

# МИКРОБИОЛОГИЯДАН ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТЛАРИ



ТОШКЕНТ-2014

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

Ушбу услубий қўлланма

**Билим соҳаси:** 400000 – Қишлоқ ва сув хўжалиги

**Таълим соҳаси:** 410000 – Қишлоқ, ўрмон ва балиқ хўжалиги

**Таълим йўналишлари:**

5420100-Фермер хўжалигини бошқариш ва юритиш

5411000 - Мева-сабзавотчилик ва узумчилик

5410400 – Қишлоқ хўжалиги экинлари селекцияси ва уруғчилиги

5410200 - Агрономия (деҳқончилик маҳсулотлари бўйича)

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

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

**Тузувчилар:**

М.А.Зупаров

А.А.Хакимов

У.Н.Рахмонов

А.Н.Аллаяров

Р.К.Саттарова

Н.Т.Хакимова

**Такризчилар:**

**Ф.М.Бойжигитов** - Ўзбекистон ЎХҚИТИ Қишлоқ хўжалиги экинлари касалликларини ўрганиш лабораторияси катта илмий ходими, қишлоқ хўжалик фанлари номзоди

**Э.А.Холмуродов** – ТошДАУ Ўсимликларни ҳимоя қилиш кафедраси мудири, қишлоқ хўжалик фанлари доктори, профессор

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

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ҚИШЛОҚ ВА  
СУВ ХЎЖАЛИГИ ВАЗИРЛИГИ**

**ТОШКЕНТ ДАВЛАТ АГРАР УНИВЕРСИТЕТИ**

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

**МИКРОБИОЛОГИЯДАН  
ЛАБОРАТОРИЯ  
МАШҒУЛОТЛАРИ**  
(услубий қўлланма)

**Тошкент – 2014**

## КИРИШ

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

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

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

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

## МИКРОБИОЛОГИЯ ЛАБОРАТОРИЯСИ ВА УНДА ИШЛАШ ҚОИДАЛАРИ

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

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

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

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

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

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



*Ёруғлик микроскопи*



*Автоклав*



*Қуритиш шкафи*



*Термостат*



*Центрифуга*



*Сув ҳаммоми*



*Лаборатория шиша идишлари*

2. Лабораторияда чекиш ва овқатланиш ман этилади.

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

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

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

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

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

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

Лабораторияда микроскопик препаратларни бўйаш учун алоҳида жой ажратилган бўлади. Бу ерда бўёқлар эритмаси, спирт, кислоталар, фильтр қоғоз ва бошқалар мавжуд бўлиши керак. Ҳар бир иш жойи газ ёки спиртли лампа ва дезинфекция эритмаси солинган шиша идишлар билан таъминланган бўлиши

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

### **Микробиологик лабораторияларда қўлланиладиган асбоблар:**

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

**Қуритиш шкафи (Пастер печи).** Шиша, чинни ва металдан ясалган лаборатория идишлари ҳамда бошқа материалларни стериллаш учун мўлжалланган.

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

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

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

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



## МИКРОСКОП ВА УНИНГ ТУЗИЛИШИ

**Машғулоти ўтиш тартиби:** Биологик микроскопнинг тузилиши ва улар билан ишлаш қонун қоидаларини ўрганадилар.

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

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

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

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

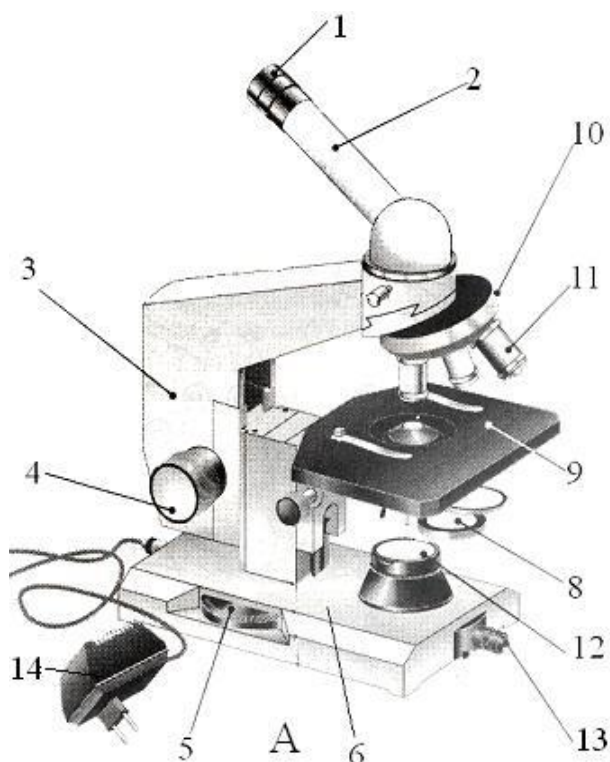
Биологик микроскоп иккита асосий қисмдан иборат: *механик* ва *оптик*.

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

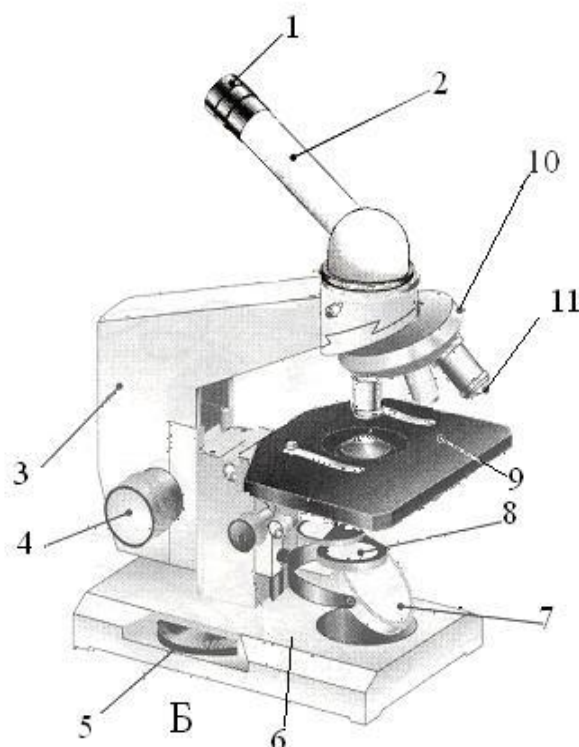
*Оптик* қисмларига – окуляр, объектив, ёритгич ёки конденсор, кўзгу киради.

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

Препаратларни кўл билан сурилгандан кўра, винт билан аниқ суриш мумкин.



**МИКМЕД-1**



**БИОЛАМ**

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

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

**Объективлар:** Объективнинг гардишида ёзилган 8, 40, 90, 120 рақамлари шу объективни неча марта катта қилиб кўрсатишини билдиради. 8- объектив камроқ катта қилиб кўрсатса, 40- объектив ўртача, 90 ва 120 иммерсион объектив жуда катта қилиб кўрсатади. Иммерсион объектив дейилишининг сабаби, бу объективдан фойдаланилганда препаратга бир томчи кедр мойи (иммерсион мой) томизилади ва объектив линзаси шу мой томчисига ботирилади. Объектив иммерсион мойга ботиб

турганлигидан унга ёруғлик нурлари кўпроқ тушади. Бунинг сабаби шуки, конденсордан буюм ойнасига келувчи ёруғлик нурлари шу ойнада синади. Ойнада кедр мойи бўлмаса, объектив шу жойга ботиб туради, мойнинг нур синдириш коэффициенти буюм ойнасининг ёруғлик нур синдириш коэффициенти билан бир-бирига яқин бўлгани учун ёруғлик нурлари бир жинсли муҳитдан ўтиб кетади ва синмайди, буюм ойнасидан кедр мойи орқали тўғридан-тўғри объектив линзасига боради. Натижада текширилаётган микроорганизмлар аниқ кўринади. Демак, ёруғлик нурлари фақат бир марта синади. Буюм ойнаси билан линза орасида мой ўрнига ҳаво бўлса (ҳаво нурни мойга қараганда камроқ синдиради), ҳавода ёруғлик нурлари иккинчи марта синади, шунга кўра объектив линзасига камроқ нур боради. Буюм ойнасининг ёруғлик синдириш коэффициенти қараганда ( $n=1,32$ ) ҳавонинг ёруғлик синдириш коэффициенти ( $n=1,0$ ) камроқ бўлади.

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

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

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

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

ёритгичдан фойдаланганда микроскопнинг кўрув майдони кўзгунинг ёлғиз ўзидан фойдаланишга қараганда яхшироқ ёритилади.

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

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

1. Қоронғилаштирувчи кардиоид ва параболоид - конденсорлар;
2. Фазо-контраст мосламалар;
3. Кўринишни табиий шароитга яқинлаштирувчи жуфт окулярли насадка;
4. Қулай ва турғун ёруғликни таъминловчи ёритгичлар;
5. Микроскопик объектларни ўлчаш учун мўлжалланган окуляр -микромметр ва объект-микромметрлар;
6. Препаратларни расмини чизувчи, расм оладиган асбоб. Бу асбоб ёрдамида бир вақтнинг ўзида объект ва столдаги микроскопга яқин турган қоғоз тасвирини кўриш ва қоғозга контурларини чизиш мумкин.;
7. Ёруғлик манбаи билан микроскоп оралиғига ўрнатиловчи ва микрофотографияларда, микроскопиянинг махсус усулларида қўлланувчи рангли, нейтрал, оптик ёруғлик филтрлари;
8. Микроскопик объектларнинг расмини олиш учун ишлатилувчи микромосламалар;

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

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

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

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

### **Люминесцент ёки флюоресцент микроскопда кўриш.**

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

Бирламчи люминесценция объект олдиндан бўялмаса ҳам кузатилади. Иккиламчи люминесценция эса, препаратни махсус люминесцент бўёқлар - флюорохмалар билан бўялганда ҳосил

бўлади. Люминесцент микроскопия бошқа усулларга нисбатан бир мунча афзалликларга эга: тирик микроорганизмларни текшириш ва текширилаётган материалларда жуда кам микдорда бўлса ҳам уларни топиш.

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

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

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

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

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

Микроскопни бир жойдан иккинчи жойга иккита қўл ёрдамида кўчирилади, бунда бири билан штатив ушлаб турилса, иккинчиси билан унинг асоси ушланади. Микроскопни бошқа буюмлар билан урилишидан, турли моддаларни таъсиридан (кислота ва ишқорлардан) сақлаш керак. Окулярни трубкадан



*Ёруглик микроскопи*  
**Leica - DM3000**



*Люминесцент микроскоп*  
**Микромед 3 ЛЮМ**



*Ёруглик микроскопи учун окуляр ва объективлар*



*Электрон микроскоп - Hitachi H-7650*

чиқариб қўйиш мумкин эмас, чунки бу ҳолат объектив ва трубкани чанг босишига сабабчи бўлади.

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

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

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

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

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

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

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

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

**4.** Микроскопга қаралади. Секин-аста кўзгу ёрдамида ёруғлик топилади. Препаратга фокус тўғриланади. Препарат аниқ



кўринишга эга бўлгунча конденсор пастга туширилади. Диафрагмага кўзгу ёрдамида ёруғлик тўғриланади.

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

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

### **Объектларни ёруғлик микроскоплари ёрдамида ўлчаш**

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

бўлаги (20 мкм), окуляр микрометрнинг бешта бўлагига тўғри келса, окуляр микрометрнинг битта бўлаги 4 мкм (20:5) бўлади.

Препаратдаги объектни ўлчами унинг хужайраси окуляр микрометрни бўлагига тўғри келишини аниқлаб ва бу сонни окуляр микрометрнинг бир бўлагини ўлчамига кўпайтириб топилади.

### **Микроскопда ишлашнинг асосий қоидалари**

Микроорганизмлардан тайёрланган препаратни микроскопда текшириш учун қуйидаги ишлар бажарилади:

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

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

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

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

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

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

### **ПРЕПАРАТЛАРНИ ТАЙЁРЛАШ ВА БЎЯШ УСУЛЛАРИ**

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

Оддий ва мураккаб бўяш усуллари ва уларни тайёрлаш техникаси ишлаб чиқилади. Машғулоти давомида Грамм усулида спораларни бўяш билан танишилади, кейин мустақил равишда

мазоклар тайёрланади, оддий ва мураккаб усулда бўялади, препаратларни микроскоп остида кўрилади ва расмлари чизилади.

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

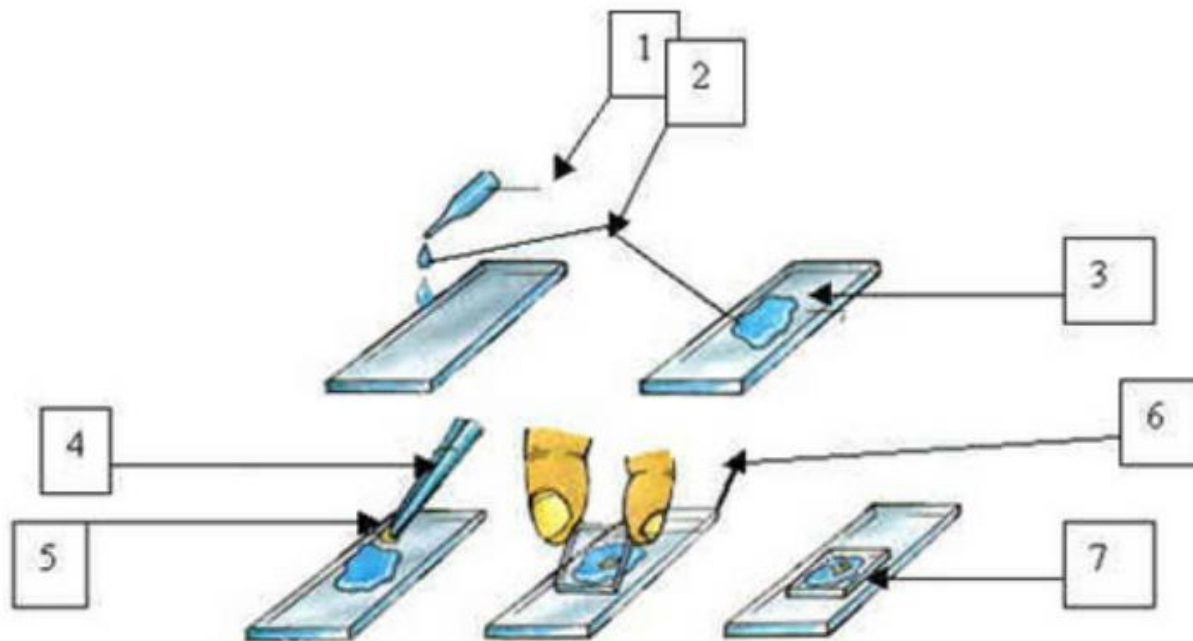
Микроорганизмлар препаратларини тайёрлаш учун буюм ойнаси билан қоплағич ойналар ишлатилади. Препарат тайёрлашдан олдин буюм ойнасидаги мойни кетказиш учун у спиртга ҳўлланган латта, сўнгра тоза латта билан артиб қурилади. Сув ойна устида томчилар ҳосил қилмасдан ёйилиб кетса, бундай ойна тоза ҳисобланади.

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

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

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

### *Эзилган томчи препаратини тайёрлаш*



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

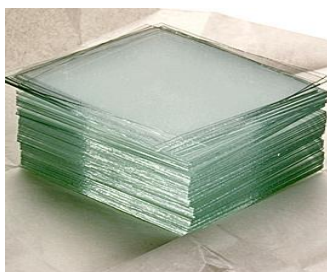
Қоплагич ойнани томчи четига қирраси билан қўйиб, кейин аста-секин бутун томчини ёпиш керак.

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

Эзилган ва осилган томчи препаратлари бактерияларнинг ҳаракатини текширишга имкон беради.

**Суртма (қуруқ препарат) тайёрлаш.** Микроорганизмларни иммерсион объектив билан катта қилиб кўриш учун ўлдирилган микроблардан қуруқ препарат тайёрланади. Бу препаратлар микробиологик амалиётида кўп қўлланилади. Уларни бўялган ҳолда микроскоп остида кўрилади. Фиксацияланган препаратларнинг моҳияти шундан иборатки, тирик объектнинг

хаёт фаолияти тўхтатилиб, унинг тузилиши сақлаб қолинади. Фиксацияланиш туфайли хужайра шишага маҳкам ёпишади ва яхши бўйлади. Фиксацияланган препаратлар патоген микроорганизмлар билан ишлаганда жуда муҳим (хавфсизлик нуқтаи назаридан).



*Препарат ва қоплагич ойналар*

*Махсус препарат ойнаси*



*Препарат тайёрлаш учун зарур асосий жиҳозлар*

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

алангаси устида, агар хужайрани ички тузилиши ўрганиладиган бўлса кимёвий бирикмалар ёрдамида амалга оширилади. Биринчи ҳолатда препарат аланга устидан ён томони билан 3-4 марта секинлатиб ўтказилади.

