



MIRZO ULUG'BEK NOMIDAGI
ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI

V.B.FAYZIYEV, B.J.AXMADALIYEV,
U.M.JO'RAYEVA, A.H.VAHOBOV

TUPROQ MIKROBIOLOGIYASI

AMALIY MASHG'ULOTLAR UCHUN
USLUBIY QO'LLANMA



26
F-83

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI

MIRZO ULUG'BEK NOMIDAGI
O'ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI

V.B.FAYZIYEV, B.J.AXMADALIYEV, U.M.JO'RAYEVA,
A.H.VAHOBOV

TUPROQ MIKROBIOLOGIYASI

FANIDAN
AMALIY MASHG'ULOTLAR UCHUN
USLUBIY QO'LLANMA

177

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI
TOSHKENT VILOYATI CHIRCHIQ
DAVLAT PEDAGOGIKA INSTITUTI
AXBOROT RESURS MARKAZI

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI
TOSHKENT VILOYATI CHIRCHIQ
DAVLAT PEDAGOGIKA INSTITUTI
AXBOROT RESURS MARKAZI
1-FILIALI

Ushbu uslubiy qo'llanma Mikrobiologiya va virusologiya mutaxassisligining o'quv rejasidagi "Tuproq mikrobiologiyasi" fani uchun tayyorlangan bo'lib, unda tuproq mikrobiologiyasi tadqiqotlari uchun zarur bo'lgan asbob-uskunalar bilan tanishish, mikroorganizmlarni ajratish, ko'paytirish uchun zarur bo'lgan ozuqa muhitlari, tuproqni mikrobiologik tahlil qilish, tuproq mikroorganizmlarining toza kulturasini olish va saqlash, ularning xususiyatlarini o'rganish, tuproq mikroorganizmlarining o'zaro va boshqa organizmlar bilan aloqalari to'g'risidagi laboratoriya ishlari batafsil bayon etilgan. Adabiyotlar to'yxati yanqti adabiyotlar bilan to'ldirilgan.

Uslubiy qo'llanma Mikrobiologiya va virusologiya magistratura mutaxassisligi magistr talabalari hamda biologiya ta'lim yo'nalishida ta'lim olayotgan talabalari uchun mo'ljallangan.

Данное пособие подготовлено по предмету «Микробиология почвенной микробиологии» в учебной программе специальности «Микробиология и вирусология», которая включает в себя ознакомление с необходимыми оборудованием для исследования почвенной микробиологии, выделение микроорганизмов, питательные вещества, необходимые для размножения, микробиологический анализ почвы, культивирование чистых культур почвенных микроорганизмов и изучение их свойств, изучение лабораторных исследований по взаимодействию почвенных микроорганизмов друг с другом и другими организмами. Список литературы пополнен более новыми публикациями.

Методическое пособие по микробиологии и вирусологии магистерская программа предназначена для студентов, обучающихся в магистратуре и биологическом направлении.

Tuzuvchilar:

Fayziyev V.B.
Ahmadaliyev B.I.
Jo'rayeva U.M.
Vahobov A.H.

Taqrizchilar:

b.f.n., dots. Ibrodov K.I. –
O'zMU Mikrobiologiya va
biotexnologiya kafedrasi
dotsenti;

b.f.n., dots. Sattorov M.E. –
I.Karimov nomidagi TDTU
Biotexnologiya kafedrasi
dotsenti

Mazkur uslubiy qo'llanma Mikrobiologiya va biotexnologiya kafedrasi majlisida muhokama qilindi va nashr etishga tavsiya qilindi («22» yanvardagi 2019 yil 13-sonli majlis bayonnomasi).

Mazkur uslubiy qo'llanma Mirzo Ulug'bek nomidagi O'zbekiston Milliy universitetining Biologiya fakulteti Kengashida muhokama qilindi va nashr etishga tavsiya qilindi («06» mart 2019 yil 7-sonli majlis bayonnomasi).

Kirish

Mikroorganizmlar dunyosi hayotning ko'zga ko'rinmas tiriklik shakli hisoblanib, yer yuzida juda katta ahamiyat kasb etadi. Uning shakli tayyarlashimon, sharsimon, buralga vibrationsimon, spiralsimon bo'lib, 4 xil: ya'ni suv, havo, tuproq va tirik organizmlar kabi muhitlarda hayot kechirib yer yuzida mevali va energiyani davriy aylanishida juda muhim ahamiyat kasb etadi. Yuqoridagi sanab o'tilgan muhitlardan tuproq mikroorganizmlar keng tarqalgan muhit hisoblanib, bu mikroorganizmlarning faoliyati tufayli tuproq unumdorligini yaxshilash, o'simliklarni turli kasalliklardan himoya qilish, mineral o'g'itlar ishlatishni kamaytirish kabi muammolarni hal qilinishida tuproq mikroorganizmlarini ishlatish bugungi kundagi tuproq bilan bog'liq bo'lgan ekologik muammolarni hal qilinishida muhim hisoblanadi. Shularni e'tiborga olib tuproq mikrobiologiyasi kursi Mikrobiologiya va virusologiya magistratura mutaxassisligi o'quv rejasiga kiritilgan bo'lib, bu fan bo'yicha bugungi kungacha o'zbek tilida o'quv adabiyotlarning mavjud emasligi talabalarga bir qator qiyinchiliklarning paydo bo'lishiga olib kelmoqda. Bu muammo ushbu kurs bo'yicha o'zbek tilida o'quv adabiyotlarini tayyorlashni talab etadi. Shuning uchun ushbu tayyorlangan o'quv adabiyoti talabalar bilimining chuqur bo'lishi uchun muhim ahamiyat kasb etadi.

Ushbu uslubiy qo'llanma Mikrobiologiya va virusologiya magistratura mutaxassisligi magistr talabalari uchun tayyorlangan bo'lib, unda mikrobiologik tadqiqotlar uchun zarur bo'lgan asbob-uskunalarining tuzilishi va ishlash mexanizmi, sterilizatsiya usullari, ozuqa muhitlari va ularni tayyorlash, tuproq namunasini olish, mikrobiologik tadqiqotlar uchun tayyorlash, ozuqa muhitiga ekish texnikasi, tuproq mikroorganizmlarini sonini aniqlash, ularning tuproqdagi boshqa mikroorganizmlarga antonistik ta'siri, o'simliklarga salbiy va ijobiy ta'siri, toza kultura olish va ularning tahlili, mikroorganizmlar kulturasini saqlash kabilar kiritilgan bo'lib, bu talabalarning amaliy ishlarni sifatli bajarilishida va chuqur bilim olishiga ko'maklashadi.

Uslubiy qo'llanmani tayyorlashda o'quv adabiyotlar tayyorlashga qo'yilgan zamonaviy tendensiyalarga amal qilingan holda, mamlakatimizda mikrobiologiya yo'nalishida tayyorlangan, jumladan Vahobov A.H. va bosh. "Mikrobiologiyadan amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun o'quv qo'llanma (lotincha)" ("Universitet" nashriyoti, 2009 y.) kabi o'zbek tilidagi hamda xorijiy oliy ta'lim muassaslarida Zvyaginsev D.G. i drug., "Biologiya pochv: Uchebnik. -3-ye izd., ispr. i dop." (Izd-vo MGU, 2005.) kabi bir qator tayyorlangan o'quv adabiyotlardan foydalanildi.

Shu bilan bir qatorda ushbu uslubiy qo'llanma mualliflar va mutaxassislarining fikr-mulohazalari asosida tayyorlangan bo'lib, unda mavjud xato va kamchiliklarni tuzatish uchun bildirilgan fikrlar uchun mualliflar jamoasi o'z minnatdorchiligini bildiradi.

1-bo'lim. Tuproq mikrobiologiyasi tadqiqotlar uchun zarur bo'lgan asbob-uskunalar, ozuqa muntirlari bilan tanishish

1.1. Inkubatsion uskunalar

Termostat. Mikrobiologik laboratoriya uchun zarur bo'lgan - termostat haroratni doimiy (+1, -2°C) tarzda tutib turadi va mikroorganizmlar kulturalarini inkubatsiya qilish uchun qulay sharoit yaratadi. Bakteriologik termostat ikki qavat mis plastinkadan qilingan devordan iborat bo'lgan shkak ko'rinishida bo'lib, bu qavatlar orasi distillangan suv bilan to'lgan bo'ladi. Shkak devorlarining barcha qismini o'rab turgan suv elektr elementlar yordamida avtomatik qo'shilish va ajratilish natijasida qizdirilib turiladi.

Shkafning ichki burmali devoriga metall ugolniklar birlashtirilgan bo'lib, u alyumindan yasalgan sekali tokchalarni tutib turish vazifasini bajaradi. Termostatning teploizolyatsiyasida asbest va mineral paxtadan foydalaniladi. Termostatning yuqori qismida ikkita kichik tynuk (ochiq) mavjud bo'lib, ularning biri termometr uchun bo'lsa, ikkinchisi esa ventilyatsiya uchun qoldirilgan.

Izolyatsiyalangan eshik ichida joylashgan shisha darichani ochmasdan, termostat ichida joylashgan kulturalarni kuzatish mumkin. Yuqori qismida joylashgan qo'shimcha tynuk suv solishga, suv o'lchovchi trubka va termoregulyatori kiritishga mo'ljallangan.

Termostatning ishchi kamerasini sterillashda turli suyuqlik dizinfektsiyalovchi moddalar (70% li etanol, sterogenol va boshq.) yaxshi samara beradi. Bu maqsadda turli kislotalar va ishqorlarni qo'llash tavsiya etilmaydi, chunki bu moddalar uning devori va tagida karroziyani keltirib chiqarishi mumkin. Suvli qobiq ichini vodoprovod suvi bilan to'ldirishga ruxsat etilmaydi.

Bir xil haroratda juda ko'p miqdordagi mikroorganizm kulturalari inkubatsiyalanuvchi (o'quv muassasalarining ishlab chiqaruvchi, tadqiqot va kuzatuv) laboratoriyalari maqsadga muvofiq teploizolyatsiyalangan va maxsus isitiluvchi termostat xonalari bilan jihozlanishi zarur. Mikroorganizmlar ekmalarni devorga yaqin tokchalarga joylashtirish mumkin. Bunday xonalarni dizinfektsiyalanishda aërozol dezinfektsiyalovchi vositalar yaxshi samara beradi.

Anaerostat - bu qalin davorga ega bo'lgan metallardan yasalgan, og'ir va germetik qopqoq bilan yopiluvchi, monometr va ikkita jo'rakdan iborat idish hisoblanadi. Ulardan biri havoni so'rib olish uchun qo'llanilsa, ikkinchisi esa inert gazlar (argon, azot, vodorod, geliy) bilan to'ldirilishda ishlatiladi. Anaerostat uzoq muddat vakuum sharoitini saqlaydi va u anaerob mikroorganizmlarni ko'paytirish va tozalashni osonlashtiradi, mikroorganizmlar odatda Petri chashkasi va probirkalarda o'stiriladi. Kulturalar joylashtirilgandan so'ng anaerostat germetik tarzda yopiladi va havosi so'rib olinib, 15-20 mm ga tenglashtiriladi. Undan so'ng, anaerostat ma'lum gaz bilan to'ldiriladi yoki to'ldirilmagan holatda ma'lum haroratda ushlab turish maqsadida termostatga joylashtiriladi. Har kuni anaerostat monometri nazorat qilib borilishi va zarur bo'lgan taqdirda uning havosi so'rib olinishi kerak bo'ladi.

Kishidagi miqdorini nazorat qilish uchun anaerostat devorida joylashtirilgan shisha trubkada o'rnatilgan maxsus indikatorlardan foydalaniladi.

Ayrim hollarda anaerostat o'rinda vakuum eksikatoridan foydalanish mumkin, ammo u manometr bilan jihozlanmagan, ammo vakuumni bu hodisada kishidagi indikator yordamida nazorat qilish mumkin.

Termosif va bir qator davlatlarda anaerob bakteriyalarni ko'paytirish uchun anaerob termostatlar ishlab chiqariladi, unda harorat 30-70°C hamda neytral hidroksid atmosfera sharoiti yaratiladi.

Reaktivlar. Odatda laboratoriyalarda maishiy xo'jalik muzlatgichlari ishlatiladi, ammo ilmiy-tadqiqot ishlari uchun isitish va sovutish sistemasiga ega bo'lgan 80-114 Labor kabi maxsus qurilma zarur bo'lib, bu zarur harorat rejimini top va aniq ushlab turish imkoniyatini beradi. Laboratoriya sovutgichlari haroratni 3-4 °C darajida ushlab turadi va ular keng miqyosda qo'llaniladi. Ularda tayyor va sterilizatsiya ozuqa mahsulotlarini (bir sutkadan ortiq bo'lmagan muddatda), saklatish uchun yig'ilgan tuproq, go'ng va o'simlik namunalari saqlanishi mumkin. Yig'ilgan bunday namunalarning mikrobiologik analizi tez muddatlarda o'tkazilishi zarur, chunki ularning mikroflorasi son va sifat jihatidan o'zgarishi mumkin.

Mikroorganizmlar ekmalarni alohida xolda (5°C), namlik bilan saqlanishini oldini olgan holda saqlanishi zarur. Uchuvchan moddalar va gazlar ushlab turilgan germetik holatda yopilgan holatda bo'lishi zarur. Oziq-ovqat mahsulotlarining mikrobiologik laboratoriyada saqlanishi mutlaqo ta'qiqlanadi.

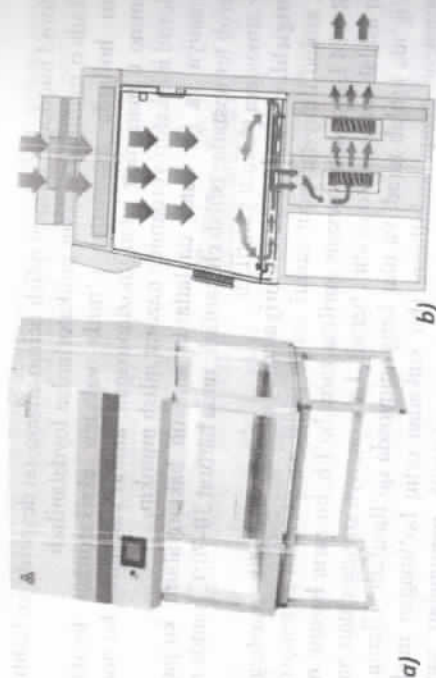
1.2. Shkaf, laminar boks va ekish kabinalari

Mikrobiologiya amaliyotida ekish uchun ishlatiladigan shkaf, shakllanadigan metallardan yasalgan bo'ladi. Bu shkafning oldingi yuzasining yuqori qismi oynadan yasalgan bo'lib, 45° burchak asosida gorizontal holatda joylashgan. Quyidagi qismida ikkita maxsus qo'l uchun joy qilingan bo'lib, unda reaktiv qo'lqop mahkamlangan. Shkafning orqa qismida elektr provada va gazni olib ketish uchun trubalar mahkamlangan bo'ladi.

Ushbu dezinfektsiyalovchi moddalar yoki ultrabinafsha lampalari yordamida sterilizatsiya.

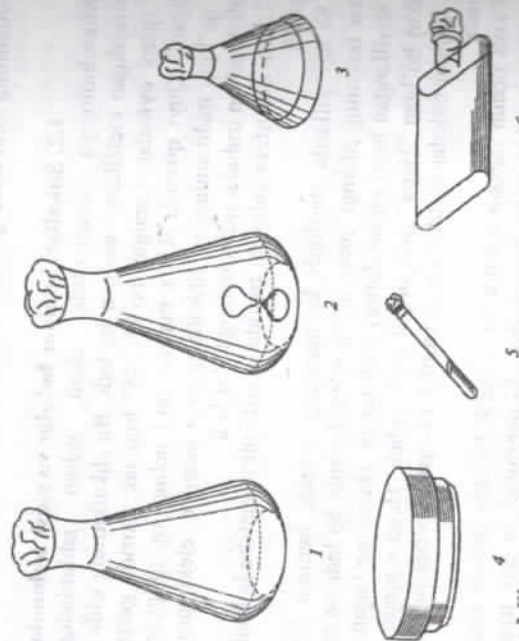
So'ngi yillarda sterilizatsiya kabinasining o'rinda laminar boks ishlatiladi. Laminar bokning oldingi qismi to'liq ochiq holatda bo'ladi va unda doimiy va sekun sterilizatsiya havo oqimi doimiy esib turadi. Havoning laminar oqimi porasi 0.3 mikron bo'lgan "Hepa" filtri orqali o'tib ketadi. Havo oqimining yo'nalishiga qarab laminar boks vertikal va gorizontal (1-rasm) ko'rinishda tuzilgan xillarga bo'linadi.

Ekish uchun maxsus kabina bu - steril holatda ishlash imkonini beruvchi laboratoriyaning bir qismi hisoblanadi. Vodoprovod va gaz trubalari namlikka chidamli materiallar bilan qoplanib, devorga o'rnatilgan bo'ladi. Kabinani sterilizatsiya unga o'rnatilgan kvarts lampa yordamida amalga oshiriladi.

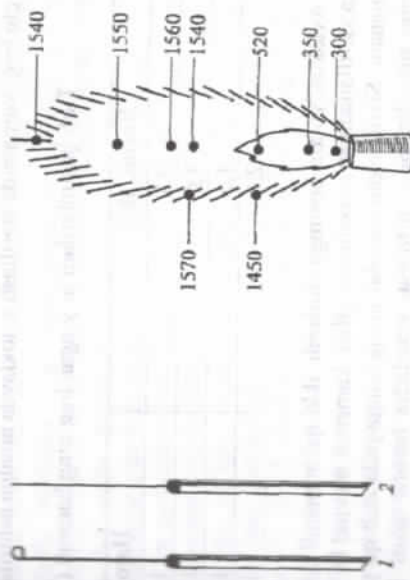


l-rasm. Laminar boks (a) va unda havo oqini (b).

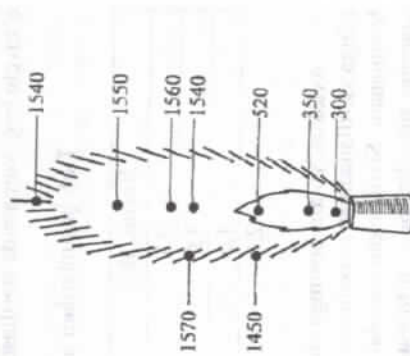
Laboratoriyada mikroorganizmlar probirkalar, matraslar, kolbalar yoki Petri chashkasiga quyilgan qattiq va suyuq ozuqa muhitlarida o'stiriladi (2-rasm). Ozuqa muhitlari va idishlarni sterillashni talab etiladi. Ozuqa muhitlarini tayyorlash va sterillash yo'llarini keyingi bo'limlarda ko'rib chiqamiz.



2-rasm. Mikroorganizmlarni ko'paytirish uchun zarur bo'lgan idishlar:
1-2 -*tachalka kolbasi*; 3- *tagi yassi kolba*; 4-*Patri chashkasi*; 5- *probirka*
6-*matras*.



3-rasm. Bakteriologik ilmoq
(1) bakteriologik igna (2).
4-rasm. Gaz garelkasi alangasining
va turli uchastkalaridagi harorat (°C).



Ushbu (ignani) sterillashdan so'ng, birdaniga mikroorganizm ekilgan idishga qo'yilish tabiiy ravishda amal bo'ladi. Mikroorganizm hujayrasini zararlamaqlik uchun (ignani) dastlab sovitib, keyin idishdagi mikroorganizmlardan xoli bo'lgan ozuqa muhiti yuzasiga tekiziladi va o'zina miqdordagi mikroorganizm kulturasidan olinadi.

1.3. Ozuqa muhitlari va idishlarni sterilizatsiya usullari bilan ta'minlash

Sterilizatsiya mikrobiologiya amaliyotida qo'llaniladigan muhim va zarur usullardan biri hisoblanadi. "Sterilizatsiya" so'zi lotin tilidan olingan bo'lib, "nasizlantirish" degan ma'noni anglatadi. Amaliy ishlarda sterilizatsiya deganda sterilizatsiya obyektining yuzasi hamda ichidagi hayot shaklini yo'qotish qobiliyatiga ega bo'lgan usullar tushuniladi. Umumiy sterilizatsiya ikki turi aniqlangan bo'lib, ular issiq va sovuq sterilizatsiya bo'linadi. Issiq sterilizatsiya olovda qizdirish va yoqish, quruq issiq yordamida sterilizatsiya (issiq havo yordamida), to'yingan bug' va bosim bilan (avtoklavlash), o'tuvchi bug'lanish yordamida (tendalizatsiya) hamda qaynatish yordamida sterilizatsiya kiradi. Sovuq sterilizatsiya: filtrlash yordamida sterilizatsiya, gazlar yordamida sterilizatsiya, kimyoviy usulda, ultrabinafsha va boshqa nurlar yordamida sterilizatsiya kabilar kiradi. U yoki bu sterilizatsiya usullarining qo'llanilishi birinchi navbatda sterilizatsiya material tarkibi va tadqiqot maqsadiga bog'liq bo'ladi.

Ozuqa muhitini to'yingan bug' va bosim yordamida sterilizatsiya (avtoklavlash). Yuqori harorat va bosimning qo'llanilishi bu usulning samaradorligini ta'minlaydi (1-jadval).

Bunday holatda barcha mikroorganizmlar vegetativ hujayralari va ularning sporalari nobud bo'ladi. Aniqlanishicha, ko'pgina mikroorganizmlarning sporalari harorati 121°C bo'lgan to'yingan bug'da 5 daqiqagacha chidaydi. Bunday sharoit mikroorganizmlarning hujayralari va sporalari o'limiga olib keladi. Bosim va o'tuvchi bug' yordamida sterilizatsiya avtoklavda amalga oshiriladi.

