

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY TA‘LIM, FAN VA
INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI**

BUXORO DAVLAT UNIVERSITETI

«TUPROQ MIKROBIOLOGIYASI»

fanidan laboratoriya mashg‘ulotlarni bajarish uchun

USLUBIY QO‘LLANMA



**“Durdona” nashriyoti
Buxoro - 2022**

Ushbu o'quv uslubiy qo'llanma Oliy ta'lim muassasalarining 60810700 - Agrokimyo va agrotuproqshunoslik yo'nalishi talabalari uchun mavzular 1,2,3,4,5, 6,7,8,9,10,11,12, 13, 14, test va yakuniy nazorat savollarini tavsiya etiladi.

TUZUVCHI.

Umarov O.R. - biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori PhD

Taqrizchilar:

Jumayev F.H. - biologiya fanlari nomzodi, dotsent Buxoro davlat universiteti

Asatov S. - biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori PhD, dotsent

BUXORO TABIIY RESURSLARNI BOSHQARISH INSTITUTI

Uslubiy qo'llanma BuxDU o'quv-metodik kengashining 2023-yil 27-maydagi 10-sonli yig'ilish qarori bilan nashrga tavsiya etilgan.

1. Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Aseptika va antiseptika qonun- qoidalari bilan tanishish.

Kerakli o'quv materiallari: Mikrobiologik laboratoriya bloki sxemasi, laboratoriya stoli

Jihozlari: mikroskop (biologik immersion mikroskop) buyum va qoplag'ich oyna, turli xil bo'yoqlar, tomizgich va bakteriologik ilmoqlar, preparatlar va boshqalar.

Umumiy ma'lumot:

1. Faqatgina mikrobiologiyadan laboratoriya mashg'ulotlari o'tiladigan xona.
2. Sterillash xonasi.
3. Idishlar yuviladigan xona.
4. Laboratoriya idishlari taxt qilib qo'yiladi-gan, oziq muhitlari tayyorlanadigan va boshqa qo'shimcha ishlar olib boriladigan preparator xona.

Steril sharoitni talab qiladigan ish olib borish uchun laboratoriya tarkibida dahlizli oynavand boks bo'lishi va bu erda bakteritsid lampa bo'lishi kerak.

Laboratoriya xonalari keng, yorug', derazalari shimolga yoki shimolig'arbg'a qaragan bo'lishi lozim, chunki ish uchun tarqoq yorug'lik kerak bo'ladi.

Devorlar oq rangdagi moy bo'yoq bilan bo'yalgan bo'lishi, stollar plastik yoki oyna bilan qoplangan bo'lishi kerak.

Ish joyi polietilen jild bilan yopilgan mikroskop, yoritgich, bo'yoqlar, bakteriologik ilmoq va nina, shpatellar, tomizgichlar, oddiy va o'rtasi chuqur buyum oynasi, qoplag'ich oyna, shtativlar, qumsoat, filtrqog'oz, spirt yoki gazli alanga, gugurt, dezinfektsiyalovchi eritmali shisha idishlar, immersion moy, suvli idish va bo'yoqni yuvishga mo'ljallangan vannacha bilan jihozlangan bo'lishi kerak. Laboratoriya stoli oldida qopqoqli chelak bo'lib, unga ishlatib bo'lingan materiallar tashlanadi.

Aseptika [yun. a – inkor qo'shimchasi va septicos – yiringli] – mikrobsizlik holatini ta'minlaydigan usullar; fizik (kuydirish, nur, kaynatish, muzlatish), kimyoviy (antiseptik moddalar bilan ta'sir etish), mexanik biologik va boshqa(lar) usullar bilan amalga oshiriladi. Aseptika turli murakkab jarrohlik operatsiyalarini hech qanday asoratsiz va xavf-xatarsiz bajarishga imkon beradi. Aseptikaga kuyidagilar kiradi: a) jarrohlik asboblari, bog'lov materiallari va boshqa(lar)ni sterillash b) jarroh qo'lini maxsus usullarda yuvish va tozalash; v) operatsiya va boshqa(lar) tekshirish ishlarini bajarish vaqtida ko'rsatilgan konun-koidalarga qat'iy amal qilish; g) davolash muassasalarida maxsus tashkiliy va sanitariya-gigiyena chora-tadbirlarni to'g'ri amalga oshirish. U antiseptika usuli bilan birga olib boriladi. Uy sharoitida kuygan yoki b. jarohatlarni bog'lash vaqtida ham aseptika qonun-koidalarga amal qilish lozim. Aseptika tibbiyotning barcha sohalarida qo'llaniladi.

Tirik **mikroorganizmlar** populyatsiyasiga bakteriya kulturasi deyiladi.

Laboratoriyada mikroorganizm kulturalari turli shaklda o‘stiriladi (suyuq oziqa muxitlarida, agarli "qiyshiq agar" ("kosyak")larda (sterillangan agarli oziqa muhit ma'lum burchak ostida qiyshaytirilib qotiriladi), Petri likopchalaridagi qattik oziqa muxitlarida). 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 tarkalganligi 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 muxitida o‘stiriladi va bu muhitni atrofdan mikroorganizmlar tushishidan muhofaza qilinadi. Sof kultura oziqa muhitga ekilganda quyidagi **aseptika** texnikasi qoidalariga amal qilinadi: 1) sof kulturaga tegishi mumkin bo'lgan barcha buyumlar oldindan sterillanadi; 2) oziqa muhit sterillanadi; 3) ekish va qayta ekish vaqtlarida kultura ifloslanishidan saqlanishi uchun ehtiyot qilinadi. Buning uchun quyidagi choralar amalga oshiriladi: a) barcha idish va oziqli muhitlar tayyor bo'lishi bilan darhol sterillanadi; b) havodagi mikroblar tushmasligi uchun oziqli muhitlar yopiq idishlarda saqlanadi. Bunda paxta va dokadan tayyorlangan tiqinlardan foydalaniladi va ular faqat ekish vaktida 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 ilmok; g) ekish va qayta 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 qo'llashni o'rganishlari lozim. Probirkadan probirkaga ekishda quyidagi ishlar bajariladi:

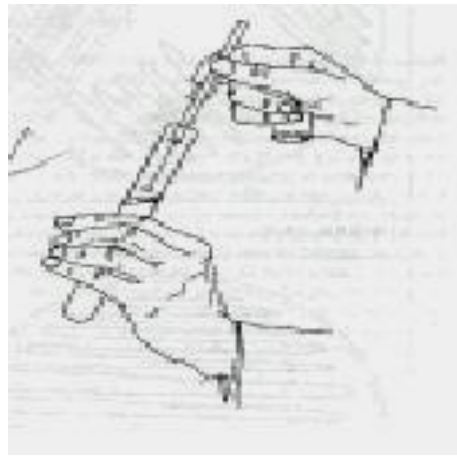
1. Mum qalam yordamida ekiladigan probirkalarga talabaning ismi, guruxini raqam soni yoziladi.

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

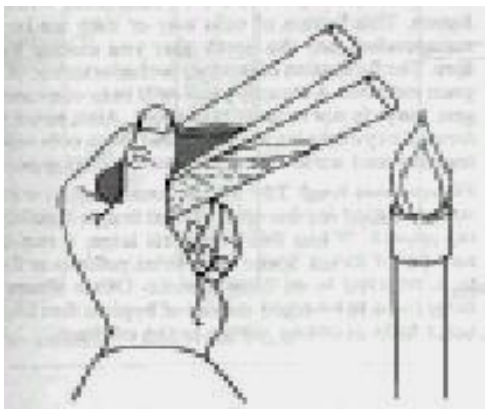
3. Chap qo'l bilan kulturali probirka olinadi va ilmoq ushlagan qo'lni bo'sh barmoqlari bilan probirkani tiqini olinadi, lekin tiqin stolga qo'yilmay ushlab turiladi. Probirkaning og'zi alangada qisqa vaqt qizdiriladi.



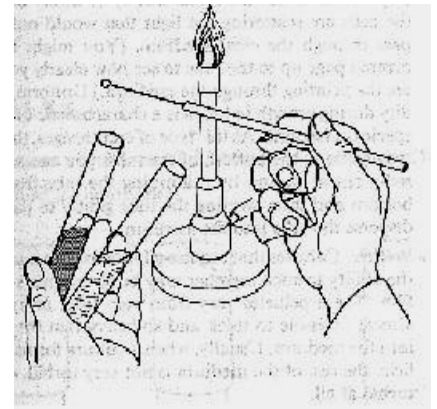
1-rasm



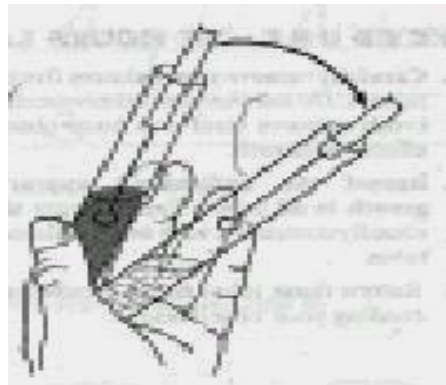
2-rasm



3-rasm



4-rasm



5-rasm

4. Ilmoqdan foydalanib probirkadagi suyuqlikdan olinadi, bunda ilmoq probirkaning ichki tomoniga tegmasligi kerak.

5. Probirkani og'zi va tiqini alangada qizdirilib, probirka yopiladi va shtativga qayta qo'yiladi.

6. Bo'sh qo'l bilan ekiladigan probirka olinadi va yuqoridagidek ochilib, og'zi sterillash uchun qizdiriladi.

7. Ilmoqdagi suyuq kultura probirkaga asta solinadi so'ng aralashtiriladi.

8. Ilmoqdagi tomchilarni probirkani ichida qoldirish uchun ilmoq probirkani

ichidagi suyuqlik tugagan joyiga tegiziladi.

9. Ilmoq asta chiqariladi va probirkani og‘zi bilan tiqin flambirlanadi, probirka yopiladi va shtativga qo‘yiladi.

10. Ilmoq cho‘g‘ holatigacha qizdiriladi.

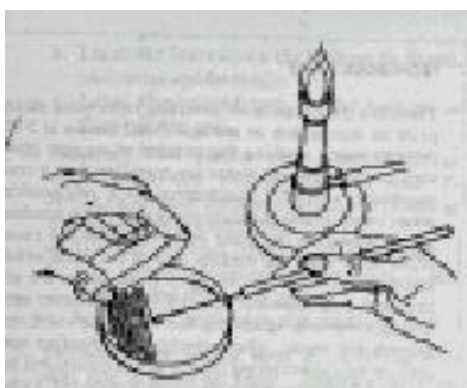
Probirkadan Petri likopchasiga ekishda qo‘yidagi ishlar amalga oshiriladi:

1. Petri likopchasining ustiga mum qalam yordamida talabaniqning ismi, guruhining raqam soni, sana yoziladi.

2. Yuqorida aytilganday, probirkadan ilmoq bilan kultura solinadi.

3. Bo‘sh qo‘l bilan Petri likopchasining qopqog‘i ochiladi, lekin stolga qo‘yilmaydi va likopcha ustida ushlab turiladi.

4. Petri likopchasidagi oziqli muhitga ilmoqdagi kultura "shtrix" usulida ekiladi. Bunda agarni o‘ymasdan extiyot qilib ekish lozim.



6-rasm

5. Petri likopchasi yopiladi.

6. Ilmoq flambirlanadi va joyiga qo‘yiladi. Ekmalar 28⁰C da keyingi darsgacha o‘stiriladi.

Aseptika usullari antiseptika turlari haqida.

O‘tgan asrning o‘rtalarida eng yengil operatsiyadan keyin ham yaralar o‘rni yiringlab, operatsiya qilingan bemorlarning 80%i haëtdan ko‘z yumgan. Jarrohlar infeksiya to‘g‘risida hech narsa bilishmagan, ularni o‘zlarining harakatlari, qilgan ishlari bilan ko‘pincha yarani zararlantirishgan va natijada bu holat o‘limga olib kelgan.

Aseptika bir necha turlarga bo‘linadi.

1. Qaynatish.

2. Yuqori bosim ostida bo‘g‘ yordamida sterilizatsiyalash.

3. Yuqori temperaturada quruq sterilizatsiya qilish.

4. Kimyoviy sterilizatsiya qilish.

5. Yondirish orqali sterilizatsiya qilish.

Qaynatish usuli bilan shpirlslar, jarohat kengaytirgichlar, pensitlar sterilizatsiya qilinadi.

Bo‘g‘ yordamida esa holatlar, oqlklar, choyshablar va niqoblar sterilizatsiya qilinadi.

Kimyoviy usul bilan esa o‘tkir tig‘li asboblar (qaychilar, ignalar) rezinka qo‘lqoplar, tikish uchun ishlatiladigan iplar sterilizatsiya qilinadi.

Paqirlar hamda tog'oralar **yondirish** orqali sterilizatsiya qilinadi.

Quruq issiqlik bilan yuqori temperaturaga chidamli yonmaydigan issiqqa bardoshli jismlarni shishalarni, metall yoki farforni sterilizatsiya qilish mumkin.

Aseptika

Aseptika fizik omillar, kimëviy preparatlar, biologik usullarni qo'llash bo'yicha o'tkazilgan tashkiliy tadbirlar bo'lib, yarasiga mikroblar tushushining oldini olish, ya'ni mikrobsiz ishlash demakdir.

Aseptikaning asosiy qonuni yaraga tegadigan har bir narsa bakteriyalardan xoli bo'lishi, ya'ni sterillangan bo'lishi kerak. Buni haëtga tadbiriq etish uchun yaraga mikroblar tushushi mumkin bo'lgan manbalarni yaxshi bilish kerak. Bu manbalar ikki xil bo'ladi: ekzogen va endogen.

Ekzogen infeksiya-yaraga bemor atrofidagi tashqi muhitdan havo (havo infeksiyasi), so'lak va boshqa suyuqliklar (tomchi infeksiyasi) tarqalishidan, yarada qoldirgan jismlardan (ip, drenaj va boshqalar) tushadigan infeksiyalar ichak, nafas yo'li va boshqalardan o'tadi. Endogen infeksiya yaraga to'g'ridan-to'g'ri èki limfa èki qon tomirlar orqali tushadi. Aseptika sharoitini yaratish uchun operatsion blokda xonalar (zonalashtirilgan) alohida-alohida bir-biridan ajratilgan holda bo'lishi shart. Bunda xonalar bir necha guruhlariga bo'linadi. Masalan, qattiq rejimli birinchi xona operatsiya xonasi hisoblanadi. Ikkinchi xona operatsiyadan oldingi xona hisoblanadi. Uchinchi xona qon saqlaydigan, operatsiyaga kerakli apparatlar o'rnatilgan xonadir. To'rtinchi xona esa ko'makchi xonadir. Tozzalik va intizom aseptikaning asosidir. Kiyimlar (steril, xalat, qo'lqoplar) tartibga solinib, oëqqa baxilla kiyib, og'iz va burunga to'rt qavatli doka tutiladi, so'ng operatsiya xonasiga kiriladi. Operatsiya xonasining havosini dezinfeksiya qilish uchun bakteriyalarga qarshi ultrabinafsha lampalari ishlatiladi. Qonunga ko'ra, operatsiya va muolaja bilan shug'ullanuvchi barcha xodimlar dispanser nazoratida turadilar, har 6 oyda bir marta tibbiët ko'rigidan o'tadilar.

Antiseptika

Antiseptika infeksiya (mikrob)ning yaraga tushishiga va uning rivojlanishiga qarshi o'tkaziladigan kompleks kurash va oldini olish usullarini qo'llashdir. Antiseptika mexanik fizik, ximik, biologik aralash turlaridan iborat:

a) kimëviy antiseptika antiseptik, dezinfeksiyalovchi va kimyoterapevtik preparatlar guruhlariga bo'linadi. Shu maqsadda xloramin eritmasi bilan yiringli yarani tozalashda 0.5-1% li, metalmas asboblar uchun 0.5% li, asboblar va xonani tozalash uchun 3% li eritma ishlatiladi. Yodning 5%li spirtidagi eritmasi, lyugol, spirt, vodorod peroksid 3% li, kaliy permanganat eritmasi, kseroform 3-10% (maz) surtma, poroshoklar va hokazolar ishlatiladi;

b) mexanik antiseptika yarani antiseptik eritmalar bilan yuvish, yot jismlarni olib tashlash, yashash qobiliyatini yo'qotgan to'qimalarni kesib tashlashdan iborat.

v) fizik antiseptika yaralarda mikrobnng rivojlanishiga yo'l qo'ymaydigan fizik usullar bo'lib, ochiq va èpiq drenajlar hamda so'rovchi vaakumlardan foydalanishdir.

g) biologik antiseptika mikroblarni o'ldirish orqali inson organizmining immunobiologik holatini oshirishni ta'minlash maqsadini ko'zlaydi.

Biologik antiseptik moddalar qatoriga antibiotiklar, enzimalar, zardoblar kiradi. Antibiotiklarga olitetrin, streptimitsin, tetrotsiklin, ferment preparatlariga trepsin, ximotrepsin, ximopsin, zardob preparatlariga esa antitoksinlar va anatoksinlar kiradi.

Takrorlash uchun savollar:

1. Aseptika nima?
2. Aseptikaning turlari?
3. Antiseptika turlarini ayting.

2. Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Biologik mikroskopning tuzilishi.

Mashg'ulot maqsadi: Mikroskop tuzilishini va mikroskopda ishlash qoidalarini o'rgatish.

Mikroorganizmlarni birinchi bo'lib mikroskop ostida ko'rgan va ularni tekshirgan gollandiyalik tabiatshunos Antoni-Van-Levingukdir(1632-1723). U 160-300 martagacha kattalashtira oladigan mikroskopni kashf etgan. A.Levinguk atrofda mavjud bo'lgan ko'pgina narsalarni tekshirib, ularning ichida tirik «hayvoncha»lar borligini ko'rgan va ularning rasmlarini chizib olgan. Levingukning kashfiyoti juda ko'p tadqiqotlarga yo'l ochadi.

Mikroskop tuzilishini o'rganish .

Mikroskopda mexaniq va optik qismlari mavjud.

Mexaniq qismga tayanch qismi (1), tubus ushlagich (7) kiradi. Tubus ushlagich bosh qismi(9)da revolver (12) orqali obektivga o'rnatilgan. Buyum stoli (4), kondensor kronshteyni(14), ko'zgu(19) ham tubus ushlagichga o'rnatilgan. Buyum stolida vintlar (5,6) bo'lib, ular stolni gorizontal harakatini ta'minlaydi. Stol o'z o'qi atrofida ham aylanadi. Kuzatilayotgan ob'ekt makrovint (8) yordamida topib olinsa, ob'ektni aniqroq ko'rish uchun mikrovint (3) ishlatiladi. Mikrovint juda nozik ishlangan mexanizmdir, shuning uchun uni ishlatilganda ehtiyot bo'lish lozim. Makrovint va mikrovintlar ob'ektni vertikal harakatga keltiruvchi qismlardir. Mikrovintning bir marta aylanishi ob'ektivni ushlab turuvchi tubusni 0,1 mm ga ko'zga'atadi. Tubusni quyiga qarab harakat kildirish uchun vintlarni soat strelkasi yo'nalishida aylantiriladi.

Mikroskopning optik qismiga yoritgich, ob'ektiv va okulyar kiradi. Yorituvchi tizimga oynacha (19), kondensor (16) kiradi. Oynacha tekis va qavarik qaytaruvchi yuzalarga ega. Uning tekis tomoniga yorug'lik manbaidan nur dastasi tushadi. Qavarik tomoni juda ham kattalashtirish shart bo'lmagan hollarda ishlatiladi va bu vaqtda kondensorga ehtiyoj sezilmaydi.

Kondensor maxsus linzalardan tuzilgan bo'lib, oynachadan kelayotgan parallel nurlarni dastalab, ob'ekt tekisligiga yuboradi. Kondensor kronshteynga qotirilgan bo'lib, dasta (15) yordamida vertikal harakatga keltiriladi. Kondensor yuqoriga ko'tarilsa tubusga tushadigan yorug'lik nurining kuchi ortadi va aksincha. Kondensor yoritish jadalligini o'zgartiruvchi iris diafragma(16)ga ham ega.

Mikroskopning eng asosiy optik qismi bo'lgan ob'ektiv va okulyar kuzatuvchi tizimni tashkil etadi. Ob'ektiv metall qobiqda o'rnatilgan linzalar sistemasidan iborat. Ob'ektivning qobig'ida yozilgan raqamlar (5,8,9,20,40.) uning necha marotaba kattalashtirib ko'rsatishga mo'ljallanganligini bildiradi.

Okulyarlar ikki linzadan tashkil topgan: yuqori va pastki linzadan iborat. U ob'ektivdan kelayotgan ta'svirni kattalashtirish vazifasini bajaradi. «Biolam» seriyasidagi mikroskoplarda 7x, 10 x, 15 x marotaba kattalashtiruvchi okulyarlar mavjud.

Mikroskopning umumiy kattalashtirish darajasi ob'ektiv va okulyarning

qobiqlarida yozilgan raqamlar ko'paytmasiga teng. Masalan, 8x ob'ektiv va 10x okulyar ishlatilganda, kattalashtirish $n=8 \times 10=80$ ga teng bo'ladi.

Mikroskopning 2x, 4x li ob'ektivlar esa katta hujayrali mikroorganizmlar, masalan, zamburug'larni ko'rish uchun ishlatiladi. Bu ob'ektivlar quruq ob'ektivlar deyiladi. Mikroorganizmlarni quruq ob'ektda ko'rib, kerakli natijaga erishish qiyin. Ularni immersion yoki moyli ob'ektda ko'rish maqsadga muvofiqdir. Immersion ob'ektivlarga 85x, 90x, 120x li kiradi.

Mashg'ulotni o'tkazishdan maksad: Mikroskopda ishlash qoidalarini va quruq va immersion ob'ekt tayyorlashni o'rganish.