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

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

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

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

**Препаратларни бўяш усуллари.** Бўяшнинг оддий ва дифференциялашган усуллари мавжуд. Оддий бўяшда бирор бир бўёвчи модда масалан, ишқорли ёки карболлий эритмаси метилен кўки, фуксин, бинафша ранг генциан ишлатилади. Бунда хужайранинг ҳамма қисми бўялади. Турли бўёқлар билан дифференциялашган бўяшда эса хужайранинг маълум бир тегишли қисми бўялади. Бунга спораларни Грамм усулида бўяшни келтириш мумкин.

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

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

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

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

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

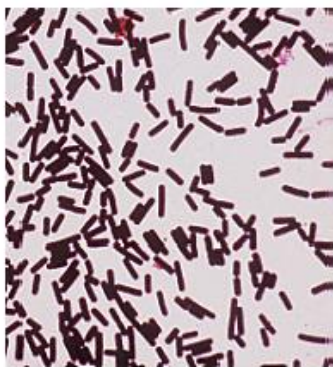
1. Грамм усулида микроорганизмлар бинафша ранг бўялса грамм-мусбат дейилади.

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

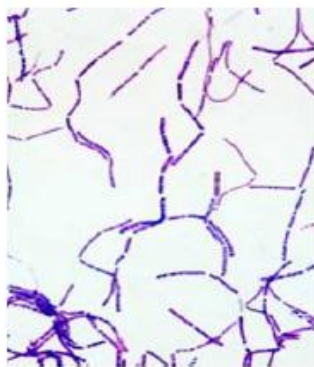
Грамм усулида бўяш микроорганизмларнинг турини аниқлаш учун асосий белги бўлиб, у қуйидагилардан иборат:

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

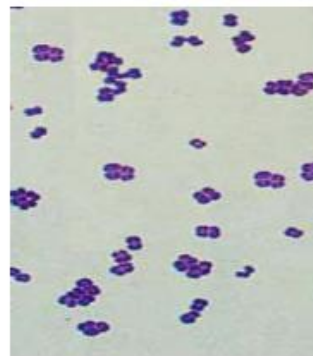




A



Б



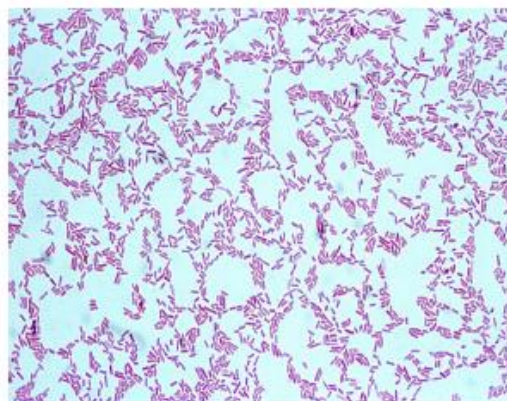
В

### Граммусбат бактериялар

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



A



Б

### Грамманфий бактериялар

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

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

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



Споралар хужайра протоплазмасига нисбатан рангини секин, кийинчилик билан йўқотади. Шунинг учун споралар қуйидагича бўялади:

**1.** Фиксация қилинган қуруқ мазок тайёрланади.

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

**3.** Фильтр қоғоз пинцет билан авайлаб олинади.

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

**5.** Препарат сув билан ювилади.

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

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

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

## МИКРООРГАНИЗМЛАР МОРФОЛОГИЯСИ

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

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

### Бактериялар

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

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

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

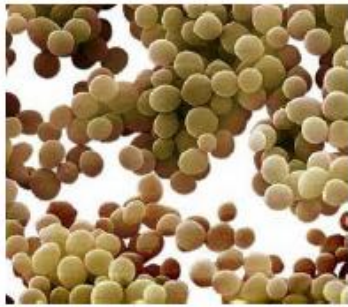
2. Диплококк (лотинча “*deplos*” иккита) иккита шарсимон ҳужайрани бирикишидан ҳосил бўлган бактериялар. Буларга *Azotobacter chroococcum* мисол бўлади.

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

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

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

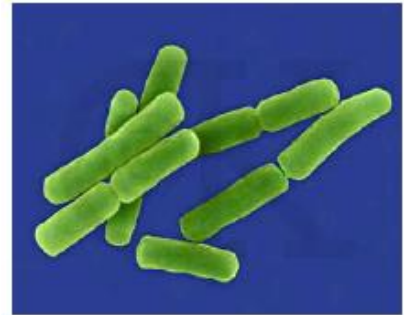
## *Бактерия ҳужайраларининг шакллари*



*А*

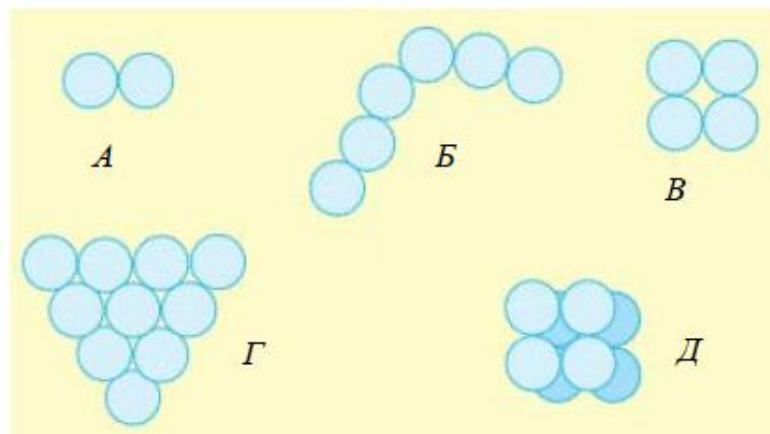


*Б*



*В*

*А-шарсимон, Б-бурама, В-таёқчасимон*



*А-диплококк, Б-стрептококк, В-тетракокк, Д-сарцина Г-стафилококк*



*А-вибрион, Б-спирилла, В-спирохета*

## *Бактериялар хивчинларининг жойлашиши*



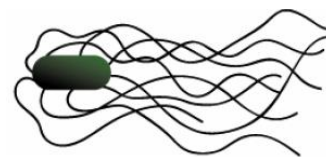
*Монотрих*



*Амфитрих*



*Лофотрих*



*Перитрих*

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

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

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

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

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

1. Вибрионлар (лотинча *vibrion*-тебраниб турувчилар) нинг ҳужайралари вергулсимон эгилган бўлади.

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

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

### **Актиномицетлар**

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

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

килади. Озиқа муҳитларида ҳосил бўлган актиномицетларнинг мицелийлари дифференциаллашган бўлиб, бир қисми субстратга ботган (субстрат мицелийлари) бир қисми эса субстрат устида (ҳавойи мицелийлар) бўлади.

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

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

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

### **Замбуруғлар**

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

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

**Zygomycetes.** Булар тубан замбуруғларга кириб, уларнинг мицелийлари бир хужайрали, шохланган, кўп ядроли бўлади. Улар вегетатив жинсий ва жинсиз йўл билан кўпаяди. Вегетатив кўпайганда гифларнинг айрим бўлаклари, жинсий кўпайганда эса ота-она гифларини ўзаро қўшилишдан ҳосил бўлган зигоспоралар ёрдамида кўпаяди. Жинсиз кўпайиши споралар ёрдамида амалга ошади.

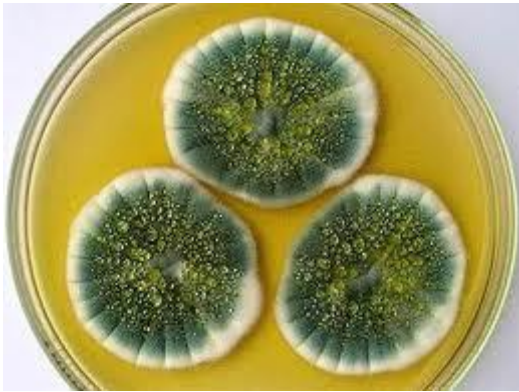
*Zygomycetes* ларга мисол қилиб *Mucor* ва *Rhizopus* туркумининг вакиллари олиш мумкин. Бу замбуруғлар ўсимлик маҳсулотларида, ўсимликлар билан озиқланадиган ҳайвонларнинг гўнгларида, чириндига бой тупроқларда ўсиб, ривожланади ва уларнинг сиртида оқ ёки қўнғир рангдаги пўпанаклар ҳосил қилади.

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

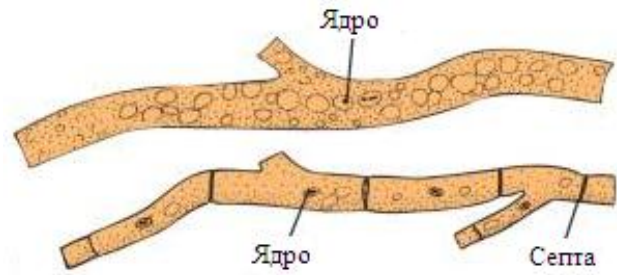
Мукор замбуруғларини микроскоп орқали кузатиш учун препарат нинаси ёрдамида эҳтиётлик билан мицелийнинг бир бўлаги олинади ва бошқа бир препарат нина билан қуруқ буюм ойнаси сиртига туширилади. Препарат сиртига қоплагич ойна ёпмасдан микроскопнинг кичик объективи орқали кузатилади. Бунда спорангий бандлари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

*Mucor* замбуруғларини ажратиб олиш учун суслло-агарли озукаси солинган Петри ликобчаларга чириндига бой тупроқ ёки янги от гўнгининг бўлакчаларини териб чиқилади ва Петри

## Замбуруғларнинг морфологияси



*Мицелий*

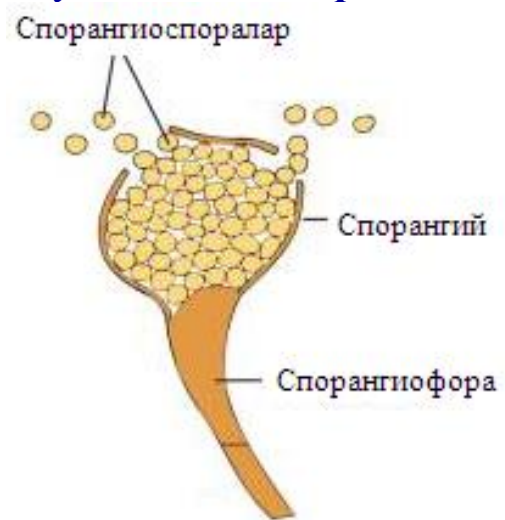


*Гифанинг тузилиши*

## Замбуруғларнинг жинссиз кўпайиш типлари



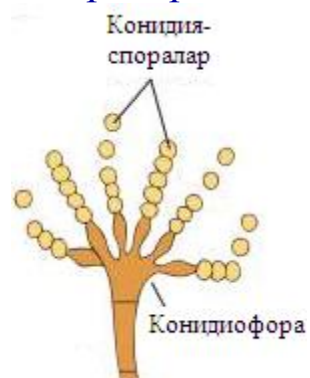
*Артроспоралар*



*Спорангиоспоралар (Mucor, Rhizopus)*



*Хламидоспоралар*



*Конидияспоралар (Aspergillus, Penicillium)*

ликобчаларининг ёнига нам фильтр шиша қалпоқча тагига жойлаштирилади ҳамда 3-4 кунга қолдирилади. Сўнгра юзага келган замбуруғ колонияларидан препарат тайёрлаб микроскоп остида кузатиш мумкин.

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

Ачитқи замбуруғларининг ҳужайраси 8-15 мкм гача бўлади. Уларнинг шакли турли-туман: эллипсимон, ноксимон, юмалоқ ва цилиндрсимон бўлади.

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

Лаборатория машғулотлари учун уй шароитида ишлатиладиган ачитқи замбуруғлардан фойдаланиш мумкин. Бунинг учун дарс бошланишидан бир неча соат аввал бир бўлак ачитқи замбуруғини шакар солинган илиқ сувга солиб, илиқ жойга қўйилади. Бу ҳолатда оқиш сутсимон суюқлик ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган суюқликдан бир томчисини буюм ойнасига томизилади ва устидан қопағич ойнаси ёпилиб, иммерсион мойи томизилади, сўнгра микроскопнинг объективида препарат кузатилади. Микроскопнинг кичик объективидан ҳам ҳужайралар яхши кўринади. Нонвойчиликда ишлатиладиган ачитқи замбуруғларининг икки хил ирқи кузатилади. Бирининг ҳужайралари юмалоқ-эллипссимон бўлиб, куртакланган ҳужайралар тез ажралиб кетади. Иккинчисининг ҳужайралари чўзиқ цилиндрсимон бўлиб, куртакланганда шохланган сохта



мицелийлар (псевдомицелийлар) ҳосил қилади. Ачитқи замбуруғларнинг ҳужайраларида кўп ҳолларда марказий қисмини эгаллаган, донатор ҳолатдаги вакуолалар яққол кўзга ташланади.

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

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

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

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

Бу замбуруғлардан препарат тайёрлашда *Aspergillus niger* ни Петри ликобчасидаги озиқа муҳитида ўстирилган колонияларидан фойдаланилади. Бунинг учун колониянинг қора ва оқиш қисми оралиғидаги бир бўлак мицелий иккита препарат нинаси ёрдамида сиртида бир томчи суви бор буюм ойнасига кўчириб қўйилади ва унинг устига эса қоплагич ойна ёпилади.

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

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

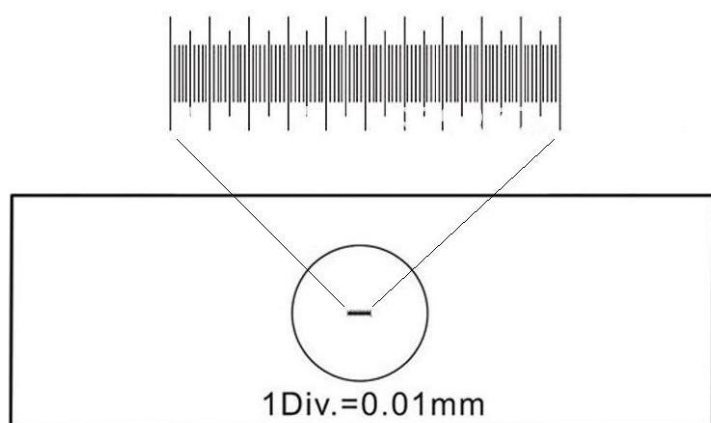
*Alternaria* туркумига кирувчи замбуруғ турларини тупроқдан, зарарланган картошка ёки помидор баргидан, қарам уруғидан ва бошқа ўсимликлардан ажратиб олиш мумкин. Уларнинг конидийлари ўзига хос тузилишга эга бўлиб, кўп ҳужайрали, кўндаланг ва узунасига кетган тўсиқлари бор, турли шаклдаги кўринишга эга.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

Микроорганизмлар нанометр (нм) ва микрометрлар (мкм) билан ўлчанади: 1мкм-10<sup>-3</sup>мм; 1нм – 10<sup>-6</sup>мм; 1мкм – 1000 нм.

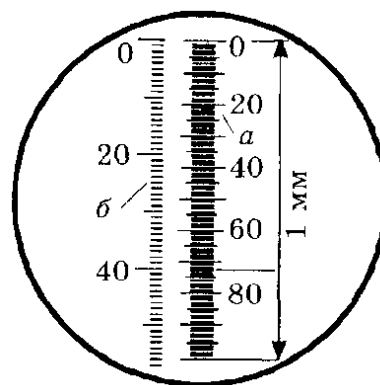
Микроорганизм ҳужайраларини окуляр ва объектив микрометрларда ўлчанади. Окуляр микрометр думалок шаклда

бўлиб, шиша пластинкадан иборат. 5 мм узунликдаги шкала бўлиб, 50 та бўлимга бўлинган. Окуляр микрометрни окуляр линзалари ўртасига шкаласини пастга қаратиб ўрнатилади.

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



*Объект-микрометр*



*Окуляр-микрометр*

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

Иккала микрометрнинг чизиғи бир-бирига параллел жойлашиши лозим. Сўнгра окуляр-микрометр бўлинмалар сонига

тўғри келган объект микрометрнинг бўлинмаларнинг сони белгиланади. Объект микрометр бўлинмаларининг катталигини (10 мкм) билган ҳолда окуляр микрометрнинг бўлинмалар катталиги аниқланди. Шундан сўнг объект микрометр текширилаётган препарат билан алмаштирилади ва микроорганизм ҳужайрасининг ўлчами окуляр микрометр чизиги билан, унинг бўлинмаси ўлчанган даражадаги катталиқда аниқланади.

## СТЕРИЛЛАШ УСУЛЛАРИ

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

Талабалар автоклав, қуритиш шкафлари, Пастер печи билан таништирилади.

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

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

**Стериллашнинг термик ва совуқ усуллари бор.** Микробиологияда термик стериллашнинг қуйидаги усуллари қўлланилади: алангада куйдириш ва қиздириш, қуруқ (иссиқ ҳаво билан) стериллаш, босим ёрдамида буғ ёрдамида стериллаш (автоклавлаш), поғонали стериллаш (тиндаллаш), қайнатиш. Совуқ стериллашдан филтрлаш, газ ҳосил қилувчи моддалар

билан стериллаш, ультрабинафша нурини таъсир эттириш ва бошқалардан фойдаланилади.

