

## 2 – ma’ruza. Mikrobiologiya tadqiqodlarining asosiy metodlari (2 s.)

### Reja

1. Toza kulturalar va ularning olinishi.
2. Mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash texnikasi.
3. Oddiy va differentsial bo'yash. Gram usulida bo'yash va uning mikroorganizmlar klassifikatsiyasidagi ahamiyati.
4. Mikroorganizmlarni mikroskop yordamida o'rganish usullari.
5. Zamonaviy mikroskoplar: yorug' va qorong'i maydonli, faza-kontrast, lyuministsent va elektron mikroskoplar.
6. Biologik mikroskoplar imkoniyatlarining kimyoviy tavsifi. Fiksirlangan, bo'yalgan va tirik preparatlar tayyorlash.
7. Boyitilgan va toza kulturalar haqida ma'lumotlar va ularni mikroorganizmlarni sistematikasi va fiziologo-biokimieviy xususiyatlarini o'rganishdagi ahamiyati.
8. Mikroorganizmlarni tabiatda azot, temir, oltingugurt, uglerod va boshqalarni aylanishida ishlatiladigan metodlar.

**Mavzuga oid tayanch ibora va tushunchalar:** toza kultura, mikroskop, mikroskopik preparat, gram usulida bo'yash, faza kontrats, biologik mikroskop va elektron mikroskop

### **Mikroorganizmlar bilan ishlashda rioya qilinadigan aseptika qoidalari.**

Tirik mikroorganizmlar populyasiyasiga bakteriya kulturasi deyiladi. Laboratoriyada mikroorganizm kulturalari turli shaklda o'stiriladi (suyuq oziqa muhitlarida, agarli "qiyshiq agar" ("kosyak")larda (sterillangan agarli oziqa muhit ma'lum burchak ostida qiyshaytirilib qotiriladi), Petri likopchalaridagi qattik oziqa muhitlarida). Mikroorganizmlar kulturasi faqat bir turdan iborat bo'lsa u sof kultura deyiladi. Mikrobiologlar deyarli hamma vaqt sof bakteriya kulturalari bilan ish olib boradilar. Agar kultura bittadan ortiq mikroorganizmlar turini tutsa, u kultura aralash yoki iflos kultura deyiladi. SHuning uchun sof kulturalarning tozaligini saqlash mikrobiologlarning asosiy vazifalariga kiradi. Aks holda tadqiqodlarda olingan natijalar noto'g'ri bo'ladi. Mikroorganizmlarning atrof muhitda keng tarqalganligi tufayli ularning sof kulturalarga tushmasligini ta'minlash uchun muhofaza choralarini ko'rish muhim, ya'ni aseptika texnikasiga amal qilish lozim.

Demak, aseptika texnikasiga ko'ra, mikroorganizmlar sterillangan oziqa muhitida o'stiriladi va bu muhitni atrofdan mikroorganizmlar tushishidan muhofaza qilinadi. Sof kultura oziqa muhitga ekilganda quyidagi aseptika texnikasi qoidalariga amal kilinadi: 1) sof kulturaga tegishi mumkin bo'lgan barcha buyumlar oldindan sterillanadi; 2) oziqli muhit sterillanadi; 3) ekish va qayta ekish vaqtlarida kultura ifloslanishidan saqlanishi uchun extiyot qilinadi. Buning uchun quyidagi choralar amalga oshiriladi: a) barcha idish va oziqli muhitlar tayyor bo'lishi bilan darxol sterillanadi; b) havodagi mikroblar tushmasligi uchun oziqli muhitlar yopiq idishlarda saqlanadi. Bunda paxta va dokadan tayyorlangan tiqinlardan foydalaniladi va ular faqat ekish vaqtida olib turiladi, lekin hech

qachon stol yoki boshqa buyumlarga qo'yilmaydi; v) sterillangan idishlarni ichki va ulardagi steril oziqli muhitlarga hamda sof kulturalarga tegishi mumkin bo'lgan barcha vositalar avvaldan sterillanadi, masalan, bakteriologik ilmoq; g) ekish va kayta ekish vaqtida ishlatiladigan probirka va kolbalarni og'zi ishdan oldin flambirlanadi va iloji boricha kam vakt davomida ochiq holda qoldiriladi: d) ish joyini mikroorganizmlar bilan ifloslanishdan saqlanadi, bakterial ilmoqlar ishlatilgandan so'ng ham sterillanadi, pipetkalar esa dezinfeksiya qiladigan suyuqliklarga solinib ko'yiladi.