Turli bosimlardagi to'yingan bug'ning harorati (Tepper, 1993)

Bosim, atm	Harorat, °C
0,5	115
1,0	120
1,5	127
2,0	133

Avtoklav yuqori bosimga chidamli, ikki qavat metall qobiq bilan o'rangan va ichiga sterilizatsiya narsalar qo'yiladi kamerasi mavjud bo'lgan maxsus qurilma hisoblanadi. Sterilizatsiya narsalar uning ichiga juda zich qo'yilmasligi lozim, agar ularning orasidan bug' o'tmasa, yetarlicha harorat hosil bo'lmasdan, narsalar sterilizatsiya qolishi mumkin. Sterilizatsiya tugagandan so'ng, avtoklav ichidagi bosim tashqi muhit bosimiga tenglashgandan so'ng ochilishi mumkin. Avtoklavning jumragini tez ochilishi uning ichidagi bosimning tez pasayishiga va yuqori harorat ta'sirida qaynab turgan ozuqa muhitlarining tiqinlarni otilishiga va sterilizatsiya buzilishiga sabab bo'lishi mumkin.

Avtoklavda ishlashga maxsus tayyorlangan kishilargagina ruxsat beriladi!

Ozuqa muhitini sterilizatsiya tayyorlash. 3-5% li suyuqlikni avtoklavlashda bug'lanishni hisobga olgan holda, ozuqa muhitga taxminan 5% distillangan suv solish tavsiya etiladi. Shunda sterilizatsiya so'ng, ozuqa suyuqligi talab qilingan kontsentratsiyada bo'ladi. Odatda ozuqa muhitlari probirkalar, kolbalar va boshqa shisha idishlarda sterilizatsiya. Ozuqa muhiti bu idishlarga uning tiqini ho'l bo'lib qolmasligi uchun yarmigacha solinadi. Ozuqa muhitlari solingan idishlar pastdan tayyorlangan probirkalar va uning ustidan qog'oz qopqoq bilan yopiladi. Shisha, rezina boshqa materiallardan tayyorlangan probirkalar ikki qavat o'rama qog'oz bilan o'ralladi va og'zi yopiq idishga solingan holatda sterilizatsiya.

Avtoklavlash rejimini tanlash. Mikrobiologiya amaliyotida avtoklavlash 111-138°C da, 0,5 dan 2,5 atm bosimgacha amalga oshiriladi. 111°C dan past harorat ishonarli hisoblanmaydi; 138°C yuqori harorat avtoklavni boshqarishda xavfli hisoblanadi, chunki bug'ning bosimi qancha yuqori bo'lsa, uning harorati ham shuncha oshib boradi. Mikrobiologiya amaliyotida 0,5 va 1 atm bosimida sterilizatsiya.

Ozuqa muhiti avtoklavlash vaqtida va harorati uning tarkibidagi komponentlarning termostabiligi yoki termolabiligiga qarab belgilanadi. Sut yoki jelatina kabi tarkibida qand, vitaminlar tutuvchi tez buziluvchi (pivo suslosi, sharbatlar, achiq avtolizatsiya) substratlar 0,5 atmda 15-30 daqiqa davomida sterilizatsiya. Go'shli peptonli ozuqa muhitlar 1,0 atmda 20 daqiqa davomida sterilizatsiya. Turli poroshoklar (mas, talk), ba'zi suyuqliklarni (gliserin, vazelin yog'i) avtoklavda sterilizatsiya bir qadar murakkablik tug'diradi, shuning uchun ularni quritish shkalarda 160°C da 2 soat yoki 1 soat 170°C da sterilizatsiya talab etiladi. Bunday holatda idishdagi yog' yoki parashok qalinligi 1,5 smdan oshmasligi lozim. Avtoklavlashdan so'ng ozuqa muhitlarning sterilizatsiya tekshirish maqsadida 30°C da 2-3 sutka davomida termostatga qo'yiladi. Agar ozuqa muhitida mikroorganizmlarning o'sishi kuzatilsa, uni qaytadan tayyorlanadi.

Tendalizatsiya va pastizatsiya. Tendalizatsiya yoki ikki karta sterilizatsiya 1877-yilda Tindal tomonidan taklif qilingan. Bu usul 100°C dan yuqori haroratda buziladigan tarkibga ega bo'lgan ozuqa muhitlarini sterilizatsiya qo'llaniladi. Tendalizatsiya o'tuvchi bug' yordamida avtoklavda yoki Kox apparatida amalga oshiriladi. Ozuqa muhiti 10-15 daqiqa davomida bir necha marta qizdiriladi. Qizdirishlar orasida 30°C da 8-12 soat davomida termostatga sporalarning o'sishi uchun qo'yiladi. 100°C haroratga chidamsiz bo'lgan ozuqa muhitlar 60-80°C da har 8-12 soatda 4-5 kun davomida ketma-ket sterilizatsiya.

100°C dan past bo'lgan haroratda bir marta qizdirish pastizatsiya usuli deb ataladi. Bu usul Paster tomonidan taklif qilingan bo'lib, sporasiz mikroorganizmlarni yo'qotishga mo'ljallangan. Kuzatishicha, ko'pgina hollarda bu usul to'liq sterilizatsiya ta'minlay olmaydi. Pastizatsiya 60-80°C da 10-30 daqiqa davomida amalga oshiriladi.

Bu usul oziq-ovqat sanoatida sut, meva sharbatlarini, vino, pivo kabilarini sterilizatsiya qo'llaniladi.

Filtrlash yordamida sterilizatsiya. Filtrlash yordamida vitaminlar, aminokislotalar (sistein va sitrin), oqsillar, uglevodlar antibiotiklar kabi bir qator

yuqori haroratda tez parchalanuvchi va uchuvchi tarkibga ega bo'lgan oziq muhitlar hamda mikroorganizm kultural suyuqliklar sterilizatsiya. Suyuqliklar kichik porali materiallardan iborat bo'lgan filtrlar yordamida o'tkaziladi, mikroorganizm hujayralari esa oson adsorbsiyalanuvchi materiallar *asbest*, *selluloza*, *farfor*, *kaolin* va boshqalardan iborat bo'lgan filtrlardan o'tkaziladi.

Sterilizatsiya filtrlarning poralari nazariy jihatdan 0,20 mkm dan oshmaydi. Mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladigan filtrlar bu – membranali filtrlar bo'lib, ularning poralar o'lchamiga qarab turli sterilizatsiya va filtrlashda qo'llaniladi. Asbest va sellulozadan iborat bo'lgan disklar Zeyts filtrida ishlatiladi. Ularga poralar o'lchamiga ko'ra turli indekslar qo'yiladi.

Membranali filtrlar 1 atmda 15 daqiqa davomida yoki qaynatish orqali sterilizatsiya.

Shisha idishlarni sterilizatsiya. Laboratoriyada ishlatiladigan shisha idishlar issiq, quruq havo yordamida 180°C dan yuqori bo'lmagan haroratda 1-3 soat davomida sterilizatsiya. Bunday haroratda mikroorganizmlarning vegetativ hujayralari va sporalari nobud bo'ladi.

Sterilizatsiya avtomatik ravishda haroratni ushlab turuvchi maxsus sterilizatorlar yoki quritish shkaflarida amalga oshiriladi belgilangan haroratda amalga oshiriladi (2-jadval).

Sterilizatsiya shisha idishlar sterilizatsiya avval yaxshilab yuvilib, sterilizatsiya so'ng yana mikroorganizmlar bilan ifloslanmasligi uchun qog'oz bilan o'raltish shart. Undan so'ng, quritish shkaflarida sterilizatsiya idishlar tig'iz bo'lmagan holatda havo oqimi yaxshi aylanadigan holatda qilib joylashtiriladi.

2-jadval
Shisha idishlarni quruq issiq yordamida sterilizatsiya uchun zarur bo'lgan harorat

Harorat, °C	Vaqt, daqiqa
140	180
150	150
160	120
170	60

Sterilizatsiya so'ng quritish shkaflari ichidagi harorat 80°C tushguncha ochilmasligi lozim, aks holda shisha idishlarning darz ketishiga sabab bo'lishi mumkin.

Asbob-uskunalarni sterilizatsiya. Kichik metall asboblari – ilmoq, ignalar, pentsetlar, pichoq, shpatellar ishlatishdan oldin olov yordamida sterilizatsiya. Bundan tashqari buyum va qoplag'ich oynalar, shisha tayyoqchalar va shpatellar, chimni (forfor) hovoncha va stupkalar, kolbalar bo'yni, probirklar, butilkalar, shu bilan bir qatorda paxta tiqinlar kulturalarni ekish oldidan qisqa muddatli olovda kuydirib olinadi. Olovda mikroorganizmlarning vegetativ hujayralari va sporalari nobud bo'ladi.

Shpritslar quruq issiq yordamida 160°C da yig'ilgan holatda yoki yig'ilgan holatda sterilizatsiya. Bunda birinchi holatda sterilizatsiya vaqt 75 daqiqa, ikkinchi holatda esa 60 daqiqa davomida sterilizatsiya. Yig'ilgan shprits ignasi bilan probirka ichida, paxta probka bilan yopilgan holatda, yig'ilgan shprits esa qog'oz yoki lattaga o'rangan holatda avtoklavda 1 atm da 15-20 daqiqa davomida sterilizatsiya. Odatda ularni yig'ilgan holatda sterilizatsiya maqsadga muvofiq hisoblanadi, aks holda mikroorganizm bilan ifloslanishi mumkin.

Gazlar yordamida sterilizatsiya. Turli oynali quvimlar, optik va radioelektron quvimlar, shu bilan bir qatorda termolabil plastmassadan yasalgan, masalan tsentrifuga probirklari gazlar yordamida sterilizatsiya. Gazlar yordamida sterilizatsiya uchun sporotsid ta'sirga ega bo'lgan gazlar aralashmasidan foydalaniladi. Bularga: *etilen oksidi*, *metil bromid*, *propilen oksidi*, *formaldegid*, *glyuutaraldegid*, *beta-propiolakton*, *ozon* kabi moddalarni sanab o'tish mumkin. Gaz yordamida sterilizatsiya maxsus germetik idishlarda amalga oshiriladi. Sterilizatsiya buyumlar maxsus kameraga xuddi avtoklavda yoki quritish shkaflarida sterilizatsiya yopiq, o'rangan holatda joylashtiriladi. Gazlar yordamida sterilizatsiya jarayonida ularning zaharlilik darajasini e'tiborga olgan holatda ishlash zarur.

Nurlar yordamida sterilizatsiya. Binolarni sterilizatsiya, quvimlar, biq qator meditsina inshootlarini (operatsion xonalar), oziq-ovqat mahsulotlarini sterilizatsiya: infraqizil, ultrabinafsha, rentgen nuri, α -, β -, γ - kabi radiativ elementlar nurlaridan foydalaniladi. Ko'p hollarda mikrobiologiya amaliyotida ultrabinafsha nurlaridan foydalaniladi. Bu nurning ta'siri kuchi *bakr*larda o'lanadi. UB-nurning turli mikroorganizmlar uchun (spordan tashqari) ta'sir miqdori, 5 mkb/sm² ni tashkil etadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlatiladigan inkubatsion quvimlarga nimalar kiradi va ularning ishlash prinsipi qanday bo'ladi?
2. Qanday sovutgichlar ishlatiladi?
3. Sterilizatsiya qanday turlari mavjud?
4. Issiq sterilizatsiya va ularga mansub bo'lgan usullarni hisoblab bering.
5. Avtoklav yordamida sterilizatsiya qanday amalga oshiriladi?

2-bo'lim. Tuproq mikroorganizmlarini o'rganish uchun zarur bo'lgan ozuqa muhitlari

2.1. Ozuqa muhit tayyorlashning umumiy prinsiplari

Tuproqdan mikroorganizmlarini ajratish va ko'paytirish uchun ozuqa muhit ishlatiladi. Ular ozuqa elementlarining manbasi bo'lishi bilan bir qatorda mikroorganizmlarning hayot faoliyati uchun zarur bo'lgan kimyoviy va fizik sharoit hisoblanadi.

Ozuqa muhitlar o'z tarkibida turli komponentlarni qamrab olish bilan bir qatorda aniq o'lgan kontsentratsiyada bo'lishi lozim. Aholida komponentlarning nisbati bakteriya hujayrasi uchun zarur bo'lgan optimal kontsentratsiyada bo'lishi kerak. Agar u yoki bu birikma bir vaqtning o'zida uglerod va energiya manbasi hisoblanarsa, uning substratdagi miqdori energiya uchun va biosintez uchun sarflanadigan miqdorni qoplashi zarur.

Bugungi kunda bir qancha guruhga mansub mikrobiologik ozuqa muhit mavjud. Tarkibi jihatidan ular tabiiy, yarim sintetik va sintetik turlarga bo'linadi. Tadqiqot maqsadiga qarab esa elektiv va differentsial diagnostik ozuqa muhitlarga bo'linadi. Undan tashqari konsistentsiyasiga qarab suyuq va qattiq ozuqa muhitlarga bo'linadi.

Ozuqa muhit tayyorlashda yirik konussimon kolbalaridan foydalaniladi. Mikroorganizm ekmalarini inkubatsiyalashda yirik bo'lgan konussimon kolbada probirkalar yoki maxsus gorizontaal yotuvchi flakonlardan foydalaniladi. Qizdirilgan agarli ozuqa muhiti o'lgan voronkasi yordamida probirkalarga solinadi. Buning uchun laboratoriya shlativga 200 ml li voronka o'rnatiladi va uning quyi qismiga 10 sm li rezina va uning uchiga shisha uchlik o'rnatiladi.

Suyuq agarni probirkaga aniq quyish uchun rezina trubkaga o'rnatilgan klen qistirgichidan foydalaniladi.

Ozuqa muhit tayyorlash jarayonida korsatilgan quyidagi barcha tavsiyalarga qattiq amal qilish zarur:

➤ Toza holdagi kolba va probirkalardan foydalanish eng muhim talablardan hisoblanadi. Turli vositalar yoki kimyoviy aralashmalar bilan yuqtirilgan shisha idishlar dastlab vodoprovod suvi bilan so'ngra distillangan suv bilan chayiladi.

➤ Toza kimyoviy moddalardan foydalanish zarur. Ayniqsa mikroorganizmlarni ozuqa muhitida saqlash paytida va identifikatsiya qilish jarayonida imkon boricha analitik toza kimyoviy moddalarni ishlatish talab etiladi.

➤ Ozuqa muhit tayyorlashda, uning tarkibiy qismini aniq miqdorda qo'shish kerak. Katta miqdordagi moddalar texnik, kichik miqdordagi moddalar analitik tarozida o'lgan solinishi zarur. Agar zaruratga ko'ra qandaydir moddaning kichik miqdorini o'lgan shisha to'g'ri kelsa, uning o'ng yoki yuqori miqdori o'lganib zarur miqdordagi distillangan suvga eritiladi va kerak bo'lgan modda miqdori ozuqa muhitga pipetka yordamida solinadi.

➤ Aholida komponentlar ozuqa muhit retseptida keltirilgan ketma-ketlikda dastlabki to'liq erib bo'lgandan so'ng qo'shiladi. Agar agar suv kamayib qolgan bo'lsa, uning miqdori to'g'ri bo'lgan suv bilan to'ldiriladi.

➤ Ozuqa muhit tayyorlangandan so'ng tekshiriladi, zarur hollarda sterilizatsiya qilinadi.

➤ Sterillash vaqtida avtoklavning harorati va sterilizatsiya vaqti ko'rsatmaga qo'yiladi.

➤ Sterillash tugagandan so'ng ozuqa muhit pH ni tekshirish talab etiladi; ozuqa muhit pH ni to'g'rilash uchun odatda 0,1 M-li natriy gidroksid yoki sirtki kislota eritmasidan foydalaniladi.

➤ Tayyorlangan ozuqa muhit sterilizatsiya talab etiladi. Buning uchun tayyor bo'lgan ozuqa muhiti sterilizatsiya so'ng 28°C da 2-3 kun davomida kamayib qolgan bo'lsa, uning miqdori to'g'ri bo'lgan suv bilan to'ldiriladi.

➤ Ozuqa muhitlarni sovuq va quruq joyda saqlash talab etiladi;

➤ Probirkalarga quyilgan ozuqa muhitlarni 1-2 haftadan ortiq saqlash mumkin emas.

Mikroorganizmlarni ekish har doim yangi tayyorlangan ozuqa muhitida sodir bo'ladigan kerak.

So'ngi yillarda tayyor ozuqa muhitlar sotuvga chiqarilgan bo'lib, bu ishni o'zida yangilashuvchi va mikrobiologik tadqiqotlar metodlarini ta'minlash uchun yordam bermoqda.

2.2. Ozuqa muhitlari va ularni tayyorlash

Tuproq mikroorganizmlarini aniqlashda barchasi uchun universal holda tayyorlangan ozuqa muhiti mavjud emas. Shuning uchun turli ozuqa muhitlari tayyorlanadi. Ular orasida ko'proq go'shli pepton bulyoni (GPB), go'shli pepton agari (GPA), sutli, GPA va jelatinali, Eshbi va Getchinson ozuqa muhitlari tayyorlanadi. Organik azotni o'zlashtiradigan mikroorganizmlar GPA yordamida tayyorlanadi. Batafsil ko'rishdagi bakteriyalarni aniqlashda E.H. Mishustin agari yordamida tayyorlanadi. 1:1 nisbatda GPA + suslodan foydalanishni taklif qilgan. GPA yordamida tayyorlanadi, suslo-agar (pH 7,0) va 2% agar-agar qo'shiladi. GPA va suslo-agar ekish oldidan aralashtiriladi va chashkalarga quyib chiqiladi.

Go'shli pepton bulyoni (GPB) quyidagicha tayyorlanadi: yog'siz go'shni 100 g bo'lgan yordamida mayda kubikchalar qilib maydalanadi yoki bo'lmasa 100 g bo'lgan yordamida o'lganiladi. Tayyor bo'lgan farshdan 500 g olinib, 1 litr vodoprovod suvga aralashtiriladi va ekstraksiya bo'lishi uchun xona haroratiga 12 soat yoki termostata 30°C 6 soat, yoki 37-39°C 2 soat, 50°C da esa 1 soat qizdiriladi. Bu vaqt ichida go'shidan turli birikmalar, shu jumladan vitaminlar chiqadi. Undan so'ng maridan suzib olinadi va filtrat 30 daqiqada davomida qizdiriladi. Qolgan massani paxtali filtrdan suzib olinadi va suv yordamida yana 100 g bo'lgan yordamida o'lganiladi. Hosil bo'lgan go'shli suvga 1% pepton va 0,5% NaCl qo'shiladi. GPB - boy ozuqa muhiti hisoblanadi ammo, uning tarkibida deyarli

uglevod bo'lmaydi. Shuning uchun uning 100 ml ga 1-2 g uglevod qo'shibatirib, atm (120°C) da 20 daqiqa sterilizatsiya qilinadi.

Go'shltli pepton agarini (GPA) tayyorlash: 1 litr GPB niga 15-20 g agar qo'shib hosil qilinadi. Ozuqa muhiti agar erib ketguncha qaynatiladi 40°C gacha sovutiladi. Ozuqa muhitining 20%-li Na_2CO_3 yordamida pH ko'rsatkichi muhitga to'g'rilangandan so'ng, probirka va likobchalarga (10 ml) solinib, 100°C gacha qaynatiladi. Ozuqa muhit solingan idishlar 120°C da 20 daqiqacha davom ettiriladi.

Ekish oldidan belgilangan tuproq suspenziyasi (10^{-1} va 10^{-2}) 18 davomida 70°C da qizdiriladi. Olingan tuproq namunasini suyuqlashtirish xona haroratida quritish, batsilyar ko'rinishdagi bakteriyalarning ko'proq sonini beradi.

Mineral holdagi azotni o'zlashtirish qobiliyatiga ega
mikroorganizmlar, (shular qatori aktinomisetlar ham) kraxmal-aniqli
KAA) ozuqa muhiti yordamida, tarkibi (g/l): suyultirilgan kraxmal
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - 2$; $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 1$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 1$; $\text{NaCl} - 1$; $\text{CaCO}_3 - 1$
agar - 20. Kraxmal ozuqa muhiti oz miqdorda

Yuqoridagi ko'rsatilgan mikroorganizmlar guruhini ajratishda Chapot va nihitidan ham foydalanish mumkin. Tarkibi (g/l): glyukoza - 2,0; NaNO_3 - 2,0; K_2PO_4 - 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; KCl - 0,5; CaCO_3 - 3,0; agar-aur - 20,0.

Ma'lum guruh bakteriyalar va aktinomitsetlarning o'sishini inhibirlovchi vositalar sifatida qo'shiladigan moddalar ularning o'sishiga ta'sir etishi mumkin. Ammo, ozuqa muhitida kechadigan reaksiyani o'zgartiruvchi lozim moddalar (NaCNS) 0,25-0,4 mol/l, bengal qizili (70 mg/l) shu bilan bir qatorda antibiotiklar: streptomitsin (40-50 mg/l), tetratsiklin, oksitetrasiklin, ortetrasiklin (2-5 mg/l) shu bilan bir qatorda xloramfenitsetin (5 mg/l), neomitsin, lilmiks, baitsitrin (50 mg/l) qo'llanilishi mumkin.

Saprolegniaceae oilasiga mansub zamburug'larni ajratish uchun maresitin va endomisetin (5-10 mg/l) ishlatiladi. Yuqorida keltirilgan tibiotiklarning bir qanchasi bengal qizili bilan birgalikda ishlatiladi. Ushbu preparatlar yuqoridagi kasalliklarni davolashda yordam beradi. Ushbu preparatlar yuqoridagi kasalliklarni davolashda yordam beradi.

Chapek ozuqa muhiti bakteriyalar va aktinomitsetlar uchun: $KCl - 0,1$ gr; $CaSO_4 - 0,5$ gr; $K_2HPO_4 - 1$ gr; $FeSO_4 - 0,01$ gr; $NaNO_3 - 2$ gr; $CaCO_3 - 1$ gr; kukkoza yoki saxaroza - 20 gr; agar - 20 gr.