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

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

### **Физик усуллар билан стериллаш**

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

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

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

**Нам стериллаш.** Нам стериллаш, яъни буғ ёрдами билан стериллаш учун Кох аппарати ёки автоклав ишлатилади. Кох аппарати 70-100°C да стериллайди. Автоклав 100-154°C ҳароратда босим остидаги буғ билан стериллайди. Автоклав қўш деворли қозондан иборат бўлиб, винт билан жипс ёпиладиган қопқоғи, ҳаво ва буғ чиқарадиган жўмраги бор. Бундан ташқари, қозонга манометр ўрнатилган, у автоклав ичидаги буғ босимини кўрсатиб беради. Автоклавнинг эҳтиёт клапани ҳам бўлади. Автоклавга сув қуйилади, сувнинг устида таглик туради, бу тагликда буғ ўтадиган тешиклар бор. Стерилланадиган материал ўша тагликнинг устига жойланади. Автоклавда ҳам сув - электр ёки газ алангаси билан иситилади. Автоклав қопқоғи жипс ёпилади, ичидаги сув қайнагунча иситилади. Автоклав ичидаги бутун ҳавони сув буғлари сиқиб чиқаргунча жўмраги очиб қўйилади. Ҳаво чиқиб бўлгандан кейин жўмрак ёпилади, автоклав ичида тўпланган буғ эса босимни оширади, натижада сувнинг қайнаш ҳарорати кўтарилади. Босим бир атмосферага етгач (манометрдан билинади), сувнинг қайнаш ҳарорати 120°C га тенг бўлади. Босим остида 25-30 дақиқагача шу даражада тутилади, сўнгра сувни иситиш тўхтатилади. Автоклав манометрининг кўрсатган босими билан қозон ичидаги иссиқликнинг тўғри эканлигини назорат қилиб туриш лозим.

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

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



*Вертикаль автоклав*



*Горизонталь автоклав*



*Қуритиш шкафи*



*Кох аппарати*



*Бактерицид лампа*



*Ламинар бокс*

улгурган бўлиши эҳтимол деб учинчи марта 100°C гача қиздирилади.

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

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

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

### **Механик усуллар билан стериллаш**

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

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



Фильтрлаш усулидан суюқ, қиздиришга чидамсиз моддаларни (антибиотиклар) стериллашда фойдаланилади. Бундан ташқари, бу усул ёрдамида микроорганизмларни токсинлари ва уларни ҳаёт фаолиятида ажралиб чиқадиган турли хил бошқа маҳсулотлари ҳам стерилланади. Бу усулнинг ноқулайлиги шундаки, суюқлик секин филтрдан ўтади ва тез-тез филтрни тозалашга тўғри келади.

### **Кимёвий стериллаш**

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

## **МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЎСТИРИШ УЧУН ОЗИҚА МУҲИТЛАРИ ТАЙЁРЛАШ УСУЛЛАРИ**

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

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

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

Микроорганизмлар ҳужайрасининг куруқ таркибини: С-50%, N-10-13%, H-8%, O-20%,  $P_2O_5$ -4%,  $K_2O$ -3%,  $SO_3$ -1%,  $MgO$ -0,8%,  $CaO$ -1%,  $Fe_2O_3$ -0,08% ва жуда оз микдорда микроэлементлардан иборат.

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

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

Ҳар бир муҳит таркибига кўра маълум усул билан стерилланади.

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

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

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

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

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

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

Озиқа муҳитлари консистенциясига кўра суюқ, ярим суюқ ва қаттиқ бўлади. Суюқ озиқа муҳитлари асосан сувдан ва унда суюлтирилган моддалардан иборатдир (гўшт суви, гўшт-пептон қайнатмаси, картошка суви).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3. Ёт микроорганизмлардан ҳоли қилиш учун стерилланган бўлиши шарт.

4. Озиқа муҳити тиниқ бўлиши керак, сабаби у микроорганизмларни ўсишини кузатиш учун қулайдир.

5. Озиқа муҳити рН реакциясига тўғри келиши керак.

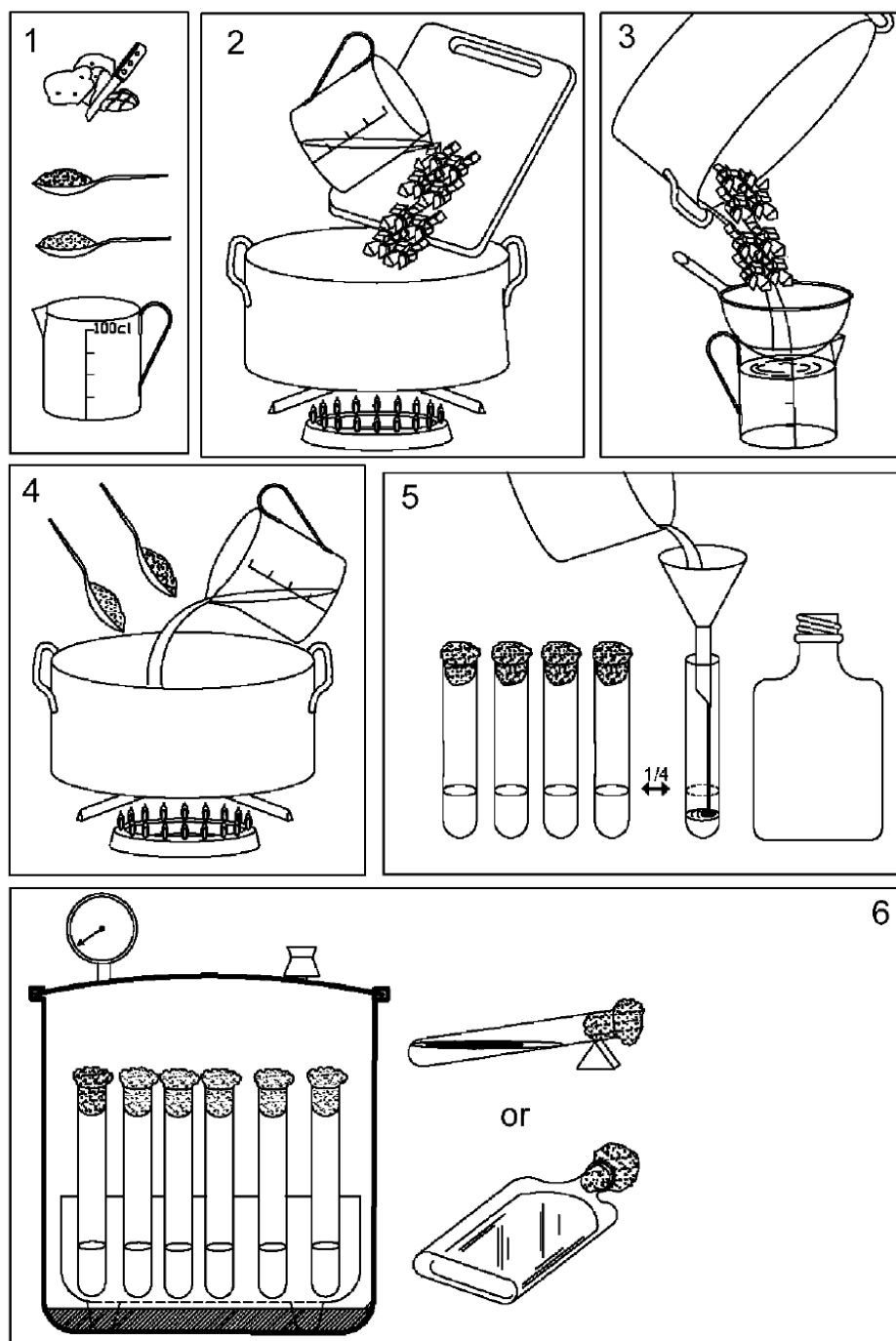
6.

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

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

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

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



*Картошкали озиқа муҳити тайёрлаш кетма-кетлиги*



*Тайёр озиқа муҳитлар*

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

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

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

#### Чапека озиқа муҳити

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

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

#### Омелянский озиқа муҳити

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

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

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

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

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

## МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЭКИШ

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

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

Микроорганизмларни ўстириш учун стерилланган озиқа муҳитлари тайёрланади. Таркибида микроорганизмлар бўлган материални (тупроқ, сув, озиқ-овқат) стерилланган озиқа муҳити юзасига тушириш экиш дейилади. Ўстирилган микроорганизмларни озиқа муҳити солинган бир пробирка, колба ёки Петри ликобчасига экиш қайта экиш дейилади. Микробиологик сиртмоқ микроорганизмларни экиш учун энг қулай асбоб ҳисобланади. Бундан ташқари, санчиб экиш учун махсус микробиологик нина, Петри ликобчасига экиш учун - металлдан ёки шишадан тайёрланган шпателлар қўлланилади. Суюқ озиқа муҳитларга экиш учун сиртмоқлар билан бир қаторда турли хил пипеткалар ишлатилади. Пипеткаларнинг иккинчи, яъни кенг томони пахта билан беркитилади, сўнгра улар

махсус идишга жойлаштирилади ёки қоғоз билан ўралиб стерилланади. Микроорганизмларни озиқа муҳитига экканда ҳаводан ёки теварак-атрофдаги нарсалардан ёт микробларнинг тушишига йўл қўймаслик учун қуйидаги ишлар амалга оширилади:

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

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

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

- Иккала пробирканинг четлари спирт лампасининг алангасига тутиб қиздирилади.

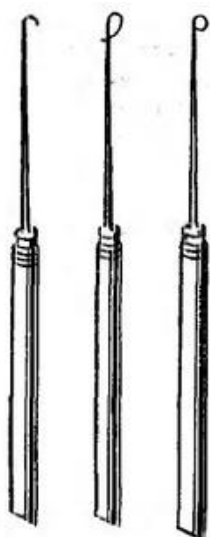
- Сиртмоқ микроорганизмли пробиркага тиқилиб, аввал микроорганизмсиз жойига тегизилади, бундан мақсад, сиртмоқнинг ҳаддан ташқари қизиб кетмаганлигини текшириб кўришдир, сўнгра сиртмоқ билан микроорганизмлар ёки микроорганизмлар аралашган суюқликдан бир оз олинади, бунда сиртмоқни пробирканинг деворларига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

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

- Сиртмоқнинг спирт лампасининг алангасига тутиб қизаргунча қиздирилади.

Анаэроб микроорганизмларни экиш учун улар зич озиқа муҳитининг (ГПА, ГПЖ) орасига киритилади, бунда у санчиб экилади. Бунинг учун микробиологик нина ишлатилади. Бундай нина симининг учи сиртмоққа ўхшаб қайрилган эмас, балки ўткирлангандир. Юқорида келтирилган қоидаларга амал қилиб,





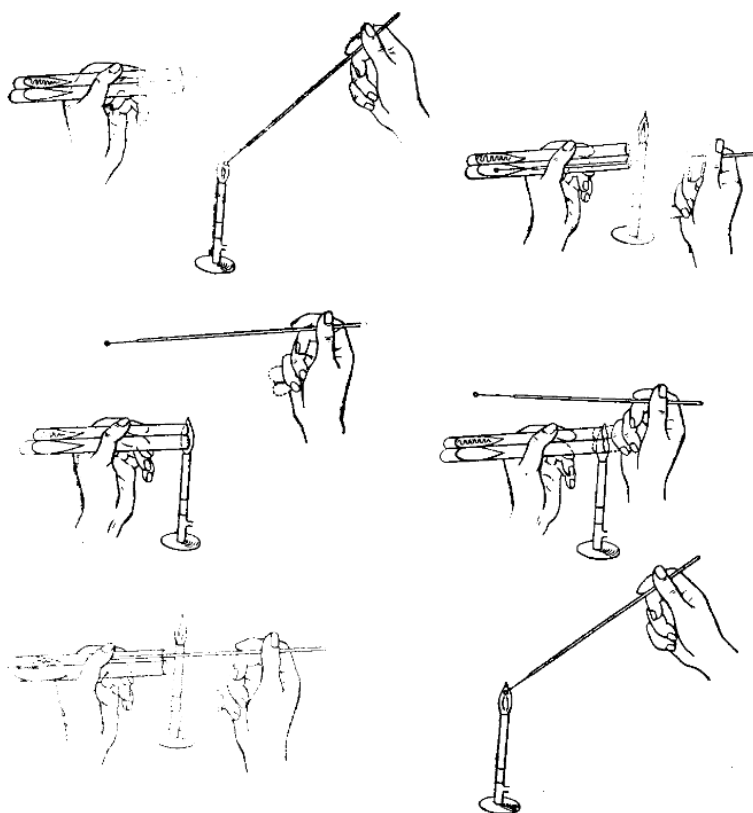
*Бактериологик илгаклар*



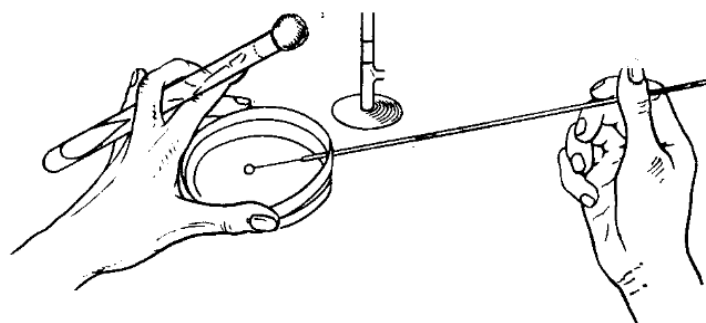
*Скапель*



*Шпатель*



*Пробиркадан пробиркага микроорганизмларни қайта экиш*



*Петри ликобчасидаги қаттиқ озиқа муҳитига экиш*

бундай нина билан бир оз микроорганизм олиниб, қаттиқ озиқа муҳити устунча шаклида қотган пробирканинг тагига санчилади.

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

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

Озиқа муҳитига экилган микроорганизмлар термостатга жойлаштирилади.

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

## **МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ СОФ КУЛЬТУРАСИНИ АЖРАТИШ ВА БЕЛГИЛАРИНИ ЎРГАНИШ ҲАМДА УЛАРНИНГ ТУРЛАРИНИ АНИҚЛАШ**

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

**Керакли асбоблар ва реактивлар:** Микроорганизмлар экилган Петри ликобчалари ва пробиркалар, микробиологик сиртмоқ, бўёқлар, пинцет. Буюм ва қоплағич ойначалар. Микроорганизм колонияларининг шакли туширилган жадваллар. Гисс озиқа муҳити солинган штативлар тўплами билан, гўшт пептон қайнатмаси (ГПҚ), оддий лакмус сут билан, озиқа муҳити солинган (картошкали, глюкоза-пектинли, гўшт-пептонли агарли озиқалари) Петри ликобчалари. Агар озиқаси қийшиқ қотирилган пробиркалар, Пастер найчалари, шпател, турли кислоталарга шимдирилган фильтр қоғоз бўлакчалари. Қизил лакмус қоғозлари (аммиак учун). Микроскоп, бўёқлар, *Pseudomonas fluorescens*, *Xanthomonas malvacearum* бактерияларининг соф культуралари. Тупроқ, ўсимликни зарарланган аъзолари.

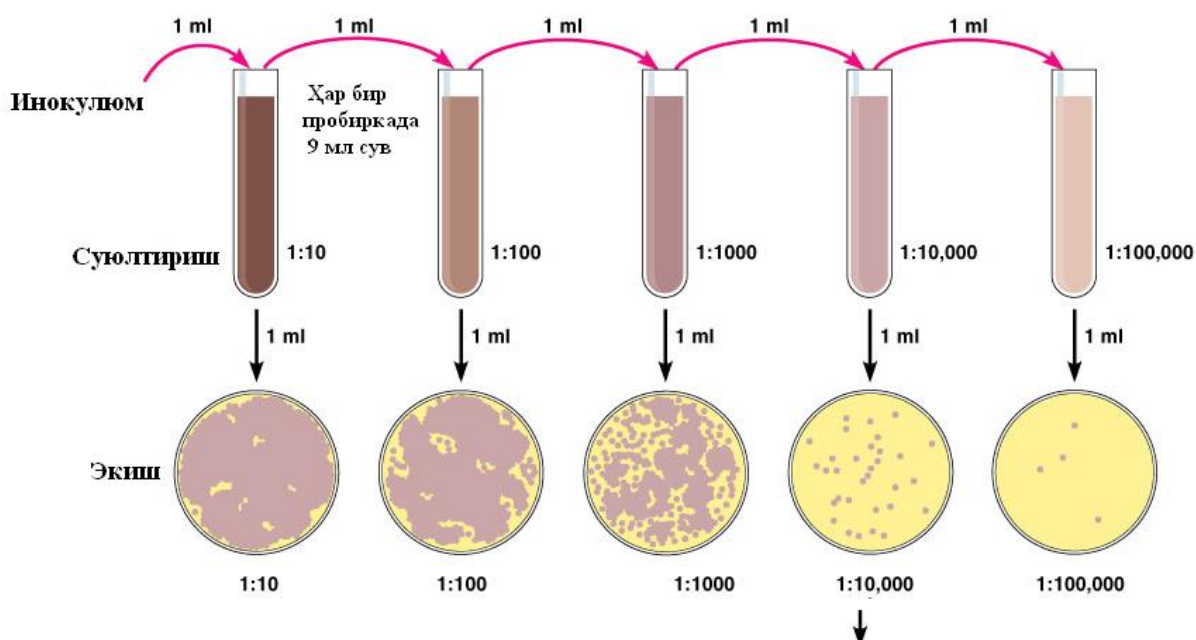
Текширилаётган материалларда микроорганизмларнинг бир тури эмас, балки бир неча тури бўлиши мумкин. Бу кўп тур микроорганизмлар бўлган материалдан битта турини қуйидаги усуллар билан ажратиб олса бўлади: 1. Суюлтириш. 2. Ёйиш ёки тарқатиш. 3. Электив озиқа муҳитларида ўстириш. 4. Бациллаларни ажратиш.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

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

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

Текширилаётган материал суюқ бўлса, микроорганизмларнинг сони тахминан аниқланади ва уларнинг

сони кўп бўлса 0,1 мл, агарда кам бўлса 1 мл олиниб, суюлтирилади. Суюлтиришдан аввал бир неча пробиркаларда 9 мл стерилланган суюқ озиқа муҳити ёки стерилланган физиологик эритма тайёрланади ва пробиркаларга қуйилади. Агарда текшириладиган материалда микроорганизмлар кўп бўлса, биринчи пробиркага 9 мл эмас, балки 9,9 мл қуйилади. Текшириладиган материалдан кам бўлса 1 мл олиниб, тайёр пробиркага қуйилади ва яхшилаб аралаштирилади. Суюлтириш 1:1 нисбатда бўлади. Агарда материалда микроорганизмлар кўп бўлса, пробиркага материалдан 9,9 мл эмас, балки 0,1 мл олинади, бунда суюлтириш 1:100 нисбатда бўлади. Бу суюқликдан 1 мл олиб, учинчи 9 мл ли суюқликка қуйиб аралаштирмасдан 1:1000 нисбатда суюлтирилади.