Laboratoriya sharoitida probirkadagi suyuq muhitdan boshqa probirkadagi muhitga ekish yoki Petri likopchasidagi agarli qattiq muhitga ekish kabi ishlar tez-tez amalga oshirilib turadi. Talabalar bunday mashg'ulotlarni bajarib, aseptika texnikasi qoidalarini amalda ko'llashni o'rganishlari lozim. Probirkadan probirkaga ekishda quyidagi ishlar bajariladi:

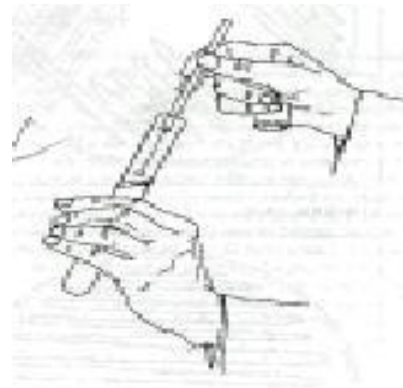
1. Mum qalam yordamida ekiladigan probirkalarga talabaning ismi, guruhini raqam soni yoziladi.

2. Ilmoq alanganing yuqori qismida cho'g' holatigacha flambirlanadi va 10 daqiqa davomida sovutiladi, lekin stolga qo'yilmaydi.

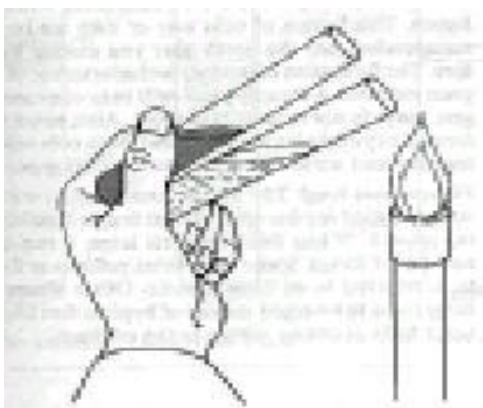
3. CHap qo'l bilan kulturali probirka olinadi va ilmoq ushlagan qo'lni bo'sh barmoqlari bilan probirkani tiqini olinadi, lekin tiqin stolga qo'yilmay ushlab turiladi. Probirkaning og'zi alangada qisqa vaqt qizdiriladi.



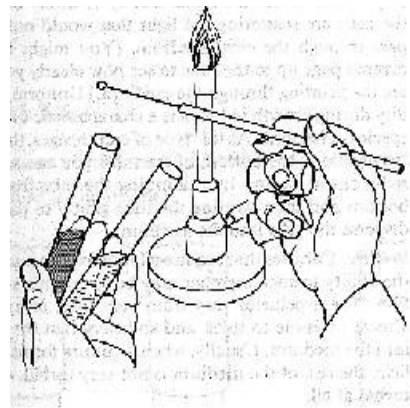
1-rasm



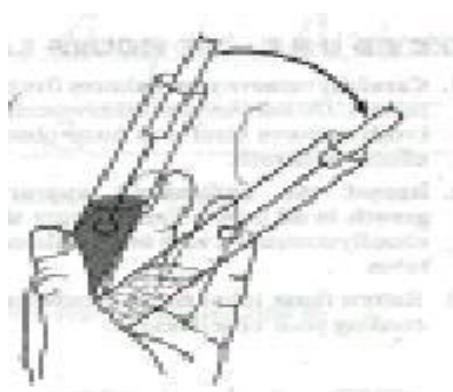
2-rasm



3-rasm



4-rasm

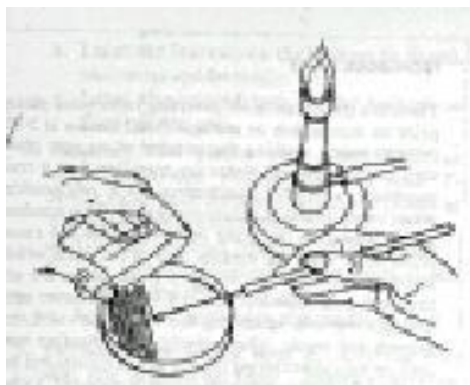


5-rasm

4. Ilmoqdan foydalanib probirkadagi suyuqlikdan olinadi, bunda ilmoq probirkaning ichki tomoniga tegmasligi kerak.
5. Probirkani ogʻzi va tiqini alangada qizdirilib, probirka yopiladi va shtativga qayta qoʻyiladi.
6. Boʻsh qoʻl bilan ekiladigan probirka olinadi va yuqoridagidek ochilib, ogʻzi sterillash uchun qizdiriladi.
7. Ilmoqdagi suyuq kultura probirkaga asta solinadi soʻng aralashtiriladi.
8. Ilmoqdagi tomchilarni probirkani ichida qoldirish uchun ilmoq probirkani ichidagi suyuqlik tugagan joyiga tegiziladi.
9. Ilmoq asta chiqariladi va probirkani ogʻzi bilan tiqin flambirlanadi, probirka yopiladi va shtativga qoʻyiladi.
10. Ilmoq choʻgʻ holatigacha qizdiriladi.