Zamburug'larni o'stirish uchun ishlatiladigan Chapek mahsulida tekula suv tutuvchi kaliy gidrofosfat shuncha miqdordagi tarkibida tekula suv bilan kaliy gidrofosfat bilan aralashtiriladi. Bo'r qo'shilmasi 4 mg/l miqdordagi konsentrlangan sut kislotasi qo'shiladi.

Chapek – Doksas muhiy zamburug' uchun qo'llaniladi. Chapek moddasi xibiga quyidagi o'zgarishlar kiritiladi: saxaroza 20 gr emas 30 gr, nativiy modda 10 gr emas 3 gr solinadi. Oligantirofil mikroorganizmlar uchun esa uddali moddalar.

14

1 gr. K₂CO₃ - 1 gr, sukroza - 20 gr, agar - 20 gr.

Ushbu ma'lumotlar va baholaryalar uchun kraxmal ammiakli agar quyidagi tarkibda bo'lgan: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - 2,0$ gr, $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 1,0$ gr, $\text{MgSO}_4 - 1,0$ gr, $\text{NaCl} - 2,0$ gr, $\text{H}_2\text{O} - 1,0$ gr, kraxmal (eritilgan) - 10 gr, agar - 20 gr. Kraxmal dastlab 20°C haroratda qaynatiladi, keyin boshqa ozuqqa solinadi.

2019 yil 10 oktabr kuni (Zamburug'lar va achitqilarni ajratish uchun)

[illegible]

Ukuran ini akan sangat membantu dalam menentukan jumlah air yang dibutuhkan untuk menanam tanaman.

Zardana lar va achitqilarni tuproqdan ajratish uchun susloga 4 ml sut
va qattiq bakteritsidlar o'zlashini to'xtatuvchi boshqa moddalar qo'shiladi.

Nimchala (kambag'al) agar

1 litr tarkibid maviga 2% agar solinib, 120°C da 20 daqiqa davomida qaynatiladi. Aynan holda agar birlamchi tozalanadi.

Lokid-tuproq ekstrakti

1. *Journal of the American Medical Association*, 1997; 277: 1001-1005.

1999

[illegible]

...da un clacajun clacajun...

3 ml li elakdan o'tkazilgan tuproq ekstrakti kuchli o'g'itilgan va 30 avstoklavda sterilizatsiya qilinadi. Issiq suspenziyani chiqarib tashlashdan oldin 30 avstoklavda sterilizatsiya qilinadi.

Euproqli agar

Qadimgi davlarda quritilgan tuproq o'simlik qoldiqlari va boshqa
hujayralardan tuzalanadi, hovonchada maydalaniladi va 1 mm li elakdan
o'tkazib, maydalangan tuproqni kolbaga solib, ustidan tuproqqa nisbatan 1:5

yoki 1:9 nisbatda distillangan suv solinadi. Sterillash avtoklavda 120°C da davomida amalga oshiriladi. Ayrim hollarda 1-2 sutka davomida bir necha sterillash amalga oshirilishi mumkin. Ozuqa muhit yaxshilab aralashganda so'ng Petri likopchalarga quyilishi mumkin. Likopchaga ozuqa muhit zararlari bilan tushishi zarur. Bu ozuqa muhitiga mikroorganizmlarni yuqori uslubida ekladadi. Ozuqa muhit tayyorlashda unumdor ozuqlarga bir necha tuproqlari, torf, qora va boshqa xil tuproqlardan foydalanish zarur. hollarda mikroorganizmlarni ma'lum bir tuproqdan ajratish uchun tuproqdan ozuqa muhiti tayyorlanadi.

Vaksman pepton-dekstranli agari (zamburug'lar uchun)

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 - 1.0 \text{ gr}$$
$$\text{MgSO}_4 - 0,5 \text{ gr}$$

Glyukoza - 10,0 gr

Pepton - 5,0 gr

Agar - 20,0 gr

pH-6,8

Glyukoza – kartoshkali muhit (zamburug‘lar uchun)

Glyukoza - 20 gr

Kartoshka qaynatmasi – 300 ml

Agar - 15 gr

(Barcha qiymatlar 1 litr suvda amalga oshiriladi)

Kartoshka qaynatmasi, 300 gr kartoshkani 1 litr suvga solib 30-40 daqiqada qaynatib, yana uning miqdorini 1 litrga yetkazish orqali foydalanish.

2.3. Ekish materiali va idishlarni mikrobiologik tahlil uchun tayyorlash

Co'pgina hollarda tuproq mikroorganlarini o'rganish va ularning faolligini oshirish uchun ularni tuproqqa qo'yiladi. Bunday usul bitta usul bir qator taqbiq mikroorganizmlari: bakteriyalar, aktinomitsetlar, zamburug'lar va o'simlik aniqqlashda qo'llaniladi. Ozuqa muhiti tagiga yoki qatlamiga ekish kam hollarda ishlatiladi. Zamburug'larni aniqqlashda ozuqa muhit orasiga ekishdan foydalaniladi. Bunday holatda 1 ml tuproq suspenziyasi likobchaga solinganda qotmagan agarga solib aylantiriladi va uning bir tekisda qotishi uchun tekis yuzasiga qo'yiladi. Bunday usul shpatel yordamida tuproq suspenziyasini ozuqa muhit yuzasiga surish vaqtida mitselliyning maydalanib, chashka yuzasiga tarqalib qolishi bilan bog'liq. Bunday holatda mitselliyni qotirib qolishi oldini oladi. Ayrim hollarda bu usul bakteriyalarni aniqqlashda ham qo'llaniladi.

Har bir tuproq namunasini ekish uchun quyidagilarni tayyorlash kerak:

- 1) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 2) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 3) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 4) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 5) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 6) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 7) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 8) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 9) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 10) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 11) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 12) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 13) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 14) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 15) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 16) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 17) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 18) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 19) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 20) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 21) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 22) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 23) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 24) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 25) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 26) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 27) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 28) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 29) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 30) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 31) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 32) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 33) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 34) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 35) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 36) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 37) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 38) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 39) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 40) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 41) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 42) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 43) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 44) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 45) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 46) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 47) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 48) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 49) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 50) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 51) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 52) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 53) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 54) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 55) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 56) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 57) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 58) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 59) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 60) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 61) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 62) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 63) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 64) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 65) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 66) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 67) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 68) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 69) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 70) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 71) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 72) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 73) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 74) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 75) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 76) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 77) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 78) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 79) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 80) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 81) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 82) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 83) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 84) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 85) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 86) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 87) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 88) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 89) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 90) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 91) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 92) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 93) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 94) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 95) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 96) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 97) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 98) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 99) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);
- 100) 100 ml steril suyuqlik (0,1% NaCl erigisi);

Har bir tuproq namunasini ekish uchun quyidagilarni tayyorlash etiladi:

1. 100 ml sterilangan vodoprovod suvi solingan 250 ml li yumaloq Erlenmeyer kolba;

2. Agar tuproqni ezib suspenziya tayyorlash zarur bo'lganda, yuqoridagidek suvsiz, sterilangan kolba;

3. Tuproqni ezish (maydalash) uchun hovoncha;

16

Ushbu qurilmalar o'zining yuqori ishlash sur'ati va o'zining yuqori ishlash sur'ati bilan bog'liq holda olinadi.

1 ml li pipetkalar soni ham quyulirish darajasiga ega bo'lishi. Har bir quyulirish darajasi uchun yangi pipetka talab qilinadi. Ushbu darajalar Pipetka ishlatilganidan keyin quyulirish darajasiga solish uchun ham yangi pipetkalar olish kerakki, pipetkadagi 1 ml litr odatda bu jihatidan pipetkalar farq bo'lmaydi.

... va bir xil ozuqa muhit
... ishlatiladi.

Har bir namunadan tayyorlangan suyuultirish uchun 3-5 tadan ikopchasi. Ayrim hollarda 2 ta ikopcha mavjud bo'lgan holda, bunday vaqtda hisoblash amalg'a oshiriladi.

...kollablar

Petri likopchasiaga suv hammomida eritilgan agarli ozuqa
likopchaga 20-30 ml quyiladi. Ozuqa muhitlar odatda katta
likopchaga quyiladi. Shuni esda saqlash kerakki, likopchalar
va bir xil diametrida, tekis tagli bo'lishi zarur. Ozuqa muhitini
qolindagi barchasiga bir xil miqdorda solinishiga e'tibor
bo'lgan holda aniq o'lchangan ozuqa muhitlar probirkalarga
likopchalar sterilizatsiya va Petri likopchasi solinadi, bu usul
likopchadagi ozuqa muhit miqdori standartiga mos holda solingan
muhitning likopchalar tekis, qat'iy gorizontal yuzaga
muhit bir xil qalinlikda qotishi maqsadga

[illegible]

Ushbu amaliyotni muvaffaqiyatli olib borish uchun zarur bo'lgan qadrlar qat'iyat bilan olinishi zarur. Ozuqa muhitini ta'minlash uchun zarur bo'lgan qadrlar qat'iyat bilan olinishi zarur. Ozuqa muhitini ta'minlash uchun zarur bo'lgan qadrlar qat'iyat bilan olinishi zarur.

[illegible]

TOSHKENT VILOYATI CHIRCHIQ

17

AXBOROT RESURS MARKAZI

ELİMİN MARKAZI

So'ngra sterilangan pipetka yordamida undan 1 ml olinib, 9 ml sterilangan suv solingan probirkaga solinadi. Suspenziyani yangi pipetka yordamida yaxshilab aralashiriladi va undan 1 ml olinib keyingi probirkaga solinadi va xuddi yuqoridagidek aralashiriladi. Keyingi suyuqlashtirishlar ham xuddi shunday amalga oshiriladi. Zarur suyuqlashtirishlardan likopchaga ekish amalga oshiriladi. Buning uchun 1 tomchi suspenziya agarli ozuqa muhit yuzasiga surtib chiqiladi. Ekish amalga oshirilgan likopcha to'ng'irlik holatda termostatsga joylashtiriladi.

Odatda bakteriyalar soni 3 sutkadan so'ng hisoblanadi, aktinomitsetlar 7-15, 20 kunda zamburug'lar va achitqilar 5-7 sutkadan so'ng hisoblanadi. Agar mikroorganizmlar nimchala ozuqalarda, jumladan agarli suv, tuproq ekstrakti kabillarda ekilgan bo'lsa, 7-14 sutkada hisoblash amalga oshiriladi. Ma'lum bir guruh mikroorganizmlarning miqdori ko'rsatkichlari to'g'risida solishtirma ma'lumot olish uchun bir xil muddatlarda hisoblash ishlari amalga oshirish zarur. Shuni e'tiborga olish zarurki, uzoq muddat inkubatsiya vaqtida juda ko'p mikroorganizmlar koloniyasi o'sib chiqadi.

Likopchadagi koloniyalar soni odatda likopchani qora fonga to'ng'irlik holatda qo'yib sanaladi. Sanalgan koloniyalar o'rniga ruchka yoki mo'yqalam yordamida ikki marta sanalmasligi uchun nuqta qo'yiladi. Sanash qulay bo'lishi uchun likopchani osti qalam bilan qismlarga bo'linadi. Tiniq bo'lmagan muhitlarda esa sanash likopcha yuzasidan amalga oshiriladi.

2.4. Tuproq bo'lakchalari metodi

Agar tuproqda o'rganilayotgan guruh mikroorganizmlar oz miqdorda bo'lsa, ularni zarurat tug'ilganda boyitilgan kultura olmasdan tuproq bo'lakchalari agarli ozuqa muhiti yuzasiga qo'yish orqali ajratish mumkin. Odatda 0,5-0,10 gr tuproq olinib, pastasimon holatga kelguncha suv solib aralashiriladi va uni agar yuzasiga parallel holatda qo'yib chiqiladi. Albatta bir nechta parallel likopchalarga ekishni amalga oshirish zarur. Tuproq bo'lakchalari bir tekis va oson qo'yish uchun likopcha orqasiga trafaret qo'yish ishini osonlashtiradi. Albatta ekish bir nechta parallel likopchalarga amalga oshirish lozim.

Mikroorganizmlar o'sgandan keyin ma'lum guruh mikroorganizmlar o'sgan tuproq bo'laklarning foizi hisoblab topiladi, bu mikroorganizmlarni chuqurroq o'rganish zarurati tug'ilganda yoki ularning toza kultureni olish uchun tuproq bo'lakchalari atrofidan mikroorganizmlarni olish mumkin. Bu usulda tuproqdan azotabakter, nitrifikatorlar, tselluloza parchalovchi mikroorganizmlar, zamburug'lar, lipomyces avlodiga mansub achitqilarni ajratish, sonini aniqlash, shu bilan bir qatorda unumsiz tuproqlardan, masalan qumdan bakteriyalarni aniqlash kabilarida qo'llaniladi.

Azotobakterni aniqlashda tuproq bo'lakchalari mikroorganizmlar yaxshi o'sadigan Eshbi yoki boshqa ozuqa muhiti yuzasiga ekiladi. Buning uchun 100 mg tuproq pastasimon holatga kelguncha suyuqlashtiriladi va bakteriyalogik ilmoq yordamida ikkita petri likopchasi yuzasiga qo'yib chiqiladi va har bir likopchadan 50 tadan bo'lakka to'g'ri kelgani maqsadga muvofiq hisoblanadi. Tuproqdan lipomitsetlar miqdori ham xuddi shunday saxaroza solingan Eshbi muhiti ga ekish orqali aniqlanadi. Ekishdan so'ng likopchalar 26-28°C ga nam kameraga

joylashtiriladi. Azotobakterni hisoblash 6-10 sutkada, lipomitsetlar 15-20 sutkada amalga oshiriladi.

Selluloza parchalovchi mikroorganizmlarni o'rganishda kremniy kislotali gel yoki boyitilmagan agardan foydalaniladi. Keyingi ozuqa muhiti 1,5-20%-li agar solingan distillangan suvdan iborat bo'ladi, buning uchun agar yuzasiga aylana qilib qirg'ilgan va yaxshilab yuvilgan hamda Vinogradskiy yoki Getchinson muhiti ga namlangan filtr qog'oz qo'yiladi. Uning ustidan 25 ta tuproq bo'lakchalari qo'yib chiqiladi. Likopchalar 25-30°C da nam kameraga joylashtiriladi va mikroorganizmlarning o'sishi kuzatib boriladi. Mikroorganizmlar o'sgan tuproq bo'lakchalari soni sanalib unda o'sgan mikroorganizmlar xarakteri aniqlanadi.

Getchinson va Kleyton muhiti

KH_2PO_4 – 1,0 gr	
CaCl_2 – 0,1 gr	
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,3 gr	
NaCl – 0,1 gr	1 litr distillangan suv
FeCl_2 – 0,01 gr	
NaNO_3 – 2,5 gr	

Vinogradskiy muhiti

KH_2PO_4 – 1,0 gr	
MgSO_4 – 0,5 gr	
NaCl – 0,5 gr	200 ml distillangan suv
FeSO_4 – 0,01 gr	
MnSO_4 – 0,01 gr	

Petri likopchasi qo'yilgan agar geli yuzasidagi 10 sm li diametrga ega bo'lgan filtr qog'ozni namlash uchun quyidagilar aralashiriladi.

Konsentrlangan tuzlar eritmasi – 2,0 ml

CaCO_3 – 0,02 gr

KNO_3 – 0,036 gr

Distillangan suv – 10 ml

Kaliy yodid KJ 2%-li – 6 tomchi pH-7,2

O'z-o'zini nazorat qilish uchun savollar:

1. Go'shtli pepton bulyoni qanday tayyorlanadi?
2. Go'shtli pepton agari qanday tayyorlanadi?
3. Getchinson va Kleyton ozuqa muhiti va uning tarkibi nimalardan iborat?
4. Tuproq namunasini mikrobiologik tahlil uchun tayyorlashda qanday ishlar amalga oshiriladi?
5. Tuproq bo'lakchalari usuli qanday amalga oshiradi?

3-bo'lim. Tuproq mikroorganizmlarining mikroskopik tahlili

3.1. To'g'ridan-to'g'ri mikroskopiya usuli yordamida tuproq mikroorganizmlarini o'rganish va hisoblash

To'g'ridan to'g'ri mikroskopiya usuli yordamida tuproqda mavjud mikroorganizmlarni kuzatish mumkin. Bu tuproqning umumiy biologik aktivligini aniqlashda muhim ahamiyat kasb etadi. Shu bilan birga tuproqda mikroorganizmlarning rivojlanishini ko'rish imkonini beradi, bundan tashqari tuproq mikroorganizmlarining senozlarini ko'rish, tuproqdagi mikroorganizmlarning o'zaro munosabatlarini aniqlash, masalan, mikroorganizmlar orasidagi antagonistik munosabatini, tuproqda mikroorganizmlarning antibiotik hosil qilishini isbotlash uchun muhim hisoblanadi. Bu usullar tuproqda mikroorganizmlar tarqalgan mikro'choqlarini ochib beradi va shu bilan bir qatorda biologik aktiv moddalarning ta'sir xarakterini tushunishga yordam beradi. N.A.Krasilnikovning ko'rsatishicha, biologik aktiv moddalar, jumladan, antibiotiklar tabiiy sharoitda tuproqning barcha qismini ta'minlay olmaydi, ammo mikroob-antagonist joylashgan mikro'choqlarga va begona mikroflora vakillarini kirishiga yo'l qo'ymaydigan sharoitni yuzaga keltirishga ta'sir etadi. Ko'p hollarda mikolitik bakteriyalar va zamburug'lar orasida antagonizm hodisasini kuzatish mumkin. Bu usullar tuproqqa sun'iy holatda produktentlarning biologik aktiv moddalar (masalan, azotobakter va boshq.) solinganda ularning rivojlanishini o'rganish imkonini beradi. Bundan tashqari sun'iy holatda tuproqqa solingan fiziologik faol moddalar, masalan, antibiotiklarning tuproq mikroflorasiga ta'siri hamda bunday moddalar ta'sirida mikroflorada ro'y beradigan o'zgarishlarni kuzatish mumkin.

3.2. Vinogradskiy usuli

Tuproq suspenziyasini bo'yalmagan holatda mikroskopik yo'l bilan o'rganilganda unda ko'p bo'lmagan hujayralar asosan tayochasimonlar, kam holatda zamburug' g'ifalari va aktinomitsetlar aniqlik ko'rinadi. Ko'p hollarda mikroorganizm hujayralarining tuproq zarasidan farqlash juda qiyin, hujayralar zarachalariga adsorbttsiyalangan holatda yoki o'ziga kichik tuproq jihatdan kokksimon hujayralarga o'xshash bo'ladi.

To'g'ridan to'g'ri mikroskopiya usulini qo'llash X.Kann va S.N.Vinogradskiy tomonidan tuproq suspenziyasini kislotali bo'yloqlar bilan bo'yash taklif etilgandan so'ngina mumkin bo'ldi. Bu bo'yloqlar mikroorganizm hujayralarini juda yaxshi bo'yaydi va tuproq zaralarini esa kuchsiz bo'yaydi. To'g'ridan to'g'ri mikroskopiya usuli shuni ko'rsatadiki, tuproq qattiq agarli muhit yordamida aniqlashdan ko'ra yuzlab yoki minglab marta ko'proq mikroorganizmlarni o'zida saqlar ekan.

O. G. Shulgina modifikatsiyasi. Mikroorganizmlar sonini aniqlashda odatda Vinogradskiy usulining O.G.Shulgina taklif etgan modifikatsiyasidan foydalaniladi. Buning uchun maydonning turli nuqtalaridan olingan 5 gr tuproq 50 ml distillangan suv solingan 250 ml li Erlenmeyer kolbasiga solinadi. Suspenziya

tayyorlashdan oldin xuddi oldingi ishlar kabi tuproq chinni xovonchaga ozroq miqdordagi suv bilan yaxshilab eziladi va probirkaga solinadi. Suyultirish uchun olingan suv ham mikroorganizm hujayralaridan holi bo'lishi lozim. Shundan so'ng, uni kolbaga solib 5 daqiqa davomida yaxshilab aralashiriladi va 1-2 sekund davomida tindiriladi. Tindirish natijasida yirik tuproq zararlari cho'kkanidan so'ng, pipetka yordamida toza, yog'sizlantirilgan buyum oynasi yuzasiga bir tomchi (0,01 ml) tuproq suspenziyasi tomiziladi. Shuni e'tiborga olish zarurki, pipetkada hujayralar cho'kib to'planmasligi zarur, shuning uchun jarayon juda tez bajarilishi kerak. Pipetkadan tomish boshlanganda uni gorizontal holatda tutish talab etiladi. Tomchi bilan bir vaqtda buyum oynasi yuzasiga bir tomchi 0,1%-li agar-agar (distillangan suvda eritilgan) tomiziladi. Agar-agar va tuproq suspenziyasi steril qoplag'ich oyna yordamida buyum oynasi yuzasiga taxminan o'Ichami 4-8 sm bo'lgan to'g'ri to'rtburchak maydonga yoyiladi. To'rtburchakning eni buyum oynasi eniga moslab olinadi. Tajribalar uchun yaxshilab tozalangan va yog'sizlantirilgan oynalar olinadi.

Preparat olovda yoki havoda quritiladi, 96% li spirt yordamida fiksirlanadi va karbolli eritrozin (5 gr dan karbol kislotasi va eritrozin 100 ml suvda eritiladi) yordamida bo'yaladi. Bo'yash bo'yloqning sifatiga bog'liq ravishda 30 sekunddan bir sutkagacha amalga oshirilishi mumkin. Shuni e'tiborga olish zarurki, bo'yash vaqtida preparat qurimasligi lozim, shuning uchun uni odatda taglikka qo'yilgan holda eksikator yoki kristallizatorga joylashtiriladi, yoki buyum oynasi bo'yloq solingan ingichka stakanga solinadi. Bo'yloq preparatni 4-5 marta suvli stakanga ketma-ket botirib olish yordamida yuvib tashlanadi. Preparat quritiladi va 90x immersion obyektivda ko'rib, hujayralar soni hisoblanadi. Bunda mikroskopda ishlash qoidalariga qat'iy ravishda amal qilish talab etiladi.