"Biolam" seriyali mikroskopning 3x, 5x, 8x, 9x li ob'ektivlari asosan ob'ektni birlamchi kuzatish, 2x, 4x li ob'ektivlar esa katta xujayrali mikroorganizmlar, masalan, zamburug'larni ko'rish uchun ishlatiladi. Bu ob'ektivlar quruq ob'ektivlar deyiladi. Chunki ob'ektivning frontal linzasi va ob'ekt orasida havo bo'ladi. Bunda havoning yorug'lik sindirish ko'rsatkichidan ($n=1,0$) buyum oynasining yorug'lik sindirish ko'rsatkichidan ($n=1,52$) pastrok bo'ladi. Natijada havo bo'shlig'i orqali o'tgan yorug'likning bir qism obektivga bormasdan atrofga tarqaladi. Yorug'likning bir qismi yuqalishi natijasida ob'ekt ham yaxshi ko'rinmaydi.

Mikroorganizmlarni quruq ob'ektdan ko'rib, kerakli natijaga erishish qiyin. Ularning immersion yoki moyli *obektda* ko'rish maqsadga muvofiqdir. Immersion ob'ektivlarga 85x, 90x, 120x li ob'ektivlar kiradi. Kuzatilayotgan obektga kedr yoki kastorka moyi tomiziladi. So'ngra moy tomchisiga ob'ektivni uchi botiriladi. Kondensor yuqoriga surilib oxirigacha ko'tariladi. Bu vaqtda kondensorga to'plangan yorug'likning hammasi moy tomchisi orqali o'tib, muhitga tarqalmasdan immersion ob'ektivga yo'naladi. Natijada, tekshirilayotgan obekt juda aniq va ravshan ko'rinadi. Bunda moyning yorug'likni sindirish ko'rsatkichi ($n=1,515$) bilan buyum oynasining yorug'likni sindirish ko'rsatkichi ($n=1,52$) bir-biriga yaqin bo'lishi yorug'likning muhitga tarkalishiga yo'l qo'ymaydi. Yorug'likning hammasi ob'ektivga o'tadi. Ob'ektivdagi raqam ko'tarilgansari, kondensor ham yuqoriroqqa ko'tarila boriladi.

Immersion ob'ektivlar ishlatilib bo'lguncha moyni avval filtr qog'oz bilan so'ngra spirt yoki benzin shimdirilgan mayin doka bilan artib olinadi.

Qorong'i ko'ruv maydonidagi mikroskopiya. Qorong'i ko'ruv maydonida mikroskop ostida ko'rish. Suyuqlikdagi juda mayda zarrachalar aralashmasini (Tindal effekti) yon tomonidan kuchli yoritilishi natijasida hosil bo'ladigan yorug'lik difraksiyasiga asoslangan. Bunga biologik mikroskopdagi oddiy kondensorni paraboloid yoki kardiod-kondensor bilan almashtirish natijasida erishiladi.

Paraboloid kondensor o'z markazida markaziy yorug'lik nurlarini tutib qoladigan,

qorong'ilikka va nurlarni qaytarish uchun ichki ko'zguli yuzaga ega. Kardiod-kondensorda yorug'lik nurlari avval qabariq sirtidan, so'ngra esa botiq sirtidan qaytariladi. Qorong'i ko'ruv maydonidagi kondensordan chiqadigan chetki nurlar qiyshiq yo'nalishda o'tib, obyektivga tushmaganligi sababli ko'ruv maydoni qorong'iligicha qoladi. Obyektivga obyektidan qaytarilayotgan nurlar kelib tushadi,

ular preparatning qorongi fonidagi mikroob hujayralar va boshqa zarrachalarning konturlarida yorug' nurlarning o'ziga xos tasvirini hosil qiladi.

Fazo-kontrast mikroskop ostida ko'rish. Shaffof obyektlardan yorug'lik to'liqini o'tayotganda faza o'zgarishlarining amplituda o'zgarishlariga aylanishiga asoslangan, buni ko'z bilan sezsa bo'ladi. Fazo-kontrast moslama yordamida obyektдан o'tuvchi yorug'lik to'liqlarining fazoviy o'zgarishlari amplitudali va shaffof obyektlarga aylanib mikroskop ostida ko'rinadigan bo'ladi. Bunda ular yuqori kontrastli tasvirlarga ega bo'lib pozitiv yoki negativ bo'lishi mumkin. Pozitiv fazo-kontrast deb, yorug' ko'rish maydonida obyektning qora, negativ fazo-kontrast deb, qorong'ilikda obyektning yorug' tasviriga aytiladi. Fazo-kontrast mikroskopda ko'rish uchun oddiy mikroskop va unga qo'shimcha KF-1 yoki KF-4 moslamadan foydalaniladi. Ularning komplektiga quyidagilar kiradi:

1. Fazo halqasi bo'lgan maxsus obyektivlar bo'lib, ular fazani o'zgartiradi va yorug'lik to'liqining amplitudasini kamaytiradi. Fazo obyektivlar gardishida qo'shimcha «F» harfli indeks: F-10, F-20, F-40 va FOI-90 belgilangan.

2. Har bir obyektiv uchun, maxsus halqali diafragma revolveriga ega bo'lgan fazo-kondensor bor. Preparatni oddiy irisli diafragma usuli bilan kuzatiladigan tirqishi «0» indeksi bilan belgilangan.

3. Kam kattalashtiruvchi yordamchi mikroskop orqali yorug'likni markazlashtirish protsessi kuzatilganda okulyar almashtiriladi.

Fazo-kontrast mikroskopda OI-7 yoki OI-19 tipidagi yoritgichlardan foydalaniladi.

Lyuminessent yoki flyuoressent mikroskopda ko'rish. U fotolyuminessensiya holatiga asoslangan (rasm).

Lyuminessentsiya (lumen — so'zidan olingan bo'lib, yorug'likni anglatadi) — flyuoressensiya qiluvchi obyektlarni mikroskopiya qilib kuzatishda qo'llaniladi. Lyuminessent mikroskopiya kuchli manbadan tarqalgan yorug'lik ikkita filtdan o'tadi. Birinchi filtr tekshirilayotgan namunaga yorug'lik etmasdan ushlab qoladi. Lekin namunadagi flyuoressensiyani aktivlashtiruvchi yorug'likni uzun to'liqini o'tkazadi. Ikkinchi filtr flyuoressensiya tarqatuvchi namunaning yorug'lik to'liqini o'tkazadi. Shunday qilib flyuoressensiya tarqatuvchi namuna o'ziga bir yorug'lik to'liqining uzunligi yutadi va uni boshqa yorug'liq spektrida tarqatadi.

Birlamchi lyuminessensiya obyekt oldindan bo'yalmasa ham kuzatiladi. Ikkilamchi lyuminessensiya esa, preparatni maxsus lyuminessent bo'yoqlar — flyuoroxromlar bilan bo'yalganda hosil bo'ladi. Ohirgi yillarda flyuoroxrom bilan nishonlangan immunoglobulinli diagnostikumlar chiqarilmoqda.

Lyuminessent mikroskopiya boshqa oddiy usullarga nisbatan birmuncha afzalliklarga ega: tirik mikroorganizmlarni tekshirish va tekshirilayotgan materialda juda kam miqdorda bo'lsa ham ularni topish. Laboratoriya amaliyotida ko'pchilik mikroorganizmlarni aniqlash va o'rganish uchun lyuminessent mikroskoplardan keng foydalaniladi.

Elektron mikroskopda ko'rish. Elektron mikroskop yordamida yorug'lik mikroskopi bilan ko'rib bo'lmaydigan (0,2 mkm) kichik obyektlar ko'riladi. Elektron mikroskop viruslar, turli

mikroorganizmlarning nozik tuzilishi, makromolekulyar birikmalar va boshqa

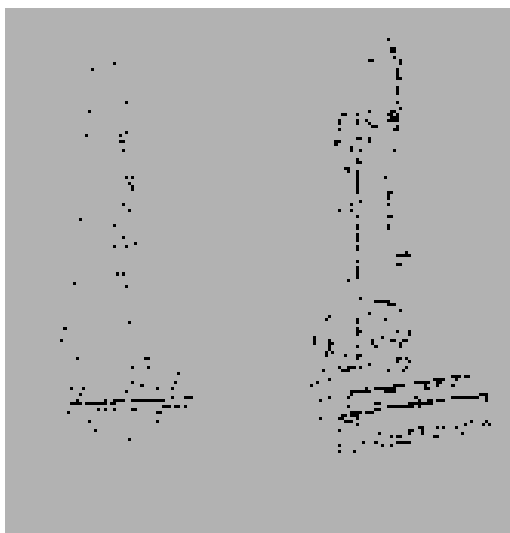
submikroskopik obyektlarni o'rganish uchun ko'llaniladi. Bunday mikroskoplarda yorug'lik nurlarini elektron oqimlar egallaydi. Ushbu elektron oqimlarning to'lqin uzunligi ma'lum 0,005 nm bo'lib, deyarli ko'rinadigan yorug'lik to'lqinining uzunligidan 100 000 marta kalta. Elektron mikroskopning eng kuchli ko'rsata olish imkoniyati amalda 0,1— 0,2 nm bo'lib, umuman 1 000 000 marta katta qilib ko'rsatadi «Nur tarqatuvchi» elektron asboblardan bir qatorda skanerlaydigan elektron mikroskoplardan ham foydalaniladi. Ular obyekt relifini yaxshi ko'rsatadi. Ammo bu mikroskoplarning katta qilib ko'rsatish imkoniyati «nur tarqatuvchi» elektron mikroskopnikidan kam.

Hozirgi zamon texnologiyalarini mikrobiologik amaliyotda qo'llanilishi

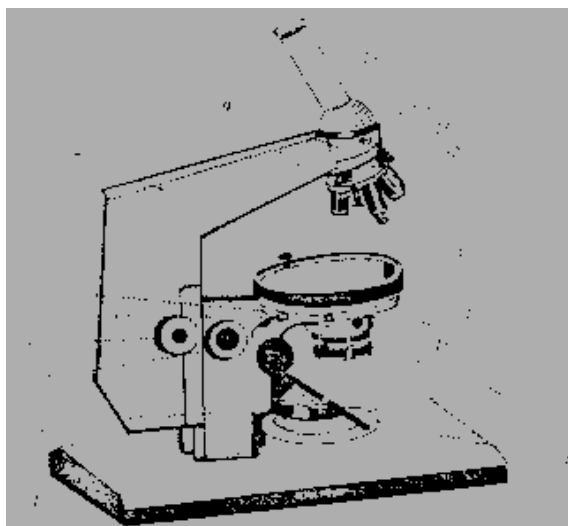
1. Interferensiyalovchi kompyuterli mikroskopiya –hujayralarni submolekulyar darajada yuqori tiniqlikga ega bo'lgan tasvirlarini olish mumkin.

2. Lazerli konfokal mikroskopiya- obyektlarni aniq tasvirini butun maydon bo'ylab ko'rish mumkin. Kompyuter texnologiyalarini qo'llash orqali obyektning rekonstruksiya qilish ham mumkin.

Birinchi ixtiro kilingan «Biolam» mikroskopi.
(1730-1750 yillar).



Рисм 7. Люминесцент микроскоп



- 1-tayanch qism, 2-mikrometrik fokuslash mexanizmi joylashgan kuti; 3-
mikrometrik vint;
4-buyum stoli; 5,6-buyum stolini siljitish uchun vint;
7-tubusushlagich; 8-makrometrik
vint; 9-revolver bosh qismi; 10-monokulyar nasatka;
11-nasatkani kotirish uchun vint;
12-revolver ob'ektivlari bilan; 13-revolvernini tubus o'kiga nisbatan fiksatsiya
kilish
vinti; 14-15-kondensor kronshteyni va dastasi; 16-iris diafragmali kondensor;
17-kondensorni kotirish uchun vint; 18-ko'shimcha linza;
19-oina.



Расм-6. Микробиологик амалиётда қўлланиладиган микроскоплар: 1, 2-бинокуляр биологик микроскоплар; 3,4- Лазерли конфокал микроскоп; 5- Интерференцияловчи компьютерли микроскоп; 6-Электрон микроскоп

Metodik ko'rsatmalar

Mikroskopdan to'g'ri foydalanish uchun, avvalo mikroskopni to'g'ri o'rnatish, ko'rish maydoni va preparatdagi yorug'lik etarli darajada bo'lishi kerak. So'ng mikroskop ostida preparatni turli obyektiv yordamida ko'rish mumkin. Yorug'lik tabiiy (kunduzgi) yoki sun'iy bo'lishi mumkin. Buning uchun turli maxsus yorug'lik manbalaridan (masalan, yoritkich OI-7 dan) foydalaniladi.

Hozirgi mikroskoplarda yorug'lik manbasi mavjud. Preparatni immersion obyektiv bilan mikroskopda ko'rganda ma'lum tartibda ishni ketma-ket olib borishga qat'iy rioya qilish kerak:

1) tayyorlangan va bo'yalgan surtmaga immersion moyidan kichkina tomchi tomiziladi va preparat buyum stoliga qo'yiladi (qisqich bilan qistirib qo'yish shart emas);

2) revolver immersion obyektivdagi 100 belgiga qadar buraladi;

3) asta-sekin mikroskop tubusi immersion moyga tekkuncha tushiriladi;

4) mikrometr vinti yordamida preparatning oxirgi fokusi aniqlanadn.

Obyektiv preparatga tegmasligi kerak, chunki u preparatni yoki frontal linzani sindirishi mumkin (immersion obyektivning preparat bilan bo'yalgan oralig'i 0,1—1 mm bo'lishi kerak).

Ish tamom bo'lgach, immersion obyektivdagi moyini maxsus material bilan yaxshilab artish va revolverni kichik, quruq 8-obyektivga aylantirib qo'yish shart.

Nazorat uchun savollar:

1. Mikrobiologik laboratoriya tarkibini aytib bering?
2. Mikrobiologik laboratorida ishlash qoidalarini sanab bering?
3. Laboratoriya ishi olib borilayotgan stolda bo'lishi kerak bo'lgan vositalarni sanang?
4. Laboratoriya jarayonida navbatchining vazifalari nimalardan iborat?
5. Mikroskopning kashf etilishi haqida nimalarni bilasiz?
6. Mikroskop turlarini sanab bering va oddiy va maktab mikroskopi va biolam mikroskop tuzilishlarida gifarklarni sanang?
7. Biolam mikroskopining tuzilishini tushuntirib bering?
8. Kondensorning vazifasi nimadan iborat?
9. Mikroskopning optik qismi qanday tuzilgan va uning ishlash mexanizmi to'g'risida tushuntiring?
10. Quruq va immersion ob'ekt qanday tayyorlanadi?

3. Laboratoriya mashg'uloti.

Mavzu: Ezilgan, osilgan tomchi, fiksirlangan, bo'yalgan preparatlar tayyorlash

Mashg'ulot maqsadi: Ezilgan tomchi, osilgan tomchi, fiksirlangan,

bo'yalgan preparatlar tayyorlashni o'rganish.

Kerakli o'quv materiallari: Mikroskop, o'rtasi chuqur buyum oynasi, qoplag'ich oyna, bakterial ilmoq, spirt alangasi, vazelin, to'xtab qolgan suv yoki tish kiri, filtr qog'oz, turli xil bo'yoqlar va etil spirti.

Ishning bajarilishi:

Tirik mikroorganizmlarni o'rganish uchun preparat tayyorlanadi.

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

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

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

Preparatlar quyidagi maqsadlar uchun fiksatsiyalanadi:

- 1)Preparatdagi mikroorganizmlarni nobud qilish uchun,
- 2)Mikrobni buyum oynasiga mustaxkam yopishtirish uchun,
- 3)Nobud bo'lgan bakteriyalarni tezroq bo'yalishini ta'minlash uchun.

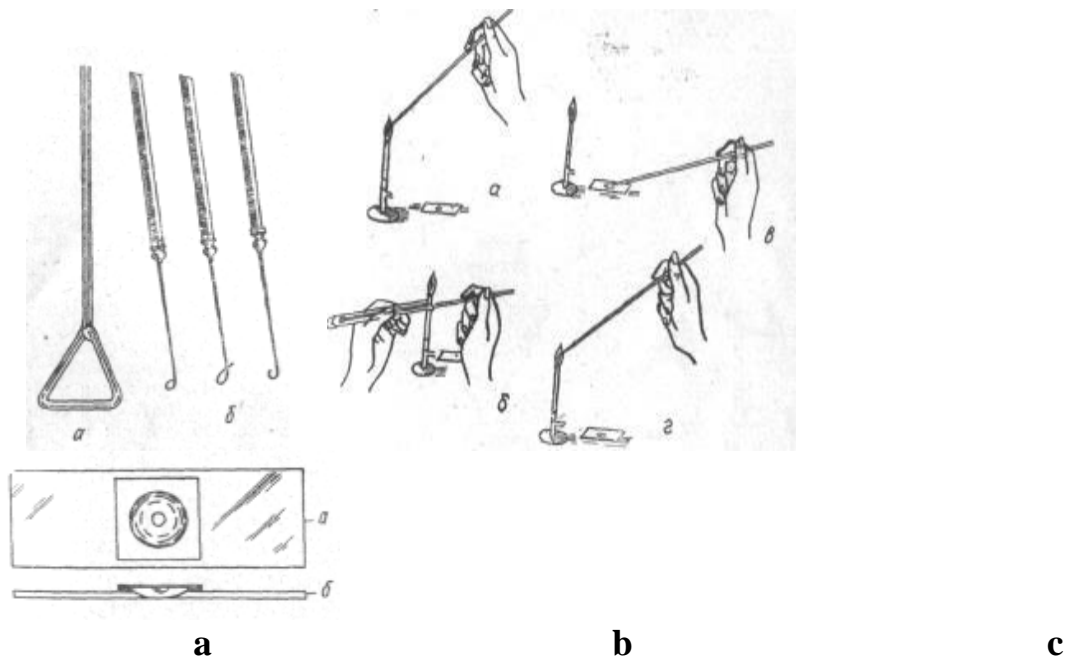
Preparat suyuq yoki agarli oziqa muhitida o'stirilgan ma'lum yoshdagi bakteriya kulturasidan tayyorlanadi. Oziqa muhitlari tayyorlashning ko'pdan-ko'p retseptlari ishlab chiqilgan bo'lib, ulardan ishlashga eng qulay va tayyorlashga osoni pepton oziqa muhiti deb shartli nomlangan oziqa muhitidir: 1 g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

Surtma (mazok) tayyorlash. Buyum oynasiga tomizilgan tomchi suvga o'rganilayotgan kulturaning biomassasidan ozgina solinadi va bakterial ilmoq bilan aralashtiriladi. Biomassaning ortiqcha qismi kuydirib

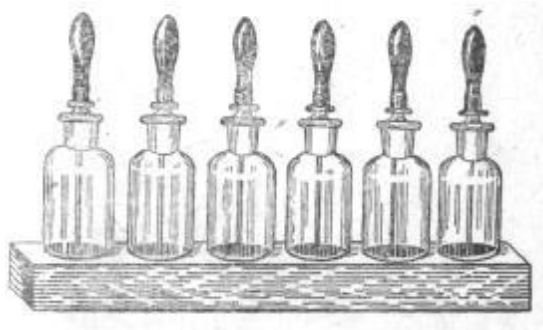
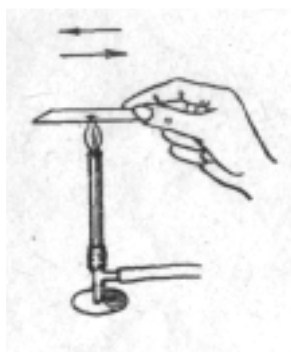
tashlanadi Hosil bo‘lgan kuchsiz loyqa buyum oynasi ustiga diametri 2 sm doira shaklida tarqatiladi, havoda quritiladi va surtma tayyorlanadi. To‘g‘ri tayyorlangan surtmada bakteriyalar ayrim-ayrim bo‘lib, yupqa qatlam hosil qiladilar.

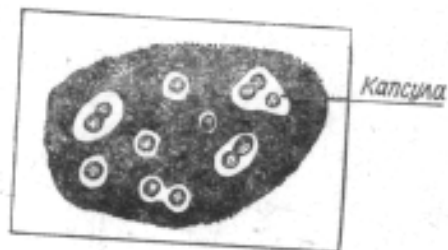
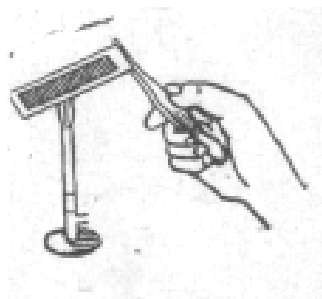
Fiksatsiya issiq yordamida (flambirlash) yoki kimyoviy usulda olib boriladi. Birinchi usulda preparat uch marta surtmasini alangaga qaratgan holda gorelka alangasidan o‘tkaziladi. Fiksatsiya qilinganda hujayralar o‘ladi va oynaga yaxshi yopishadi, tirik hujayraga qaraganda bo‘yashi yengillashadi.

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‘ozi bilan qoldiq suvlar shimdiriladi so‘ng mikroskopda ko‘riladi.



a -shpatel; b- sirtmoq preparat tayyorlash sxemasi; c - osilgan tomchi usulidagi preparat





1. Alangada fiksatsiya qilish: 2. Buyoq solinadigan flakonlar: 3. preparatni qizdirib bo'yash: 4. kapsulalarni negativ usulda bo'yash.

Nazorat uchun savollar:

1. Ezilgan tomchi preparatlar qanday tayyorlanadi?.
2. Osmat tomchi preparatlar qanday tayyorlanadi?.
3. Fiksatsiyalangan preparat necha xil usulda tayyorlanadi?
4. Mikroorganizmlarni bo'yashda qanday usuldan foydalaniladi?

4. Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Tayoqchasimon bakteriyalar va spiroxetalar, ularning morfologiyasini mikroskopda ko'rish.

Darsning ta'limiy maqsadi: Bakteriyalar to'g'risida umumiy ma'lumot berish. Tayoqchasimon spirilla va spiroxetalardan bo'yalgan preparat tayyorlashni o'rgatish

Umumiy ma'lumot:

Prokariot organizmlarning shakli tayoqchasimon, sharsimon, qiyshiq, burama va hokazo ko'rinishlarga ega. Odatda bir hujayrali tayoqchasimon bakteriyalar (bacter — yunoncha “tayoqcha”) deb ataladi. Silindrsimon to'g'ri tayoqchalar keng tarqalgan. Ular spora hosil qilmaydigan tayoqchasimonlar bo'lib, chin bakteriyalar (eubakteriya), masalan tuproqda ko'p uchraydigan *Pseudomonas* avlodi vakillaridir. Spora hosil qiluvchilarning xarakterli vakillaridan “*Bacillus*” avlodi batsillalaridir. Organik moddalarga va boshqa substratlarga boy suv havzalarida kasal qo'zg'atuvchi spiralsimon buralgan tayoqchalar — vibrionlar, spirillalar va spiroxetalar uchraydi. Bakteriyalar, batsillalar, vibrionlar va spirillalar “qattiq” hujayra devoriga (po'sti) ega va shuning uchun ularning hujayra shakli o'zgar olmaydi, u mustahkam, rigiddir. Spiroxetalar esa ulardan farq qilib, o'ziga xos shakl va o'lcham, tuzilishga va yashash muhitiga ega. Bu organizmlar ham bir hujayrali, ammo shakllari o'zgaruvchan, rigid emas. Spiroxetalarning buralganlik darajalari harakat vaqtida o'zgarib turadi.