Probirkadan Petri likopchasiga ekishda qoʻyidagi ishlar amalga oshiriladi:

1. Petri likopchasining ustiga mum qalam yordamida talabanning ismi, guruhining raqam soni, sana yoziladi.
2. Yuqorida aytilganday, probirkadan ilmoq bilan kultura solinadi.
3. Boʻsh qoʻl bilan Petri likopchasining qopqogʻi ochiladi, lekin stolga qoʻyilmaydi va likopcha ustida ushlab turiladi.
4. Petri likopchasidagi oziqli muhitga ilmoqdagi kultura "shtrix" usulida ekiladi. Bunda agarni oʻymasdan extiyot qilib ekish lozim.



6-rasm

5. Petri likopchasi yopiladi.

6. Ilmoq flambirlanadi va joyiga qo'yiladi. Ekmalar 28 **gradus**0S da keyingi darsgacha o'stiriladi.

Yorug'lik mikroskopining kattalashtirishi 3000 martagacha bo'ladi. U 0,1 - 0,2 mkm bo'lgan zarralarni ko'rish imkoniyatini beradi (1mkm(mikrometr) -  $10^{-3}$ mm).

Zamonaviy elektron mikroskoplarning ko'rsatish qobiliyati 0,15 nm (1nm(nanometr)=  $10^{-3}$ mkm =  $10^{-6}$ mm) gacha bo'lib, bunday elektron mikroskoplar ko'rilayotgan namunalar (bakteriyalar, viruslar) va ularning tashkil qiluvchi noziq qismlarini ham ko'rish imkoniyatini beradi. Bunday mikroskoplar o'rganiladigan ob'ektni 750000 martagacha kattalashtiradi. Odatda mikroorganizmlarni optik mikroskopda 1000-1500, elektron mikroskopda esa 30000 - 100000 marta kattalashtirib ko'riladi (Mishustin, Emsev, 1987). Elektron mikroskop yordamida bakteriya hujayrasining noziq strukturalari-xivchinlar, fimbriylar, pililar, hujayra devori, sitoplazmatik membrana, sitoplazmada joylashgan ribosoma, nukleoid, har xil zahira moddalarning shakllari haqida to'liq axborot olishga erishiladi.

**Mikrobiologiyaning rivojlanishida mikroskopik texnika.** YUqorida aytib o'tilgandek, mikroskopik texnikaning taraqqiy etishi, uning ko'rsatish qobiliyatining oshishi mikroorganizmlarni o'rganishni yanada jadallashtirdi. Qorong'i maydonda ko'rish, lyuminessent mikroskop, fazo-kontrast mikroskop va elektron mikroskoplarning yaratilishi mikroorganizmlarni noziq strukturalarini (xivchinlar, hujayra devori, sitoplazmatik membrana va sitoplazmaning ichki strukturalari) o'rganish imkoniyatini yaratdi.

Qorong'i maydonda ko'rish mikroskopi. Ko'rish maxsus kondensor yordamida amalga oshiriladi. Odatda ishlatiladigan kondensorlar - (yorug' maydonli mikroskopda) o'rtadagi nurlarini o'tkazib, chetkilarini tutib qolsa, qorong'i maydonli mikroskopda kondensor faqat chetki nurni o'tkazadi, nurlarning og'ish burchagi katta bo'lganligi uchun, ular ob'ektivga tushmaydi, natijada ko'rish maydoni qorong'i bo'lib qoladi. Agar mikroskop ostida ko'riladigan preparat bir jinsli bo'lmay, har xil optik zichlikka ega zarralar tutsa, unda kondensordan o'tgan qiyshiq nurlar preparatdan o'tganda zich zarralarni aylanib o'tadi - difraksiya yuz beradi. Difraksiya natijasida nurlar har tomonga sochilib ob'ektivga tushadi. Natijada qorong'i fonda turgan bakteriyalar yaltirab ko'rinadi. Bu usulda ko'rish OI - 7 yoki OI- 19 kabi yoritgichlar ishlatilsa yaxshi natija beradi.