Yu.I.Sorokin yaqqol ko'rinish namoyoni bo'lishi uchun eritrozin yuvilgandan so'ng, 100-200 marta suyultirilgan karbolli fuksin bilan preparatni bug' hosil bo'lguncha qizdirishni taklif etadi. Bu usulda mikroorganizmlarni aniqlash uchun 5 tadan kam bo'lmagan buyum oynasiga preparat tayyorlanishi zarur. Barcha preparatlarda aniqlangan mikroorganizmlar hujayrasi soni umumlashiriladi va 1 gr havoda quritilgan yoki absolyut quruq tuproqdagi hujayralar soni belgilangan formula yordamida hisoblab topiladi.

Aniq ma'lumotlar olish uchun bitta buyum oynasidan kamida o'nta ko'rish maydoni o'rganib chiqiladi. Ko'rib turgan maydon $p = \pi r^2$ ($\pi = 3,14$) formula yordamida aniqlanadi. Masalan, Petri likopchasining maydoni quyidagicha hisoblab topiladi: $p = 3,14 \times 5^2 = 78,6$ sm. Ko'rish maydonining diametri obyektiv mikrometr yordamida aniqlanadi. Hisoblash quyidagi formula yordamida topiladi:

$$K = P/p$$

Formuladagi, K - ko'rish maydonining sonini, P - sirtma diametridi (agar 4 sm² bo'lsa 400 mm² bo'ladi), p - ko'rib turgan maydon diametridi anglatiladi.

Hisoblash bo'yicha namuna: Agar ko'rinish maydonining diametri 0,16 mm bo'lsa, ko'rinish maydoni 0,02 mm² ni tashkil qiladi, bunda ko'rinish maydonining soni quyidagicha hisoblab topiladi:

$$K = P/p = 400 \text{ mm}^2 / 0,02 \text{ mm}^2 = 20 \text{ 000 ta}$$

Ko'rish maydonidagi o'rta mikroorganizmlar soni ko'rish maydoni soniga ko'paytirilsa 0,01 ml suspenziyadagi mikroorganizmlar soni kelib chiqadi, 1 ml suspenziyadagi mikroorganizmlar soni esa 0,01 ml suspenziyadagi mikroorganizmlar sonini 100 ga ko'paytirish orqali aniqlanadi.

Mikroorganizmlar soni aniqlangandan so'ng, tuproqdagi mikroorganizmlar biomassasi miqdorini aniqlashga to'g'ri keldi. Buning uchun mikroorganizmlar hujayralarining shu tuproqda uchraydigan o'rta miqdorini mikroskop yordamida hujayra o'lchami o'rganilgandan so'ng aniqlanadi. Undan so'ng bir gram tuproqdagi hujayralar soni o'rta hujayralar hajmiga va ularning solishtirma og'irligiga ($d=1.10 \text{ gr/sm}^3$) ko'paytiriladi. Mikroorganizmlar biomassasi ga/t sifatida aniqlanadi.

3.3. Xolodniyning shisha yuzasida o'stirish usuli

Yuqorida keltirib o'tilgan usullarning birortasi ham tuproq mikroorganizmlarining tabiiy landshaftdagi tarqalishi haqidagi ma'lumotlarni olish imkonini bermaydi. Bu kamchilikni N.G.Xolodniy metodi to'ldiradi. Buning uchun tuproqqa inert (harakatsiz) yuza - oyna kiritiladi va unda tuproqning mikroorganizmlari tabiiy holdagiga yaqin holatda o'sadi. Shuni e'tiborga olish kerakki, oyna mikroorganizmlar uchun absolyut inert yuza vazifasini bajara olmaydi, shu bilan bir qatorda, oynani kiritish tuproqda sun'iy to'siqning hosil bo'lishiga hamda unda suyuqlik va havo tsirkulyatsiyasini o'zgartiradi. Tuproq mikroorganizmlari tuproq zarralarini o'rab turuvchi organo-mineral kolloid plyonkalarda yaxshi o'sadi. Shuning uchun oyna o'miga boshqa materiallarni ishlatish ustida izlanishlar olib borilmoqda, ammo hali to'liq o'z yechimini topgan yo'q.

Xolodniy metodi mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladigan qimmatli usullardan biri hisoblanadi. Uning yordamida tuproq mikrotsenzorlari haqidagi juda qiziqarli ma'lumotlar, yangi formalarning ochildishiga erishilgan.

Buyum oynasini tuproqqa bostirishdan oldin konsentrlangan sulfat kislotada tozalanadi va distillangan suvda yuviladi. Buning uchun tuproq yuzasida pichoq yordamida kesma hosil qilinadi va unga buyum oynasi vertikal (tik) ya'ni tuproq yuzasiga uzunasiga perpendikulyar holatda joylashtiriladi.

Ustidan tuproq bilan yopiladi, buyum oynasi butun tajriba davomida ochiq holda qolmasligi lozim. Chuqur qazish vaqtida dastlab pichoq vertikal holatda tuproqqa suqiladi va undan so'ng qarshi tomonga bosiladi.

Oyna vertikal devorga joylashtiriladi. Imkoni boricha tuproqning tabiiy zichligini saqlagan holatda, chuqurni ko'mish vaqtida ham shunday zichlikni saqlab qolish zarur. Oyna tuproq yuzasidan kamida 2-3 sm chuqurlikda ko'milishi zarur. Bunda bir nechta parallel oynalar ko'miladi. Oynalar ko'milgan joy

belgilab (metka) qo'yilishi zarur. Oyna tuproq sharoitini hisobga olgan holda bir necha kundan bir necha oy va undan ko'proq saqlanishi mumkin. Ujar kamida 2 muddatga qo'yiladi va har 3-4 kunda olimib, preparatdagi o'zgarishlar kuzatib boriladi.

Muddat tugagandan so'ng, oynaning orqa tomonidan chuqur qaziladi va oyna shu chuqurga tuproqdan ajratib tushiriladi. Oynani tuproqdan ajratishda uning tuproqdagi ishqalanishiga yo'l qo'yimaslik kerak. Oynaning ostki (orqasi) tomoni yaxshilab artiladi, yuqori tomoni esa havoda quritilib, gaz gorkelkasida fiksirlanadi. Fiksirlangan buyum oynasi yuqori qismini pastga qaragan holatda 1 daqiqada davomida suvli stakanga solib qo'yiladi. Bunda oynadan keyingi jarayonlarga halaqit beruvchi yirik tuproq bo'lakchalari tushib ketadi. Yuvishdan so'ng, preparat karbolli eritrozin yordamida 30 daqiqadan 24 soatgacha bo'yiladi. Bo'yoq to'kilgan oyna shisha bilan yopilgan kristallizator yoki boshqa nam kameraga qo'yiladi. Bo'yash jarayonida oyna qurib ketmasligi zarur. Preparatni o'rganish immersion apparatda amalga oshiriladi.

Nazorat savollari:

1. To'g'ridan-to'g'ri mikroskopiya usulining afzalligi nimada?
2. To'g'ridan to'g'ri mikroskopiya usulini qanday amalga oshiriladi?
3. Bu usulda mikroorganizm ekmasini bo'yashda qanday bo'yoqdan foydalaniladi?
4. Xolodniy usuli qanday usul?
5. Xolodniy usuli yordamida mikroorganizmlarni o'rganish qanday amalga oshiriladi?

4-bo'lim. Tuproqning mikrobiologik tahlili

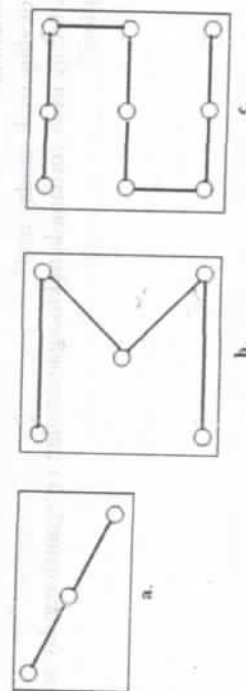
4.1. Tuproq namunasini olish va mikrobiologik tadqiqotlar uchun tayyorlash hamda ozuqa muhitiga ekish texnikasi

Tuproq namunasini olishda juda katta e'tibor berish kerak, chunki olinadigan natijalar tuproq namunasining qay darajada to'g'ri olinganligiga bog'liq. Ko'p hollarda beparvo tuproq namunasi olingan joy mikroorganizmlarning geografik tarqalishiga oid ma'lumotlarning xato bo'lishiga sabab bo'lishi mumkin.

Tuproq namunasini olishdan avval kundalikka tadqiqot rayoni tanlangan uchastka yoki tajriba maydonining relyefi, o'simliklar qoplamasi, agrotexnikasi va tuproqning tavsifi haqidagi ma'lumotlarni tuproqshunos mutaxassislardan foydalangan holda kiritish lozim.

Tuproqda mikroorganizmlar bir xil tarqalmagan bo'lib, ular mikro va makro o'choqlarda (manba) tarqalganligini e'tiborga olib, katta miqdordagi tuproq namunasini tahlil qilishni talab etadi. Variatsion-statistik uslublar har bir tekshiruvni bir necha qayta amalga oshirishni talab etadi.

Tuproq mikroorganizmlarni ko'paydigan qulay muhiti hisoblanadi. O'rtacha tuproq namunasi alohida olingan bir nechta tuproq namunalarni aralashtirish orqali hosil qilinadi va namuna olinadigan nuqtalar soni tekshirilayotgan maydonga bog'liq bo'ladi. Masalan, 100 m² maydonning uchta joyidan, 100 m² dan yuqori maydonning beshta joyidan, 1 ga maydonning 15 nuqtasidan namunalarni rasmda keltirilgandek olish tavsiya etiladi (5-rasm).



5-rasm. Tuproqdan namuna olish chizmasi (sxemasi): 1-diagonal; 2-konvert; 3-zigzag usulida

Tuproqning haydalma qatlamini o'rganishda, uning 2 sm yuza qatlamini olib tashlab, namunalarni genetik gorizontalarga binoan (pastdan yuqoriga qarab) haydalma qatlamning barcha qismidan olinadi.

Tuproq namunasi steril burg'u, belkurak yoki pichoq yordamida olinadi. Buning uchun namuna olishdan avval ular yaxshilab tozalangan so'ng, spirt surtilib yoqib sterilanadi va oldindan sterilab tayyorlangan yo'g'on bo'yinli og'zi qopqoq yordamida yopilgan, steril shisha banka yoki polietilen xaltachaga olinadi. Namuna olingan polietilen xaltacha yoki bankaga namuna olingan joy, gorizontal va boshqa ma'lumotlar yozilgan etiketka yopishtiriladi.

Tuproqni mikrobiologik tahlil qilish uchun quyidagi operatsiyalar amalga

oshirilishi zarur: 1) tuproq agregatlarini maydalash; 2) tuproq zarrasi yoki organomineral gel yuzasidan tuproq mikroorganizmlarini desorbtsiyalash; 3) mikroorganizmlar koloniyasini dezagregatsiyalash. Bularning barchasi bir-biriga yaqin va o'xshash usullar yordamida amalga oshiriladi. Tuproq namunalarga mexanik va kimyoviy usullar yordamida ishlov berish mumkin. Mexanik ishlov berish ularning ichidan eng samaralisi hisoblanadi. Shu bilan bir qatorda, istalmagan holda mikroorganizmlar ko'paytiriladigan ozuqa muhitiga kimyoviy moddalarning aralashtirishi kuzatiladi, imkon boricha kimyoviy moddalarni ishlatishdan cheklanish zarur.

Tuproq namunalari steril holatdagi pergament paketlar yoki paxta qopqoq bilan yopilgan shisha bankalarga olinadi. Paketlarga yoki bankalarning etiketkalariga oddiy qalam bilan namuna tartib raqamini, gorizontal va namuna olingan chuqurlik va namuna olingan sana yoziladi.

Namuna olingandan so'ng, imkon boricha tez muddatda mikrobiologik ekishni amalga oshirish zarur, yaxshisi shu kuni amalga oshirilgan maqsadga muvofiqdir. Agar namuna olinayotgan vaqtda tuproq ho'l bo'lsa va uzoq muddat saqlansa undagi mikroorganizmlar soni o'zgarishi mumkin. Ayniqsa tuproqning quyi gorizontalaridan olingan namunalarda soni juda tez ko'payadi.

Tez tekshirish imkoniyati mavjud bo'lmagan taqdirda tuproq namunasini quritib, keyinchalik tekshirishni amalga oshirish zarur. Shuni e'tiborga olish kerakki, quruq tuproqlarda mikroorganizmlar soni yangi olingan tuproqqa nisbatan sezilarli darajada kam bo'ladi, shu bilan bir qatorda alohida guruh mikroorganizmlar hujayrasi quritishda nobud bo'ladi. Agar namunani quritish zarur bo'lsa, uni namuna olingandan so'ng, qisqa muddatda 30°C dan past haroratda quritish zarur. Namunaning o'z holiga va sekin quritishi mikrofloraning kuchli o'zgarishiga sabab bo'lishi mumkin. Namlikning kamayishi namunada zamburug'larning kuchli rivojlanishiga sabab bo'ladi va bu guruh boshqalarning rivojlanishiga salbiy ta'sir ko'rsata boshlaydi. Agar nam tuproq namunalari probka bilan yopilgan shisha bankaga joylashtirilsa, qayta tiklanish jarayoni yaxshi rivojlanadi va mikroflora juda tez o'zgaradi.

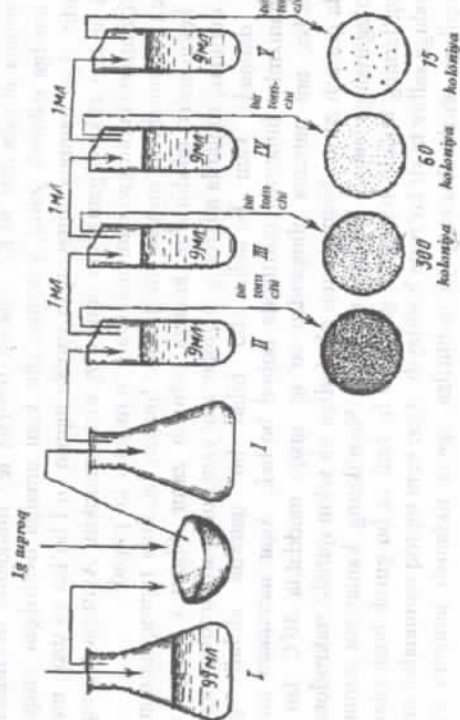
Quruq namunalarni steril bankalarda yoki pergament paketlarda gazlamadan (bo'z) tayyorlangan xaltachalarga joylashtirilgan holda saqlash zarur.

Ultratovush qurilmasi yo'q bo'lgan holatda (masalan, tuproqdan zamburug'larning toza preparatini olishda) tuproqni 5 daqiqa davomida pastasimon holatga kelguncha chinni xovonchada rezina mo'yqalam yoki rezina qo'lqop kiydirilgan barmoq yordamida ezib tayyorlanadi. Bundan tashqari tuproq suspensiyasini elektron meshalka yordamida (2 - 3 ming aylanishda 5 - 10 daq.) ishlov berish yaxshi samara beriladi. Yig'ilgan tuproq namunalari asosan birinchi sutkada tekshirishi zarur. Buning iloji bo'lmasa tuproq namunasini ikki kun davomida sovuq kamerada saqlash mumkin. Tuproq namunalarning o'rtacha bir xilligini ta'minlash uchun asseptika qoidalariga rioya qilgan holda u yaxshilab aralashtiriladi, o'simlik ildizlari va turli kiritmalardan tozalanadi.

4.2. Tuproq namunasini ozuqa muhitiga ekish texnikasi

Ekishdan oldin nam yoki quruq tuproq yaxshilab aralashtiriladi va spirt bilan ajratilgan oyna yuzasiga to'kib, ortiqcha narsalarni tozalab olinadi. Undan 1 g tuproq olinib, yuqorida keltirib o'tilgandek tayyorlanadi va 99 ml sterilangan vodoprovod suvi solingan kolbaga solinadi. Antiqlanishicha, 1 g tuproqni 0,4-0,8 ml suv bilan sterilangan chinni hovonchaga solib 5 daqiqa davomida rezina mo'yqalam yordamida 5 daqiqa davomida pastasimon holatga kelguncha aralashtirilsa mikroorganizmlarning ajralishi yaxshi bo'ladi.

Tuproq suspenziyasini tayyorlash uchun dastlabki 1 g tuproq namunasi solingan kolbadan 5 daqiqa davomida yaxshilab aralashtiriladi va 10 daqiqa davomida tindiriladi. Undan 1 ml olinib, 9 ml dan sterilangan vodoprovod suvi solingan probirkalarning birinchisiga solib aralashtiriladi, bu probirkadan 1 ml olinib keyingisiga solish orqali suyultirib boriladi (6-rasm).



6-rasm. Tuproq suspenziyasini tayyorlash

Qattiq ozuqa muhitiga ekish 1 : 10; 1 : 100; 1 : 1000 va boshqa suyulish darajalaridan o'rganilayotgan mikroorganizmlar guruhini, tuproq tipi va uning namlik darajasi kabilarga bog'liq ravishda amalga oshiriladi. Ozuqa muhitga ekishda bakteriya va aktinomisetlarning 50-200 tagacha, zamburug'larning 30-50 ta koloniyasi hosil bo'ladigan suyulish darajasidan 3-5 tagacha Petri likopchasiga ekish tavsiya etiladi.

Buning uchun pepetka yordamida 1 ml tuproq suspenziyasi olinadi va ozuqa muhiti quyilgan Petri likopchasiga tomiziladi va Dragilskiy shpateli yordamida teng miqdorda yoyib chiqiladi. Ekilgan likopchalarga tegishli ma'lumotlar yoziladi va to'ng'irilgan holatda 5-7 kun davomida termostatga joylanadi.

O'z-o'zini nazorat qilish uchun savollar:

1. Mikrobiologik tahlil qilish uchun tuproq namunasini olishning qanday usullari mavjud?
2. Ozuqa muhitiga ekish uchun tuproq namunasi qanday tayyorlanadi?
3. Seriyali suyultirish usuli yordamida qattiq ozuqa muhitiga mikroorganizmlarni ekish qanday analga oshirilishini izohlang.

5-bo'lim. Mikroorganizm kulturelarini saqlash

5.1. Umumiy qoidalar

Laboratoriya sharoitida u yoki bu mikroorganizmni o'stirish uning biokimyoviy xususiyatlari yoki hujayra va koloniya morfologiyasining o'zgarishiga olib kelishi mumkin. Bunday o'zgarishlarga aktinomitsentlar havo mitseliysi hosil bo'lishining to'xtatishi, bakteriyalar sellulozani parchalanishining yo'qolishi, atmosfera azotini o'zlashtirishning sustlashishi yoki batamom to'xtashi kabilarni keltirish mumkin. Bunga o'xshash o'zgarishlarning ortishi juda zich holda ekish amalga oshirilganda, ozuqa muhit tarkibi o'zgariganda, yoritilish sharoitiga, namlik va harorat o'zgariganda vujudga kelishi mumkin. Maxsus adabiyotlarda mikrobiologik kulturalarni to'g'ri saqlash usullari keltirilgan. Ulardan eng asosiy lari o'stirilayotgan mikroorganizmning hayotiy jarayonlarini minimum darajaga saqlashga asoslangan.

Bundan kelib chiqib, shunga harakat qilish lozimki, shtamlarni kamdan kam o'tkaziladigan ekishni bir xil vaqt o'tkazib va har doim tarkibi bir xil bo'lgan ozuqa muhitida amalga oshirish lozim.

O'sgan kultura sovuq, quruq shkaftga yoki 5°C da sovutgichga saqlash talab etiladi.

5.2. Mikroorganizmlarni tuproqda saqlash

Zamburug'lar, aktinomitsentlar va bir qator spora hosil qiluvchi bakteriyalar kabi mikroorganizmlarni quritilgan holatda sterilizatsiya yoki kvarts qumda saqlash mumkin. Buning uchun probirkaga 10-15 gr havoda quritilgan va yaxshilab maydalangan tuproq yoki kvartsli qum (chaqmoqtosh) solinib 1,5-2 soat davomida avtoklavda 1,5-2 bosimda sterilizatsiya qilinadi. Yuqori bosimda uzoq muddat sterilizatsiya qilish tuproq bilan ishlashda muhim hisoblanadi, chunki uning tarkibida yuqori haroratga chidamli bo'lgan bakteriyalar sporalari bo'ladi.

Sterillash vaqtida tuproqda bakteriyalar kulturelariga salbiy ta'sir ko'rsatuvchi zaharli moddalar hosil bo'lmayligiga e'tibor berish zarur.

Ekish uchun mo'ljallangan mikroorganizm hujayralari yoki sporasi ilmoq yordamida sterilizatsiya va quritilgan tuproq yoki qumga o'tkaziladi. Probirka sovuq va quruq joyda saqlanadi. Kulturalarni qayta olish uchun probirkadagi material ozuqa muhit qatlamiga yoki tuprog'iga (qumi) bilan qiyshiq agarga ekiladi.

5.3. Liofilizatsiya

Mikroorganizmlarni saqlashning eng qulay usullaridan biri bu - liofilizatsiya (muzlatilgan holda quritish) hisoblanadi. Bu yo'nalishda o'tkazilgan tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, saqlangan ko'pgina mikroorganizmlar muzlatilgan va quritilgan holatda hech qanday o'zgarishsiz saqlanganligi ma'lum bo'ldi. Mikroorganizmlarni liofilizatsiya usulida saqlashning quyidagi qulayliklarini sanab o'tish mumkin:

- tez-tez amalga oshiriladigan ekish vaqtida kulturening ifloslanishi va nobud bo'lishidan ozod bo'ladi;

- liofilizatsiya qilish uchun 24 soat davomida o'sgan mikroorganizmlar kulturelarini xususiyatlarini saqlab qoladi;

Liofilizatsiya qilish uchun 24 soat davomida o'sgan mikroorganizmlar kulturelarini xususiyatlarini saqlab qoladi.