Kerakli o'quv materiallari: Mikroskop, buyum oynasi, bakterial ilmoq, spirt lampa, to'xtab qolgan suv yoki tish kiri, filtr qog'oz, turli xil bo'yoqlar va etil spirti.

Ishning bajarilishi:

1. *Pseudomonas* sp — ingichka 0,3-0,4 x 3-5 mkm, yakka, to'g'ri tayoqchalar, sporasiz. Pepton agarida (PA) o'rtacha tekislikda, rangsiz, yaltiroq, tekis holda shtrix bo'ylab o'sadi, muhitning rangi ko'kish-yashil rangga bo'yaladi. Kultura suvda oson emulsiya hosil qiladi. Tuproqdan ajratib olingan.

2. Tuproqda, suvda, o'simlik qoldiqlarida va boshqa substratlarda pichan tayoqchasi deb ataladigan *Bacillus subtilis* uchraydi. Uning o'lchami o'rtacha 0,6-0,7 x 3-5 mkm teng bo'lib, spora hosil qiluvchi tayoqchadir. PA dagi shtrix bo'ylab o'sganda o'ziga xos tashqi ko'rinishga ega — tekis, ajinli, xira holatda bo'ladi. Avvalo rangsiz, so'ngra pushti, to'q jigarrang yoki qop-qora rangga bo'yaladi. Qiyin emulsiya hosil qiladi.

3. Katta tayoqchalarga tuproqda keng tarqalgan batsilla *Bacillus megaterium* (yunoncha so'zlardan: mega — “katta”, teras — “hayvon”) kiradi. Bu spora hosil qiladigan eni 1,5 mkm, uzunligi 2-5 mkm bo'lgan tayoqchadir. PA dagi shtrixi moysimon, yaltiroq, sal qavariq, och sariq rangli, suvda oson emulsiya hosil qiluvchidir.

4. Agar 0,5 l lik shisha stakandagi oddiy ariq suviga pishgan tovuq tuximining oqidan solib, 7-10 kun 28-30 °C harorarda inkubatsiya qilinsa suyuqlik loyqalanadi va ustida parda hosil bo'ladi. U stakandagi

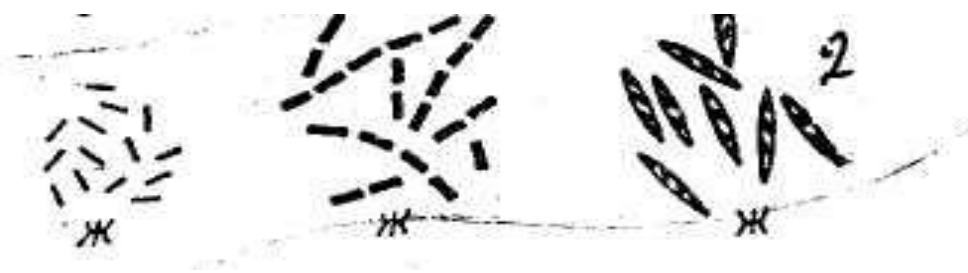
suyuqlikda yirikligi 1,5-2 x 30-70 mkm li buralgan *Spirillum* avlodiga kiruvchi spirillalarni ko'rish mumkin. Fiksirlangan bo'yalgan preparatlarda 3-4 cho'lg'amga (buralishga) ega donador ko'rinishli hujayralarni ko'rish mumkin.

5. Buralgan, norigid shaklli tayoqchalar bilan tanishish uchun tish kiridan preparat tayyorlanadi. Ayniqsa, kasallangan, karies tishlardan tayyorlangan preparatlarda *spiroxetalar* oson ko'rinadi. Preparatni tayyorlash uchun misvok bilan tish kiri olinadi va surtma tayyorlanadi. Alangada yaxshilab fiksirlanadi, sovitiladi va ishqoriy fuksin bilan filtr qog'ozi orqali 2 minut davomida bo'yaladi. Mikroskopda ko'rilganda ko'rish maydonida og'iz bo'shlig'idagi har xil mikroorganizmlar, jumladan: juda ingichka eni 0,3 mkm, uzunligi 10-15 rnmk, turli xil buralishga ega bo'lgan tish spiroxetasini ko'rish mumkin. Ular Spirochaetaceae oilasining Treponema avlodiga kiradilar.

Hamma bakteriya va mikroorganizm preparatlari immersiya obyektivi orqali ko'riladi, albomga suratlari chiziladi, tagiga nomi yoziladi. Ish mikroskopini to'g'ri va ohistalik bilan shkafga joylashtirish va o'z ish joyini tartibga solish bilan tugallanadi. Bu qoidalarga mikrobiologiya darslarida doimo amal qilinadi.



a-vibrion; b-spirilla; v-spiroxeta.



Pseudomonas aeruginosa; Bacillus mycoides; Bacillus megaterium

Nazorat uchun savollar:

1. Tayoqchasimon bakteriyalar qanday tuzilishga ega?
2. Batsillalar va bakteriyalar bir-biridan qanday farq qiladi?
3. Tayoqchasimon bakteriyalar spirilla va spiroxetalardan qanday preparatlar tayyorlanadi?

5. Laboratoriya mashg'ulot.

Mavzu: Aktinomitsetlar va ularga yaqin organizmlar ularning morfologiyasini mikroskopda ko‘rish.

Darsning maqsadi.

Aktinomitsetlar va ularga yaqin organizmlar ularning morfologiyasini mikroskopda ko‘rishni o‘rganish.

Kerakli o‘quv materiallari: Mikroskop, buyum oynasi, suv, filtr qog‘oz, KJ ning sundagi eritmasi bo‘lgan Lyugol eritmasi.

Umumiy ma’lumot:

Bu guruhga korineform bakteriyalar, mikobakteriyalar, aktinomitsetlar va boshqa organizmlar kiradi.

Korineform bakteriyalar qiyshaygan yoki kuchsiz shoxlangan, sharsimon formaga o‘ta oladigan mikroorganizmlarni yig‘ma guruhidan iboratdir. Korineform bakteriyalar, odatda harakatsiz bo‘ladi. Bu guruhga *Arthrobacter* (*arthros* — “bo‘g‘im”) avlodi bakteriyalari kiradi. Artrobakteriyalar tuproq biotalarining katta qismini tashkil qiladi hamda o‘simliklarda, suv tozalash inshootlarining faol balchiqlarida yashaydi.

Artrobakteriyalarning yosh hujayralari tayoqchasimon bo‘lib, bo‘linganda keskin o‘tkir burchak hosil qilib bukiladi va “qisqichlarsimon” komplekslar hosil qiladi. Vaqt o‘tishi bilan hujayralar qisqaradi, shar shaklini oladi. Yangi oziqa muhitida kokklar yana tayoqchasimon shaklli hujayralarga aylanadi. Ba’zi turlari shoxlanishga moyil bo‘lib, mitseliy hosil bo‘lishini boshlang‘ich davrini eslatadi.

Mikobakteriyalar haqiqiy mitseliy hosil qilmaydigan bir hujayrali organizmlardir. Yosh hujayralari shoxlangan yoki burchaksimon bo‘lib vaqt o‘tishi bilan kokksimon yoki tuxumsimon hosilalarga bo‘linadi. Mikobakteriyalar faol harakat namoyon qilmaydilar. Koloniyalari pastasimon, yumshoq, ko‘pincha qizil, olovrang, sariq, yashil, qo‘ng‘ir va qora rangga bo‘yalgan bo‘ladi. Mikobakteriyalar orasida odamlarda (sil, moxov kasalliklarini yuqtiruvchi) va o‘simliklarda (pomidor rakini yuqtiruvchi) kasallik yuqtiruvchi vakillari mavjuddir.

Aktinomitsetlar — (lotincha *actis* — “nur”, *myces* — “zamburug‘”) nurlil zamburug‘lar ko‘pgina vakillarini o‘z ichiga oladi. Bular bir hujayrali bo‘lib, hujayralari shoxlanib mitseliy hosil qiladi. Shuning uchun ham tashqi ko‘rinishidan zamburug‘lar bilan o‘xshash bo‘ladi Mitseliy iplarining, gifalarning diametri 0,5-0,8 mkm.

Aktinomitsetlarning mitseliylari differensiallashgandir: bir qismi substratda joylashgan bo‘lib, unda substrat mitseliysi deyiladi, boshqa qismi substrat ustida joylashgan bo‘lib, havo mitseliylari deyiladi. Mitseliy shoxlariga gifalar deyiladi. Bu organizmlar har xil usulda ko‘payadilar, xususan, sporalar yordamida. Aytish kerakki, har xil vakillarda spora hosil qilish turli xil darajada shakllangan. Masalan, *Nocardia* avlodiga kiruvchi proaktinomitsetlarda havo mitseliysi umuman yo‘q, yoki kuchsiz rivojlangan. Yosh davrida ular mitseliy hosil qiladi, keyinchalik tezgina tayoqchasimon fragmentlarga bo‘linadi, ular esa qisqarib tayoqcha yoki

kokklarga aylanadi. Monosporali aktinomitsetlar vakillaridan Micromonosporada mitseliy fragmentlarga bo‘linmaydi, yakka sporalar substrat mitseliysida hosil bo‘ladi.

Streptomyces avlodiga kiruvchi chin aktinomitsetlar polisporali organizmlardir. Ular yuzlab sporalarni spora bandlarida hosil qiladilar. Sporabandlari to‘g‘ri, spiralsimon, mutovkasimon bo‘ladi.

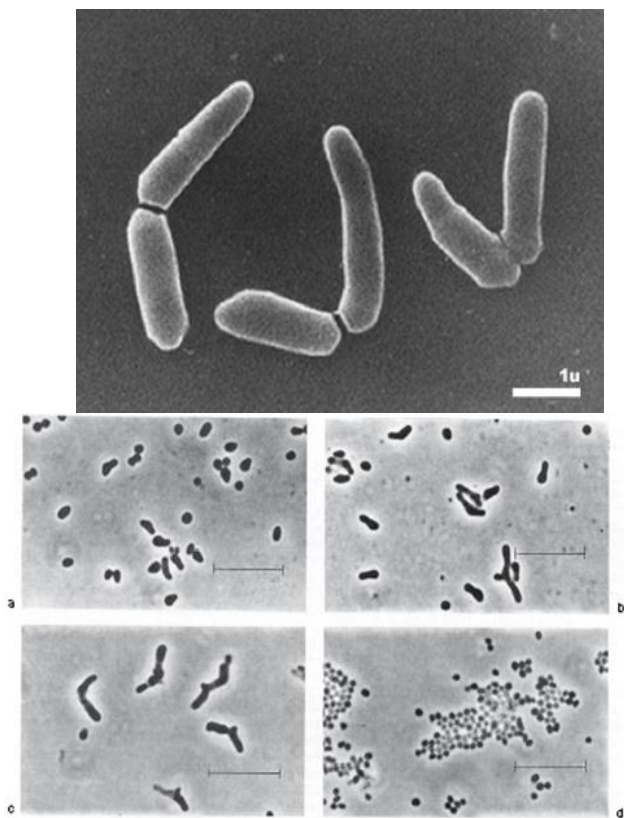
Aktinomitsetlarda sporalar ikki tipda hosil bo‘lishi kuzatiladi: fragmentatsiya va segmentatsiya. Birinchi holda gifalarda bir tekis tarqalgan nukleoid atrofida sitoplazma to‘plana boshlaydi, so‘ngra hosil bo‘layotgan spora maxsus qobiq bilan o‘raladi. Gifaning po‘sti ma’lum vaqtgacha saqlanadi va keyinchalik yoriladi va spora tashqi muhitga chiqadi.

Segmentatsiya usulida spora hosil bo‘lganda, nukleotid atrofida sitoplazma to‘plana boshlaydi, so‘ng nukleotid va sitoplazmani ayrim hujayralarga bo‘ladigan ko‘ndalang to‘siqlar hosil bo‘ladi. Spora etilgandan so‘ng sporangiy ayrim segmentlarga — sporalarga bo‘linadi. Har bir sporadan yangi organizm paydo bo‘ladi.

Oziqa muhitlarida aktinomitsetlar momiqsimon, duxobasimon, unsimon yoki terisimon substrat bilan birga o‘sgan koloniyalar hosil bo‘ladi. Ular pigmentlar hosil qiladi va koloniyalar havo rang, ko‘k, siyoh rang, pushti, qo‘ng‘ir, jigarrangga bo‘yaladi. Ba’zi aktinomitsetlar vakillari kamfora, iodoform, ammiak, meva hidlarini ajratadi hamda geosmin deb ataladigan maxsus moddaning borligi tuproq hidini beradi. Aktinomitsetlar orasida dorivor moddalar — antibiotiklar hosil qiladiganlari ham topilgan. Streptomitsetlar oziqa manbalariga juda ham talabchan emas, shuning uchun ular tabiatda keng tarqalgan. Ular organik murakkab moddalarni minerallashtirish jarayonida ishtirok etadi. Odamlarda aktinomikoz kasalliklarini tarqatuvchi patogen formalari ham bor.

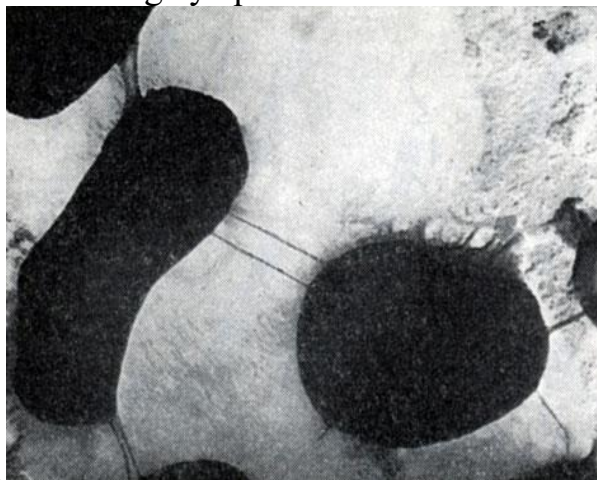
Ishning bajarilishi:

1. Artrobakterlar bilan tanishish uchun agarli Chapek oziqa muhitida o‘stirilgan 1 va 7 sutkalik *Arthrobacter globiformis* kulturasidan “ezilgan tomchi” usulida preparat tayyorlanadi. Bu organizm tuproq biotasining vakili bo‘lib, murakkab organik birikmalarni minerallashtirish jarayonlarida ishtirok etadi. Bir sutkalik *Arthrobacter globiformis* preparatida mikroskopda uning hujayralari ayrim tayoqchalar ko‘rinishida va “qisqich” ko‘rinishida bo‘lib, uzunligi 1,2-2,0 mkm atrofida bo‘ladi. Yetti sutkalik kulturada esa 0,6-0,7 mkm diametrli kokk formalari hujayralar ko‘rinadi.

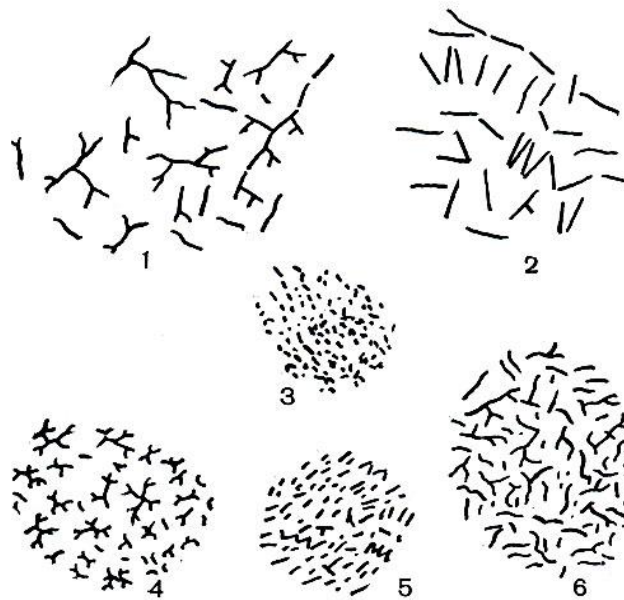


Arthrobacter globiformis

2. Mikobakteriyalarning preparatlarini ham yuqorida ko‘rsatilgan usullardagidek 1-3 sutkalik **Chapek oziqa** muhitidagi *Mycobacterium lacticolum* kulturasidan tayyorlanadi. Bu bakteriya tuproqda keng tarqalgan bo‘lib, oziqa muhitlarida yumshoq, momiqsimon, pastasimon olov rangli koloniyalar hosil qiladi. Preparatda qiyshaygan, yon tomonida o‘simtali formadagi hamda ancha qisqargan hujayralar ko‘rinadi. Yosh hujayralar 0,6-0,7 x 2-8 mkm ga yaqin bo‘ladi



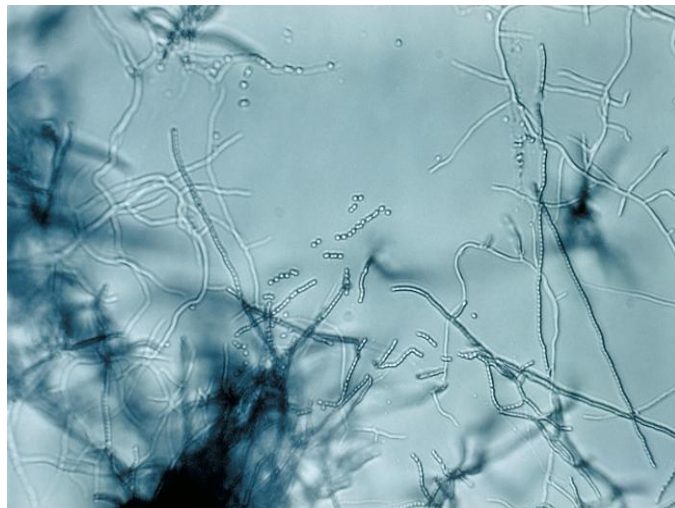
Mycobacterium lacticolum. var. aliphaticum.



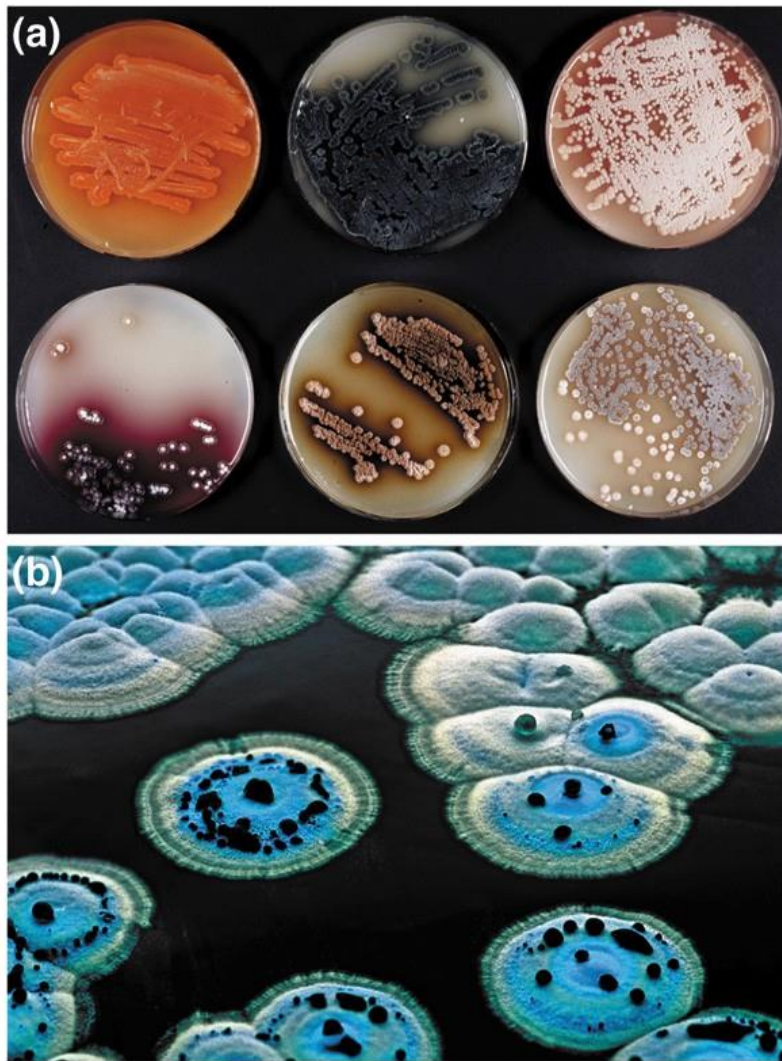
1 - *Mycobact. hyalinum*; 2 - *Mycobact. rubrum*; 3 - *Mycobact. cyaneum*;
4 - *Mycobact. bifidum*; 5 - *Mycobact. citreum*; 6 - *Mycobact. filiforme*

Chin aktinomitsetlar — **Streptomitsetlar** koloniyalarining morfologiyasi bilan tanishish uchun suv agari oziqa muhitida (vodoprovod suvi — 1 l, agar-agar — 20 g) bir tekis oʻsgan yoki ayrim koloniyalardan tigʻ yordamida kichik-kichik boʻlakchalar (mikroorganizmlarning ustki tomoni tepaga qaragan holda) kesib olinib buyum oynasiga qoʻyiladi. Preparatni 7 sutkalik toʻgʻri va spiralsimon sporabandlik *Streptomyces* sp. kulturasidan tayyorlanadi. Avvalo quruq tizimli obyektivlar bilan 8 va 40 taliklarda koʻriladi, sporabandlilari rasmga solinadi. Sporalarini koʻrish uchun yuqorida koʻrsatilgandek qirqib tayyorlangan aktinomitset koloniyalarga qoplagʻich oynani pinset yordamida koloniya ustiga ohista tekiziladi va qayta koʻtarib olinadi. Buyum oynasiga bir tomchi suv tomizib unga shu qoplagʻich oynani koloniya izi tushgan tomoni bilan yopiladi, va mikroskopning 90 obyektivida koʻriladi. Preparatda zanjir boʻlib yoki ayrim-ayrim joylashgan sporalar koʻrinadi.