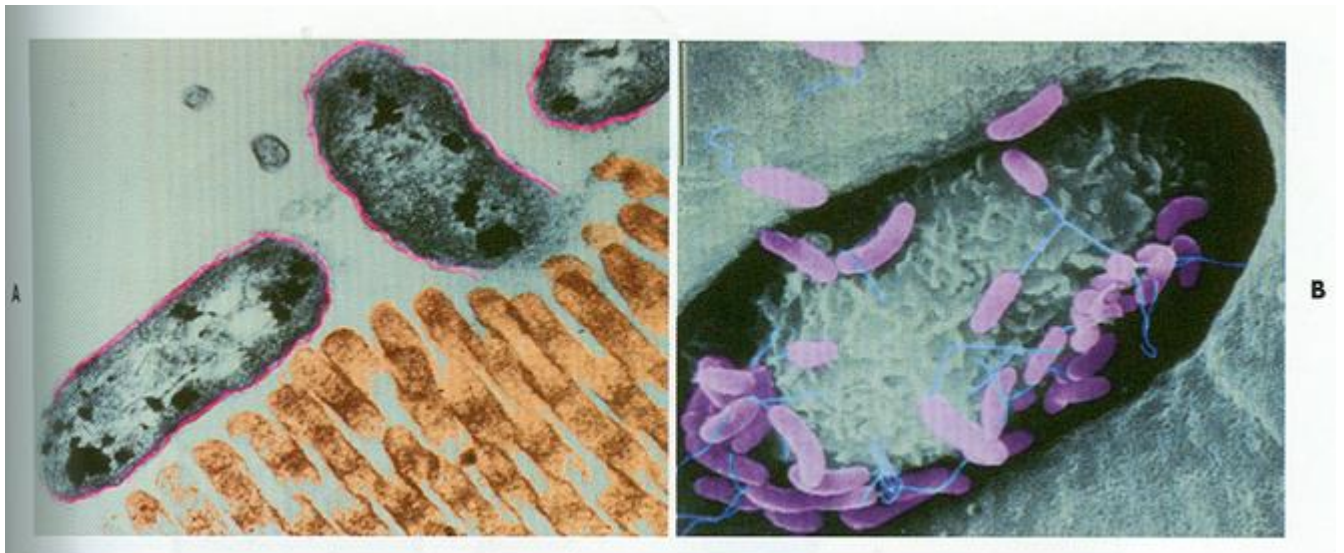
Ayniqsa, XX asrning 30-40-yillarida yaratilgan elektron mikroskoplar hujayra organoidlarining strukturasi bilan funksiyasi orasidagi bog'lanishni aniqlashga, mikroorganizmlardagi bioximiyaviy jarayonlarni o'rganishga imkon berdi.

Elektron mikroskopda elektronlardan chiqadigan nurning to'lqin uzunligi yorug'lik nurining to'lqin uzunligiga nisbatan ancha qisqa. Unda shisha linzalar o'rniga "elektron linzalar" - elektromagnit maydonlar paydo bo'ladi, bular buyumlar molekularini yutadi, barcha optik sistema vakuumga ( $10^{-4}$  mm simob ustuniga)

joylashtiriladi. SHuning uchun ko‘riladigan ob‘ektlar quruq bo‘lishi kerak. Aks xolda ob‘ektdagi suv vakuumda qaynab ketadi va buyum emiriladi. Elektronlar oqimi tekshiriladigan ob‘ektga tushganda, termik va radiatsion o‘zgarishlar sodir bo‘ladi, bu esa buyumning strukturasi buzib yuborishi mumkin. Ikki nuqta orasidagi masofa 10 A (angstrom)ga teng bo‘ladi, bunda buyum 100000 marta kattalashgan bo‘ladi (3-rasm).

Tekshiriladigan buyumlar, odatda, 10000 - 30000 marta kattalashtirib ko‘riladi. Elektron mikroskoplarda ko‘riladigan buyumlar nihoyatda yupqa bo‘lishi qerak.

SHvetsiyalik olim SHEstrand elektron mikroskoplar uchun yupqa kesmalar tayyorlaydigan mikrotom yaratdi. Bu mikrotom yordamida tayyorlanadigan kesmalarning qalinligi 100 - 150 A ga teng bo‘ladi. Ko‘riladigan buyumning suvi quritilib, so‘ngra u fiksatsiya qilinadi va qotirish uchun metakril smolasi bilan ishlov beriladi. SHundan keyin mikrotomda 100 - 150 A qalinlikda kesmalar tayyorlanib, maxsus ishlov berilgandan so‘ng elektron mikroskopda ko‘riladi.



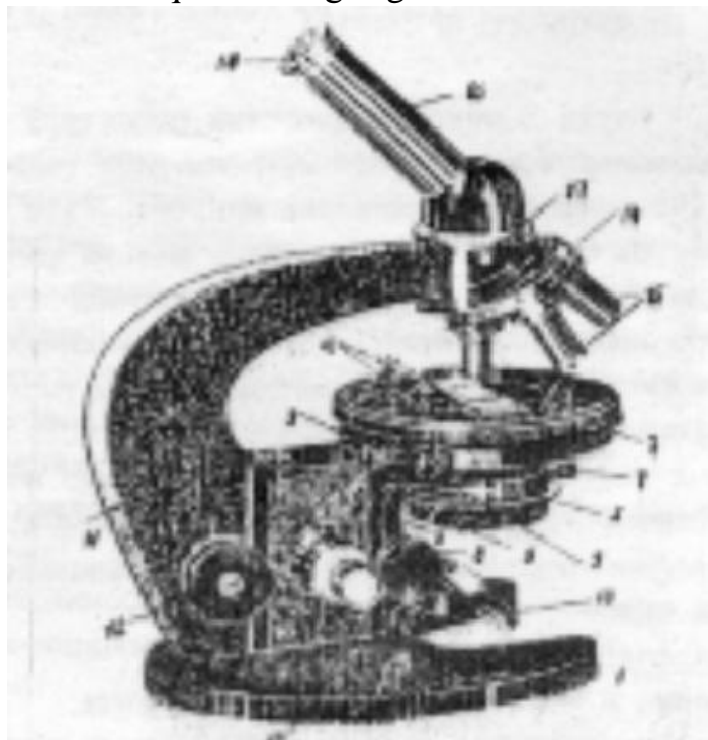
7-rasm. A - Xolera vibrionining elektron mikrografiyasi; V - Bakteriya hujayrasining pililari ipchalar ko‘rinishida ko‘rsatilgan.

