talabalar daftarlariga yozib boradilar.

Kerakli asboblari va reaktivlar: 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 moddalarni 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 CO₂ va H₂O hosil bo'ladi.

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

Spirтли bijg'ishda qand parchalanib, etil spirti va CO₂ vujudga keladi. Spirтли 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.

Spirтли bijg'ish - achitqilarning anaerob nafas olishi demakdir. Spirтли 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 zapas 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 korxonalar 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, CO₂ va N₂O ga qadar oksidlaydi. Aeroblar suyuqlik yuzasida parda hosil qiladi. Ko'pincha oziq ovqat korxonalarining (masalan, sirka tayyorlaganda, sabzavot tuzlanganda va hokazo) zararkunandalari hisoblanadi.

Spirтли bijg'ishda achitqilar qandni parchalaydi, amalda 50% CO₂ va 50% etil spirti hosil bo'ladi.



Spirтли bijg'ish jarayonini tekshirish



Saccharomyces cerevisiae achitqisi

Achitqi bir daqiqada qancha ko'p qandni parchalab, spirt va SO₂ 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°S 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.

Qand bijg'iganda 50% CO₂ va 50% spirt hosil bo'lganligidan, eritmadagi spirtning og'irligi havoga uchib ketuvchi CO₂ ning og'irligiga tengdir, ya'ni $\gamma = e$. Bijg'igan qand og'irligi CO₂+spirt og'irligiga teng, ya'ni $\delta = \gamma + e$. Binobarin, bijg'igan qand foizini bilish uchun quyidagicha hisob qilamiz:

$$e = a - \delta; \gamma = e; \delta = \gamma + e;$$

$$x = \frac{\delta \times 100}{B};$$

Bunda,

- a - qand bijg'iguncha kolbaning og'irligini;
- δ - qand bijg'igach kolbaning og'irligini;
- e - kolbadagi qandning dastlabki og'irligini; e - havodagi uchib ketgan CO₂ ning og'irligini;
- γ - eritmadagi spirtning og'irligi;
- δ - bijg'igan qand og'irligi;
- X - bijg'igan qand foizini ifodalaydi.

SUT KISLOTALI BIJG'ISH

Mashg'uloti 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 bakteriyalarini morfologik belgilarini ko'rish uchun

mazok tayyorlaydilar. Sut kislota reaksiya sifatini aniqlash uchun brigada usulidan foydalanadilar. Natijalarni daftarlarga yozib boriladi.

Kerakli asboblari va reaktivlari: 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, FeCl₂ eritmasi.

Sut kislotali bijg'ishga sut kislotali bakteriyalari 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°S haroratda saqlansa, sut kislota bakteriyalari sut kislotani hosil qilishi tufayli 10-12 soatdan keyin achiydi.

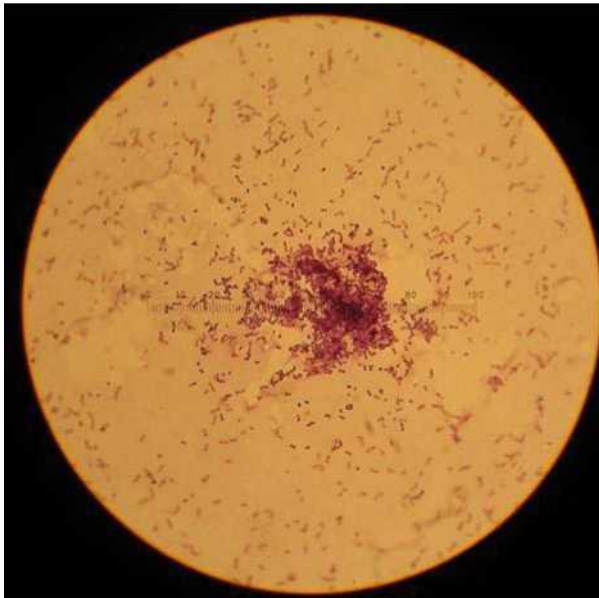
Sut kislota bakteriyalari ikki guruhga bo'linadi:

Tipik sut kislota bakteriyalari - sporasiz, harakatsiz, gramm- musbat, 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:

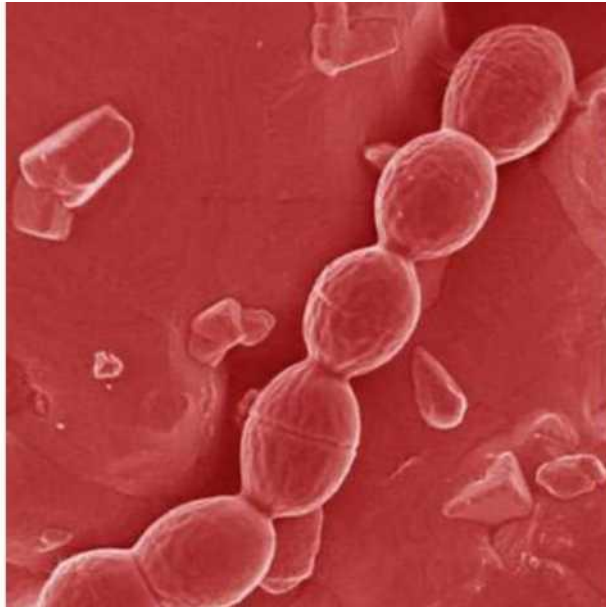
Sut kislota streptokokki - *Streptococcus lactis* sutda bo'ladi; yirik sut kislota tayoqchalari - *Bact. bulgaricum* (bulg'or tayoqchasi) bular ham sutda uchraydi; sut kislotaning mayda tayoqchalari - *Bact. cucumeris fermentati* - bodringni achitadi va *Bact. brassicae* - karamni bijg'itadi.