Ҳисоблаш: Ликобчалардаги колониялар сони  $\times$  Эритманинг нисбати = 1мл даги бактериялар

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

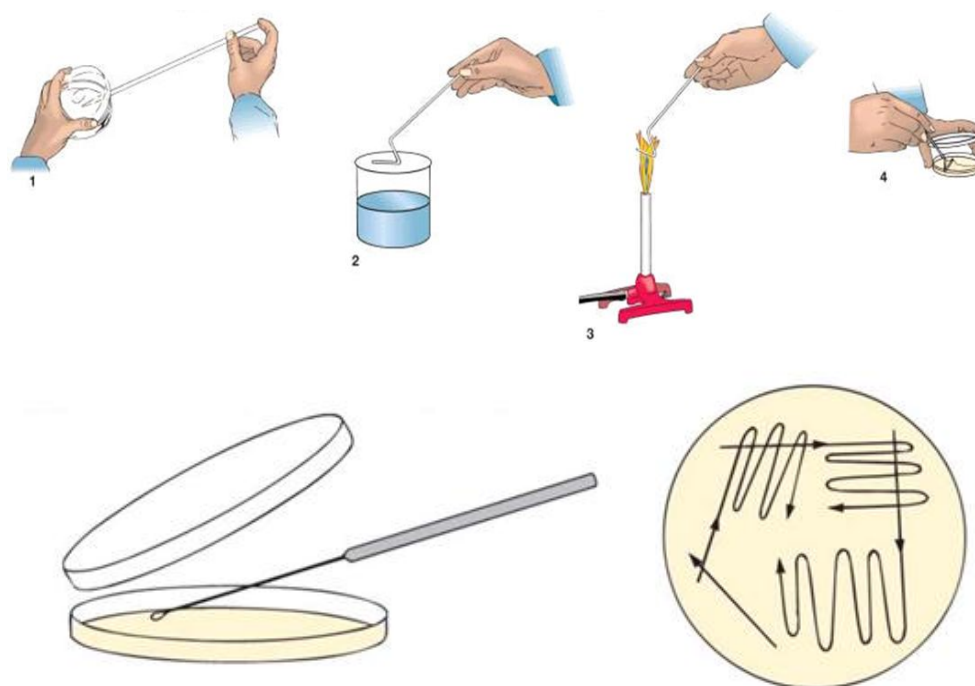
### *Суюлтириш усули ёрдамида микроорганизмларни соф ҳолда ажратиб олиш*

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

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

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

### *Ёйиш ёки тарқатиш усули*



Сўнгра шпательни ағдармасдан иккинчи сиртига тегизиб, суртилади. Ўша шпатель билан кейинги Петри ликобчаларига

кетма кет сурилади. Биринчи ликобчадаги озиқа муҳитининг сиртига кўп микроорганизмлар тушган бўлса, иккинчисида камроқ бўлади, чунки иккинчи ликобчадаги озиқа муҳитнинг сиртига фақат биринчи ликобчадан қолган микробларнинг бир қисми, учинчисига иккинчи ликобчадан қолган микроорганизмларнинг бир қисми суртилади. Шундан қилиб, материалдаги микроорганизмларнинг сонига қараб Петри ликобчаларнинг миқдори аниқланади. Охирги ликобчанинг зич озиқа муҳитининг сиртига бир неча микроорганизмлар шпателдан ўтади ва шу микроорганизмлардан ҳосил бўлган колониялар яққол кўринади. Униб чиққан колониялардан олиб текширилади.

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

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

**Бациллаларни ажратиш усули.** Бациллалар – ноқулай шароитдан ҳимояланиш учун спора ҳосил қилади. Текширилаётган материалларда спора ҳосил қиладиган ва спора ҳосил қилмайдиган микроблар бўлиши мумкин.

Буларни бир биридан ажратиш учун текширилаётган материални 70-80°C да 10-15 дақиқа сақлаш керак. Сўнг материал озиқа муҳитига экилиб, термостатда ундирилади. Иситишда спора ҳосил қиладиган микроорганизмлар тирик қолади. Спора ҳосил қилмайдиган микроорганизмлар нобуд бўлади. Шундай

қилиб, бациллаларни ва уларнинг спораларини микроорганизмларнинг аралашмасидан ажратиш мумкин.

Микроорганизмларни культурал белгиларини аниқлашда уларни озиқа муҳитларига экиб ўрганилади. Ҳар бир микроорганизмларни ўрганишда алоҳида озиқа муҳитлари мавжуддир. Қаттиқ озиқа муҳитларида макроскопик усулда уларнинг колониялари, шакллари, ранги, тиниқлиги, устки қисмларини кўринишлари эътиборга олинади.

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

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

Колонияларни тўлиқ ўрганиш учун уларни лупалар ёки микроскоп орқали ўрганилади.

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

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

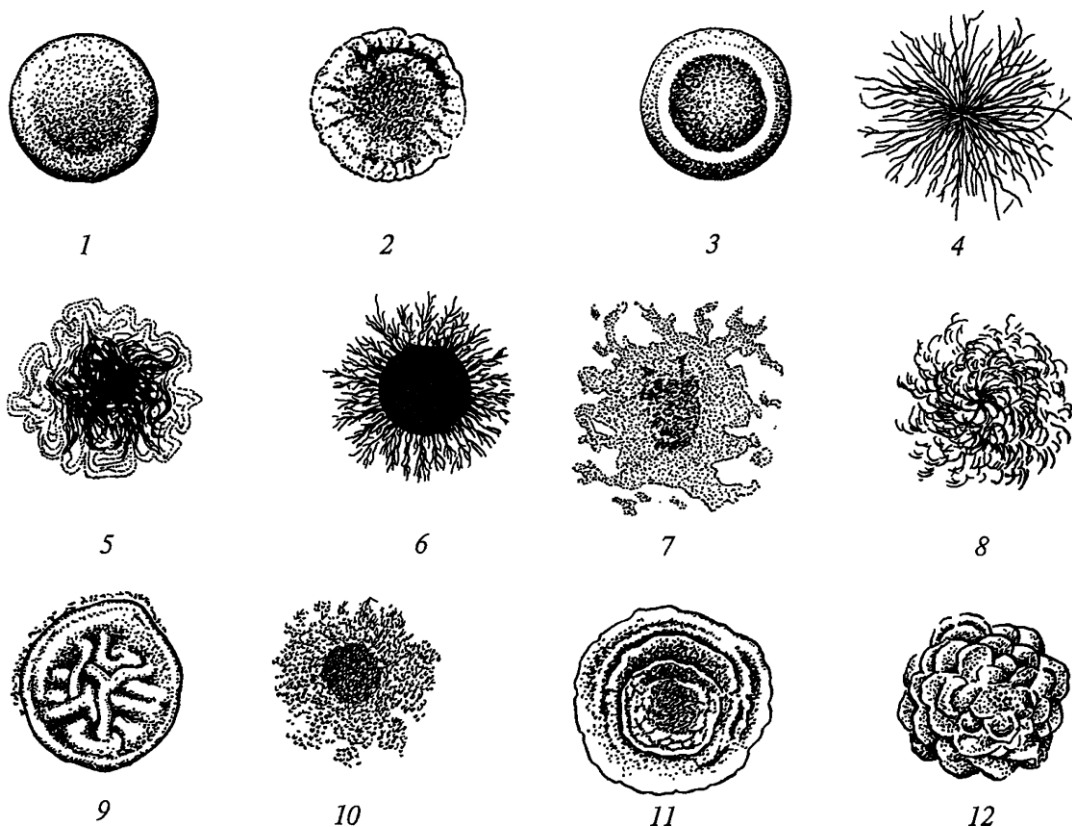
Колонияларни ўрганиш давомида улардан препарат тайёрлаб, бўялади ва микроскоп орқали кузатилади.

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

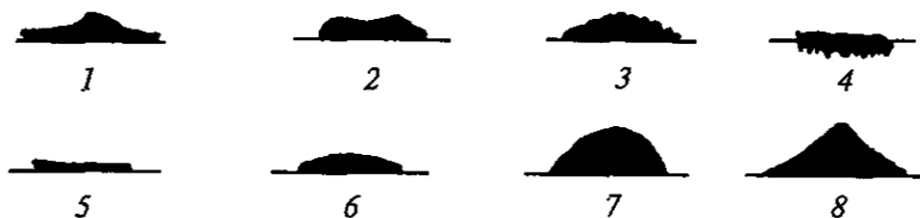
**Морфологик белгиларига** - бактерияларнинг вегетатив танасини, шакли (кокklar, таёкчалар ва бошқалар), уларнинг катта-кичиклиги, спора ҳосил қилиши, ҳаракатчанлиги, Грамм усулида бўялиши киради.

**Культурал белгилари** - бактерияларнинг ҳар хил озиқа муҳитларида ўсиш хусусиятлари демакдир. Озиқа муҳитида микроорганизмларни ўсиш хусусиятлари - парда ҳосил қилиши (силлиқ, буришган), лойқа ҳосил қилиши, чўкма ҳосил қилиши кузатилади. Озиқа муҳитларида колонияларнинг ранги, ҳажми,

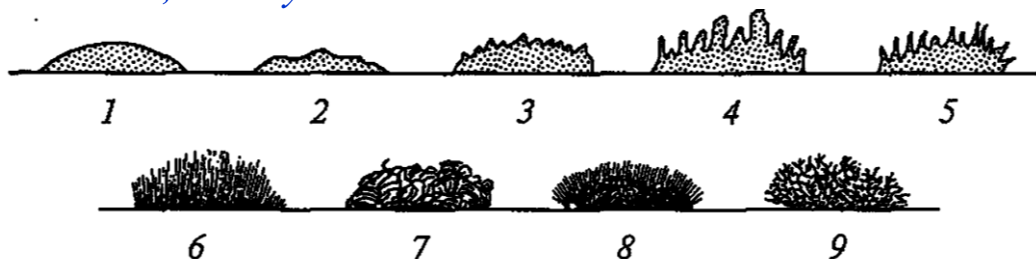




**Колонияларнинг формаси:** 1- доирасимон; 2-четлари нотекис доирасимон; 3- четлари бўртиқ доирасимон; 4, 5-ризоидсимон; 6-четлари ризоид кўринишида; 7-амёбасимон; 8-ипсимон; 9-бурмали; 10-нотўғри шохланиш; 11-концентрлик; 12-мураккаб.



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



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



устки қисми, консистенцияси кузатилади. Уларнинг ҳажми уларнинг диаметри орқали аниқланади. Йирик диаметри - 4 мм; ўртача-2-4 мм; майда- 1-2 мм бўлади.

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

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

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

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

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

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

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

## СУВДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ

### Машғулоти ўқиш тартиби:

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

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

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

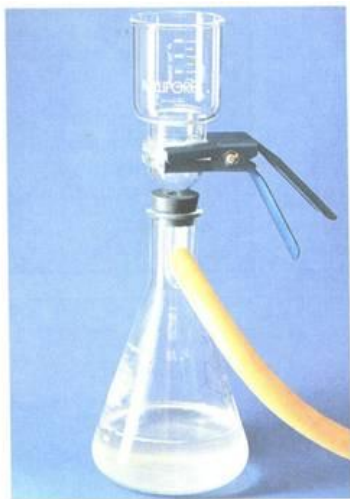
Текшириладиган сувнинг 1 мл ни (юқори концентрациялигидан бошлаб) стерилланган Петри ликобчаларига (2 та) солиб, унинг устидан эритилган, 45°C га совитилган қаттиқ озиқа муҳити қуйилади ва аралаштирилиб, 37°C ҳароратда 24 соат тўнтаришдан ҳолда қўйилади. Тоза сувни эса суюлтирилмаган ҳолда экилади.

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

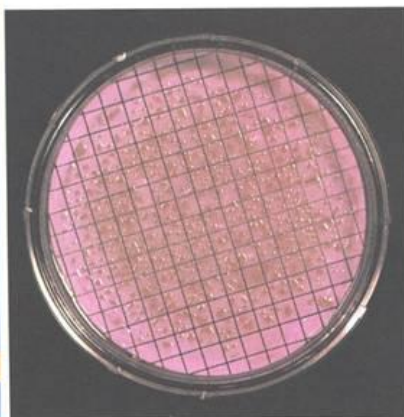
Ўсган колониялар миқдори маълум концентрацияда экиланган сувдаги микроорганизмлар миқдorigа боғлиқ. Ҳар бир Петри ликобчасида ўсган колонияларнинг ўртача миқдорини аниқлаш учун колониялар сони саналиб, уларга тегишли бўлган

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

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



*Сувнинг колититрини аниқлаш*



*Ичак таёқчаси*

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

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

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

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

100 гача бўлса - тоза сув,

100 дан 500 гача бўлса - ўртача ифлосланган,

500 дан ортиқ бўлса - ифлос сув.

## **ХАВОДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ**

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

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

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

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

тахтаси ёрдамида саналиб,  $1\text{ м}^3$  ҳаводаги микроорганизмларнинг умумий сони аниқланади.

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

-  $1\text{ дм}^2$  сатҳдаги колониялар сони аниқланади;

-  $1\text{ м}^3$  ҳаводаги микроорганизмларнинг сони ҳисоб қилинади.

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

1) Петри ликобчасининг сатҳи аниқланади ( $3,14 \times 4,5^2$  ёки  $3,14 \times 20,25=63,6\text{ см}^2$ ).

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

28 тўплам -  $63,6\text{ см}^2$

X тўплам -  $100\text{ см}^2$

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

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

44 – 10 л

X – 1000л

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

Демак,  $1\text{ м}^3$  ҳавода 4400 микроорганизм борлиги аниқланиб, қуйидаги жадвалга ёзилади.

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

Ҳаводаги микроорганизмларни текширишда яна қуйидаги усуллардан ҳам фойдаланилади:

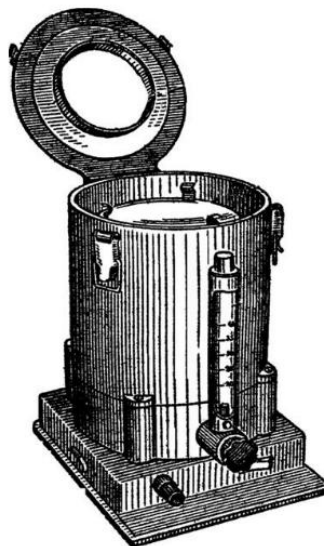
**Седиментацион усули.** Иккита агарли озиқа қуйилган Петри ликобчаси очик ҳолда 60 дақиқа давомида стол устига

қўйилади. Сўнг 24-26°C да термостатга жойлаштирилади. Иккала ликобчалардан ўсиб чиққан колониялар сонига қараб натижа чиқарилади. 250 дан кам колония ўсиб чиқса, ҳаво тоза ҳисобланади.

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



*Ҳаводан седиментацион усулда ГПА озиқа муҳитига экилган бактерия колониялари*



*Кротов аппарати*

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

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

Термостатга қўйилгандан сўнг формула бўйича микроорганизм сони ҳисобланади.