- 1). YOrug‘lik va elektron mikroskoplarning bakterialarning tadqiq qilishdagi roli.
- 2). Prokariotlarning mikroskop ostida kuzatish: a) fiksirlangan, bo‘yalgan preparat tayorlash. b) ezilgan tomchi usulida bakteriya preparatlarni tayorlash. v) bakterialarni boyitilgan va sof kulturalarini tayorlash. g) sterilizatsiya usullari.

## 2) MBR-I mikroskopining tuzilishi

Mikroskopning mexanik va optik qismlardan tuzilgan. **Mexanik qismiga:** buyum stolchasi va tubus mahkamlanagan shtativ (tutqich) kiradi (1-rasm). Buyum stolchasiga ko‘riladigan preparat o‘rnatiladi. Preparatni qisqichlar yordamida qisish va o‘ng va chap tomondagi ikki murvati yordamida gorizantal tekislikda harakatga keltirish mumkin. Buyum stolchasi tagida kondensor kronshteyni mahkamlanagan. SHtativni yukori qismi tubus tutqichni makro- va mikrmurvatlar yordamida harakatlantirish mumkin. Bu murvatlarni soat mili yo‘nalishida buralsa tubus tutqich pasayadi, soat miliga teskari tomonga buralsa - ko‘tariladi. Mikromurvatni bir

aylanishi tubusni 0,1mm ga suradi. Mexanik qismiga yana revolver kirib, unga ob'ektivlar buralib joylashtiriladi. Tubusni yuqori uchiga okulyar mahkamlanadi. **Optik qismiga** yoritgich apparat, ob'ektiv va okulyar kiradi. Yoritgich apparat esa kondensor va ko'zgudan tuzilgan bo'ladi. Ko'zguni bir tomoni yassi va ikkinchi tomoni botiq ko'rinishga ega.



8-rasm

Kondensor linzalar tizimidan tashkil topgan bo'lib, yorug'lik manbaidan keluvchi va ko'zguda qaytarilgan parallel nurlarni to'plab berish vazifasini bajaradi. Yorug'lik o'tishi jadalligi iris diafragma orqali boshqarilishi mumkin. Diafragma ostida yorug'lik nuri filtrlari uchun gardish joylashgan. Kondensorni tik yo'nalishda maxsus murvat yordamida harakatga keltirish mumkin. Kondensor bilan ishlanganda ko'zguning faqat tekis tomonligidan foydalaniladi.

Ob'ektiv metall gardishda joylashtirilgan linzalar tizimidan tuzilgan bo'lib, ularning eng asosiysi tashqi (frontal) linzadir. Ob'ektivni kattalashtirishi uni fokus masofasi va egriligiga bog'likdir. MBR-1 mikroskopida 8, 40 (quruq) va 90 (immersiya yoki moy) marta kattalashtiruvchi ob'ektivlar bor. Quruq ob'ektivlarning frontal linzasi bilan ob'ekt orasida havo bo'ladi, moy (immersiya) ob'ektivlarda esa maxsus moy bo'lib, uning nur sindirishi buyum oynanikiga teng bo'ladi (1,5). Natijada, yorug'lik nurlari ob'ektdan va moydan o'tib tarqalib ketmaydi (2-rasm). Mikroorganizmlarni kuzatganda ko'pincha immersiya ob'ektivi ishlatiladi. Okulyarlar ikki linzadan tashkil topadi: yuqori-ko'z, quyi-to'plagich linzalar. Ular orasida umumiy gardishda diafragma joylashadi. Kattalashtirish imkoniga ko'ra okulyarlar har xil bo'ladi: 5x, 7x, 10x, 12x, 15x va 20x marta kattalashtiruvchi okulyarlardir. Eng muhimi mikroskopning kattalashtirishi va ko'rsatish imkoniyatidir.

Mikroskopning umumiy kattalashtirishini topish uchun ob'ektiv kattalashtirishini okulyar kattalashtirishiga ko'paytirish kerak. Masalan: immersiya ob'ektivi ishlatilganda (90 x) okulyar 7x bo'lsa, umumiy kattalashtirish 630 martaga teng bo'ladi. Mikroskopning ko'rsatish imkoniyati deb ma'lum mikroskopda ikki nuqta orasidagi eng kichik ko'ra oladigan masofaga aytiladi. Bu masofa ko'ra bilish masofasi (d) deyiladi. Uning kattaligi nurning to'lkini uzunligiga ( ), ob'ektivning apertura soniga (A1) va kondensorning apertura soniga (A2) bog'liq bo'ladi.

$$d = \frac{\lambda}{A_1 + A_2}$$

Agar  $A_1 + A_2$ ,

$$d = \frac{\lambda}{2A}$$

Appertura soni quyidagi formula bilan aniqlanadi:  $A$  sinus  $n$  u-ob'ektivga kiruvchi nurning yarim burchagi;  $n$  - ob'ektiv va preparat orasidagi muhitning nur sindirish ko'rsatkichi.