Liofilizatsiya qilish uchun 24 soat davomida o'sgan mikroorganizmlar kulturelarini xususiyatlarini saqlab qoladi. Sekin o'suvchi mikroorganizmlarning (xususan aktinomitsentlar) 5-10 kunli eng to'liq shakllangan kulturelarini (xususan Kulturalarni ampulaga yoki probirkaga (yuqori) solish uchun kolloid himoya eritmadan foydalaniladi. Bu eritmani muzlatish va quritish vaqtida kulturalarni yo'qolishidan saqlaydi. Kultura uchun himoya kolloid eritmasi sifatida sterilizatsiya qilingan va inaktivatsiya qilingan qon zarbidan foydalanish mumkin. Har ikkalasini qo'llash bir xil samara beradi. Har bir probirkaga 1 ml himoya kolloid eritmasi solinadi va bakteriya hujayralari agar yuzasidan yuvib olinadi. Olingan quyuvq emulsiyadan 0,1 - 0,2 ml pipetka yordamida sterilizatsiya qilingan ampulaga solinadi va probirka bilan yopiladi.

Liofil quritish uchun turli kontsentratsiyali ekmalar qo'llaniladi, ammo uning ta'sir mexanizmi o'zgarib qoladi. Liofilizatsiya bakteriyalar sentrifugalash jarayonida muzlatiladi, bunday holatda ular ampula devori bo'ylab tarqaladi va soviydi. Kuchli vakuum holatida muz erimasidan qoladi. Preparatni kuzatish darajasi quritish vaqtida vakuum kuchiga proporsional bo'ladi.

Undan so'ng, vakuum sharoitida ampulalar yopiladi, germetikligi tekshiriladi va 5°C da saqlanadi. Preparat sifati mahkamlangan vakuum kuchi bilan belgilanadi.

5.4. Zamburug'larni suyuq azotda saqlash

Zamburug' kulturelarini sterilizatsiya qilingan 10% li glitsin eritmasida eritiladi va 0,5 ml dan suspensiya olinib ampulaga solinadi hamda og'zi eritilib yopiladi. Sifatini tekshirish uchun 30 daqiqa davomida ampula bo'yoq eritmasiga solib qo'yiladi, tekshiriladi va ularning ichiga bo'yoq kirgani yaroqsiz sifatida yo'qotiladi. Yaxshi kavsharlangan ampulalar quritiladi, metal shtativga joylashtiriladi va bir soat davomida suyuq azot solingan idishning (harorat 35°C bo'lgan) ochiq joyda ushlab turiladi. Dastlabki muzlatishdan so'ng, ampulalar vertikal joylashtirilgan ampula suyuq azotga botiriladi (-196°C).

Zarur hollarda ampulalar suyuq azotdan olinib darhol 30°C haroratda bo'lgan suv hammomiga o'tkaziladi.

Suyuq azot solingan idish ichki qavatli devori mavjud bo'lgan temir idish bo'ladi. Teploizolyatsiya qilish uchun ular orasidagi havo so'rib olinib, vakuum hosil qilingan, yuqori tomondan idish juda qalin va sintetik materialdan yasalgan qopqoq bilan yopilgan bo'ladi. Bunday muzlatgichlarda haftasiga bir marotaba suyuq azot solinadi va solingan azot bilan ushlaganda xavfsizlik qoidalariga qat'iya rioya etish talab etiladi. Azbest qo'lqoplar va ampulani ochishda yuzga himoyasiz ishlash taqiqlanadi.

Bu usul zamburug'lar va aktinomitsentlar ekmalarini saqlash imkonini beradi. Uning afzalligi shundaki, u zamburug' kulturelarini morfologik o'zgarishsiz

saqlaydi. Ekish uchun mo'ljallangan mikroorganizm hujayrasi yoki sporasi ilmoq yordamida sterilizatsiya va quritilgan tuproq yoki qumga o'tkaziladi. Probirka sovuq va quruq joyda saqlanadi. Ekmani qayta olish uchun probirkadagi material ozuqa muhit qatlamiga yoki tuproq'ni (qumi) bilan qiyshiq agarga ekiladi.

5.5.

Zamburug' kulturasini selikageldda saqlash

Yog' sizlantirilgan sut poroshogi (50 gr) 1000 ml distillangan suvga eritiladi va 2 ml dan probirkalarga solinadi. Ularni paxta tiqin yordamida yopilgandan so'ng, 1 atm. da 10 daqiqa davomida sterilizatsiya va ishlatilguncha muzlatgichda saqlanadi.

Ekmlar uchun mo'ljallangan, qopqoq yordamida germetik yopiladigan idishning 1/4 qismigacha indikatorsiz selikagel (6-22 mesh, "Xopkins va Uilyams" katalogi bo'yicha №7553 tartib raqamli) bilan to'latiladi. Bir yarim soat davomida selikagel 180°C da quruq issiq yordamida sterilizatsiya, undan so'ng, idish 37°C da quruq joyda saqlanadi.

Agarda saqlanish vaqtida gel suv bilan namlangan, uni yana qayta quritiladi. Sterillangan gel solingan idish taglikka (patnisga) qo'yiladi va qopqog'iga yetmagan joyigacha suvga botiriladi. So'ngra tagliklar muzlatgich xonaga o'tkaziladi va natijada suv muzlaydi.

Zamburug'lar va aktinomitsetlarning kulturalari shu bilan bir qatorda sterilizatsiya sut solingan probirkalar bir kechaga termostatga, 4°C ga qo'yiladi. Bunday taxminiy sovutishning zarurligi, gelning namlanish jarayonida sezilarli darajadagi haroratning ajralishiga olib keladi, bu mikroorganizmlar hayoti uchun juda xavfli hisoblanadi.

Sutda tayyorlangan zamburug' suspensiyasi steril holatda gelga o'tkaziladi bunda to'lib to'kilib ketmasligiga e'tibor berish zarur.

Idishlar 20 daqiqa davomida muz hammomida ushlab turiladi, so'ngra ochib xona haroratida kristallarni silkitib aralashtirish mumkin bo'lgan darajagacha quritiladi.

Undan so'ng, qopqoqlari yaxshilab yopiladi va idishlar saqlashi uchun sovutgichga (4°Cga) joylashtiriladi. Kulturaning selikageldagi uzoq muddat saqlash mumkin. Uni qayta ekish uchun esa idishdan 1-2 ta kristall olinadi, xolos.

O'z-o'zini nazorat qilish uchun savollar:

1. Mikroorganizmlar kulturalarini qanday sharoitlarda saqlash mumkin?
2. Zamburug' kulturasini selikageldagi saqlash usulini izohlab bering?
3. Suyuq azot yordamida qanday mikroorganizmlarni saqlash mumkin?
4. Liofill quritish yordamida mikroorganizm kulturasini saqlashning afzalligi nimada?
5. Mikroorganizmlarni tuproqda saqlash metodini izohlab bering.

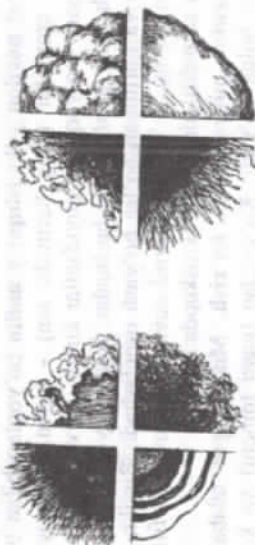
6-bo'lim. Tuproq mikroorganizmlarining xususiyatlarini o'rganish

6.1. Tuproq mikroorganizmlarining morfo-kultural xususiyatlarini o'rganish

Mikroorganizmlarning kultural xususiyatlari odatda qattiq ozuqa muhitida (masalan, GPA, kartoshka bo'lari, sabzi) va suyuq ozuqa muhitlarida (masalan, GPB) o'rganiladi.

Mikroorganizmlar kulturalarini qattiq ozuqa muhitida o'rganishda quyidagilarga ahamiyat beriladi (7-rasm): kultura o'lchami (yirik ekma, o'lchami > 10 mm va undan yirik; o'rta — 1—10 mm; kichik, nuqtali — 1 mm); kolonial profili (koloniyalar o'yiq, konus shaklida, tekis, krater shaklida); kultura cheti (tekis, to'liqsimon, tishsimon, baxmalsimon); kultura yuzasi (silliqlik, yumshoq, burmalangan, burishgan, konsentratrsiyali doirali, radial nurlar bilan ajratilgan); kultura rangi (yorqinlik va shaffoflik); konsistentsiyasi (pastki, qalin, ingichka, yopishqoq, suyuq), mikroskop ostida koloniyaning ko'rinishi (donsimon, bir xil, shtrixsimon). Mikroorganizm kulturalari mikroskopning eng kichik obyektivida (x8) kuzatiladi.

Tirik bakteriya hujayrasining morfologiyasi "ezilgan tomchi" preparati yordamida mikroskopning yirik immersiy obyektivida (x90) o'rganiladi. Hujayraning o'lchami mikrometr-okulyar yordamida harakatchanligini o'rganishda esa 12-24 soatlik mikroorganizm kulturalari orqali aniqlanadi.



7-rasm. Mikroorganizm kulturalarining tiplari

Mikroorganizmlar hujayrasi va uning organiodlari, spora, xivchin, turli kiritmalarini o'rganish uchun esa fiksirlangan-bo'yalgan preparatda o'rganiladi.

Mikroorganizmlar qattiq ozuqa muhitiga ekilganda ozuqa muhiti yuzasida turli rangdagi, shakldagi kultura hosil qiliadi. Bu kulturalarning shakli, rangi, ozuqa muhitida o'sishi kabilarni o'rganish mikroorganizmlarni identifikatsiya qilishda muhim hisoblanadi.

Preparat suyuq yoki agarli ozuqa muhitida o'stirilgan ma'lum yoshdagi bakteriya ekmasidan tayyorlanadi. Ozuqa muhitlari tayyorlashning ko'pdan ko'p retseptlari ishlab chiqilgan bo'lib, ulardan ishlashga eng qulay va tayyorlash uchun osoni "pepton ozuqa muhiti" deb shartli nomlangan ozuqa muhitidir. Qizdirib

eritilgan holda bu ozuqa probirkalarga quyiladi va sterilizatsiya qilinadi, 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'rinib o'sgan bakteriyadan preparat tayyorlashda ishlatiladi.

Mikroorganizmlar bilan ishlashda ish joyi toza, begona narsalardan xoli, har bir talabaning doimiy ish joyi bo'lishi lozim. Har bir talaba dars boshlanishidan ilgari ish joyida quyidagilarni tayyorlashi kerak: mikroskop, spirtovka, narvoncha bilan vannacha, buyum va qoplog'ich oynalar, bakterial ilmoq, probirkalar uchun mo'ljallangan shlativ, bo'yoqlar, imersion moy va mikroskop ostida ko'rishda ishlatiladigan reaktivlar hamda suv solingan kolba.

Surtma (mazok) tayyorlash. Buyum oynasiga tozlangan tomchi suvga o'rganilayotgan ekmaning biomassasidan ozgina solinadi va bakterial ilmoq bilan aralashiriladi. 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, yuqqa qatlam hosil qiladilar.

Fiksatsiya. Ushbu jarayon issiq yordamida (flambirlash) yoki kimyoviy usulda olib boriladi. Birinchi usulda preparat surtmasini uch marta alangaga qaratgan holda gorelka alangasidan o'tkaziladi. Fiksatsiya qilinganda hujayralar o'ladi va oynaga yaxshi yopishadi, tirik hujayraga qaraganda bo'yalishi 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 gentsian** 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'oz bilan qoldiq suvlar shimdiriladi so'ng mikroskopda ko'riladi.

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

Mikrobiologiyadan amaliy mashg'ulotlar uchun tutilgan maxsus **albonga** ko'rish maydoniga o'xshash, 3-4 sm lik doira chiziladi. Unga o'rganilayotgan

hujayralarning rasmi chiziladi, o'lchamlari va shakllariga alohida ahamiyat berilib, kerakli yozuvlar yoziladi.

Ish tugagandan so'ng, obyektivdagi moy tozalanadi (toluol shimdirilgan paxta bilan artiladi), revolverdagi kichik obyektiv fiksirlanadi, tubus va kondensor tushiriladi hamda mikroskop va boshqa o'quv qurollari maxsus joyga qo'yiladi, ish joyi tartibga keltiriladi.

6.2. Mikroorganizmlarning kiritmalarini o'rganish

6.2.1. Uglevodli granulatlar

Moy kislotali bakteriyalarning o'ziga xos xususiyatlaridan biri ularning hujayrasida kraxmalsimon modda - **granulozaning** zahira oziqa moddasi sifatida to'planishidir. Moy kislotali bakteriyalar tuproqda keng tarqalgan. Ularning boyitilgan ekmlarini **Rushman** ozuqa muhitiga tuproq ekib olish mumkin. Ozuqa muhiti maydalab tozlangan kartoshkadan tayyorlanadi. Kartoshka solingan probirkalar tagiga ozgina bo'r solinadi, so'ngra suv qo'shib sterilizatsiya qilinadi. Tuproq ekilgan ozuqa muhiti 5 - 7 kun 26-28°C da termostatta inkubatsiya qilinadi.

Granulozani korish uchun buyum oynasiga bir tomchi Lyugol reaktividan tomiziladi va uning ustiga **Rushman** ozuqa muhiti suyuqligidan kichik kartoshka bo'lakchasi bilan solinadi va ohista aralashiriladi. Preparat qoplag'ich oyna bilan yopiladi, imersion moy tomizilib, mikroskopda ko'riladi. Preparatda **qizil-binafsha** rangga bo'yalgan va hujayraning ko'p qismini egallagan **granulyoza** ko'rinadi.

6.2.2. Lipidli granulatlar

Poli-oksibutirat donachalarini lipofil bo'yoqlar - sudan III yoki qora sudan bilan bo'yab ko'rish mumkin. Buning uchun **achitqilar** hujayrasidan yuqqa surtma tayyorlanib, havoda quritiladi va alangada fiksirlanadi, 5 - 15 minut davomida surtma qora sudan bilan bo'yaladi. Vaqt tugagach preparat filtr qog'oz bilan quritilib, 1 minutgacha bo'lgan vaqt davomida **ksilolga** bir necha marta botiriladi. So'ngra hujayralar 10 sekund davomida 0,1% li **safranin** eritmasi bilan bo'yaladi. **Poli-oksibutirat** donachalari **to'q rangda**, hujayraning qolgan qismi **pushti rangda** bo'ladi.

6.2.3. Polifosfatlar

Polifosfatlar Volutin - Omelanskiy usulida bo'yalganda oson namoyon bo'ladi. Usul **volyutinni** kislotalar eritmasida yaxshi erimasligiga asoslangan. Bunda alangada fiksirlangan surtma yuzasiga **silning karbolli fuksin** qo'yiladi. Hujayralar 0,5 - 1 sekund davomida 1% li **sulfat kislotaga** bilan rangsizlantiriladi. So'ng kislotaga to'kilib, preparat suv bilan yuviladi va 20 - 30 sekund davomida **moviy metilen** bilan (1:40) qo'shimcha bo'yaladi. Yuvib quritilgan preparat immersiya bilan mikroskopda ko'riladi. To'g'ri bo'yalgan volutin donachalari **qizil, sitoplazma ko'k rangda** ko'rinadi.

Achitqilarda volyutinni ko'rish uchun alangada fiksirlangan surtma 3 minut davomida **Lofflerning** moviy metilerni bilan bo'yaladi. Bo'yoq to'kilgach, preparat suv bilan yuviladi va quritilmagan holda surtma yuzasiga 1 tomchi 1% li **sulfat kislot**a tomiziladi. Uning ustiga qoplovchi oyna yopilib mikroskopda ko'riladi. Volutin donalari **ko'k-siyoh rangda** bo'lib, och havorang sitoplazmada ko'rinadi.

6.2.4. Parasporel tanachalar

Spora hosil qilgan **Bacillus thuringiensis** hujayralari sporaga yopishgan to'g'ri **bipiramidal oqsil kristallini** hosil qiladi. Bu kristall ona hujayra avtolizida spora bilan muhitga ajraladi. Parasporel tanachalarni ko'rish uchun ular maxsus bo'yaladi. Yupqa surtma tayyorlanib, havoda quritiladi. Alangada fiksirlanadi va 2 minut davomida **qora anilin** bilan bo'yaladi. So'ngra bo'yoq suv bilan yuviladi va surtma 15 sekund davomida **Silning fuksini** bilan bo'yaladi. Preparat suv bilan yuvilgach, quritiladi va immersion tizim bilan mikroskopda ko'riladi. To'g'ri bo'yalgan **oqsil kristallari qora rangda**, qolgan qismi pushni rangda bo'ladi.

O'z-o'zini nazorat qilish uchun savollar:

1. Mikroorganizmlarning morfo-kultural xususiyatlari qanday usullar yordamida o'rganiladi?
2. Mikroorganizm kulturasining qanday xususiyatlariga ahamiyat beriladi?
3. Mikroorganizm morfologik xususiyatlarini o'rganishda qanday usullardan foydalaniladi?
4. Fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlash bosqichlarini aytib bering.
5. Mikroorganizmlar hujayralarida qanday kiritmalar bo'ladi va ularni o'rganish usullarini tavsiflab bering?

7-bo'lim. Tuproqdan mikroorganizmlarning toza kulturasini ajratish

7.1. Mikroorganizm toza kulturasini ajratish

Bir turdagi mikroorganizm hujayralaridan tashkil topgan ekma toza **kultura** deyiladi. Undan farqli ravishda ikki yoki undan ortiq mikroorganizm hujayralaridan tashkil topgan ekma **aralash** yoki **notoza kultura** deyiladi.

Mikroorganizmlarni ularning tabiiy yashash muhitidan ajratib olish tuproq mikroorganizmlarini o'rganishning muhim mikrobiologik uslublaridan biri hisoblanadi.

Mikroorganizmlarni toza holda ajratish ularni morfologiyasi va rivojlanish siklini, fiziologik va biokimyoviy jarayonlarini o'rganishni osonlashtiradi. Bunday o'rganish oxir oqibatda mikroorganizmlarni turini aniqlash imkonini beradi.

Shubhasiz toza kultura mikroorganizm bitta hujayrasining avlodi hisoblanadi, shuning uchun toza kultura olish usullarining barchasi mikroorganizmlaridan alohida hujayraga ajratishga qaratilgan.

Mikrobiologik tadqiqotlarga ilk bor L. Paster tomonidan kiritilgan toza kultura olish suyuq ozuqa muhitini qo'llashga asoslangan. Birgina bu usul toza kulturani bir turdagi mikroorganizmdan tashkil topgan materialdan ajratishni ta'minlagan, xolos.

R. Kox mikroorganizmlarni ajratishda qattiq ozuqa muhitini kiritdi va unda mikroorganizmlar alohida koloniyalar hosil qilib o'sishini hamda ko'z bilan ko'rinadigan koloniyalar hosil qilishini kuzatgan. Agar shunday koloniya bir turdagi mikroorganizmlarning o'sishidan hosil bo'lgan bo'lsa, bunday kultura toza kultura deyiladi.

Tuproqdan mikroorganizmlarning toza kulturasini olish usullarini shartli ravishda uch guruhga ajratish mumkin: 1) ozuqa muhit yordamida mikroorganizm alohida hujayralarni ajratishga qaratilgan usullar; 2) oddiy ko'z yordamida mikroorganizm hujayralarini ajratishga asoslangan usullar; 3) mikroorganizmlarning biologik xususiyatlari, jumladan harakati, haroratga, kislorodga munosabati, kislotaga, antibiotiklarga chidamligi kabilarga asoslangan usullar.

Birinchi guruhga: suyultirish usuli, ozuqa muhit qatlami yoki yuzasiga ekish usullari kiradi. Bu usullar odatda tuproqdan mikroorganizmlarni dastlabki ajratishda qo'llaniladi. Tuproqdan mikroorganizmlarning toza kulturasini olish quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi. Ular dastlab namuna olish, boyitilgan kultura olish va toza kultura olish bosqichlaridan iborat.

7.2. Namuna olish

Agar tuproq namunasi shu hudud bakterial florasi to'g'ri tavsifini namoyon qilsa, bunday holatda tuproqdagi mikrobiologik jarayonlarni to'g'ri baholash imkonini beradi. Bunday namunani olish juda qiyin chunki, kichik maydonda ham mikroorganizmlarning soni va turlari bir xil tarqalmagan.

Adabiyotlarda namuna olishda uchraydigan qator xatoliklar haqida ma'lumotlar berilgan. Alohida olingan namunalardan hosil bo'lgan natijalarni ko'p hollarda umumlashtirishga to'g'ri keladi. Agar kimyoviy va fizikaviy tadqiqotlarda sezilarli farq paydo bo'ladigan bo'lsa, mikrobiologik tahlilda dispers xatoliklar yanada oshadi, chunki tuproqning gramm soni va tarkibi jihatdan abiotik omillardan farq qiluvchi, tashqi muhit omillariga bog'liq bo'lgan million balki milliard mikroorganizm hujayrasini o'z ichiga oladi.