4.



Streptomitset mitseliysi



Streptomyces koloniyalari tomonidan pigmentli ikkilamchi metabolitlarni ishlab chiqarish. (a) Tuproqdan ajratilgan Streptomiklarning tipik mustamlaka morfologiyalari. Koloniyalar ko‘pincha rangli pigmentlarni chiqaradilar, bu esa ikkilamchi metabolit biosintezini vizual qayd etishni ta‘minlaydi. Kimyoviy xilma-xil birikmalar ko‘pincha farmatsevtika qo‘llaniladigan biologik birikmalarning ko‘pligini anglatadi. (b) *Streptomyces coelicolor* Ikkala periferik va havo mitseliyasi koloniyaning markaziy massasidan rivojlanadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Aktinomitsetlar qanday tuzilishga ega?
2. Aktinomitsetlar sporalari qanday hosil bo‘ladi?
3. Odamlarda aktinomikoz kasalliklarini tarqatuvchi patogen formalarini ayting?

6. Laboratoriya mashg‘uloti

Mavzu: Spora hosil qilishi.

Darsning maqsadi: Spora hosil qiluvchi mikroorganizmlarni o'rganish

Umumiy ma'lumot:

Bakteriyalar uchun oziq moddalar etishmay qolganda harorat yoki pH ning o'zgarishada, modda almashinuvi mahsulotlari ko'payib ketganda ular spora hosil qiladilar. *Batsillalar* va *clostridiylar* spora hosil qiladi, bakteriyalarda esa bunday hol kuzatilmaydi.

Hujayra spora hosil qilganida uning genetik apparati qayta quriladi. Bunda nukleoidning morfologiyasi o'zgaradi. Hujayrada DNK sintezi to'xtab qoladi. Yadro DNK ipsimon bo'lib cho'ziladi va hujayraning bir uchida to'planadi. Hujayraning bu uchi sporogen zona deyiladi. Shundan so'ng sporogen zonada tsitoplazmaning zichlashishi kuzatiladi va bu bo'lim hujayraning qolgan qismida to'siq bilan ajraladi. To'siq bilan ajralgan bo'lim ona hujayraning membrana bilan o'ralgan bu bo'limi prospora deyiladi.

Prospora ona hujayra ichida joylashgan strukturadir. U ona hujayradan ikki – uch va tashqi membrana bilan ajralib turadi. Bu ikki membrana orasida kortikal qavat – korteks hosil bo'ladi. Korteksning kimyoviy tarkibi vegetativ hujayra devorining kimyoviy tarkibi vegetativ hujayra devorining kimyoviy tarkibi bilan o'xshash bo'ladi. Spora ozuqa moddalari mavjud qulay sharoitga tushib o'sganida korteks yosh vegetativ hujayraning devori hosil qiladi. Prospora yuzasida spora qoplami hosil bo'ladi. Bu qoplarning soni, qalinligi, tuzilishi turli bakteriyalarda turlicha bo'ladi.

Sporalar yumaloq yoki ovalsimon shaklli bo'ladi. Ayrim bakteriyalar sporalarning diametri hujayra enidan katta. Spora hujayra markazida yoki uning bir uchida joylashadi. Birinchi holda hujayra duksimon shaklni, ikkinchi holda esa nog'ora tayoqchasi shaklini oladi. Spora etilgandan so'ng ona hujayra halok bo'lib, uning qobig'i emiriladi va spora ajraladi. Spora hosil qilish jarayoni bir necha soat davom etishi mumkin. Bakteriyalar sporasidagi qobiqda suv miqdorining kam, kal'tsiy elementi va dipikolin kislotasi miqdorini ko'p bo'lishi sababli ular tashqi muhit ta'siriga chidamli bo'ladi. Sporalar quruq sharoitda 165-170°C haroratgacha qizdirilganda 1.5-2 soatda bug' ta'sirida 125°C da 15-30 minut halok bo'ladi.

Sporalar qulay sharoitga tushib qolsa, vegetativ hujayra hosil qilib o'sadi. Bu jarayon bir necha soat davom etadi. Bu vaqtda spora suvni ko'p miqdorda jadal yutadi, uni fermentlari faollashadi. Biokimyoviy jarayonlari tezlashadi. Sporaning tashqi qobig'i yorilib, yosh hujayra tashqariga chiqadi. Yosh vegetativ hujayra sporaning bir uchidan o'sib chiqsa, bunday

o'sish polyar o'sish, o'rta qismidan o'sib chiqqanda esa ekvatorial o'sish deyiladi.

Spora hosil qilish jarayoni doimiy hususiyat bo'lsada, ba'zan bakteriyalar asporogen irq deyiladi. Bu xodisa doimiy yoki vaqtincha bo'lishi mumkin. Bakteriyalarning asporogen irqqa aylanishida zaharli moddalar va boshqa ba'zi omillarning ta'siri juda katta ahamiyatga ega.



Nazorat uchun savollar:

1. Bakteriyalarning spora hosil qilish davrida hujayrada qanday o'zgarishlar ro'y beradi?
2. Prospora nima?
3. Hujayraning sporadan o'sib chiqish jarayoni qanday?

7. Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Bakteriyalarning harakati. Tirik preparat tayyorlash.

Umumiy ma'lumot:

Bakteriyalar ikki xil harakatlanadi. Sirpanib harakatlanuvchi bakteriyalarning (mikrobakteriyalar, oltingugurt bakteriyalari) tulqinsimon qisqarishi natijasida hujayra shakli davriy o'zgarib turadi, natijada bakteriyaning ma'lum harakati sodir bo'ladi.. So'zib harakatlanish xivchinlari bilan amalga oshadi. Masalan, spirillalar va kokkilarning ba'zilari. Ko'pgina prokariotlarning ustki qavatida hujayralarni harakatlanuvchi tuzilmalar bor. Bular xivchinlardir. Ular bir qator tayoqchasimon bakteriyalarda, ba'zi bir kokklarda, spirillalarda, vibrionlarda va ipsimonbakteriyalarda topiladi. Xivchinlarning soni 1tdan 100 tagacha bo'ladi. Xivchinlarning qalinligi 0,01 mkm atrofida uzunligi 20 mkm gacha etadi. Xivchinlarni yorug'lik mikroskopi kursata olmaydi, Shuning uchun ular elektiron yoki qarong'i maydonli mikroskopda

kuriladi. Xivchinlarni yopug'lik mikroskopda ko'zlash uchun maxsus murakkab bo'yaash metodlaridan foydalaniladi, bunda xivchin qalinligi kattalashadi. Ularning bir necha bo'yaash usullari bor. Bunda har xil ishlov beruvchi moddalaridan foydalaniladi, ular xivchinning ustki qismida cho'kadi va shu sababli diametri oshadi va xivchinlar ko'rinadi.

Ba'zi tayoqchasimon bakteriyalar — *Proteus vulgaris*, *Clostridium tetani* kabilarda 50 - 100 gacha xivchin bo'ladi.. Xivchinlarning eni 10 — 20 nm, o'zunligi 3 — 15 mkm. Xivchinlar uzunligi kulturaning tabiati, oziqa muhtini yoki tashqi muhit ta'siriga qarab har xil bo'ladi.. Xivchinlar kimyoviy jihatidan oqsil modda —(flagellindan) flagellindan tuzilgan. Xivchin bakteriya hayotida katta rol uynaydi. Bakteriyalarni ba'zi bir oziqa muhtlarida xivchinsiz qilib ham ustirish mumkin. O'sish fazasiga qarab bakteriyalarning xivchinli va xivchinsiz davrlari bo'ladi.. Bakteriya xivchinini yo'qotsa ham yashayveradi. Xivchin ba'zan plastinkaga yopishgan bo'ladi.. Plastinka esa sitoplazmatik membrana tagida joylashgan bo'ladi.. Ba'zan tanacha, bakteriyada motor vazifasini bajarib xivchinni harakatga keltiradi. Ba'an tanacha xivchin bilan ilmoq orqali birikadi. Ba'zan tanacha o'z navbatida 4 ta halqa bilan ta'minlagan. Halqalar sterjen orqali bir tizimga birlashdi Bu halqalar bir - biriga nisbatan harakatga kelishadi va sterjen orqali xivchinni harakatga keltirishadi. Harakat tezligi temperaturaga, osmotik bosimga, yopishqoqlikga bog'liq bo'ladi.. Ba'zi bakteriyalar 1 sekunda 1 bakteriya tanasi uzunligicha, ba'zilar esa 50 tana uzunligicha harakat qiladi Odatda ular tartibsiz harakat kiladi, ammo ularda kimyoviy moddalarga nisbatan taksis hodisasini kuzatiladi, bunga xemotaksis deyilsa, kislorodga nisbatan harakat qilsa ayerotaksis, yorug'likga nisbatan bo'lsa fototaksis deyiladi.

Bakteriyalar xivchinlarining soni va joylashishiga qarab куйидаги гурухларга булинади;

Monotrixlar — bakteriya hujayrasining bir uchida bitta xivchin bo'ladi.;

Lofotrix — hujayraning bir uchida bir tup xivchini bo'ladi.;

Amfitrix — hujayraning ikki uchida ikki tup xivchin bo'ladi.;

Peritrix — hujayraning hamma tomoni xivchin bilan qoplanib, unga peritrix deyiladi.

Kerakli jihozlar: Mikroskop, buyum oyna, petri idishlari, suv, paxta, porbirkalar, termostat, kirdir moyi, filtir qog'oz, yoki tayyor preparatlar.

Mashg'ulotni o'tkazishdan maqsad: Bakteriyalarning harakati bilan tanishish uchun quyidagi preparatlar tayyorlanadi:

Ishning borishi:

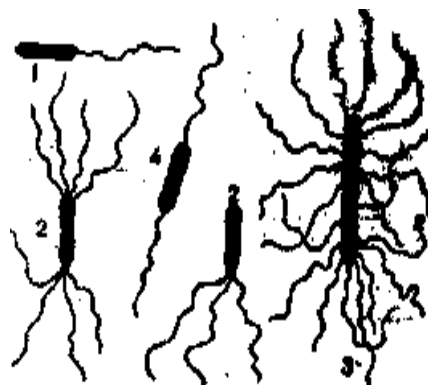
1. Pseudomonas-avlodining vakillarida monatrixal-yoki lofotrixal xivchinlar kuzatiladi. Shuning uchun Pseudomonas-sp 12-18 oatli kul'turasidan "ezilgan tomchi " preparati tayyorlanadi. Mikroskop tagida ingichka harkatchan tayoqchalar ko'rinishi kerak. Ularning harakati juda tez,t parmasimon bir tomonga yo'nalgan bo'ladi. Hujayralar aylanma harkat qilmaydi.

2. Xivchinlarning peritrixal joylanishida ularning harakati bir tekisda

bo'ladi va tebranma harakatlanadi, aylanma harakatlanishi mumkin. Bunday tipdagi harakatni *Bacillus subtilis*dan tayyorlangan "ezilgan tomchi" preparatida ko'rish mumkin.

Xivchinlarning joylanish tiplari;

1 - monotrix; 2- lofotrix; 3 - peritrix; 4 - amfifrix.



Nazorat uchun savollar:

1. Bakteriyalar qanday harakatlanadi?
2. Bakteriyalarning harakatlanish organiga qarab necha guruhga bo'lnadi?
3. Qaysi bakteriyalar tez qaysilari sekin harakatlanadi?

8. Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Bakteriya hujayrasi qo'shilmalari va kapsulalari.

Umumiy ma'lumot:

Ko'pgina mikroorganizmlar ma'lum sharoitda hujayra ichida donodor sitoplazma qo'shilmalari – zaxira moddalarda hosil qiladilar. Odatda ular polisaharidlar, polifoofatlar, oltingugurt donalari va kalsiy oksalatlari kabilardir.

Bazi mikroorganizmlar hujayralarida lipidlar sifatida poli - b – oksimoy kislota to'playdi. Poli - b – oksibutiratning donalari bakteriya hujayralarni tirik piripatlarda yaxshi ko'rinadi Zaxira oziqa moddalari bilan tanishish uchun quydagi pereparatlar ko'riladi .

Darsning maqsadi: Sof undirma va uni tayyorlash to'g'risida talabalarga tushuncha hosil qilish shu bilan birga pichan batsillasining sof undirmasini tayyorlashni o'rgatish.

Kerakli jihozlar: Quruq pichan, bir dona katta va bir nechta kichik kolbalar, elektr plitka, oq bo'r, termostat.

Ishning borishi:

1. *Bacillus megateriumning* pepton agarida 18–24 saot davomida o'stirilgan kul'turasidan « ezilgan tomchi» usulida preparat tayorlab poli – B- oksibutirat donalarni oson ko'rish mumkin .

2. Moy kislotali bakteriyalarni o'ziga xos xususiyatlaridan biri ularning hujayrasida kraxmalsimon modda – garanulyozaning extiyot oziqa moddasi sifatida to'planishidir. Moy kislotali bakteriyalar tuproqda keng

tarqalgan .Ularning boyitilgan kulturalarni Rushman oziqa muhitiga tuproq ekib olish mumkin. Oziqa muhiti maydalab tozalangan kartoshkadan tayyorlanadi. Kartoshka probirkaga solinadi, tagidan ozgina bo‘r solinadi, so‘ngra suv qo‘shilib sterillizatsiya qilinadi . Tuproq ekilgan oziqa muhiti 5 – 7 kun 26 – 280 da termostatda inkubasiya qilinadi

Granulyozaning ko‘rish uchun buyum oynasiga bir tomchi lyugol reaktividan tomiziladi va uning usiga Rushman Oziqa muhiti suyukligidan kichik kartoshka bo‘lakchasi bilan solinadi va oxista aralashtiriladi. Preparat qoplagich oyna bilan yopiladi, immersion moy tomizilib mikroskopda ko‘riladi. Preparatda qizil –binafsha rangga bo‘yalgan va hujayraning ko‘p qismini egallagan granulyoza ko‘rinadi.

3. Ayrim mikroorganizmlar volyutin donalari deb ataladigan polifosfatlar to‘lash xususiyatlariga ega.Volyutin donalarini farqlantiruvchi xususiyatlaridan biri shunday iboratki, ularni ko‘p metilen bilan bo‘yalganda qizil-binafsha rangga bo‘yaalnishidir .

Volyutin yoki metaxromatin donalari korineform bakteriyalar, azotbakter. Sut kislotalibakteriyalarda, achitqilar va boshqa mikroorganizmlarda uchraydi .

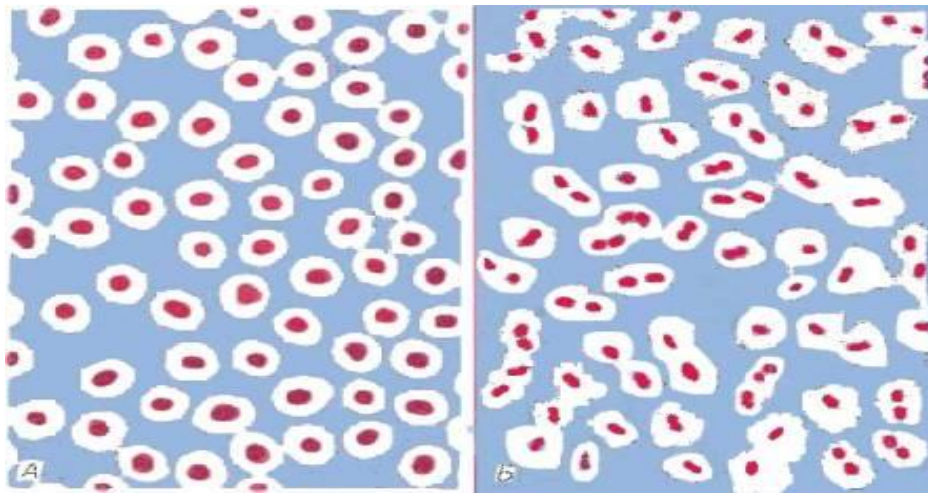
Volyutin donalar bilan tanishish uchun qatik.dan tayyorlangan fiksirlangan va bo‘yalgan preparat ko‘riladi.

Yogsizlantirilgan qatiqdan toza buyum oynasida surtma tayyorlanib quritiladi, alanga usida fiksirlanadi, sovitilganda so‘ng Leffler metil ko‘ki bilan 10 minut davomida bo‘yaladi. So‘ngra preparat bo‘yokdan yuviladi, quritilib immersiya tizimida mikroskopda ko‘riladi. Xujayra havо rangga, volyutin donalari-kizil binafsha rangga bo‘yaladi.

4. Ba‘zi bakteriyalar uglevodga boy va azot kam bo‘lgan muhitda o‘sish vaqtida shilimshiq, ya‘ni hujayra atrofida joylashgan g‘ovak qatlam-kapsula hosil qiladi. Bu xususiyatga ko‘pgina ayrim kasallik tug‘diruvchi baktkeriyalar, saprofitlardan esa *Bacillus polymyxa*, *Azotobacter chroococcum* va boshqalar ega.

Kapsulalar ko‘pincha gel konsitensiyada bo‘lib mikroskop ostida tirik xujayralarda yaxshi ko‘rinmaydi, Kapsulalarni aniqlash uchun bo‘yashni turli usullaridan foydalaniladi. Suyuq tush‘ (tush‘ bilan distillangan suv 1:10 nisbatda) yordamida «vegetativ» usuli yaxshi natija beradi. Unga 3-5 sutkalik azotsiz Eshbi muhitida ustirilgan *Azotobakter chroococcum* kulturaning biomassasi solinadi. Extiyotlik bilan aralashtiriladi va koplagicich oyna bilan yopilib ko‘zatiladi. Preparatning umumiy qora fonida *Azotobakter chroococcum* hujayralarini o‘rab to‘rgan rangsiz yirik kapsulalar ko‘rinadi.

5. Sporali kapsula hosil qiluvchi *Bacillus sp.* bakteriyalarning yosh kulturasidan yuqoridagidek preparat tayyorlanadi. Mikroskop ostida preparatning qora fonida *Bacillus sp* ning tayoqchasimon xujayralarini o‘rab to‘rgan. rangsiz kapsulalar ko‘rinadi.



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

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

Nazorat uchun savollar:

1. Bakteriyalarning zahira moddalari deganda nimani tushunasiz?
2. Zahira moddalarga nimalar kiradi?
3. Kapsula qanday tuzilgan.
4. Kapsula qanday vazifani bajaradi?

9. Laboratoriya mashg'uloti.

Tayyor preparatda va tush yordamida mikroskop ostida kuzatish.

Umumiy ma'lumot:

Ko'pgina mikroorganizmlar ma'lum sharoitda hujayra ichida donodor sitoplazma qo'shilmalari – zaxira moddalarda hosil qiladilar. Odatda ular polisaharidlar, polifoofatlar, oltingugurt donalari va kalsiy oksalatlaridir.

Bazi mikroorganizmlar hujayralarida lipidlar sifatida poli - b -

oksimoy kislota to'playdi. Poli – b – oksibutiratning donalari bakteriya hujayralarni tirik piripatlarda yaxshi ko'rinadi Zaxira oziqa moddalari bilan tanishish uchun quydagi pereparatlar ko'riladi .

Darsning maqsadi: Sof undirma va uni tayyorlash to'g'risida talabalarga tushuncha hosil qilish shu bilan birga pichan batsillasining sof undirmasini tayyorlashni o'rgatish.

Kerakli jihozlar: Quruq pichan, bir dona katta va bir nechta kichik kolbalar, elektr plitka, oq bo'r, termostat.

Ishning borishi:

1. *Bacillus megateriumning* pepton agarida 18–24 saot davomida o'stirilgan kul'turasidan « ezilgan tomchi» usulida preparat tayorlab poli – B- oksibutirat donalarni oson ko'rish mumkin .

2. Moy kislotali bakteriyalarni o'ziga xos xususiyatlaridan biri ularning hujayrasida kraxmalsimon modda – garanulyozaning extiyot oziqa moddasi sifatida to'planishidir. Moy kislotali bakteriyalar tuproqda keng tarqalgan .Ularning boyitilgan kulturalarni Rushman oziqa muhiti ga tuproq ekib olish mumkin. Oziqa muhiti maydalab tozalangan kartoshkadan tayyorlanadi. Kartoshka probirkaga solinadi, tagidan ozgina bo'r solinadi, so'ngra suv qo'shib sterillizatsiya qilinadi . Tuproq ekilgan oziqa muhiti 5 – 7 kun 26 – 280 da termostatda inkubasiya qilinadi

Granulyozaning ko'rish uchun buyum oynasiga bir tomchi lyugol reaktividan tomiziladi va uning usiga Rushman Oziqa muhiti suyukligidan kichik kartoshka bo'lakchasi bilan solinadi va oxista aralashtiriladi. Preparat qoplagich oyna bilan yopiladi, immersion moy tomizilib mikroskopda ko'riladi. Preparatda qizil –binafsha rangga bo'yalgan va hujayraning ko'p qismini egallagan granulyoza ko'rinadi.

3. Ayrim mikroorganizmlar volyutin donalari deb ataladigan polifosfatlar to'lash xususiyatlariga ega.Volyutin donalarini farqlantiruvchi xususiyatlaridan biri shunday iboratki, ularni ko'p metilen bilan bo'yalganda qizil-binafsha rangga bo'yaalnishidir .

Volyutin yoki metaxromatin donalari korineform bakteriyalar, azotbakter. Sut kislotali bakteriyalarda, achitqilar va boshqa mikroorganizmlarda uchraydi .

Volyutin donalar bilan tanishish uchun qatik.dan tayyorlangan fiksirlangan va bo'yalgan preparat ko'riladi.