Agar, u 90°,  $n$  esa 1,5 (immersion moyning nur sindirish ko'rsatkichi) bo'lsa, unda  $A$  1,5. YOrug'lik nurining uzunligi 600 nm (0,6 mkm) bo'lsa, unda  $d$  0,2 mkm bo'ladi. YOrug'lik nuri o'rniga ultrabinafsha nur ishlatsa bu ko'rsatkichni kuchaytirish mumkin va hokazo. Agarda  $d$  ning absolyut qiymati qancha kichik bo'lsa, shuncha mikroskopning ko'rsatish imkoniyati katta bo'ladi va shuncha kichik ob'ektni ko'rish mumkin.

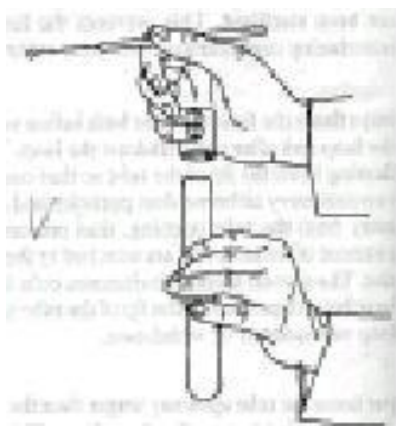
Mikroorganizmlarni mikroskop orqali kuzatish uchun, avvalo, preparat tayyorlanadi. Tayyorlangan preparatlar "ezilgan tomchi", "osilgan tomchi", "nusha olish usuli", fiksirlangan bo'yalgan va hokazo usullarda tayyorlangan bo'lishi mumkin.

### **Fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlash.**

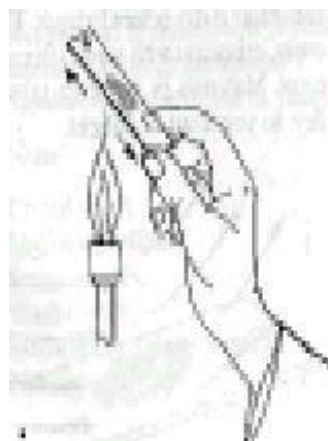
Preparat suyuq yoki agarli oziqa muhitida o'stirilgan ma'lum yoshdagi bakteriya kulturasidan tayyorlanadi. Oziqa muhitlari tayyorlashning ko'pdan-ko'p retseptlari ishlab chiqilgan bo'lib, ulardan ishlashga eng qulay va tayyorlashga osoni "pepton oziqa muhiti" deb shartli nomlangan oziqa muhitidir: 1gram litr vodoprovod suvida, pepton - 10, saxaroza yoki glyukoza - 2,  $K_2NRO_4$  - 0,5,  $MgSO_4$  - 0,5, NaCl - 0,5. Kattik oziqa muhiti olish uchun 15-20 g agar-agar solinadi. Qizitib eritilgan holda bu oziqa muhiti probirkalarga quyiladi va sterillanadi, qiyshaytiriladi va natijada "qiyshiq agar" hosil bo'ladi. Qiyshiq agar yuzasiga bakteriya kulturasi ekiladi va u o'ziga xos sharoitda o'stiriladi va ko'zga ko'rinadigan holda o'sgan bakteriyadan preparat tayyorlashda ishlatiladi.

Mikroorganizmlar bilan ishlaganda ish joyi toza, begona narsalardan xoli, xar bir talabaning doimiy ish joyi bo'lishi lozim. Har bir talaba dars boshlanishidan ilgari ish joyida quyidagilarni tayyorlashi kerak: mikroskop, spirtovka, narvoncha bilan vannacha (obzancha), buyum va qoplog'ich oynalar, bakterial ilmoq, probirkalar uchun mo'ljallangan shtativ, bo'yoklar, imersion moy va preparat tayyorlashda ishlatiladigan reaktivlar hamda suv solingan kolba.

**Surtma (mazok) tayyorlash.** Buyum oynasiga tomizilgan bir tomchi suvga o'rganilayotgan kulturaning biomassasidan ozgina solinadi va bakterial ilmoq bilan aralastiriladi. Biomassaning ortiqcha qismi kuydirib tashlanadi. Hosil bo'lgan kuchsiz loyqa buyum oynasi ustiga diametri 2sm doira shaklida tarqatiladi, gaz gorelkasi yoki spirtovka yaqinida isitiladi va havoda quritiladi va shu tarzda surtma tayyorlanadi. To'g'ri tayyorlangan surtmada bakteriyalar ayrim-ayrim bo'lib, yupqa qatlam hosil qiladilar.