Mikrobiologik tadqiqotlar uchun tuproq namunasini olish bugungi kungacha takomillashmagan. Statistik tahlillar shuni ko'rsatadiki, belgilangan maydonni mikrobiologik xarakteristikasi haqidagi aniq ma'lumotlarni olish uchun bir nechta namunani tahlil qilish zarur. Amaliyotda olinadigan namunalar soni laboratoriya imkoniyatiga ham bog'liq bo'ladi. Shuning uchun mikroorganizmlar sonini aniqlashda bir nechta olingan namunalarning aralashtirilishidan hosil bo'lgan o'rtacha namuna tahlil qilinadi. Tuproq namunasi olinadigan nuqtalar soni o'rganiladigan maydon o'lchami va bir xilligiga bog'liq. Namuna olinadigan nuqtalar soni qancha ko'p bo'lsa, o'rtacha namuna maydonning aniq xususiyatlarini namoyon qiladi. O'rganilayotgan maydon 100 m² bo'lsa, uning 6-8 nuqtasidan, undan katta maydonning 15-20 nuqtasidan namuna olinadi. Olingan namunalar steril holatda aralashtiriladi.

Yuqorida ko'rsatilgan kategoriyaga to'g'ri kelmaydigan maydonlardan alohida namunalar olinadi va alohida tahlil qilinadi. Bundan tashqari, tadqiqot maqsadiga bog'liq holda, masalan, tuproqni o'rganish uchun emas balki, tuproqning bakterial populyatsiyasini o'rganish, yoki ildiz atrofidagi mikroorganizmlarni o'rganishda ham alohida namunalar olib o'rganiladi.

Namuna olishda 170°C da quruq issiq yordamida sterilizatsiya va yaxshi yopiladigan alyumin karobkalar samarali hisoblanadi. Xuddi shu usulda pichoqlar, belkurak, pintsetlar sterilizatsiya, ularni namuna olish oldidan spirt bilan yondirib sterilizatsiya ham mumkin. Tadqiqot maqsadiga bog'liq holda namunalarni 20-25 sm yoki undan chuqur tuproq qatlamidan olish mumkin. Birinchi holatda steril pichoq yoki belkurak yordamida tuproqning bir necha santimetrlik qatlami olib tashlanadi va undan so'ng, boshqa belkurak yordamida namuna olinib steril idishga solinadi. Biologik tadqiqotlar uchun Myuller namunalarni maxsus parma yordamida 1 sm³ tuproq olishni tavsiya qiladi, parma spirt yordamida yondirib sterilizatsiya.

Agar turli tuproq qatlamidagi tuproq mikroorganizmlarini va unga bog'liq bo'lgan mikrobiologik jarayonlarni o'rganishga qaratilgan bo'lsa, namunalar tuproq qatlamida hosil qilingan maxsus chuqurchalar (tokchalar) dan olinadi. Chuqur devori spirt yordamida yondirib sterilizatsiya belkurak yordamida dastlab tozalanadi. So'ngra steril pichoq yordamida chuqurning 1-2 sm devori olib tashlanadi hamda steril belkurak yordamida namuna idishga olinadi. Shunga o'xshash tadqiqotlar uchun zarur namunalar rang jihatdan bir-biridan farqlanuvchi barcha qatlamlardan olinadi.

Agar tadqiqot maqsadi ildiz atrofidagi hayot kechiruvchi mikroorganizmlarni o'rganishga qaratilgan bo'lsa, o'simlik uning ildiz atrofidagi tuproq bilan ildiz sistemasiga zarar keltirmagan holda qazib olinadi. So'ngra, silkitish va pintset

yordamida tuproqning yirik bo'lakchalarini olib tashlanadi, ildiz yuzasiga yopishib turgan tuproq bo'lakchalarini pintset yordamida namuna uchun steril kolbaga solinadi. Agar tuproq namlangan bo'lsa, bu jarayonni amalga oshirish juda qiyin, shuning uchun juda kuchli namlangan tuproqlardan namuna olish tavsiya etilmaydi.

O'simlikning ildiz sistemasini ham, tuproq namunasi singari steril qog'oz qopchaga solib laboratoriyada 5°C da muzlatgichda saqlab 1-2 kun davomida o'rganish mumkin.

7.3. Boyitilgan kultura olish

Tuproq mikroorganizmlarini ko'paytirish odatda uzoq davom etadigan va qiyin jarayonlardan biri bo'lib, ularning oraliq bosqichlaridan biri, bu boyitilgan ekma olish hisoblanadi. Boyitilgan ekma bu — alohida tur yoki guruh mikroorganizmlar mavjud bo'lgan kultura hisoblanadi, unda juda kam miqdorda bo'lsa ham boshqa turdagi mikroorganizmlar uchraydi.

Boyitilgan kultura olish zarurati tuproqda ajratilayotgan mikroorganizm miqdori kam bo'lsa, boyitish jarayonida uning soni oshadi. Boyitilgan kultura o'rganilayotgan mikroorganizm uchun qulay hisoblangan elektiv ozuqa muhit yordamida olinadi. Elektiv ozuqa muhitning qo'llanilishiga sabab, turli mikroorganizmlar rivojlanishi uchun bir xil bo'lmagan sharoit zarurligidir. Mos elektiv ozuqa muhit unga ayrim holatda maxsus uglerod (tsellyuloza, lignin, parafin va boshqa) manbalarini boshqa holatlarda maxsus azot manbalarini (molekulyar azot, karbamid) kabalarni solish bilan tayyorlanadi. Boshqa holatlarda, masalan, azotsiz ozuqa muhitda esa atmosfera azotini o'zlashtira oladigan mikroorganizmlar ko'payadi. Ozuqa muhit tanlayotganda birgina uning kimyoviy tarkibiga e'tibor berilmasdan, balki ko'paytirish sharoitiga (harorat, aeratsiya, yoritilish, antibiotiklarning mavjudligi va boshqa kimyoviy moddalar) ham mos kelishi kerak.

7.4. Toza ekma olish

7.4.1. Ozuqa qatlamiga ekish usulida aerob mikroorganizmlarning toza ekmasini olish

Mikrobiologiya amaliyotida boyitilgan va toza kultura olishda ozuqa muhit qatlamiga ekish keng miqyosda qo'llaniladi. Bu usulning ishlab chiqilishi Kox nomi bilan bog'liq, u birinchi bo'lib qattiq ozuqa muhitni ishlab chiqqan va mikrobiologiya amaliyotiga qo'llagan. Uning yuzasida bir-biridan izolyatsiyalangan mikroorganizmlar koloniyasi rivojlanadi va bu usulning qulayligi tufayli toza ekmani oson ajratish mumkin.

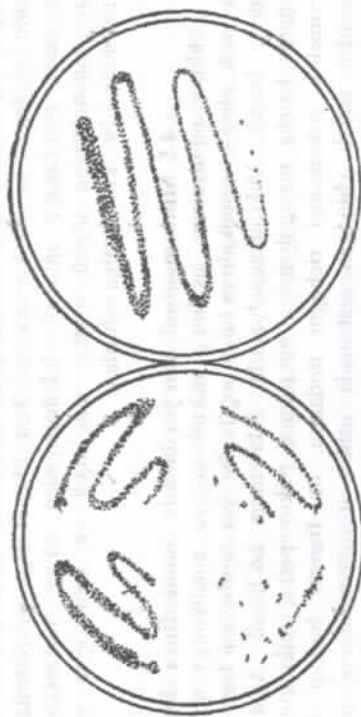
Usulning mohiyati shundan iboratki, unda mikroorganizm ajratish mo'ljallangan boyitilgan ekma yoki substrati (tuproq, go'ng va boshqalarni) davomli suyuqlashtirish bilan yakunlanadi. O'lgan (10 gr) tuproq yoki gomogenizatsiya qilingan go'ng 90 ml distillangan suvga solinadi va 30 daqiqada davomida chaynatiladi. Undan so'ng, 1 ml suspensiya sterilizatsiya pipetka

yordamida olinib 9 ml sterilangan suv solingan probirkaga solinadi va yaxshilab chayqatiladi. Xuddi shunday holatda keyingi probirkalarda ham suyuqlashtirish amalga oshiriladi, suyuqlashtirish soni suspensiyaning zichligiga bog'liq bo'ladi. Undan so'ng, har bir suyuqlashtirishdan 1 ml dan suspensiya steril sharoitda olinib Petri likopchasiga o'tkaziladi. Uning ustiga eritilib 50°C gacha sovitilgan agarli ozuqa muhiti (15-20 ml) solinadi va yaxshilab aylantirilib suspensiya bilan aralashtiriladi. Agarli ozuqa muhiti qotiganidan so'ng Petri likopchasi termostatga joylashtiriladi va 2-10 kun davomida inkubatsiya qilinadi. Mikroorganizm turiga bog'liq ravishda inkubatsiya muddati farqlanadi, bakteriyalarning to'liq rivojlanish uchun 2-3 sutka, zamburug'lar sekin o'sganligi sababli zamburug'lardan ko'proq inkubatsiya talab etadi. ham sekin o'sganligi sababli zamburug'lardan ko'proq inkubatsiya talab etadi. Inkubatsiya muddati tugagandan so'ng, alohida mikroorganizmlar ekmasi o'sgan likopchalardan, toza kultura olishda foydalaniladi.

Odatda alohida mikroorganizmlar kultura agar plastinkasiga bitta bakteriya hujayrasining bo'linib ko'payishidan hosil bo'ladi, shuning uchun ko'p hollarda birinchi ekishning o'zidayoq toza ekma olinadi. Agarda birinchi ekishdan so'ng ham ekma begona mikroorganizm hujayrasi bilan aralash bo'lsa, yana qayta suyuqlashtirilib agar plastinkasiga ekiladi. Shilliq kapsulaga ega bo'lgan mikroorganizmlarning (*Azotobacter*) toza ekmasini olish juda qiyin, chunki ularga nisbatan mayda, birga yuradigan bakteriyalar yopishib oladi. Bunday holatda ulardan ajratish uchun suspensiya kvarts qum bilan eziladi yoki boshqa usullardan foydalaniladi.

7.4.2. Ilmoq yordamida ekish

Ilmoq yordamida ko'z bilan ko'rinadigan alohida koloniyalar hosil qiladigan mikroorganizmlarni ekishda foydalaniladi. Bu usul po'panakli zamburug' va aktinomitsetlarni ular bilan birga yuruvchi bakteriyalardan ajratish va toza kultura olishda yaxshi samara beradi. Ilmoq yordamida boyitilgan ekmadan ekish uchun materialdan oz miqdorda olinadi va Petri likopchasining og'zi ochilib agar plastinkasi yuzasiga zig-zag (to'lqinsimon) shaklda ekiladi. Ekish materialda ajratiladigan mikroorganizmlarning qaysi biri ustunlik qilsa, u albatta, ozuqa muhiti ekish amalga oshirilganda ilmoqda ko'p miqdorda aynan ushbu bakteriya hujayrasi qoladi. Uzunligiga chizilgan liniyaning oxirida yoppasiga o'sish kuzatilmasdan balki alohida izolyatsiyalangan mikroorganizmlar ekmasining o'sishi kuzatiladi (8-rasm). Undan so'ng, alohida koloniyalardan qiyshiq agarda yoki agar plastinkasiga (tekshirish uchun) ikkinchi marta ekiladi. Yoki Petri likopchasiga quyilgan plastinkasi yuzasiga 0,1 ml mikroorganizm suspensiyasi tomiziladi va steril shpindel yordamida muhit yuzasiga teng miqdorda yoyib chiqiladi va inkubatsiyadan so'ng alohida koloniyalardan ekish amalga oshiriladi. Nam plastinka yuzasida mikroorganizmlar koloniyalari bir-biriga qo'shib o'sishi mumkin. Shuning uchun ular termostatga joylashtiriladi va namligi parlanib qopqog'iga tushguncha ushlab tutiladi.



8-rasm. Shtrix usulida ekish yo'li bilan bakteriya kulturetasini tozalash

7.4.3. Uorkopning tuproq plastinkasi usuli

Zamburug'larni ajratish usuli. Sterillangan Petri likopchasiga 0,005 - 0,015 g maydalangan tuproq solinadi. Solinadigan tuproqning optimal o'lchami koloniyaning ozuqa muhiti o'sish intensivligiga bog'liq ravishda aniqlanadi. Tuproq namunasiga 0,5% achitqi ekstrakti solingan 10 ml 45°C gacha qizdirilgan Chapek-Doks (70) muhiti solinadi, ozuqaning muhiti (pH) 4 ga to'g'ri keladi. Aylantirish orqali tuproqning ichiga teng taqsimlanadi. Maydalangan tuproqni agar solishdan avval 1-2 tomchi steril suv tomizish orqali namlanadi. Ozuqa muhiti qotgandan so'ng, osti bilan to'ng'itib bir necha sutka davomida inkubatsiya qilinadi va ulardan o'sib chiqqan koloniyalar boshqa ozuqa muhiti ekiladi.

Uorkop usulining qator suyuqlashtirishga asoslangan boshqa usullar bilan solishtirgandagi afzalligi shundaki, bunda tadqiqotchi mikroorganizmlarning tabiiy sporasi bilan ish olib boradi va bu unga mikroorganizmlarning xilma-xil turlarini aniqlash imkonini beradi.

Novogrudskiyning maydalangan tuproqni ozuqa muhiti yuzasiga sepih orqali mikroorganizmlarni ko'paytirish usulining prinsipi bir xil.

7.4.4. Nam kamera yordamida monokultura olish usuli

Nam kamera nomini olgan Gansen tomonidan ishlab chiqilgan yirik hujayrali (achitqi zamburug'lari) mikroorganizmlar va mikroskopik zamburug'larning konidylaridan toza kultura olish imkonini beradi.

Gansen metodining prinsipi shundan iborat: sterilangan buyum oynasining markaziga 15 mm diametrlil qalinligi 1 mm keladigan yuqori va pastki tomoni vazelin bilan moylangan halqa joylashtiriladi. Halqa markaziga 1 tomchi steril suv tomiziladi va qoplagich oyna bilan yopiladi. Qoplagich oynaning quyi yuzasiga ajratiladigan mikroorganizm hujayrasidan iborat bo'lgan yopqaga agarli ozuqa muhiti solingan bo'ladi. Tayyorlangan nam kamera mikroskop ostiga joylashtirilib, faqat

zarur mikroorganizm hujayrasi ko'rinadigan uchastka qidiriladi, kvadrat chizilgan qoplag'ich oynadan foydalanish juda qulay hisoblanadi. Tanlangan mos keladigan kvadrat belgilanadi va nam kamera steril Petri likopchasiga joylashtiriladi hamda termostatda inkubatsiya qilinadi. Inkubatsiyadan so'ng, mikroskop ostida mikroorganizmlarning o'sish nuqtasi aniqlanadi va steril igna yordamida mikrokoloniyadan ekish amalga oshiriladi.

7.4.5. Mikromanipulyator yordamida monokultura olish

Mikromanipulyatsion usulning mikrobiologiya amaliyotiga qo'llanilishi juda nozik, olingan monokultura bilan bog'liq bo'lgan tajribalarni ham o'tkazish imkonini beradi. Mikromanipulyatorlar ikki turga bo'linadi. Agar alohida holatlarda barcha manipulyatsiya mikroigna, mikropipetka, mikrotoim kabilar mikrometrik sistemadagi richagni ifodalasa, bu fransuz biolog Fonbryun tomonidan ishlab chiqilgan sistemada ushbu instrumentlarning pnevmatik uzatmasi qo'llanilgan. Mikromanipulyatorning pnevmatik uzatmalari mexanik turiga nisbatan bir necha barobar sezgir hisoblanadi.

Mikromanipulyatorning ishchi jihozlari mikroskopning ko'rish maydonida ko'rinib turadi va tajriba o'tkazayotgan kishi uni richaglar yordamida boshqarib, alohida bakteriya hujayrasini nam kamera osilgan tomchidan ko'paytirish uchun mos keladigan ozuqa muhitidan kesib oladi. Mikromanipulyator yordamida olingan kultura juda toza bo'lib, odatda uni bir yoki ikkita hujayradan o'stiriladi, shu bilan birga ajratish jarayonini mikroskop yordamida kuzatib turish mumkin.

Mikromanipulyatori toza kultura olishning barcha holatlarida ham qo'llab bo'lmaydi. Ayrim hollarda ajratilgan, izolyatsiyalangan mikroorganizmlar hujayrasi o'smaydi yoki bu jarayon juda sekin ketadi. O'sish tezligi ozuqa muhitida shu bakteriyaning soni ko'p bo'lgan hollarda jadallashadi. Boshqa holatlarda boshqa mikroorganizmlarning mavjudligi tufayli monokultura olish juda qiyin bo'lib, shilliq kapsulali bakteriyaning kapsulasiga birikkan mikroorganizmlar bunga xalaqit beradi.

7.5. Anaerob mikroorganizmlarni ko'paytirish usullari

Ko'pchilik bakteriyalar obligat anaeroblar – substratda oksidlanish-qaytarilish potentsiali $-0,33$ volt bo'lganda rivojlanadi. Solishtirish uchun aytish mumkinki, suvning pH normal atmosfera bosimida $+0,80$ voltni tashkil etadi. Anaerob sharoitda ko'paytirishning natijadorligi substratning oksidlanish-qaytarilish potentsialini belgilangan darajaga pasaytirishga bog'liq. Buni molekulyar kislorodni yo'qotish bilan amalga oshiriladi. Anaerob o'stirishda kislorodni yo'qotish uchun mexanik va kimyoviy vositalardan foydalaniladi. Anaerob sharoitda o'stirish uchun ozuqa muhitiga o'stirilayotgan mikroorganizmga toksik ta'sirga ega bo'lmagan qaytaruvchi solinadi.

Kavsharlangan trubada o'stirish. Bu usul suyuq ozuqa muhitida anaerob mikroorganizmlarni o'stirish uchun juda yaxshi samara beradi. Buning uchun maxsus o'rta toraygan probirkalardan foydalaniladi. Ekish materiali ozuqa

bulyoniga solingandan so'ng, probirka paxta tiqin bilan yopiladi va uni toraygan joyiga suriladi. Undan so'ng, probirkadan havo so'rib olinadi hamda maxsus gaz gorekasi yordamida probirkaning toraygan qismi qizdirilib kavsharlanadi.

Kavsharlangan trubkalar termostatda inkubatsiya qilinadi. Anaerob mikroorganizmlarning o'sishi ozuqa muhitining loyqalanishi bilan namoyon bo'ladi.

Veyon trubkasida o'stirish. Anaerob bakteriyalarni qattiq ozuqa muhitida o'stirish uchun maxsus shisha trubkalar, ingichka va uzun, odatdagi probirkadan farglanuvchi (10×200 mm) trubkalardan foydalaniladi. Bunday trubkalar bilan 2/3 qismi to'ldiriladi, sterillashdan avval, paxta tiqinning namlanmasligiga e'tibor berish kerak. Ozuqa muhit qotmasdan avval (45°C) ekish materiali Paster pipetkasi yordamida trubkaning tubiga solinadi. Natijada ekma yuqorisida 100 mm li agar qatlami joylashadi.

Yopiq idishlarda o'stirish. Ko'pgina anaerob mikroorganizmlar havosi ammo uning o'miga laboratoriya vakuum eksikatoridan foydalanish ham mumkin. Ekma anaerostatda joylashtirilgandan so'ng, undan havo so'rib olinadi, uning bosimi $15-20$ mm simob ustuniga to'g'rilanadi. Uzoq inkubatsiya davrida vakuumni ushlash qiyin, so'rib olingan gaz o'miga odatda qaysidir inert gaz (azot, vodorod va bosh.) bilan almashtiriladi. Dastlab idishni kiritiladigan gaz bilan chayiladi va undan so'ng u bilan birga qolgan gaz so'rib olinadi.

Qolgan kislorodni idishdan yo'qotish uchun idishga oz miqdorda palladiy donachalari solinadi, undan so'ng havo so'rib olinib, o'miga vodorod solinadi. Palladiy kislorod va vodorod o'rtasidagi reaksiyani katalizlaydi.

Kislorodsiz atmosfera tutib turish uchun nazorat sifatida kislorod indikatorlar – lokus agarli anaerob indikator (sotuvda mavjud bo'lgan) va Filds-Makintosh indikatoridan foydalaniladi. Indikator ochiq ampulada anaerostatning yon tomonidagi shisha trubkaga o'rnatiladi yoki vakuum eksikatorga o'rnatiladi va rangning o'zgarishiga qarab kislorodning bor-yo'qligi aniqlanadi.

Pirogalolli usul. Mikrobiologiya amaliyotida anaerob mikroorganizmlarni o'stirishda pirogalolning ishqoriy eritmasining molekulyar kislorod bilan intensiv shimish xususiyatidan (pirogalolning 1 g ishqoriy eritmasi 260 ml O_2 bilan bog'lanadi) keng foydalaniladi. Burri taklif qilgan o'stirish usulida, anaerob bakteriyalar aerob mikroorganizmlar ekmasini o'stirish singari probirkalardagi qotirilgan agarga ekiladi. So'ngra probirkani yopuvchi qog'oz yoki paxta tiqinning yuqori qismini lezviya yordamida kesib tashlanadi va qolgan qismini pintset yordamida agarning yuqori qismigacha tiqiladi. Tiqinning ustiga $1-2$ dona natriy yoki kaliy gidroksid donachalari tashlanadi, uning yuqori qismiga kontsentrlangan pirogalol ($2-4$ ml) shindirilgan paxta tiqin tiqiladi va tezlik bilan rezina tiqin yordamida yopiladi.

Pirogalol shindirilgan paxtani olib tashlash juda qiyin, shuning uchun probirkaning ostki qismi kesiladi va kesilgan joy rezina tiqin bilan yopiladi, ekish vaqtida esa bu tiqin olib tutiladi.

uchun mo'ljallangan, tarkibida 2%li agar bo'lgan mineral ozuqa muhit tayyorlanadi, natijada suvo'plarining suyuqlashtirib boyitilgan ekmasining seriyal ekmasi jusaga keladi. Petri likopchasiga agar plastinkasi, turli konsentratsiyadagi suvo'plar suspenziyasi qo'shib quyiladi. Inkubatsiyadan so'ng alohida koloniyadan iborat bo'lgan material olinib qiyshiq agarga o'tkaziladi. Seriyali suyuqlashtirilgan suspenziya tayyorlashdan avval uni kvarts qum bilan yopishgan bakteriyadan tozalash uchun yaxshilab ezish tavsiya etiladi.