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

$a$  – ликобчадаги колониялар сони;

$V$  – аппарат орқали сўриб ўтказилган ҳавонинг ҳажми, л;

1000 – текширилувчи ҳавонинг ҳажми, л;

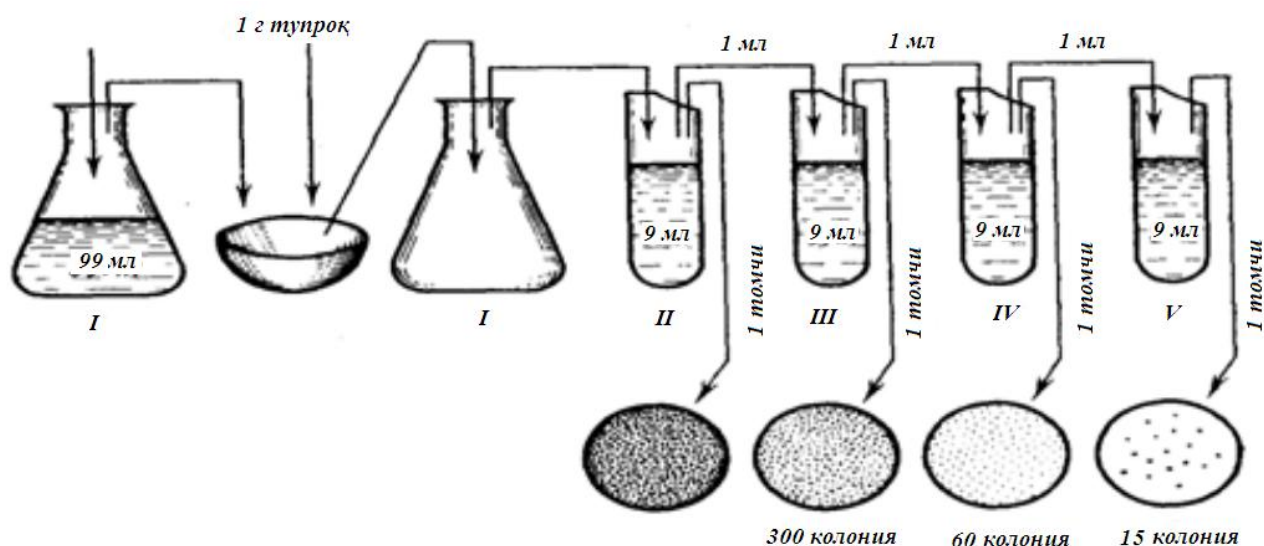
## ТУПРОҚДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ

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

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

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





### *Тупроқни суюлтириш орқали микроорганизмларни ажратиш*



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

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



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

Шундай қилиб 1 г тупроқда 40000000 бактерия борлиги аниқланди. Бу усул жуда қулай ва осон ҳисобланади. Агар ликобчада микроорганизм тўпламлари кўп ўсиб чиққан бўлса махсус санаш тахтаси ёрдамида микроорганизмлар саналиб 1 г тупроқ ҳисобига айлантирилади.

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

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

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

Тупроқдаги замбуруғлар сонини С.Н.Виноградский ва О.Г.Шульгина усулида ҳам аниқлаш мумкин. Бунинг учун тупроқдан 5 г намуна олиб колбада 50 мл стерилланган сув билан 5 дақиқа давомида аралаштирилиб эмульсия тайёрланади, кейин 1-2 секунд давомида тиндирилгандан сўнг ундан стерилланган пипетка билан 0,01 мл олиб 4 см<sup>2</sup> буюм ойнасига текис ёйиб қуритилгандан кейин алангада қиздирилади ва карбол эритрозин билан 30 дақиқа бўялади. Эритрозин препарати фақат микроорганизм хужайраларини бўййди, тупроқ заррачалари

бўялмасдан ажралиб қолади. Бўялган препарат сув билан ювилиб куритилади ва микроскопда иммерсион объектив билан қаралади. Микроскопнинг кўриш майдонидаги микроорганизмлар сони аниқланади. Кўриш майдонидаги микроорганизмларнинг ўртача сони қуйидаги формулага кўра ҳисоблаб топилади:

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

Бунда

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

$b$  - кўриш майдонидаги микроорганизмларнинг ўртача сони;

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

$z$  - препаратга сурилган тупроқ миқдори (0,001 г);

$e$  -  $4 \text{ см}^2$  сатҳидаги, яъни 0.001 г тупроқдаги бактериялар сони.

$X$  - 1 г тупроқдаги микроорганизмлар сони.

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

## СПИРТЛИ БИЖҒИШ

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

**Керакли асбоблар ва реактивлар:** микроскоп, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, шиша таёқчалар, бўёқлар (фуксин, метилен кўки) Люгол эритмаси, глюкозанинг

10% ли эритмаси, ачитқилар, колбалар, резина пробкалар билан, тарози ва тошлари, термостат.

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

Микроорганизмлар энергияни бижғиш ва нафас олиш жараёнлари туфайли оладилар. Нафас олиш аэроб шароитида содир бўлиб, унда энергия тўлиқ ажралиб чиқади ва охириги маҳсулот  $\text{CO}_2$  ва  $\text{H}_2\text{O}$  ҳосил бўлади.

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

Спиртли бижғишда қанд парчаланиб, этил спирти ва  $\text{CO}_2$  вужудга келади. Спиртли бижғишни ачитқи замбуруғлари, айрим бактериялар (*Sarcina ventriculi* ва бошқалар) ва муқор замбуруғлари келтириб чиқарадилар. Лекин амалий аҳамиятга эга бўлгани ачитқи замбуруғлари ҳисобланади.

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



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

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

киради. Пиво ёки хамир ачитқилари билан танишиш учун куруқ мазок тайёрланади. Препарат метилен кўки билан бўялади.

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

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

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

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

2. *Micoderma* туркуми - чўзиқ ҳужайрали парда ҳосил қилувчи ачитқилардир. Улар қандни бижғитмай,  $\text{CO}_2$  ва  $\text{H}_2\text{O}$  га қадар оксидлайди. Аэроблар суюқлик юзасида парда ҳосил қилади. Кўпинча озиқ овқат корхоналарининг (масалан, сирка тайёрлаганда, сабзавот тузланганда ва ҳоказо) зараркунандалари ҳисобланади.

Спиртли бижғишда ачитқилар қандни парчалайди, амалда 50%  $\text{CO}_2$  ва 50% этил спирти ҳосил бўлади.

Ачитқи бир дақиқада қанча кўп қандни парчалаб, спирт ва  $\text{CO}_2$  ҳосил қилса, уларнинг бижғитиш энергияси ўшанча кўпроқ бўлади. Бижғитиш энергиясини аниқлаш учун глюкозанинг 10% ли эритмасидан 50 мл олиб колбага қуйилади ва унга прессланган ачитқилардан 1-2 г дан солинади. Бижғиш жараёнини тезлаштириш учун колба  $30-35^\circ\text{C}$  сув ҳаммомига 1 соат қўйилади, сўнгра колбанинг оғзи эгри шиша най ўрнатилган каучук пробка билан маҳкам беркитилади, найнинг иккинчи учига сув тўлатилиб, сувли шиша идишга тўнтарилган пробирка ичига киритилади. 30-40 дақиқа ўтгандан сўнг, колбада ажралаётган карбонат ангидрид эгри шиша най орқали тўнтарилган пробиркага боради, пробиркада ҳаво пуфакчалари ҳосил бўлганини кўрамиз. Колбадаги бижғиётган суюқликда спирт ҳосил бўлади. Спиртли бижғиш жараёнини кузатишда махсус асбобдан фойдаланилади.



*Спиртли бижғиш жараёнини  
текишириш*



*Saccharomyces cerevisiae*  
ачитқиси

Қанд бижғиганда 50%  $\text{CO}_2$  ва 50% спирт ҳосил бўлганлигидан, эритмадаги спиртнинг оғирлиги ҳавога учиб кетувчи  $\text{CO}_2$  нинг оғирлигига тенгдир, яъни  $г = e$ . Бижғиган қанд оғирлиги  $\text{CO}_2$ +спирт оғирлигига тенг, яъни  $д = г + e$ . Бинобарин, бижғиган қанд фоизини билмоқ учун қуйидагича ҳисоб қиламиз:

$$e = a - б; , г = e; , д = г + e;$$

$$X = \frac{д \times 100}{в};$$

Бунда,

$a$  - қанд бижғигунча колбанинг оғирлигини;

$б$  - қанд бижғигач колбанинг оғирлигини;

$в$  - колбадаги қанднинг дастлабки оғирлигини;

$e$  - ҳавога учиб кетган  $\text{CO}_2$  нинг оғирлигини;

$г$  - эритмадаги спиртнинг оғирлигини;

$д$  - бижғиган қанд оғирлигини;

$X$  - бижғиган қанд фоизини ифодалайди.

## СУТ КИСЛОТАЛИ БИЖҒИШ

**Маишғулоти ўтиш тартиби:** Тузланган карам сувидан, сут зардобидан ва сут маҳсулотларидан мазок тайёрлаб, сут кислотали бактерияларнинг морфологиясини ўрганиш ҳамда сут кислотали реакция сифати аниқланилади. Ҳар бир талаба сут

кислота бактерияларини морфологик белгиларини кўриш учун мазок тайёрлайдилар. Сут кислота реакция сифатини аниқлаш учун бригада усулидан фойдаланадилар. Натижаларни дафтарларга ёзиб борилади.

**Керакли асбоблар ва реактивлар:** Микроскоп, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, шиша таёқчалар. Бўёқлар (фуксин ва метилен кўки) 1% ли фенол эритмаси, 0,2% мис купороси, эфир,  $\text{FeCl}_2$  эритмаси.

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

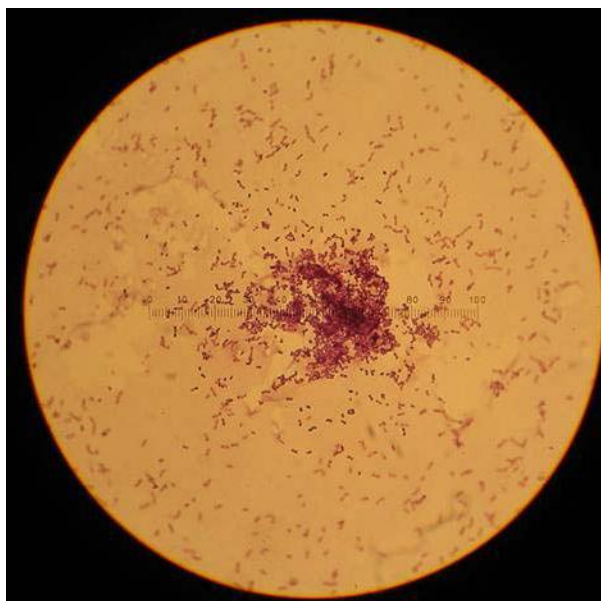
Сут кислота бактериялари икки гуруҳга бўлинади:

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

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

Бу бактериялар билан танишмоқ учун қатик ва сутдан ҳамда музлаган сабзавотлар сувидан препарат тайёрлаб қуритилиб спирт алангасида ёки Никофоров аралашмасида қотирилиб, метилен кўки ёки карбол фуксини билан бўялиб, микроскоп остида иммерсион объектив билан кўрилади. Спирт ва эфир

микробларни ўлдиради, уларни ойнага ёпиштиради ва препаратни бўяшга ҳалал берадиган



*Streptococcus lactis* нинг озиқа муҳитдаги колонияси



*Streptococcus lactis* ни микроскопдаги кўриниши



*Сут кислотали бижғиш асосида олинадиган сут маҳсулотлари*

сут мойни эритиб юборади. Микроскопда кўрилган сут кислота бактерияларининг расми дафтарга чизилади. Муҳитда сут кислота борлигини аниқлашда асосан қуйидаги усуллардан фойдаланилади.



1) катикда сут кислота борлигини билмоқ учун Уффельман реакцияси ўтказилади. Бунинг учун бир фоизли фенол эритмасидан 5 мл олиб, кучсиз  $\text{FeCl}_2$  эритмасидан бир неча томчи қўшилса, сут кислотанинг темирли тузи ҳосил бўлиши туфайли эритма сарғаяди.

2) сабзавотни ачитадиған сут кислота бактерияларини аниқлаш учун тузланган бодринг ёки карам сувидан 1-2 мл олиб, филтрлаб ҳосил бўлган филтратга 5 мл сульфат кислота ва 10 томчи тўйинтирилган мис купороси эритмасидан қўшиб яхшилаб аралаштирилиб,  $100^\circ\text{C}$  иссиқ сув ҳаммомида 5 дақиқа сақлаб, сўнгра совитилади ва 1-2 томчи 0,2% тиофеннинг спиртдаги эритмасидан қўшилади. Агар филтратда сут кислота бўлса, филтрат тўқ қизил ранг ҳосил қилади.

**Типик бўлмаған сут кислота бактериялари** – спорасиз, ҳаракатчан грамм-манфий таёқчалардир. Улар қандни бижғитганда бир озгина сут кислота, сирка кислота  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  ва бошқа моддалар ҳосил бўлади. Энг кўп учрайдиған вакили - ичак таёқчаси табиатда кенг тарқалган бўлиб сув, тупроқ, гўнгда, ҳайвон ва одам ичагида ва бошқа субстратларда учрайди.

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

## МОЙ КИСЛОТАЛИ БИЖҒИШ

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

**Керакли асбоблар ва реактивлар:** Микроскоп, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар, шиша таёқчалар. Бўёқлар (фуксин ва метилен кўки, Люголь), бўр кукуни, 5% ли  $\text{FeCl}_2$  эритмаси.

Мой кислотали бижғиш - қанднинг анаэроб шароитда парчаланишидан мой кислота,  $\text{CO}_2$  ва  $\text{H}_2$  ҳосил бўлиши демакдир:





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

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

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

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

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

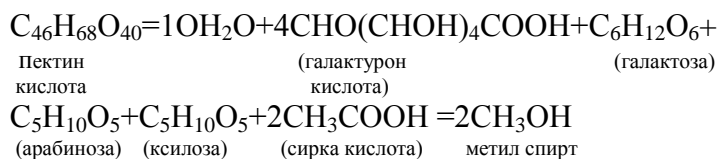
## ПЕКТИНЛИ БИЖҒИШ

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

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

Пектинли бижғиш - ўсимлик ҳужайраларини бир-бирига ёпиштирадиган модда (пектин) нинг гидролизланиб қанд ва бошқа моддаларни ҳосил қилиши, сўнгра шу қанднинг бижғиб, мой кислота  $\text{CO}_2$  ва  $\text{H}_2$  га парчаланишдан иборат. Бу жараён қуйидаги схемага мувофиқ боради.

## ПЕКТИН КИСЛОТА ГИДРОЛИЗИ



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

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

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

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

## **КЛЕТЧАТКАЛИ БИЖҒИШ**

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

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

Клетчатканинг бижғиши шундан иборатки, клетчатка қандларга парчаланади. Сўнгра шу қандлар бижғишидан мой кислота, сирка кислота,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  ва  $\text{CH}_4$  ҳосил бўлади. Барабан таёқчасига ўхшайдиган, спорали анаэроб ҳаракатчан таёқчалар шунга сабаб бўлади. Бу жараён қуйидаги схемага мувофиқ боради:

### Клетчатка гидролизи



водород ҳосил қилиб



метан ҳосил қилиб бижғиш



Реакция *Bact. cellulosaе hydroqenicus* иштирокида боради.



Реакция *Bact. cellulosaе methanicus* иштирокида боради.

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

Клетчатка сувда эримайди ва фақат целлюлоза бактериялари таъсир этгандагина парчаланади.