9-rasm



10-rasm

Fiksatsiya issiq yordamida (flambirlash) yoki kimyoviy usulda olib boriladi. Birinchi usulda preparat uch marta surtmasini alangaga qaratgan holda goretka alangasidan o'tkaziladi. Fiksatsiya qilinganda hujayralar o'ladi va shishaga yaxshi yopishadi, tirik hujayraga qaraganda bo'yalishi engillashadi.

Preparat nordon yoki ishqoriy anilin bo'yoqlari bilan bo'yaladi. Nordon bo'yoqlarda xromofor (rang beruvchi ion) - anion, ishqoriylarda esa kation bo'ladi. Ishqoriy bo'yoqlarga quyidagilar kiradi: moviy rang metilen, ishqoriy fuksin, siyoh rang gensian va boshqalar. Agar bo'yoq filtr qog'ozga avvaldan shimdirilgan va quritilgan bo'lsa bo'yash osonlashadi. Bir ikki minut davomida bo'yalgandan so'ng, bo'yoq vodoprod suvi bilan yuviladi, filtr qog'ozini bilan qoldiq suvlar shimdiriladi, so'ngra mikroskopda ko'riladi.

**Preparatni mikroskopda ko'rish.** Mikroskopni talaba o'ziga nisbatan perpendikulyar holda qo'yadi. Ko'zgudan va kondensorning iris diafragmasidan foydalanib, kunduzgi yorug'likda yoki maxsus yoritgichlar, masalan, OI-19 dan foydalanib yorug'lik topiladi. Preparatga bir tomchi immersiya moyi tomiziladi va mikroskopning buyum stolchasiga joylashtiriladi. Mikroskop revolveridagi 90x ob'ektiv (immersiya ob'ektivi) preparatni ko'rishga moslanadi, yon tomondan kuzatilgan holda ob'ektiv linzasi moyga botiriladi. Okulyarga qaragan holda makromurvat yordamida ob'ekt topiladi. Aniq ko'rinishga erishish uchun mikromurvatdan foydalaniladi. Mikromurvatdan juda ehtiyotlik bilan foydalaniladi - soat mili yo'nalishida yoki aksincha, faqat 1 - 2,5 aylanishdan ortiq buralmaydi. Preparatni yoritilishini kondensorni vertikal yo'nalishda harakatga keltirib, kamaytiriladi yoki ko'paytiriladi. Bo'yalgan preparatlarni kuzatganda kondensor taqalguncha yuqoriga ko'tariladi.

Mikrobiologiyadan amaliy mashg'ulotlar uchun tutilgan maxsus albomga ko'rish maydoniga o'hshash, 3-4sm lik doira chiziladi. Unga o'rganilayotgan bakteriya hujayralarining rasmi chiziladi, o'lchamlari va shakllariga alohida ahamiyat beriladi, kerakli yozuvlar yoziladi.

Ish tugagandan so'ng ob'ektivdagi moy tozalanadi, (toluol shimdirilgan paxta bilan artiladi) revolverdagi kichik ob'ektiv fiksirlanadi, tubus va kondensor



tushiriladi hamda mikroskop va boshqa o'quv qurollari maxsus joyga ko'yiladi, ish joyi tartibga keltiriladi.

**Mikroorganizmlar uchun ozuqa muhiti.** Mikrobiologiya fani rivojlangan sari mikroorganizmlarni o'stirish metodlari ham takomillashib bormoqda. Lui Paster davriga qadar mikroorganizmlar uchun oziq muhiti sifatida qaynatilgan oziqlardan foydalanib kelingan bo'lsa, Lui Paster va K. Negeli oqsilsiz oziq muhitini qo'llashni tavsiya etadi.

Robert Kox va F. Lyoffler qaynatma sho'rva, pepton va osh tuzidan foydalanishni tavsiya etadilar. Bunday oziq muhiti go'sht-peptonli sho'rva bo'lib, unga 1-2% quruq agar-agar qo'shiladi. Agar-agar murakkab organik modda (agaroz va agaropektindan iborat polisaxarid) bo'lib, suvo'tlardan (agar-agar) olinadi. Tarkibida 70—75% Fe, 11-22% N<sub>2</sub>O, 2-4% kul, 0,4- 0,9% umumiy azot, 0,03-0,09% ammiakli azot uchraydi. Agar-agarining asosini kalsiy tuzlari, nordon efirlar, sulfat kislota va uglevod kompleksi - polisaxaridlar (arabinoza, glyukoza, galaktoza va boshqalar) tashkil etadi.