O'z-o'zini nazorat qilish uchun savollar:

1. Toza ekma olish qanday bosqichlarni o'z ichiga oladi?
2. Boyitilgan ekma qanday ahamiyatga ega va qanday amalga oshiriladi?
3. Tuproq suvo'plarini qanday usulda ajratib olinadi?
4. Anaerob mikroorganizmlar qanday usulda ajratib olinadi?
5. Mikromanipulyator yordamida monokultura olish qanday amalga oshiriladi?
6. Nam kamera yordamida monokultura olish usulini izohlab bering?
7. Uorkopning tuproq plastinkasi usuli.
8. Ilmoq yordamida ekish yordamida toza kultura olish qanday amalga oshiriladi?

Usulning kanchiligi shundaki, pirogalolning oksidlanishi natijasida ayrim mikroorganizmlarning o'sishini tezlashtiruvchi uglerod oksidining kam miqdorda hosil bo'lishidir. Shu bilan bir qatorda, mikroorganizmlarning ko'payishiga ta'sir etadigan havodagi ishqoriy kislorod ikki oksidi bilan bog'lanishi mumkin. CO₂ ning ma'lum miqdori anaerob mikroorganizmlar ekmasining o'sishi uchun qulay hisoblanadi.

Ko'pgina hollarda kislorodni yo'qotish uchun ozuqa muhit tarkibiga qaytaruvchilar (0,05 % sistein, 0,01-0,02 % li natriy uglikolyat va b.) solinadi.

Anaerob mikroorganizmlarni Petri likopchasida o'stirish. Bir qator tadqiqotchilar anaerob mikroorganizmlarni o'stirishda ham Petri likopchasidan foydalanishni taklif qilishadi. Buning uchun Bryuera qopqog'i bilan jihozlangan Petri likopchasidan foydalaniladi. Bunday qopqog' agar ozuqa muhiti atrofiga jips yopishib turadi va qopqog' tagida tushqi muhitdan izolyatsiyalangan joy qoladi. Bunday Petri likopchasi mavjud bo'lmagan hollarda agar yuzasi 1 mm qalinlikdagi sterilizlangan parafin bilan qoplanadi. Parafin bilan likopcha singari anaerostad yoki vakuumli eksikatorida inkubatsiya qilinadi.

Spora hosil qiluvchi mikroorganizmlar turlarini termik tozalash. Obligat anaeroblar asosan spora hosil qiluvchilar bo'lib, ularning ko'pchiligi termostabil hisoblanadi. Shuning uchun ularni tozalashda ma'lum muddat suv hammomida ushlab turish yaxshi samara beradi. Bunday holatda ushbu mikroorganizmlarning vegetativ hujayralari nobud bo'ladi va faqatgina sporalargina saqlanib qoladi. To'g'ri keluvchi harorat tajriba yo'li bilan aniqlanadi. Zarur mikroorganizmlarni ajratishda elektiv ozuqa muhit usuli yaxshi samara beradi.

7.6. Suvo'plarni ko'paytirish

Suvo'plarning toza ekmasini olish birmuncha murakkab bo'lib, asosan shilliq hujayra qobig'iga ega bo'lgan suvo'plarga to'liq tuproq bakteriyalari birkadi va ularni ajratish juda qiyin. Shuning uchun suvo'plarining ekmasi "yarim toza" holatida o'stiriladi.

Suvo'plarni ko'paytirish va saqlash usullari ko'pincha bakteriya va zamburug'lar uchun ishlab chiqilgan usullarga o'xshash bo'ladi, ammo, ba'zi farqlari mavjud, chunki suvo'plar avtotrof fotosintetlovchi organizmlar bo'lib, o'sishi uchun yoritilishni talab qiladi. Suvo'plarni o'stirish uchun tuproq namunasi asseptika qoidalariga amal qilingan holda olinadi va undan 20 g o'lab olinib Petri likopchasiga joylashtiriladi. Bu namunalar ozuqa muhitlari yordamida 4-5 hafta davomida 24 ° C da inkubatsiya qilinadi, albatta bu davrda sun'iy yoki tabiiy usulda yoritib turiladi (bunda doimo parlangan namlik o'rni to'ldirib boriladi).

Belgilangan muddatda mikroskop yordamida tuproqda suvo'plarning rivojlanishi tekshirib boriladi. Buning uchun bir bo'lak ko'proq miqdordagi tuproq olinib, 100 mli kolbaga solinadi va uning ustiga 25 ml suvo'plari uchun mo'ljallangan mineral moddalar qo'shilgan suyuq ozuqa muhit solinadi va xuddi shu sharoitda inkubatsiya qilinadi. Inkubatsiyadan 2-3 hafta o'tganidan so'ng, ozuqa muhitda suvo'plarning yoppasiga rivojlanishi kuzatiladi. So'ngra, suvo'plari

8-bo'lim. Tuproqdagi mikroorganizmlarni miqdoriy aniqlash

8.1. Umumiy qoidalar

Laboratoriya analiyotida tuproq mikroorganizmlarining sonini aniqlashda ikki xil bir-biridan prinsipial farqlanuvchi usullardan foydalaniladi. Ular:

a) ma'lum darajadagi suyultirilgan tuproq suspenziyasi ekitilgan qattiq va suyuq muhit yordamida;

b) to'g'ridan to'g'ri mikroskopiya usuli yordamida aniqlash. Bu usullar mikroorganizmlarning tuproqdagi soni haqida turlicha ma'lumotlarni beradi.

Amaliyotda tuproq mikroorganizmlarining soni va turlarini aniqlashda ko'p hollarda, ozuqa muhitiga ekish usuli qo'llaniladi. Bu usullar turli-tuman bo'lib, ularga mos keladigan bir qancha ozuqa muhit turlari ishlab chiqilgan.

Tuproqdagi aniqlanadigan mikroorganizmlar soni ishlab chiqilgan qattiq ozuqa muhit yuzasiga ekish yoki suyuq muhitga ekish, agarli ozuqa muhit yuzasiga tuproq zarralarini sepish yoki bir necha marotaba suyultirilgan tuproq suspenziyasini ekishga bog'liq holda keskin farq qiladi.

Qattiq ozuqa muhiti yuzasiga ekish mikroorganizmlar toza kulturasini juda oson olish imkonini beradi va bu usulning qimmatli ahamiyatga ega ekanligini ko'rsatadi. Ajratilgan toz kulturalar keyingi o'rganishlar uchun foydalanilishi mumkin. Shu bilan bir qatorda ko'p hollarda ularning fiziologik faol moddalar sintezlashi o'rganiladi.

Ekish uchun tuproq suspenziyasini tayyorlash. Yaxshilab aralashirilgan ho'l yoki quruq tuproqni mikrobiologik tahlil (analiz) qilish uchun sterilangan oyna (spirt bilan artilib, olovda sterilangan) ustiga to'kiladi. Tuproq shpatel yordamida yaxshilab aralashiriladi va bir tekis yoyilib o'simlik ildizi, boshqa yirik aralashmalardan yaxshilab tozalanadi, hamda shpatel yordamida turli joyidan 10 gr tuproq o'lchab olinib, suvli kolbaga solinadi.

Bir vaqtning o'zida tuproq aralashmasidan (10-20 gr) uning namligini o'lchash uchun olinadi. Tuproq oldindan o'lgangan shisha yoki temir buykaga solinib, quritish shkafiga 105° da quritiladi. Dastlab tuproq 3 soat quritilib o'lgangandan so'ng, yana 2 soat davomida quritiladi. Quritish tuproq vaznini o'zgarmas holatiga kelguncha amalga oshiriladi. Bu holda absolyut quruq tuproqdagi mikroorganizmlarni o'rganish amalga oshirilgan bo'ladi va u quritish shkafida o'tkaziladi. Oddiy quruq tuproqdagi mikroorganizmlar sonini aniqlanganda esa, tuproq namligini aniqlash uchun olingan tuproq namunasi xona haroratida quritiladi.

Odatda mikrobiologik tahlil uchun olingan tuproq namunasini 100 ml steril vodoprovod suvi bo'lgan kolbaga solinib, u 10 daqiqa davomida qo'lda yoki chayqatgich (kachalka) yordamida, kolbaning paxta qopqog'iga suv tegishiga yo'l qo'yilmagan holda tebratiriladi.

Bir qator tadqiqotchilarning ta'kidlashicha, quruq tuproqlarni yuqoridagidek ishlov berish yaxshi samara bermaydi, chunki bu tuproq agregatlari maydalanishi ulardan mikroorganizm hujayralarining desorbsiyalanishiga imkon bermaydi. Taxminan besh daqiqa davomida pastasimon holga kelguncha ishlov berilgan chimli-podzol tuproqdan go'shtli pepton agarida (GPA) bakteriyalar sonini

aniqlanganda 2 marta, Eshbida 5 marta, kraxmal-agarli muhitda 7 marta oshganligini ko'rsatadi. Qizil tuproqlarda 0,1% li natriy pirofosfat bilan 5 daqiqa davomida ishlov berish yaxshi samara berishi aniqlangan. Qora va to'q'ng'ir tuproqlarda suv bilan emas, balki 0,03-0,05% li sintetik spirflarning alkilsulfat eritmasi yordamida ishlov yaxshi samara beradi. Shunday ekan, barcha tuproqlarda suyultirishdan avval unga ishlov berish tuproqdan ajratiladigan mikroorganizmlar sonining oshishiga olib keladi.

Tuproqni mikrobiologik tahlil uchun tayyorlash jarayoni quyidagicha amalga oshiriladi. Tuproq aralashmasidan 1 g olinib, steril chinni hovonchaga solinadi va suv bilan namlanib (0,4-0,8 ml) 5 daqiqa davomida rezina kelidasta (stupka) yoki qo'lloq kiygizilgan barmoq yordamida pastasimon holatga kelguncha eziladi.

Ekishdan oldin har bir namuna uchun iktitadani 250 ml-li steril kolbalar tayyorlab qo'yiladi. Ularning bittasida 100 ml sterilangan suv bo'ladi. Tuproqni ezishdan avval kolbadagi suv bilan namlanadi va tayyor bo'lgan eritmasini shu suv yordamida yuvib ikkinchi bo'sh kolbaga otkaziladi. Tuproq suspenziyasi solingan kolba 5 daqiqa davomida chayqatiladi va 30 sekund davomida turli yirik agregatlar cho'kish uchun tindiriladi. Undan so'ng rasmda (6-rasm) keltirilgandek suyultirish amalga oshiriladi va ekish uchun tayyorlanadi. Suyultirishda har bir suyultirish uchun alohida pipetka ishlatish va aseptika qoidalarga qattiq amal qilgan holda amalga oshirish zarur.

Tuproq namunasini ozuqa muhitiga ekish. Tuproq suspenziyasidan qattiq ozuqa muhitiga ekish o'rganilayotgan mikroorganizmlar guruhi, tuproq tipi, tuproq namligiga bog'liq holda amalga oshiriladi. Likopchada 50-200 ta bakteriya va aktinomisetlar koloniyasi, 30-50 ta zamburug' koloniyasi hosil bo'lganda hisoblash ishlari aniq chiqadi, undan zich holatda mikroorganizmlar koloniyalarining hosil bo'lishi hisob-kitob ishlari qiyinlashtiradi yoki xatoliklar kelib chiqishiga olib keladi. Birinchi tekshirishning o'zida tuproqda qancha mikroorganizm borligi haqidagi ma'lumotni olish mushkul, shuning uchun bir vaqtning o'zida bir necha marta suyulish darajasidan ekish amalga oshirishi zarur. Zamburug'lar va achitqilarni hisoblash uchun bakteriya va aktinomisetlarni aniqlashdagi nisbatan 1-2 daraja kichik bo'lgan suyultirish darajasidan foydalaniladi. Tuproqni aniq tahlil qilish uchun 3-5 qayta namunalari va 3-5 qayta likopchalarga, turli ozuqa muhitlariga ekish zarur.

Bakteriyalarni ajratish va ekish uchun turli-tuman jumladan: go'shtli pepton agari, Chapek, Eshbi, tuproq aralashmasi va ekstrakti solingan ozuqa muhitlardan foydalaniladi. Bakteriyalarning spesifik gunahlarini o'rganishda tuproq elektiv muhitda ekitiladi. Ko'p hollarda aktinomisetlar kraxmal-ammiakli agarda yoki Chapek muhitida, zamburug'lar va achitqilar kislotali muhitlar: suslo-agi, modifikatsiyalangan Chapek yoki pepton-dekstrozi agar ozuqa muhitiga ekitiladi va o'rganiladi.

Zamburug'lar va achitqilarni ajratishda yuqorida sanab o'tilgan ozuqa muhitlarga bakteriyalarning o'sishini irtgibirlovchi qo'shimcha moddalar qo'shiladi. Bunday moddalar qatoriga konsentrlangan sut kislotasidan 4 ml/l, bor kislotasidan 3 gr/l qo'shilishi mumkin. Moddalarning bunday miqdorda qo'shilishi

ozuqa muhit pHni 4.0-4.5 olib boradi. Kislotalar ko'p hollarda ekish oldi, eritilgan muhitga solinadi. Kontsentrlangan kislotani qo'shishda uni sterillash talab etilmaydi.

Har doim ham ozuqa muhit pH ni kislotaligini oshirish talab etilmaydi, chunki neytral va ishqoriy tuproqlarda o'suvchi zamburug'lar ham mavjud bo'lib, ular yuqori kislotali muhitda o'sishdan to'xtaydi.

8.2. Tuproqdagi bakteriyalar sonini aniqlash

Tuproq mikroorganizmlarini sonini oddiy sanash orqali ham aniqlash mumkin. Mikroorganizm hujayralari ozuqa muhitga tushgandan so'ng, bo'linib ko'payib boshlaydi va ko'zga ko'rinadigan koloniya hosil qiladi. Sekin o'suvchi mikroorganizmlar soni 5 sutkada sanaladi.

1 g tuproqdagi mikroorganizmlar sonini aniqlash uchun, Petri likopchasi yuzasida hosil bo'lgan koloniyalar soni suyuqlashtirish darajasiga ko'paytiriladi. Ayrim hollarda koloniyalar soni shu qadar ko'p bo'ladiki, o'sgan koloniyalar bir-biriga qo'shib ketadi. Bu ko'proq 1:100 marta suyuqlashtirilgan namunadan ekilgan likopchada kuzatiladi. Hujayralar sonini to'g'ri aniqlash uchun 10 tadan ortiq, 250-300 dan ko'p o'smagan likopchalarni sanash maqsadga muvofiq hisoblanadi.

Koloniyalarni sanashda likopcha yorug'likka qaratilgan holatda, sanalgan koloniyalarni qayta sanamaslik uchun plamaster yordamida belgilangan holatda sanaladi. Kichik koloniyalarni o'tkazib yubormaslik maqsadida likopcha lupa yordamida yana bir bora ko'zdan kechirilishi zarur.

Ayrim hollarda oxirgi suyuqlashtirishdan ekilgan likopchada koloniyalar soni 300 dan ortiq bo'ladi, bunday holatda suyuqlashtirish darajasini oshirib, qayta ekish tavsiya etiladi. Ko'p miqdordagi (300 dan ortiq) koloniyalar soni Volfyugel kamerasi yordamida sanaladi. Buning uchun likopcha teskari holatda kameraning to'r (setka) chizilgan shisha plastinka yuzasiga qo'yiladi. Koloniyalar soni likopchani turli qismlaridan (20-25 ta kvadrat) sanaladi va likopchani umumiy yuzasiga ko'paytiriladi.

Turli tuproqlardagi bakteriyalar sonini solishtirish 1 g absolyut quruq tuproqdagi bakteriyalar sonini aniqlash bilan o'rganiladi. Buning uchun byuksga (5-10 g) tuproq namunasi olinib, 105°C da doimiy massagacha quritish orqali tuproq namligi aniqlanadi. 1 g absolyut quruq tuproqdagi mikroorganizmlar sonini quyidagi formula orqali aniqlanadi:

$$m = \frac{a \cdot \mu \cdot 100}{(100 - W)}, \text{ formuladagi:}$$

a – bitta Petri likopchasida o'sib chiqqan o'rta koloniyalar sonini;

μ – suyuqlashtirish darajasini; W – tuproq namligini anglatadi.

Mikroorganizmlarni hisoblash muddati ozuqa muhiti tarkibi va o'rganilayotgan mikroorganizmlar guruhiga bog'liq bo'ladi. GPA odatda 2-3 sutkada spora hosil qiluvchi va sporasiz bakteriyalar soni aniqlanadi. Chapek

ozuqa muhitida esa 5-7 – sutkada aktinomitsetlar koloniyalari, suslo-agar 5-7 – sutkada zamburug'lar koloniyalari hisoblanadi.

8.3. Tuproqdagi koloniya hosil qiluvchi mikroorganizmlarini hisoblash

1 g tuproqdagi koloniya hosil qiluvchi (KOE) mikroorganizmlarni hisoblash, ozuqa muhit yuzasiga o'sib chiqqan koloniyalar soniga asoslanadi. Ozuqa muhit yuzasida hosil bo'lgan har bir koloniya bu – bitta mikroorganizm hujayrasidan hosil bo'lgan deb qaraladi va shunga asoslangan holda biz 1 g tuproqdagi KOE ni hisoblashimiz mumkin. Koloniyalar sonini likopcha tagidan, pastki tomondan yoritilgan holatda sanaladi. Sanash vaqtida adashmaslik uchun, sanalgan har bir koloniyaga plamaster yoki shishaga yozuvchi qalam yordamida belgi qo'yib boriladi. Yorug'likni yaxshi o'tkazmaydigan ozuqa muhitlarida esa ustki tomondan sanash amalga oshiriladi.

Paralel ekilgan likopchalardagi koloniyalar soni sanalgandan so'ng, ularning o'rta soni hisoblanadi va undan so'ng, 1 g tuproqdagi mikroorganizmlar soni (KOE/g) quyidagi formula yordamida:

$$A = B \times V \times C \text{ hisoblab topiladi.}$$

Formuladagi: A – 1 g tuproqdagi mikroorganizmlar soni (KOE/g); B – likopchada o'sgan o'rta koloniyalar soni; V – tuproq suspenziyasining suyuqlashtirish darajasi; C – ekish amalga oshirilgan tuproq suspenziyasidagi (0,05 ml yoki 0,1 ml) tomchilar sonini anglatadi.

1 ml o'rganilayotgan substratdagi hujayralar soni quyidagi formula yordamida hisoblab topiladi:

$$M = \frac{a \times 10^6}{V}$$

formuladagi: M – 1 ml dagi hujayralar soni; a – likopchada o'sgan o'rta koloniyalar soni; 10⁶ – suyuqlashtirish koeffitsienti; V – ekish uchun olingan suspenziya miqdori, ml.

Olingan natijalarning statistik tahlili o'rta arifmetik xatolik, o'rta kvadrat xatolik, variatsion qator koeffitsientini (Dmitriev, 1995) yoki STATISTIKA kompyuter programmasi yordamida hisoblab topiladi (Manucharov va bosh., 2001).

Tuproq haydama qatlamidagi bakteriyalar sonini aniqlash uchun GPA, Chapek ozuqa muhitiga 10⁻³ va 10⁻⁴, suslo-agar, GPA + suslo-agar, Eshbi ozuqa muhitlariga esa 10⁻² va 10⁻³ daraja suyuqlashtirilgan tuproq namunalari ekiladi.

O'z-o'zini tekshirish uchun savollar:

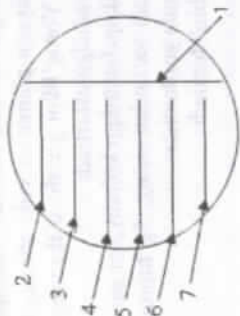
1. Tuproqdagi mikroorganizmlar soni qanday aniqlanadi?
2. 1 g absolyut quruq tuproqdagi mikroorganizmlar soni qanday hisoblanadi?
3. Tuproqdagi koloniya hosil qiluvchi mikroorganizmlar soni qanday usulda aniqlanadi?

9-bo'lim. Tuproq mikroorganizmlarining o'zaro va boshqa organizmlar bilan munosabatlarining tahlili

9.1. Tuproq mikroorganizmlarining antagonistik xususiyatini o'rganish

Mikroorganizmlarning antagonistik ta'siri bu – bir mikroorganizmning ikkinchi turning o'sishiga salbiy ta'sir ko'rsatishiga asoslangan bo'lib, bir qator usullar yordamida aniqlanadi. Quyida ushbu usullarga to'xtalib o'tamiz.

Perpendikulyar shtrix usuli. Bunda antagonistik xususiyat namoyon qiluvchi mikroorganizm Petri likopchasi yuzasiga ekanadi (9-pasm, 1). Bu organizm o'sib chiqqandan so'ng, antibiotikka chidamliligi o'rganilayotgan mikroorganizmlar esa unga perpendikulyar holatda ekib chiqiladi (9-pasm, 2-7).



9-pasm. Mikroorganizmlarning antagonistik xususiyatini perpendikulyar shtrix usuli yordamida aniqlash: 1-antagonistik xususiyat namoyon qiluvchi mikroorganizm turi; 2-7 – test, ya'ni antibiotikka chidamlilik darajasi o'rganilayotgan mikroorganizmlar.

Mikroorganizm ekilgan Petri likopchasi 20-24 soat davomida termostda saqlanadi. Agar o'rganilayotgan mikroorganizm antagonistik xususiyat namoyon qilsa, unga perpendikulyar holatda ekilgan mikroorganizmlar uning shtrixidan uzoqroq o'sadi. Bu antagonist moddaga chidamli mikroob turi esa unga yaqin holatda o'sadi.