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 ob'ektiv 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. Qatqda sut kislota borligini bilmoq uchun Uffelmann reaksiyasi o'tkaziladi. Buning uchun bir foizli fenol eritmasidan 5 ml olib, kuchsiz FeCl₂ eritmasidan bir necha tomchi qo'shilsa, sut kislotaning temirli tuzi hosil bo'lishi tufayli eritma sarg'ayadi.



Streptococcus lactis ning oziqa muhitdagi koloniyasi



Streptococcus lactis ni mikroskopdagi ko'rinishi



Sut kislotali bijg'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°S issiq suv hammomida 5 daqiqa saqlab, so'ngra sovutiladi va 1-2 tomchi 0,2% tiofenning spirdagi 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 bakteriyalarini morfologik belgilarini ko'rish uchun preparat tayyorlaydilar va bo'yab mikroskopda ko'radilar. 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: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2$ 15-17 kal

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 $80-100^\circ\text{S}$ 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°S 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 bijg'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 zapas oziq modda granulyoza bor. Bu modda kraxmalga o'xshaydi.

Granulyozani aniqlamoq uchun bijg'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 tayoqchanning o'rtasida yoki bir uchida rangsiz bo'lib turadi.

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

PEKTINLI VA KLETKHATKALARNI BIJG'ITUVCHI MIKROORGANIZMLAR

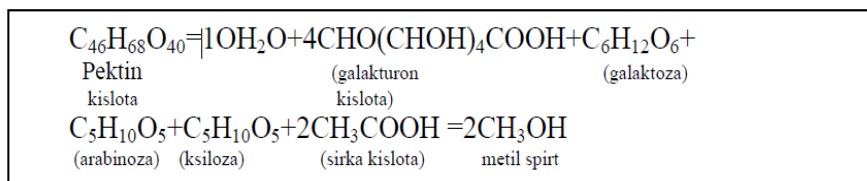
PEKTINLI BIJG'ISH

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'radilar. 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 kislota CO₂ va H₂ 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°S 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 pectinovorum* 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 va uni 1916 yilda Karbone topgan.

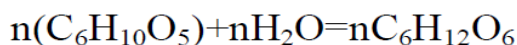
KLETCHATKALI BIJG'ISH

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, CO₂, H₂ va CH₄ hosil bo'ladi. Baraban tayoqchasiga o'xshaydigan, sporali anaerob harakatchan tayoqchalar shunga sabab bo'ladi. Bu jarayon quyidagi sxemaga muvofiq boradi:

Kletchatka gidrolizi



vodorod va metan hosil qilib bijg'ish



Reaksiya *Bact. cellulosa hydroqenicus* ishtirokida boradi.



Reaksiya *Bact. cellulosa methanicus* ishtirokida boradi.

Kletchatkani bijg'itadigan bakteriyalarning elektiv kulturalarini olish. Sellyulozani bijg'itadigan anaerob bakteriyalarning elektiv kulturalarini 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 bijg'itadigan anaerob bakteriyalari qog'ozni eritib yuboradi. Muhitning elektiv ekanligi shundan iboratki, unda anaerob sharoit bor, unda kletchatka birdan bir karbonat angidrid manbai

hisoblanadi.

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

Kletchatkani bijg'itadigan bakteriyalarning elektiv kulturasining tekshirish. Preparat tayyorlash uchun kolba tubidan pipetka bilan suyuqlik olinadi yoki kletchatkadan bir parcha olib, oynaning ustida eziladi, shundan keyin preparat oddiy usul bilan fiksasiya qilib bo'yaladi. Shunday preparatda kletchatkani bijg'ituvchi bakteriyalar baraban tayoqchasiga o'xshab ko'rinadi.

AMMONIFIKASIYA JARAYONI

Mashg'ulotni o'tish tartibi: Talabalar guruhlarga bo'linib, ammonifikasiya 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.