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

## **АММОНИФИКАЦИЯ ЖАРАЁНИ**

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

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

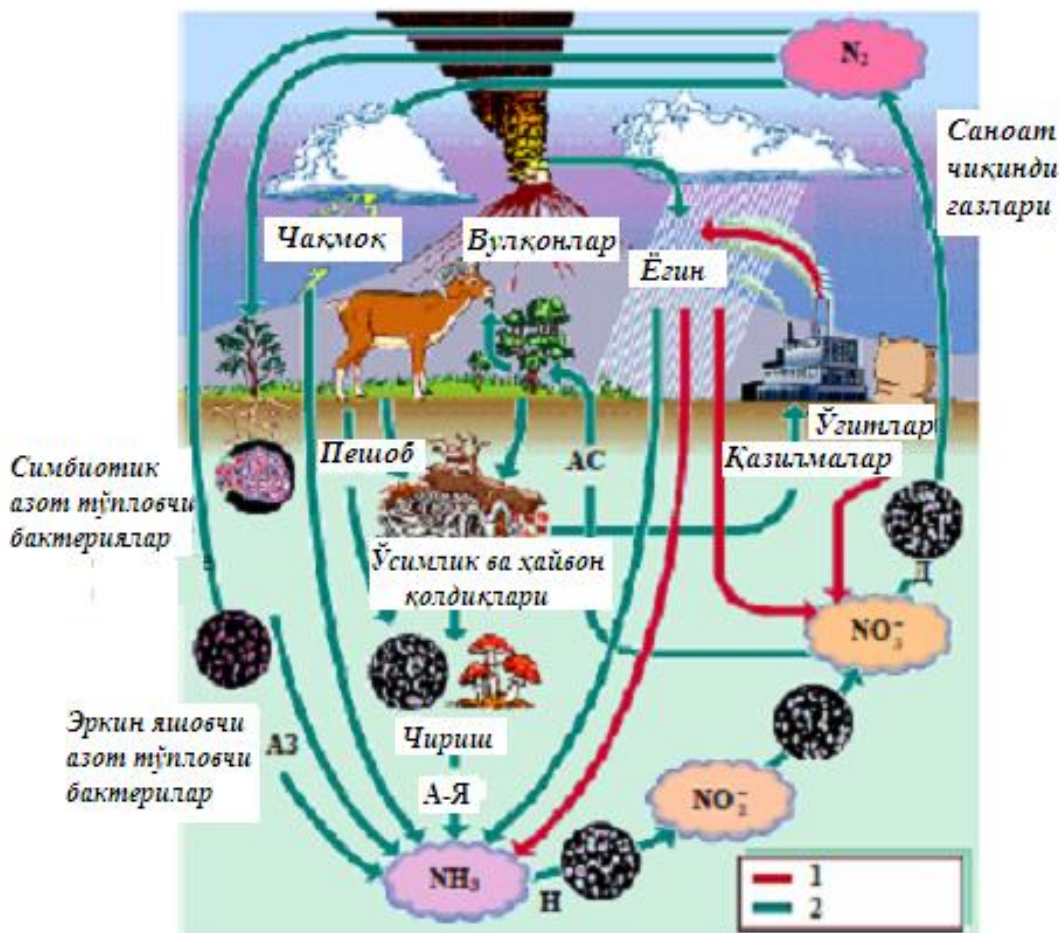
**Керакли асбоблар ва реактивлар:** Пептон-қайнатмаси. Микроскоп, иммерсион мой, фильтр қоғозлар, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин), қизил лакмус қоғози, тупроқ.

Аммонификация – оксиллар ва азотнинг бошқа органик бирикмаларининг аммиак ( $\text{NH}_3$ ) гача парчаланиши демакдир. Баъзи аммонификаторлар оксилларни парчалаганда  $\text{NH}_3$  дан ташқари,  $\text{H}_2\text{S}$  билан индол ҳам ҳосил бўлади. Оксилларнинг аммонификация қилиниши аммонификаторлар ёки чиритувчи бактериялар ёрдамида боради. Аммонификаторларнинг кўпчилиги аэроб бўлади. Аэроб аммонификаторларнинг спорали ва спорасиз турлари бор. Анаэроб аммонификаторларнинг аксариси спорали таёқчалардир. Аммонификаторлар табиатда кенг тарқалган. Улар ҳавода, сувда, ҳар хил озиқ-овқатда ва органик қолдиқларда учрайди; улар тупроқда айниқса кўп, аэроб турлари ҳам бўлади.

**Аммонификаторларнинг электив культурасини олиш.** Аммонификаторларнинг электив культурасини олиш учун 100 мл сиғимли колбаларда 3% ли пептон эритмаси 50 мл дан қуйилади. Пептон эрийдиган оксилдир. Колбага аэроб ва анаэроб аммонификаторлар бўлган тупроқдан 0,5 г солиб, оғзи пахта билан

беркитилади, шу пробканинг тагига 3 та махсус қоғозча осиб қўйилади.  $\text{NH}_3$  ва  $\text{H}_2\text{S}$  чиқаётганлиги шу қоғозчада билинади.  $\text{NH}_3$  чиқаётганлигини билиш учун қизил лакмус қоғози осилади. Бу қоғоз  $\text{NH}_3$  тасирида кўкаради.  $\text{H}_2\text{S}$  чиқаётганлигини билиш учун кўрғошин ацетат эритмасига хўлланган фильтр қоғоз осиб қўйилади. Бу қоғоз  $\text{H}_2\text{S}$  таъсирида қораяди.

### *Азотни табиатда айланиш схемаси*



*1-инсоният фаолияти; 2-табиат фаолияти*

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

**Аммонификаторларнинг электив културасини текшириш.** Пробка тагига осиб қўйилган қоғозчалар кўздан кечирилиб,  $\text{NH}_3$  ва  $\text{H}_2\text{S}$  чиққан ёки чиқмаганлигини билинади. Сўнгра идишнинг юқори қисмидаги ва тубидаги суюқликдан бўялган мазок тайёрланади. Идишнинг юқори қисмидаги

суюқликдан тайёрланган мазокларда асосан аэроб аммонификаторлар, спорали ва турли узунликдаги спорасиз ингичка таёқчалар учрайди.

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

## **НИТРИФИКАЦИЯ**

**Маишулотни ўтиш тартиби:** Талабалар гуруҳларга бўлиниб, нитрификатор йиғувчи бактерияларни юзага келтирувчи тажриба қўйиб, културалардан нитратларни аниқлайдилар.

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

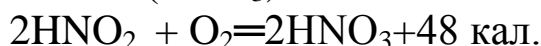
**Керакли асбоблар ва реактивлар:** Озиқа муҳити. Микроскоп, иммерсион мой, фильтр қоғозлар, буюм ва қоплагич ойначалар, микробиологик сиртмоқ, скальпель, пинцетлар. Бўёқлар (метилен кўки, фуксин), тупроқ.

**Нитрификация** - бактериялар таъсирида аммиак ( $\text{NH}_3$ ) нинг оксидланиб, нитрит ва нитрат кислоталарни ҳосил қилиш демакдир. Нитрификация сабаб бўладиган бактериялар нитрификаторлар дейилади. Нитрификация икки босқичга бўлинади:

**Биринчи босқич -  $\text{NH}_3$  нинг оксидланиб, нитрит кислота ( $\text{HNO}_2$ ) ҳосил қилиш:**



Бу жараён нитроз бактериялар ёрдамида боради. Нитрификациянинг иккинчи босқичи - нитрит кислотанинг оксидланиб, нитрат кислота ( $\text{HNO}_3$ ) га айланиши:



**Иккинчи босқичда нитрат бактериялар иштирок этади.**

Нитроз бактерияларнинг вакили - чўзинчоқ, спорасиз ва ҳаракатчан микробдир. Нитрат бактерияларнинг вакили - калта, спорасиз ҳаракатчан таёқчадир. Нитроз бактериялар қатъий аэроб

ва қатъий прототроф микроблардир, чунки улар фақат минерал моддалар билан озиқланади. Улар углеродни  $\text{CO}_2$  дан олади ва хемосинтез ёрдамида озиқланади, яъни озиқланиш учун зарур энергияни анорганик моддалар - аммиак ёки нитрит кислотани оксидлаш йўли билан олади. Нитрификаторларнинг электив культураларни олиш учун зарур минерал тузлардан синтетик озиқли муҳит тайёрланади. Нитроз бактерияларнинг электив культурасини олиш учун Виноградский ва Омелянский муҳитига аммоний сульфат қўшилади. Аммоний сульфат - азот билан озиқланиш ва кислород билан нафас олиш манбаидир. Нитрат бактерияларнинг электив культурасини олиш учун минерал озиқли муҳитга аммоний сульфат ўрнига натрий нитрит қўшилади. Натрий нитрит азот билан озиқланиш ва кислород билан нафас олиш манбаидир. Аэроб шароит яратиш учун иккала муҳит айрим-айрим Эрленмейер колбаларига юпқа қатлам қилиб 30 мл дан қўйилади, ишқорий реакцияни вужудга келтириш учун бир оз бўр қўшилади, сўнгра нитрификаторлар бўлган тупроқ бўлакчалари ташланади. Нитроз бактериялар билан нитрат бактериялар углеродни ҳаводаги  $\text{CO}_2$  дан олади. Электив муҳитлар қуйилган ва тупроқ бўлакчалари ташланган колбалар термостатга қўйилади.

**Нитроз бактерияларнинг электив культурасини текшириш.** Нитроз бактериялар таъсирида аммоний сульфат  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  дан ҳосил бўлган нитрат кислота  $(\text{HNO}_3)$  бор йўқлиги аниқланади. Нитрит кислота озиқли муҳит томчисига шу реактивдан қўшилганда пушти тусга киради. Озиқли муҳитдан тайёрлаб бўялган мазокда чўзинчоқ *Nitrosomonas* хужайралари кўринади.

**Нитрат бактерияларнинг электив культурасини текшириш.** Нитрат бактериялар таъсирида нитрит кислотадан ҳосил бўлган нитрат кислота  $(\text{HNO}_3)$  бор йўқлиги аниқланади. Нитрат кислота бор йўқлигини билиш учун озиқли муҳит томчисига  $\text{H}_2\text{SO}_4$ +дифениламин томчиси қўшилади. Нитрат кислота  $(\text{HNO}_3)$  бўлса, суюқлик кўк тусга киради. Озиқли муҳитдан тайёрланган препаратда кичкина *Nitrobacter* таёқчалари кўринади.



## ДЕНИТРИФИКАЦИЯ

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

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

Денитрификация - нитрат кислота ( $\text{HNO}_3$ ) нинг қайтарилиб, нитрит кислота ( $\text{HNO}_2$ ) ва эркин азот ( $\text{N}_2$ ) ҳосил қилиши демакдир. Бу жараён фақат анаэроб шароитда юзага чиқади. Улар анаэроб шароитда ҳаводаги кислород ўрнига нитрат кислотадаги кислороддан нафас олади, айна вақтда шу кислород билан қанд ва органик кислоталарни оксидлайди. Бу бактериялар денитрификаторлар дейилади.

**Денитрификаторларнинг электив культурасини текшириш.** Денитрификацияда нитрат кислота қайтарилиб, нитрит кислота ва эркин азот ( $\text{N}_2$ ) ҳосил бўлади. Шу сабабли денитрификацияда эритмадан нитрат кислота йўқолиб, нитрит кислота вужудга келади ва газ ҳосил бўлади. Бу қуйидаги реакциялардан маълум бўлади: колбадан олинган суюқлик томчисига  $\text{H}_2\text{SO}_4$  билан дифениламин аралашмасидан иборат реактив қўшилади. Нитрат кислота ( $\text{HNO}_3$ ) бўлса, суюқлик кўк тусга киради, бўлмаса суюқлик ранги ўзгармайди.

Нитрат кислота ( $\text{HNO}_3$ ) ўрнига нитрит кислота ( $\text{HNO}_2$ ) пайдо бўлганлиги Грисс реактивидан бир томчи қўшилганида пушти тусга киради.

Препарат тайёрлаш учун колба тагидаги суюқликдан пипетка билан бир томчи олинади. Денитрификаторлар культурасидан тайёрланган препаратда денитрификация бактерияларни майда ингичка таёқчалар шаклида кўриш мумкин. Табиатда учрайдиган денитрификация бактериялари бир неча хил бўлиб, улар тупроқда, айниқса нам, органик парчаланмаган қолдиқларга бой бўлган тупроқда ва балчиқда кўп учрайди.

Буларга *Bact. denitrificans* спора ҳосил қилмайдиган факультатив анаэроб ҳаракатчан, катталиги 0,3 микронгача бўлган майда таёқчалар киради. *Achromobacter stutzeri* ҳамда майда таёқча бўлиб, препаратда занжирга ўхшаб тузилган ҳолатда кўринади. Тупроқда учрайдиган денитрификация бактерияларининг нитратни қайтариб эркин азот ҳосил қилиш жараёни қуйидагича боради:



## АЗОТ ТЎПЛАШ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

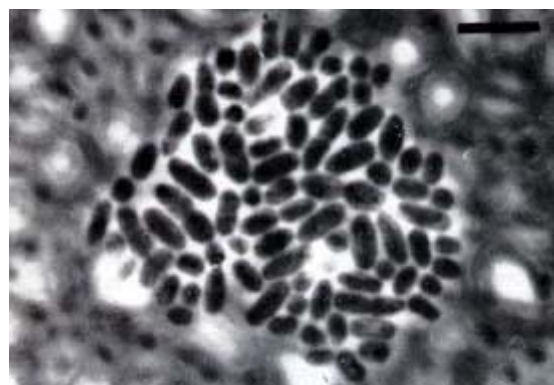
**Эркин ҳолда яшайдиган азотфиксаторлар.** Эркин ҳолда яшайдиган азотфиксаторларга *Azotobacter chroococcum* - азотфиксатор ва анаэроб азотфиксатор *Clostridium pasterianum* киради. Азотобактериялар тупроқда эркин яшаб, ҳар гектар ерга 15-30 кг азот тўплашдан ташқари, яна бошқа хусусиятлари бор. Масалан,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



*Дуккакдош ўсимликлар илдизидаги тугунаклар*



*Rhizobium leguminosarum*



*Azotobacter chroococcum*



*Rhizobium* колониялари



*Туганак бактериялар  
асосида олинган  
Нитрагин препарати*



*Эркин ҳолда яшовчи  
азотфиксаторлардан  
олинган Азобактерин*

Иккала азотфиксатор азот тўплаш учун энергияга муҳтож бўлади. Улар қандни оксидлаб ёки бижғитиб шундай энергия олади. *Azotobacter* - аэроб бўлади, шунинг учун у қандни ҳаво кислороди билан оксидлайди. Пастер кластридийи - анаэробдир, шунинг учун у қандни мой кислота ҳосил қилиб бижғитади. *Azotobacter* нинг тупроқдаги электив културасини олиш учун

тупроққа 2% ли маннит қўшиб аралаштирилади, лой куюқ хамир ҳолига келгунча сув қўшиб қорилади, шу лой Петри ликобчасига солиниб, ҳўл шпатель билан ёйилади ва термостатга қўйилади. Маннит энергия манбаидир. Маннит борлиги туфайли азотобактер ялтироқ, тиниқ шилимшиқ колониялар шаклида ўсиб чиқади. Пастер клострийдининг электив культурасини олиш учун тупроққа 1% ли глюкоза ва сув қўшиб, атала қилинади. Шу тупроқ аталаси Петри ликобчасига солиниб, термостатга қўйилади.

*Clostridium pasterianum* учун тупроққа азотобактердагига нисбатан кўпроқ сув қўшамиз, чунки тупроқда сув қанча кўп бўлса ҳаво шунча кам бўлади, яъни анаэроб шароит вужудга келади. Пастер клостридийи анаэроб бўлиб, тупроқ ичида ўсади. У қандни бижғитиб газ ҳосил қилади, шу сабабли унинг ривожланаётганлиги газ пуфакчалари пайдо бўлганлигидан билинади, газ пуфаклари тупроқни кўтариб, дўмбоқчалар пайдо қилади.

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

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

### **Туганак бактериялари билан танишиш**

*Rhizobium* туркумига кирувчи бактерия турлари 1300 турга мансуб дуккакдошларга кирувчи ўсимликларда тугунакларни ҳосил қилади. Ўсимлик илдиз тўқимасига тушган туганак бактериялари инфекцион ипчалар ҳосил қилиб меристема тўқимасига етиб борганидан сўнг жадал бўлина бошлайди ва бу ерда туганакларни ҳосил қилади. Натижада ўсимлик ва бактерия

ўртасида модда алмашилиши содир бўлади. Ўсимлик бактерияни углевод ва минерал моддалар билан таъминласа, бактерия ўз навбатида ўсимликни 70% гача ассимиляцияланадиган азот билан таъминлайди. Турли дуккакли ўсимликларнинг илдизида бу туганаклар турли шакл ва ўлчамда бўлади. Уларнинг ўлчами асосан тарик катталигидан ёнғоқ мевасининг катталигича бўлиши мумкин.