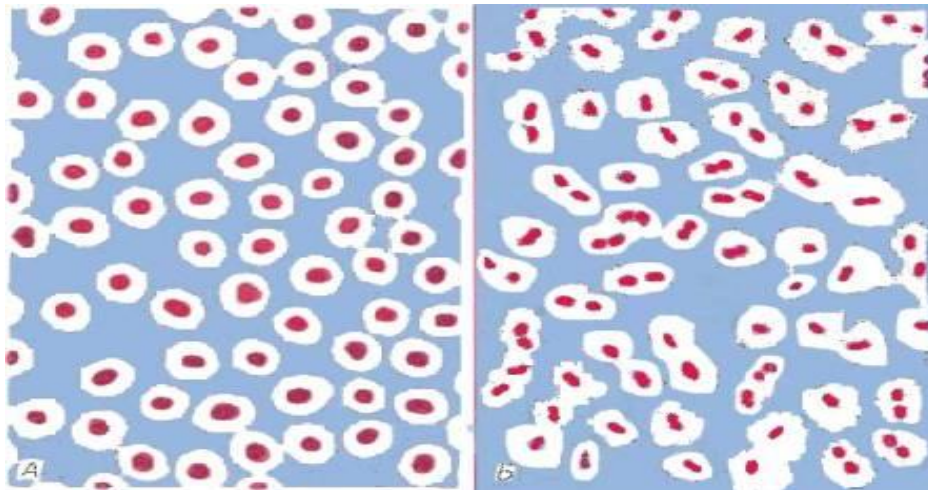
Yogsizlantirilgan qatiqdan toza buyum oynasida surtma tayyorlanib quritiladi, alanga usida fiksirlanadi, sovitilganda so'ng Leffler metil ko'ki bilan 10 minut davomida bo'yaladi. So'ngra preparat bo'yokdan yuviladi, quritilib immersiya tizimida mikroskopda ko'riladi. Xujayra havo rangga, volyutin donalari-kizil binafsha rangga bo'yaladi.

4. Ba'zi bakteriyalar uglevodga boy va azot kam bo'lgan muhitda o'sish vaqtida shilimshiq, ya'ni hujayra atrofida joylashgan g'ovak qatlam-kapsula hosil qiladi. Bu xususiyatga ko'pgina ayrim kasallik tug'diruvchi baktkeriyalar, saprofitlardan esa *Bacillus polymyxa*, *Azotobacter chroocum* va boshqalar ega.

Kapsulalar ko'pincha gel konsitensiyada bo'lib mikroskop ostida tirik

xujayralarda yaxshi ko‘rinmaydi, Kapsulalarni aniqlash uchun bo‘yashni turli usullaridan foydalaniladi. Suyuq tush’ (tush’ bilan distillangan suv 1:10 nisbatda) yordamida «vegetativ» usuli yaxshi natija beradi. Unga 3-5 sutkalik azotsiz Eshbi muhitida ustirilgan *Azotobakter chroococcum* kulturaning biomassasi solinadi. Extiyotlik bilan aralashtiriladi va koplagicch oyna bilan yopilib ko‘zatiladi. Preparatning umumiy qora fonida *Azotobakter chroococcum* hujayralarini o‘rab to‘rgan rangsiz yirik kapsulalar ko‘rinadi.

5. Sporal kapsula hosil qiluvchi *Bacillus sp.* bakteriyalarning yosh kulturasidan yuqoridagidek preparat tayyorlanadi. Mikroskop ostida preparatning qora fonida *Bacillus sp.* ning tayoqchasimon xujayralarini o‘rab to‘rgan. rangsiz kapsulalar ko‘rinadi.



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

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

Nazorat uchun savollar:

1. Bakteriyalarning zahira moddalari deganda nimani tushunasiz?

2. Zahira moddalarga nimalar kiradi?
3. Kapsula qanday tuzilgan.
4. Kapsula qanday vazifani bajaradi?

10. Laboratoriya mashg'uloti.

Mavzu: Havo mikroorganizmlari. Har xil honadagi mikroorganizmlar sonini aniqlash.

Umumiy ma'lumot: Havo mikroflorasi

Havoda tuproqdagiga nisbatan mikroroganzmlar soni kamroq bo'ladi, chunki havoda ozuqa yoq va havo doimiy ravishda harakatda bo'ladi. Bundan tashqari ultrabinafsha nurlar ham havodagi mikroorganizmlarga xalokatli ta'sir ko'rsatadi. Shaharda va odamlar zich yashaydigan xududlardagi havoda mikroorganizmlar qishloq va dashtlardagiga qaraganda ko'proq bo'lishi isbotlangan.

Balandlikka ko'tarilgan sari havodagi mikroorganizmlar soni ham kamayib boradi. Uy-xona havosida mikroblar ochiq joylardagi havoga qaraganda ko'proq bo'ladi. Havodagi mikroorganizmlar soni yil fasillaro'zgarishiga qarab o'zgarib turadi. Bahor va kuzda ularning soni o'rtacha bo'lsa, yozda ko'p, qishda esa kam miqdorda bo'ladi.

Darsning maqsadi: Talabalarga havodagi mikroorganizmlarning sonini aniqlash va ularni ajratish to'g'risida tushuncha berish.

Kerakli jihozlar: Petri idishlari, probirkada sterillangan GPA yoki GPJ oziq muhitlari termostat Volfpogel kamerasi.

Ishning borishi: Eritilgan GPA oziq muhitini steril petri idishga qo'yiladi va darhol idishning qopqog'i yopiladi. Idish ichida GPA qotgunicha stol ustida qoldiriladi. Oziq muhit tayyor bo'lgach havosi tarkibidagi mikroblar soni aniqlanishi kerak bo'lgan joyga olib boriladi. Idishning qopqog'i 5 daqiqa ochib qo'yiladi. Shu vaqt ichida oziq muhiti yuzasiga havodagi mikroorganizmlar tushadi. Idishning qopqog'i yopilib ustiga tajriba o'tkaziladigan joy nomi talabaning ismi sharifi, kursi yozilgan etiketka yopishtirib qo'yiladi. Idishni qog'ozga o'rab 20-30°C issiq termostatga qo'yiladi.

Qattiq oziq muhitiga tushgan mikroorganizmlar har biri ko'payib bir necha kun ichida koloniya hosil qiladi. Bu koloniyalar mikroorganizmlarni turiga qarab har xil shakilda bo'ladi va turli ranglarda tovlanib turadi. Petri idishidagi qattiq oziq muhitdqa poydo bo'lgan koloniyalar soni havo tarkibidagi mikroorganizmlar sonini aniqlashda yordam beradi.

V.S.Omelyanskiy ma'lumotlariga ko'ra 10 l havo tarkibidagi mikroorganizmlar 5 minut ichida 100 sm² yuzasiga tushadi. Buni bilgan holda Volfgyugel kamerasi yordamida mikroorganizmlar soni aniqlanadi. Kamera ichida petri idishi to'ng'arib qo'yiladi. Kamerasi yuqori tomonidagi oyna 1 sm² ga teng bo'lgan katakchalarga bo'lingan. Petri idishining satxiga ro'parama-ro'para kelgan 10-20 ta katakchadagi koloniyalar sonini sanab 1 sm² satxga teng kelgan bakteriyalarning o'rtacha soni topiladi, so'ngra bu son idishdagi oziq muhitning umumiy sathiga ko'paytiriladi. Natijada havoning

mikoorganizmlar bilan ifloslanganlik darajasini ko'rsatadi.

Masalan 100m^2 yuzada 35ta koloniya o'sgan deb faraz qilaylik. Demak V.S.Omelyanskiy ma'lumotlariga asoslanib 10 l havoda tarkibida 35 dona bakteriya borligi aniqlandi. Endi 1 m^3 , yani 1000 l havoda tarkibidagi bakteriyalar sonini aniqlash uchun tubandagi proporsiya tuziladi:

$$10\text{ l}=35 \quad X=1000 *35/10=3500$$

$$1000\text{ l}=x$$

tajribada maeriallarini chuqurroq taxlil qilish maqsadida quydagi ishlar bajariladi.

GPA plastinkasi ustida o'sadigan koloniyalardan bir nechtasi (2-3)tasini tanlab quydagi jadvalda ko'rsatilgan savollarga to'la javob qaytariladi.

| Koloniya nomeri | Koloniyaning rangi | Koloniya chetining ko'rinishi | Koloniya shakli (yumaloq, botiq) | Koloniya ichki tuzilishi (zich, nuqtasimon) |
|-----------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------------|---|
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |

Koloniya profili(yon tomondan ko'rinishi):

11. Laboratoriya mashg'ulot.

Mavzu: Gram usulida bo'yash, har xil mikroorganizmlarni differentsatsiya qilish.

1. Darsning maqsadi.

Mikrobiologiya amaliyotida bakteriya hujayralarini Gram bo'yicha bo'yashni o'rganish.

Kerakli o'quv materiallari: Mikroskop, buyum oynasi, suv, filtr qog'oz, KJ ning sundagi eritmasi bo'lgan Lyugol eritmasi.

2. Darsning vazifasi.

Mashg'ulot davomida surtma preparat tayyorlash, oddiy va murakkab usulda bo'yash. Immersion sistemada mikroskop ostida ko'rishni o'zlashtirib, o'rganib olish lozim.

Umumiy ma'lumot:

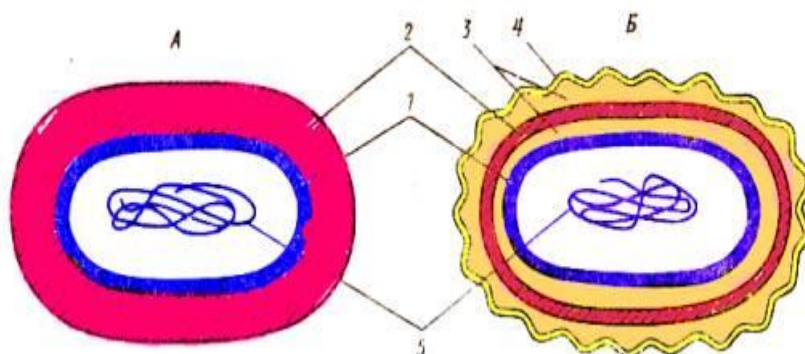
Mikrobiologiya amaliyotida bakteriya hujayralarini Gram bo'yicha differensial bo'yash usuli keng tarqalgandir.

Bu usulda bo'yash 1884 yili daniyalik olim X. Gram tomonidan kiritilgan va o'sha davrdan boshlab diagnostika belgisi sifatida ishlatiladi. Bakteriyalar grammusbat (Gram +) va grammanfiy (Gram -) deb farqlanadi. Grammusbat bakteriyalarni gensianviolet bo'yog'i bilan bo'yab, ba'zi moddalar bilan ishlov berib (protravlivaniye), so'ngra 960 etanol bilan ishlov berilsa binafsha rang saqlanib qoladi. Grammanfiy bakteriyalarda esa, gensianviolet bilan bo'yalsa ham, etanol ta'sir etganda rangsizlanib qoladi. Ularni qo'shimcha birorta bo'yoq, masalan, fuksin bilan bo'yash mumkin. Shunday qilib, Gram usulida bo'yashning bosqichlarini amalga oshirgandan so'ng, grammusbat bakteriyalar binafsha rangga, grammanfiylari esa qizil rangga bo'yaladi.

Qator mualliflarning tadqiqotlari shuni ko'rsatadiki, Gram + va Gram - bakteriyalar faqatgina bo'yashda farqlanmasdan, balki ba'zi antibiotiklarning (penitsillin) ta'siriga, sulfamid preparatlarining, lizotsimning, proteolitik fermentlarning va boshqalarning ta'sirlariga bo'lgan sezgirliklariga qarab ham farqlanadi. Yana aniqlanishicha Gram + bakteriyalar 1% NaOH da erimaydi. Gram - lar esa to'la erib ketadi.

Hozirgi vaqtda ko'pgina tadqiqotchilar Gram bo'yicha bo'yalgan bakteriyalarning bu xususiyatlarini hujayra devorining molekular qurilishi va kimyoviy tuzilishiga bog'lashmoqda.

Odatda Gram usulida bo'yaladigan hujayralar yosh, ko'pincha bir sutkalik kulturalar bo'ladi, chunki bo'yoqni tutib qolish ma'lum darajada bakteriyani fiziologiya holatiga ham bog'liq bo'iadi.



Grammusbat (A) va grammanfiy (B) prokariotlar xujayra devorining sxematik ko'rinishi: 1- sitoplazmatik membrana; 2 - peptidoglikan; 3 - periplazmatik bo'shliq; 4 - tashqi membrana; 5 - DNK

Ishning bajarilishi:

Gram usulida bo'yash quyidagicha bo'ladi. Moysizlantirilgan buyum oynasida 3 ta surtma tayyorlanadi — markazda tekshiriladigan kultura, chapda va o'ngda — nazorat kulturalar. Bitta kultura Gram + va boshqasi Gram – bo'lishi kerak.

| | | | |
|---|---|----|----|
| | I | 2O | 3O |
| O | | | |

1. Achitqilar-Gram +,
2. Pseudomonas melochloro-Gram-,
3. Tadqiqot qilinadigan kul'tura.

Tadqiqot qilinadigan kultura sifatida Petri likopchalarida o'stirilgan havo mikroorganizmlarni ishlatish mumkin.

Surtmalarni juda ham yupqa qilib tayyorlash kerakki, ular oyna yuzasida bir tekis tarqalgan bo'lsinlar. Preparat havoda quritiladi, alangada fiksirlanadi va sovitiladi. So'ngra ikki minut davomida gentsianviolet bilan bo'yaladi. Buning uchun surtmaga gentsianviolet bo'yog'i shimdirilgan qog'oz yopiladi. Bo'yash vaqti tugagandan so'ng bo'yoqli qog'oz olib tashlanadi va suv bilan yuvmasdanoq yodni kaliy yodli suvdagi eritmasi bo'lgan Lyugol eritmasi bilan ikki minut davomida ishlov beriladi. Lyugol eritmasi tashlanib, surtma suv bilan yuviladi va filtr qog'oz bilan quritiladi. So'ngra esa mas'uliyatli ish qilinadi: Preparat qisqa muddat 96%li etanol bilan 80 sekunddan to 1 minutgacha rangsizlantiriladi. Tezda suv bilan yuviladi va qaytadan 2 minut davomida fuksin bo'yog'i bilan bo'yaladi, suv bilan yuvib tashlangandan so'ng filtr qog'oz bilan quritiladi va immersiya tizimida mikroskopda ko'riladi. Agar preparat to'g'ri bo'yalgan bo'lsa grammusbat mikroorganizmlar (Gram +) binafsha, grammanfiylar (Gram –) qizil rangga bo'yaladi.

Bakteriyalarni 1% NaOH ga nisbatan munosabatlarini buyum oynasida tekshirsa ham bo'ladi. Buyum oynasiga uchta ishqor tomchisi tomiziladi. Har bir tomchiga ilmoq bilan kontrol va tekshirilayotgan bakteriya biomassasidan ayrim-ayrim solinadi. Gram + bakteriyalar biomassasi emulsiyalanmasdan parcha-parcha bo'lib qolsa, Gram – larniki esa to'liq erib ketadi, eritma tiniqlashadi.

Gramm usulida bo'yash.

Gramm usulida bo'yashda rangni qabul qilishga qarab 2 gruppaga bo'linadi: Gramm manfiy /-/ Gramm musbat /+/

Gramm musbat usulida bo'yaluvchi bakteriyalar devorida PHK tuzi mavjuddir. U yod, gentsianli metilli bo'yovchilar bilan mustahkam kompleks birikmalar hosil qiladi. Bu birikmalar spirt ta'siriga chidamli bo'ladi.

Gramm manfiy usulida bo'yaluvchi bakteriyalar tarkibida PHK tuzi yo'q shuning uchun ular kompleks birikmalar hosil qilmaydi va o'zida rangni ushlab qolmaydi. Ular Preyffer fuksini bilan qizil rangga bo'yaladi.

Toza kulturalar solingan 2 ta probirka oling. Shu bakteriyalar

tayyorlang, quriting, fiksatsiya qiling va Gramm usulida bo‘yang.

1. Fiksatsiya qilingan surtma preparat ustiga Gentsian-fioletli qog‘oz qo‘yiladi. Bir necha tomchi suv tomizilib 3-5 min. quyiladi.

2. Qisqich yordamida qog‘oz olinadi. Preparat yuvilmaydi, ranglovchi eritma quyiladi va yod lyugolya tomiziladi. Qorayguncha bir minut ushlab turiladi.

3. Lyugol eritmasi to‘kiladi va suv bilan yuvmay turib 96° li spirtidan 5-6 tomchi tomizilib, 20-30° quyiladi.

4. Spirtni yo‘qotish uchun suv bilan yuvib tashlanadi.

5. Пре́йфер фу́ксиндан tomizilib, 1-2 minut ushlab turiladi. So‘ngra suv bilan yuvilib quritiladi. Mikroskop ostida qaraladi. Gramm musbat rangga, gramm manfiy qizil rangga bo‘yaladi.

Achitqisimon zamburug‘dan, predmet oynachasiga bir tomchi solib, surtma tayyorlang, qurutish, spirtovka alangasi ostida mahkamlab fiksatsiya qilib Gramm usulida bo‘yang.

Bir tomchi immersion yog‘ tomizib, mikroskop ostida ko‘ring, rasmini daftarga chizing.

Nazorat uchun savollar:

1. Bo‘yash usuli qachon va kim tomonidan kiritilgan?
2. Gram usulida bo‘yash qanday tayyorlanadi?
3. Gramm musbat va gramm manfiy qanday qiladi?

12. Laboratoriya mashg‘ulot.

Mavzu: Sterillash usullari. Sovuq va issiq sterillash. Avtoklavda ishlash.

Umumiy ma‘lumot:

Sterillash (lotincha-sterilis–nasilsiz) fizik va kimyoviy yordamida mikroorganizmlarni o‘ldirishdir.

Mikrobiologiya amaliyotida sterillash eng asosiy va zarur usularidan biridir. U faqat sterillanayotgan ob‘ektning sirtidagi mikroorganizmlarni o‘ldiribgina qolmay, balki ob‘ekti ichidagi mikroorganizmlarni ham o‘ldiradi. Oziqli muhitlar, idishlar har-xil asboblar va boshqa narsalar sterillanadi.

Sterillanadigan material mikroorganizmlar qayta tushmasligi uchun sterillashdan oldin quyidagicha ma‘lum bir usul bilan himoyalanaadi.

Petri idishlari 2-5 tadan qilib qog‘azga o‘raladi, probirka va kolbalarni paxta dokali tiqin qog‘oz qopqoqchalar bilan yopiladi. Pepitkani uchi paxta tiqini bilan bikitiladi, qog‘oz lentalar (kalka va shunga o‘xshash) bilan o‘raladi, bir nechtasini birlashtirib bitta qog‘ozga yoki, maxsus metall pinallarga solib sterillanadi. Probirkalar 10-20 tadan kilib bitta qog‘ozga o‘rladai. Sterillashda har xil o‘lcham va shakildagi(dumalok yokikvadrat) metall qutichalar keng ishlatiladi. Kul‘turani ekishda petri idishlariga oziqa

muhitini quyganda va boshqa ishlarda kulturalarga mikroorganizmlar tushib qolmasligi uchun xona, kiyim va atrofdagi narsalar toza bo'lishi shart. Mikrobiologik ekishlarini shunday shariotda olib borish zarurki, bunday kul'turalarning tashqi tomondan zararlanmasligi lozim, ya'ni aseptik sharoit yaratish lozim.

Sterillashning turli usullari bor: bo'g', havo, kimyoviy, ion nurlanish va boshqa usullar. Qaysi usulni tanlash o'rganilayotgan ob'ekt, uning qo'llanilishi va qanday apparatura borligiga bog'liqdir.

Sterillash usullari asosan 2 guruhga bo'linadi.:

1. Yuqori haroratli sterillash

2. Mehanik (sovuq) sterillash

Yuqori haroratli sterillashga quyidagi usullar kiradi.

a) Filambirlash –yoki olovda qizdirish.

b) Quruq issiqlikda.

v) Qaunatish.

g) O'tuvchi bug'lash

d) Pasteriasiya

e) Tindalizasiya usuli.

j) Bosim va bug' yordamida.

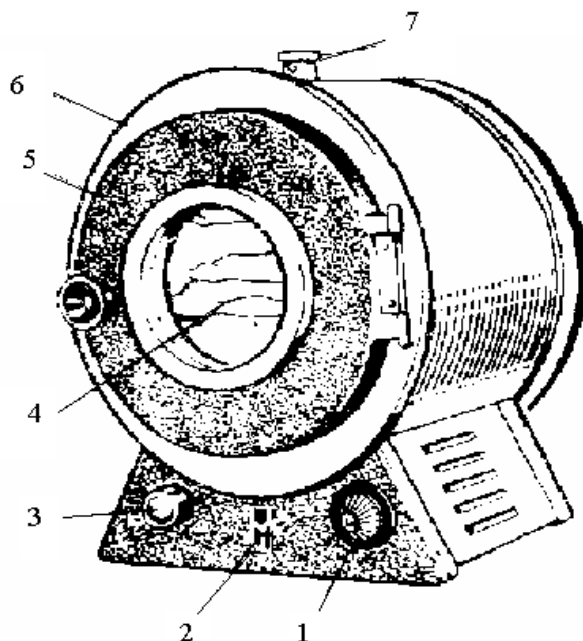
Yuqori haroratli sterillash.