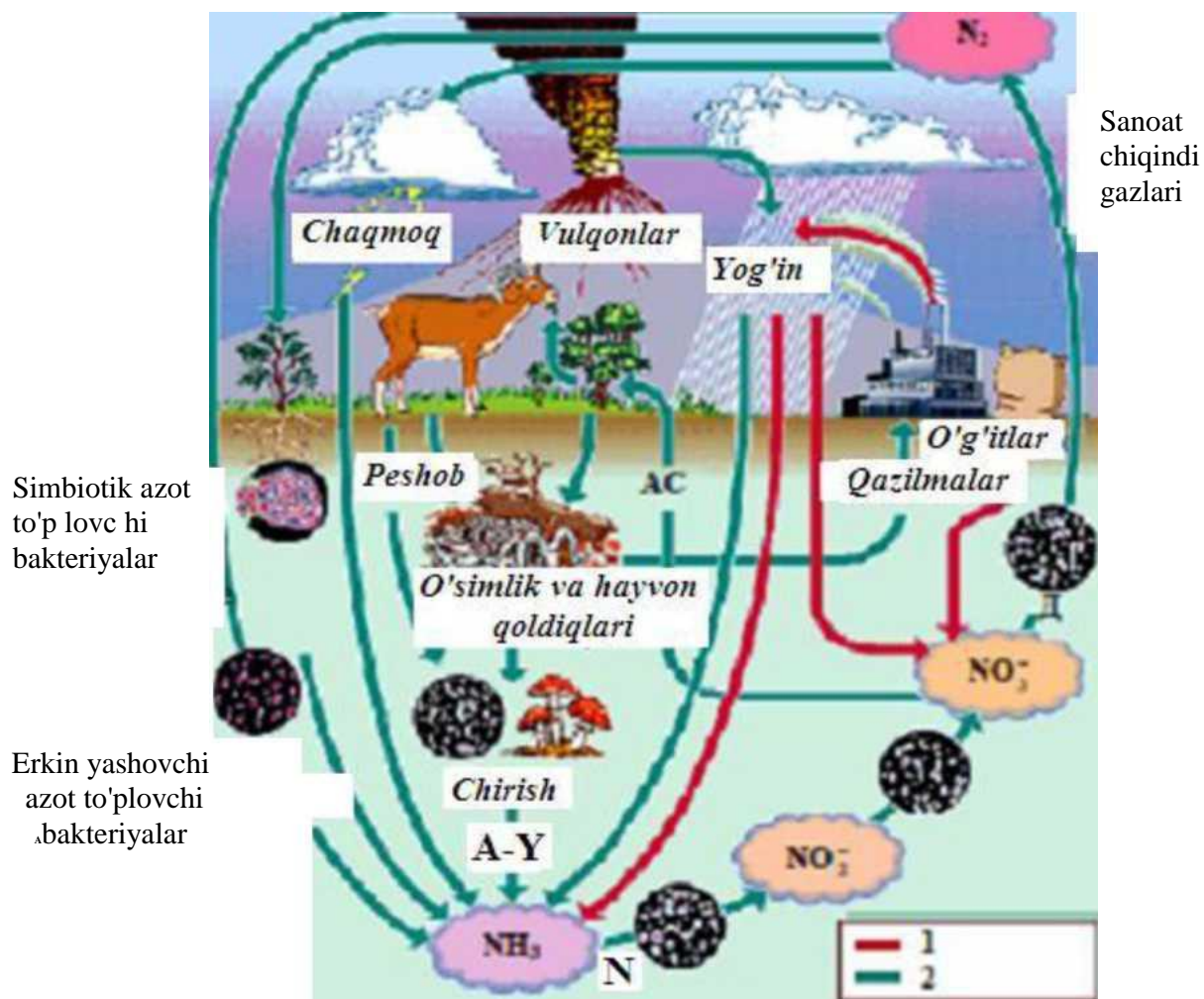
Ammonifikasiya - oqsillar va azotning boshqa organik birikmalarining ammiak (NH_3) gacha parchalanishi demakdir. Ba'zi ammonifikatorlar oqsillarni parchalaganda NH_3 dan tashqari, H_2S bilan indol ham hosil bo'ladi. Oqsillarning ammonifikasiya qilinishi ammonifikatorlar yoki chirituvchi bakteriyalar 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'ozi osiladi. Bu

qog'oz NH₃ ta'sirida ko'karadi. H₂S chiqayotganligini bilish uchun qo'rg'oshin asetat eritmasiga ho'llangan filtr qog'oz osib qo'yiladi. Bu qog'oz H₂S ta'sirida qorayadi.

Azotni tabiatda aylanish sxemasi



1-insoniyat faoliyati; 2-tabiat faoliyati A-Y-ammonifikatsiya; AS-o'simlik va mikroorganizmlar assimlyatsiyasi; AZ-azotfiksatsiya; D-denitrifikatsiya; N-nitrifikatsiya

Ammonifikatorlarning elektiv kulturasini tekshirish. Probka tagiga osib qo'yilgan qog'ozchalar ko'zdan kechirilib, NH₃ va H₂S 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, sporal va turli uzunlikdagi sporasiz ingichka tayoqchalar uchraydi.

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

NITRIFIKASIYA

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.

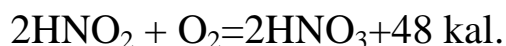
Kerakli asboblari va reaktivlar: Oziqa muhiti. Mikroskop, immersion moy, filtr qog'ozlar, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin), tuproq.

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

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



Bu jarayon nitroz bakteriyalar yordamida boradi. Nitrifikasiyaning ikkinchi bosqichi - nitrit kislota ning oksidlanib, nitrat kislota (HNO_3) ga aylanishi:



Ikkinchi bosqichda nitrat bakteriyalar ishtirok etadi.

Nitroz bakteriyalarning vakili - cho'zinchoq, sporasiz va harakatchan mikrobdir. 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 kislota ni oksidlash yo'li bilan oladi. Nitrifikatorlarning elektiv kulturalarni 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 manbaidir. 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 manbaidir. 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 CO₂ 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 (NH₄)₂SO₄ dan hosil bo'lgan nitrat kislota (HNO₃) 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 kislotalardan hosil bo'lgan nitrat kislota (HNO₃) bor yo'qligi aniqlanadi. Nitrat kislota bor yo'qligini bilish uchun oziqli muhit tomchisiga H₂SO₄+difenilamin tomchisi qo'shiladi. Nitrat kislota (HNO₃) bo'lsa, suyuqlik ko'k tusga kiradi. Oziqli muhitdan tayyorlangan preparatda kichkina *Nitrobacter* tayoqchalari ko'rinadi.

DENITRIFIKASIYA

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: Oziqa 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.

Denitrifikasiya - nitrat kislota (HNO₃) ning qaytarilib, nitrit kislota (HNO₂) va erkin azot (N₂) hosil qilishi demakdir. Bu jarayon faqat anaerob sharoitda yuzaga chiqadi. Ular anaerob sharoitda havodagi kislorod o'rniga nitrat kislotalardagi kisloroddan nafas oladi, ayni vaqtda shu kislorod bilan qand va organik kislotalarni oksidlaydi. Bu bakteriyalar denitrifikatorlar deyiladi.