Agar bo'lakchalari (blochka) usuli. Bu usulda antibiotik hosil qiluvchi va test-mikroorganizmlar alohida ozuqa muhitlarida o'stiriladi. Antibiotik hosil qiluvchi aktinomiset quyidagi tarkibga ega bo'lgan ozuqa muhitida o'stiriladi (g/l): glyukoza – 30,0; KNO_3 – 5,5; MgSO_4 – 0,5; NaCl – 1,0; K_2HPO_4 – 0,4; ZnSO_4 – 0,002; agar – 25,0; distillangan suv; pH 7,1-7,2. Ozuqa muhiti 0,5 atm sterilanadi va Petri likopchasiga quyiladi.

Agar qotqandan so'ng antibiotik hosil qiluvchi mikroorganizm butun ozuqa muhit yuzasiga gazon qilib ekanadi. Buning uchun aktinomiset sporasi bakterilogik ilmoq yordamida agar yuzasiga o'tkaziladi va shpatel yordamida butun ozuqa muhiti yuzasiga yoyilib, 28-30°C da 8-10 kun davomida inkubatsiya qilinadi. Undan so'ng, sterilangan namuna oluvchi qurilma (6-8 mm) yordamida agar bo'lakchasi olinib, bir muddat oldin test-mikroorganizm ekilgan boshqa agarli ozuqa, masalan GPA, yuzasiga o'tkaziladi. Agar bo'lakchalari shablon asosida bir-biridan teng uzoqlikda 1,5-2,0 sm masofada, likopcha chetidan ichkariroqda, mitsileyi yuqoriga qaratilgan holda agar plastinkasi yuzasiga qattiq bosiladi. Antibiotikning yaxshi diffuziyalanishi uchun test-organizm ekilgan

ozuqa muhitiga o'yuvchi qurilma yordamida hosil qilingan lunkalarga joylashtirilsa ham bo'ladi. Bitta test-organizm ekilgan Petri likopchasi yuzasiga turli antagonistik xususiyatga ega bo'lgan produktentlardan tashkil topgan 4-5 ta agar bo'lakchalarini joylashtirsa bo'ladi. Likopchalar antibiotiklarning ozuqaga yaxshi singishi uchun 1 soat xona sharoitida saqlanadi, undan so'ng test-organizm o'sishi va rivojlanishi uchun qulay bo'lgan haroratga termostga joylashtiriladi va uning o'sishiga bog'liq ravishda inkubatsiya qilinadi. Agar test-organizm antibiotikka sezgir bo'lsa, inkubatsiyadan so'ng agar bo'lakchalari atrofida uning o'sishini susaytiruvchi zona hosil bo'ladi. Agar test-organizm ekilgan produktent hosil qilgan antibiotikka sezgir bo'lmasa, butun ozuqa muhit yuzasida va hatto agar bo'lakchalari atrofida ham o'sadi.

9.2. Rizosfera mikroorganizmlarini o'rganish usullari

Rizosfera tuproqlaridan namuna olish. Tuproqda ko'p miqdorda mikroorganizmlar o'simlik rizosferasida joylashgan bo'ladi. Rizosfera tuproqlari ko'p hollarda alohida tekshiruvlarni talab etadi. Rizosfera mikroflorasi turlari va soni jihatdan nazorat tuproqlaridan tubdan farqlanadi.

Rizosfera mikroflorasini o'rganish uchun tuproq pichoq yoki belkurak yordamida o'simlik ildizi qazib olinadi. Ildiz sistemasi unga mahkam yopishgan tuproq bilan boshqa tuproqlardan tozalanadi. Tuproq yopishgan ildiz steril qaychi bilan kesilib pergament paketga solinadi. Bitta paketga bir turga mansub bir nechta o'simlik ildizini kesib solish mumkin. Ildiz va unga yopishgan (5-10 gr) tuproq 100 ml steril suv solingan kolbaga solinib, 10 daqiqa davomida chayqatiladi va odatdagidek suyultirish amalga oshiriladi.

Ekishda shu narsaga katta e'tibor berish kerakki, rizosfera uning atrofidagi muhit tuproqlariga nisbatan o'n, yuz va ming marotaba ko'p miqdorda mikroorganizmlar hayot kechiradi, shuning uchun ularni ekish jarayonida kattaroq suyultirish darajalaridan foydalanish maqsadga muvofiq bo'ladi. Shuning uchun ularning mikrobiologik tahlil, odatda bir vaqtning o'zida nazorat (o'simliklardan xoli qatorlar orasidan olingan) va o'simlik ildizi ustidagi tuproqdan ajratilgan mikroorganizmlarni ekish bilan amalga oshiriladi.

Ekishdan so'ng, ildizlar kolbadan olinadi, tuproq qoldiqlaridan tozalanadi, yana bir bor suvda yuviladi, sekin filtr qog'oz orasiga qo'yilib quritiladi va o'lchanadi. Mikroorganizmlarning sonini hisoblash 1 gr tuproqqa nisbatan olib boriladi.

Tuproq namligini bilgan holda, 1 gr havoda qurigan yoki absolyut – quruq tuproqdagi mikroorganizmlar sonini hisoblash mumkin.

Aniqroq hisoblanishni ildiz yuvilgandan so'ng tuproq suspenziyasini 6-8 ayl/tezda tsentrifuga qilib olish mumkin. Hosil bo'lgan cho'lma quritiladi va o'lchanadi. Rizosferadan tuproq namunasini olishda tuproq namunasi olinayotgan o'simlik turi, tavsifi, o'simlikning o'sish fazasi va uning holati haqidagi ma'lumotlarni yozib borish zarur bo'ladi. Asosiy e'tiborni o'simlik turi va uning o'sish fazasiga qaratish lozim, chunki rizosfera mikroflorasi o'simlikning o'sish

beriladi. Masalan: *Rh. phaseoli* (loviya), *Rh. trifolii* (beda), *Rh. meliloti* (yo'ng'ichqa), *Rh. leguminosarum* (no'xat).

Tuganak bakteriyalar odatda, tuproqda uchraydi. Ular uzunasiga 3 mkm dan oshmaydigan mayda, harakatchan, grammanfiy tayyotchalar bo'lib, psevdomonadalar juda o'xshab ketadi. O'simliklar urug'i o'sayotganda tuganak bakteriyalar ildiz tukchalari bilan to'qnashadi. O'simlik ildiz tizimining zararlanishi faqat yosh ildiz tukchalari orqali bo'ladi. Bakteriyalar tukchalarning eng uchidan kiradi va ip shaklida o'sadi, bu ip *infeksion* ip deb ataladi, so'ngra bunday ipchalar epidermis hujayralari devoridan ildiz po'stlog'iga o'tadi. Ular shoxlanadi va ildiz to'qimasining tetraploid hujayralari bo'ylab taqsimlanadi. *Rhizobium* ta'sirida va o'stiruvchi modda ishtirokida ildiz to'qimasi o'sib ketadi, natijada tuganaklar hosil bo'ladi. Tuganaklarda bakteriyalar tez ko'payadi, hajmi oshadi va shaklini o'zgartiradi: tayyotchalaridan kolbasimon shishgan hujayralarga - *bakteroidlarga* aylanadi. Turli dukkakli o'simliklarning tuganaklarini shakli va o'ichamlari turlicha bo'ladi.

Simbiotik azotfiksirluvchi mikroorganizmlar bilan tanishish uchun mosh, no'xat, hashaki no'xat, soya, lupin kabi dukkakli o'simliklarning ildizini tuganaklari bilan umumiy ko'rinishi chizib olinadi.

1. Tuganak bakteriyalarning preparati *Rh. meliloti* ni 3-4 sutkali ekmasidan tayyorlanadi. Bular mayda, harakatchan 0,5-0,6 x 1,2 - 3 mkm li tayyotchalar spora hosil qilmaydi, grammanfiy bo'ladi.

2. Tuganaklarning *bakteroidli* to'qimasidan preparat tayyorlash.

Buyum oynachasiga tuganak qo'yiladi va uning ustidan boshqa buyum oyna bilan bosiladi. Ezilgan tuganakka bir tomchi suv qo'shib aralashiriladi, qoplagich oyna bilan yopib mikroskopda ko'riladi. Preparatda *bakteroidlar* - harakatsiz, yo'g'onlashgan, rogatkasimon hamda kolbasimon shishgan, noksimon yoki sferik hujayralar ko'rinishi kuzatiladi.

Tuganak bakteriyasining toza kulturasini ajratish. Bir yillik dukkakli o'simliklar tuganagidan bakteriyalarni ajratish ularning gullash fazasida, ko'p yillik o'simliklardan esa ikkinchi yilida ajratiladi. Buning uchun yaxshilab vodoprovod suvida yuvilgan o'simlik ildizidan pintset yoki lezviya yordamida qizil rangdagi yirik tuganagi olinib, tagi setkali, o'zidan o'lcham jihatdan yirikroq bo'lgan 96% li etil spirtli chinni Gucha hovonchasiga solinadi. Undan so'ng, chinni hovonchadagi tuganaklar sterilizatsiya solinadi. Undan so'ng, yuvib tashlanadi.

Sterillangan pintset yordamida tuganaklar sterilizatsiya Petri likopchasiga o'tkaziladi va sterilizatsiya pichoq yordamida qismalarga bo'linadi. Bakteriologik ilmoq yordamida maydalangan tuganak bo'laklaridan kichikroq bo'lak olinib, Petri likopchachasidagi agarli ozuqa muhiti yuzasidagi bir tomchi sterilizatsiya suvga solinib aralashtirilgandan so'ng, bo'lakcha olib tashlanadi va shpatel yordamida ozuqa muhiti yuzasiga ekiladi.

Xuddi shu shpatel yordamida yana ikki-uchta ozuqa muhiti likopchaga alohida koloniyalar olish uchun ekish amalga oshiriladi. Ekilgan likopchalarni termostatga 25-28°C da inkubatsiya qilinadi. Tez o'suvchi tuganak bakteriyalar

fazasiga bog'liq holda juda tez o'zgarib turadi va o'simlik turining o'ziga xosligiga ko'p hollarda bog'liq bo'ladi.

Rizosfera mikroorganizmlarini o'rganish Tepperning ildizni yuvish usuli yordamida amalga oshiriladi. Buning uchun o'simlik o'sayotgan tuproq qatlamlaridan sterilizatsiya pinset va pichoq yordamida lg yosh ildizlar (taxminan bir xil diametrdagi) unga yopishgan tuproq zararlari bilan olinadi. Ildizlar 100 ml sterilizatsiya vodoprovod suvi solingan kolbaga 2 daqiqada davomida chayqatiladi. Sterillangan pinset yoki ilmoq yordamida ildizlar olinib keyingi kolbaga solinib chayqatiladi va undan ham olinib xuddi yuqoridagidek uchunchi, to'rtinchi, beshinchi, oltinchi va yettinchi 100 ml sterilizatsiya suv solingan kolbalarga solinib, 2 daqiqadan chayqatiladi. Har bir kolbadan sterilizatsiya pinsetka yordamida bir tomchidan tuproq suspenziyasi olinib, ozuqa muhiti solingan Petri likopchasiga tomiziladi va shpatel yordamida yoyiladi. Likopchalar 28-30°C termostatda inkubatsiya qilinadi. Ozuqa muhiti sifatida GPA, Eshbi, suslo-agari, karaxmal-ammiakli va boshqalardan foydalaniladi. Mikroorganizmlarni o'rganish 3-7 sutkalarda amalga oshiriladi.

Ildizni yuvish metodi mikroorganizmlarni nobud bo'lishi kuzatilmaydi, ko'p hollarda sonning oshishiga olib keladi. Shuning uchun birinchi ildiz yuvilgan kolbadan ekilgan likopchada yirik koloniyali, spora hosil qiluvchi mikroorganizmlarning o'sib chiqishi kuzatiladi. Yuvish davom ettirilganda batsilyar formadagi mikroorganizmlar soni kamayib kichik koloniyalar, ya'ni spora hosil qilmaydigan *Pseudomonas* va boshqa avlod hamda korinofom mikroorganizmlar soni orta boshlaydi. Tepper metodi yordamida rizosfera va rizoplandagi mikroorganizmlar sonini aniqlash uchun birinchi kolbadagi suspenziya yana qo'shimcha 5 daqiqada chayqatiladi va undan suyultirish amalga oshiriladi hamda ozuqa muhiti ekiladi. Qolgan olitita kolbadagi suspenziya birga qo'shiladi va unda suyultirish amalga oshirilib, ozuqa muhiti ekiladi. Ildiz bilan birinchi kolbaga tushgan tuproq miqdori har xil bo'ladi. Buning uchun oxirgi kolbadan ildizlar olinib, filtr qog'ozga qo'yiladi va quritilgandan so'ng o'lchanadi.

Rizoplan va rizosfera namunalarni quyidagicha o'rganish mumkin. O'simlik ildizi unga yopishgan tuproq zararlari bilan 100 ml sterilizatsiya vodoprovod suvda 3 daqiqada davomida kachalkada 180 ayl/tez da chayqatiladi. Yuvilgan ildiz boshqa 100 ml suvli kolbaga o'tkaziladi va ultratovush yordamida UZDN-1 qurilmasi (22 kGs, 0,44 A, 2 daq) yordamida ishlov beriladi. Suyultirilgan namunadan ekish qattiq ozuqa muhiti ekish amalga oshiriladi (Kojevin, 1989).

9.3. Tuganak bakteriyalarni ajratish, toza kulturasini olish va o'rganish

Tuganak bakteriyalar dukkakli o'simliklar bilan simbioz holatda yashaydi. Bu bakteriyalarning shunday deb atalishiga sabab - ular o'simlik ildiziga o'tganda ildiz to'qimalari kattalashib, tuganaklar hosil bo'ladi.

Tuganak bakteriyalar *Rhizobium* avlodiga kiradi. Bakteriyalar asosan qaysi o'simliklarda tuganak hosil qilishiga qarab, shu o'simlik nomi bo'yicha tur nomi

ikki-uch sukkada ekma hosil qilsa, sekin o'sadigan tuganak bakteriyalar esa yettinchi-to'qqizinchi sukkada ekma hosil qiladi.

Tuganak bakteriyalar uchun quyidagi tarkibdagi Freda ozuqa muhiti ishlatiladi: mannit (saxaroza yoki glyukoza) – 10,0 g, KH_2PO_4 – 0,5 g, MgSO_4 – 0,2 g, NaCl – 0,1 g, CaCO_3 – 3,0 g, achitqi suvi (pH – 6,8) – 100 ml, agar-agar – 15 g, distillangan suv – 0,9 litr. Shuningdek, quyidagi Dukkakli agar muhitidan ham foydalanish mumkin: dukkak qaynatmasi (boboviy otvar) – 1000 ml, saxaroza – 2 g, KH_2PO_4 – 1,0 g, MgSO_4 – 0,3 g, agar-agar – 15,0 g, Qaynatmaga NaHCO_3 pH 7,0 kelguncha solinadi va ozuqa muhiti 120°C da 30 daqiqacha sterilizlanadi.

Bu ozuqa muhitida tuganak bakteriyalar rangsiz va oq-sarg'ish, kamdan kam holda shilimsiq koloniya, ayrim hollarda qizg'ish koloniyalar *Lotomonis hainesii* tuganaklaridan olingan bakteriyalar hosil qiladi.

Tuganak bakteriyalarning tozaligini o'rganish uchun GPA yashash muhitiqa ekish amalga oshiriladi. Bu ozuqa muhitida beda va qashqarbeda (*Meliolus officinalis*)ning tuganak bakteriyasidan tashqari birorta tuganak bakteriya o'smaydi.

O'z-o'zini tekshirish uchun savollar:

1. Mikroorganizmlarning o'zaro antagonistik xususiyatlari qanday usullar yordamida aniqlanadi?
2. Perpendikulyar shtrix usuli yordamida mikroorganizmlarning antagonistik ta'sirini o'rganishni izohlab bering.
3. Rizosfera mikroorganizmlarini ajratish usulini izohlab bering.
4. Tuganak bakteriyalarni qanday usulda ajratib olish mumkin?

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati:

1. M.Иногорова, А.Х.Вехобов. Микробиология ва вирусология асослари. Т.: "Университет" нашриёти, 2010.
2. Vahobov A.X., T.X.Rasulova, Ya.F.Nizamatdinova, M.I.Mansurova, I.A.Muzafarova. Mikrobiologiyadan amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun o'quv qo'llanma (lotincha) T.: "Universitet" nashriyoti, 2009.
3. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенов Г.М. Биология почв: Учебник. -3-е изд., испр. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 445 с.
4. Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. Микробиология. М.: ДРОФА. 2006
5. Гусев М.В., Минева Л.А. Микробиология. М.: АСАДЕМА. 2008
6. Нетрусов А.И., Котова И.Б. Микробиология. М.: АСАДЕМА. 2007
7. Практикум по микробиологии. Под ред. А.И. Нетрусова. М.: АСАДЕМА. 2005
8. Громов Б. Строение бактерий. Учеб. Пособие. – Л.: Из-во универ, 1985. – 192 с.

Internet saytlari:

- <http://www.natlib.uz/uz/>
- <http://ek.uzmu.uz/>
- <http://www.lib.imn/>
- <http://www.molbiol.ru>
- <http://www.zyio.net>
- www.nature.uz
- www.pedagog.uz
- www.cholera.russian.ru

MUNDARIJA:

Kirish.....	3	7-bo'lim. Tuproqdan mikroorganizmlarning toza ekmasini ajratish.....	35-42
1-bo'lim. Tuproq mikrobiologiyasi tadqiqotlar uchun zarur bo'lgan asbob-uskunalar va sterilizatsiya usullari bilan tanishish.....	4-11	7.1. Mikroorganizm toza ekmasi va uning ahamiyati.....	35
1.1. Inkubatsion uskunalar.....	4-5	7.2. Namuna olish.....	35-37
1.2. Shkaf, laminar boks va ekishi kabinolari.....	5-7	7.3. Boyitilgan ekma olish.....	37
1.3. Ozuqa muhitlari va idishlarni sterilizatsiya usullari bilan tanishish.....	8-11	7.4. Toza kultura olish.....	37
2-bo'lim. Tuproq mikroorganizmlarini o'rganish uchun zarur bo'lgan ozuqa muhitlari.....	12-19	7.4.1. Ozuqa qatlamiga ekish usulida aerob mikroorganizmlarning toza kulturasini olish.....	37
2.1. Ozuqa muhit tayyorlashning umumiy prinsiplari.....	12-13	7.4.2. Ilmoq yordamida ekish.....	38-39
2.2. Ozuqa muhitlari va ularni tayyorlash.....	13-16	7.4.3. Uorkopning tuproq plastinkasi usuli.....	39
2.3. Ekish materiali va idishlarni mikrobiologik tahlil uchun tayyorlash.....	16-18	7.4.4. Nam kamera yordamida monoekma olish usuli.....	39-40
2.4. Tuproq bo'lakchalari metodi.....	18-19	7.4.5. Mikromanipulyator yordamida monokultura olish.....	40
3-bo'lim. Tuproq mikroorganizmlarining mikroskopik tahlili.....	20-23	7.5. Anaerob mikroorganizmlarni ko'paytirish usullari.....	40-42
3.1. To'g'ridan to'g'ri mikroskopiya usuli yordamida tuproq mikroorganizmlarini o'rganish va hisoblash.....	20	7.6. Suvo'qlarni ko'paytirish.....	42-43
3.2. Vinogradskiy usuli.....	20-22	8-bo'lim. Tuproqdagi mikroorganizmlarini miqdoriy aniqlash.....	44-47
3.3. Xolodniyning shisha yuzasida o'stirish usuli.....	22-23	8.1. Umumiy qoidalar.....	44-46
4-bo'lim. Tuproqning mikrobiologik tahlili.....	24-26	8.2. Tuproqdagi bakteriyalar sonini aniqlash.....	44-46
4.1. Tuproq namunasini olish va mikrobiologik tadqiqotlar uchun tayyorlash hamda ozuqa muhitiga ekish texnikasi.....	24-26	8.3. Tuproqdagi koloniya hosil qiluvchi mikroorganizmlarini hisoblash.....	46-47
4.2. Tuproq namunasini ozuqa muhitiga ekish texnikasi.....	24-25	9-bo'lim. Tuproq mikroorganizmlarining o'zaro va boshqa organizmlar bilan munosabatlarining tahlili.....	47
5-bo'lim. Mikroorganizm ekmasini saqlash.....	26-27	9.1. Tuproq mikroorganizmlarining antogonistik xususiyatini o'rganish.....	48-52
5.1. Umumiy qoidalar.....	28-30	9.2. Rizosfera mikroorganizmlarini o'rganish metodi.....	48-49
5.2. Mikroorganizmlarni tuproqda saqlash.....	28	9.3. Tuganak bakteriyalarni ajratish, toza kulturasini olish va o'rganish.....	49-50
5.3. Liofilizatsiya.....	28	Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati.....	50-52
5.4. Zamburug'larni suyuq azotda saqlash.....	29-30		53
6-bo'lim. Tuproq mikroorganizmlarining xususiyatlarini o'rganish.....	31-33		
6.1. Tuproq mikroorganizmlarning morfo-kultural xususiyatlarini o'rganish.....	31-33		
6.2. Mikroorganizmlarning kiritmalarini o'rganish.....	33		
6.2.1. Uglevodli granular.....	33		
6.2.2. Lipidli granular.....	33		
6.2.3. Polifosfatlar.....	33		
6.2.4. Parapsoral tanachalar.....	34		

V.B.FAYZIYEV, B.J.AXMADALIYEV, U.M.JO'RAYEVA,
A.H.VAHOBOV

TUPROQ MIKROBIOLOGIYASI

FANIDAN
AMALIY MASHG'ULOTLAR UCHUN
USLUBIY QO'LLANMA

Qog'oz bichimi: 60×84 ¹/₁₆.

Times New Roman garniturasida terildi.

Shartli bosma tabog'i: 3,5.

Buyurtma № 18. Adadi: 100 nusxa.

«ZUXRA BARAKA BIZNES» MChJ bosmaxonasida chop etildi.

Toshkent shahri Bunyodkor shoh ko'chasi 27 A-uy.