Haroratning maksimumdan oshishi mikroorganizmlarga kuchli ta'sir qiladi, Ko'pgina sterillash usullari yuqori haroratga asoslangan yuqori haroratga turli mikroblarning chidamligi har xildir. Issiq yoki termik sterillashda buni esdan chiqarmaslik zarur. Termik sterillashning bir qancha turi ma'lum.

a) Filambirlash –olovda qizdirish. Bunda yonish xususiyatiga ega bo'lgan hamma narsa, shu bilan birga mikroorganizmlar, goarilka yoki spirtovka olovida yonib ketadi. Mikrobiologiyada har bir laboratoriya ishida preparat tayyorlashda ishlatiladigan bakteriologik (halqa sim) ilmoq olovda laqqa cho'g' bo'lguncha kuydiriladi. Metall asboblari, ninalar buyum oynalar va kolba, probirka uchlari ham qizdiriladi. Paxta-dokali probkalar olovda (kuydiriladi) sterillanadi.

b) Quruq issiq- ta'sirida sterillash maxsus sterillagichlarda yoki quritish shkaflarida amalga oshiriladi. Quritish shkaflari to'g'ri burchakli yoki dumaloq shaklida bo'ladi va yonmaydigan materiallarda- metall va asbestdan qilinadi. Shkafning ichida tokchalar bo'lib, unga sterillanayotgan material quyiladi, tepa qismidagi oraliqqa shkafning ichidagi haroratni ulchaydigan termometr joylashtiriladi. Termometrning simobli sharsimon qismi shkafning ichida bo'lishi va shkafga tegmasligi lozim. Quritish shkafida sterillash paytida harorat nazoratda bo'lishi lozim, chunki pasayib ketsa sterillash amalga oshmaydi. Harorat 175° dan oshganda qog'oz probkalar qorayadi va maydalanadi. Quritish shkafining sterillash rejimi--165-175° da material ikki soat davomida tutib turiladi. Sterillash tugaganda, shkaf ichidagi harorat 70-100° gacha pasayganda shkaf ochiladi, aks holda ichkiva tashqi haroratning farqi shishalarning darz ketishiga sabab bo'ladi. Quruq issiq yordamida shisha idishlar, asboblari, qog'oz,

paxta va boshqa issiqqa bardosh materiallar sterillanadi. Bu usul oziqali muhitlarni sterillash uchun yaroqsiz, chunki ular yuqori harorat ta'sirida bo'ziladi. Ularni sterillash asosan me'yordagi yoki yuqori bosimli qaynab turgan suv bug'ida amalga oshiriladi.



Quritish shkafi:

1–shkalali termoregulyatorni dastasi; 2– asbobni o'chiruvchi muruvvat; 3– signal beruvchi lampa; 4 - taglik; 5-eshikcha; 6-korpus; 7 – termometr uchun teshik va ventilyatsiya qalpoqchasi

v) **Qaynatish** – ayrim buyumlar (metall asboblar, fil'trli membranalar) distillangan suvda uzoq qaynatish davomida sterillanadi. Mikrobiologik amaliyotda bu usul kam ishlatiladi, chunki uzoq qaynatish olinadigan materialga putur etkazishi mumkin, kam vaqtda esa material tuliq sterillanmaydi, chunki ayrim mikroorganizmlar sporalari qaynatishdan keyin ham bir necha soat yashaydi.

g) **O'tuvchibug'lash** –bu usulda sterillash me'yordagi bosimda bosimda kox apparatida amalga oshiriladi. Kox apparati-metall tsilindr bo'lib, issiqni saqlovchi tashqi qobiqqa ega. Tsilindrning ichiga, taglik ustiga tagi g'alvirsimon chelak qo'yiladi, uning tagida-suv qaynaydi. Chelakka sterillanadigan material qo'yiladi, tsilindr teshikli qopqoq bilan yopiladi, bu teshikdan qaynatish davomida bug' chiqadi. Kox apparati isitgich ustiga quyiladi (gaz gorekasi,elektr plita va boshqalar).Qopqoq teshigidan bug' chiqq boshlaganda sterillash vaqti belgilanadi.Bu usulda maxsus tartibga amal qilinadi-3 kun davomida 30minutdan. Birinchi kunda bo'g' harorati 100^0 etganda issiqqa sezgir bo'lag yoki vegetativ

hujayralar nobud bo‘ladi, sporalar saqlanadi. 24 soatda (1 sutkada) sporalar o‘tib vegetativ hujayralariga aylanadi va ertasi kuni sterillash paytida nobud bo‘ladilar. Sterillash to‘liq bo‘lishi uchun uchinchi marta takrorlanadi. Ayrim oziqli muhitlar bug‘ yordamida sterillanadi, chunki ular yuqori haproratga chidamsiz bo‘ladilar.

d) Pasteriatsiya –qisman sterillash yoki to‘liq bo‘lmagan sterillash bo‘lib, uni birinchi bo‘lib Paster tavsiya qilgan. Bu usul sporasiz mikroorganizmlar va sporalari vegetativ hujayralarni o‘ldirishga asoslangan. Pasterizatsiya yuqori bo‘lmagan haroratda amalga oshiriladi.

Sterillash rejimi quyidagicha:

60⁰-75⁰S issiqlikda -15-30 minut

80⁰ S da -10 minut

90⁰ gacha qizdirib, shu zahoti yoq sovutiladi.

Bu usuldan oziq –ovqat sanoatida keng foydalaniladi. Bu usul qaynatganda ta‘mini va oziqli sifatlarini yo‘qotuvchi oziq-ovqat turlari, ya‘ni sut, meva sharbatlari, vino, uchun maqbuldir.

e) Tindalizatsiya- sterillashning bu usuldayuqoribo‘lmagan haroratda mikroorganizmlar yo‘qotiladi. 100⁰Cdan yuqori haroratda buziladigan muhitlarni sterilashda tindalizatsiya usulidan foydalaniladi. Qizitishni 3 kun mobaynida kuniga 30-40 minutdan olib boriladi. Qizitishlar orasida o‘tadigan vaqtda sporalar o‘tib, vegetativ hujayra formasida yo‘q qilinadi, deb hisoblanadi. Bu usul ma‘lum vaqtlardagina ishlatiladi.

Bu maqsadda Kox qaynatgichidan foydalaniladi.

j) Bosim ostida bug‘ bilan sterillashga avtolavlash deyiladi.

Avtolavlash turli va tuzilishi jihatidan har xil bo‘ladi, biroq hammasining ishlash qoidasi bir xil. Avtoklavlanadigan narsalar maxsus quti biksga solinadi. Avtoklavga 5-10 sm qalinlikda suv solinadi. Biksnii avtoklavga solinadi. Suv qizdirilganda qaynab, bug‘ hosil qiladi. Avtoklav ichidagi havo chiqib ketgunga qadar uning jumragi ochiq holda qoldiriladi. Suv bug‘i bir tekis chiqib boshlagandan keyin jumrag berkitiladi. Shunda bug‘ kameraga chiqib boshlaydi va kameradagi bosim, shunga muvofiq holda harorat ham oshadi va mikroorganizmlar va ularning sporalari nobud bo‘ladi.

Bosim bilan bug‘ harorati o‘rtasida uzviy fizikaviy bog‘lanish mavjud: 0,5 atmosfera bosimda 112⁰ S, 1 atm. (atmosfera bosimi) da 120⁰S, 1,5 atida 127⁰S, 2 atida 134⁰S harorat bo‘ladi. Bosim 0,5 atm bo‘lganda qand tutuvchi oziqli muhitlar, sharbatlar, sutlar sterillanadi. Oziqli muhitlar, idishlar va boshqa materiallar bosim 1 atm bo‘lganda sterillanadi. Tuproq 2 atmosfera bosimi bo‘lganga sterillandi. Shunday qilib, bosim qanchalik yuqori bo‘lsa, harorat ham shunchalik yuqori bo‘ladi. 1 atm bosimda sterillash 1 soat; 1,5 atida 45 daqiqa; 2 atida esa 30 daqiqa davom ettirilishi kerak. Sterillash tugagach manometr strelkasi nol’ darajaga kelguncha avtoklav sovutiladi, sungra bug‘ chiqib bo‘lguncha jumragi ochilib, undan sterillangan narsalar olinadi.

1-rasm. Avtoklavning tuzilish sxemasi:

Mexanik yoki sobuq sterillash usulibo'lgan filtirlash mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladi. Bu usulda issiqlikka chidamsiz muhitlar sterillanadi.

Mexanik yoki sobuq sterillash usullari.

Mexanik yoki sobuq sterillash usulibo'lgan filtirlash mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladi

1) Fil'trli sterillash.

Fil'trli sterillash mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladi. Bu usulda issiqlikka chidamsiz muhitlar sterillanadi. Asosan, substratlar qizdirishga chiday olmaganda: termolabil oqsillar, vitamin, shakar va ayrim antibiotiklarni tutuvchi oziqli muhitlar, uchuvchi moddalar, masalan: uglevodorodlar va boshqalar ishlatiladi. Fil'trlashda kul'tural suyuqliklar mikroorganizmlarning hujayralaridan tozalanadi, bunda modda almashinuv mahsulotlari o'zgarmagan holda saqlanadi. Suyuqliklarni fil'trlash maxsus mayda teshikli fil'trlardan o'tkaziladi. Mikrob hujayralari mexanik ravishda fil'trda tutib qolinadi, yana mikroorganizmlarning ustki qismida adsorbtsiya bo'ladi, chunki ko'pchilik suvli suspenziyali mikroorganizmlarda elektr zaryadi bo'ladi. Fil'tr va idishlar oldindan sterillanadi. Fil'trlash bakterial fil'tr orqali bo'ladi va nasos yordamida o'tkaziladi. Ular teshiklarning shakli va diametri bilan farqlanadi. Ayrim paytlarda fil'trlarni har xil nomerlar bilan belgilab ishlab chiqiladi.

2) Ul'trabinafsha nurlar. Ayrim paytlarda sterillash ul'trabinafsha

(UB)nurlar yordamida amalga oshiriladi, masalan, tsentrifuga probirkalar, ular termolabil plastmassadan qilinadi. Laboratoriya bokslari, operatsiya xonalari UB nurlar yordamida sterillanadi. Bunda maxsus kvarts chiroqlaridan foydalaniladi, eng samarali nurning to‘lqin uzunligi 260 nm. UB nurlar berish vaqti tajriba asosida belgilanadi.

Gamma nurlar ham sterillashda samaralidir. Nulanish universal kobalt qurilmasida amalga oshiriladi.

3).Gazlisterillash.

Ularni turli gaz aralashmasi yordamida maxsus germetik yopiladigan apparatlarda olib boriladi. Eng samarali aralashma etilen oksidi metil bromiddir (OB aralashmasi).Og‘irligi1:1,44 nisbatda bo‘ladi. Ko‘p vaqtlarda gazli sterillash yuqori haroratda (45-70⁰ gacha) 24soat davomida olib boriladi. Bunda gazning konsentratsiyasi, bosmi, namlik, harorat, davomiylik nazorat ostida bo‘ladi. Sterillanish tamom bo‘l ganda so‘ng gaz kameradan chiqariladi va tozalangan havo bilan to‘ldiriladi. Gaz yordamida sterillangan bo‘yumlarda 24 soatdan keyin ishlatilishi mumkin.

4) Dezinfektsiya. Sterillash usullaridan tashqari dezinfektsiyadan ham foydalaniladi. Bunda kasalik tug‘druvchi mikroorganizmlar, spora hosil qilmaydigan ko‘pgina patogen mikroorganizmlar zararsiz holga keltiriladi. Dezinfektsiyada har xil kimyoviy moddalar, uchuvchan va uchmaydigan – fenol, formaldegid, xloroform, xloramin, spirt, vodorod peroksid, kaliy permanganat va boshqalar ishlatiladi.

Nazorat uchun savollar:

- 1.Laboratoriyada sterillash qanday usullarda olib boriladi?
- 2.Sovuq usulida sterillash qanday amalga oshadi?
- 3.Sterillash uchun qaysi asboblardan foydalanamiz?
4. Sterillashning maqsadini va yuqori haroratda sterillash usullarni tushuntirin?
5. Qanday sterillash mexanik sterillash hisoblandi?
6. Oziq muhitni va asbob-uskunalarini mikroblardan qanday sterillash mumkin

13. Laboratoriya mashg'ulot.

Mavzu: Avtoklavda ishlash.

j) Bosim ostida bug' bilan sterillashga avtolavlash deyiladi.

Avtolavlash turli va tuzilishi jihatidan har xil bo'ladi, biroq hammasining ishlash qoidasi bir xil. Avtoklavlanadigan narsalar maxsus quti biksga solinadi. Avtoklavga 5-10 sm qalinlikda suv solinadi. Biksni avtoklavga solinadi. Suv qizdirilganda qaynab, bug' hosil qiladi. Avtoklav ichidagi havo chiqib ketgunga qadar uning jumragi ochiq holda qoldiriladi. Suv bug'i bir tekis chiqa boshlagandan keyin jumrag berkitiladi. Shunda bug' kameraga chiqa boshlaydi va kameradagi bosim, shunga muvofiq holda harorat ham oshadi va mikroorganizmlar va ularning sporalari nobud bo'ladi.

Bosim bilan bug' harorati o'rtasida uzviy fizikaviy bog'lanish mavjud: 0,5 atmosfera bosimda 112° S, 1 atm. (atmosfera bosimi) da 120°S, 1,5 atida 127°S, 2 atida 134°S harorat bo'ladi. Bosim 0,5 atm bo'lganda qand tutuvchi oziqli muhitlar, sharbatlar, sutlar sterillanadi. Oziqli muhitlar, idishlar va boshqa materiallar bosim 1 atm bo'lganda sterillanadi. Tuproq 2 atmosfera bosimi bo'lganga sterillandi. Shunday qilib, bosim qanchalik yuqori bo'lsa, harorat ham shunchalik yuqori bo'ladi. 1 atm bosimda sterillash 1 soat; 1,5 atida 45 daqiqa; 2 atida esa 30 daqiqa davom ettirilishi kerak. Sterillash tugagach manometr strelkasi nol' darajaga kelguncha avtoklav sovutiladi, sungra bug' chiqib bo'lguncha jumragi ochilib, undan sterillangan narsalar olinadi.

1-rasm. Avtoklavning tuzilish sxemasi:

Mexanik yoki sobuq sterillash usulibo'lgan filtirlash mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladi. Bu usulda issiqlikka chidamsiz muhitlar sterillanadi.

Mexanik yoki sobuq sterillash usullari.

Mexanik yoki sobuq sterillash usulibo'lgan filtirlash mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladi

1) Fil'trli sterillash.

Fil'trli sterillash mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladi. Bu usulda issiqlikka chidamsiz muhitlar sterillanadi. Asosan, substratlar qizdirishga chiday olmaganda: termolabil oqsillar, vitamin, shakar va ayrim antibiotiklarni tutuvchi oziqli muhitlar, uchuvchi moddalar, masalan: uglevodorodlar va boshqalar ishlatiladi. Fil'trlashda kul'tural suyuqliklar mikroorganizmlarning hujayralaridan tozalanadi, bunda modda almashinuv mahsulotlari o'zgarmagan holda saqlanadi. Suyuqliklarni fil'trlash maxsus mayda teshikli fil'trlardan o'tkaziladi. Mikroorganizmlar hujayralari mexanik ravishda fil'trda tutib qolinadi, yana mikroorganizmlarning ustki qismida adsorbtsiya bo'ladi, chunki ko'pchilik suvli suspenziyali mikroorganizmlarda elektr zaryadi bo'ladi. Fil'tr va idishlar oldindan sterillanadi. Fil'trlash bakterial fil'tr orqali bo'ladi va nasos yordamida o'tkaziladi. Ular teshiklarning shakli va diametri bilan farqlanadi. Ayrim paytlarda fil'trlarni har xil nomerlar bilan belgilab ishlab chiqiladi.

2) Ul'trabinafsha nurlar. Ayrim paytlarda sterillash ul'trabinafsha (UB)nurlar yordamida amalga oshiriladi, masalan, tsentrifuga probirkalar, ular termolabil plastmassadan qilinadi. Laboratoriya bokslari, operatsiya xonalari UB nurlar yordamida sterillanadi. Bunda maxsus kvarts chiroqlaridan foydalaniladi, eng samarali nurning to'lqin uzunligi 260 nm. UB nurlar berish vaqti tajriba asosida belgilanadi.

Gamma nurlar ham sterillashda samaralidir. Nulanish universal kobalt qurilmasida amalga oshiriladi.

3).Gazli sterillash.

Ularni turli gaz aralashmasi yordamida maxsus germetik yopiladigan apparatlarda olib boriladi. Eng samarali aralashma etilen oksidi metil bromiddir (OB aralashmasi).Og'irligi1:1,44 nisbatda bo'ladi. Ko'p vaqtlarda gazli sterillash yuqori haroratda (45-70⁰ gacha) 24soat davomida olib boriladi. Bunda gazning konsentratsiyasi, bosmi, namlik, harorat, davomiylik nazorat ostida bo'ladi. Sterillanish tamom bo'l ganda so'ng gaz kameradan chiqariladi va tozalangan havo bilan to'ldiriladi. Gaz yordamida sterillangan bo'yumlar 24 soatdan keyin ishlatilishi mumkun.

4) Dezinfeksiya. Sterillash usullaridan tashqari dezinfeksiyadan ham foydalaniladi. Bunda kasalik tug'druvchi mikroorganizmlar, spora hosil qilmaydigan ko'pgina patogen mikroorganizmlar zararsiz holga keltiriladi. Dezinfeksiyada har xil kimyoviy moddalar, uchuvchan va uchmaydigan – fenol, formaldegid, xloroform, xloramin, spirt, vodorod peroksid, kaliy permanganat va boshqalar ishlatiladi.

Nazorat uchun savollar:

1. Oziq muhitni va asbob-uskunalarni mikroblardan qanday sterillash mumkin

14. Laboratoriya mashg'ulot.

Mavzu: Ozuqa muhuti. Elektiv ozuqa muhit turlari bilan tanishish.

Umumiy ma'lumot:

Mikroorganizmlarni to'plash, ajratish, saqlash va ularning hususiyatlarini o'rganish uchun har xil oziqli muhitlar ishlatiladi. Ular tarkibida kerakli oziq moddalar bo'ladi va laboratoriya sharoitida mikroorganizmlar yashashi uchun qulay sharoit yaratadi.

Oziqli muhitlar shunday qilinadiki, mikroorganizmlar uglerod, azot, kislorod, vodorod, fosfor, magniy, ka'ltsiy, temir, kaliy, makro-mikroelement hamda boshqa elementlar bilan ta'minlangan bo'lishi lozim. Kerakli paytda muhitlarga o'sish faktorlari-vitamin, aminokislota, purin va pirimidin asoslariva boshqalar qo'shiladi.

Tarkibi bo'yicha oziqli muhitlar tabiiy, sun'iy muhitlarga, tarkibi ma'lum bo'lmagan va sintetik muhitlarga bo'linadi. U ma'lum bir kimyoviy moddalarni o'z tarkibida ushlaydi.

Hayvon va o'simlik muhitlardan tuzilgan oziqli muhitni tabiiy oziqli muhit deyiladi. Bu sut, tovuq tuxumining qaynagan oqsilining bir qismi, qon zardobi, sabzavot, mevalar va ularning qaynatilgan holatlari, gushtning qaynagan va gidrolizlangan holatlar, baliq va achitqilardir. Laboratoriya sharoitida tabiiy muhitlar qatorida gusht-pepton bul'oni va gusht-pepton agari keng qo'llaniladi, yana uzum va solodsuslosi keng foydalaniladi. Sintetik oziqli muhit tarkibiga ma'lum bir miqdorda, ma'lum kimyoviy tarkibli aralashmalar kiradi. Mikroorganizmlarning modda almashinuvi, fiziologiyasi, bioximiyasini o'rganishda sintetik oziqli muhitlar keng ishlatiladi.

S.N, Vinogradskiy elektiv (saylanma) muhitlar degan usulni amaliyotga kiritdi. Ular fiziologik hususiyati bir xil bo'lgan bir guruh yoki biror tur mikroorganizmning o'sishiga qulay sharoit yaratadi. Bu muhitlar mualliflar nomi bilan ataladi va mikroorganizmlarning tabiiy yashash joyidan ajratib olish uchun qo'llaniladi. Masalan, elektiv oziqli muhitlar yordamida tuproqdan azotning har xil formalari va ayrim uglerod formalari almashinuvida ishtirok etuvchi asosiy agronomik mikroorganizm guruhlari ajratib olinadi. Molekulyar azotni bog'lovchi mikroorganizmlar shunday muhitda yaxshi rivojlanadi. Bunda oziq muhit tarkibidan azotli moddalar olib tashlanadi. Agar bu muhitga tuproq eksak, unda hamma mikroorganizmlar orasidan birinchi bo'lib, molekulyar azotni assimilyatsiya qiladigan shakl rivojlanadi. Boshqa mikroorganizmlar ham shu muhitga tushadi, lekin azotli moddalar bo'lmaganligi tufayli uning rivojlanishiga imkon bo'lmaydi.

Ishning maqsadi: Mikroorganizmlarni xar xil ozuqa muhitini tayyorlash.

Ishning borishi: Mikroorganizmlarning boyitilgan kul'turasini olish uchun, tuproq yoki substrat quyidagi oziqli muhitlarga ekiladi:

1) pepton bul'oni-organik azotni(oqsilni) ammiakgacha parchalaydigan mikroorganizmlar (ammonifikatorlar) uchun. Muhit tarkibi: 1l vodoprovodsuvi, pepton-10g, NaCl-5g, Na₂HCO₃ -0,1g

2) Vinogradskiy muhit – nitrifikatorlar uchun, ular ammiakni azot oksidiva keyinchalik azot kislotasigacha oksidlanadi:

$\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ Ular avtotrof, shuning uchun organik uglerod manbai oziqli muhitga kiritilmaydi. Umineral tuzlardan tayyorlanadi: (1 l distillangan suvda, (NH)₂ SO₄ -2g; K₂HPO₄ 1g; MgSO₄ · 7H₂O -0,5g; NaCl-2g; FeSO₄ -0,4g; CaCO₃ -10g)

3) Gil'tay muhiti- denitrifikatorlar uchun, ular azot kislotasini molekulyar azotgacha qaytariladi: NO₃ → N₂(1l distillangan suvda, gr : natriy tsitrati-2,5; KNO₃-2, pepton-1; KH₂PO₃ -2; MgSO₄ · 7H₂O-2; CaCl₂ · 6H₂O 0,2; FeCl₃ -.Muhitga 1-2ml 1lispirtliko'k rangli bromtimol indikatorini yashil rang bo'lguncha qo'shiladi.

4) Eshbu muhiti-erkin yashovchi azotfiksatorlar uchun- atmosferadagi erkin molekulyar azotnio'zlashtiradi. (1l distillangan suvda, g; mannit - 20; K₂HPO₄-0,2g; MgSO₄ · 7H₂O -0,2g; NaCl-0,2g; K₂SO₄-0,1; CaCO₃ -5). Bu muhit "azotsiz" degan nom bilan aytiladi, chunkiunga azotli moddalar qo'shilmaydi.

5) Rushman muhiti-moy kislotali bakterialar uchun, ular qandlarni moy kislotagacha parchalaydi: C₆H₁₂O₆ → CH₃CH₂CH₂CHCOOH Mayda qilib kartoshkani probirkalarga to'g'rab, unga 0,05g bo'r solinib, uni vodoprovod suvi bilan tuldiriladi.