Denitrifikatorlarning elektiv kulturasini tekshirish. Denitrifikasiyada nitrat kislota qaytarilib, nitrit kislota va erkin azot (N₂) hosil bo'ladi. Shu sababli denitrifikasiyada 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 H₂SO₄ 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 denitrifikasiya bakteriyalarni mayda ingichka tayoqchalar shaklida ko'rish mumkin. Tabiatda uchraydigan denitrifikasiya 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 denitrifikasiya bakteriyalarining nitratni qaytarib erkin azot hosil qilish jarayoni quyidagicha boradi:



AZOTFIKSATSIYA VA AZOTFIKSATORLAR

Mashg'ulotni o'tish tartibi: Erkin holda yashovchi azotfiksatorlarning (*Azotobacter*, *Clostridium*) morfologiyasini 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'rishadi. Natijalarni daftarlarga yozib va chizib boriladi.

Kerakli asboblari va reaktivlar: Dukkakli o'simlik ildizi, Oziqa 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 assimilyasiya qilinishi muhim ahamiyatga ega. Azotni tuproqda fiksasiyalanib qolishida bakteriyalarni ahamiyati alohida hisoblanadi. Chunki ular havo tarkibidagi molyakulyar azotni o'zlashtirib, tuproqni bog'lagan azot bilan boyitadi.

Havodagi molekulyar 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 Ye.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 dexqonchilikda 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 tur xillari aniqlangan. 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 bo'ladi. 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 bo'ladi.

Tugunak bakteriyalar hujayrasining kattaligi 1 mikrondan 4-5 mikrongacha, optimal yashash harorati 25-28°S bo'lib, 60-70°S da o'ladi, 15-19°S 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.

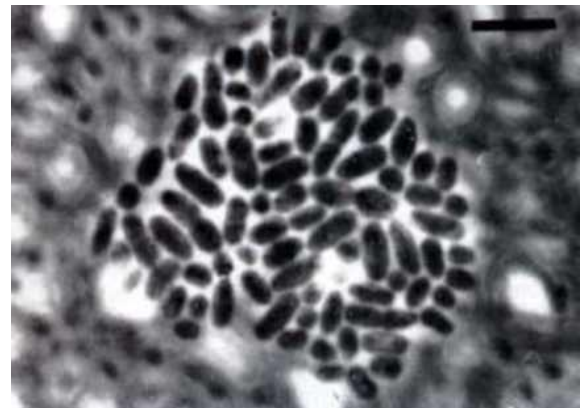
Tugunak bakteriyalarni aniqlash. Buning uchun bir necha xil usuldan foydalaniladi.

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.

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 (3040 daqiqa) qaynatiladi va sterillangan kolbaga filtrdan o'tkazib qo'yiladi. Filtrlangan suyuqlikning hajmi kamaygan bo'lsa, yana 100 ml gacha 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'shib eritiladi. Tayyorlangan muhit Petri likobchalariga quyilib qotiriladi. So'ngra dukkakli o'simliklar tugunaklaridan siqib olingan shira ekiladi. Likobchalar bir necha kun davomida 25-30°S 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.



Dukkakdosh o'simliklar ildizidagi tugunaklar



Rhizobium leguminosarum

Azotobacter chroococcum



Tugunak bakteriyalar asosida olingan Nitragin preparati

Erkin holda yashovchi azotfiksatorlardan olingan Azotobakterin preparati

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.

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 kislotaga hosil qilib bijg'itadi. *Azotobacter* ning tuproqdagi elektiv kulturasini olish uchun tuproqqa 2% li mannit qo'shib aralashtiriladi, loy quyruq xamir holiga kelguncha suv qo'shib qoriladi, shu loy Petri likobchasiga solinib, ho'l shpatel bilan yoyiladi va termostatga qo'yiladi. Mannit energiya manbaidir. Mannit borligi tufayli azotobakter yaltiroq, tiniq shilimshiq koloniyalar shaklida o'sib chiqadi. Paster klostridiyining 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 azotbakterning 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 sporalari hujayralari ko'rinadi.

Tuganak bakteriyalari bilan tanishish

Rhizobium turkumiga kiruvchi bakteriya turlari 1300 turga mansub dukkardoshlarga kiruvchi o'simliklarda tuganaklarni hosil qiladi. O'simlik ildiz to'qimasiga tushgan tuganak bakteriyalari infeksiya 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

assimilyasiyalanadigan azot bilan ta'minlaydi. Turli dukkakli o'simliklarning ildizida bu tunganaklar turli shakl va o'lchamda bo'ladi. Ularning o'lchami asosan tariq kattaligidan yong'oq mevasining kattaligicha bo'lishi mumkin.

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

Freda oziqasi

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_2PO_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 oziqa muhiti tarkibiga kiruvchi qolgan komponentlar qo'shiladi.

Yuqoridagi oziqa muhitlarini pH ini 7 gacha soda qo'shish yo'li bilan keltiriladi. 0,5 atm bosim, 120°S haroratda 30 daqiqa sterillanadi. Bu oziqa muhitida tunganak 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 oziqa muhiti solingan qiya agarli probirkalarga ekiladi.

Lazarev oziqasi

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 oziqasi

K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	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 oziqa muhiti tavsiya etiladi:**

Mannit yoki saxaroza	10 g
K ₂ HPO 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

**SUV VA HAVO TARKIBIDAGI MIKROORGANIZMLARNI
ANIQLASH**

Suv mikroflorasi. Suv tarkibidagi organik va anorganik moddalarning miqdoriga qarab, mikroblarning soni ham turlicha bo'ladi. Suvdagi mikroblarning ko'pchiligi saprofit hayot kechiradi. Ular orasida kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlar ham uchraydi. Bularning ko'pchiligi suv ostidagi loyqaga joylashadi. Uning tarkibida mikroblar yashashi uchun barcha zarur sharoit mavjud. Lekin suvga tushgan quyosh nurlari va suv tarkibidagi bakteriofaglar, sodda hayvonlar, antagonist organizmlar ishlab chiqargan mahsulotlar ta'sirida mikroorganizmlar keng tarqala olmaydi. Shuning uchun suvda mikroblar soni tuproqdagiga nisbatanancha kam bo'ladi.