Туганак бактерияларни соф культурасини олиш учун дуккакдошларга мансуб экин турини биронтасини (мош, ловия, нўхат ва бошқалар) олиб, унинг илдизи водопровод сувида яхшилаб ювилади ва бир нечта йирик туганаклар қирқиб олинади. Бу туганаклар 3-4 марта стерил сувда чайилади ҳамда уларни 0,1% ли сулема эритмаси солинган Петри ликобчасига ботириб, 5 дақиқа давомида чайкатилади. Сўнгра бу туганаклар Петри ликобчасидаги стерил сувга солинади ва унда ҳам 5 дақиқа ушлаб турилади ҳамда спирт солинган Петри ликобчасига 1 дақиқа давомида солиб қўйилади. Туганаклардаги спирт алангада ёндириб йўқотилади. Кейин стерил пинцет ёрдамида туганаклар стерил Петри ликобчасига кўчирилади ва стерил скапель пичоғи ёрдамида бўлакларга ажратилади. Бактериологик илгак ёрдамида туганакнинг бир бўлакчасини Петри ликобчасидаги озиқа муҳит сиртидаги бир томчи сувга қўшилади ва шпатель ёрдамида озиқа муҳити юзасига бир текис қилиб суртилади. Туганак бактерияларини соф культурасини олишда қуйидаги озиқа муҳитларидан фойдаланилади:

#### Фреда озиқаси

Маннит (сахароза ёки глюкоза)	10 г
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,5 г
$\text{MgSO}_4$	0,2 г
$\text{NaCl}$	0,1 г
$\text{CaCO}_3$	3 г
Ачитқили сув (pH 6,8)	100 мл
Агар-агар	15 г
Дистилланган сув	0,9 л



### Дуккакли агар

Дуккакли дон қайнатмаси	1000 мл
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1 г
$\text{MgSO}_4$	0,3 г
Агар-агар	15 г

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

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

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

Таркиби юқорида келтирилган озиқа муҳитларидан ташқари туганак бактериялари қуйидаги озиқа муҳитларида ҳам яхши ўсади:

### Лазарева озиқаси

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,5 г
$\text{MgSO}_4$	0,2 г
$\text{NaCl}$	0,2 г
$\text{MnSO}_4$	0,005 г
$\text{NH}_4\text{MoO}_4$	0,002 г
Маннит ёки сахароза	10 г
Ачиткили сув	100 л
Агар-агар	1,5 %
Сув	0,9 л

### Норрис озиқаси

$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,5 г
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,8 г
$\text{NaCl}$	0.2 г



FeCl <sub>3</sub>	0,01 г
Маннит	10 г
Янги тайёрланган ачитқи (дрожжа) экстракти	100 мл
сув	0,9 л
pH	7,2

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

Маннит ёки сахароза	10 г
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 г
MgSO <sub>4</sub>	0,2 г
NaCl	0,1 г
Глюконат кальций	1,5 г
FeCl <sub>3</sub>	0,01 г
Ачитқи экстракти	2 г
Сув	1 л
Агар-агар	20 г

## ОЛТИНГУГУРТ ВА ТЕМИР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ

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

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

Олтингугурт бактериялари табиатда жуда кўп тарқалган бўлиб, уларни тупроқда, ботқоқлик жойларда, кўл сувларида учратиш мумкин. Улар тупроққа ўсимлик ва ҳайвонларнинг турли хил қолдиқлари билан тушади. Бу қолдиқларнинг тупроқда парчаланиши натижасида H<sub>2</sub>S ажралиб чиқади. H<sub>2</sub>S нинг ажралиб чиқиши тупроқдаги оксилнинг парчаланишига

боғлиқ. Бунинг сабаби оксил таркибида ҳар турли аминокислоталар бўлади. Тупроқдаги оксилларни чиритувчи бактериялар парчалаб водород сульфид ҳосил қилади. Ҳосил бўлган  $H_2S$  олтингугурт бактериялари таъсирида оксидланиб, пировардида олтингугурт, сульфат кислота ва сув ҳосил бўлади. Табиатда олтингугурт бактерияларининг аҳамияти катта. Масалан, олтингугурт бактериялари сувда тўпланган заҳарли водород сульфидни оксидлаб сувни ва атроф муҳитни тозалайди ва шунингдек, қишлоқ хўжалигида тупроқдаги ўсимлик ўзлаштира олмайдиган олтингугуртни оксидлаб, ўсимлик ўзлаштира оладиган ҳолга келтирилади. Олтингугурт бактериялари асосан икки гуруҳга бўлинади. 1) рангсиз, 2) рангли олтингугурт бактериялари.

Рангсиз олтингугурт бактерияларининг диаметри 50 микронгача бўлади, улар бир ва кўп хужайрали бўлиб тион бактериялари дейилади. Улар ипсимон бўлиб, махсус шилимшиқ ёстикчалар ёрдамида сув остидаги ҳар хил нарсаларга ёпишиб ётади. Рангли олтингугурт бактериялари пигмент ҳосил қилувчи олтингугурт бактериялари дейилади. Уларнинг хужайраларида махсус пигментлар бўлади, шунинг учун ҳам улар бактериопурпурин номини олган. Пурпур бактериялари водород сульфидни сульфат кислотасигача оксидлайди. Қизил пигментли олтингугурт бактериялари икки усулда органик моддаларни синтез қилади. Хемосинтез ва фотосинтез. Олтингугурт бактерияларининг шакли бошқа бактериялардан бир оз фарқ қилади. Улар сув ўтларининг шаклини эслатади. Олтингугурт бактериялари катталигига қараб ҳам бир-биридан фарқ қилади. Рангсиз олтингугурт бактериялар рангли олтингугурт бактерияларига нисбатан бир неча баробар катта бўлади. Олтингугурт бактерияларининг шакллари ҳам ҳар турли бўлиб, улар орасида майда таёқчасимон, вибрионга ўхшаш ва спиралсимон бактериялар кўп учрайди. Бактериялар танасида олтингугурт бошқа бактериялардан фарқ қиладиган белгиси ҳисобланади. Олтингугурт бактериялари қуйидаги усуллар билан аниқланади.

С.Н.Виноградский усули билан аниқланганда шиша цилиндрга сув ўти илдизи ёки беда солиниб, устига бир озгина балчиқ кўшилади ва цилиндр сув билан тўлдирилади. Сўнгра цилиндр 25-30 кун давомида термостатда сақланади. Шу

вақтнинг ичида цилиндрдаги сувнинг устки қисмида олтингугурт бактериялари йиғилиб, парда ҳосил қилади. Ҳосил бўлган пардадан препарат тайёрлаб микроскоп остида кўрилади.

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

Масалан:

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

Ҳосил бўлган муҳит колбага солиниб, устига тупроқ ёки балчиқ қўшилади. Колбанинг оғзи пробка билан беркитилиб, 8-10 кун давомида 25-30°C да термостатда сақланади. Муҳитда олтингугурт бактерияларининг унганини ҳосил бўлган ҳиддан ва муҳит ичига кучсиз темир хлорид эритмаси билан аммиак эритмасида намланган кичкинагина тошча боғлаб туширилган ипнинг тез вақтда қорайишидан билиш мумкин. Колбанинг пастки қисмида ҳосил бўлган темир сульфиднинг таъсири натижасида ип қораяди. Колбанинг юқори қисмидаги ипнинг ранги ўзгармайди. Бунга колбанинг юзасида водород сульфидни оксидловчи олтингугурт бактериялари сабаб бўлади.

**Темир бактерияларини аниқлаш.** Темир бактериялар асосан сув ҳавзаларида, ботқоқ ерларда, қисман тупроқда учрайди. Темир бактериялари табиатда учрайдиган икки валентли темир ва марганец тузларини оксидлаб, уни уч валентли бирикмаларга айлантиришда иштирок этади. Шунинг учун ҳам қишлоқ хўжалигида темир бактериялари муҳим аҳамиятга эгадир. Тупроқда темир ва марганец моддаси етишмаса ўсимликнинг ривожланиши ва ҳосилдорлигига салбий таъсир қилади. Темир бактериялари узунчоқ, шилимшиқ қин билан ўралган ипсимон шаклда бўлади. Уларнинг шилимшиқ қинларида темир гидроксиди тўпланган бўлади. Темир бактериялари ўзларининг катталиги, таналарида доначаларнинг мавжудлиги ва шохланиш хусусиятлари, спиралга ўхшаб

буралган лента ҳосил қилишига қараб бошқа бактериялардан фарқ қилади. Одатда уларнинг узунлиги 1 см гача бўлиб, йўғонлиги 2-3 микрон келади.

Сув ҳавзасидаги темир бактериялар қуйидаги усул билан аниқланади. Темир таёқчалар арқонга боғланиб, текшириладиган сувга туширилади, арқоннинг сув юзасидаги учига эса пўкак боғланади. Пўкакнинг турган жойи белгилаб қўйилади. Бир неча ойдан кейин сув ичидаги темир таёқчаларга темир бактериялар ёпишиб, тугунчалар ҳосил қилади. Ҳосил бўлган тугунчалар ичида темир оксиди бўлади. Темир таёқча устида ҳосил бўлган тугунчалардан препарат тайёрланиб у 10% ли HCl ва спирт билан фиксация қилинади ва генциан виолет бўёғи билан бўялади. Юқорида айтиб ўтилган усуллардан ташқари, темир бактерияларни аниқлашда С.Н.Виноградский ва Лиске усулларида ҳам фойдаланилади. С.Н.Виноградский усулида аниқланганда шиша цилиндрга қайнатиб олинган беда чўпи солинади, унга бир озгина янги чўктирилган темир гидроксиддан қўшилади ва цилиндр сув ҳавзасидан олинган текшириладиган сув билан тўлдирилади. Цилиндрдаги органик қолдиқларнинг анаэроб усулда парчаланиши натижасида қуйидаги моддалар ( $H_2$ ,  $H_2S$  ва бошқалар) ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган бу моддалар сув таркибидаги уч валентли темир оксидини икки валентли темир оксидига айлантиради. Сувда эриган икки валентли темир карбонат ( $FeCO_3$ ) сув юзасига чиқиб, темир бактериялари томонидан оксидланади. Натижада сув юзасида темир бактериялар йиғилиб, маълум вақт ўтгандан сўнг темир бактериялар йиғиндисини оддий кўз билан ҳам кўриш мумкин. Лиске усулида аниқлаганда колбага 0,05% ли беда эритмаси ёки тўкилган барглarning эритилган экстракти солиниб, устига бир оз темир қириндиси қўшилади ва уларга яна балчик ёки сув қуйилади.

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

#### С. Н. Виноградский озиқа муҳити:

$NH_4NO_3$	0,5 г
$NaNO_3$	0,5 г
$K_2HPO_4$	0,5 г

MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,5 г
CaCl <sub>2</sub>	0,2 г
лимон кислотанинг темир аммиак тузи	10 г
Сув	1000 мл

### Лиске озиқа муҳити

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

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

### ФОСФОР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ

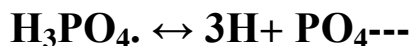
**Маишғулоти ўтиши тартиби:** Фосфор бактерияларнинг морфологиясини ўрганиш учун ҳар бир талаба препарат тайёрлайди ва бўяб микроскопда кўради. Фосфор бактерияларини миқдорини аниқлаш усуллари билан танишади. Тупроқ намуналаридан фосфор кислоталарни аниқлаш учун А.Г.Кирсанов усулидан фойдаланилади. Натижаларни дафтарларга ёзиб ва чизиб борадилар.

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

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

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

Ўсимликлар фосфорни асосан фосфор кислота аниони шаклида ўзлаштиради.



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

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

1) нуклеопротеид  $\rightarrow$  нуклеин  $\rightarrow$  нуклеин кислота  $\rightarrow$  нуклеотидлар  $\rightarrow \text{H}_3\text{PO}_4$ ;

2) лецитин  $\rightarrow$  глицерофосфор эфирлар  $\rightarrow \text{H}_3\text{PO}_4$ .

Типик спора ҳосил қиладиган фосфор бактерияларга мисол қилиб *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* олинади, бу микроб таёқчасимон, чети қайрилган катталиги 3 микрондан 6 микронгача спора ҳосил қилувчи Грамм манфий аэроб бўлиб, ҳар хил қанд эритмаларида (глюкоза, сахароза, маннит, галактоза) газ ҳосил қилмасдан кислота ҳосил қиладди.

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

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

#### **Тупроқдаги фосфор бактерияларни аниқлаш усули.**

Бунинг учун тупроқ намунасида аналитик тарозида 1 г ўлчаб олиб уни стерилланган сув билан аралаштириб, эритма

тайёрланади ва унинг охирги даражаси 1:100 000 га етказилади, сўнгра эритмадан стерилланган пипетка билан олиб, учта Петри ликобчасига солинади, устига суюлтирилган 40-45°C даражагача совитилган муҳит қуйилади. Эритма билан муҳитни аралаштириш учун ликобча аста секин чайқатилади. Ликобчадаги муҳит қотгандан сўнг, ликобчага ёрлик ёпиштириб 6-7 кун давомида термостатга қўйилади. Ёрликқа эритманинг даражаси талабанинг фамилияси, гуруҳи ва ишни бажарган куни ёзилади.

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

Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) ( кальций фосфат )	5,0 гр
NaCl (Ош тузи)	0,2 гр
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O (магний сульфат)	0,1 гр
Mn SO <sub>4</sub> (марганец сульфат)	жуда оз миқдорда
FeSO <sub>4</sub> (темир сульфат)	жуда оз миқдорда
Глюкоза	20,0 гр
Агар-агар	20,0 гр
Сув	1000 мл.

Р.И.Пиковская муҳитидан ташқари, фосфор бактерияларини ундириб ўрганиш учун Р.А.Менкинанинг муҳитидан ва картошка-хамиртуруш агаридан ҳам фойдаланилади. Униб чиққан фосфор бактерияларининг сонини аниқлаш учун учта ликобчадаги микроб колонияларини санаб, уларнинг ўртача сони аниқланади. Масалан: биринчи ликобчада 10 та, иккинчи ликобчада 8 та, учинчи ликобчада 6 та микроорганизм колонияси бўлса, буларнинг йиғиндиси учга бўлинади, чиққан сон эритма даражасига кўпайтирилади, яъни 8х100 000=800 000.

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

**Тупроқдаги фосфат кислотани аниқлаш.** Тупроқ микроорганизмлари учун фосфорни аҳамияти катта, тупроқдаги фосфат кислотанинг миқдори тупроқ микроорганизмларини ҳаёт фаолияти билан чамбарчас боғлангандир. Кўпгина олимларнинг

маълумотларига кўра, микроорганизмлар ҳужайрасининг маълум қисмини фосфат кислота ташкил қилади. Масалан, *Azotobacter chroococcum* куруқ моддадан 52% гача, *Bac. mycoides* 4,07% гача, ачитқиларнинг кулида эса 60% гача бўлади. Шунинг учун ҳам тупроқ таркибидаги фосфат кислотани аниқлаш қишлоқ хўжалигида амалий ва назарий аҳамиятга эгадир.

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

Тажриба ўтказилган пробиркаларни стандарт пробиркаларга солиштириш туфайли 1 г тупроқ, сўнгра 100 гр тупроқ таркибидаги  $\text{P}_2\text{O}_5$  миқдори аниқланади.

## **РИЗОСФЕРА МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ**

### **Маишгулотни ўтиш тартиби:**

Илдизларни еттита колбага солиб чайилади (Теппер усулида).

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

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



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

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

Текширувчиларнинг аниқлашича, ўсимлик микроорганизмлар истеъмол қиладиган қанд ва органик моддаларни ўзининг вегетация даврида 4-5% миқдорида ажратиб чиқаради. Ризосфера микроорганизмлари фақат ўсимликлар ажратадиган органик моддалар ҳисобига яшамасдан чириётган илдиз эпидермиси ва илдиз тукларидан ҳам озиқ сифатида фойдаланади. Текширишлардан маълум бўлишича, ҳар қайси ўсимликларнинг ўзига хос ризосфера микрофлораси бўлади. Масалан, Е.Ф.Берёзова бошоқли ўсимликлар илдизида кўпинча аммонификаторлар, денитрификаторлар бўлишини; маккажўхори илдизида анаэроб азот тўпловчилар; картошка илдизида микобактерия, актиномицет ва бошқалар бўлишини аниқлаган. Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар ажратадиган турли органик моддалар ҳисобига яшаши билан бирга ўз навбатида ўсимликларни ўсиши учун зарур бўлган турли элементлар (азот, фосфор, витамин ва бошқалар) билан таъминлайди. Ризосфера микроорганизмлари спора ҳосил қилмайдиган микроорганизмлар туркумига кирсалар ҳам, асосан тупроқ микрофлорасига яқин туради. Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар илдизида, илдиз атрофида жойлашишларига қараб бир неча гуруҳга бўлинади. Е.Ф.Берёзова илдизга ёпишган микрофлора ўсимлик учун катта аҳамиятга эга эканлигини, чунки бу микрофлора ўсимлик учун керакли физиологик моддаларни синтез қилиб беришдан ташқари, ўсимликлар илдизини зарарли микроорганизмлар таъсиридан сақлашини аниқлаган. Илдиз атрофига яқин жойлашган микроорганизмлар тупроқдаги ўсимлик ўзлаштира олмайдиган моддаларни енгил ўзлаштира оладиган ҳолатга айлантиради; бундан ташқари, ўсимлик илдизидан чиқадиган баъзи бир зарарли моддаларни парчалайди.

Шунинг учун бундай микроорганизмлар ўсимликларнинг ўсишида катта аҳамиятга эга.

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

Ризосфера микроорганизмлари Е.С.Теппер усулида аниқланганда ўсимликлар илдизини кесак бўлакчаларидан тозалаб тахминан 1 г илдиз тортиб олиб, 50 мл стерилланган сув солинган колбада 2 дақиқа ювилади. Сўнгра илдизлар стерилланган пинцет ёрдамида колбадан суви силқитиб олиниб, 50 мл сув солинган бошқа колбада яна ювилади. Шундай қилиб, 7 марта ювилади. 6 ва 7-марта ювилаётганда колбага 3-5 г стерилланган кварц қуми солиниб ювилади.

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

$$0,05-500$$

$$1 - X$$

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

## ЭПИФИТ МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ

**Машғулоти ўтиш тартиби:** ГПА, Чапека, сусло-агар озиқа муҳити солинган Петри ликобчаларида унган микроорганизм колонияларини микдорини санаш ва 1 грамм донда қанча микроорганизм борлигини аниқланади.