6) Kletchatkani aerob prachalovchilar uchun Getchinson va Kleyton muhiti tayyorlanadi(1l distillangan suvda g: K₂HPO₄-1g; CaCl₂ · 6H₂O-0,1; MgSO₄ · 7H₂O -0,3g; NaCl-0,1g; FeCl₃ · 6H₂O-0,01; NaNO₃-2,5. Quruq probirkalariga oldindan fil'tr qog'oz parchalari solinadi(1x7sm), ular mikroorganizmlar guruhlari uchun uglerod(kletchatka) manbai hisoblanadi va mineral eritma bilan fil'tr qog'ozning yarimigacha qo'yiladi).

7) Tayyor oziq muhitlardan foydalangan holda, bakteriyalarni ekib mikroskopda ko'rish.

Har xil elektiv oziqa muhitli probirkalarga shpatel yordamida 0,5-0,7g dan tuproq solinadi. Probirkalarni qog'oz yordamida birlshtirib, bu qog'ozda ekish kuni va ekuvchining familiyasi yoziladi.

Inkubatsiya termostatda t-25-28⁰ da 7-21 sutka olib boriladi.

Ko'paytiruvchi kultura darslarida tahlil qilinadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Mikroorganizmalarning oziq muxit tarkibida qanday elemintlar uchraydi?

2 Oziq muhitlari necha usulga buladi?.

3. Mikroorganizmlarning boyitilgan kul'turasini olish uchun qanday oziqli muhitlarga ekiladi?.

4. Suyuq ba qattiq oziq muhitlarni qanday tayyorlash mumkin.

15. Laboratoriya mashg'uloti.

Mavzu: Ammonifikatsiya jarayoni va ammonifikatorlarni mikroskopda kuzatish.

Umumiy ma'lumot:

Hayvon va o'simliklar hayot faoliyati natijasida tuproq va suv havzalariga ko'p miqdorda oqsil moddalari tushadi, lekin ular to'planmaydi, balki mikroorganizmlar yordamida parchalanadi.

Turli xil azotli organik birikmalarning mikrobiologik jarayon ta'sirida ammiak ajralishi bilan o'tadigan minerallashuvi ammoniyashtirish deyiladi.

Ammoniyashtirishga oqsil, nuklein kislotalar, mochevina, xitin, gumus moddalar uchraydi. Oqsillarning ammoniyashtirish (chirishi) jarayoni har xil chirituvchi mikroorganizmlar — aerob va anaerob ammonifikatorlar tufayli sodir bo'ladi. Bularga sodda hayvonlar, zamburug'lar, aktinomitsitlar va xilma-xil bakteriyalar kiradi.

Faol ammonifikatorlarga spora hosil qiluvchi va sporasiz bakteriyalar kiradi. Oqsil moddalarning parchalanishi mikroorganizmlarning proteolitik fermentlari yordamida quyidagi tartib bo'yicha boradi: oqsil → polipeptid → aminokislota → ammiak.

Aminokislotalar parchalanish jarayonida dekarboksillanishga, dezaminirlanishga uchraydi. Bu hollarda dezaminirlanish esa to'g'ri, gidrolitik, oksidlanuvchi va qaytariluvchi bo'lishi mumkin. Bunda ammiakdan tashqari turli moddalar hosil bo'ladi, bularning orasida gazsimon hamda yoqimsiz hidli moddalar hosil bo'ladi. Masalan, oltinugurt tutuvchi aminokislotalar (metionin va sistein) parchalanganda sulfid vodorod hosil bo'ladi, siklik aminokislota triptofan parchalanganda yoqimsiz najaz hidiga ega fenol va boshqa moddalar hosil bo'ladi.

Darsning maqsadi:

Ammonifikatsiya jarayoni va unda ishtirok etadigan mikroorganizmlarni o'rgatish.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: Kolba, pepton, tuproq, qizil lakmus qog'oz, qo'rg'oshin atsetat $[P(CH_3COO)_2]$ tuzi eritmasi va oksalat kislotasi ($H_2C_2O_4$) shimdirilgan qog'ozlar, tiqin tayyorlash uchun paxta, buyum oynalari, fuksin, mikroskop, bakterial ilmoq, immersion moy.

Ishning bajarilishi: Oqsil moddalarning ammoniyashtirishini o'rganish va ammoniyashtiruvchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini olish uchun tuproq (yoki boshqa substrat) tarkibida oqsil yoki uning parchalangan mahsulotlari bor oziqa muhitiga, masalan, pepton buloniga ekish kerak. So'ngra, ma'lum bir inkubatsion davr (5-7) dan so'ng tahlil o'tkaziladi.

I. Pepton bulyonidagi ammoniyashtiruvchilarning boyitilgan kulturasining tahlili.

1) ammoniyashtiruvchilarning xarakterli o'sishini oddiy ko'z bilan kuzatishlarda mavjudligi (uning ko'rinishi), loyqalanishi (uning jadalligi) va gaz pufakchalari borligi;

2) hid borligini qayd etish va uni tasvirlash (xushbo'y, yoqimsiz, o'tkir, qo'lansa, najaz hidini eslatishi va b.);

3) ammoniyashtiruvchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini mikroskopda tekshirish — undan “ezilgan tomchi” usulida tirik preparat hamda fiksirlanagan va bo'yalgan preparatlarni tayyorlash;

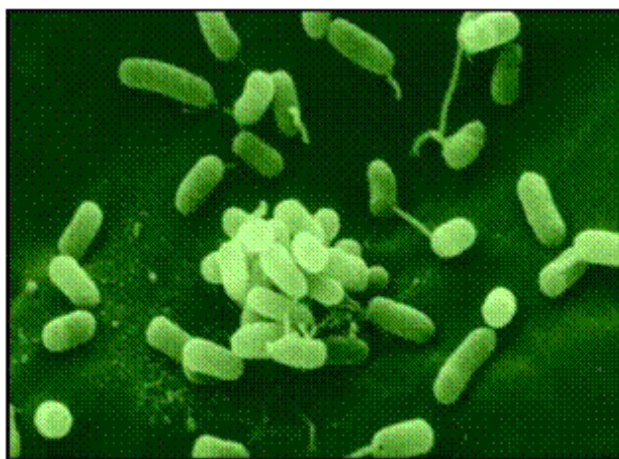
4) ammiakka sifat reaksiyasi o'tkaziladi uni pepton bulonida to'planganligini tomchi reaksiyasi bilan Nessler reaktivi yordamida aniqlanadi. Chinni idishga boyitilgan kulturadan 0,5-1 ml quyiladi va reaktivdan 1 tomchi qo'shiladi. Ammiak bor bo'lsa, sariq yoki zarg'aldoq rang paydo bo'ladi. Ammiak qancha ko'p bo'lsa, rang shuncha to'q bo'ladi.

II. Ammoniyashtiruvchi bakteriyalarning toza kulturasini “ezilgan tomchi” preparatida ko'rish tavsiya etiladi.

1. Sporasiz grammanfiy bakteriyalar.

a) *Serratia marcescens* — qizil qon tayoqchasi, bu kulturaning pepton agaridagi shtrixi bo'ylab o'sishi qotgan qonni eslatadi. Mikroskop ostida 0,5-0,6 x 6-1,0 mkm keladigan mayda, kalta, harakatchan peritrixlar, yakka yoki qisqa zanjirlarga birlashgan hujayralar va qizil rangdagi donachalari — prodigiozin pigment bo'laklari ko'rinadi.

Pseudomonas fluorescens — bu kultura oziqa muhitga ko'k yashil rangdagi flyuoessent pigmentini ajratadi. Bu ingichka, 0,6 x 1-2 mkmdagi to'ppa-to'g'ri, harakatchan (monotrixlar) tayoqchalardir.



Pseudomonas fluorescens

2. Spora hosil qiluvchi grammusbat bakteriyalar.

a) *Bac. megaterium* uchlari yumaloqlashgan, yirik tayoqchalar, o'lchamlari 1,2-1,5 x 3-7 mkmdan 10 mkm gacha, harakatchan, peritrixlar, yakka yoki zanjir hosil qilgan, yosh hujayralarda dona-dona lipid granulari ko'rinadi. Shtrix yog'simon, yaltiroq, salgina qavariq, sarg'ish

rangda bo‘ladi.

b) *Bac. subtilis* kalta va ingichka, 0,6 x 3-5 mkm, yakka, harakatchan, peritirix tayoqchalar. Pepton agarida ingichka, quruq, burishgan parda ko‘rinishida o‘sadi.

d) *Bac. mycoides* 0,8-1,2 x 5-7 mkm yakka tayoqchalari yoki zanjirlarga birlashgan, ular yosh mog‘or zamburug‘i mitseliysining gifasini eslatuvchi iplar hosil qiladi. Agarli oziqa muhitda kultura o‘ziga xos, yassi, mitseliysimon yoki rizoidsimon yoyilgan shaklda o‘sadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Ammonifikatsiya jarayoni qanday sodir bo‘ladi?
2. Ammonifikatorlarga qanday bakteriyalar kiradi?

16. Laboratoriya mashg‘uloti.

Mavzu: Nitrifikatsiya va denitrifikatsiya.

Umumiy ma‘lumot:

Azotli organik birikmalarning mikroblar yordamida parchalanishidan hosil bo‘lgan ammiak tuproqda har xil o‘zgarishlarga uchraydi: nitrit va nitratlargacha oksidlanadi, qisman tuproqda adsorbsiyalanadi, tuproq mikroorganizmlari metabolizmi jarayonida azot manbai sifatida ishlatiladi (immobilizatsiya) va boshqalar.

Ammiakni nitritgacha va so‘ngra nitratlargacha oksidlanishi nitrifikatsiya deyiladi. Nitrifikatsiya jarayoni nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar yordamida amalga oshadi. Bu bakteriyalar avtotrof bo‘lib, uglerod manbai sifatida karbonat angidridan foydalanish xususiyatiga ega. Buning uchun zarur bo‘lgan kimyoviy energiya esa ammiak va nitritlar oksidlanishidan olinadi. Zamonaviy atamashunoslikda ular xemolitoavtotroflar deyiladi.

Nitrifikatsiya jarayoni ikkita bosqichda o‘tadi, har bir bosqichni nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning spetsifik guruhlari bo‘lgan grammanfiy mayda hujayralar olib boradi.

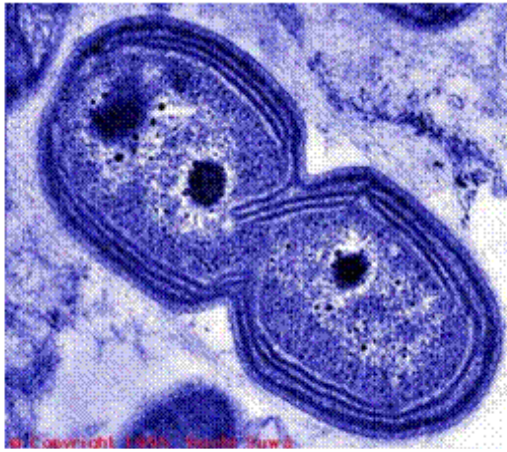
Birinchi bosqichda ammiak *Nitrosomonas* avlodiga kiruvchi nitrozbakteriyalar yordamida oksidlanadi:



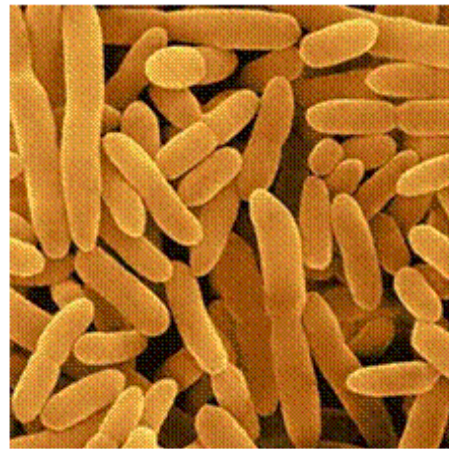
Ikkinchi bosqichda nitritlar *Nitrobacter* avlodiga kiruvchi nitrat bakteriyalar yordamida oksidlanadi:



Nitrifikatsiya jarayonini o‘rganish va nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini olish uchun tuproqni (yoki boshqa substratni) Vinogradskiy oziqa muhitiga ekish kerak. Bu muhit mineral tuzlar eritmasidan iborat, jumladan, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tuzi eritmasidan iborat. Aniq bir inkubatsion davr (21 kun) dan so‘ng nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini tahlil qilinadi:



Nitrosomonas sp.



Nitrobacter sp.

Kerakli jihozlar va reaktivlar:

Mikroskop, tuproq.

Darsning maqsadi:

Azotli organik birikmalarning mikroblar yordamida o'rganish.

Ishning bajarilishi:

1. Boyitilgan kulturasi mikroskopda fiksirlangan va gensianviolet bilan bo'yalgan preparatni tayyorlab ko'rish:

2. Nitritlarga sifat reaksiya qilish nitritlar to'planganligini tomchi reaksiyasi bilan Griss reaktivi yordamida aniqlanadi. Uning uchun chinni kosachaga 0,5-1 ml boyitilgan kulturadan quyiladi va 1-2 tomchi Griss reaktivi qo'shiladi. To'q qizil rang hosil bo'lishi nitritlar borligidan dalolat beradi.

3. Nitratlarga sifat reaksiyasi — nitratlar to'planganligini konsentrlangan sulfat kislotali difenilamin reaktivi yordamida aniqlanadi. Chinni idishga boyitilgan kulturadan 0,5-1 ml quyiladi va idish devori bo'ylab 1-2 tomchi reaktivdan tomiziladi. Nitratlar to'plangan bolsa, suyuqliklarning uchrashgan joyida jadal ko'k rang kuzatiladi.

Nitrifikatsiya jarayoni davomida hosil bo'lgan nitratlar, ularning eruvchanligi tufayli tuproqlarning past qatlamlariga tushadi, yuqori o'simliklar va mikroorganizmlarga azot manbai bo'lib xizmat qiladi, mikrobiologik usulda denitrifikatsiyalovchi bakteriyalar yordamida qaytariladi.

Azot tuzlari molekular azotgacha qaytarilishi chin denitrifikatsiya deyiladi. Bu jarayonni denitrifikatsiyalovchi mikroorganizmlar olib boradi, ular organik moddalarni oksidlash jarayonida nitratlar vodorod akseptor sifatida ishlatiladi.



Tuproqdagi ko'pgina geterotrof mikroorganizmlar denitrifikatsiyalash xususiyatiga egadir. Eng faol denitrifikatorlar sifatida *Pseudomonas* avlodidagi sporasiz bakteriyalarni ko'rsatish mumkin. Bu jarayonda ba'zi bir *Bacillus* avlodiga kiruvchi mezofil va termofil turlar qatnashishi mumkin. O'ziga hos avtotrof denitrifikatorlar qatoriga oltingugurt oksidlanishida nitratlarni qaytaruvchi tion bakteriyalar *Thiobacillus denitrificans* kiradi.

Tuproqda o‘tuvchi denitrifikatsiya o‘rinsiz jarayon bo‘lib, o‘simlik o‘zlashtiradigan azotning yo‘qolishiga olib keladi.

Denitrifikatsiya jarayonini o‘rganish uchun denitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini olish uchun elektiv bo‘lgan Giltay oziqa muhitiga tuproq (yoki boshqa substrat) ekiladi. Bu oziqa muhitining tarkibiga natriy limon kislota, pepton, nitratlar va mineral tuzlar hamda ko‘k bromtimol indikator kiradi, u mosh rangli bo‘ladi. Yetti kundan so‘ng Giltay oziqasi tahlil qilinadi:

Giltay oziqa muhitidagi denitrifikatorlarning boyitilgan kulturasining tahlili.

1. Denitrifikatorlarning xarakterli o‘sishi oddiy ko‘z bilan kuzatiladi — parda borligi (tashqi ko‘rinish), loyqalanish jadalligi, havo pufakchalarining borligi va oziqa muhiti rangining o‘zgarishi.

2. Denitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini mikroskop ostida ko‘rish “ezilgan tomchi” tirik preparati, fiksirlangan bo‘yalgan preparat tayyorlanadi.

3. Nitritlarning va nitratlarning sifat reaksiyasini 38 va 39-betdagi nitrikatsiya mavzusidan ko‘rilsin.

II. *Denitrifikatsiyalovchi* bakteriyalarning toza kulturalari:

a) *Pseudomonas stutzeri* — to‘g‘ri, yakka 0,5-1 x 1,5-4 mkm li, qutbli xivchinlar yordamida haraktlanuvchi, sporasiz grammanfiy, aerob, xemoorganotrof, birorta eruvchan pigment hosil qilmaydigan hujayralar.

b) *Pseudomonas fluorescens* — oziqa muhitiga ko‘k, havorang fluoressirlovchi pigment ajratadi. Bular ingichka 0,6 x 1-2 mkm li to‘g‘ri, harakatchan (monotrixlar), sporasiz, xemoorganotrof tayoqchalar.

Nazorat uchun savollar:

1. Azotli organik birikmalarning mikroblar yordamida parchalanishida nima hosil bo‘ladi?

2. Nitrikatsiya jarayoni qanday sodir bo‘ladi?

3. Dinitrikatsiya jarayonlari.

17. Laboratoriya mashg'uloti.

Mavzu: Azotfiksatsiya jarayoni va erkin yashovchi azotfiksatorlar.

Umumiy ma'lumot:

Atmosferadagi gazzimon azot zahirasi bitmas-tuganmasdir. Lekin bu katta zahiradan mineral azot birikmalari kerak bo'lgan o'simliklar va azotni organik birikmalari shaklida o'zlashtiruvchi hayvonlar foydalana oladi.

Bu xususiyatga fakat prokariotlar ega. Ularning ko'pchilik vakillari havodagi azotni bog'langan holatga o'tkazadi. Molekular azotni mikroorganizmlar tomonidan o'zlashtirish jarayoni azotfiksatsiya va bu jarayonni olib boruvchi mikroorganizmlar azotfiksatorlar deyiladi. Hamma e'tirof kilgan azotfiksatorlarga azotobakter, tuganak bakteriyalar va anaerob klostridiylar kiradi. Boshqa guruh mikroorganizmlar ichida *Bacillus*, *Azotobacter*, *Azospirillum* va hokazo avlodlarga kiruvchi azotfiksatorlar topilgan.

Azotfiksirlovchi mikroorganizmlar Tuproqda erkin holda yoki yukori o'simliklar bilan simbioz holatda yashaydi. Shuning uchun erkin yashovchi va simbioz holatda yashovchi azotfiksatorlar farklanadi.

Erkin yashovchi azotfiksatorlar.

Erkin yashovchi azotfiksatorlar orasida *Azotobacter* va *Clostridium* avlodlarining turlari kizikarlidir. Azotobakter oson o'zlashtiriladigan organik moddalarni tutuvchi, neytral yoki kuchsiz ishkoriy reaksiyali Tuproqlarda keng tarkalgan. Azotobakteriyaning hamma turlari — geterotroflar va aeroblar. Ular orasida eng yaxshi o'rganilganlari *Az. chroococcum* va *Az. vinelandii* ning turlaridir.

Tuproqda va ifloslangan suv havzalarida anaerob azotfiksator *Clostridium* avlodi uchraydi. Bu guruhning tipik vakili *C. pasteurianum* turidir. Yosh kultura hujayralari peritrix joylashgan xivchinlarga ega bo'lgan va donador kraxmalsimon moddaning katta zahirasi ega bo'lgan tayokchasimon shaklga egadir. Hujayralar klostridial tipda spora hosil kiladi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar:

Mikroskop, Tuproq, probigka, paxta, bir nechta kichik kolbalar, elektr plitka, ok bo'r, thermostat.

Darsning maksadi: Azotobakterning boyitilgan kulturasini suyuk, azotsiz Eshbi muhitiga ekib uni mikroskopda ko'riladi.

Ishning bajarilishi:

Azotobakterni tabiiy yashash muhitidan — Tuproqdan ajratish uchun va uning mikdorini aniklash uchun har xil usullardan, shu katorada Tuproq bo'lakchalari usulidan foydalaniladi. Sterillangan Petri kosachasiga azotsiz Eshbi agarli muhit kuyiladi. Kotgandan so'ng agar ustiga sterillangan ilmok yordamida 1 g Tuproqni diametri 2 mm cha bo'lgan 50-100 bo'lakchalari joylashtiriladi. Tuproq oldindan bir oz namlanadi. Bo'lakchalarning to'g'ri joylashishi uchun andozadan foydalaniladi. Tuproq ekilgan likopchalarni 28-30° da 5-7 kunga nam kameraga joylashtiriladi. Sunday sharoitda azotobakter bo'lsa, bo'lakchalar xira,

avval rangsiz, keyin och jigarrang yoki to'k koramtir rangli shillik bilan koplanadi.

Azotobakter bilan koplangan Tuproq bo'lakchalarning mikdori ekilgan bo'lakchalar umumiy sonidan protsent hisobida sanaladi. Bo'lakchalar atrofidagi shillik biomassadan tushli preparat tayyorlanadi va mikroskopda ko'riladi. Bunda korong'i fonda kalin rangsiz kapsula bilan o'ralgan donador *Az. chroococcum* ning hujayralari ko'rinadi.

Azotobakterning boyitilgan kulturasi Tuproqning suyuk, azotsiz **Eshbi muhitiga** ekib ham olish mumkin. Ekilgan narsalar 28-30° da o'stiriladi va bir haftadan so'ng analiz kilinadi:

1. Probirka devoridagi loyka va halkasimon shillik g'ubor borligi oddiy ko'z bilan tekshiriladi.

2. Kultural suyuklik va halkasimon g'ubor mikroskop ostida suyuk tush (1:10) tomchisida ko'riladi.

Erkin yashovchi azotfiksatorning toza kulturasi bilan tanishish uchun agarli **Eshbi muhitida** o'stirilgan *Azotobacter chroococcum* ning laboratoriya kulturasi mikroskopda ko'riladi.

Azotobacter chroococcum yosh davrida tayokcha shaklida bo'ladi. Ular harakatchan, peritrixlar, gomogen bir me'yorda bo'yalgan plazmali, yakka yoki juft bo'lib birlashgan. Ularning uzunligi 2-3 dan 4-6 mkm gacha bo'lishi mumkin. Sekin-asta tayokchalar katta, diametri 4 mkm li sharsimon ko'pincha 8 soniga o'xshash ko'shalok hujayralarga aylanadi, karigan sari hujayralar harakatini yo'kotadi va shillik kapsula bilan koplanadi, plazma donador bo'lib koladi.