Suvdagi mikroblar sonini aniqlash uchun Petri idishiga 1 ml suv quyib, unga eritilgan GPJ yoki GPA dan 10—12 ml chamasi qo'shib aralashtiriladi. GPJ yoki GPA qotib qolgandan so'ng idish 25—30° issiq termostatga qo'yilib, bir sutka saqlanadi. Shundan so'ng qattiq oziq muhitida hosil bo'lgan bakteriya, mikroblar koloniyasining soni Vol'fgyugel kamerasi yordamida aniqlanadi.

Kerakli jixozlar: Petri idishlari, probirkada sterillan-GPA yoki GPJ oziq muhitlari, termostat, Vol'fgyugel kamerasi.

Ishning bajarilish tartibi: Bu mashg'ulotni o'tkazishda Kox usulidan foydalanish mumkin. Bunda go'sht-pepton-agarli (GPA) yoki go'sht-pepton-jelatinli (GPJ) qattiq oziq muhiti ishlatiladi.

Tajriba o'tkazish uchun quyidagilarga amal qilish zarur: a — probirkada eritilgan GPA li oziq muhiti Petri idishiga quyiladi va darhol idishning qopqog'i yopiladi; b — idish ichidagi suyuq GPA qotguncha stol ustida qoldiriladi; v — idish ichidagi oziq muhiti qotgandan so'ng havosi tarkibidagi mikroblarni aniqlash mo'ljallangan (auditoriya, koridor, kucha, oshxona va boshqa) joylarga olib boriladi; g — shu joyda idishning qopqog'i 5 minut ochiq qo'yiladi. Shu vaqt ichida oziq muxiti yuzasiga havodagi mikroblar tushadi.

Belgilangan vaqtdan so'ng idishning qopqog'i yopiladi.

Qopqoqning ustiga tajriba o'tkazgan studentning ismi, familiyasi va kursi yozilgan etiketka yopishtirilib, idish qog'ozga o'ralgach, 20—30° issiq termostatga qo'yiladi. Ularni termostatga qo'yishdan oldin, qopqog'i pastga qaratilgan bo'lishi kerak. Aks holda qopqoq ustiga to'plangan suv tomchilari plastinka yuzasiga tushadi, natijada mikroblar bir-biriga aralashib ketadi.

Qattiq oziq muhitidagi har bir mikroorganizm hujayrasi ko'payib, o'ziga xos koloniyalar hosil qiladi. Bu koloniyalar (to'dalar) mikroorganizmning turiga qarab har xil shaklda bo'ladi va turli rangda tovlanib turadi. Bir necha kun o'tgandan so'ng Petri idishidagi qattiq oziq muhitida paydo bo'lgan koloniyalarning soni havo tarkibida qancha mikroorganizm borligini aniqlashga imkon beradi.

Havo mikroflorasi. Tuproqdan ko'tariladigan chang o'zi bilan birga mikroorganizmlarni ham havoga tarqatib, havoni ifloslaydi. Havoning quruq bo'lishi va ul'trabinafsha nurlar havodagi mikroorganizmlarning hayoti uchun xavflidir. Ularning soni yil fasllariga qarab o'zgarib turadi qishda oz, yozda ko'p, kuzda va bahorda o'rtacha bo'ladi. Havoning yuqori qat-lamlariga tomon mikroorganizmlar soni kamaya boradi.

1 m³ havo tarkibidagi mikroorganizmlar sonini topish uchun avval 100 sm² oziq muhitidagi mikroorganizmlar koloniyasini aniqlash kerak. Chunki V. S Omelyanskiy ma'lumotiga ko'ra 10 l havo tarkibida bo'lgan mikroorganizmlar 5 minut ichida 100 sm² yuzaga tushar ekan. Bu ko'rsatkich aniqlangandan so'ng 1 m³, ya'ni 1000 l havo tarkibidagi mikroorganizmlar soni, aniqlanadi. Masalan, 100 sm² yuzada 35 ta koloniya o'sgan, deb faraz qilaylik. Demak, V. S. Omelyanskiy ma'lumotiga asoslanib, 10 l havo tarkibida 35 dona bakteriya borligi aniqlandi. Endi 1 m³, ya'ni 1000 l havo tarkibidagi bakteriyalar sonini aniqlash uchun tubandagi proportsiya tuziladi:

$$\begin{array}{l} 10 \text{ l} - 35 \\ \\ 1000 \text{ l} = x \end{array} \qquad X = \frac{1000 \cdot 35}{10} = 3500$$

Tajriba materiallarini chuqurroq analiz qilish maqsadida quyidagi ishlar bajariladi:

1. GPA plastinkasi ustida o'sgan koloniyalardan bir nechta (2—3 ta) sini tanlab, tubandagi jadvalda ko'rsatilgan savollarga to'la javob qaytariladi:

<u>Koloniyaning</u> n ^o	<u>Koloniyaning</u> rangi	<u>Koloniya</u> chetining ko'rinishi	<u>Koloniyaning</u> shakli (yumaloq, o'rtasi botgan va xokazo)	<u>Koloniyaning ichki</u> tuzilishi (zich, nuqtasimon va xokazo)
1				
2				
3				

2. Tanlab olingan koloniyalardagi mikroblarning harakatlanishi, shakli hajmi va boshqa ko'rsatkichlari tubandagi jadval savollariga oid javoblarda aniqlanadi:

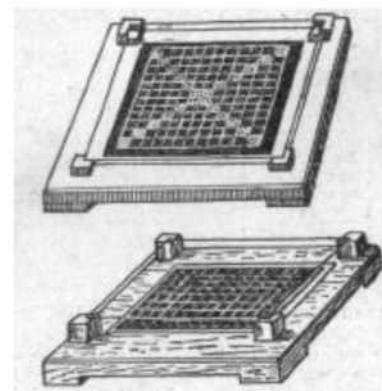
<u>Koloniyaning</u> n ^o	<u>Ko'rsatkichlari</u>						
	<u>Xarakatla</u> nishi	<u>Xarakatsi</u>	<u>Shakli</u>	<u>Sporasi</u>		<u>Spora xosil</u> qiladigan vegetativ qismining shakli	<u>Xajmi</u> (mkm)
				<u>y^oq</u>	<u>bor</u>		
1							
2							
3							

Eslatma: bakteriyalarning harakatlanishini aniqlash uchun ezilgan tomchi preparata tayyorlansa, shaklini, hajmini aniqlash va sporalari kuzatish uchun mazok tayyorlanib fiksatsiyalanadi, bo'yaladi.

Havo mikroflorasini aniqlashda ishlatiladigan Krotov apparati va sanash taxtasi quyida ko'rsatilgan.



Krotov apparati



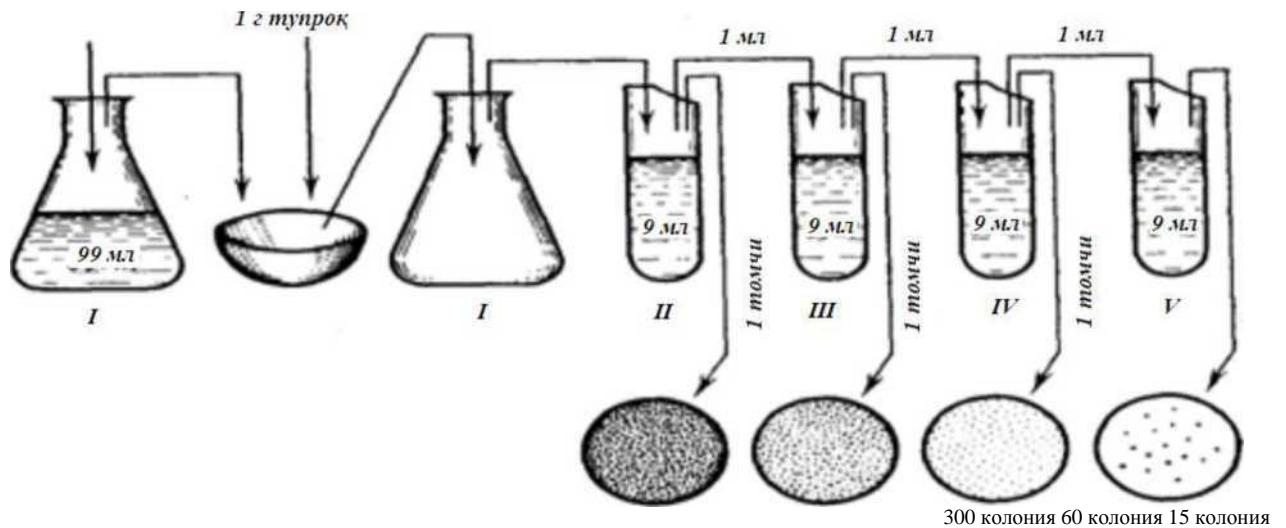
Sanash taxtasi

TUPROQDAGI MIKROORGANIZMLARNI 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 oziqa muhiti solingan Petri likobchalariga ekiladi. O'sgan koloniyalardan preparatlar tayyorlanib, mikroorganizmlarning morfologiyasi yoziladi. Mikrobiologik tadqiqot natijalarini talabalar daftarlariga yozib boradilar.

Kerakli asboblari va reaktivlar: Tarozisi 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 oziqa muhitlari solingan probirkalar, buyum oynachasi, bo'yoqlar, mikrobiologik sirtmoq, mikroskop.

Tuproqdagi mikroorganizmlar soni har xil usul bilan aniqlanadi. Shulardan tuproqdan eritma tayyorlab, qattiq oziqa muhitiga ekib, mikroorganizmlarning sonini aniqlash eng qulay usul hisoblanadi. Tuproqning mikroflorasini aniqlashda asosan GPA yoki DPA, Chapeka, suslo-agarli oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Tuproq mikroflorasini aniqlash uchun 10-20 sm 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°S gacha DPA (dukkakli o'simliklardan tayyorlangan agar) yoki GPA, Chapeka, suslo - agar oziqa muhitlariga quyiladi va uni sekin chayqaberitma muhitga aralashtiriladi. Likobchadagi muhit qotgandan so'ng 3 kun davomida 25°S da termostatga qo'yiladi.

Mikroorganizmlar miqdorini aniqlash. Uchta likobchadagi unib chiqqan mikroorganizmlar koloniyalarining o'rtacha soni aniqlanadi. Mikroorganizm koloniyalari sanalganda likobchaning 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'rish 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°S 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 sm² 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 obektiv bilan qaraladi. Mikroskopning ko'rish maydonidagi mikroorganizmlar soni aniqlanadi. Ko'rish maydonidagi mikroorganizmlarning o'rtacha soni quyidagi formulaga ko'ra hisoblab topiladi

$$e = \frac{b \times B}{a} ; \quad X = \frac{b \times B \times e}{T} ;$$

Bunda

a - ko'rish maydonining sathi. Uni aniqlash uchun radiusi

okulyar lineyka bilan o'lchanadi va sathi nr formulasiga muvofiq hisoblab topiladi;

$\bar{\sigma}$ - ko'rish maydonidagi mikroorganizmlarning o'rtacha soni;

σ - preparat sathi (4 sm - 400 mm);

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

e - 4 sm 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.