Agar-agar 80-86°S da eriydi, 36-40°S da qotadi. SHu xususiyati tufayli mikrobiologiyada keng foydalaniladi. Oziq muhitini 3 gruppaga bo'lish mumkin:

- 1) oddiy yoki sodda oziq muhiti: go'sht-peptonli sho'rva, go'sht-peptonli agar va boshqalar;
- 2) maxsus tayyorlangan oziq muhiti: zardobli agar, zardobli sho'rva, ivib qolgan zardob, kartoshka, qonli agar, qonli sho'rva, assetik sho'rva va assetik agar va boshqalar misol bo'ladi;
- 3) differensial diagnostik oziq muhiti: bu gruppaga 1) mikroorganizmlarning proteolitik xususiyatlarini aniqlash uchun go'sht-peptonli jelatin; 2) uglevodlarning fermentativ xususiyatlarini aniqlash uchun oziq muhiti (Giss ozig'i) misol bo'ladi; 3) gemolitik xususiyatlarni aniqlash uchun oziq muhiti (qonli-agar);
- 4) mikroorganizmlarning qaytaruvchanlik xususiyatini aniqlash uchun oziq.
- 5) o'z tanasidagi ma'lum moddalar sintezlay oladigan mikroblar uchun oziq va boshqalar misol bo'ladi.

Hozirgi vaqtda ko'p oziqlar quruq holda chiqarilmoqda, chunki ulardan foydalanish ancha qulay. Mikroorganizmlarni o'stirish uchun hozirgi vaqtda oqsilsiz oziqlardan keng foydalaniladi. Bunday muhitda ko'pchilik geterotroflar va patogen mikroblar yaxshi o'sa oladi.

SHunday oziqlar tarkibi murakkab bo'lib, ko'p komponentlardan tashkil topadi. Prototroflar juda oz miqdorda uglevodlar va tuzlar bo'lgan muhitda ham o'sa oladi. Auksotroflar esa o'z ozig'ida aminokislotalar va vitaminlar bo'lishini talab qiladi.

Oziq muhiti qattiq (go'sht-peptonli agar, go'sht-peptonli jelatin, chirigan zardob, kartoshka, tuxum oqi), yarim suyuq (0,5% go'sht-peptonli agar) va suyuq (pepton suvi, go'sht-peptonli bulon, shakarli bulon) bo'ladi.

Laboratoriyada bakteriyalar probirkalarda, Petri kosachalarida va kichik shisha idishlarda oʻstiriladi. Zich (qattiq) oziq muhitida bakteriyalar turli shakldagi koloniyalar hosil qiladi: qirralari tekis, tekis boʻlmagan, doʻng, ichiga botgan, yumaloq va hokazo.

Koloniyalarning diametri turlicha boʻlishi mumkin (4-5mm boʻlsa katta, 2-4mm boʻlsa oʻrtacha, 1-2mm boʻlsa kichik va 1mm dan kichik boʻlsa mitti koloniya deyiladi). Koloniyalarning rangi ham turlicha boʻlishi mumkin, rangli, rangsiz, quruq va shilimshiq va h.

5) **Sof va elektiv kulturalar.** Bakteriyalarning faqat bir turidagina iborat boʻlgan kultura sof kultura deyiladi. Sof holdagi kulturani ajratib olish ancha mashaqqatli ish, lekin shunga qaramasdan bunday kulturaning ahamiyati katta. Chunki sof holda ajratib olingan kulturada bakteriyalarning morfologiyasi, fiziologiyasini, biologik xususiyatlari va rivojlanishini aniq tekshirish imkoniyati yaratiladi. Sof kulturadan tashqari, elektiv kulturalar ham maʼlumdir. Elektiv kultura deb har xil turli mikroorganizmlar orasidan ayrim bir turning rivojlanishi uchun sharoit yaratishga aytiladi. Masalan, *Bac. subtilis* ning elektiv kulturasini shunday yaratish mumkin. Quruq pichandan 5-10g olib, ustiga 200 ml suv quyiladi va ozgina oq boʻrdan qoʻshib 15-30 minut qaynatiladi. Sungra filtrlab, kichik kolbalarga oz-ozdan solinadi va ogʻzini paxta probka (tiqin) bilan berkitib, 25-30°S li termostatda oʻstiriladi.

Elektiv oziq muhiti yordamida tuproqdagi koʻp turli mikroorganizmlardan ayrim turlarni ajratib olish mumkin. Elektiv kulturalar usulini birinchi marta Vinogradskiy ishlab chiqqan va nitrifikatorlarni boshqa guruh mikroorganizmlardan ajratib olishga erishgan.

**Mikroorganizmlarning oqib turuvchi kulturasi.** Bu usul laboratoriyada yoki ishlab chiqarish korxonalarida muhim ahamiyatga ega. Kulturali idishlarga doim yangi oziq eritmasi oqizib qoʻyiladi. Ikkinchi tomondan ishlanib boʻlgan kultura chiqib turadi, ikkala tomonning oqim tezligi barobar boʻladi. Masalan, kulʼtivorlar tutashtirilgan 3 ta idishdan iborat boʻlsa, 1- idishda yosh bakteriyalar, 2- idishda etilgan bakteriyalar va 3 - nchi idishda koʻpayishdan toʻxtagan bakteriyalar kulturasi boʻladi. Bu usulda istagan vaqtda ishni toʻxtatib, maʼlum yoshdagi bakteriyalar kulturasini olib, ularning xususiyatini oʻrganish mumkin.