V. Nazorat uchun savollar:

1. Azotfiksatsiya jarayoni deb nimaga aytiladi?
2. Azotofiksatorlarga kaysi bakteriyalar avlodi vakillari kiradi?
3. Azotobakterning boyitilgan kulturasi kanday muhitga ekiladi?

18. Laboratoriya mashg'uloti.

Mavzu: Sut kislotali bijg'ish. Sut va qatiq mahsulotlarini mikroskop ostida kuzatish.

Umumiy ma'lumot:

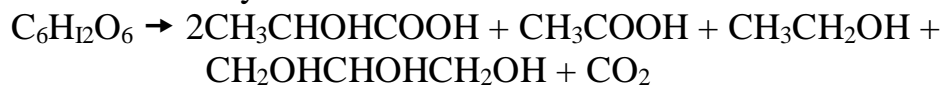
Uglerodli organik moddalar mikrobiologik o'zgarishlarga uchraydi va har xil oraliq moddalar yoki oddiy moddalar SO₂ va suv hosil bo'ladi. Organik moddalarni qaysi yo'l bilan parchalanishga qarab, erkin kislorodsiz o'tadigan bijg'ish va aerob sharoitida o'tadigan oksidlanish jarayonlari farqlanadi.

Bijg'ish jarayonida doimo oxirgi mahsulot sifatida to'la oksidlanmagan moddalar — etanol, sut kislota va boshqalar hosil bo'ladi. Bunda hosil bo'ladigan asosiy mahsulotlarga qarab bijg'ishlar spirtli, sut kislotali, moy kislotali va hokazolar deb nomlanadi. Sut kislotali bijg'ishni sut hosil qiluvchi bakteriyalar olib boradi, ular mono- va disaxaridlarni

parchalab sut kislota hosil qiladi. Sut kislotali bakteriyalar 2 guruhga bolinadi: geksozadan quyidagi tenglama bo'yicha asosan sut kislota hosil qiluvchi gomofermentativ bakteriyalar:



va sut kislota bilan birga qo'shimcha mahsulotlar ham hosil qiluvchi geterofermentativ bakteriyalar:



Sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning tashqi ko'rinishlari tayoqchasimon — *Lactobacillus* avlodiga kiruvchi hamda sharsimon — *Streptococcus* avlodiga kiruvchi bakteriyalar bo'lib, sharsimonlari yakka, juft-juft bo'lib yoki zanjir hosil qilishi mumkin. Ular harakatsiz, grammusbat, spora hosil qilmaydigan bakteriyalar.

Sut kislotali bakteriyalar anaerob yoki mikroaerofillar bo'lib, kislorod bor bo'lgan holatda ham, yo'q bo'lganda ham o'sishi mumkin: katalaza aktivligi yo'q, xemoorganotroflarga kiradi.

Ularning deyarli hammasi o'sish faktorlarni hamda oziqlanishda murakkab oziqa moddalarni talab qiladi. Ular tabiatda keng tarqalgan. Ular doimo o'simliklar ustida, odam va hayvon ichagida, sutda va boshqa oziqa mahsulotlarda hamda tuproqda uchraydi.

Bu organizmlar sutdan sut-qatiq mahsulotlari olishda (qatiq, kefir), yem-hashaklarni siloslashda, sabzavotlarni tuzlashda, xamirturush tayyorlashda, teri oshlashda, sanoatda sut kislota olishda va tibbiyotda — oshqozon, ichak yo'llari kasalliklarini davolashda keng qo'llaniladi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar:

Mikroskop, buyum oynasi, yopg'ich oyna, tuzlangan bodring, karam.

Darsning maqsadi:

Talabalarga sut kislotali bakteriyalardan preparat tayyorlashni o'rgatish.

Ishning bajarilishi:

Sut kislotali bakteriyalar bilan tanishish uchun har xil sut-qatiq mahsulotlaridan (qatiq, prostokvasha, smetana, tvorogdan) va tuzlovlar suvidan (pomidor, bodring, karam tuzlovlari) preparat tayyorlanadi. Uning uchun buyum oynasidagi bir tomchi suvda bakterial ilmoq bilan ozgina mahsulotdan olib aralashtirib, havoda quritiladi. Surtma fiksirlanadi va ko'k metilen bilan bo'yaladi.

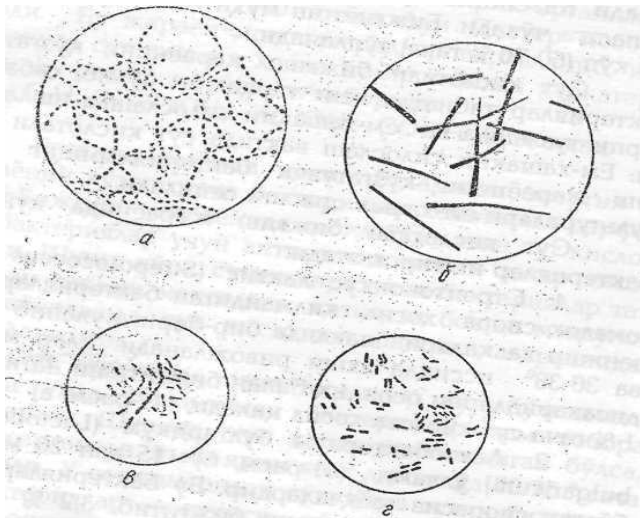
Tuzlov suvidan preparat suvsiz tayyorlanadi, keyin surtma quritiladi, fiksirlanadi va bo'yaladi.

a) Sut-qatiq mahsulotlaridan tayyorlangan preparatlarda sharsimon sut kislotali bakteriyalar ko'riladi, ular *Streptococcus* turiga kiradi. Diametri 0,5-0,6 mkmdan 1 mkm gacha hujayralar yakka, juft-juft va zanjir holatda joylashgan bo'ladi, bular tipik gomofermentativ guruhining vakillaridir.

Streptokokklardan tashqari preparatda *Lactobacillus* avlodiga kiruvchi tayoqchasimon bakteriyalar ko'rinadi. Masalan, *L. acidophilus*, *L.*

bulgaricus va boshqalar. Hujayralar yakka, juft-juft va zanjirsimon joylashgan. Sut kislotali tayoqchalar streptokokklarga o'xshab o'simlik ustida, tuproqda, sut mahsulotlarida, odam va hayvonlar ichagida uchraydi.

b) Tuzlov suvidan tayyorlangan preparatda yakka va kalta zanjir holatda joylashgan *L. rantarum* tayoqchasimon bakteriyalar ko'rinadi. Ular sabzavotlarni tuzlash va siloslashda o'tadigan sut kislotali bijg'ish jarayonida muhim rol o'ynaydilar.



Nazorat uchun savollar:

1. Sut kislotali bakteriyalar necha guruhga bo'linadi?
2. Sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning tashqi ko'rinishidan qanday tuzilishga ega?
3. Sut kislotali bijg'ishli preparatlar qanday tayyorlanadi?

19. Laboratoriya mashg'uloti.

Mavzu: Moy kislotali bijg'ish.

Umumiy ma'lumot:

Tabiiy sharoitda moy kislota hosil bo'lishini 1814 yili nemis olimi Shevrel aniqlagan. Moy kislotali bijg'ish jarayonida moy kislota hosil bo'lishida tirik organizmlar ishtirok etganligini va bu biologik jarayon ekanligini 1861 yili Lui Paster isbotlab berdi. Bu jarayon quyidagi tenglama asosida boradi:



Bulardan tashqari, moy kislotali bijg'ish jarayonida sut va sirka kislotalar, etil va butil spirtlar, atseton va metan (CH₄) ham ajralib chiqadi.

Moy kislotali bijg'ishni qo'zg'atuvchi bakteriyalarning ko'pchiligi tashqi muhitga kuchli fermentlar ishlab chiqaradi. Bu fermentlar ta'sirida sellyuloza gidrolizlanadi (parchalanadi). Sellyuloza va kraxmalning parchalanishi natijasida xosil bo'ladigan oddiy shakarlarni (yuqoridagi reaksiya asosida) moy kislotali bijg'ishni qo'zg'atuvchi bakteriyalar

bijg'itadi. Bunda ishtirok etadigan bakteriyalar kislorodli sharoitda yashay olmaydi, ya'ni ular anaerob bakteriyalar gruppasiga kiradi. Bu bakteriyalar tabiatda keng tarqalgan bo'lib, iflos suvda, sut, pishloqda, tuproqda va boshqa turli muhitda uchraydi. Ular spora hosil qilish xususiyatiga ega bo'lib, sporalari 1-2 soat qaynatilganda ham hayot faoliyatini saqlab qoladi.

Moy kislotali bijg'ish jarayoni bir tomondan foydali bo'lsa, ikkinchi tomondan zarar keltiradi.

Foydali tomoni shundaki, bu jarayon yordamida yog' kislotalar, butil va etil spirtlar, atseton va boshqa mahsulotlar olinadi. Bakteriyalarning ba'zi bir turlari, jumladan, klostridium pasteurianum (Clostridium pasteurianum) molekulyar azotni o'zlashtiradi. Bu jarayon qishloq xo'jaligi o'simliklari uchun zarur bo'lgan azot birikmalariniing to'planishida juda katta rol o'ynaydi. Agar sariyog', pishloq, sut va boshqa mahsulotlarga moy kislotali bijg'ishni qo'zg'atuvchi bakteriyalar tushib qolsa, ularda hosil bo'lgan moy kislota va boshqa birikmalar ta'sirida mahsulotlarning sifati pasayadi. Moy kislotali bijg'ish jarayonining bu tomoni xalq xo'jaligi uchun juda zararlidir.

Kerakli jihozlar: Kolba, arpa maysasi, oq, bo'r, kauchuk tiqin, elektr plitka, shakarining 5 % li eritmasi, tuproq, probirka, 96 % li spirt, kontsentrlangan sulfat kislota, buyum va qoplag'ich oynalar, spirt lampa, Lyoffler sinkasi va karbol-fuksin bo'yog'i, mikroskop, immersion moy, Ba(OH)₂ eritmasi.

Darsning maqsadi: Moy kislotali bijg'ish jarayonida ishtirok etuvchi mikroorganizmlarni o'rganish.

Ishning borishi: Moy kislotali bijg'ish jarayonini qo'zg'atuvchi bakteriyalarni to'plab olish uchun: 1) oziq muhiti tarkibida tezda shakar (masalan, kraxmal) ga aylanadigan moddalar bo'lishi; 2) anaerob sharoit yaratish; 3) sporalarning issiqqa chidamliligidan foydalanish; 4) oziq muhitida neytral sharoit yaratish zarur.

Anaerob sharoit yaratish uchun 200 ml hajmli kolbaga shakarining 5 % li eritmasidan 150 mm quyib, unga azot manbai sifatida 5 g maydalangan arpa maysasi va neytrallash uchun 2 g oq bo'r qo'shib qaynatiladi. Qaynab turgan suyuqlikka bir qism tuproq qo'shib, kolbaning og'zi rasmda ko'rsatilgandek, egri nay o'rnatilgan kauchuk tiqin bilan berkitiladi va temperaturasi 30° li termostatga qo'yiladi.

Tuproq qaynab turgan suyuqlikka tashlanganda tarkibidagi sporasiz va ko'pchilik sporalari bakteriyalar nobud bo'ladi. Moy kislotali bijg'ishni qo'zg'atuvchi bakteriyalarning sporalari esa hayot faoliyatini saqlab qoladi va suyuqlik sovigandan keyin tezda rivojlana boshlaydi.

Oradan 3-4 kun o'tgandan keyin moy kislotali bijg'ish jarayoni borganligi va bu jarayonda ishtirok etgan bakteriyalar tekshiriladi. Bu ish quyidagicha olib boriladi.

1-Moy kislotali bijg'ishda ajralib chiqadigan karbonat anhidrid va vodorodni yig'ib olish uchun suv to'ldirilgan probirkaga egri nayning ikkinchi uchi kiygizilib, kolbadan ajralib chiqayotgan gazlar probirkaga yig'ib olinadi. Probirkaning og'zini barmoq bilan berkitib, tiniq barit suvi solingan idishga botiriladi. Agar barit suvi loyqalansa, bu hodisa probirkada CO₂ gazi to'planganligini ko'rsatadi. Probirkada vodorod to'planganligini aniqlash uchun esa undagi loyqalangan suvning yarmini to'kib, og'zi yuqoriga qaratiladi va unga darhol yonib turgan gugurt cho'pi yaqinlashtiriladi. Vodorod havo bilan birga portlovchi aralashma hosil qilganligi sababli u portlaydi.

Kolbadagi eritmadan 2-3 ml olib, unga 1 ml 96 % li spirt va 10 tomchi kontsentrlangan sulfat kislota tomizib qizdiriladi. Hosil bo'lgan moy kislota aralashmadagi spirt bilan birikib, murakkab efir hosil qiladi. Probirkadan ajralib chiqqan yoqimli hid reaksiya borganligini va bijg'ish vaqtida moy kislota hosil bo'lganligini ko'rsatadi.

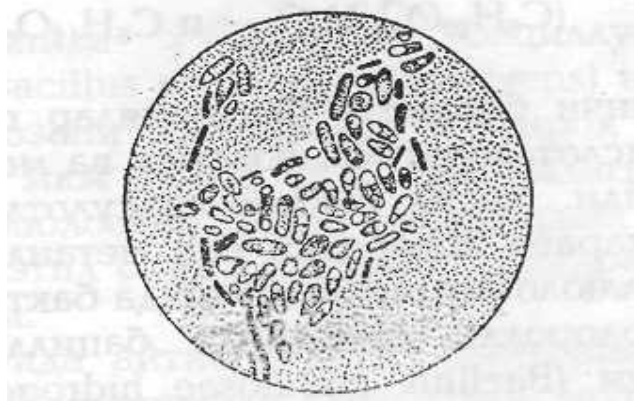
Batsillalarni aniqlash uchun bakterial preparat tayyorlanadi va ularning sporasi ham vegetativ hujayralarini aniklash uchun shu preparatning o'zi ikki qayta bo'yaladi. Bunda vegetativ hujayralar ko'k rangda, ularning sporalari qizil yoki pushti rangda tovlanadi

Nazorat uchun savollar:

1. Moy kislotali bijg'ish jarayoni qanday boradi?
2. Moy kislotali bijg'ishda qanday mikroorganizmlar ishtirok etadi?
3. Laboratoriyada moy kislotali bijg'ishni qo'zg'atuvchi mikroorganizmlarni elektiv kulturasini qanday usulda tayyorlanadi?

Moy kislotali bijg'ish protsessini qo'zg'atuvchi bakteriyalar:

(Klostridium pasteurianum)



20. Laboratoriya mashg'ulot.

Mavzu: Getchenson oziqa muhitining analizi.

Umumiy ma'lumot:

Kletchatka (sellyuloza) o'simlik quruq vaznining 45-80 % ni tashkil etadi. U polisaxarid bo'lib, kuchli kimyoviy reaktivlar ta'sirida ham qiyin parchalanadi. Tabiiy sharoitda sellulozaning juda katta miqdori tuproqqa tushadi va u erda tuproq mikroorganizmlari yordamida biologik o'zgarishlarga uchraydi. Bu mikroorganizmlar, kletchatkani glukoza gidrolizlovchi va so'ngra aerob sharoitlarda SO₂ va N₂O gacha oksidlovchi selluloza va sellobiaza fermentlari hosil qiladi.

Oraliq mahsulotlar sifatida organik kislotalar hosil bo'ladi.



Sellyulozaning aerob parchalanishi asosan bakteriyalar hamda aktinomitsetlar va zamburug'lar ishtirokida amalga oshadi. Bu jarayonda asosiy rol miksobakteriyalarga tegishli. Miksobakteriyalar — grammanfiy bir hujayrali tayoqchalar bo'lib, eni 0,4-0,7 mkm ni tashkil etadi. Bu organizmlar ko'pchiligining yoysimon hujayralari uzunasiga cho'zilgan, uchlari o'tkirlashgan boladi. Ular egiluvchanligi bilan farqlanadi va qattiq yuzalar bo'ylab sirg'anib harakatlanadi. Miksobakteriyalar binar — ko'ndalang ikkiga bo'linish yo'li bilan ko'payadi. Vegetativ hujayralar ko'paygandan so'ng birtalay hujayralar birgalikda to'planib, shilimshiq parda bilan qoplanadi va o'lchami 1 mm dan kam bo'lgan rangsiz yoki har xil rangga bo'yalgan differensiyalashgan meva tanalar hosil qiladi. Miksobakteriyalarning meva tanasi oyoqchadan (sistofera) va sistalardan tashkil topgan bo'ladi. Sistalarda tinch holatdagi yirik hujayralar joylashgan bo'lib, yetilgandan so'ng ulardan yana vegetativ hujayralar chiqadi.

Miksobakteriyalar bir necha turga birlashtiriladi: *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Sorangium*, *Archangium*, *Polyangium* va boshqalar. Bu organizmlar tuproqda yashaydilar, ular ko'p miqdorda go'ngda va go'ng bilan o'g'itlangan tuproqlarda hamda chuchuk suv havzalarida va dengiz loyqalarida uchraydi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: Mikroskop, buyum oynalari, filtr qog'oz, distillangan suv, K₂HP0₄, CaCl₂ x 6H₂O, MgSO₄ x 7H₂O, NaCl, FeCl₃ x 6H₂O, NaNO₃ kolbalar, probirkalar va Petri idishlari.

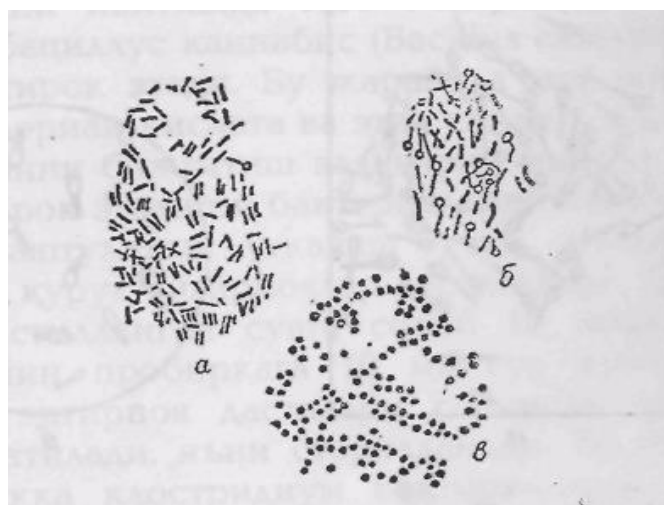
Darsning maqsadi: Kletchatkaning aerob parchalanishi haqida tushuncha berish.

Ishning bajarilishi: Sellyulozaning aerob parchalanishini Getchinson va Kleyton muhitida kuzatish mumkin:

1. distillangan suv — 1 l
2. K_2HPO_4 - 1 gr.
3. $CaCl_2 \times 6H_2O$ - 0,1 gr.
4. $MgSO_4 \times 7H_2O$ - 0,3 gr.
5. NaCl - 0,1 gr.
6. $FeCl_3 \times 6H_2O$ - 0,01 gr.
7. $NaNO_3$ - 2,5 gr.

Bu muhitda yagona uglerod manbai bo‘lib sellyuloza — filtr qog‘oz kesmasi xizmat qiladi. Muhitga tuproq ekiladi va 14-21 kundan so‘ng filtr qog‘ozda o‘zgarishlar kuzatiladi. Bakterial chirish natijasida qog‘oz bo‘sh, g‘ovak ko‘rinishida bo‘lib qoladi va ayrim hollarda yirtilib ketadi. Suyuqlik bilan havo chegarasidagi qog‘oz shilimshiqanadi, sarg‘ayadi, qo‘ng‘ir tusga kiradi, bu esa miksobakteriyalar koloniyalarining rivojlanishi bilan bog‘liq bo‘ladi.

Aerob sellyuloza parchalovchi bakteriyalar bilan tanishish maqsadida “ezilgan tomchi” preparati tayyorlanadi. Buning uchun buyum oynasiga bir tomchi ko‘k metilenning suvli eritmasidan tomiziladi, hamda shilimshiqlashgan, qo‘ng‘irlashgan filtr qog‘oz kesmasidan ilmoq bilan qirib olingan qirindi bilan aralashtiriladi. Bunda chirigan qog‘ozning tolalarini, alohida-alohida bakterial hujayralarni va yumaloq sistalarni ko‘rish mumkin.



Sellyulozani bijg‘ituvchi bakteriyalar.

Batsillus Omelyanskiy: a - yosh hujayralar; b - sporali vegetativ hujayralar (baraban tayoqchalari); v - etilgan sporalar.

Nazorat uchun savollar:

1. Kletchatka o‘simlikning qaysi qismini tashkil qiladi?
2. Oraliq mahsulotlar sifatida qanday kislotalar hosil bo‘ladi?
3. Sellyulozaning aerob parchalanishida asosan qaysi bakteriyalar ishtirok etadi?

O.R.UMAROV

«TUPROQ MIKROBIOLOGIYASI»
fanidan laboratoriya mashg'ulotlarni bajarish uchun

Uslubiy qo'llanma

| | |
|-------------------------|----------------------|
| <i>Muharrir:</i> | <i>A. Qalandarov</i> |
| <i>Texnik muharrir:</i> | <i>G. Samiyeva</i> |
| <i>Muscihhih:</i> | <i>Sh. Qahhorov</i> |
| <i>Sahifalovchi:</i> | <i>M. Bafoyeva</i> |

Nashriyotlitsenziyasi AI № 178. 08.12.2010. Original-maketdan bosishga ruxsat etildi: 12.05.2022. Bichimi 60x84. Kegli 16 shponli. «Times New Roman» garn. Ofset bosma usulida bosildi. Ofset bosma qog'ozi. Bosma tobog'i 2 Adadi 100. Buyurtma №252.

"Sadridin Salim Buxoriy" MC-HJ
"Durdon" nashriyoti: Buxoro shahri Muhammad Iqbol ko'chasi, 11-uy.
Bahosi kelishilgan narxda.

"Sadridin Salim Buxoriy" MCHJ bosmaxonasida chop etildi.
Buxoro shahri Muhammad Iqbol ko'chasi, 11-uy. Tel.: 0(365) 221-26-45