RIZOSFERA MIKROORGANIZMLARINI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: Ildizlarni yettita kolbaga solib chayiladi (Tepper usulida). Ildizlarni 6 va 7 chayindisini GPA, Chapeka va suslo-agar oziqasi 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 kvarts qumi, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Oziqa muhit. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin, gensian-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 vegetasiya 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, Ye.F.Beryozova boshqali o'simliklar ildizida ko'pincha ammonifikatorlar, denitrifikatorlar bo'lishini; makkajo'xori ildizida anaerob azot to'plovchilar; kartoshka ildizida mikobakteriya, aktinomiset va boshqalar bo'lishini aniqlagan. Rizosfera mikroorganizmlari o'simliklar ajratadigan turli organik moddalar hisobiga yashashi bilan birga o'z navbatida o'simliklarni 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. Ye.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 : 10000000 nisbatda eritma tayyorlanadi. To'rtinchi-beshinchi yoki beshinchi-oltinchi eritmadan 1 ml dan olib ikkita Petri likobchasiga DPA ga ekiladi. Ekilgan likobchalar 23-25°S 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 Ye.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 kvarts qumi solinib yuviladi.

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 oziqa muhitlari yuzasiga shpatel yordamida ekiladi. Petri likobchasidagi GPA yoki DPA, Chapeka, suslo-agar oziqa muhiti yuzasiga sterillangan pipetka yordamida 0,05 ml (1 tomchi) eritma quyiladi va shpatel bilan muhitning yuzasiga quriguncha surtiladi, so'ngra ikki-uch kun davomida 25°S haroratda termostatga qo'yiladi, so'ngra likobcha yuzasida o'sib chiqqan mikroorganizmlar to'plamining soni 1 ml eritmaga hisob qilinib, 1 gr ildizda qancha rizosfera mikroorganizmi borligi aniqlanadi. Masalan,

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

EPIFIT MIKROORGANIZMLARNI ANIQLASH

Mashg'ulotni o'tish tartibi: GPA, Chapeka, suslo-agar oziqa muhiti solingan Petri likobchalarida ungan mikroorganizm koloniyalarini 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 kvarts qumi, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pinsetlar. Oziqa muhit. Bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin, gentsian-violet), Tarozi va toshlari.

Rizosfera mikroorganizmlari o'simliklar o'sish davrida ildizdan 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.

Ye.I.Kvasnikov, M.G.Sumnevich va Yu.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 boshqandan 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°S haroratda termostatda saqlanadi, so'ngra oziq muhiti yuzasida unib chiqqan mikroorganizm to'plamlarining xususiyatlari o'rganiladi.

GLOSSARIY

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

Avtotrof oziqlanish - quyosh energiyasidan foydalanib, xlorofil donachasiga ega organizmlarni atmosferadagi CO₂ gazi va suvni fotosintez yordamida o'zlashtirib, organik modda hosil qilishdir.

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

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

Azotofiksasiya - havodagi molekulyar azotni mikroorganizmlar tomonidan o'zlashtirilishi.

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

Ammonifikasiya - oqsillar va azotli organik birikmalarni mikroorganizmlar tomonidan NH₃ gacha parchalanishi. Bunda NH₃ dan tashqari H₂S 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 ikkinchisini o'sishini butunlay to'xtatadi. Bu hodisa o'simlik kasalliklariga qarshi biologik kurash chorasini ishlab chiqishda foydalaniladi.

Askomisetlar - xaltali zamburug'lar sinfi bo'lib, eukariot organizmlar hisoblanadi. Ular zamburug'larning 45% dan ortiq turlarini o'ziga biriktiradi. Askomisetlarning sporalari askosporalar deb nomlanib, maxsus xaltalar ichida hosil bo'ladi. O'simliklarda un shudring kasalliklarini keltirib chiqaruvchi zamburug'lar tipik misol bo'la oladi.

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

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

Aeroblar - havodagi molekulyar azotga muhtoj bo'lgan mikroorganizmlar.

Bazidiomisetlar - 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 (oziqua muhitlar) va boshqa yuqori haroratga chidamsiz mahsulotlarni mikroorganizmlardan tozalashda ishlatiladi. Filtrlovchi sifatida keramika, asbest plastinka yoki maxsus mebranalardan foydalaniladi. Bu filtrlardan faqat viruslar o'tib ketadi.

Bakteriofaglar - bakteriya hujayrasida parazitlik qiluvchi viruslar.

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

Basillalar - shakli tayoqchasimon spora hosil qiluvchi bakteriyalar.

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

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

Biota - o'simlik, hayvon va mikroorganizmlar yashaydigan muhit. Biosenzordan 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 maxsulotlar olish texnologiyalar 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* bakteriyasini anaerob sharoitda oziq-ovqat mahsulotlarida rivojlanib, hosil qilgan toksinlari ta'sirida insonlarni zaharlanishi.

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

Vibrionlar - shakli vergulsimon bo'lgan bakteriyalar.

Vilt - o'simlikni o'tkazuvchi to'qima naylarini zararlanib, so'lishni yuzaga kelishi. Bunga misol qilib, g'o'zaning vertisellyoz 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 aktinomisetlarning ipsimon tuzilishdagi vegetativ tanasi. Giflar to'plami miseliy deb ataladi.

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

Gramm usulida bo'yash - quritilgan va fiksasiya 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 strukturasi (ribosoma, xromosoma, mitoxondriya va boshqalar) atom massasini o'lchov birligi. U uglerodni atom massasini 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.