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

Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар ўсиш даврида илдизидан танасига ҳам кўтарилади ва ўсимлик танасига ташқи муҳитдан чанг, ҳашаротлар орқали ҳар хил микроорганизмлар юқади. Ўсимлик танасида учрайдиган микроорганизмлар **эпифит микроорганизмлар** дейилади. Эпифит микроорганизмлар асосан сапрофитлар туркумига кириб, улар ўсимлик тўқималаридан ажралиб чиқадиган ҳар хил чиқиндилар ва ўсимлик танасидаги турли органик моддалардан озиқ сифатида фойдаланади.

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

Е.И.Квасников, М.Г.Сумневич ва Ю.М. Возняковскаяларнинг маълумотларига кўра, эпифит микроорганизмлар туркумига *Pseudomonas* гуруҳига кирувчи микроорганизмлардан ташқари, ҳар хил шарсимон, таёқчасимон ва сут кислота ҳосил қилувчи бактериялар ҳам киради. Ўсимлик танасида учрайдиган микроорганизмлар ўсимликнинг ўсишига

зарар етказмайди, эпифитлар гуруҳига кирувчи баъзи бир зарарли замбуруғлар эса ўсимлик танасидан илдизига ўтиб ўсимликнинг ҳосилдорлигига таъсир қилиши мумкин.

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

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

## **МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ АНТАГОНИСТИК ХУСУСИЯТЛАРИНИ АНИҚЛАШ**

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

**Керакли асбоблар ва реактивлар:** микроскоп, буюм ва қоплагич ойналар, микробиологик сиртмоқ, спирт лампаси, фитопатоген ва текшириш учун олинган микроорганизмларни

пробиркалардаги соф культураси, агарли озиқа қуйилган Петри ликобчаси, қоғозли фильтр дисклар, пинцет, термостат.

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

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

Микроорганизмларни антибиотиклари ёки уларнинг тирик культуралари қишлоқ хўжалик экинларининг касалликларига қарши биологик кураш чораси сифатида ишлатилади. Антибиотиклар келиб чиқиши, кимёвий тузилиши,

микроорганизмларга қарши таъсир механизми ва уларни таъсир доирасига кўра қатор гуруҳларга бўлинади. Тор таъсир доирасига эга бўлган антибиотиклар билан бир қаторда кенг таъсир кучига эга бўлган антибиотиклар ҳам қўлланилади.

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

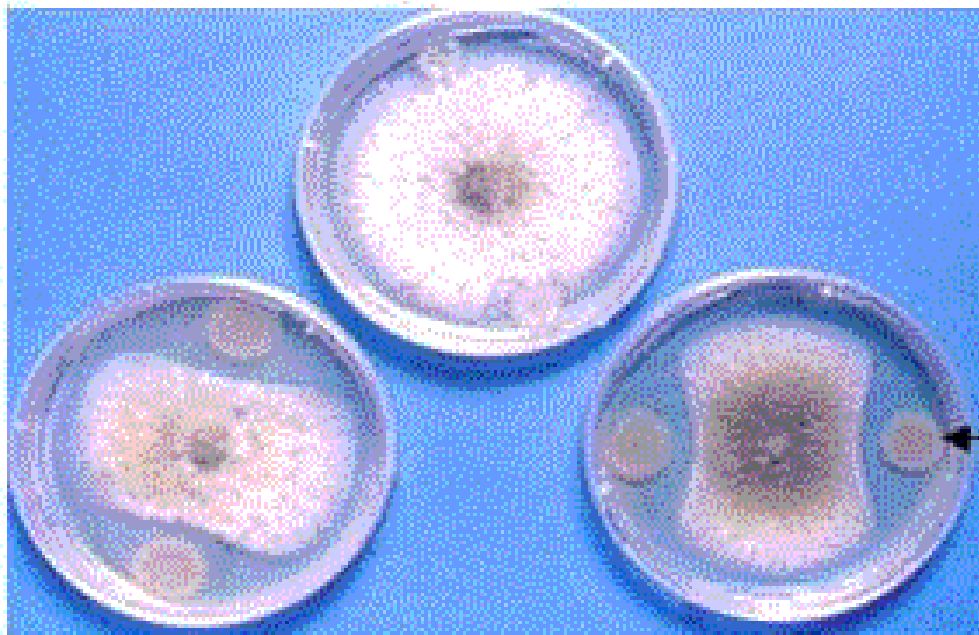
Тест сифатида олинган фитопатоген микроорганизмлар агарли озиқа қуйилган Петри ликобчасига экилади, сўнгра пинцет билан маълум микдорда текширилади. Микроорганизмлар ўстирилган культурал суюқлиги шимдирилган фильтр қоғозли дисклар бир хил ораликда агар юзасига жойлаштирилади. Экилган Петри ликобчалари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

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

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

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

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



*Антагонистик фаолликни аниқлашни қоғоз диск усули*

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



## ГЛОССАРИЙ

**Автоклав** - микробиология лабораториясида асбоблар ва материалларни юқори ҳароратда босим остида сув буғи билан стериллашга мўлжалланган аппарат.

**Автотроф озиқланиш** - қуёш энергиясидан фойдаланиб, хлорофил доначасига эга организмларни атмосферадаги  $\text{CO}_2$  гази ва сувни фотосинтез ёрдамида ўзлаштириб, органик модда ҳосил қилишдир.

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

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

**Азотофиксация** - ҳаводаги молекуляр азотни микроорганизмлар томонидан ўзлаштирилиши.

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

**Аммонификация** - оксиллар ва азотли органик бирикмаларни микроорганзмлар томонидан  $\text{NH}_3$  гача парчаланиши. Бунда  $\text{NH}_3$  дан ташқари  $\text{H}_2\text{S}$  ва индол ҳам ҳосил бўлади.

**Амфитрихлар** – танасининг икки учида бир тутамдан хивчинларга эга бактериялар.

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

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

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

**Аскомицетлар** - халтали замбуруғлар синфи бўлиб, эукариот организмлар ҳисобланади. Улар замбуруғларнинг 45% дан ортиқ турларини ўзига бириктиради. Аскомицетларнинг споралари аскоспоралар деб номланиб, махсус халталар ичида ҳосил бўлади. Ўсимликларда ун шудринг касалликларини келтириб чиқарувчи замбуруғлар типик мисол бўла олади.

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

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

**Аэроблар** - ҳаводаги молекуляр азотга муҳтож бўлган микроорганизмлар.

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

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

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

**Бактериофаглар** - бактерия ҳужайрасида паразитлик қилувчи вируслар.

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

**Бациллалар** - шакли таёқчасимон спора ҳосил қилувчи бактериялар.

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

**Биореактор** - микроорганизмларни суюқ озика муҳитларида ўстиришда фойдаланиладиган, ҳужайралар биомассасини олишда ишлатиладиган микроиклими бошқарилувчи аппарат.

**Биота** - ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар яшайдиган муҳит. Биоценоздан фарқ қилиб, турларни ўзаро бир-бири билан экологик боғлиқлиқлиги кузатилмайди.

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

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

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

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

**Вибрионлар** - шакли вергулсимон бўлган бактериялар.

**Вилт** - ўсимликни ўтказувчи тўқима найларини зарарланиб, сўлишни юзага келиши. Бунга мисол қилиб, ғўзанинг вертицеллёз сўлиш касаллигини мисол қилиш мумкин.

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

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

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

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

**Грамм усулида бўяш** - қуритилган ва фиксация қилинган мазокка генцион-виолет бўёғидан куйилиб, 1-2 дақиқа сақланади. Сўнггра бўёқ сув билан ювиб ташланади ва мазокка Люголь эритмаси томизилади, кейин бирпас ўтгандан сўнг ювиб ташланади ва унга фуксин томизилади. 3-4 дақиқадан сўнг фуксин ювиб ташланади ва қуритилгач, устига бир томчи иммерсион мой томизилиб микроскопда кўрилади. Грамм усулида бўяш бактерияларнинг турини аниқлаш учун асосий белги бўлиб ҳисобланади. Бактериялар Грамм усулида бўялиш бўялмаслигига қараб икки гуруҳга бўлинади: 1) Грамм усулида мусбат бўялувчи (грамм-мусбат) ва 2) Грамм усулида манфий бўялувчи (грамм-манфий) бактериялар.

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

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

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

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

**Дератизация** - қишлоқ хўжалигида зарар етказадиган иссиққонли сичконсимон кемирувчиларга қарши кураш.

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

**Диплококк** - иккитадан бўлиб турадиган шарсимон бактериялар.

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

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

**Замбуруғлар** - ўзига 250 000 дан ортиқ турни ўзига бириктирган эукариотларнинг катта гуруҳи. Улар дунё (*Kingdom*) сифатида ажратилиб (*Fungi*, *Mycota*), қуйидаги синфларга бўлинади: Хитридиомецетлар,

Оомицетлар, Зигомицетлар, Аскомицетлар, Базидиомицетлар ва такомиллашган замбуруғлар ёки Дейтеромицетлар.

**Зигогамия** - айрим замбуруғлар (Зигомицетлар) ва сувўтларнинг жинсий кўпайишидир. Морфологик бир хил, жинсий жиҳатдан турлича бўлган мицелийларнинг кўшилишидан зигоспора пайдо бўлади.

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

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

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

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

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

**Инокулят** - экиш материали. Янги микроорганизм культураларини олиш учун озика муҳитига экишда фойдаланиладиган суспензия.

**Инокуляция** - маълум бир микроорганизм билан ўсимлик ёки ҳайвонни зарарлаш.

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

**Капсид** - вирусни оқсил қобиғи.

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

**Кокк** - хужайраси шарсимон бактериялар.

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

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

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

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

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

**Лофотирихлар** - хужайрасини бир учидан бир қанча хивчинларга эга бактериялар.

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

**Мезофилл микроорганизмлар** - 25-30°C ҳароратда яхши ривожланадиган микроорганизмлар, улар учун минимал ҳарорат 0-10°C, оптимал ҳарорат 25-30°C, максимал ҳарорат - 40-45°C бўлиб, буларга кўпгина тупроқ ва сув микроорганизмлари киради.

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

**Микоплазмалар** - прокариот организмлар бўлиб, хужайра қобиғига эга бўлмаган таркибида ДНК ҳамда РНК сақлайдиган микроорганизмлардир. Вируслардан фарқ қилиб микоплазмалар сунъий озиқа муҳитларида ўса олади.

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

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

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

**Микрококklar** - шарсимон шаклга эга, граммусбат бактериялар.

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

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

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

**Монотрих** – танасида битта хивчини бўлган бактерия.

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

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

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

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

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

**Пассаж** - микроорганизм культурасини янги озиқа муҳитига қайта экиш.

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

**Пенициллин** - замбуруғлардан олинадиган антибиотик 1929 йилда А.Флеминг томонидан аниқланган. Молекуласи - 6-аминопенициллан кислотаси. Моғор замбуруғлари продуценти ҳисобланади. Граммусбат бактерияларга нисбатан юқори антимиқроб таъсирга эга. Кам захарли антибиотиклардан бўлиб, ҳалигача тиббиёт амалиётида қўлланилади.

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

**Перитрихлар** - хужайраси юзасида кўплаб хивчинлари бўлган бактериялар.

**Психрофилл микроорганизмлар** - совуксевар микроорганизмлар бўлиб, +20°C дан юқори ҳароратда ривожланишдан тўхтади, лекин 0°C ва ундан паст ҳароратда ҳам ривожлана олади. Ривожланиши учун минималъ ҳарорат -10°C, оптималъ -+10°C, максималъ -+30°C ҳисобланади.

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

**Риккетсиялар** - бактериялар оиласи бўлиб, америкалик микробиолог Х.Т.Риккетс шарафига номланган. Хужайралари плеоморф шарсимон ёки таёқчасимон (0,2-0,6 x 0,4-2,0 мкм), ҳаракатсиз, грамманфий, спора ҳосил

қилмайди, бинар бўлиниши ҳисобига кўпаяди. Бўғимоёқлилар ва сут эмизувчиларнинг хужайраси облигат паразити ҳисобланади.

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

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

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

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

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

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

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

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

**Спирохеталар** - спираль ёки штопорга ўхшаш сербурамали таёқчалар.

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

**Спорангий** - замбуруғлар ва ўсимликлар споралари юзага келадиган орган.

**Стрептококклар** - мунчоққа ўхшаб тизилиб жойлашган шарлардан иборат бактериялар.

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

**Сулема** - симоб хлориди, ( $\text{HgCl}_2$ ) кучли заҳар. Сулеманинг 1% ли спиртдаги эритмаси антимикроб бирикма сифатида уруғларни дорилашда, кийим-кечак ва чойшабларни дезинфекция қилишда ишлатилади.

**Сут кислотали бижғиш** - сут таркибидаги қандни (лактозани) бактериялар ёрдамида бижғитиб сут кислота ҳосил қилиш. Бу бактерияларга *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus sp.* ва бошқалар киради.

**Таксономия** - организмлар классификацияси ва систематикасининг назарияси.

**Термостат** - иссиқлик бир хил ҳолатда ушлаб туриладиган ускуна. Микробиология амалиётида микроорганизм культураларини ўстиришда оптимал шароит яратиш учун фойдаланилади.

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

**Тиндализация** - каторасига 3 кун, кунига бир марта 30 дақиқадан Кох аппаратида 70-100°С ҳароратда қиздириш. Тиндализацияда спори микроорганизмлар ҳам қирилиб кетади. Тиндализация инглиз физици Ж.Тиндал томонидан яратилган.

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

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

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

**Фаглар** - бактерияларни зарарловчи вируслар.

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

**Фосфобактерин** - таркибида *Bacillus megaterium* var. *phoshaticum* бактериялари культурасини сақланган биоўғит. Фосфобактерин фосфорли бирикмаларни парчалаб, ўсимлик томонидан ўзлаштирилишига ёрдам беради.

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

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

**Хемосинтез** - бактериялар метаболизми бўлиб, CO<sub>2</sub> ни ўзлаштиришга асосланган. 1887 йилда С.Н.Виноградский томонидан кашф этилган. Масалан, нитрификаторлар, тион бактериялари ва бошқалар хемосинтезни аэроб шароитда амалга оширади. Хемосинтезни амалга оширувчи прокариотлар O<sub>2</sub> ўрнига олтингугурт бирикмаларини ишлатиши мумкин.



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

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

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

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

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

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

## МУНДАРИЖА

<b>КИРИШ</b> .....	4
<b>МИКРОБИОЛОГИЯ ЛАБОРАТОРИЯСИ ВА УНДА ИШЛАШ ҚОИДАЛАРИ</b> .....	4
<b>МИКРОСКОП ВА УНИНГ ТУЗИЛИШИ</b> .....	8
<b>ПРЕПАРАТЛАРНИ ТАЙЁРЛАШ ВА БЎЯШ УСУЛЛАРИ</b> .....	17
<b>МИКРООРГАНИЗМЛАР МОРФОЛОГИЯСИ</b> .....	24
<b>СТЕРИЛЛАШ УСУЛЛАРИ</b> .....	34
<b>МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЎСТИРИШ УЧУН ОЗИҚА МУҲИТЛАРИНИ ТАЙЁРЛАШ УСУЛЛАРИ</b> .....	39
<b>МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЭКИШ</b> .....	45
<b>МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ СОҒ КУЛЬТУРАСИНИ АЖРАТИШ ВА БЕЛГИЛАРИНИ ЎРГАНИШ ҲАМДА УЛАРНИНГ ТУРЛАРИНИ АНИҚЛАШ</b> .....	48
<b>СУВДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ МИҚДОРINI АНИҚЛАШ</b> .....	55
<b>ҲАВОДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ МИҚДОРINI АНИҚЛАШ</b> .....	57
<b>ТУПРОҚДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ МИҚДОРINI АНИҚЛАШ</b> .....	6
<b>СПИРТЛИ БИЖҒИШ</b> .....	64
<b>СУТ КИСЛОТАЛИ БИЖҒИШ</b> .....	67
<b>МОЙ КИСЛОТАЛИ БИЖҒИШ</b> .....	79
<b>ПЕКТИНЛИ БИЖҒИШ</b> .....	71
<b>КЛЕТЧАТКАЛИ БИЖҒИШ</b> .....	72
<b>АММОНИФИКАЦИЯ ЖАРАЁНИ</b> .....	74
<b>НИТРИФИКАЦИЯ</b> .....	76
<b>ДЕНИТРИФИКАЦИЯ</b> .....	77
<b>АЗОТ ТЎПЛАШ</b> .....	78
<b>ОЛТИНГУГУРТ ВА ТЕМИР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ</b>	85
<b>ФОСФОР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ</b> .....	89
<b>РИЗОСФЕРА МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ</b> .....	92
<b>ЭПИФИТ МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ</b> .....	95
<b>МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ АНТАГОНИСТИК ХУСУСИЯТЛАРИНИ АНИҚЛАШ</b> .....	96
<b>ГЛОССАРИЙ</b> .....	101



Босишга рухсат берилди. \_\_\_\_\_. (Бичими 60x84)1/16. Шартли босма табағи \_\_\_\_  
Нашриёт босма табағи \_\_\_\_  
Адади \_\_\_\_\_, Бахоси келишилган нархда. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ босмахонасида чоп этилган.  
Босмахона манзили: \_\_\_\_\_