Denitrifikasiya - mikroorganizmlar vositasida nitrat kislotani qaytarilib nitrit kislotaga va erkin azot hosil bo'lishi demakdir.

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

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

Diplokokk - ikkitadan bo'lib turadigan sharsimon bakteriyalar.

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

Jelatina - kollagen oqsillarni denaturasiyasi mahsuloti. Mikrobiologiyada qattiq oziqa tayyorlashda, 10-15% miqdorda solinib oziqa qotiriladi. Bunday oziqa muhitlar 23°S da qotadi 25-30°S da eriydi.

Zamburug'lar - o'ziga 250000 dan ortiq turni o'ziga biriktirgan eukariotlarning katta guruhi. Ular dunyo (Kingdom) cifatida ajratilib (Fungi, Mycota), quyidagi sinflarga bo'linadi: Xitridiomisetlar, Oomisetlar, Zigomisetlar, Askomisetlar, Bazidiomisetlar va takomillashgan zamburug'lar yoki Deyteromisetlar.

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

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

Identifikasiya - mikroorganizmlarni 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 ishlatiladigan moy.

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

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

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

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

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

Kapsid - virusni oqsil qobig'i.

Klon - jinsiz ko'paytirish orqali bitta hujayradan olingan, irsiy jihatdan bir xil

mikroorganizm kulturasi.

Kokk - hujayrasi sharsimon bakteriyalar.

Kolitr, koli-indeks - ichak tayoqchasini litr suvdagi yoki qattiq substratdagi hujayralarining miqdori. Suvni yoki oqava suvlarni ifloslanish darajasini belgilovchi ko'rsatkich. Bizdagi ichimlik suvini koli-indeksi 3 dan, kolititri - 300 dan yuqori bo'lmasligi kerak.

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

Laminar boks - mikrobdan holi muhitni hosil qiladigan qurilma. Steril sharoitda biologik ob'ektlar bilan ishlashda foydalaniladi.

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

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

Lofotirixlar - hujayrasini 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°S haroratda yaxshi rivojlanadigan mikroorganizmlar, ular uchun minimal harorat 0-10°S, optimal harorat 25-30°S, maksimal harorat - 40-45°S 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 oziqa 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 biosenozda tarqalgan turli mikroorganizmlarning majmui.

Mikrokokklar - sharsimon shaklga ega, grammusbat bakteriyalar.

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

Miseliy - zamburug'lar va aktinomisetlarning vegetativ tanasi bo'lib, giflardan tashkil topgan.

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

Monotrix - tanasida bitta xivchini bo'lgan bakteriya.

Mutasiya - genomning birorta belgisini o'zgarishiga va ularni avlodlarda

saqlanishiga olib keluvchi spontan yoki indusirlangan o'zgarish.

Mutagenlar - organizmlar mutasiyasiga 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'itni ta'siri azotfiksasiyaga asoslangan, ya'ni ular dukkakdosh o'simliklar bilan simbioz holda yashab havodagi erkin azotni fiksasiya qiladi.

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

Oomisetlar - *Oomycota* bo'limiga kiruvchi zamburug'lar guruhi bo'lib, jinsiz 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 oziqa muhitiga qayta ekish.

Pasterizasiya - suyuq muhitlar, oziqa mahsulotlarini 70-100oS oralig'idagi haroratda 15-30 daqiqa sterillash. Sut, pivo, vino mahsulotlariga ishlov berishda qo'llaniladi.

Penisillin - 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 oziqa muhitlari tayyorlashda ishlatiladi.

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

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

Rizosfera mikroorganizmlari - o'simlik ildiziga yaqin joylashib rivojlanadigan mikroorganizmlar. Ildiz atrofida 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.

Saprotoflar - o'lik organik birikmalarni mineral moddalarga aylantirib oziqlanuvchi mikroorganizmlar. Ular tabiatda moddalarni 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.).

Saxaromisetlar (*Saccharomyces*) - Askomisetlar sinfiga mansub achitqilar turkumi. Eukariot, oval yoki shar shaklida, 10 mkm uzunligacha, miseliy 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 - organizmlarni 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 birini 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.

Spiroxtalar - 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 spirtdagi 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 kislotasi hosil qilish. Bu bakteriyalarga *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus* 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°S gacha rivojlanib ular uchun optimal harorat 35-40°S fakultativ turlari 20°S da ham yashay oladi, optimal harorat 50-65°S, obligat termofillar 70°S da rivojlanadi va 40°S dan past haroratda yashay olmaydi, ekstremal termofillar uchun 80-105°S optimal harorat bo'lib, 60°S dan past haroratda rivojlana olmaydi. 90°S dan ortiq haroratdagi qaynoq buloqlarda ham qayd etilgan.

Tindalizasiya - qatorasiga 3 kun, kuniga bir marta 30 daqiqadan Kox apparatida 70-100°S haroratda qizdirish. Tindalizasiyada sporalı mikroorganizmlar ham qirilib

ketadi. Tindalizasiya 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 hosil bo'lgan 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.

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

Xemosintez - bakteriyalar metabolizmi bo'lib, CO₂ 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 O₂ 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 sodda 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 kulturasi, bir turga mansub bo'lib ayrim xususiyatlari bilan farqlanadigan mikroorganizmlar turi.

Endospora - basillalar, klostridiylar vegetativ hujayralari ichida paydo bo'ladigan sporalar. Stress tashqi ta'sir (yuqori harorat, qurg'oqchilik va boshqa) larga chidamli bo'ladi. Endosporlarni hosil bo'lishi spora hosil qiluvchi bakteriyalarni 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 kiradi

